

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»

На правах рукописи



**ЗЕЛЕННИКОВ**

**Олег Владимирович**

**ВЛИЯНИЕ ПРОЦЕССОВ РАННЕГО ООГЕНЕЗА НА РАЗВИТИЕ  
ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ У РЫБ**

03.02.06 - ихтиология

Диссертация на соискание ученой степени

доктора биологических наук

Научный консультант

доктор биологических наук

Селюков Александр Германович

Москва – 2021

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	6
Актуальность исследования.....	6
Цель и задачи исследования.....	7
Объекты исследования.....	8
Степень разработанности научного направления.....	8
Научная новизна.....	11
Основные положения, выносимые на защиту.....	12
Практическая значимость.....	12
Апробация работы.....	13
Публикации.....	14
Объем и структура диссертации.....	15
Благодарности.....	15
<b>Глава 1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b> .....	17
1.1. Модельные объекты для проведения исследований.....	17
1.2. Программа экспериментальных работ.....	18
1.3. Сбор материала на рыбоводных заводах и в полевых условиях.....	22
1.4. Методика обработки материалов и анализа данных.....	23
1.5. Методика количественного исследования фонда ооцитов в раннем онтогенезе.....	27
1.6. Теоретические аспекты исследования фонда ооцитов в раннем онтогенезе. Вопросы терминологии.....	30
<b>Глава 2. РАЗВИТИЕ ФОНДА ПОЛОВЫХ КЛЕТОК У МОЛОДИ КРУГЛОРОТЫХ И РЫБ В СВЯЗИ С ЕСТЕСТВЕННОЙ И ИНДУЦИРОВАННОЙ ИНВЕРСИЕЙ ПОЛА</b> .....	33
2.1. Дифференцировка и инверсия пола у рыб.....	33
2.2. Гистологический и ультраструктурный анализ развития фонда половых клеток в ходе дифференцировки пола у ювенильных протогинических гермафродитов круглоротых и рыб.....	36
2.3. Экспериментальный подход к исследованию онтогенетических, цитологических и эндокринных аспектов инверсии пола.....	62
2.4. Развитие фонда ооцитов у самцов рыб при индуцированной инверсии пола..	80

2.5. Заключение.....	87
----------------------	----

**Глава 3. ФОРМИРОВАНИЕ ФОНДА ПОЛОВЫХ КЛЕТОК У МОЛОДИ КРУГЛОРОТЫХ И РЫБ ПРИ СТАНОВЛЕНИИ ЦИКЛИЧНОСТИ ВОСПРОИЗВОДСТВА ..... 89**

3.1. Полициклия у рыб. Развитие фонда ооцитов у молоди полициклических рыб на примере радужной форели.....	89
3.2. Моноциклия у круглоротых и рыб.....	97
3.2.1. Формирование фонда ооцитов у молоди миног и тихоокеанских лососей.....	97
3.2.2. О связи числа ооцитов начала периода превителлогенеза и величины абсолютной плодовитости.....	121
3.2.3. О продолжительности пополнения фонда ооцитов при становлении моноциклии у рыб.....	122
3.2.4. Роль половых стероидных гормонов в становлении моноциклии у рыб.....	124
3.2.5. Экспериментальный анализ влияния половых стероидных гормонов на формирование моноциклии.....	131
3.3. Заключение.....	141

**Глава 4. ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ НА ФОРМИРОВАНИЕ ФОНДА ПОЛОВЫХ КЛЕТОК У МОЛОДИ РЫБ ..... 143**

4.1. Влияние закисления воды на формирование фонда ооцитов.....	143
4.1.1. Закисление воды как модельное токсическое воздействие.....	143
4.1.2. Влияние закисления воды на репродуктивную функцию рыб (Обзор литературы).....	146
4.1.3. Влияние закисления воды на репродуктивную функцию рыб в раннем онтогенезе (Обзор литературы по материалам диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук).....	149
4.1.4. Формирование фонда половых клеток у рыб в период и после кислотного воздействия.....	153
4.2. Влияние пониженной температуры на развитие гонад у молоди кеты.....	168

4.3. Экспериментальный анализ роли онтогенетических и эндокринных факторов в формировании фонда ооцитов в раннем онтогенезе рыб.....	176
4.4. Заключение.....	183

## **Глава 5. АНАЛИЗ СВЯЗИ МЕЖДУ ТЕМПОМ РОСТА ООЦИТОВ ПЕРИОДА ПРЕВИТЕЛЛОГЕНЕЗА И ВОЗРАСТОМ ПОЛОВОГО СОЗРЕВАНИЯ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ У ЛОСОСЕЙ С КОРОТКИМ ПЕРИОДОМ ЖИЗНИ В РЕКЕ..... 185**

5.1. Ранний гаметогенез молоди кеты в ходе искусственного воспроизводства на рыбоводных заводах в Сахалинской области.....	185
5.2. Ранний гаметогенез молоди горбуши в ходе искусственного воспроизводства на рыбоводных заводах в Сахалинской области.....	205
5.3. К вопросу о соотношении полов у молоди горбуши.....	213
5.4. Состояние гонад у молоди кеты и горбуши в ходе катадромной миграции.....	217
5.5. Заключение.....	224

## **Глава 6. АНАЛИЗ СВЯЗИ МЕЖДУ ТЕМПОМ РОСТА ООЦИТОВ ПЕРИОДА ПРЕВИТЕЛЛОГЕНЕЗА И ВОЗРАСТОМ ПОЛОВОГО СОЗРЕВАНИЯ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ У ЛОСОСЕВЫХ РЫБ ..... 225**

6.1. Гаметогенез радужной форели <i>Parasalmo mykiss</i> при различном температурном режиме.....	225
6.1.1. Гаметогенез радужной форели при естественном сезонном понижении температуры в условиях рыбоводных предприятий (Обзор литературы).....	225
6.1.2. Выращивание радужной форели при температуре 15-17°C.....	232
6.1.3. Выращивание радужной форели при температуре 19-20°C.....	242
6.2. Гаметогенез каспийского лосося.....	254
6.3. Гаметогенез атлантического лосося онежской популяции.....	264
6.4. Заключение.....	268

## **Глава 7. К ВОПРОСУ О РЕЗОРБЦИИ ООЦИТОВ ПЕРИОДА ПРЕВИТЕЛЛОГЕНЕЗА В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ КРУГЛОРОТЫХ И РЫБ..... 270**

<b>Глава 8. ВЛИЯНИЕ РАННЕГО ООГЕНЕЗА НА РАЗВИТИЕ ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ У КРУГЛОРОТЫХ И РЫБ. Общее заключение.....</b>	<b>288</b>
<b>ВЫВОДЫ.....</b>	<b>298</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>300</b>

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность исследования

Как известно, само становление и развитие науки Ихтиологии стимулировалось сначала преимущественно совершенствованием и увеличением масштабов промысла, а затем, кроме этого, и становлением разных форм аквакультуры. Можно полагать, что именно степенью «близости» к практическому использованию и объясняется тот факт, что воспроизводительная система у рыб изучена крайне неравномерно. Подавляющее большинство работ в этом направлении выполнено на сравнительно взрослых особях – половозрелых или близких к половому созреванию. У них изучено большинство аспектов регуляции и функционирования воспроизводительной системы: структура элементов гипоталамо-гипофизарной области (Поленов, 1968; Elofssen et al., 1996; Ota et al., 1997; 1998; Shi et al., 2015; Гарлов, 2000; 2017) и ее роль в регуляции развития половых желез (Okuzawa et al., 2003; Баранникова, 2004); гонадотропные клетки гипофиза (Полужктова, 1983; Зенкевич и др., 1985; Бурлаков, 1997; 2015), динамика и функция гонадотропных гормонов (Баранникова и др., 1989; Ueda, 1998; Joy et al., 2000; Olsen et al., 2001; Onuma et al., 2009); локализация, строение и функции стероидсекреторных клеток (Kagawa et al., 1981; 1982; Арбузова, 1995a; Lubzens et al., 2010), а также динамика и роль половых стероидных гормонов в развитии гонад (Вундер, 1980; Arukve, 2001; Kokokiris et al., 2000; Баюнова, 2001) и становлении репродуктивного поведения (Gray et al., 1999; Lower et al., 2004 и другие), развитие яичников и семенников у рыб разных систематических групп и сезонных рас (Казанский, 1956; Багров, 2000; Nagahama, Jamashita, 2008; Skaeraasen, 2009; 2012; Лукина, Лукин, 2013 и другие); особенности полового созревания и специфика нереста при единовременном и порционном икрометании или яйцеживорождении (Collins et al., 1998; Rideout, Burton, 2000; Скоблина, 2010; Li et al., 2011; Cachran et al., 2012; Сергеева и др., 2013; Cun et al., 2013); гормональное стимулирование процесса созревания (Гербильский, 1941; Баранникова и др., 1990; Глубоков и др., 1991), формирование величины абсолютной плодовитости (Иванков, Андреев, 1969; Кошелев, 1964; Иванков, 1983; Хоревин, 1990; Павлов, 2010) и другие вопросы. Все полученные данные в той или иной степени помогают либо установить исходные параметры динамики численности рыб, либо способствуют разработке биотехники их искусственного воспроизводства.

Исследованию гонадо- и гаметогенеза у молоди рыб посвящалось и посвящается до настоящего времени несоизмеримо меньше работ. Очевидно, что такие обстоятельства как слабая дифференциация органов воспроизводительной системы – крупноклеточной области гипоталамуса, гипофиза, стероидсекреторных клеток и гонад, низкая

концентрация гонадотропных и стероидных гормонов в крови и гомогенате тканей рыб создают определенные трудности при исследовании развития репродуктивной системы у молоди по сравнению со взрослыми особями. Однако основная причина относительно слабой изученности раннего гаметогенеза у рыб – это явная «отдаленность» результатов большинства работ от практического использования. Непосредственно связаны с применением результаты работ только по одной из тем – дифференцировке пола и, не удивительно, что именно ей посвящалось и посвящается до настоящего времени абсолютное большинство всех исследований, выполненных в области раннего гонадо- и гаметогенеза (Персов, 1969; Nakamura et al., 1998; Baroiller, Guiguen, 2001; Devlin, Nagahama, 2002; Chiasson et al., 2008 и другие).

При выраженном преобладании работ, посвященных анализу дифференцировки пола, всем остальным аспектам функционирования репродуктивной системы у молоди рыб уделялось значительно меньше внимания. Например, таким как развитие стероидсекреторных клеток, динамика пополнения и структурирования фонда ооцитов периода преевителлогенеза, влияние токсических веществ и соединений на темп развития гонад и другим. Без должного внимания оставалось и то направление, которое в общем виде можно сформулировать следующим образом: детерминация в раннем возрасте дефинитивных параметров воспроизводительной системы у круглоротых и рыб. Его разработке и посвящена представленная диссертация.

**ЦЕЛЬ.** С использованием комплекса цито-, гисто- и биохимических подходов установить соотношения между динамикой фонда ооцитов у молоди рыб и становлением дефинитивных параметров репродуктивных показателей для управления процессами воспроизводства рыбных запасов.

#### **ЗАДАЧИ.**

1. Исследовать онтогенетические, цитологические и эндокринные аспекты инверсии пола у молоди круглоротых и рыб, определить роль раннего оогенеза в реализации этого процесса и с использованием половых стероидных гормонов корректировать его естественный ход.

2. Выявить динамику формирования фонда половых клеток при становлении моно- и полициклии у круглоротых и рыб; определить роль половых стероидных гормонов в становлении моноциклии.

3. У молоди рыб разных видов определить динамику формирования фонда ооцитов в естественной среде обитания и при содержании в искусственных условиях, а также после токсического, температурного и гормонального воздействий.

4. Выявить темп оогенеза у молоди горбуши и кеты при их естественном воспроизводстве и заводском разведении.

5. Определить значение превителлогенного периода в оогенезе для темпа полового созревания у разных видов лососевых рыб.

### **Объекты исследования**

Все исследования были проведены в период с 1989 по 2019 год на 15 видах круглоротых и рыб:

<b>Речная минога</b>	<i>Lampetra fluviatilis</i> Linnaeus, 1758
<b>Ручьевая минога</b>	<i>Lampetra planeri</i> Bloch, 1784
<b>Русский осетр</b>	<i>Acipenser gueldenstaedtii</i> Brandt & Ratzeburg, 1833
<b>Дальневосточная сардина</b>	<i>Sardinops melanosticta</i> Temminck & Schlegel, 1846
<b>Радужная форель</b>	<i>Oncorhynchus mykiss</i> Walbaum 1792
<b>Атлантический лосось</b>	
онежской популяции	<i>Salmo salar</i> Linnaeus, 1758
<b>Каспийский лосось</b>	<i>Salmo caspius</i> Kessler, 1877
<b>Горбуша</b>	<i>Oncorhynchus gorbuscha</i> Walbaum, 1792
<b>Кета</b>	<i>Oncorhynchus keta</i> Walbaum, 1792
<b>Нерка</b>	<i>Oncorhynchus nerka</i> Walbaum, 1792
<b>Кижуч</b>	<i>Oncorhynchus kisutch</i> Walbaum, 1792
<b>Чавыча</b>	<i>Oncorhynchus tshawytscha</i> Walbaum, 1792
<b>Сима</b>	<i>Oncorhynchus masou</i> Brevoort, 1856
<b>Данио рерио</b>	<i>Danio rerio</i> Hamilton, 1822
<b>Мозамбикская тиляпия</b>	<i>Oreochromis mossambicus</i> Peters, 1852

Латинские названия видов приведены в соответствии с каталогом рыб «Eschmeyer's Catalog of Fishes».

### **Степень разработанности научного направления**

Несмотря на то, что работе с молодью рыб в интересующем нас аспекте посвящалось меньше внимания, чем работе со взрослыми рыбами, в научной литературе постепенно накапливались данные, указывающие на то, что именно в раннем возрасте

происходит становление важнейших показателей воспроизводительной системы – возраста полового созревания, величины плодовитости, соотношения полов и другие. В пользу подтверждения высокой значимости процессов раннего гонадо- и гаметогенеза для дальнейшего развития гонад свидетельствует и анализ клеточных процессов, реализуемых при развитии половых клеток ранних состояний. Как известно, только в ооцитах периода ранней профазы мейоза осуществляется синтез ДНК, а также активны процессы синтеза РНК и белка. В ооцитах начала периода превителлогенеза наблюдается наиболее интенсивный синтез и накопление информационной РНК, а также 4S-тРНК и 5S-рРНК (Чмилевский, 2000) т.е. осуществляются процессы, которые должны если не определять, то значительно влиять на весь последующий рост этих клеток.

Несмотря на крайне неравномерное изучение разных аспектов развития гонад у молоди рыб, практически по всем из них были получены научные данные. Например, установлена связь между темпом роста ооцитов начала превителлогенеза и возрастом полового созревания у лососевых рыб (Иевлева, 1982; 1985; Мурза, Христофоров, 1991). При этом специалисты указывали, что такая связь может быть характерна и для видов с коротким периодом речного развития (Иванков, 1985). Было установлено, что оказывая сходное воздействие на молодь рыб при различном состоянии гонад, можно добиться либо замедления (Чмилевский, 1982; 1985), либо, напротив, ускорения их полового созревания (Чмилевский, Лаврова, 1990) и другие.

За годы нашей работы (с 1989 по 2019 год) изученность процессов раннего гаметогенеза изменялась в разной степени. По-прежнему наиболее изучаемыми в разных аспектах остались вопросы дифференцировки пола (Kanamori, 1997; Guiguen et al., 1998; D'Cotta et al., 2001; Strussmann, Ito, 2005; Okutsu et al., 2006; Blanco-Vivas et al., 2011; Guerrero-Estevez, Moreno-Mendoza, 2012; Емельянова и др., 2013; Chen, Ge, 2013; Geffroy, Bardonnnet, 2016 и другие). В последние годы заметно увеличилось число работ с анализом гормональной регуляции этого процесса (Amano et al., 1998; Strussmann, Nakamura, 2002; Grandi et al., 2014). При этом если ранее инверсию пола, как естественную, так и индуцированную, рассматривали как частный случай дифференцировки пола и самостоятельно практически не изучали, то в последние 20-30 лет именно эта тема стала наиболее востребована специалистами (Selim et al., 2009; Sun et al., 2010; Navara, 2018 Senior, Nakagawa, 2013 и другие). Интерес к ней обусловлен двумя основными причинами, каждая из которых предусматривает большое практическое значение. С одной стороны, знание закономерностей инверсии пола необходимо для получения однополых поколений рыб разных видов, которые для товарного выращивания все шире применяются в

современной аквакультуре (Tuan et al., 1999; Afonso, Leboutte, 2003; Vinas et al., 2013). С другой стороны, эта тема стала актуальной в связи с анализом проблемы масштабной инверсии пола у рыб в естественных водоемах под воздействием различных поллютантов в пресных (Lambert, Janssen, 1995; Katsu et al., 2007) и морских водах (De Metrio et al., 2003; Kibrby et al., 2004; Sunobe, Nagiwara, 2013). Увеличился также интерес к исследованию индифферентного периода в развитии гонад (Евтихиева, 2002; Lewis et al., 2008; Tanaka et al., 2008; Селюков и др., 2010; 2016).

Остальные направления за эти годы пополнялись не так интенсивно, а некоторые темы – в немалой степени, нашими работами. Например, до настоящего времени крайне немногочисленными остаются данные о влиянии токсического воздействия на ход гонадо- и гаметогенеза у молоди рыб, полученные в ходе лабораторных экспериментов.

В последние годы заметно увеличилось число исследований ооцитов периода превителлогенеза, при этом полученные данные оказываются весьма разноплановыми. Например, появились новые сведения об организации ядра и цитоплазмы (Kobayashi, Iwamatsu, 1999; 2000; Guimares, Guagio-Grassiotto, 2001), о регулировании развития этих клеток половыми стероидными гормонами (Matsubara et al., 2003; Lokman et al., 2007; Falahatkar, 2015). Исследователям по-прежнему интересны вопросы структуризации ооцитов периода превителлогенеза (Abbasi et al., 2000; Журавлева и др., 2005; Kopiejewska, Szeserbowski, 2005), их численности (Bleil, Oeberst, 1998; Подушка, 1999; Coward, Bromage, 1999; Зайцева и др., 2010; 2017) и другие. Однако нам не были известны данные об исходном формировании их фонда или динамике пополнения из числа мейоцитов, что потребовало проведения специальной работы в этом направлении.

Наконец, в последние годы заметно пополнились данные по гаметогенезу тихоокеанских лососей (Анохина, 1999; Павлов и др., 2010; Артамонова и др., 2018 и другие), которые в силу целого комплекса причин не только в области репродуктивной биологии, но и в целом, являются едва ли не самой изучаемой группой рыб в мире. Этому способствуют широкое использование тихоокеанских лососей в качестве объекта промысла, их искусственное воспроизводство, и, следовательно, доступность для экспериментальных исследований (Fujiwara et al., 1997; Amano et al., 2001; Munakata et al., 2000; Fukada et al., 2003; Sopinka et al., 2016 и другие), а также то обстоятельство, что тихоокеанские лососи являются ресурсом стран с высокоразвитой фундаментальной и прикладной наукой – России, США, Канады и Японии. Однако в нашей области исследователей, главным образом, интересовало развитие ооцитов старшей генерации; динамике фонда гониев и мейоцитов внимания не уделяли. Имеющиеся же данные о

динамике пополнения унитарного фонда ооцитов (Грачев, 1971а, б) нашим представлениям противоречили.

С учетом всех сведений, полученных как другими авторами, так и нами, представленная работа является обобщением, имеющим на наш взгляд перспективы для дальнейшей разработки специалистами. Наиболее актуальными с точки зрения объема исследований остаются востребованные в современной аквакультуре работы в области дифференцировки и инверсии пола. Большие перспективы для дальнейших исследований открываются и при анализе влияния токсических соединений и естественных экологических факторов в экстремальном проявлении в связи с расширением масштаба научных и прикладных работ эко-токсикологической направленности.

### **Научная новизна**

Впервые показана невозможность полноценного перехода ооцитов в период превителлогенеза у самцов ювенильных протогинических гермафродитов. Выявлена волновая динамика формирования фонда ооцитов периода превителлогенеза при полициклическом типе воспроизводства. Показано, что в раннем онтогенезе у самок моноциклических лососевых осуществляется значительное перепроизводство половых клеток, которые в массе подвергаются резорбции. При этом стимулирование митотической активности гониев и начала новых мейотических циклов осуществляется пребыванием рыб в пресной воде. Показана динамика эстрадиола и тестостерона в процессе формирования унитарного фонда ооцитов периода превителлогенеза у моноциклических лососевых и возможность стимулировать развитие дополнительного числа половых клеток у них на разных этапах раннего онтогенеза. Увеличение числа половых клеток у самок полициклических рыб может быть стимулировано гормональным воздействием или содержанием рыб при умеренной токсичности. Воздействие, оказанное до начала превителлогенного роста ооцитов, может привести к увеличению абсолютной плодовитости, оказанное в момент начала роста ооцитов, напротив, к ее уменьшению, оказанное после начала роста ооцитов ни стимулирующего, ни явного негативного влияния на развитие гонад не оказывает. У молоди кеты продемонстрирована периодизация развития яичников при наиболее различных температурных режимах. Выявлена степень разнокачественности в состоянии ооцитов у молоди горбуши и кеты естественного и заводского происхождения и прослежена прямая связь между состоянием гонад у самок кеты в период катадромной миграции и возрастом полового созревания производителей.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Ооциты периода превителлогенеза в яичниках генотипических самцов круглоротых и рыб являются потенциально жизнеспособными, их резорбция определяется дефицитом гормонов-эстрогенов, применение которых предотвращает дегенерацию ооцитов и останавливает процесс инверсии пола.

2. У полициклических рыб вступление мейоцитов в период превителлогенеза и их дальнейший рост осуществляется группами, определяя волновой характер формирования репродуктивного фонда. У самок моноциклических лососевых с формированием единственной функциональной генерации ооцитов размножение гониев и инициирование новых мейотических циклов не прекращаются, не замедляются, стимулируются пребыванием в пресной воде; вновь образованные ооциты функциональную генерацию не пополняют и подвергаются тотальной резорбции.

3. Стимулировать увеличение плодовитости у самок моноциклических и полициклических рыб можно, оказывая на них гормональное или умеренно токсичное воздействие до перехода мейоцитов в период превителлогенеза. После формирования фонда ооцитов периода превителлогенеза эти же воздействия явного негативного или стимулирующего влияния на развитие яичников не оказывают.

4. Уровень развития яичников у молоди кеты перед выпуском с рыбоводных предприятий в среднем существенно различается, не зависит от массы рыб, обусловлен суммой накопленных за период выращивания температур и связан с возрастом полового созревания производителей.

### **Практическая значимость**

Главным практическим итогом выполненных работ, имеющих перспективы при проведении исследовательских работ экологической направленности, в том числе экспертного плана, является анализ изменения фонда половых клеток у молоди рыб при его различном клеточном составе в ответ на влияние внешних факторов, в том числе гормональное и токсическое воздействие. При этом полученные результаты позволяют прогнозировать как непосредственные, так и отсроченные последствия внешнего воздействия на репродуктивную функцию рыб.

Практическая значимость полученных результатов определяется их преимущественным получением на рыбах, являющихся объектом промысла и заводского разведения. У молоди двух основных объектов лососевого промысла – горбуши и кеты – в условиях их современного выращивания на рыбоводных заводах при максимально

различных температурных режимах определена периодизация раннего гаметогенеза: начало дифференцировки пола и перехода ооцитов в период превителлогенеза, завершения естественной инверсии пола у самцов горбуши. Определена связь между началом и завершением качественно разных этапов в развитии гонад у молоди горбуши и кеты с этапами эмбрионально-личиночного развития, имеющая значение для дальнейшего совершенствования биотехники разведения этих рыб, в том числе с применением температурных и/или гормональных манипуляций. Определена связь между состоянием гонад у самок кеты в период выпуска с рыбоводных заводов и миграции с естественных нерестилищ с возрастом полового созревания производителей, предоставляющая как дополнительный критерий для его прогнозирования, так и возможности для его изменения. Выращивание радужной форели при температуре 19-20°C представляет дополнительную информацию в связи с расширяющейся практикой ее выращивания за пределами естественного ареала в странах с тропическим климатом. Полученные нами данные по выращиванию каспийской кумжи и онежской формы атлантического лосося в ходе формирования маточных стад этих видов способствуют совершенствованию биотехники их заводского выращивания.

#### **Апробация работы**

Материалы диссертации были представлены на 8 конф. по экологической физиологии и биохимии рыб. Петрозаводск, 30 сентября – 2 октября 1992 г.; на пятом всероссийском совещании «Систематика, биология и биотехника разведения лососевых рыб» в Санкт-Петербурге, 1994 г.; на межд. конф. «Фундаментальные и прикладные проблемы защиты окружающей среды», Томск, 12-16 сентября 1995 г.; на межд. конф. «Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского севера», 19-23 ноября 1995 г.; на всеросс. Совещании «Экологические проблемы севера европейской территории России». Апатиты, 11-15 июня 1996 г.; на симпозиуме по осетровым рыбам «Culture and management of sturgeon and paddlefish» в университете Сан-Франциско, 14-18 июля 1996 г.; на Первом конгрессе ихтиологов России, Астрахань, 1997 г.; на Всеросс. симп. «Возрастная и экологическая физиология рыб», Борок, 1998 г.; на семинаре «Виды-вселенцы в европейских морях России», Мурманск, 27-28 января 2000 г.; на 8-ой науч. конф. «XXI век: молодежь, экология, ноосфера и устойчивое развитие», Санкт-Петербург, 2000 г.; на 5-ой всеросс. конф., посвящ. 75-летию А.Л.Поленова «Нейроэндокринология - 2000», Санкт-Петербург, 18-20 апреля 2000 г.; на симп., посвящ. 100-летию Н.Л.Гербильского «Экологические и функциональные основы адаптации гидробионтов»,

Санкт-Петербург, 2000 г.; на симп. «Czlowiek I srodowisko przyrodnicze pomorza zachodniego». Szczecin, 15-17 ноября 2001 г.; на Всеросс. конф. «Ранние этапы развития гидробионтов как основа формирования биопродуктивности и запасов промысловых видов в Мировом океане», Москва, 2001 г.; на «21-st Conference of European Comparative Endocrinologists», University of Bonn, 26-30 августа 2002 г.; на Всеросс. конф. «Современные проблемы водной токсикологии», Борок, 19-21 ноября 2002 г.; на отчетной научной сессии ЗИН РАН по итогам работ 2003 г., Санкт-Петербург, 6-8 апреля 2004 г.; на межд. конф. «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов», Петрозаводск, 6-9 сентября 2004 г.; на III, IV, VIII, IX, XII, XX научной сессии морской биологической станции Санкт-Петербургского государственного университета в 2002, 2003, 2007, 2008, 2011, 2019 гг.; на «5<sup>th</sup> International Symposium Fish Endocrinology», Castellon (Spain), 5-9 сентября 2004 г.; на IX межд. конф. «Проблемы изучения, рационального использования и охраны ресурсов Белого моря», Архангельск, 11-14 октября 2004 г.; на межд. конф. памяти проф. Б.А.Флерова «Современные проблемы водной токсикологии», Борок, 20-24 сентября 2005 г.; на конф. «Aquaterra-2005», Санкт-Петербург, 14-16 июня 2005 г.; на 2-ой межд. конф. «Экологические исследования беломорских организмов», Санкт-Петербург, 18-22 июля 2007 г.; на Всеросс. конф. «Водные и наземные экосистемы: проблемы и перспективы исследований», Вологда, 24-28 ноября 2008 г.; на научн. конф. «Экологические проблемы Севера», Архангельск, 11-13 марта 2008 г.; на конф. «Воспроизводство тихоокеанских лососей», Южно-Сахалинск, 16-17 мая 2012 г.; на VII конф. «Океанологические исследования», Владивосток, 16-20 мая 2016 г.; на межд. конф. «Лососевые рыбы: биология, охрана и воспроизводство», Петрозаводск, 18-22 сентября 2017 г.; на конф. «Современное состояние и перспективы развития лососевого хозяйства на Дальнем Востоке России», Южно-Сахалинск, 7-8 ноября 2017 г.; на конф. «Искусственное воспроизводство тихоокеанских лососей на Дальнем Востоке России», Южно-Сахалинск, 29-30 мая 2018 г.; на VIII конф. «Чтения памяти проф. В.Я. Леванидова». Владивосток, 18-20 марта 2019 г.

### **Публикации**

По теме диссертации подготовлено 118 публикаций – 68 статей и 50 тезисных сообщений. Из них 43 статьи опубликованы в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 371 странице машинописного текста, состоит из введения, 8 глав, выводов и списка литературы. Работа содержит 41 таблицу, 31 график и схему, а также 249 микрофотографий. Список цитированной литературы включает 812 публикаций.

### **Благодарности**

За 32 года, которые прошли с момента начала моей учебы в Санкт-Петербургском государственном университете, затем обучении в аспирантуре и последующей работе на кафедре ихтиологии и гидробиологии, мне оказывали помощь и поддержку многие специалисты. Благодаря их труду и заботе в конечном итоге и состоялась представленная диссертационная работа.

В первую очередь я хочу выразить признательность моему научному консультанту профессору Тюменского государственного университета А.Г.Селюкову за большой труд в редактировании рукописи и ценные советы. Я очень благодарен моему студенческому руководителю Д.А.Чмилевскому и моим многолетним учителям К.Е.Федорову и Ю.К.Кузнецову, чей вклад в мое развитие, как специалиста является бесценным.

Я хочу выразить особую признательность моему многолетнему соавтору М.В.Мосягиной, а также преподавателям и коллегам по кафедре за многолетнее обсуждение проведенных работ: Л.С.Краюшкиной, Н.В.Максимовичу, Г.Л.Травкиной, И.А.Стогову, А.В.Герасимовой, Д.Л.Лайусу, П.П.Стрелкову, М.В.Иванову, Т.С.Ивановой, Н.В.Поляковой, Е.А.Мовчан, Ю.А.Феклову, С.Ю.Анацкому. Я хочу поблагодарить всех моих учеников за совместный труд и особо отметить Е.Г.Оставную, Г.Е.Лунева, Е.В.Сабанову, К.В.Ивлева, В.С.Коломыцева.

Будучи преподавателем университета, я общался с коллегами из различных исследовательских институтов. Мы выполняли совместные научные работы и обсуждали полученные результаты. За эти работы и это общение я хочу отдельно поблагодарить Е.А.Дорофееву, В.М.Голода, Т.Б.Семенкову, Л.В.Баюнову, В.Н.Лемана, Е.Н.Артюхина, И.А.Баранникову, И.В.Тренклера, П.Е.Гарлова, А.А.Герасимова. Большое спасибо сотрудникам лаборатории за помощь в проведении лабораторных исследований: А.А.Ивойлову, Н.В.Пименовой, Н.А.Тихомировой.

Отдельно хочется поблагодарить специалистов управления ФГБУ «Сахалинрыбвод», работников рыбоводных заводов, ихтиологов, сотрудников различных учреждений, которые в течение 22 лет оказывали мне помощь в сборе материалов на

рыбоводных заводах и в природной среде: Г.С.Рудакову, В.Г.Самарского, К.А.Проскурякова, С.И.Борзова, М.С.Мякишева, С.С.Макеева, А.А.Ворожцову, В.П.Погодина, Л.К.Федорову, Е.Д.Романчук, В.Е.Дубровскую, С.В.Сидорову, Т.Н.Любаеву, В.Я.Любаева, О.А.Барковскую.

Я сердечно благодарен моим родителям И.А.Зеленниковой и В.В.Зеленникову за постоянную помощь и неизменную поддержку.

## **Глава 1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **1.1. Модельные объекты для проведения исследований**

Все материалы, представленные в диссертации, были получены при работе с разновозрастными особями 15 видов круглоротых и рыб: речной и ручьевой миноги, русского осетра, дальневосточной сардины, радужной форели, атлантического лосося онежской популяции, каспийского лосося, шести видах тихоокеанских лососей – горбуши, кеты, нерки, кижуча, чавычи и симы, данио рерио и мозамбикской тилляпии. Часть материалов получили в ходе проведения лабораторных экспериментов, преимущественно, в лаборатории экспериментальной ихтиологии Санкт-Петербургского государственного университета. Кроме этого, рыб получали на рыбоводных заводах, отбирали из промысловых уловов и отлавливали в естественной среде.

Личинок речной и ручьевой миноги, а также взрослых особей ручьевой миноги отлавливали в реке Черная Ломоносовского района Ленинградской области.

Личинок русского осетра в возрасте 1 сут. перевезли с Бертюльского рыбоводного завода (Астраханская область) в лабораторию, где выращивали до начала исследования.

Молодь радужной форели (ропшинской породной группы) для проведения экспериментов получали в Федеральном селекционно-генетическом центре рыбоводства ФСГЦР «Ропша». При выращивании в условиях этого хозяйства исследовали гаметогенез атлантического лосося онежской популяции и кумжи каспийской популяции.

Молодь мозамбикской тилляпии получили из модельной коллекции этого вида, созданной в лаборатории экспериментальной ихтиологии СПбГУ более 50 лет назад (Ивойлов, 1986).

Молодь данио рерио, как одного из самых востребованных модельных видов, в течение последних 15 лет культивируется на биологическом факультете СПбГУ.

Молодь горбуши, кеты, кижуча, симы, а также гибридов симы и горбуши для проведения экспериментальных исследований завозили в лабораторию экспериментальной ихтиологии с различных лососевых рыбоводных заводов (ЛРЗ): Анивского, Березняковского, Буюкловского (все Сахалинская область), Выгского (республика Карелия) и Ольской экспериментально-производственной акклиматизационной базы (Магаданская область). Зародышей перевозили в термостатированных ящиках в период эмбрионального развития на стадии пигментации глазных бокалов. Часть экспериментов на молоди тихоокеанских лососей была выполнена непосредственно на рыбоводных заводах – Анивском, Курильском и Бухта Оля; для проведения экспериментов использовали инкубационные боксы.

Помимо получения материалов в ходе проведения экспериментов, рыб для исследования фиксировали непосредственно на рыбоводных заводах, а также отлавливали в водотоках, озерах, прибрежных участках на территории Сахалинской, Камчатской, Архангельской областей и республики Карелия.

Дальневосточную сардину отбирали из промысловых уловов в районе острова Шикотан (Сахалинская область).

## **1.2. Программа экспериментальных работ**

Все эксперименты были выполнены на молоди русского осетра, радужной форели, мозамбикской тиляпии, а также на молоди четырех видов тихоокеанских лососей – горбуше, кете, кижуче и сима. Продолжительность опытов составила от четырех недель до двух лет.

В экспериментах с 1-го по 8 (15 вариантов) зародышей и личинок горбуши обрабатывали гормональными препаратами в разном возрасте и при различном состоянии гонад.

В опытах 1, 2 (четыре варианта) и 3 зародышам горбуши в период эмбрионального развития (за 48 и 19 сут. до вылупления) или непосредственно после вылупления в желточный мешок инъецировали 1%-й масляный раствор тестостерона-пропионата в различной концентрации (рис. 1.1).

В опыте 4, с целью выяснить влияние масляной основы гормонального препарата на ход развития гонад, молоди горбуши в возрасте 14 сут. инъецировали в желточный мешок 3 мкл оливкового масла.

В опытах 5 и 6 (по три варианта), а также 7 и 8 зародышам и личинкам горбуши инъецировали в желточный мешок 0,1%-й масляный раствор эстрадиола-дипропионата в различных дозах, возрасте и при различном состоянии гонад: за 22 сут. до вылупления (оп 5.1 и 5.2), непосредственно после вылупления – в возрасте 1 сут. (оп 5.3 и 6.1) или с началом «подъема на плав» в возрасте 14-16 сут. (оп 6.2, 6.3, 7 и 8). В ходе гормональной обработки применяли от одной до двух (оп 5.2) и трех (оп 5.3) инъекций и объем от 3 до 20 мкл (рис. 1.1). Во всех экспериментах с 1 по 8 гормональный препарат вводили зародышам горбуши в желточный мешок при помощи стеклянного капилляра; зародышам в контрольных вариантах делали прокол капилляром желточного мешка.

В опыте 9 молодь форели с началом плавания и переходом на активное питание в возрасте 16 сут в течение 7 сут выдерживали в воде с раствором тестостерона и затем в обычных условиях выращивали до возраста 90 сут (рис. 1.2).

№№ опыта	Объем инъекции	Доза гормона	Возраст до инъекции	Возраст после инъекции
1. Контроль	—	—	-48	1
1.	3 мкл	1%	-48	1
2. Контроль	—	—	-19	57
2.1.	---	0,001%	-19	57
2.2.	---	0,01%	-19	57
2.3.	---	0,1%	-19	57
2.4.	---	1%	-19	57
3. Контроль	—	—		1
3.	---	1%		1
4. Контроль	—	—		14
4.	---	Масло		14
5. Контроль	—	—	-22	35
5.1.	---	0,1%	-22	25
5.2.	---	0,1%	-22	1
5.3.	---	0,1%	1	7-14-25-35
6. Контроль	—	—		1
6.1.	---	0,1%		1
6.2.	---	0,1%		14
6.3.	20 мкл	0,1%		14
7. Контроль	—	—		16
7.	15 мкл	0,1%		16
8. Контроль	—	—		14
8.	3 мкл	0,1%		14

**Рис. 1.1.** Схема опытов, в которых зародышам и личинкам горбуши делали инъекцию тестостерона-пропионата (опыты 1-3), оливкового масла (опыт 4) и эстрадиол-дипропионата (опыты 5-8). Цифрами обозначен возраст рыб до (с минусом) или после вылупления. Красным цветом отмечен возраст рыб в момент инъекции гормона.

В опытах с 10 по 16 на молодь горбуши, кижуча, кеты и симы также оказывали гормональное воздействие, но гормональные препараты задавали с кормом.

В опыте 10 и 11 (2 варианта) молоди горбуши в разном возрасте задавали с кормом эстрадиол-дипропионат. Период гормонального воздействия показан двойной чертой, а период содержания в обычных условиях – пунктирной (рис. 1.2).

В опытах 12 (4 варианта) и 13 (3 варианта) молодь кижуча выращивали, добавляя в корм эстрадиол-17 $\beta$  в различных концентрациях и при различном состоянии гонад.

В опыте 14 молодь кеты с началом экзогенного питания выращивали, добавляя в корм эстрадиол-17 $\beta$ . Воздействие начали, используя концентрацию 100 мг/кг корма, постепенно понизив ее до 15 мг/кг корма к концу эксперимента.

В опытах 15 и 16 аналогичное воздействие, но только с применением вновь 0,1%-го масляного раствора эстрадиола-дипропионата, была проведено на молоди симы.

В отличие от всех предыдущих опытов, эксперименты 14 и 15-16 были проведены непосредственно на рыбоводных заводах – ЛРЗ Бухта Оля и ЛРЗ Курильский соответственно. Для опытов использовали инкубационные боксы, а в качестве моделей для работы молодь в возрасте 0+ и 1+, выращенную в заводских условиях при естественном для о. Итуруп сезонном изменении температуры.

№№ опыта	Доза гормона мг/кг корма (* мг/кг)		
9. Контроль	0	16-----	90
9.	30*	<b>16==23</b> -----	90
10. Контроль	0	62-----	92
10.	50	<b>62=====92</b>	
11. Контроль	0	72-----	144
11.1.	100	<b>72===109</b> -----	144
11.2.	100	<b>72=====144</b>	
12. Контроль	0	58-----	128
12.1.	20	<b>58=====84</b> -----	128
12.2.	20	<b>58=====99</b> ---	128
12.3.	100	<b>58=====84</b> -----	128
12.4.	100	<b>58=====99</b> ---	128
13. Контроль	0	178-----	204
13.1.	20	<b>178==185</b> -----	204
13.2.	20	<b>178===195</b> -----	204
13.3.	20	<b>178=====204</b>	
14. Контроль	0	114-----	218
14.	100-15	<b>114 =====218</b>	
15. Контроль	0	335---	363
15.	100	<b>335===363</b>	
16. Контроль	0	702-----	730
16.	100	<b>702=====730</b>	

**Рис. 1.2.** Схема опытов, в ходе которых молодь форели (опыт 9) выдерживали в воде с добавлением гормона, а молоди горбуши (опыты 10 и 11), кижуча (опыт 12 и 13), кеты (опыт 14) и симы (опыты 15 и 16) замешивали в корм тестостерон-пропионат (опыт 9), эстрадиол-дипропионат (10, 11, 15 и 16) и эстрадиол-17 $\beta$  (опыты 12, 13 и 14). Цифрами обозначен возраст рыб. Красным цветом и двойной чертой (==) обозначены периоды гормонального воздействия.

В опытах с 17 по 20 (7 вариантов) личинок и молодь мозамбикской тилапии, русского осетра и горбуши выдерживали в воде пониженной кислотности (рис. 1.3).

В опыте 21 (6 вариантов) молодь кеты в разном возрасте и при различном состоянии гонад выдерживали при пониженной температуре – 1,3-1,8°C в течение 14-16 сут. Рыб контрольного варианта, а также подопытных вариантов до- и после температурного воздействия содержали при температуре 10-12°C.

№№ опыта	рН воды	Возраст рыб	Периоды кислотного воздействия
17. Контроль	рН 8,0	20-----150	
17.	рН 4,0	<b>20=====50</b> -----150	
18. Контроль	рН 7,8	22-----171	
18.1.	рН 4,0	<b>22=====45</b> -----171	
18.2.	рН 4,0	<b>22=====60</b> -----171	
19. Контроль	рН 7,4	165-----220	
19.	рН 4,4.	<b>165=====190</b> -----220	
20. Контроль	рН 7,8	1-----63	
20.1.	рН 4,6	<b>1=====63</b>	
20.2.	рН 4,6	<b>1=====25</b> -----63	
20.3.	рН 4,6	<b>25 =====63</b>	

**Рис. 1.3.** Схема опытов, в ходе которых молодь мозамбикской тилапии (опыты 17 и 18), русского осетра (опыт 19) и горбуши (опыт 20) выдерживали при пониженной кислотности воды. Цифрами обозначен возраст рыб. Красным цветом и двойной чертой (====) обозначены периоды кислотного воздействия.

№№ Опыта	Возраст рыб	Периоды кислотного воздействия
21. Контроль	-9-----1-----5-----14---23---28-----37-----42--48--54-----62--/--112	
21.1.	<b>-9=====5</b> -----/--112	
21.2.	----- <b>1=====14</b> -----/--112	
21.3.	----- <b>23=====37</b> -----/--112	
21.4.	----- <b>28=====42</b> -----/--112	
21.5.	----- <b>37=====54</b> -----/--112	
21.6.	----- <b>48=====62</b> --/--112	

**Рис. 1.4.** Схема опытов, в ходе которых зародышей и личинок кеты выдерживали при пониженной температуре от 1,3 до 1,8°C (====). Цифрами указан возраст рыб до (с минусом) и после пика вылупления.

Кроме перечисленных опытов, обозначенных на схемах (рис. 1.1-1.4), провели еще ряд экспериментов, в которых рыб содержали в необычных для них условиях или исследовали гибридных особей. Так, в опытах 22 и 23 молодь горбуши, выращенную на Анивском ЛРЗ (оп 22), после выпуска всей партии, и молодь от естественного нереста, пойманную в реке Быстрой непосредственно в период естественного ската (оп 23), дополнительно подращивали на рыбоводном заводе в течение 45 и 16 сут соответственно.

В опытах 24 и 25 радужную форель от вылупления по полового созревания содержали при стабильных температурных условиях 16-17°C в течение 640 сут и 19-20°C в течение 686 сут соответственно.

Наконец, еще в двух опытах исследовали гибридов горбуши и симы, когда икру горбуши осеменяли спермой симы (оп 26) и наоборот икру симы – спермой горбуши (оп 27).

Гидрохимические параметры воды при проведении опытов в изолированных емкостях (аквариумах, ваннах, бассейнах) и содержании рыб в системе с оборотным водоснабжением в лаборатории выдерживали согласно имеющимся для разных групп рыб рекомендациям (Алабастер, Ллойд, 1984). Жесткость воды (по  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$ ) – 11-31 мг/л,  $\text{Fe}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$  – 0,78-0,86 мг/л, щелочность (по  $\text{HCO}_3^-$ ) – 3,1 мг/л,  $\text{O}_2$  – 7,3-11,2 мг/л,  $\text{NH}_4^+$  – 0,16-0,65 мг/л. Содержание  $\text{NH}_4^+$  всегда измеряли перед утренней сменой воды, не удаляя сульфиды. Для подкисления воды в опытах с пониженной кислотностью использовали концентрированную серную кислоту, наиболее широко применяемую в таких работах (Tam et al., 1987; 1988; 1990). Чтобы не допустить резкого изменения значения pH, подкисление сменной воды осуществляли заранее.

### **1.3. Сбор материала на рыбоводных заводах и в полевых условиях**

В период с 1997 по 2019 гг. исследовали молодь шести видов тихоокеанских лососей, которых, в связи с решением различных задач, фиксировали на разных этапах онтогенеза и, соответственно, при различном состоянии половых желез. При этом значительная часть рыб была взята для исследования на рыбоводных заводах, как в течение полного периода выращивания зародышей, личинок и мальков, так и на завершающих этапах их содержания. Помимо молоди, выращенной на рыбоводных заводах, исследовали молодь от естественного нереста, которую отлавливали в водотоках, озерах и прибрежных участках. Исследовали молодь:

– **горбуши**, взятой на ЛРЗ Тымовское, Нитуй, Поречье, Лазовой, Пугачевский, Тихая, Мануй, Фирсовка, Бахура Долинка, Соколовский, Березняковский, Лесной, Монетка, Игривая, Таранайский, Анивский, Красноярка, Урожайный, Скальный, Рейдовый, Бухта Оля, Китовый, Курильский, Куйбышевский, а также отловленной в реках Тымь, Пугачевка, Бахура, Очепуха, Таранай, Быстрая, Семга, Рейдовая, Крохалина, Рыбацкая и заливах Простор и Курильский (все Сахалинская область; рис. 1.5 и 1.6), ЭПАБ Ольская (Магаданская обл.), в реке Большая (Камчатская обл.);

– **кеты**, взятой на ЛРЗ Адо-Тымовский, Побединский, Залом, Соколовский, Охотский, Таранайский, Анивский, Ясноморский, Калининский, Сокольниковский, Рейдовый, Бухта Оля, Курильский, а также отловленной в реках Тымь, Ударница, Курилка, ручье Побединский, озере Сопочное, заливе Курильский (все Сахалинская область; рис. 1.5 и 1.6) и реке Большая (Камчатская обл.).

– **нерки**, взятой на ЛРЗ Охотский и отловленной в озерах Сопочное (Сахалинская область) и Курильское (Камчатская область);

– **кижуча**, взятого на ЛРЗ Охотский и Буюкловский и отловленного в озере Сопочное (Сахалинская область);

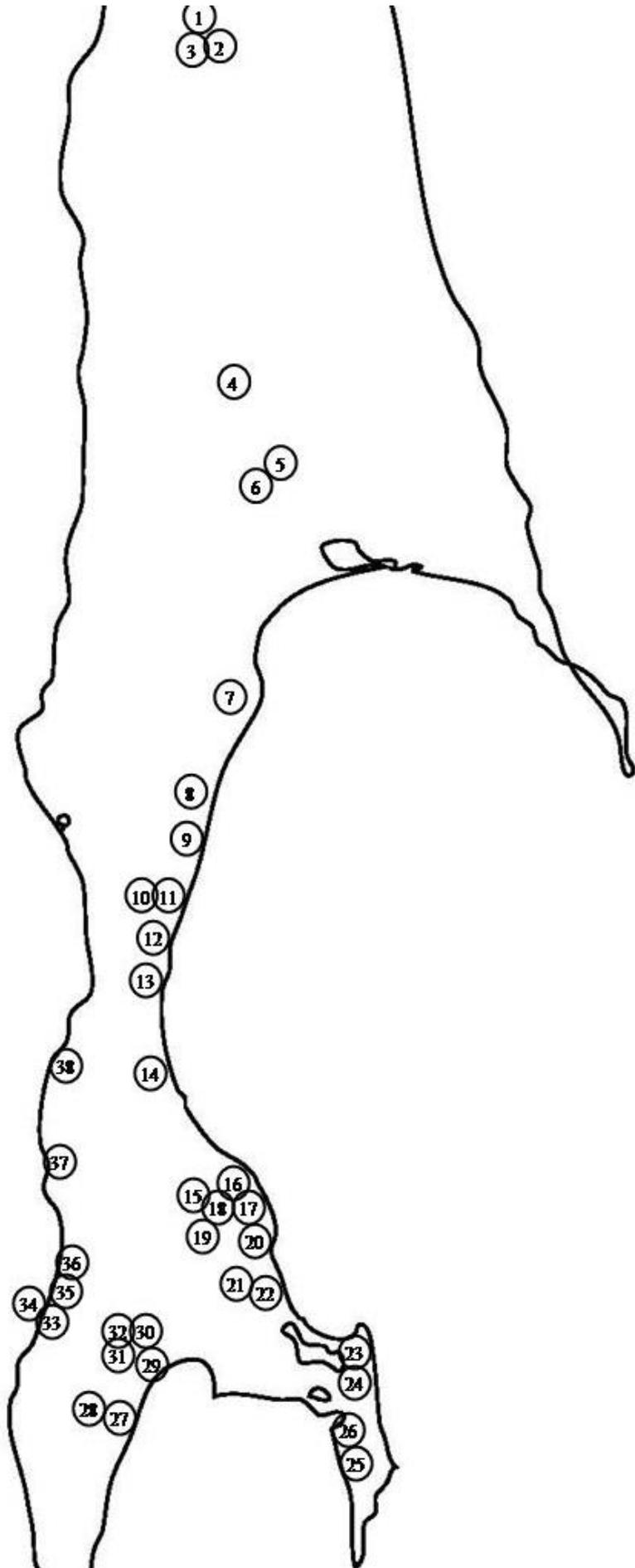
– **симы**, взятой на ЛРЗ Анивский и Рейдовый и отловленной в реке Лютога (Сахалинская область);

– **чавычи**, взятой на ЛРЗ на Малкинский и отловленной в реке Большая (Камчатская область).

Таким образом, абсолютное большинство всех материалов, взятых на рыбоводных предприятиях и в естественной среде, было собрано на территории Сахалинской области (рис. 1.5 и 1.6).

#### **1.4. Методика обработки материалов и анализа данных**

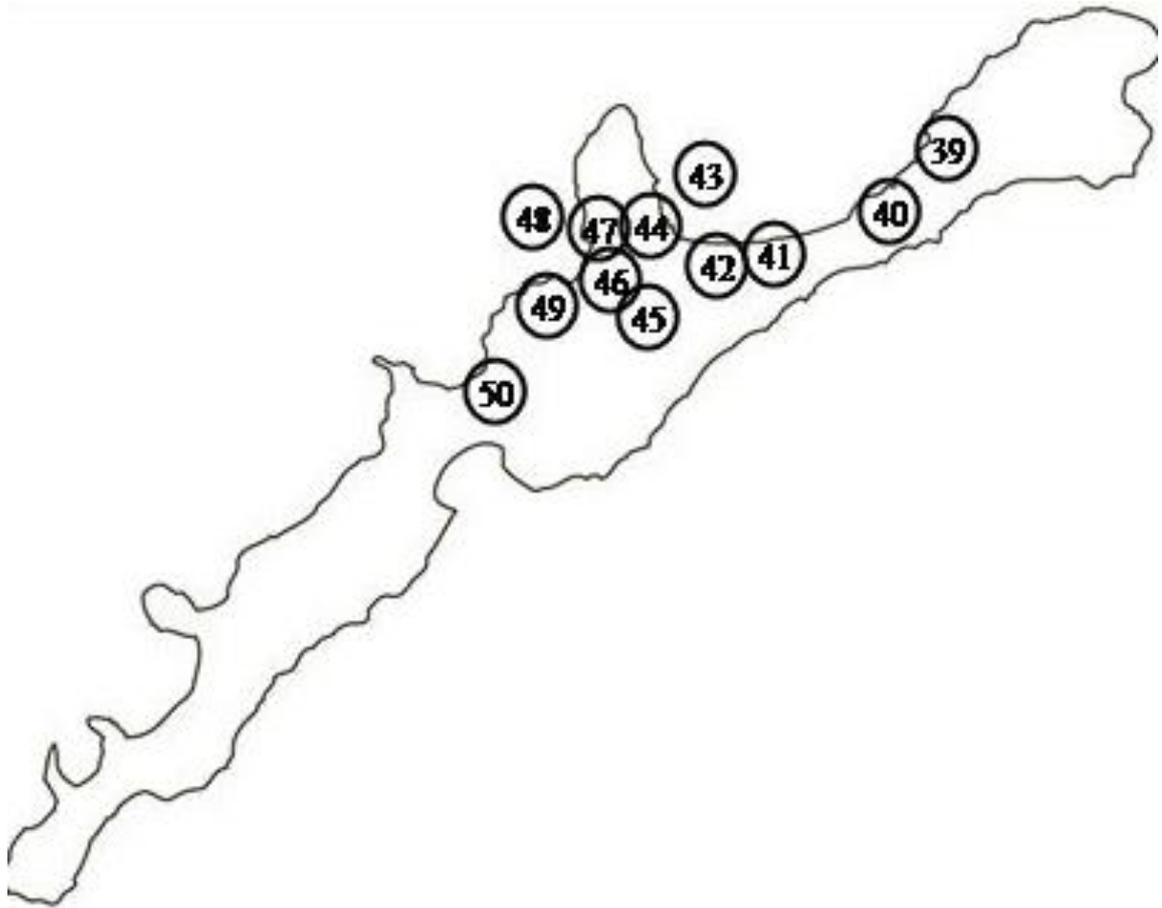
Половые железы рыб, пойманных в естественной среде и взятых на рыбоводных заводах, контрольных и подопытных особей и рыб, выращиваемых в лабораторных условиях, фиксировали в жидкостях Буэна или Серра и обрабатывали гистологически согласно общепринятым методикам (Роскин, Левинсон, 1957; Микодина и др., 2009). При приготовлении гистологических препаратов для каждой особи получали от 50 до 200 серийных срезов толщиной 5 мкм и окрашивали их железным гематоксилином по



0

**Рис. 1.5.** Схема расположения рыбоводных заводов, участков рек, озер и морского побережья на острове Сахалин, где осуществляли отлов молоди тихоокеанских лососей.

1. ЛРЗ Адо-Тымовский; 2. ЛРЗ Тымовское; 3. Река Тымь; 4. ЛРЗ Буюкловский; 5. ЛРЗ Побединский ЛРЗ; 6. Ручей Побединский; 7. ЛРЗ Нитуй; 8. ЛРЗ Поречье; 9. ЛРЗ Лазовая; 10 ЛРЗ Пугачевский; 11. Река Пугачевка; 12. ЛРЗ Тихая; 13. ЛРЗ Мануй; 14. ЛРЗ Фирсовка; 15. ЛРЗ Залом; 16. ЛРЗ Бахура; 17. Река Бахура; 18. ЛРЗ Соколовский; 19. ЛРЗ Березняковский; 20. ЛРЗ Долинка; 21. Река Очепуха; 22. ЛРЗ Лесной; 23. Река Ударница; 24. ЛРЗ Охотский; 25. ЛРЗ Монетка; 26. ЛРЗ Игривая; 27. Река Таранай; 28. ЛРЗ Таранайский; 29. Река Лютога; 30. ЛРЗ Анивский; 31. Река Быстрая; 32. Река Семга; 33. ЛРЗ Ясноморский; 34. Пролив Татарский; 35. ЛРЗ Сокольниковский; 36. ЛРЗ Калининский; 37. ЛРЗ Красноярка; 38. ЛРЗ Урожайный.



**Рис. 1.6.** Схема расположения рыбоводных заводов, участков рек, озер и морского побережья на острове Итуруп, где осуществляли отлов молоди тихоокеанских лососей.

39. ЛРЗ Скальный; 40. Озере Сопочное; 41. ЛРЗ Рейдовый; 42. Река Крохалина; 43. Залив Простор; 44. ЛРЗ Бухта Оля; 45. ЛРЗ Курильский; 46. Река Курилка; 47. ЛРЗ Китовый; 48. Залив Курильский; 49. Река Рыбацкая; 50. ЛРЗ Куйбышевский.

Гейденгайну. В некоторых случаях докрашивали эозином или кислым фуксином (в последнем случае окраску фиксировали в растворе фосфорно-молибденовой кислоты).

Для исследования стероидсекреторных клеток (СК) фиксацию гонад проводили в 6%-ном глутаральдегиде на какодилатном буферном растворе (pH 7,2–7,4) в течение 2 ч при 4°C. Затем после промывки материал дофиксировали в 1%-ном растворе OsO<sub>4</sub> на том же буфере и после обезвоживания в спиртах и ацетоне заливали в Эпон–812. Полутонкие срезы окрашивали метиленовым синим. Ультратонкие срезы контрастировали уранил-ацетатом и цитратом свинца (Миронов и др., 1994). Готовые препараты просматривали на электронном микроскопе BS-500 (Tesla, Чехия).

Стероидсекреторные клетки в гонадах идентифицировали по характерным для них ультраструктурным признакам, в частности, наличию: митохондрий с трубчато-везикулярными кристами, агранулярного эндоплазматического ретикулума и липидных включений (Lofts, Vern, 1972). Именно в клетках с такими признаками у молоди рыб был выявлен фермент стероидогенеза 3 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназа (Семенов, 1989, 1996). Для оценки функциональной активности стероидсекреторных клеток проводили количественный анализ, в ходе которого измеряли диаметры самих клеток, их ядер, диаметры митохондрий, канальцев эндоплазматического ретикулума и липидных включений, а также вычисляли относительные объёмные плотности этих структур (Weibel 1969). Средние диаметры клеток полигональной формы, локализованных в строме, были рассчитаны как полусумма большого и малого диаметра (Alam et al. 2006). Средние диаметры клеток уплощенной вытянутой формы, находящихся в составе эпителия гонад и оболочек ооцитов (теки и гранулезы), представляли по наибольшему и наименьшему диаметру. В дальнейшем сравнения делали для каждой группы клеток отдельно. Все измерения проводили по фотографиям, переведённым в цифровые изображения. Для каждой исследованной особи измеряли срезы не менее чем 25 стероидсекреторных клеток.

Половые стероидные гормоны определяли в гомогенате тканей, применяя иммуноферментный твердофазный анализ (ELISA) с использованием модифицированных коммерческих наборов (Алкорбио, Санкт-Петербург) (Semenkova et al., 2002).

Полученные данные обрабатывали статистически. Достоверность различий средних показателей определяли по t-критерию Стьюдента. Размерно-массовые параметры мальков разных мест отлова сравнивали, применяя непараметрический критерий Манн-Уитни. Поскольку рыболовные заводы различались по температурным условиям, предполагалась связь между суммарным количеством полученного молодью

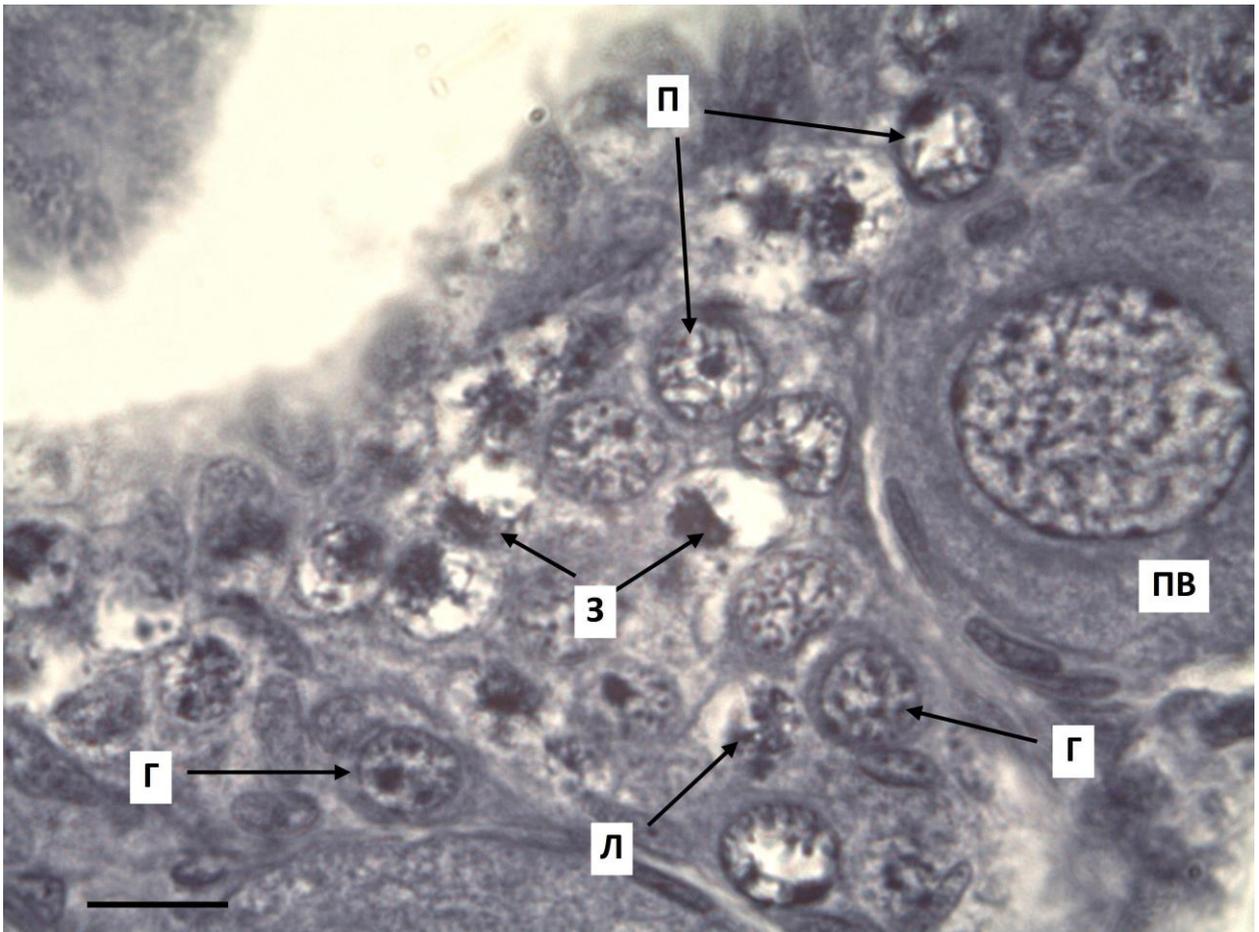
тепла (сумма градусо-дней) и параметрами состояния гонад, для изучения которой использовали корреляционный и регрессионный анализы. Определяли ранговый коэффициент корреляции Спирмена и коэффициент парной корреляции Пирсона. В случае статистически значимой сильной корреляционной связи (коэффициент корреляции Пирсона больше 0.7) зависимость между переменными описывали с помощью уравнения парной линейной регрессии. Для оценки прогностической значимости и достоверности регрессионных моделей использовали коэффициент детерминации  $R^2$ .

### **1.5. Методика количественного исследования фонда ооцитов в раннем онтогенезе**

Предметом исследования в работе являются половые клетки трех первых периодов развития, которые формируются в гонадах у молоди рыб – первичные половые клетки и гонии, ооциты периодов ранней профазы мейоза и периода превителлогенеза (рис. 1.7), темп роста этих клеток и динамика их фонда в связи со становлением ряда дефинитивных параметров воспроизводительной системы у рыб.

Первичные половые клетки (ППК) в работе фигурируют нечасто, поскольку появляются в гонадах у рыб однократно на самых ранних этапах онтогенеза и у рыб с относительно непродолжительным периодом наступления полового созревания (до трех лет) исключительно в период эмбрионального развития. В отличие от ППК, гонии, а также ооциты периодов ранней профазы мейоза (мейоциты) и превителлогенеза появляясь у молоди рыб, присутствуют в гонадах длительное время, у самок полициклических рыб возобновляются в течение всей жизни и составляют резервный фонд половых клеток.

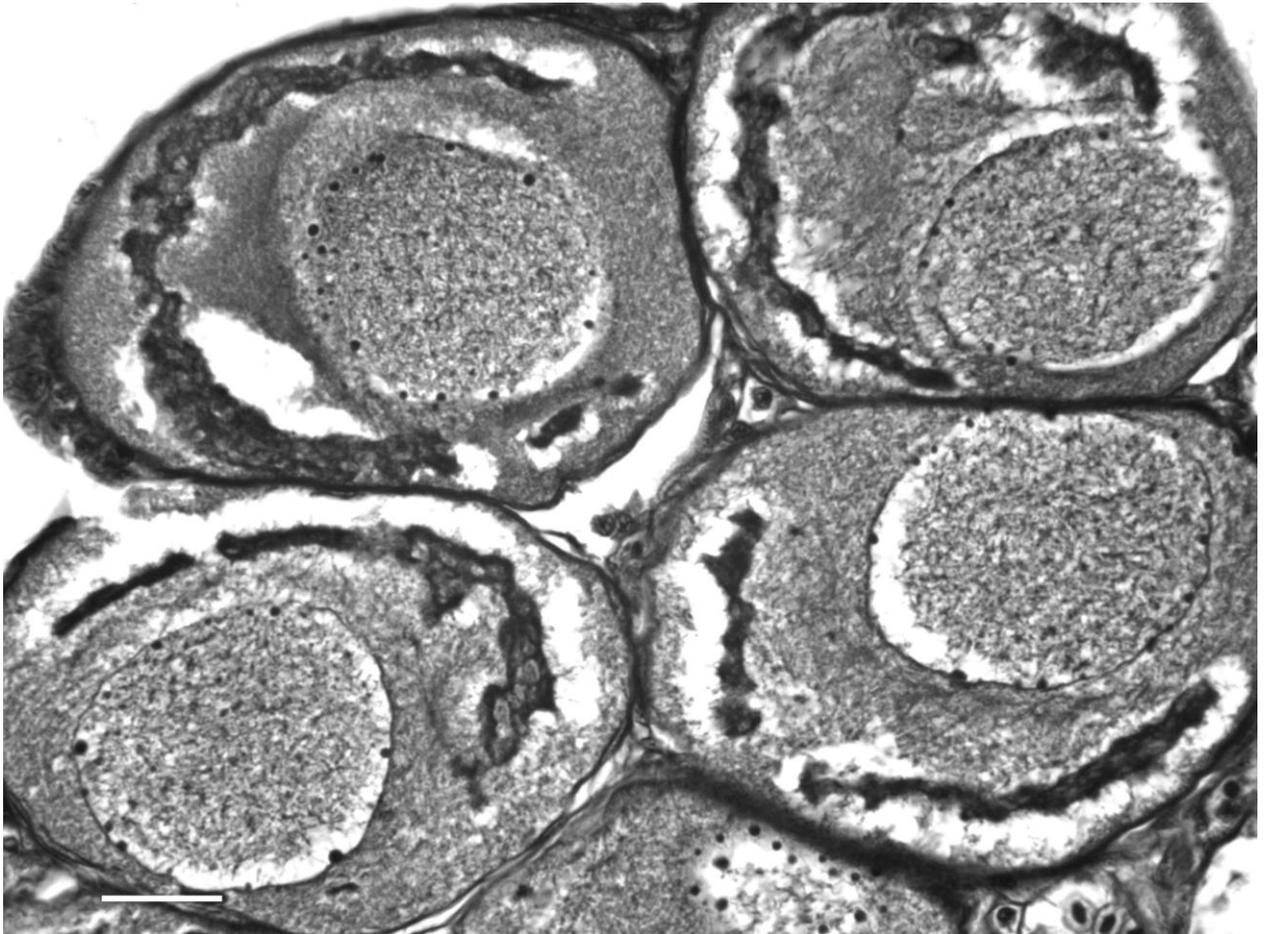
Ооциты периода ранней профазы мейоза разных стадий, как правило, хорошо различаются по внешнему виду хромосом. Объективной же трудностью при исследовании превителлогенных ооцитов является их структурная неразделенность, особенно если учесть, что это наиболее продолжительный период оогенеза, у рыб с наиболее длительным половым созреванием продолжающийся до 10 и более лет. Попытки систематизировать ооциты этого периода делали неоднократно и продолжаются по настоящее время (Abbasi et al., 2000; Kopiejewska, Szcserbowski, 2005). Наиболее известным является их подразделение на 5 ступеней по наличию и форме в цитоплазме темно окрашенных элементов циркумнуклеарного комплекса (рис. 1.8; Персов 1969). Подразделение превителлогенных ооцитов на ступени не только используется по настоящее время (Городовская и Сушкевич 2016; 2018), но и для конкретных видов, обитающих из года в год в сходных условиях, имеет практическое применение, позволяя



**Рис. 1.7.** Внешний вид клеток: гониев (Г), ооцитов периода ранней профазы мейоза на стадиях лептотены (Л), зиготены (З), пахитены (П) и периода превителлогенеза (ПВ) в яичнике у малька кеты. Шкала = 20 мкм.

прогнозировать возраст наступления полового созревания (Иевлева 1985; Мурза и Христофоров 1991; Журавлева и др. 2005).

Вместе с тем, анализируя молодь разных видов и к тому же взятых из разных мест обитания, мы вынуждены отказаться от подразделения этих ооцитов на ступени или иные этапы, обусловленные морфологическими особенностями ядра или цитоплазмы, руководствуясь следующими соображениями. Во-первых, у разных рыб в тех или иных условиях форма темноокрашенных элементов циркумнуклеарного комплекса значительно варьирует. В связи с этим, не удивительно, что рядом специалистов даже одной Ленинградской школы ихтиологов была предложена своя схема периодизации ооцитов периода превителлогенеза (как синонимы – периода протоплазматического или цитоплазматического роста) с подразделением на 4 ступени (Мурза и Христофоров, 1991), 3 ступени с подразделами (Кузнецов и др., 1997), на 5 фаз (Алешин, 1987) или 3 фазы – начала, середины и конца (Чмилевский, 2017).



**Рис. 1.8.** Пример элементов циркумнуклеарного комплекса в цитоплазме ооцитов периода привителлогенеза у малька чавычи в возрасте 1+. Шкала = 50 мкм.

Во-вторых, хорошо известно, что темноокрашенные элементы являются свидетельством низкой синтетической активности ооцитов (Кондратьев 1977а, б; Чмилевский, 1995). Именно поэтому, выращивая рыб при относительно высокой температуре, мы зачастую вообще не видели элементов циркумнуклеарного комплекса в цитоплазме клеток (Зеленников, 1999; Зеленников и Голод, 2019), а ооциты у молоди с относительно «холодноводных» и «тепловодных» заводов могли иметь разный морфологический облик (Коломыцев и др., 2018). Отметим здесь, что в англоязычной литературе, где привителлогенные ооциты рассматриваются как единая группа (Uradhyay et al., 1978; Lebrun et al., 1982; Tam et al., 1986; Wallace, Selman, 1990; Campbell et al., 2004), их подразделение на ступени не употреблялось совсем.

В третьих, выполняя большую часть работ на молоди именно лососевых рыб, при исследовании которых и были описаны структуры циркумнуклеарного комплекса, мы практически постоянно отмечали, что морфологический облик этих структур, как и само

их проявление может существенно различаться у зафиксированных единовременно рыб одного вида, возраста и размера.

## 1.6. Теоретические аспекты исследования фонда ооцитов в раннем онтогенезе.

### Вопросы терминологии

В основе всей работы лежит количественный анализ фонда половых клеток, и практически все результаты были получены в многочисленных линиях сравнения, предусмотренных при планировании исследований. Анализировали состояние гонад у рыб в течение периода роста, т.е. в разном возрасте и при разных размерах; у контрольных и подопытных рыб; у заводских и «диких» мальков; при выпуске с заводов и скате с природных нерестилищ; при выпуске с заводов, различающихся термическими условиями и катадромной миграции из рек в разные годы и в разных регионах; у молоди разных видов, но одинакового возраста и размера и другие.

Очевидно, что малые размеры зародышей, личинок и мальков значительно затрудняли исследование воспроизводительной системы у рыб в раннем онтогенезе в первую очередь потому, что не позволяли использовать в работе самые распространенные критерии. Например, у мальков нельзя провести прямой подсчет ооцитов старшей генерации, а также взвесить яичники для того, чтобы проанализировать изменение гонадосоматического индекса, или коэффициента зрелости. В ряде весьма немногочисленных работ авторы, исследуя репродуктивный фонд у молоди рыб, использовали формулы для подсчета числа ооцитов (Персов, 1963; Иванков, 1985). Безусловно, принимая и анализируя все эти работы, сами мы прибегли к использованию формулы лишь однажды, в попытке определить общее увеличение числа ооцитов периода превителлогенеза у молоди форели в возрасте с 10-12 до 20 мес. В работе количество ооцитов разных размерных групп рассчитывали в объеме среза гонад толщиной, равного диаметру самого крупного ооцита, и использовали для этого формулу, предложенную О.Ф. Сакун (Беляев и др., 2004):

$$N_i = n_i \frac{D_{\max}}{D_i},$$

где:  $N_i$ - число ооцитов  $i$ -группы в объеме среза,  $n_i$  - число ооцитов той же группы, учтенных на поверхности среза,  $D_i$ - средний диаметр этих ооцитов, а  $D_{\max}$ - диаметр ооцитов старшей генерации.

Во всех остальных случаях, задачу определения численности ооцитов резервного фонда не ставили, и состояние гонад оценивали по ряду количественных показателей.

Первым из критериев оценки состояния гонад было определение уровня развития половых клеток старшей генерации. Вторым – подсчитывали число половых клеток всех состояний на поперечных срезах половых желез (у всех особей от 3 до 10 срезов каждой из двух гонад в зависимости от числа половых клеток и степени разнокачественности половых желез у рыб в исследуемой группе). При этом у рыб сравниваемых групп проводили одинаковые подсчеты. Подсчитывали только те клетки, на срезе которых было видно ядро. Подсчет проводили с пропуском определенного числа срезов с таким расчетом, чтобы одну и ту же клетку не учитывать дважды. На практике пропуск составлял от 10 до 20 серийных срезов. При подсчетах, согласно современной терминологии (Чмилевский, 2003; 2017), выделяли периоды митотических размножений; ранней профазы мейоза и превителлогенеза. В ряде работ, посвященных исследованию раннего оогенеза, авторы проводили отдельно подсчет ооцитов периода ранней профазы мейоза в состоянии лептотены, зиготены, пахитены и ранней диплотены (Захарова, 1984). Первоначально мы также подсчитывали ооциты разных состояний отдельно (Зеленников, 1994а, б; 1996), от чего впоследствии отказались. Как мы понимаем, оогенез это непрерывный процесс и на практике оказалось невозможно все ооциты разделить по фазам, поскольку многие клетки находились в промежуточном между фазами состоянии. Кроме того сам период ранней профазы мейоза каждого мейотического цикла оказался скоротечным даже у относительно длинноцикловых лососевых рыб, в связи с чем его дробление на фрагменты стало практически нецелесообразным. Также авторы в периоде ранней профазы мейоза выделяли отдельно фазу ранней диплотены (Персов, 1969). Мы видели в выделении этой фазы практический смысл при сравнительной оценке гонад у контрольных и подопытных рыб, определяя состояние ооцитов старшей генерации (Зеленников, 1994б; 1996). Однако на практике при массовой обработке гонад у молоди рыб разных видов оказалось невозможно всегда уверенно разделить ооциты периода ранней профазы мейоза в состоянии ранней диплотены от ооцитов периода начала превителлогенеза. Особенно когда разные фиксации рыб проводили в неодинаковых иногда в весьма сложных полевых условиях.

Как уже было отмечено ранее, ооциты периода превителлогенеза по состоянию цитоплазмы на группы не подразделяли, рассматривая, как одну группу, хотя и отмечали наиболее известные отличительные особенности, например, появление желточного ядра. Главным показателем оценки ооцитов периода превителлогенеза были их размеры; у каждой особи измеряли диаметр от 10 до 30 ооцитов старшей генерации в каждой из двух

гонад. Поскольку ооциты имеют овальную форму, за диаметр принимали полусумму длинной и короткой осей.

Поскольку у большинства исследованных рыб мы не могли отпрепарировать и взвесить гонады (у молоди лососевых рыб это возможно было делать только при массе самок крупнее 2-3 г), одним из основных показателей количественного учета стала площадь яичников на поперечных срезах, которую определяли при помощи окулярной сетки (от 3 до 10 измерений обеих гонад для каждой особи). На практике измеряли площадь яичников на тех срезах, на которых подсчитывали число половых клеток. Как было показано ранее в специальной работе, выполненной на молоди радужной форели массой около 3 г, этот показатель – площадь яичников на поперечных срезах очень тесно коррелирует с их массой (Зеленников, 1997).

Подводя итог приведенной информации, отметим следующее обстоятельство. Поскольку решающее значение в анализе полученных данных мы отдаем их количественному анализу, то и представлены они в работе преимущественно в табличном варианте, позволяющем точные цифровые значения снабдить статистическими дополнениями. Графически, за единичным исключением, представлены вспомогательные данные, например, такие, как динамика температуры на заводах.

## **Глава 2. РАЗВИТИЕ ФОНДА ПОЛОВЫХ КЛЕТОК У МОЛОДИ КРУГЛОРОТЫХ И РЫБ В СВЯЗИ С ЕСТЕСТВЕННОЙ И ИНДУЦИРОВАННОЙ ИНВЕРСИЕЙ ПОЛА**

### **2.1. Дифференцировка и инверсия пола у рыб**

Начиная с 50-х годов XX века, проблеме дифференцировки пола у рыб уделяется повышенное внимание исследователей, которое, судя по числу публикаций, не ослабевает по настоящее время. Без сомнения, повышенный интерес к данной теме обеспечивается сочетанием двух важнейших обстоятельств. С одной стороны, в мире наблюдается быстрый рост самых разных форм аквакультуры (Ходоревская, Калмыков, 2014; Лукин и др., 2016; Глубоковский и др., 2018; ФАО, 2018; Ходоревская, Некрасова, 2019 и др.). Среди них в первую очередь следует отметить чрезвычайно активную практику межрегиональной акклиматизации водных животных, большую часть которых составляли именно рыбы (Бурмакин, 1963), а также увеличение масштабов пастбищного рыбоводства. И хотя в последние годы практика акклиматизации воспринимается преимущественно негативно и определяется не иначе как «биологическое загрязнение», да и возможности для пастбищного воспроизводства оказались не безграничными (Кловач, 2001; 2002), что, впрочем, дискусируется (Шунтов, Темных, 2004; Иванов, 2017) масштабы производства в аквакультуре все равно возрастают, но уже за счет товарного выращивания рыб (Новиков, Строганов, 1997; Мамонтов, 2000; Архипов и др., 2017; Ковачева, 2018 и др.).

С другой стороны, уже давно было установлено, что пол как рыб, так и других низших позвоночных животных легко изменить. Причем для этого даже не требуется оказывать непосредственное гормональное воздействие (Pandian, Kirankumar, 2003; Chang et al., 1999; Blazquez et al., 2001). Достаточно изменить интенсивность кормления (Куренков, Попова, 1988) или плотность посадки (Roncarati et al., 1997), оказать токсическое воздействие (Rubin, 1985; Таликина и др., 2000), воздействие пониженной температурой (Baroiller, Clota, 1998; Ito et al., 2005; Филипова и др., 2017) или, например, особым образом отобрать производителей для искусственного воспроизводства молоди (Алтухов и др., 1989). Соотношение полов в поколении может нарушиться при гибридизации (Bogdanova, 2002), при дефиците кислорода (Shang et al., 2006), а также и естественным образом, например, при определенном соотношении производителей на нерестилище (Чебанов, 1990). Очень важно отметить, что изменить пол можно у самых разных видов рыб, как тех, у которых описаны половые хромосомы (Cano et al., 1996;

Guiguen et al., 1999; Кичигин и др., 2016) так и тех, для которых гетерохромосомы не известны (Кирпичников, 1987).

То обстоятельство, что на пол рыб легко повлиять, существенно сместили приоритеты в области исследования его дифференцировки у рыб. Так, первоначально основной интерес был связан с изучением гонохоризма, или прямого пути развития, при котором пол, как у самок, так и у самцов выявляется одновременно. Естественная инверсия пола рассматривалась как частный случай дифференцировки и практически не изучалась. Однако в последние годы ситуация принципиально изменилась, и именно инверсии пола уделяется наибольшее внимание. Повышению интереса к этому явлению способствовали сразу несколько факторов.

Во-первых, основное направление по проблеме дифференцировки пола у рыб, в котором выполняется наибольшее число исследований, связано с разработкой биотехники искусственного получения однополых поколений. При этом для аквакультуры интересны как популяции, состоящие исключительно из самцов, если темп их роста с определенного момента выше темпа роста самок (Afonso, Leboutte, 2003; Tuan et al., 1999), так и состоящие только из самок, если, в свою очередь, выше темп роста у них (Vinas et al., 2013; Pongthana et al., 1999). К настоящему времени разработана или разрабатывается биотехника получения однополых поколений для многих видов рыб – объектов искусственного выращивания (Luchenbach et al., 2003; Tzchori et al., 2004; Naugen et al., 2011 и др.).

Во-вторых, повысился интерес к исследованию тех видов рыб, для которых характерна естественная инверсия пола в ходе онтогенеза. В литературе приводятся сведения о том, что обязательная смена пола у всех или части особей характерна приблизительно для 10% всех видов круглоротых и рыб (Deligeorges, 1998), среди которых встречены многие весьма известные виды. Например, дифференцировка пола с инверсией характерна для миног (Wicks et al., 1998; Kuznetsov et al., 2016), едва ли не самой противоречивой группы животных, исследуемых ихтиологами. С одной стороны, миноги являются объектом искусственного воспроизводства (Аршавская и др., 2008; Kujawa et al., 2018), с другой – наносят огромный вред рыбному хозяйству (Пеленев, Орлов, 2009; Gardner et al., 2012). Среди рыб можно отметить массового и ценнейшего объекта промысла – тихоокеанского лосося горбушу *Oncorhynchus gorbuscha* (Персов, 1960); наиболее востребованного в настоящее время из рыб – модельного объекта в экспериментальных исследованиях – данио *Danio rerio* (Uchida et al., 2002; Koc et al., 2008; Cher, Ge, 2013) и многих других (Lim et al., 2003; Asoh, 2005; Coulson et al., 2009).

Впрочем, следует отметить, что к настоящему времени дифференцировка пола изучена у немногих видов рыб и можно только предполагать, для скольких из них в естественных условиях характерна в онтогенезе смена пола. Очевидно только то, что для ответа на этот вопрос мы не можем пользоваться методом аналогий, допуская одинаковый тип дифференцировки пола у близкородственных видов. Например, кета, нерка и горбуша являются самыми близкими родственниками в роде тихоокеанских лососей (Царев и др., 1984; Чернов, Борксениус, 1989). Однако первые два из них являются гонохористами, тогда как горбуша – ювенильный протогинический гермафродит. У всех ее особей в период эмбрионального развития формируются яичники и лишь затем у будущих самцов половые железы передифференцируются в семенники (Персов, 1960).

И, наконец, как уже было отмечено ранее, едва ли не более всего исследовательский интерес к данному типу дифференцировки пола связан с широко обсуждающейся в последнее время проблемой – спонтанной, практически повсеместной и массовой инверсией пола в естественных условиях у тех видов рыб, для которых как инверсия пола, так и гермофрадитизм в норме не свойственны (Raloff, 2000; 2001; Sheahan et al., 2002; Jalabert et al., 2000; Afonso et al., 2002; Sumpter, 2002). Это происходит под действием токсических соединений, многие из которых, как установлено, обладают эстрогенным эффектом (так называемые ксеноэстрогены), которые способны как повлиять на ход развития яичников, так и индуцировать оогенез в мужских половых железах (Arukwe, 2001). И если еще сравнительно недавно факт обнаружения каждой гермафродитной особи у видов-гонохористов являлся поводом для написания отдельной научной статьи (Nakatsukasa, 1965; Nitron, Bonham, 1977), то сейчас обычным становится массовое обнаружение таких рыб как в пресных водах, например, у плотвы (Lange et al., 2011), лопатоноса (Paroulias et al., 2002), так и в морских, например, у камбалообразных (Kibrby et al., 2004), сельдевых (Sunobe, Hagiwara, 2013) или пелагической меч-рыбы в Средиземном море (De Metrio et al., 2003).

В связи с очевидной легкостью изменения пола у рыб исследование механизма инверсии приобретает особое значение при необходимости прогнозировать половую структуру популяции. Вслед за многими авторами, полагая, что естественное и индуцированное развитие ооцитов осуществляется сходным образом (Baroiller, Guiguen, 2001), в качестве основного модельного вида для исследования процесса инверсии в дифференцировке пола у рыб мы выбрали тихоокеанского лосося горбушу и при этом руководствовались следующими соображениями.

Во-первых, горбуша, как уже было отмечено, является именно ювенильным протогиническим гермафродитом и, следовательно, ранний оогенез – предмет нашего исследования – мы могли изучать у особей обоих полов.

Во-вторых, потому, что горбуша является не только объектом промысла (Шунтов и др., 2015), но и воспроизводится на рыбоводных заводах (Леман и др., 2015), и это давало возможность исследовать инверсию пола у молоди горбуши не только в лабораторных условиях при стабильном температурном режиме, но и при естественном для данного вида сезонном понижении температуры в Сахалинской области.

В третьих, у горбуши в период тотальной феминизации гонад и естественной инверсии пола сравнительно крупный зародыш (150-200 мг), что облегчает манипуляции с ним в ходе выполнения экспериментов и, в частности, при осуществлении гормональных инъекций.

В четвертых, и это, вероятно, самое главное, только у горбуши из всех видов рыб, известных нам в этом отношении, цитологическая дифференцировка пола начинается уже в период эмбрионального развития, а ооциты периода превителлогенеза появляются у особей еще при наличии крупного желточного мешка. Это позволяло произвести микроинъекции гормона на всех этапах половой дифференцировки гонад, и, строго дозируя гормональное воздействие, исследовать не только онтогенетические, но и эндокринные аспекты развития фонда ооцитов у генотипических самцов. В отличие от горбуши, у всех остальных видов рыб, изученных в этом плане, мейотические преобразования в яичниках начинаются уже после вылупления, в том числе и у наиболее короткоцикловых рыб, у которых репродуктивный цикл от оплодотворения до полового созревания реализуется в течение 2-6 мес (Кос et al., 2008; van Aerle et al., 2004). Наконец, горбуша – наиболее массовый и доступный из всех видов тихоокеанских лососей.

## **2.2. Гистологический и ультраструктурный анализ развития фонда половых клеток в ходе дифференцировки пола у ювенильных протогинических гермафродитов круглоротых и рыб**

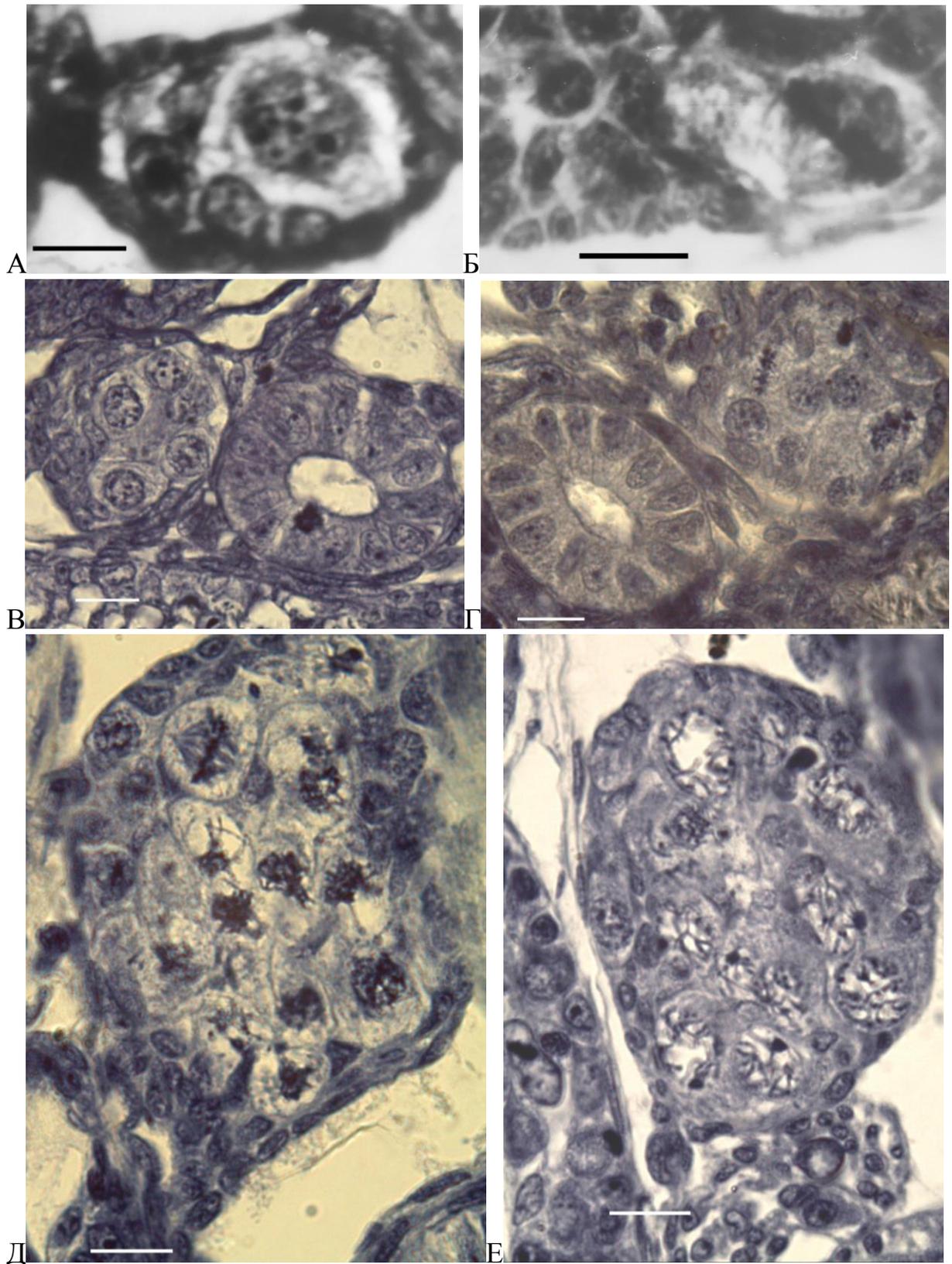
Согласно данным литературы, первичные половые клетки (ППК) у горбуши обнаруживаются уже у 9-суточных зародышей (90 градусо-дней, Персов, 1969), когда у них начинают формироваться головной отдел и первые пары сомитов. В ходе миграции ППК концентрируются в области будущего расположения гонад, под первично-почечными (вольфовыми) протоками между 12-ой и 19-ой парами сомитов. С этого момента начинается формирование половых валиков и образование стромальной части

будущих гонад за счет миграции клеток перитонеального эпителия. Этот процесс, заканчивающийся обособлением половых желез, проходит у зародышей горбуши через 12-15 сут после оплодотворения (108-135 градусо-дней). У проходных лососей наблюдается большое сходство в форме и размерах ППК, причем для каждого вида число ППК относительно постоянно. Так, у горбуши в момент обособления половых желез их насчитывается около 50 (Персов, 1969). ППК занимают практически всю площадь поперечных срезов гонад, имеют светлую цитоплазму и округлое или полиморфное ядро. Начало их митотических делений происходит в те же сроки, что и формирование половых желез, в возрасте от 9 до 15 сут (90-155 градусо-дней; Персов, 1966).

Через 22 сут эмбрионального развития, при температуре 9,1-13,0°C (274,0 градусо-дня) в гонадах, полностью обособленных анатомически, ППК еще присутствовали (рис. 2.1А). Это были относительно крупные клетки (до 20 мкм) с четкими границами ядра и слабо воспринимающей гематоксин цитоплазмой. Наблюдали также деление этих клеток (рис. 2.1Б). Через 26 сут (314,7 градусо-дня) ППК в гонадах зародышей уже не обнаруживались, а фонд половых клеток составляли только гонии первых порядков (рис. 2.1В); их число с возрастом увеличивалось за счет митотических делений (рис. 2.1Г).

Принципиально иное состояние половых желез отметили у зародышей через 37 сут от момента оплодотворения (425,0 градусо-дней). У всех 19-ти исследованных особей осуществился процесс цитологической дифференцировки пола в женском направлении: у шестнадцати из них помимо гониев присутствовали ооциты в стадиях лептотены и зиготены, а у трех, кроме этого, единичные ооциты начала пахитены. При этом у всех особей продолжалось размножение гониев (рис. 2.1Д).

Вылупление зародышей началось через 44 сут после оплодотворения (494,4 градусо-дня) и при температуре 9,7-9,8°C, за единичным исключением, завершилось в течение трех суток. В яичниках всех исследованных особей этого возраста присутствовали гонии и ооциты периода ранней профазы мейоза всех состояний (рис. 2.1Е). У отдельных зародышей наметился переход единичных ооцитов к периоду превителлогенеза. Анализируя состояние фонда половых клеток, выявили его разнокачественность у разных особей: общее число половых клеток в среднем на поперечном срезе варьировало от 4-5 до 15-20. Складывалось впечатление, что у одних рыб увеличение числа половых клеток осуществлялось более быстрым темпом, чем у других. Вместе с тем, выделить две группы рыб – предположительно генотипических самок и будущих самцов – по состоянию гонад в момент вылупления оказалось невозможно.



**Рис. 2.1.** Состояние гонад у молоди горбуши через 22 (А, Б), 26 (В, Б), 31 (Г), 37 (Д) и 44 (Е) сут после оплодотворения. Старшая генерация половых клеток представлена первичными половыми клетками (А, Б), гониями (Б, В) и мейоцитами в состоянии зиготены (Д) и пахитены (Е). Видны митозы гониев. Шкала А, Б = 10 мкм; В-Е = 20 мкм.

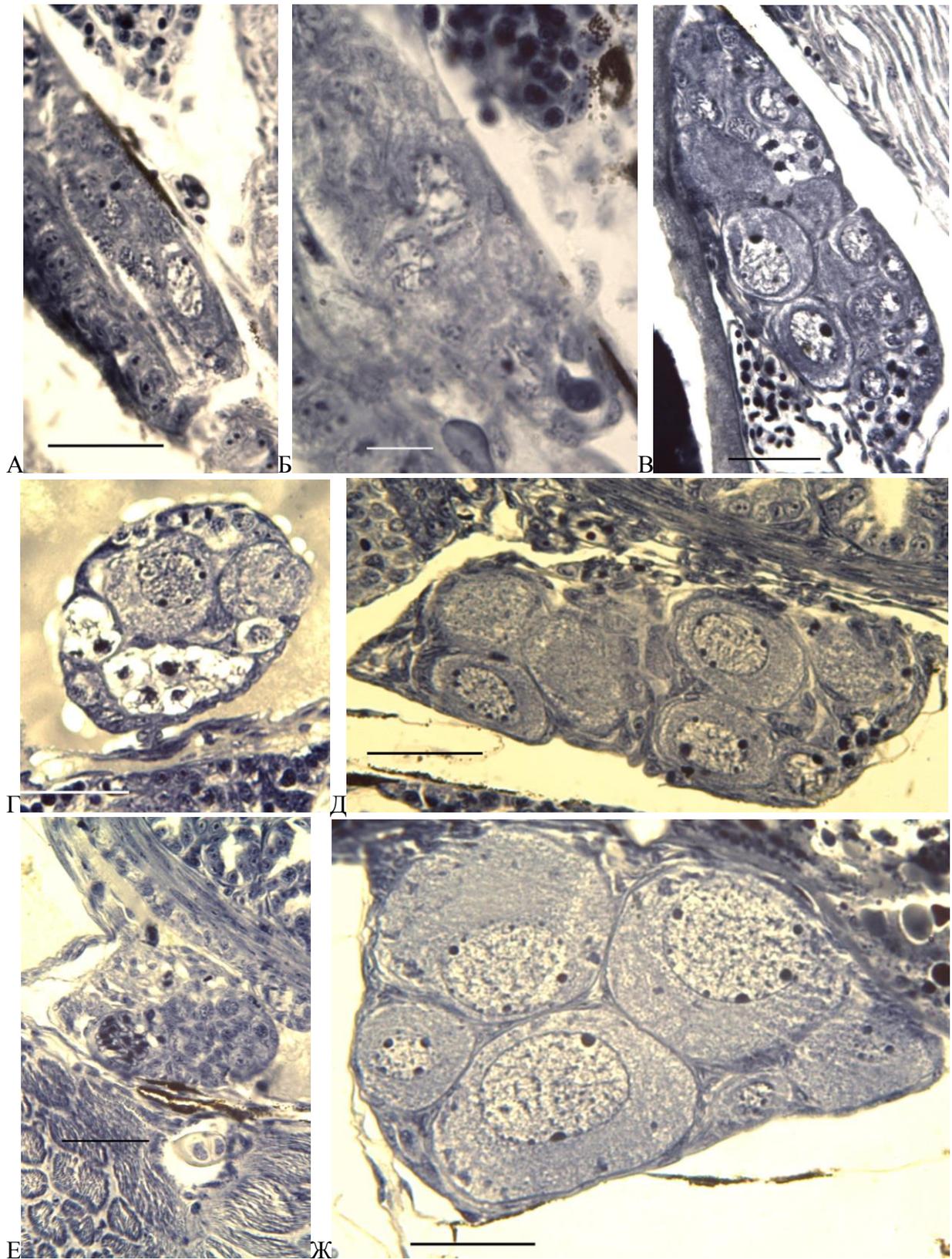
Выявленная разнокачественность в состоянии гонад увеличилась еще более существенно через 61 сут от оплодотворения (в возрасте 17 сут от вылупления; 660,0 градусо-дней), после перехода у всех рыб ооцитов старшей генерации в период превителлогенеза. У особей с наименее дифференцированными гонадами превителлогенные ооциты были немногочисленными (рис. 2.2А, Б); их число не превышало в среднем 2-4 на срез. У других рыб ооциты периода превителлогенеза были более многочисленными (рис. 2.2В). Ядра этих клеток достигали диаметра 18-20 мкм и содержали множество ядрышек и хромосомы типа «ламповых щеток»; был хорошо заметен слой однородной по окраске цитоплазмы. В яичниках выявляли пикноморфные ядра – фрагменты резорбции половых клеток, которые интенсивно окрашивались гематоксилиновым лаком (рис. 2.2Б). Резорбция ооцитов выявлялась у всех особей и не была массовой, при этом также у всех рыб, как самок, так и будущих самцов продолжались и митотическое размножение гониев, и начало новых мейотических циклов ооцитов. Отметим, что хорошо проиллюстрировал резорбцию ооцитов в ходе инверсии пола Г.М.Персов, впервые открывший явление ювенильного протогинического гермафродитизма у горбуши (Персов, 1969; 1975).

Через 71 сут от оплодотворения (в возрасте 27 сут., 692,7 градусо-дня) ооциты периода превителлогенеза еще присутствовали у всех личинок, однако яичники генотипических самцов и самок уже можно было безошибочно различить по состоянию фонда половых клеток. Гонады первых были в несколько раз меньше, судя по их площади на поперечных срезах, и содержали единичные ооциты периода превителлогенеза (рис. 2.2Г, Д). На основании двух выявленных вариантов гистологической структуры гонад можно заключить, что в этом возрасте у части личинок горбуши половые железы подвергались передифференцировке.

Инверсия пола у самцов полностью завершилась через 85 сут от оплодотворения или в возрасте 41 сут (890,4 градусо-дня). В этом возрасте и старше мы уже не выявляли самцов, у которых бы в гонадах присутствовали ооциты; семенники представляли собой малодифференцированные половые железы, на поперечных срезах которых присутствовали единичные гонии (рис. 2.2Е). У самок гонады были в несколько раз крупнее, а фонд половых клеток был представлен преимущественно ооцитами периода превителлогенеза (рис. 2.2Ж) и единичными клетками более ранних периодов развития.

Только в возрасте 102 сут от оплодотворения (в возрасте 58 сут) молодь горбуши начали кормить.

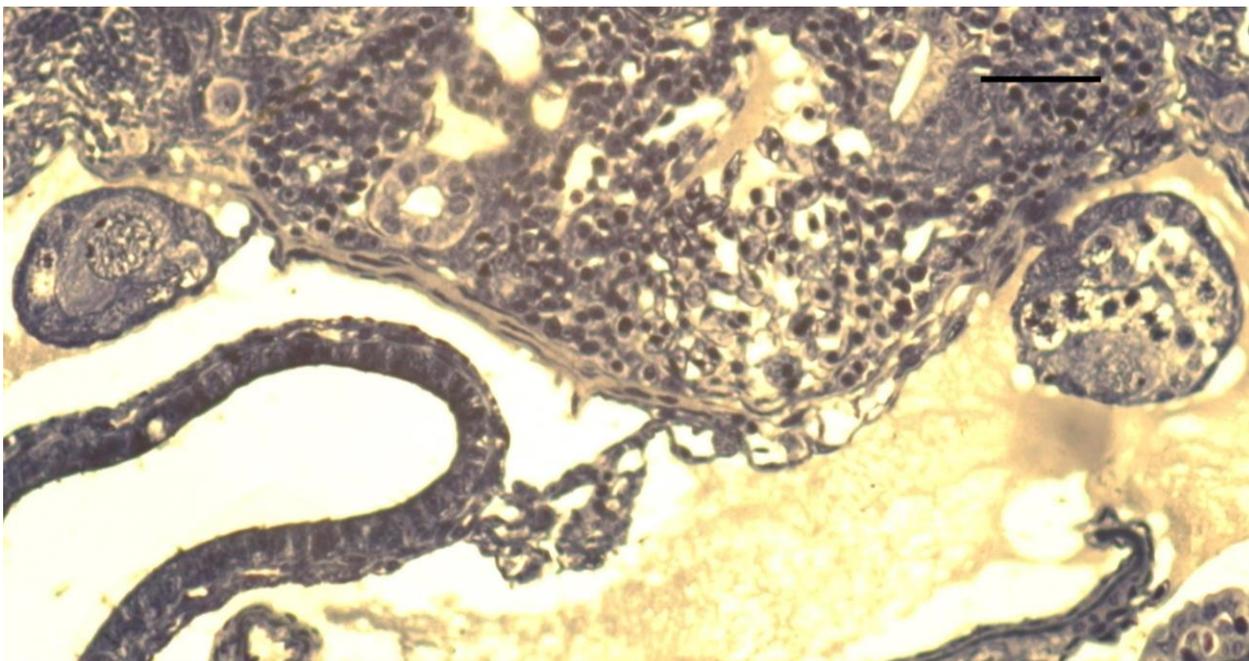
Завершая исследование молоди горбуши в лаборатории, мы можем подытожить полученные результаты в следующем виде. Нет сомнений, что при относительно



**Рис. 2.2.** Состояние гонад у молоди горбуши через 61 (А, Б, В), 71 (Г, Д) и 85 (Е, Ж) сут от оплодотворения. Развитие (Б, Г, Е) фонда ооцитов периода превителлогенеза у генотипических самок. Ход (А, В) и завершение (Д) инверсии пола у генотипических самцов. Пояснение в тексте. Шкала А, В-Ж = 50 мкм, Б = 20 мкм.

повышенной температуре, также как и при более низкой температуре (Персов, 1969), тотальная феминизация гонад произошла до вылупления зародышей, а к моменту вылупления единичные ооциты у отдельных особей уже переходили в период превителлогенеза. В свою очередь, естественная инверсия пола, или передифференцировка яичников в семенники, у генотипических самцов полностью завершилась в период личиночного развития. Эти данные в целом подтверждают результаты, полученные ранее. В своей обобщающей работе Г.М.Персов (1969) не указывает точных сроков начала передифференцировки (от 1 до 2,5 мес), но демонстрирует продолжение дегенеративных процессов в гонадах горбуши как через 2, так и через 3,5 мес после вылупления. Впрочем, ясно, что сроки начала и окончания инверсии пола зависят от температуры воды, но завершается этот процесс все равно до окончания личиночного периода или до начала кормления молоди. В частности указывается, что у интродуцированной в бассейн Белого моря горбуши дегенерация первых ооцитов начиналась при потреблении желточного мешка на 50-75% и поднятии личинок «на плав». Темп цитологической дифференцировки и инверсии пола значительно ускоряли повышение температуры воды или перевод личинок в морскую воду (Пахомова, Хлевная, 1977; 1978; 1986).

Неожиданным же оказался сам ход инверсии пола у горбуши. Во-первых, резорбция ооцитов осуществлялась у всех особей, а не только у будущих самцов. Во-вторых, сам процесс резорбции не был массовым, а гонады самок и будущих самцов начинали отличаться по состоянию фонда половых клеток потому, что у последних явно замедлился темп его пополнения. В третьих, процесс резорбции ооцитов осуществлялся и завершался не раньше, чем в гонадах будущих самцов появлялись ооциты периода превителлогенеза. И, наконец, в-четвертых, резорбция уже появившихся в будущих семенниках ооцитов не сопровождалась прекращением пополнения их числа. Даже когда мы уже могли безошибочно отличить будущие семенники, в них, помимо единичных ооцитов периода превителлогенеза, можно было видеть многочисленные мейоциты (рис. 2.3).



**Рис. 2.3.** Состояние гонад у самца горбуши через 61 сут. от оплодотворения (в возрасте 17 сут.) в период естественной инверсии пола. Помимо ооцита периода превителлогенеза, можно видеть многочисленные ооциты периода ранней профазы мейоза в состоянии зиготены. Пояснение в тексте. Шкала = 50 мкм.

Полагая, что ход развития гонад у молоди горбуши при стабильных условиях в лаборатории и при сезонном изменении температуры воды в естественной среде обитания может различаться, мы исследовали гаметогенез горбуши в средней (8-ой) и последней (16-ой) партии на Анивском ЛРЗ, при естественном сезонном понижении температуры.

Икра горбуши 8-й партии была оплодотворена и заложена на инкубацию 7 сентября 1998 г. Инкубация икры и выдерживание личинок проходили при постепенном снижении температуры воды от 12,8 до 0,3°C к 10 декабря, далее при 0,2-0,3°C до 13 апреля и затем при постепенном повышении температуры воды в апреле до 4,5°C.

Продолжительность периода от оплодотворения до вылупления составила 77 сут. В момент массового вылупления (возраст 1 сут) половые железы у всех зародышей горбуши были полностью обособлены и располагались рядом с первично-почечными протоками. У всех рыб в гонадах присутствовали гонии и мейоциты преимущественно в состоянии зиготены и, как исключение, единичные клетки в состоянии пахитены. Число половых клеток на срезах яичников в среднем у разных рыб варьировало от 3,7 до 11,8 и в среднем для рыб всей группы составляло 7,4 клетки (табл. 2.1). Гонады у будущих самок и самцов по размерам и составу половых клеток не различались.

В возрасте 30 сут в гонадах практически всех личинок, помимо гониев и мейоцитов, встречались единичные ооциты начала периода превителлогенеза. В гонадах обнаруживали также единичные, интенсивно окрашенные фрагменты клеток, образующиеся на месте резорбции ооцитов. При этом общее число половых клеток на срезах половых желез фактически не изменилось и варьировало у разных особей в среднем от 4,2 до 10,0 (как исключение, до 19,3). Можно полагать, что резорбция отдельных половых клеток компенсировалась их пополнением в результате размножения гониев.

Качественные различия между гонадами генотипических самцов и самок были обнаружены у рыб, зафиксированных в возрасте 61 сут. На основании сравнительного морфологического анализа половых желез всех исследованных рыб можно было подразделить на три группы. У одних рыб площадь гонад на поперечных срезах, число половых клеток и диаметр ооцитов были относительно небольшими (табл. 2.1), а в строме гонад обнаруживали запустевшие клеточные ячейки и интенсивно окрашенные гематоксилиновым лаком глыбки – остатки хроматина ядер на месте резорбированных ооцитов. Судя по числу половых клеток можно было заключить, что темп их элиминации превышал темп пополнения. В противоположность этому, у других рыб площадь гонад на срезах, число половых клеток и диаметр ооцитов были достоверно больше (табл. 2.1). Вместе с тем, и у этих рыб в строме яичников также были обнаружены остатки пикноморфного хроматина, свидетельствующие о деструкции части половых клеток. Однако продолжающееся деление гониев не только компенсировало элиминацию, но и привело к увеличению фонда половых клеток. На основании анализа морфофункционального состояния гонад и всех количественных показателей можно было полагать, что первую группу составили генотипические самцы, у которых осуществлялась естественная инверсия пола, а вторую – генотипические самки.

Молодь третьей группы по состоянию половых желез занимала промежуточное положение между рыбами двух первых групп. И хотя в среднем площадь поперечных срезов гонад и общее число половых клеток у них было больше, чем у самок, число и доля превителлогенных ооцитов у них были значительно меньше (табл. 2.1). Можно предположить, что эту группу составили как будущие самки, несколько отставшие в развитии от остальных, так и будущие самцы с задержавшейся инверсией пола.

В возрасте 120 сут приблизительно у 6 из 10 исследованных самцов в гонадах еще присутствовали одиночные мейоциты и ооциты периода превителлогенеза, тогда как у остальных фонд половых клеток был представлен только гониями. У самок уровень

**Таблица 2.1.** Состояние гонад у молоди горбуши средней (8) и последней (16) партий при ее выращивании на Анивском ЛРЗ

Возраст рыб, от вылупления, сут	Сумма градусо-дней	Масса рыб, мг	Длина рыб, FL* мм	Площадь поперечных срезов гонад мм <sup>2</sup> ×10 <sup>-3</sup>	Число половых клеток на 1 срез	Число ооцитов ПВ** на 1 срез	Число на 1 срез, %			Диаметр ооцитов старшей генерации, мкм
							Гониев	Ооцитов РПМ**	Ооцитов ПВ***	
<b>8 партия</b>										
1	524	109,0±2,7	20,5±0,2	3,1±0,5	7,4±1,2	—	9,5	90,5	—	—
30	535	131,9±5,1	22,7±0,2	3,8±0,6	8,6±1,7	0,1	8,2	90,5	1,3	—
61	541	162,0±9,3	26,5±0,3	2,8±0,8	4,8±2,3	—	14,9	85,1	—	22,4±0,9
		149,5±5,9	26,1±0,6	6,8±0,2	11,5±0,6	3,5±0,5	5,5	64,2	30,3	30,8±0,9
		145,0±17,1	26,3±0,6	10,3±0,5	19,7±1,5	0,8	1,1	94,9	4,0	24,9±0,8
120	553	164,6±0,3	27,3±0,4	2,4±0,2	1,5±0,3	0,03	89,1	9,9	1,0	—
		159,2±5,0	27,8±0,4	14,4±2,5	11,9±1,4	7,2±1,1	7,3	32,3	60,4	43,5±2,1
151	570	209,2±17,5	31,1±1,0	2,6±0,3	3,1±0,6	—	100	—	—	—
		192,0±16,3	31,2±0,9	28,6±2,6	8,7±0,4	7,9±0,3	5,3	3,4	91,3	63,8±4,7
<b>16 партия</b>										
1	416	120,7±1,8	19,5±0,2	3,2±0,3	7,9±1,0	—	18,8	81,2	—	—
31	421	119,9±5,9	22,8±0,3	3,4±0,2	9,6±1,1	—	17,0	83,0	—	—
69	427	143,3±4,1	24,8±0,2	4,8±0,6	11,0±1,4	—	7,7	92,3	—	—
90	435	162,4±4,6	27,6±0,4	6,1±0,9	10,8±3,2	3,8±0,8	6,4	58,7	34,9	26,7±1,5
120	534	214,9±7,6	31,6±0,2	2,6±0,2	2,3±0,7	—	100	—	—	—
		215,9±5,4	31,3±0,3	16,5±1,9	8,6±0,4	6,8±0,4	2,0	19,9	78,1	48,8±1,4

Примечание: здесь и во всех таблицах далее FL\* – длина по Смитту; РПМ\*\* – ооциты периода ранней профазы мейоза; ПВ\*\*\* – ооциты периода превителлогенеза.

развития гонад также варьировал. У рыб с наиболее крупными яичниками большую часть фонда половых клеток (от 66 до 92%) составляли ооциты периода превителлогенеза (6-10 на срез). В менее развитых гонадах превителлогенные ооциты встречались реже (1-3 на срез), а большую часть половых клеток составляли гонии и мейоциты. В среднем по всей группе самок ооциты периода превителлогенеза составили 60,4% (табл. 2.1).

В возрасте 151 сут в семенниках встречались только гонии, число которых в результате митотических делений по сравнению с предыдущим возрастом увеличилось почти в 2,5 раза (табл. 2.1). Площадь поперечных срезов яичников у самок в среднем возросла до  $28,6 \times 10^{-3} \text{ мм}^2$  и стала более чем в 10 раз больше площади семенников у одновозрастных с ними самцов. Фонд половых клеток был представлен в основном ооцитами периода превителлогенеза. Таким образом, можно заключить, что дифференцировка пола у личинок горбуши средней партии закладки к концу апреля завершилась.

Икру горбуши 16-й партии заложили на инкубацию 17 сентября 1998 г. Продолжительность инкубации составила 117 сут. В период массового вылупления гонады всех рыб содержали гонии и мейоциты, преимущественно в состоянии зиготены. В дальнейшем, в возрасте 31 и 69 сут от вылупления с ростом рыб несколько увеличивались размеры половых желез, а среди мейоцитов возросла доля клеток в состоянии пахитены и ранней диплотены. Лишь в возрасте 90 сут состояние гонад у личинок было качественно иным. Абсолютно у всех особей присутствовали ооциты периода превителлогенеза. У семи рыб их число варьировало незначительно – от 1,7 до 4,2 клетки на срез. Лишь у трех особей число этих клеток отличалось более существенно – 0,5; 6,8 и 9,0. Таким образом, отличить в данном возрасте самок от самцов по состоянию гонад оказалось невозможно.

В течение следующего месяца (с 12 апреля по 12 мая) температура воды при содержании личинок существенно повысилась, о чем можно судить по значительному увеличению суммы градусо-дней (табл. 2.1). В результате в течение этого месяца инверсия пола у самцов горбуши полностью завершилась. У самок фонд половых клеток состоял преимущественно из ооцитов периода превителлогенеза, доля которых на поперечных срезах в среднем составила 78,1% (табл. 2.1). В заключение отметим, что кормить молодь горбуши начали 12 (8 партия) и 21 мая (16 партия), т.е. уже после того, как у генотипических самцов завершилась инверсия пола.

Суммируя полученные данные, мы можем заключить, что при естественном температурном режиме, так же как и при относительно повышенной постоянной температуре половая дифференцировка гонад у молоди горбуши осуществляется сходным

образом, а инверсия пола у генотипических самцов полностью завершается в период экзогенного питания молоди.

На следующем этапе работы мы исследовали развитие гонад у реципрокных гибридов протогинического гермафродита горбуши и близкородственного вида из рода тихоокеанских лососей – гонохориста симы. Особый интерес к такой работе связан с тем обстоятельством, что в целом, как смена пола, так и гермафродитизм в норме для лососевых рыб совершенно не свойственны. До недавнего времени каждое обнаружение гермафродитной особи в частности среди тихоокеанских лососей являлось основанием для написания отдельной научной статьи (Nakatsukasa, 1965; Nitron, Bonham, 1977). Индивидуальное развитие горбуши, включающее этап ювенильного гермафродитизма, принципиально выделяет ее среди всех лососевых рыб. Любопытно, что горбуша в естественных условиях легко создает гибриды с другими видами тихоокеанских лососей, например, с кетой (Камышная, 1963; Nikita, Yokohira, 1964) или симой (Крыхтин, 1962а; Цыгир, Романов, 1993), как, впрочем, и другие виды тихоокеанских лососей (Иванков, 1973). Для нас особи, полученные от скрещивания рыб с принципиально различным типом дифференцировки пола представляли особый интерес, поскольку анализ их гонадогенеза мог выявить специфические особенности в ходе инверсии пола, а также особенности наследования специфичного для горбуши типа дифференцировки гонад.

Для анализа этих особенностей была проведена специальная работа, в ходе которой получили гибридное потомство от скрещивания горбуши с симой. При этом в одном варианте икру горбуши осеменяли спермой симы (гибрид горбуша х сима), а в другом наоборот – икру симы спермой горбуши (гибрид сима х горбуша).

Сравнительный анализ состояния гонад у горбуши, симы и их реципрокных гибридов, проведенный у зародышей через 35 сут после оплодотворения (незадолго до вылупления) показал, что у всех особей горбуши и гибрида горбуша х сима присутствовали гонии и мейоциты. При этом у гибридной формы число ооцитов было даже достоверно больше, чем у собственно горбуши. В отличие от них, у гибрида сима х горбуша и у зародышей симы гонады находились в индифферентном периоде развития: половые клетки у всех особей были представлены исключительно гониями (табл. 2.2).

В возрасте 25 сут после вылупления у генотипических самцов горбуши завершалась резорбция ооцитов, а у самок в яичниках закладывался фонд ооцитов периода превителлогенеза (табл. 2.2). Аналогичное разделение на самок и будущих самцов (1:1) произошло и у личинок гибрида горбуша х сима. В яичниках у самок горбуши было несколько больше ооцитов периода превителлогенеза, чем у гибридных

Таблица 2.2.

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

Виды рыб	Число Рыб	Масса рыб, мг	Длина рыб, FL мм	Площадь поперечных срезов гонад $\text{мм}^2 \times 10^{-3}$	Число на 1 срез				Диаметр ооцитов ПВ, мкм
					Всех половых клеток	Гониев	Ооцитов РПМ	Ооци- тов ПВ	
<b>Зародыши в возрасте 35 суток от оплодотворения</b>									
Горбуша	9	112±2,2	12,8±0,1	13,0±1,4	6,2±0,8	5,2±0,7	1,0±0,2	—	—
Горбуша х сима	7	118±2,1	13,3±0,2	17,4±2,3	7,7±0,8	5,3±0,7	2,4±0,5	—	—
Сима	10	153±1,8	16,3±0,1	6,4±0,7	1,0±0,2	1,0±0,2	—	—	—
Сима х горбуша	4	119±6,2	15,5±0,5	9,6±0,9	1,9±0,4	1,8±0,4	—	—	—
<b>Личинки в возрасте 25 суток от вылупления</b>									
Горбуша: самцы	5	163±3,5	25,7±0,7	2,2±0,3	2,0±1,0	1,8±0,4	0,2±0,1	—	—
Горбуша: самки	8	150±5,0	25,7±0,3	20,7±3,6	8,5±1,0	0,9±0,3	1,4±0,3	6,2±1,0	44,0±2,7
Горбуша х сима: самцы	5	204±9,2	27,8±0,6	5,1±0,5	2,9±0,5	1,6±0,4	1,3±0,3	—	—
Горбуша х сима: самки	5	200±7,3	27,0±0,3	17,8±2,0	12,9±2,0	0,6±0,1	7,8±1,6	4,5±1,0	30,0±1,5
Сима х горбуша	3	182±8,2	27,7±1,2	3,7±1,6	1,5±0,8	1,5±0,8	—	—	—

личинок (их доля от общего числа половых клеток была 73% против 35%); больше был и средний диаметр ооцитов. Наоборот, у будущих самцов гибридной формы были больше, как сами гонады, так и (в 6 раз) число ооцитов ранней профазы мейоза. Это может означать, что у гибрида горбуша х сима процесс элиминации ооцитов идет медленнее, чем при инверсии гонад у генотипических самцов горбуши. У гибридной молодежи сима х горбуша половые железы были слабо развиты и находились в индифферентном состоянии.

Таким образом, очевидно, что до вылупления тотальная феминизация гонад наблюдалась у горбуши и только у одной из двух гибридных форм, у которой самкой также выступала горбуша. При этом более развитые гонады у гибрида горбуша х сима, чем у родительской формы, могут быть следствием эффекта гетерозиса. В постэмбриональный период процесс инверсии гонад наблюдали только у самцов горбуши и ее гибрида с симой. Из этих фактов однозначно следует вывод, что такие уникальные особенности горбуши, как смещение сексуализации гонад на эмбриональный период и протогиническая феминизация наследуются по линии самок.

Обобщение данных о развитии гонад у зародышей и личинок горбуши в различных условиях содержания позволило установить ряд принципиальных особенностей их половой дифференцировки. В первую очередь отметим, что индифферентный период в развитии гонад у всех особей горбуши завершается до вылупления не только при естественном температурном режиме, что было известно и ранее (Персов, 1966; 1969), но и при стабильной, относительно высокой температуре; то же происходит и у гибридных особей. При этом наблюдаются заметные индивидуальные различия в темпе формирования фонда половых клеток, сначала гониев, а затем и ооцитов периода ранней профазы мейоза. Так, незадолго до вылупления ооциты завершающих стадий мейотических преобразований ядра наблюдаются в основном у рыб с относительно большим фондом половых клеток (от 10 до 17 на один срез). Эти различия становятся еще более заметными после появления ооцитов периода превителлогенеза, которые можно наблюдать в гонадах абсолютно всех рыб, но у одних особей их число сравнительно больше, чем у других. И именно такие гонады с относительно меньшим числом половых клеток вступают в дальнейшем на путь реверсии. Отсюда можно заключить, что половые различия в раннем гонадо- и гаметогенезе горбуши возникают и проявляются внешне не в ходе инверсии, а уже в самом начале протогинической феминизации гонад.

Вторым важнейшим обстоятельством, которое следует особо подчеркнуть, является то, что переопределение пола у будущих самцов начинается не сразу после

вступления гониев в раннюю профазу мейоза (в эмбриогенезе), а значительно позднее, когда в гонадах личинок появляются ооциты периода превителлогенеза. Отметим также, что и сам темп роста этих ооцитов у рыб с малым числом половых клеток оказывается замедленным. В связи с этим складывается впечатление, что у будущих самцов горбуши, в отличие от самок, смена онтогенетических программ оогенеза – полноценный переход ооцитов к превителлогенезу (от генеративной к вегетативной фазе, в трактовке Равена (1964) - оказывается невозможным.

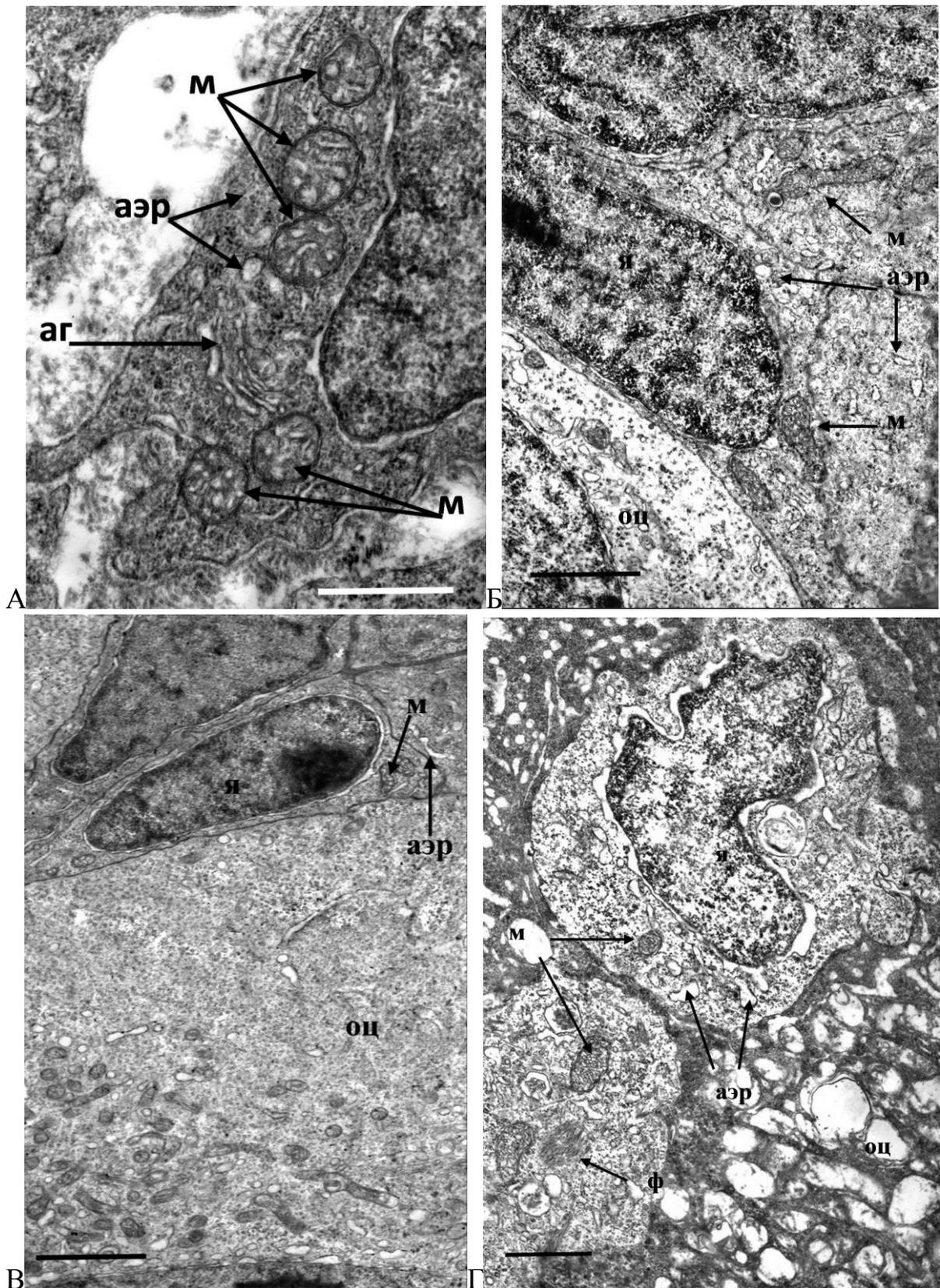
Представляется очевидным, что столь существенные различия в ходе гонадо- и гаметогенеза у генотипических самок и самцов определяется свойственными горбуше особенностями гормональной регуляции этих процессов у тех и других. Выявляя эти особенности, мы исследовали развитие стероидсекреторных клеток (СК) у горбуши в процессе развития яичников и семенников. Эти клетки до- или непосредственно в период дифференцировки пола описаны в половых железах разных видов рыб: нильской тилляпии (Nakamura, Nagahama, 1985; Nakamura et al., 1998), симы (Nakamura, Nagahama, 1993), радужной форели (Van den Hurk et al., 1982), осетровых (Семенов, 1989, 1995, 1996; Семенов и др., 1997; Федоров и др., 1990), и их роль в регуляции этого процесса не вызывает сомнений. Что касается горбуши, то, по данным литературы, нам хорошо известна локализация и ультраструктурная организация стероидсекреторных клеток у взрослых особей этого вида, как самцов, так и самок (Арбузова, 1995; Hoar, Nagahama, 1978; Nagahama et al., 1978). Сведения об этих клетках у молоди горбуши получены впервые нами (Мосягина и др., 2003).

Так, непосредственно после вылупления (534,3 градусо-дней), когда фонд половых клеток составляли гонии и мейоциты, у всех особей горбуши среди клеток стромы половых желез присутствовали клетки, которые по ряду ультраструктурных признаков можно было определить как стероидсекреторные. Эти клетки отличались крайне разнообразной формой с округлыми или слаболопастными ядрами и пристеночным расположением хроматина. Для них характерен узкий слой цитоплазмы, сравнительно плотной за счет большого числа рибосом, по сравнению с более светлой цитоплазмой половых клеток, некрупные округлые митохондрии - от 1 до 5 на срез клетки, с ламеллярными или трубчато-везикулярными кристами, одна или несколько стопок диктиосом аппарата Гольджи и каналы умеренно развитой агранулярной сети (рис. 2.4А). Строго говоря, эти клетки не обладали полным набором ультраструктурных признаков, характерных для функционально активных СК (Christensen, Gillim, 1969; Lofts,

Bern, 1972), и мы могли их идентифицировать, только руководствуясь имеющимися в литературе данными. Именно в таких слабо дифференцированных клетках, описанных у молоди нильской тилапии (*Oreochromis niloticus*), отмечен стероидный синтез (Nakamura et al., 1998).

В период инверсии пола (715,4 градусо-дней), когда в гонадах у всех рыб присутствовали ооциты периода превителлогенеза, в яичниках у генотипических самок можно было выявить два типа стероидсекреторных клеток. СК первого типа полигональной формы были более многочисленными и располагались среди клеток стромы гонад (рис. 2.4Б). СК второго типа располагались рядом с ооцитами среди клеток формирующихся фолликулярных оболочек и, как и собственно фолликулярные клетки, имели уплощенную форму. Эти клетки плотно прилегали к ооциту, не образуя выраженных выростов или микроворсинок (рис. 2.4В). Секреторные клетки двух типов принципиально различались не только по форме, но и по состоянию органоидов. Так, у первых были более чем в два раза больше размеры митохондрий и достоверно больше диаметры канальцев агранулярного эндоплазматического ретикулума (АЭР; табл. 2.3). Однако при характеристике этих структур имеет значение не только их размер, но и количество, которое определяют как суммарный объем органоидов относительно объема цитоплазмы клеток в процентах. Оказалось, что объемная плотность митохондрий и канальцев АЭР была больше в СК второго типа. Таким образом, значительно большие размеры митохондрий и канальцев АЭР в клетках локализованных в строме, компенсировались меньшей объемной плотностью этих структур относительно СК, непосредственно прилегающих к ооцитам. Учитывая это обстоятельство, мы не можем судить о том, какие из двух типов клеток были наиболее активны в плане стероидного синтеза. Ультраструктурная организация и количественные данные с уверенностью позволяют лишь заключить, что это разные клетки.

В отличие от самок, у самцов не удалось выделить две группы СК ни по локализации, ни по особенностям ультраструктурной организации. В формирующихся семенниках стероидсекреторные клетки располагались в строме гонад, были многочисленными, крупными, судя по состоянию органоидов активными, и образовывали множество выростов в цитоплазму резорбирующихся ооцитов. О том, что это активные в отношении стероидного синтеза клетки, свидетельствовали не только многочисленные митохондрии с трубчато-везикулярными кристами и обширная агранулярная эндоплазматическая сеть, но также и сдвиг ядерно-плазменного соотношения в направлении цитоплазмы (табл. 2.3), расширенное перинуклеарное пространство,



**Рис. 2.4.** Стероидсекреторные клетки (СК) в гонадах у молоди горбуши в период их феминизации (А) и естественной инверсии пола (Б, В, Г). Б и В – СК в строме и грануле ооцита у генотипической самки; Г – СК в строме семенника. Обозначения: Я – ядро СК, митохондрии (М) с трубчато-везикулярными кристами, аппарат Гольджи (АГ), каналы агранулярного эндоплазматического ретикулума (АЭР), лизосомы (Л) и пучки филаментов (Ф). Пояснение в тексте. Шкала А, Г = 1 мкм, Б, В = 2 мкм.

Таблица. 2.3.

Характеристика стероидсекреторных клеток (СК) в гонадах у молодежи горбуши в период дифференцировки пола (в скобках дана объемная плотность органоидов, %)

Возраст / Сумма градусо- дней	Состояние клеток старшей генерации	Локали- зация СК	Размеры, мкм			
			СК*	ядра СК	мито- хондрии	канальца АЭР
<b>Ф Е М И Н И З А Ц И Я   Г О Н А Д</b>						
1 сут / 534,3	РПМ	строма	<b>4,3±0,41</b>	<b>3,1±0,29</b>	<b>0,40±0,015</b> (10,1±1,2)	<b>0,08±0,007</b> (11,6±0,6)
<b>С А М К И</b>						
30 сут / 715,4	ПВ 30-40 мкм	строма	<b>7,1±1,39</b>	<b>6,0±1,83</b>	<b>0,76±0,098</b> (12,5±0,8)	<b>0,17±0,016</b> (14,8±1,3)
		грану- леза	<b>8,7±0,62</b> х <b>2,6±0,18</b>	<b>5,5±0,29</b> х <b>1,9±0,12</b>	<b>0,35±0,034</b> (17,4±0,7)	<b>0,12±0,013</b> (15,1±1,6)
38 сут / 860,3	ПВ 50-75 мкм	строма	<b>4,4±0,15</b>	<b>2,7±0,57</b>	<b>0,37±0,051</b> (6,5±0,9)	<b>0,23±0,031</b> (5,8±1,0)
		грану- леза	<b>14,7±0,53</b> х <b>3,2±0,38</b>	<b>7,0±0,25</b> х <b>2,1±0,15</b>	<b>0,80±0,130</b> (21,2±2,3)	<b>0,10±0,006</b> (3,9±0,6)
		тека	<b>9,8±0,50</b> х <b>3,3±0,16</b>	<b>7,1±0,24</b> х <b>2,5±0,18</b>	<b>0,43±0,054</b> (13,6±0,6)	<b>0,06±0,005</b> (3,0±0,4)
90 сут / 1418,0	ПВ 115- 130 мкм	тека	<b>11,9±0,84</b> х <b>4,2±0,53</b>	<b>7,0±0,86</b> х <b>2,3±0,31</b>	<b>0,72±0,130</b> (15,9±1,0)	<b>0,17±0,015</b> (18,8±1,4)
<b>С А М Ц Ы</b>						
30 сут / 715,4	ПВ 30-40 мкм	строма	<b>9,7±1,62</b>	<b>5,4±0,81</b>	<b>0,69±0,062</b> (12,9±1,8)	<b>0,28±0,033</b> (20,9±1,2)
38 сут / 860,3	Гонии	эпителий	<b>5,9±0,85</b>	<b>3,8±0,43</b>	<b>0,63±0,079</b> (15,7±1,3)	<b>0,10±0,012</b> (9,6±1,2)
90 сут / 1418,0	Гонии	строма	<b>6,1±0,29</b>	<b>4,0±0,45</b>	<b>0,38±0,028</b> (12,2±1,1)	<b>0,24±0,033</b> (23,3±1,3)

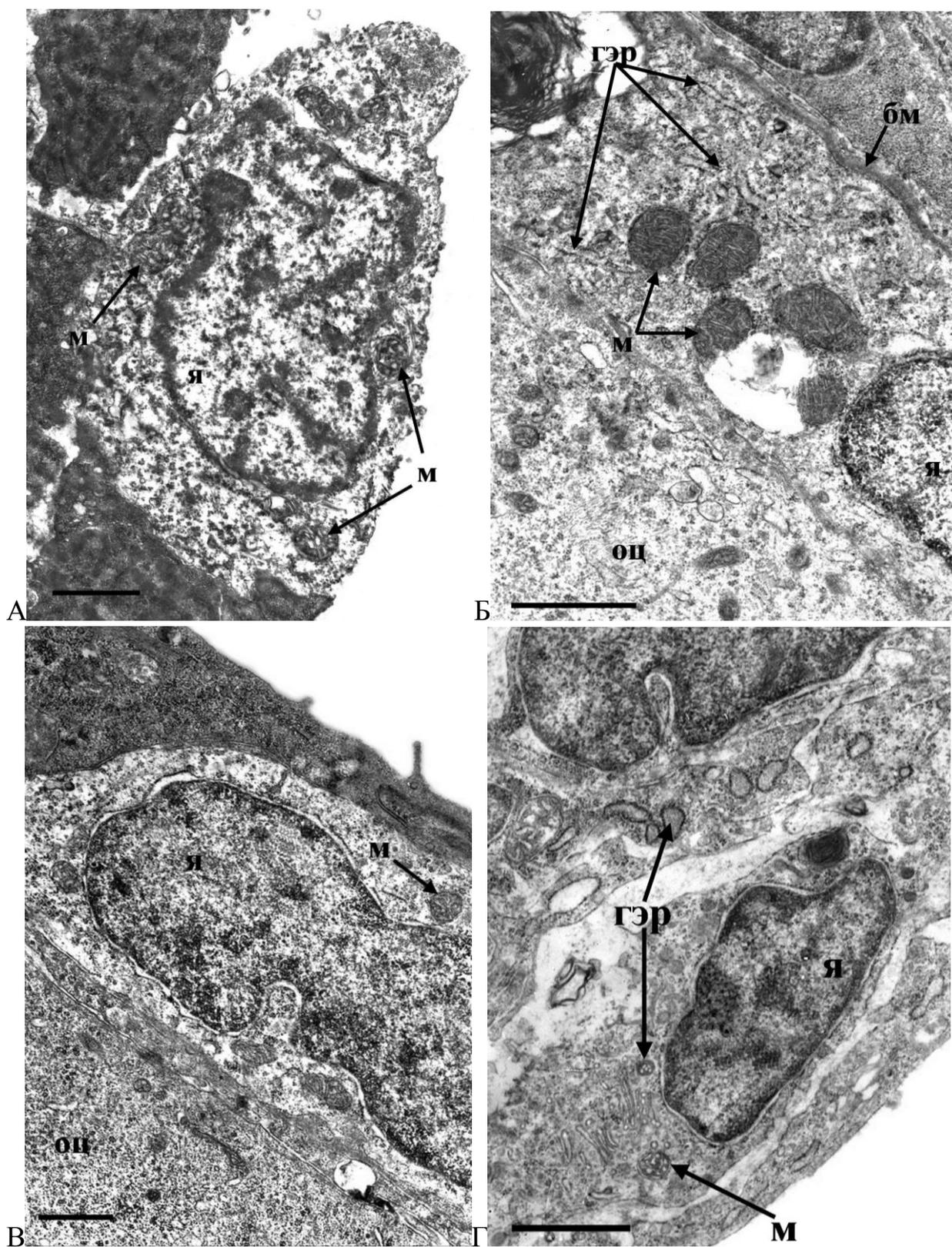
Примечание: здесь и в следующих таблицах СК\* – Поскольку СК, локализованные в составе теки и гранулезы были уплощенной формы, в таблице приведены их длина и высота. В отличие от этого, СК, выявленные в стромах или в оболочке гонад, имели полигональную форму, и их размер определяли как полусумму большого и малого диаметров.

небольшое число свободных рибосом и относительно большое число стопок диктиосом аппарата Гольджи и лизосом (рис. 2.4Г).

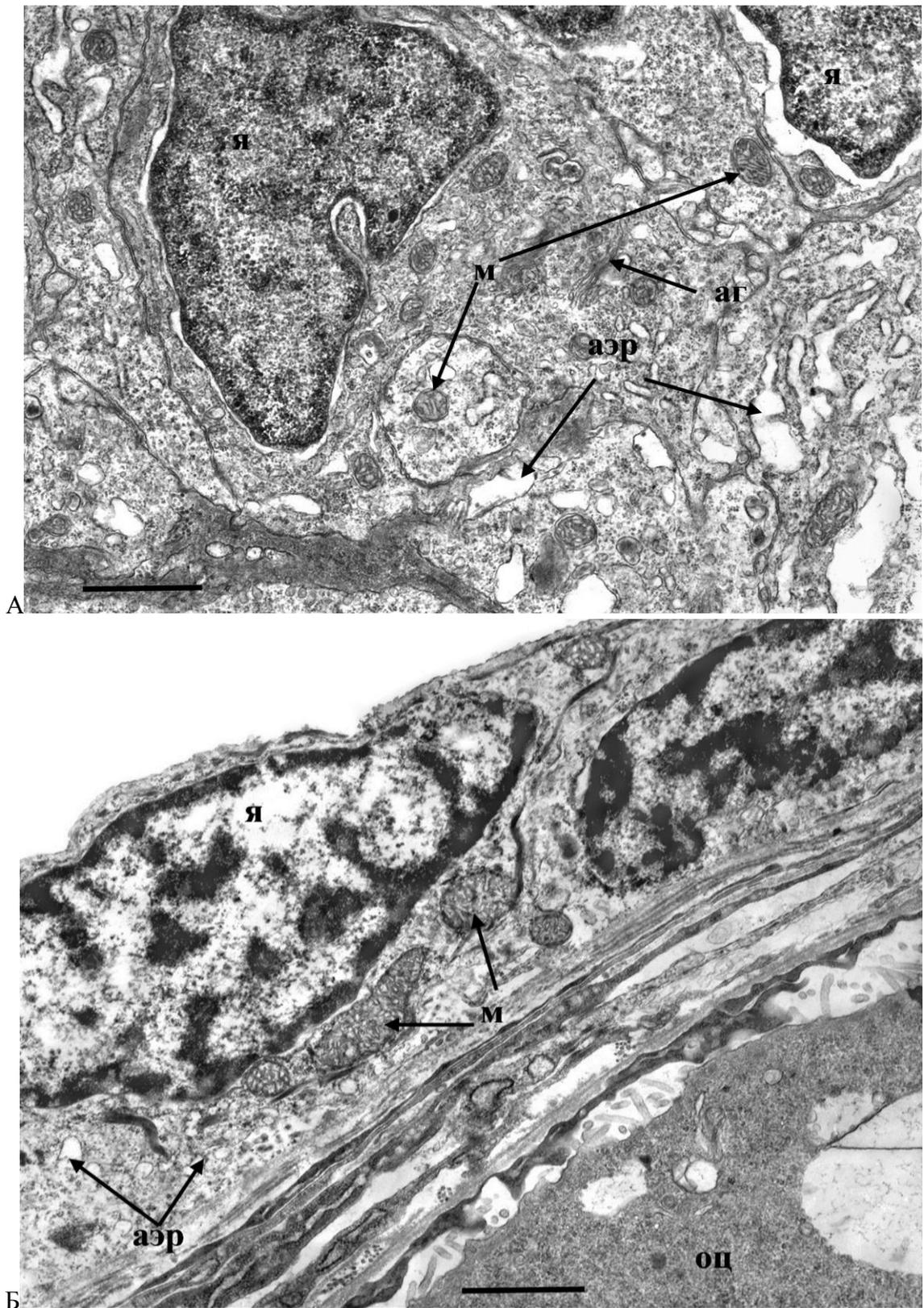
Непосредственно после завершения естественной инверсии пола (860,3 градусо-дней), когда у самцов фонд половых клеток был представлен единичными гониями, стероидсекреторные клетки поодиночке или небольшими группами по 2-3 присутствовали только в эпителии семенников, преимущественно вблизи крупного кровеносного сосуда и в основании мезорхия (рис. 2.5А). У самок (диаметр ооцитов 50-75 мкм) СК обнаруживали практически повсеместно: в составе гранулезы (рис. 2.5Б) и теки (рис. 2.5В) фолликулов ооцитов, а также среди клеток стромы яичников (рис. 2.5Г).

Продолжалась дифференцировка фонда стероидсекреторных клеток и у более взрослой молодежи, набравшей за период развития 1418,0 градусо-дней. У самцов, когда число гониев на срезе в результате митотических делений увеличилось до 100-150, СК обнаруживали преимущественно среди стромальных клеток (рис. 2.6А). Секреторные клетки можно было видеть и в эпителии гонад, однако здесь эти клетки встречались чрезвычайно редко и, в связи с этим, мы не обозначили их в таблице. У самок (диаметр ооцитов 115-130 мкм) активные стероидсекреторные клетки с крупными митохондриями и обширной агранулярной эндоплазматической сетью обнаруживали практически исключительно в составе теки фолликулов (рис. 2.6Б). В составе гранулезы и в строме яичников СК обнаруживали крайне редко.

Таким образом, мы можем проследить следующую динамику активности стероидсекреторных клеток в гонадах у молодежи горбуши. В период тотальной феминизации половых желез СК присутствовали только в строме гонад. В период естественной инверсии пола при сходстве гистологической структуры гонад (у всех особей присутствовали ооциты начала периода превителлогенеза), в будущих семенниках СК были локализованы только в строме и являлись, судя по морфологическим признакам, очень активными. В отличие от этого, у самок мы обнаружили два типа СК, одни из которых располагались в строме, а другие были локализованы среди клеток фолликулярного эпителия. Непосредственно после завершения инверсии пола СК в строме семенников уже не встречались, а присутствовали только в эпителии гонад. При этом они становятся менее активными, чем СК в семенниках периода инверсии. В яичниках же СК присутствовали повсеместно – в составе теки и гранулезы фолликулов ооцитов, а также в строме гонад. Однако впоследствии и в семенниках, и в яичниках остается только один тип секреторных клеток. Таким образом, фактически, и у самцов, и у самок уже в раннем возрасте стероидсекреторные клетки занимают дефинитивное



**Рис. 2.5.** Стероидсекреторные клетки в семеннике (А) и яичнике (Б, В, Г) у молодой горбуши после завершения дифференцировки пола; А - в эпителии, Б - в составе гранулы, В - в составе теки, Г - в строме. Обозначения: ОЦ – ооцит; Я – ядро СК, митохондрии (М), каналцы гранулярного эндоплазматического ретикулума (ГЭР). Пояснение в тексте. Шкала = 1 мкм.



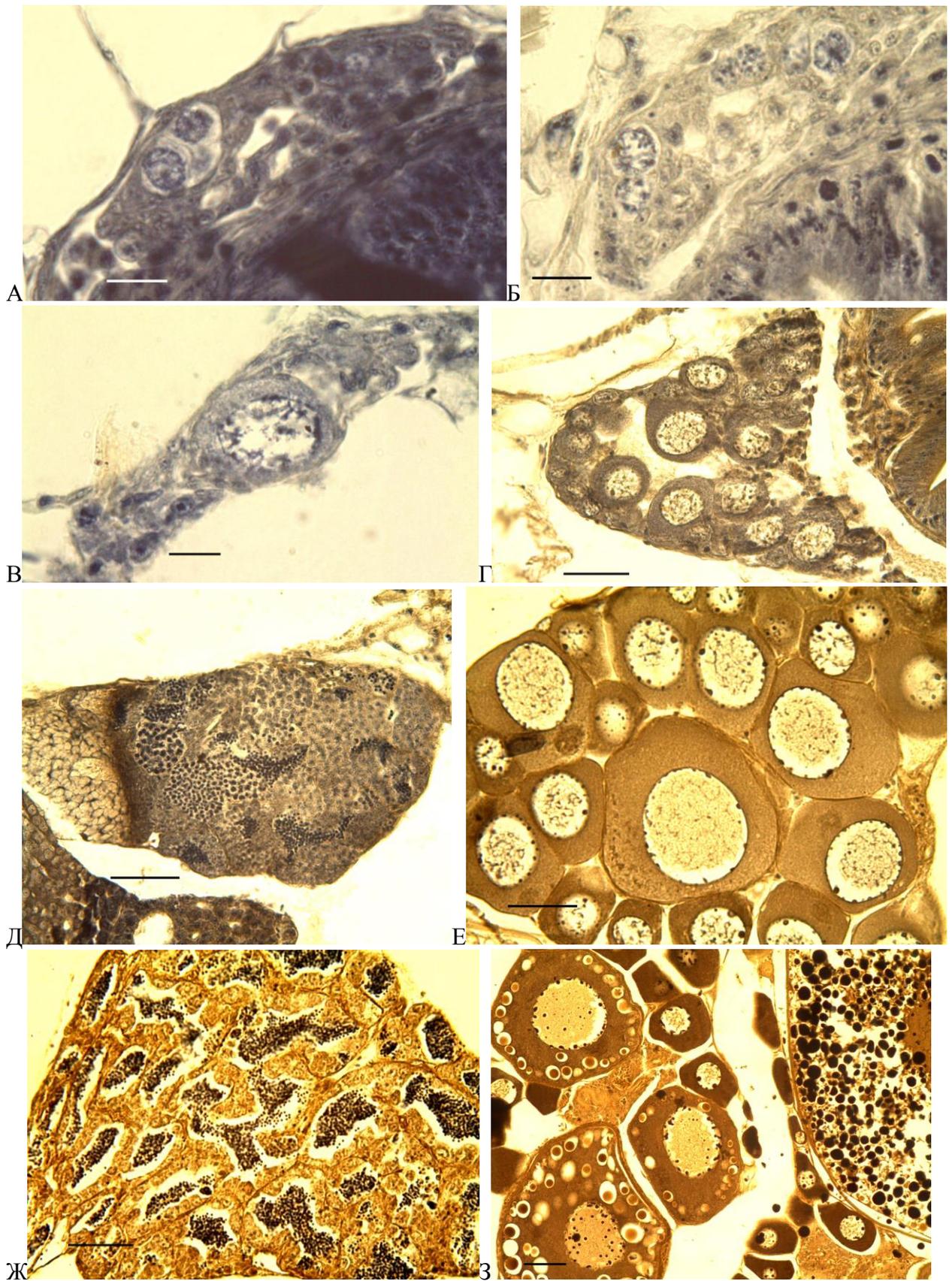
**Рис. 2.6.** Стероидсекреторные клетки в гонадах у молоди горбуши после завершения дифференцировки пола в возрасте 90 сут; А - в строме семенника. Б - в составе теки превителлогенного ооцита в яичнике. Обозначения: ОЦ – ооцит; Я – ядро СК, митохондрии (М), каналцы агранулярного эндоплазматического ретикулума (АЭР), аппарат Гольджи (АГ). Шкала = 1 мкм.

положение, т.е. располагаются именно там, где они обнаруживаются и у половозрелых рыб, т.е. в строме семенников (Арбузова, 1995) и в составе теки фолликулов ооцитов (Hoar, Nagahama, 1978). Судя по количественным данным, наиболее активные СК на этапах личиночно-малькового развития горбуши в гонадах самцов обнаруживаются среди стромальных клеток в период естественной инверсии пола, а у самок – среди клеток теки, но в значительно более позднем возрасте, уже после завершения формирования у них единой генерации превителлогенных ооцитов.

В завершение отметим, что в интересующем нас аспекте полученные данные оказались как ожидаемыми, так и неожиданными. Присутствие наиболее активных стероидсекреторных клеток в гонадах у самцов в период их инверсии, ранее показанное на другом протогиническом гермафродите – *Thalassoma duperrey* (Morrey et al., 1998), подтверждает их участие в регуляции этого процесса. С другой стороны, следует подчеркнуть, что в ооцитах начала превителлогенеза у самцов, в отличие от самок, не происходит локализации стероидсекреторных клеток в формирующейся гранулезе. Таким образом, если определить регуляцию развития ооцитов у генотипических самок как нормальную, то регуляция оогенеза у генотипических самцов явно отклоняется от этой нормы. Очевидно, это обстоятельство подтверждает наше предварительное предположение о том, что полноценный переход мейоцитов к превителлогенезу у генотипических самцов горбуши не происходит.

При анализе хода оогенеза у самцов горбуши возникает естественный вопрос. Как реализуется этот процесс у других видов круглоротых и рыб, тем более что ювенильная естественная инверсия пола характерна для многих видов самых разных систематических групп. Для ответа на этот вопрос мы выбрали виды, принципиально далекие друг от друга в эволюционном плане – представителя низших позвоночных животных – ручьевую миногу (*Lampetra planeri*; сем. Petromyzontidae) и представителя настоящих костистых рыб данио рерио (*Danio rerio*; сем. Cyprinidae).

Выращивая данио при постоянной температуре 23-24°C в течение полного репродуктивного цикла от оплодотворения до полового созревания, мы установили, что в момент вылупления в гонадах всех особей присутствовали только гонии (рис. 2.7А). Тотальная феминизация была выявлена у рыб в возрасте 16 сут (рис. 2.7Б), когда в яичниках у всех рыб помимо гониев присутствовали ооциты периода ранней профазы мейоза. В возрасте 28 сут в будущих семенниках еще можно было видеть единичные ооциты периода превителлогенеза (рис. 2.7В). Однако с возраста 67 сут в семенниках у



**Рис. 2.7.** Состояние гонад у данио рерио в возрасте 10 (А), 16 (Б), 28 (В), 41 (Г), 67 (Д, Е) и 117 (Ж, З). Можно видеть последовательное развитие семенников (А, В, Д) и яичников (Б, Г, Е). Шкала А-В = 20 мкм; Г-З = 50 мкм.

всех рыб уже наблюдали волну активного сперматогенеза (рис. 2.7Д). В яичниках рыб этого возраста старшую генерацию половых клеток еще составляли ооциты периода превителлогенеза (рис. 2.7Е); в возрасте 117 сут репродуктивный цикл как самцов (рис. 2.7Ж), так и самок (рис. 2.7З) был близок к завершению.

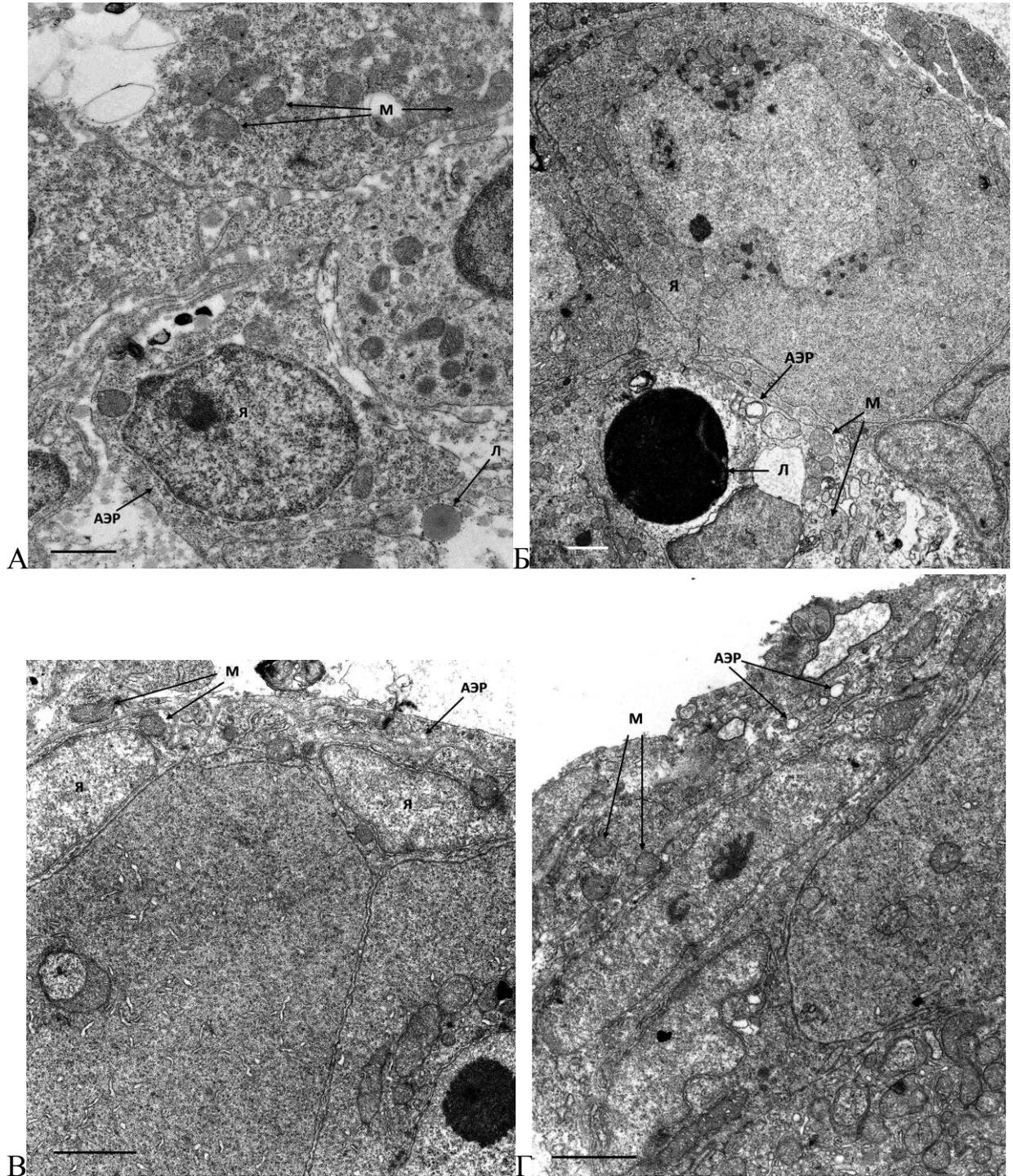
В возрасте 22 сут в яичниках генотипических самок стероидсекреторные клетки были выявлены как в строме, так и в гранулезе фолликулов превителлогенных ооцитов. В отличие от этого, в яичниках у генотипических самцов стероидсекреторные клетки присутствовали в эпителии и строме гонад. Это были активные в плане стероидного синтеза клетки (рис. 2.8А), подобные тем, которые выявляли в гонадах у горбуши. Более того, стероидсекреторные клетки в строме гонад у самцов данио выделяли уже по всем трем основным признакам. Помимо агранулярного эндоплазматического ретикулюма и митохондрий с трубчато-везикулярными кристами, в этих клетках присутствовали липидные включения, которых не находили у молоди горбуши.

В возрасте 41 сут, когда инверсия пола у генотипических самцов завершилась, дифференцированные стероидсекреторные клетки с хорошо выраженными признаками стероидного синтеза находили практически повсеместно – у самок в строме яичников, а также в гранулезе и теке фолликулов (рис. 2.8Б, В) у самцов в строме и эпителии семенников (рис. 2.8Г).

С миногой ситуация несколько иная. В ряде работ, посвященных анализу гонадо- и гаметогенеза круглоротых, говорится о возможной феминизации гонад и последующей инверсии пола, но только у части мужских особей (Кузнецов, 1986).

Исследуя ручьевую миногу, мы опирались на данные литературы, зная, что период личиночного развития у особей этого вида продолжается в течение четырех лет и при этом длине личинок до 30 мм, до 60 мм, до 90 мм и более 90 мм, соответствует возраст 0+, 1, 2 и 3 года (Кузнецов, 1986). Мы установили, что у личинок длиной до 29 мм в гонадах присутствуют только гонии. При длине от 29 до 32 мм у части особей помимо гониев в гонадах можно видеть ооциты периода ранней профазы мейоза, а при длине от 33 до 60 мм (всего в этом размерном диапазоне исследовали гонады у 41 личинки) ооциты присутствовали абсолютно у всех особей. При этом у всех личинок крупнее 40 мм старшую генерацию половых клеток составляли ооциты периода превителлогенеза диаметром от 20-25 мкм у самых мелких до 60-65 мкм у наиболее крупных особей. Как и у молоди горбуши, среди личинок миноги можно было выделить личинок с относительно большим числом ооцитов, предположительно генотипических самок, и с относительно малым числом, предположительно – генотипических самцов. И только среди личинок

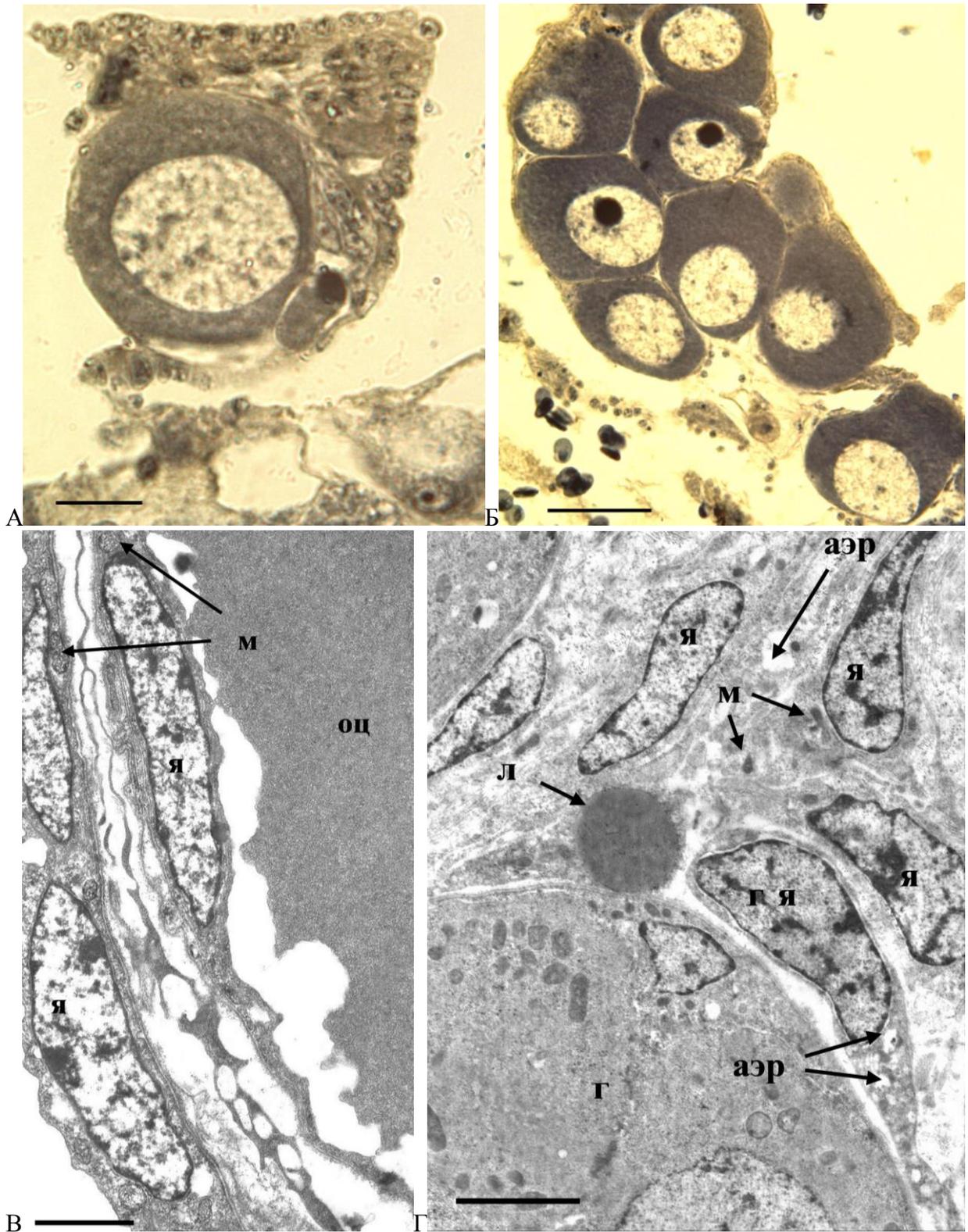
крупнее 61 мм, т.е. в возрасте 2+ можно было однозначно выделить самцов и самок по состоянию половых желез (рис. 2.9А и Б).



**Рис. 2.8.** Стероидсекреторные клетки в гонадах данио рерио в возрасте 22 (А) и 41 сут (Б-Г). Клетки расположены в строме (А, Б) яичников и гранулезе ооцитов (В), а также в эпителии семенников (Г). Обозначения: Я – ядро СК, митохондрии (М) с трубчато-везикулярными кристами, канальцы агранулярного (АЭР) эндоплазматического ретикулаума, липиды (Л). Пояснение в тексте. Шкала А = 1 мкм, Б-Г = 2 мкм.

У личинок с гонадами индифферентного состояния в возрасте 1 год стероидсекреторные клетки были выявлены в строме гонад, а у самок в возрасте 2 года – в составе оболочек превителлогенных ооцитов: в гранулезе и теке (рис. 2.9В). И те, и другие клетки имели уплощенную форму, но первые были достоверно крупнее ( $p < 0,05$ ; табл. 2.4). У самок в возрасте 3 года стероидсекреторные клетки располагались исключительно в составе теки фолликулов ооцитов и по своей ультраструктурной организации были практически такими же, как клетки, выявленные в теке у самок в возрасте 2 лет (табл. 2.4). В семенниках всех исследованных самцов в возрасте 2 и 3 года секреторные клетки преимущественно были локализованы в строме гонад, образуя небольшие скопления по 3–5 шт. Это были некрупные (в среднем 6,0 мкм) полигональные клетки с округлыми или овальными ядрами (рис. 2.9Г), округлыми митохондриями с трубчато-везикулярными кристами (10–12 на срез клетки) и хорошо развитой гранулярной и агранулярной эндоплазматической сетью (табл. 2.4). Кроме них немногочисленные клетки с характерной светлой цитоплазмой были обнаружены в эпителии семенников. Они также образовывали небольшие группы из 3–4 шт.

Таким образом, мы исследовали инверсию пола у трех видов животных принципиально различающихся друг с другом не только в систематическом плане, но и продолжительностью репродуктивного цикла. Так, период от вылупления до полового созревания у данио (при массе до 1 г) составляет около 4, а у горбуши около 20 мес (при массе преимущественно 1-2 кг). В отличие от них у миноги продолжительность только личиночного периода растягивается на 4 года. Отметим, что и само анатомическое строение яичников у трех этих видов принципиально различается (непарная железа открытого типа у миноги; парная железа открытого типа у горбуши и парная железа закрытого типа у данио). Однако все три вида со столь различным характером и особенностью репродуктивного периода в интересующем нас аспекте оказались совершенно одинаковыми. У самцов всех видов естественная инверсия пола завершалась не раньше, чем в гонадах всех особей появлялись ооциты периода превителлогенеза. При этом у самцов миноги, как и у самцов горбуши стероидсекреторные клетки при наличии ооцитов периода превителлогенеза не выявлялись в их оболочках. Можно полагать, что не только у самцов горбуши, но и у самцов других видов – ювенильных протогинических гермафродитов, полноценное вступление ооцитов периода ранней профазы мейоза в превителлогенез оказывается невозможно.



**Рис. 2.9.** Состояние гонад у самцов (А) незадолго до завершения инверсии и генотипических самок миноги (Б). Стероидсекреторные клетки в составе гранулы и теки фолликула ооцита (В; 2 года), а также в строме семенника (Г; 3 года). Обозначения: Г – гоний, ОЦ – ооцит, Я – ядро СК, митохондрии (М), каналцы гранулярного эндоплазматического ретикулума (ГЭР), Л - липид. Шкала А = 20 мкм, Б = 50 мкм, В = 2 мкм, Г = 5 мкм.

Таблица. 2.4.

Характеристика стероидсекреторных клеток (СК) в гонадах у молоди речной миноги в период дифференцировки пола (в скобках дана объемная плотность органоидов, %)

Возраст, лет	Состояние клеток старшей генерации	Локализация СК	Размеры, мкм			
			СК	ядра СК	митохондрии	канальца АЭР
<b>С А М К И</b>						
1	Гонии	строма	<b>6,1±0,84</b>	<b>3,9±0,39</b>	<b>0,33±0,024</b> (9,4±0,6)	<b>0,17±0,033</b> (12,8±0,9)
2	ПВ 60-80 мкм	гранулеза	<b>8,7±0,94 х</b> <b>1,4±0,23</b>	<b>5,2±0,05 х</b> <b>1,0±0,28</b>	<b>0,41±0,032</b> (17,7±0,9)	<b>0,14±0,030</b> (15,1±1,9)
		тека	<b>5,8±0,65 х</b> <b>1,7±0,04</b>	<b>4,2±0,40 х</b> <b>1,2±0,19</b>	<b>0,40±0,044</b> (12,2±1,6)	<b>0,09±0,010</b> (15,9±1,1)
3	ПВ 120-130 мкм	тека	<b>5,2±0,88 х</b> <b>1,7±0,42</b>	<b>3,4±0,48 х</b> <b>1,1±0,20</b>	<b>0,48±0,051</b> (14,3±0,6)	<b>0,10±0,022</b> (16,4±1,2)
<b>С А М Ц Ы</b>						
2	ПВ 60-80 мкм единично	строма	<b>6,2±0,93</b>	<b>3,8±0,78</b>	<b>0,48±0,050</b> (15,9±1,0)	<b>0,27±0,064</b> (16,1±1,4)
		эпителий	<b>6,4±0,34 х</b> <b>2,4±0,12</b>	<b>4,6±0,26 х</b> <b>2,5±0,31</b>	<b>0,50±0,067</b> (15,7±1,7)	<b>0,22±0,045</b> (15,6±1,1)
3	Гонии	строма	<b>6,0±1,27</b>	<b>3,7±0,56</b>	<b>0,49±0,052</b> (15,6±0,7)	<b>0,31±0,060</b> (13,6±1,1)
		эпителий	<b>7,9±1,08 х</b> <b>3,4±0,38</b>	<b>4,9±0,11 х</b> <b>2,4±0,29</b>	<b>0,48±0,039</b> (18,2±1,3)	<b>0,26±0,063</b> (14,4±1,3)

### 2.3. Экспериментальный подход к исследованию онтогенетических, цитологических и эндокринных аспектов инверсии пола

Заключение, приведенное в конце предыдущего раздела, побуждает сформулировать следующие вопросы, логично вытекающие из полученных результатов: возможно ли, оказывая на генотипических самцов гормональное воздействие, с одной стороны, предотвратить тотальную феминизацию их гонад, с другой – добиться полноценного перехода ооцитов к превителлогенезу. Тем более что в литературе накоплено много сведений о влиянии половых стероидных гормонов на регуляцию различных аспектов репродуктивной функции (Бурлаков, 1997; 2002; Gray et al., 1999; Devlin, Jalabert et al., 2000; Баранникова, 2004 и другие).

После того, как впервые была показана сама возможность изменить пол у рыб при помощи половых стероидных гормонов (Yamamoto, 1953), а впоследствии выявлена комплексная роль этих гормонов в регуляции процессов дифференцировки пола (Nakamura et al., 1998; Baroiller et al., 1999; Nagahama, 2000; Devlin, Nagahama, 2002;

Nakamura et al., 2005; Jalabert, 2005; Senior, Nakagava, 2013 и др.), исследователи выполнили действительно большое число работ на молоди рыб, имеющих и фундаментально-теоретическую, и ярко выраженную практическую направленность (Гомельский, 1980; Piferrer, 2001). В работах по развитию гонад в направлении семенников использовали гормоны-андрогены, чаще всего синтетический аналог метилтестостерон (Родина, Хорват, 1999) или ингибиторы фермента ароматазы, выполняющего решающую роль в дифференцировке яичников (Babiak et al., 2012). В работах с индуцированием развития яичников использовали гормоны эстрогены, в растворах которых инкубировали подопытных рыб (Hirai et al., 2006; Kobayashi et al., 2011; Ковалев и др., 2012), задавали их с кормом (Arslan et al., 2009; de Carvalho et al., 2014), вводили в виде капсул (Ohta et al., 2012) или инъекций (Park et al., 2010). Как уже было отмечено ранее, конечной практической целью этих работ была разработка биотехники получения однополых популяций, состоящих только из самок или самцов, в зависимости от того, каких особей у конкретного вида выгодно использовать при товарном выращивании. Много работ в данном направлении выполнили и на лососевых рыбах – объектах аквакультуры, причем, как с полициклическим (Ванякина, 1969; Гомельский, 1980), так и с моноциклическим типом воспроизводства (Nakamura, 1981). Впрочем, в практическом плане накоплен и опыт по относительно шадящему гормональному воздействию на молодь рыб с целью повлиять на репродуктивную функцию, но избежать инверсии пола (Behera et al., 2014).

Обобщение имеющихся данных позволило установить, что, при прочих равных обстоятельствах, наиболее эффективно переопределение пола достигается при гормональном воздействии в период, непосредственно предшествующий дифференцировке пола; по мере взросления рыб для достижения этого же эффекта требуется бóльшая доза препарата (Shelton, Rothbard, 1995; Gorshkov et al., 1999; Tsai et al., 2000; Piferrer, 2001).

Вместе с тем, в работах, выполненных в том числе и на лососевых рыбах, использовали гормоны-эстрогены для того, чтобы стимулировать феминизацию семенников и гормоны-андрогены с целью стимуляции маскулинизации яичников. Нам же предстояло выполнить работы с прямо противоположной задачей.

В первом разделе работы необходимо было оказать воздействие гормонами-андрогенами на самцов горбуши с целью предотвратить феминизацию их гонад.

Во втором разделе – оказать воздействие гормонами-эстрогенами также на самцов, но в тот период, когда в их гонадах присутствовали ооциты, т.е. индуцировать эстрогенами оогенез генотипических самцов.

Поскольку в литературе не удалось обнаружить информацию о такого рода работах, в каждом случае было решено применить только один гормональный препарат (в первом разделе масляный раствор тестостерона-пропионата, во втором – эстрадиола-дипропионата) и один способ гормонального воздействия (инъекция в желточный мешок), но при этом использовать широкий спектр дозировок. Так в опытах с тестостероном, инъецированным зародышам через 26 сут от оплодотворения (и за 19 сут до вылупления), концентрация гормона между крайними значениями различалась на три порядка.

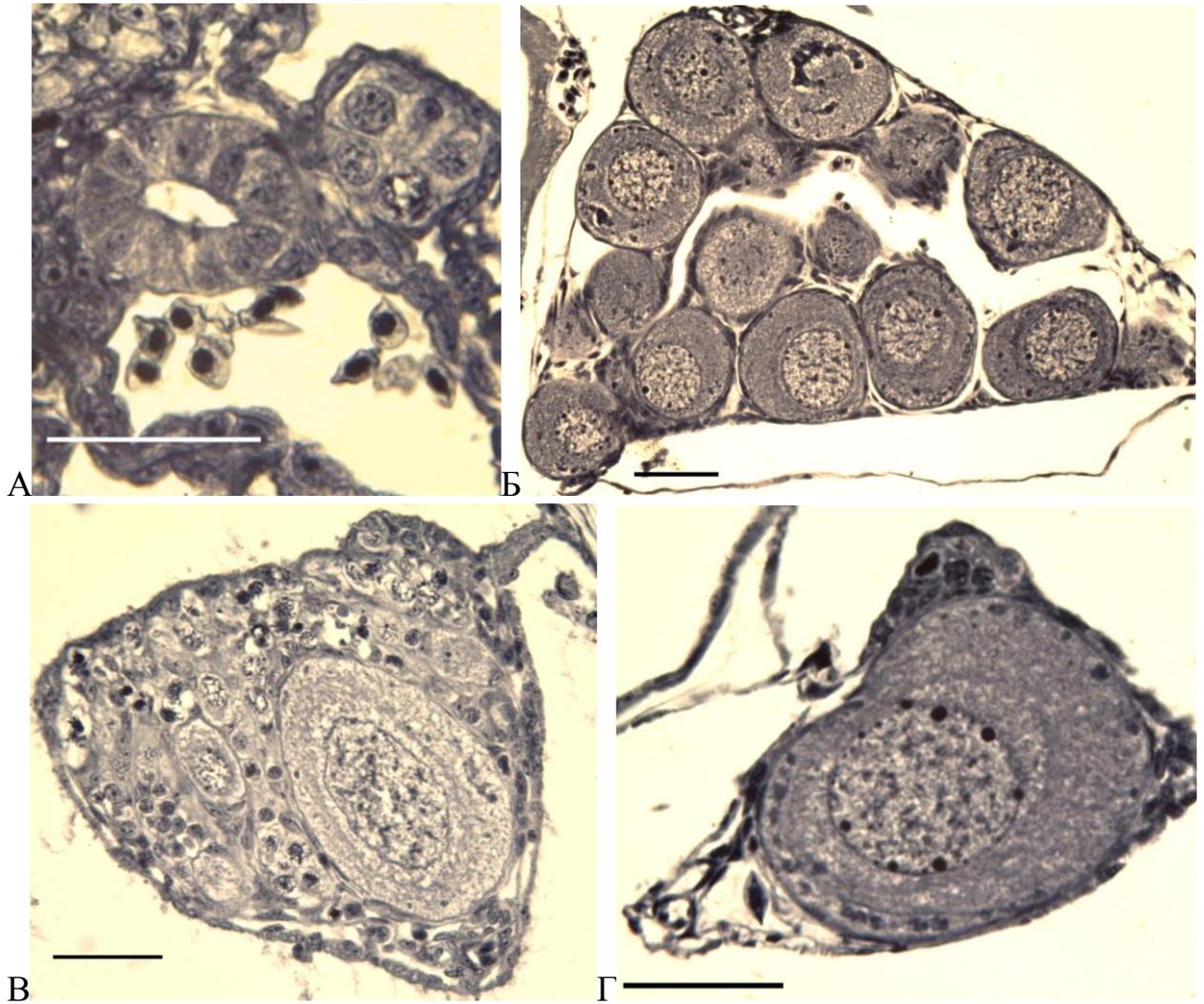
Опыты с воздействием эстрадиола варьировали более масштабно. Была использована доза гормона от 3 до 20 мкл и разное число инъекций (от 1 до 3). К тому же воздействовали на зародышей и личинок с качественно различным состоянием гонад – в индифферентный период, непосредственно после феминизации и в ходе естественной инверсии пола.

Введение тестостерона зародышам горбуши с гонадами в индифферентном состоянии (рис. 2.10А) даже в самой максимальной концентрации не предотвратило тотальную феминизацию гонад. Через 11 сут после инъекции гормона (в 47 сут) у всех 58 контрольных и подопытных особей присутствовали ооциты преимущественно в состоянии лептотены и зиготены. Только у рыб, получивших относительно высокие дозы гормона (опыты 2.3 и 2.4), наблюдали некоторое уменьшение площади гонад и числа мейоцитов (табл. 2.5). Через 85 сут от оплодотворения (в возрасте 41 сут) эффект гормонального воздействия оценивали на молоди, получившей максимальную из использованных доз – опыт 2.4. 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 (табл. 2.5). Очевидно, 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 молоди 57 сут от вылупления; 101 сут от оплодотворения) эффект гормонального воздействия сохранился. Характер и выраженность этих изменений зависели от пола и дозы гормона. У самцов в разных вариантах опыта средняя площадь гонад на срезе была в основном сходной с таковой у молоди в контроле, но вариабельность этого показателя была выше у рыб, получивших

тестостерон, особенно в опыте 2.4. 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 подопытных самцов фонд половых клеток был настолько мал, что гонии обнаруживали не на каждом, а только на одном из 5–10 фронтальных срезов семенников. У самок, получивших тестостерон в минимальных дозах (опыт 2.1 и 2.2), площадь яичника на срезе была больше, чем у контрольных рыб (соответственно на 12 и 50 %). Это увеличение, вероятнее всего, было связано с изменениями в соматической части гонад (васкуляризацией, развитием стромальной, жировой и стероидогенной ткани). Об этом же свидетельствует тот факт, что фонд превителлогенных ооцитов был фактически таким же, а их средний диаметр — несколько меньше, чем у контрольных особей (рис. 2.10Б). У самок горбуши в опытах 2.3 и 2.4 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 запускание клеточных ячеек. Нередко в яичниках подопытных рыб находили более молодые превителлогенные ооциты (рис. 2.10В), 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. 2.10Г).

Исследуя состояние стероидсекреторных клеток у контрольных самок, мы обнаружили их только в соединительнотканной теке превителлогенных ооцитов, а у самцов — исключительно в эпителии семенников. В отличие от этого, у подопытных самок СК присутствовали как в теке превителлогенных ооцитов, так и в строме гонад. При этом большинство секреторных клеток характеризовались сравнительно небольшими размерами, полигональной формой и находились именно в строме яичников, располагаясь вблизи многочисленных кровеносных капилляров, часто группами по 2–3. В ядрах этих клеток, округлой или вытянутой формы, можно было видеть характерное для них пристеночное расположение хроматина (рис. 2.11А), а в цитоплазме — каналцы хорошо



**Рис. 2.10.** Состояние гонад у молоди горбуши через 26 (А) и 101 сут. после оплодотворения (Б, В, Г). В момент инъекции тестостерона фонд половых клеток составляли только гонии (А); можно видеть также обычное состояние яичников (Б); задержку синхронизации (В) и сокращение (Г) фонда ооцитов у подопытных рыб. Пояснение в тексте. Шкала = 50 мкм.

Таблица 2.5.

Состояние гонад у молоди горбуши после инъекции тестостерона-пропионата за 19 сут. до вылупления

Возраст рыб, сут	Вариант опыта	Пол	Число рыб	Длина рыб FL, мм	Масса рыб, мг	Площадь срезов гонад, $\times 10^{-3}$ мм <sup>2</sup>	Число клеток на один срез			Диаметр ооцитов, мкм
							всех половых клеток	РПМ	ПВ	
- 8*	Контроль	—	10	15,1 ± 0,6	104,1 ± 5,2	9,2 ± 1,2	10,3 ± 1,2	6,4 ± 1,1	—	—
	Опыт 2.1	—	12	15,3 ± 0,3	91,3 ± 3,4	10,1 ± 1,0	9,6 ± 0,9	6,4 ± 0,6	—	—
	Опыт 2.2	—	12	14,2 ± 0,4	87,4 ± 5,2	9,7 ± 1,3	10,3 ± 1,3	7,0 ± 1,3	—	—
	Опыт 2.3	—	14	14,5 ± 0,2	93,1 ± 5,1	9,0 ± 1,0	8,9 ± 0,9	5,1 ± 0,8	—	—
	Опыт 2.4	—	10	14,1 ± 0,3	91,2 ± 5,6	5,9 ± 0,4	8,3 ± 0,7	5,8 ± 0,5	—	—
41	Контроль	♂	5	26,4 ± 0,6	136,6 ± 11,7	2,9 ± 0,6	4,0 ± 0,6	—	—	—
		♀	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
	Опыт 2.4	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
57	Контроль	♂	3	29,0 ± 0,3	164,0 ± 1,0	2,5 ± 0,2	3,7 ± 1,0	—	—	—
	Опыт 2.1	♂	4	30,7 ± 0,7	180,1 ± 9,4	2,5 ± 0,2	1,6 ± 0,4	—	—	—
	Опыт 2.2	♂	5	31,0 ± 0,7	190,0 ± 17,5	2,2 ± 0,2	0,9 ± 0,4	—	—	—
	Опыт 2.3	♂	4	30,0 ± 0,8	183,2 ± 18,3	3,0 ± 0,1	1,8 ± 1,1	—	—	—
	Опыт 2.4	♂	2	30,5 ± 0,5	182,0 ± 13,0	2,9 ± 1,2	1,7 ± 0,7	—	—	—
	Контроль	♀	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
	Опыт 2.1	♀	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
	Опыт 2.2	♀	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
	Опыт 2.3	♀	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
	Опыт 2.4	♀	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

Примечание: \* - фиксация зародышей была сделана за 8 сут до вылупления; возраст указан со знаком минус.

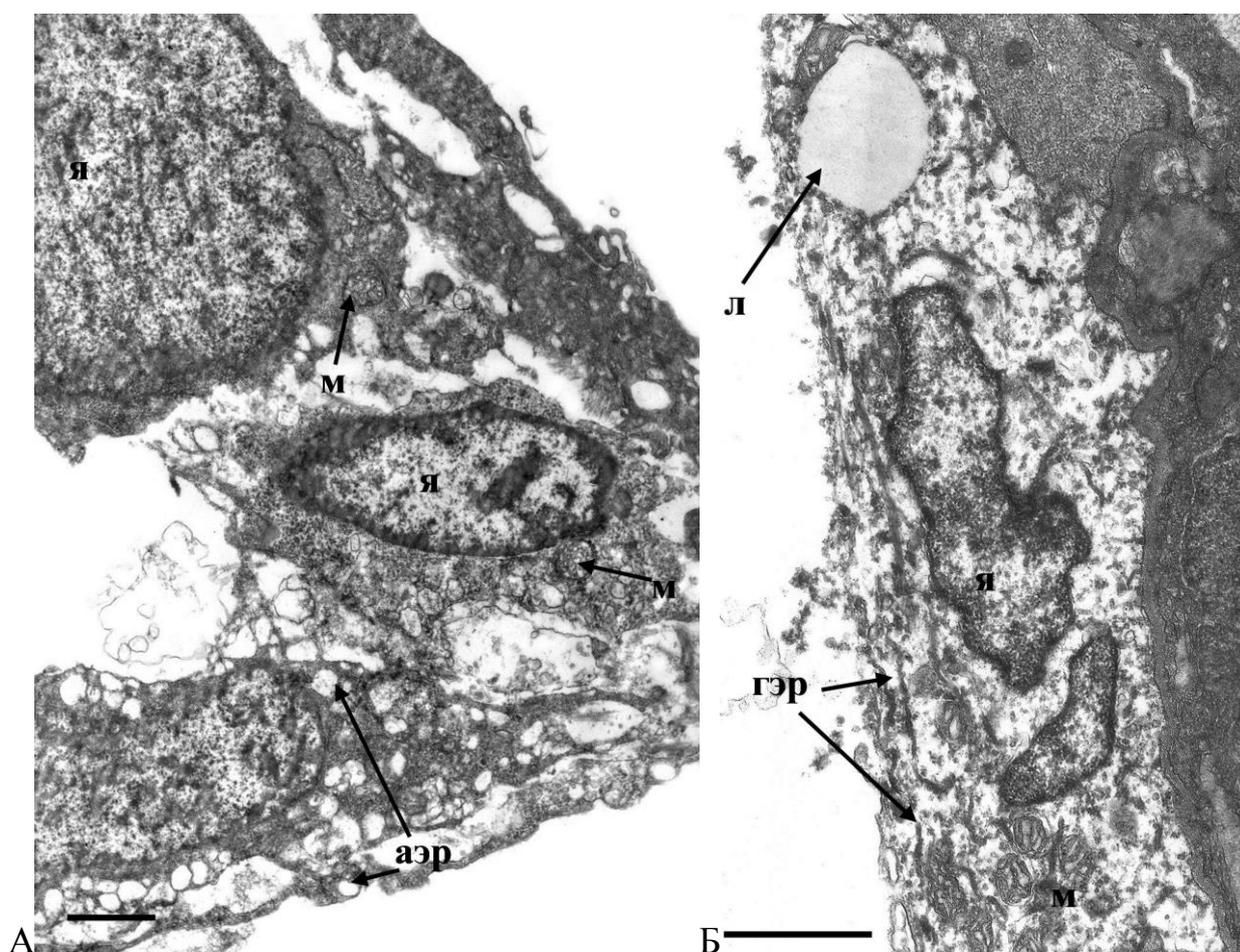
развитой агранулярной эндоплазматической сети, о чем можно судить по среднему диаметру этих канальцев (0,21 мкм) и их относительной объемной плотности в цитоплазме – 28,5% (табл. 2.6). Стероидсекреторные клетки в составе теки фолликулов (рис. 2.11Б) отличались уплощенной формой с веретеновидным ядром. Размеры этих клеток, а также диаметр митохондрий и канальцев агранулярной сети были достоверно меньше, чем в контроле. Отмечено также снижение объемной плотности этих органоидов в цитоплазме СК у подопытных самок (табл. 2.6) и появление липидных включений размером в среднем  $1,04 \pm 0,14$  мкм. Таким образом, в яичниках подопытных самок активность стероидсекреторных клеток в составе теки превителлогенных ооцитов понижается. При этом появляется большое количество активных клеток в составе стромы.

В отличие от контрольных, у подопытных самцов стероидсекреторные клетки располагались исключительно в строме семенников. Диаметр митохондрий и канальцев агранулярной эндоплазматической сети был значительно меньше, чем у контрольных рыб (табл. 2.6).

Таблица 2.6.

Характеристика стероидсекреторных клеток (СК) в гонадах горбуши через 112 сут после инъекции тестостерон-пропионата.  
(в скобках дана объемная плотность органоидов, %)

Контроль / Опыт	Локали- зация СК	Размер, мкм			
		СК	ядра СК	митохондрии	канальца АЭР
<b>САМКИ</b>					
Контроль	тека	<b>10,1</b> $\pm$ 0,87 х <b>2,4</b> $\pm$ 1,26	<b>5,1</b> $\pm$ 0,79 х <b>1,2</b> $\pm$ 0,37	<b>0,58</b> $\pm$ 0,054 (15,7 $\pm$ 1,0)	<b>0,23</b> $\pm$ 0,026 (18,8 $\pm$ 1,4)
Опыт	тека	<b>7,3</b> $\pm$ 1,84 х <b>1,7</b> $\pm$ 0,06	<b>3,8</b> $\pm$ 0,68 х <b>1,2</b> $\pm$ 0,14	<b>0,44</b> $\pm$ 0,035 (10,5 $\pm$ 0,5)	<b>0,15</b> $\pm$ 0,022 (14,7 $\pm$ 0,9)
	строма	<b>5,2</b> $\pm$ 0,57	<b>3,0</b> $\pm$ 0,40	<b>0,46</b> $\pm$ 0,033 (14,7 $\pm$ 1,13)	<b>0,21</b> $\pm$ 0,029 (28,5 $\pm$ 0,9)
<b>САМЦЫ</b>					
Контроль	эпителий гонад	<b>4,9</b> $\pm$ 0,82	<b>3,1</b> $\pm$ 0,51	<b>0,62</b> $\pm$ 0,027 (12,7 $\pm$ 1,3)	<b>0,16</b> $\pm$ 0,029 (14,1 $\pm$ 0,7)
Опыт	строма	<b>4,3</b> $\pm$ 0,79	<b>2,6</b> $\pm$ 0,46	<b>0,33</b> $\pm$ 0,017 (7,6 $\pm$ 0,3)	<b>0,12</b> $\pm$ 0,019 (16,9 $\pm$ 1,0)



**Рис. 2.11.** Стероидсекреторные клетки в составе стромы (А) и теки (Б) фолликула превителлогенного ооцита в яичнике подопытной самки горбуши после воздействия экзогенным тестостероном. В цитоплазме присутствуют липидные включения. Обозначения: Я – ядро СК, митохондрии (М) с трубчато-везикулярными кристами, каналцы агранулярного (АЭР) и гранулярного (ГЭР) эндоплазматического ретикулума, липиды (Л). Пояснение в тексте. Шкала = 1 мкм.

По совокупности полученных данных можно заключить, что состояние СК у контрольных и подопытных рыб, изученных нами спустя 108 сут после гормонального воздействия, как у самок, так и у самцов существенно различалось. Исследования, проведенные ранее, позволили выделить основные направления развития секреторной функции гонад у молоди горбуши. Так, у самок с ростом превителлогенных ооцитов в яичниках происходит изменение локализации СК, перемещающихся из стромы в оболочку ооцитов и увеличение функциональной активности СК в составе теки. У самцов в период инверсии пола секреторные клетки располагаются только в строме, а после завершения этого процесса – только в эпителии половых желез. Затем СК снова появляются в строме, т.е. располагаются именно там, где и у взрослых рыб в период

созревания (Арбузова, 1995). Учитывая эти тенденции, следует отметить, что после воздействия тестостероном у подопытных самок горбуши гонады были менее развиты, а у самцов, напротив, более развиты, чем в контроле. Об этом можно судить по тому, что и в яичниках, и в семенниках СК локализованы преимущественно в строме гонад. Однако если для самок это свойственно гонадам, менее продвинутым в плане становления стероидсекреторной функции, то для самцов, напротив, гонадам с более продвинутой стероидсекреторной функцией.

Во втором разделе работы установили, что воздействие эстрадиола на самцов горбуши при любом исходном состоянии гонад стимулировало у них оогенез во всех экспериментах. Так, одна инъекция гормона зародышам с гонадами индифферентного состояния (опыт 5.1), проведенная за 22 сут до вылупления, в дальнейшем предотвратила резорбцию ооцитов периода превителлогенеза. Например, в возрасте 25 сут после вылупления при одинаковой массе тела (рис. 2.12А) число этих ооцитов у самцов в опыте было в 11 раз больше, чем в контроле. Как следствие, в 7,5 раз больше площадь гонад на фронтальных срезах (рис. 2.12Б). Отметим, что в этом опыте самок и самцов по состоянию гонад трудно было различить. Мы, фактически, объединили в группу «самцов» всех особей с наименьшим числом половых клеток, и не исключено, что при этом могли ошибиться. Впрочем, если в группе «самок» остались неучтенные нами генотипические самцы с более крупными гонадами, то это лишь подчеркивает выявленный эффект, который заключается в том, что инверсию пола удалось предотвратить.

Вторая инъекция гормона, сделанная зародышам в день вылупления (опыт 5.2), не усилила эффект от воздействия первой. Можно видеть, что число как всех половых клеток, так и ооцитов периода превителлогенеза в возрасте 25 сут у самцов в опытах 5.1 и 5.2 оказалось сходным (рис. 2.12В).

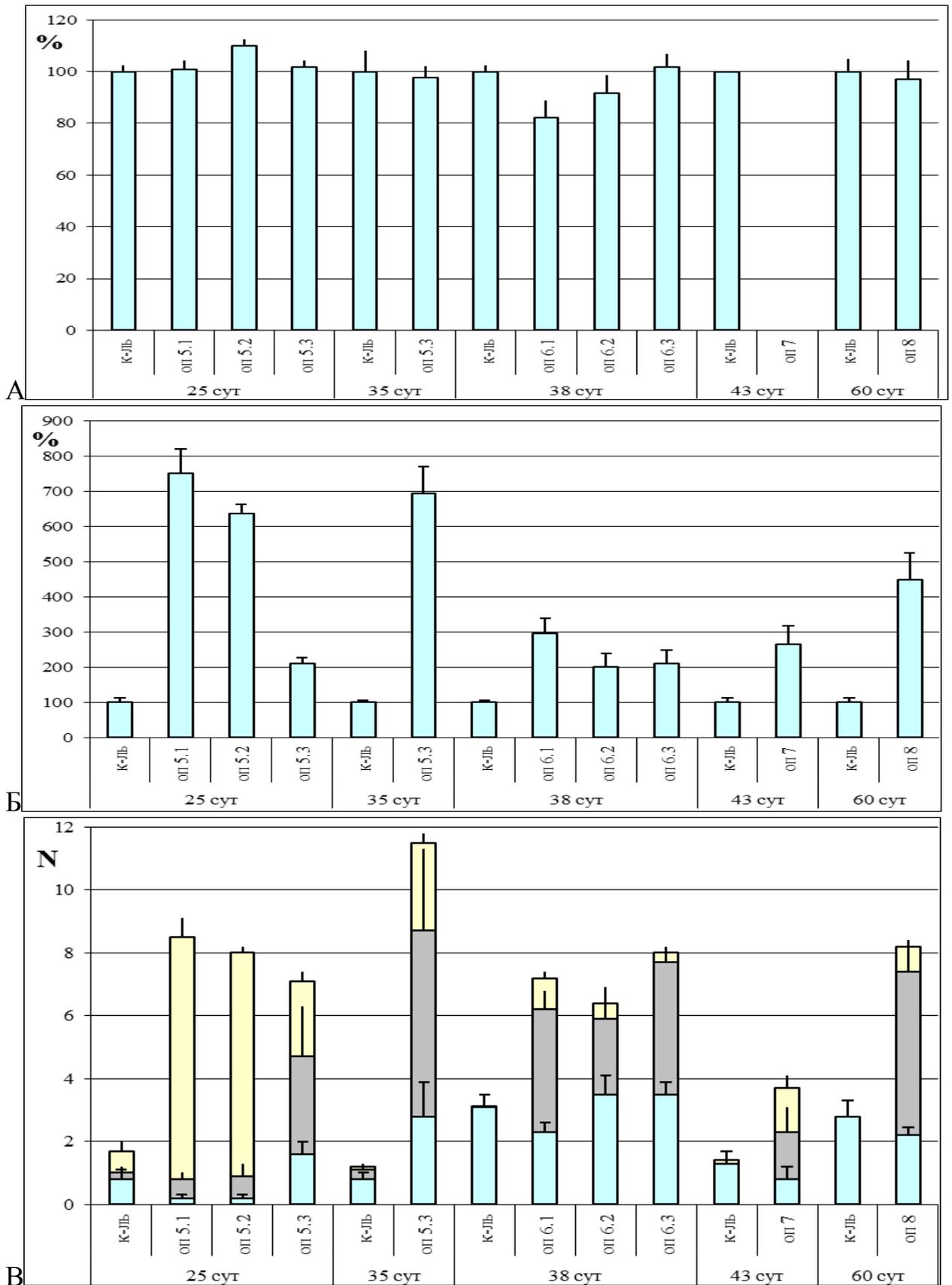
Если инъекцию эстрадиола делали зародышам уже после феминизации гонад, то последствия гормонального воздействия оказывались несколько иными. Можно видеть, что абсолютно во всех экспериментах, независимо от дозы (3, 3x3, 15 или 20 мкл), возраста в момент воздействия (1, 7 или 14 сут после вылупления) и времени, прошедшего с момента гормональной обработки – в возрасте 25 и 35 сут (опыт 5.3), 38 сут (опыты 6.1, 6.2 и 6.3), 43 сут (опыт 7) и 60 сут (опыт 8), число ооцитов периода превителлогенеза у подопытных самцов горбуши было значительно меньше, чем у рыб, которых обрабатывали до начала феминизации гонад, а число мейоцитов, напротив, было в несколько раз больше (рис. 2.12В). Можно заключить, что инъекции эстрадиола, сделанные после вылупления, оказали влияние на гаметогенез самцов горбуши в двух

разных аспектах. Во-первых, они предотвратили резорбцию, по крайней мере, части превителлогенных ооцитов. Об этом можно судить по тому, что диаметр этих ооцитов был практически таким же, как и у генотипических самок. Во-вторых, эти инъекции инициировали новые мейотические циклы половых клеток (рис. 2.12В).

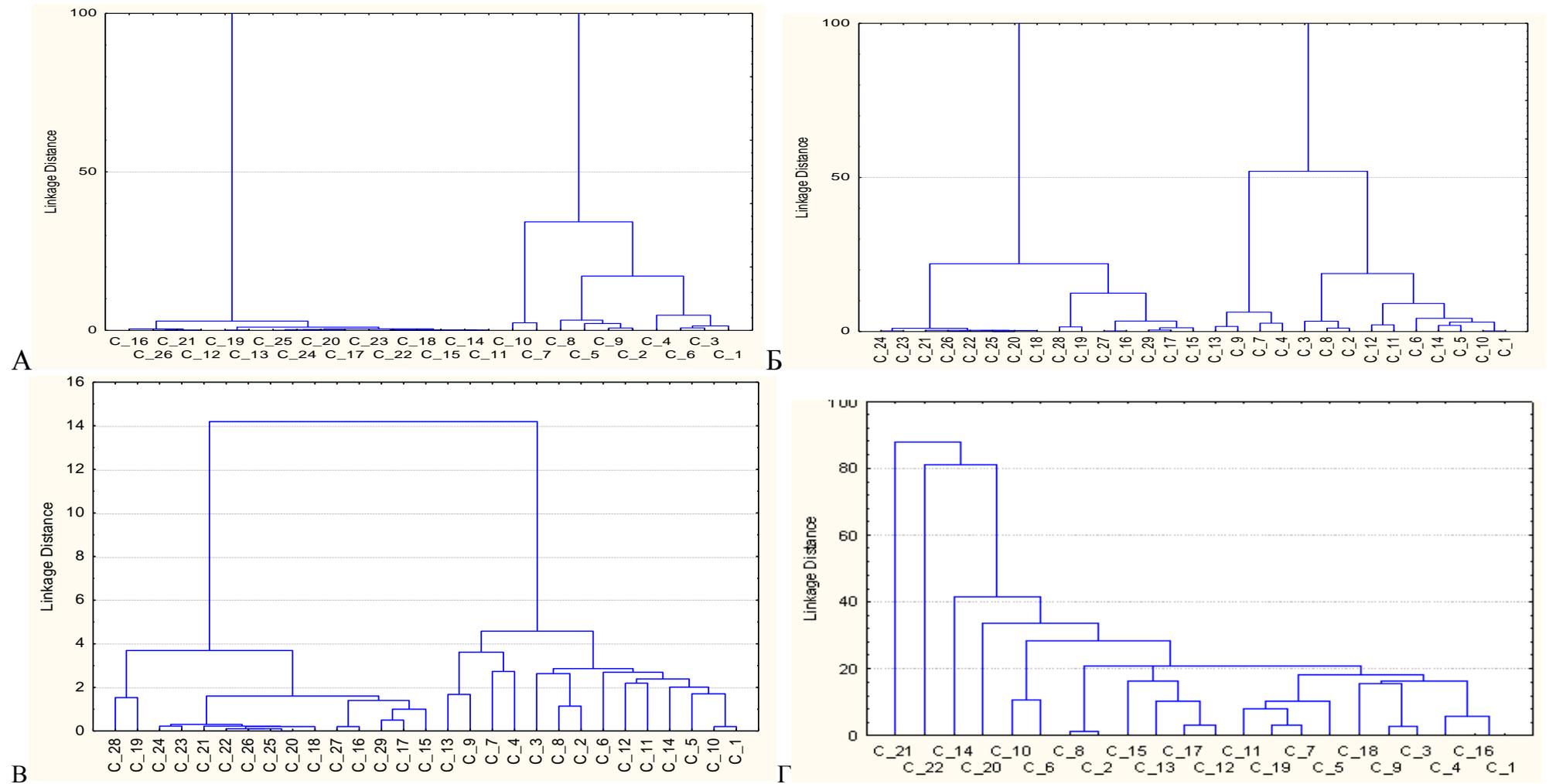
Вместе с тем, следует подчеркнуть следующее обстоятельство. Несмотря на присутствие ооцитов в гонадах всех подопытных рыб, как генотипических самцов, так и самок, тех и других можно было безошибочно различить и по внешнему виду половых желез. Наглядно различия между самками и самцами можно видеть в результате кластерного анализа. Например, в эксперименте 6.2 в возрасте 38 сут (через 24 сут после инъекции гормона) и среди контрольных, и среди подопытных рыб по площади гонад на поперечных срезах и числу ооцитов периода превителлогенеза можно было выявить две группы особей (рис. 2.13А, Б). Очевидно, что в обоих случаях их составили генотипические самцы и самки.

Естественно возникает вопрос. Какова дальнейшая судьба новообразованных ооцитов после прекращения действия экзогенного гормона? Поскольку динамика поступления препарата из желточного мешка в кровоток не была известна, то нельзя было исключить, что пока запас желтка сохраняется, гормон поступает из него в течение сравнительно продолжительного периода. Именно поэтому в двух опытах молодь горбуши выращивали в течение 2 мес. (до возраста 126 сут после вылупления; опыт 6.2) и 3,5 мес. (до возраста 160 сут; опыт 8) после завершения личиночного периода развития и полной утилизации желтка.

В результате было установлено, что в возрасте 126 сут, через 112 сут после инъекции гормона, у самцов в контрольном варианте дифференцировка пола завершилась и фонд половых клеток составили только гонии. Говоря о состоянии яичников у самок, отметим следующий факт. Ранее мы установили, что у личинок и молоди горбуши непосредственно после окончания личиночного периода все показатели состояния гонад, и в первую очередь, диаметр превителлогенных ооцитов, не зависят от массы и длины рыб (Зеленников, Федоров, 2005). С ростом рыб ситуация принципиально изменилась. Так, в возрасте 126 сут с массой контрольных самок достоверно коррелировали масса яичников ( $y=0,0055x+0,8575$ ;  $r=0,87$ ), их площадь на срезах ( $y=0,1861x+126,06$ ;  $r=0,83$ ) и диаметр



**Рис. 2.12.** Масса рыб (А; в % от контроля), площадь поперечных срезов гонад (Б; в % от контроля) и число половых клеток (В) у самцов горбуши после инъекции эстрадиола-дипропионата за 22 сут до вылупления (опыт 5.1); за 22 сут и в день вылупления (опыт 5.2); в возрасте: 1, 7 и 14 сут (опыт 5.3); 1 сут (опыт 6.1); 14 сут (опыты 6.2, 6.3 и 8) и 16 сут (опыт 7).



**Рис. 2.13.** Дендрограммы сходства состояния гонад у личинок горбуши в возрасте 38 сут в контроле (А) и опыте (Б) и в возрасте 126 сут в контроле (А) и опыте (Б) после инъекции эстрадиола-дипропионата в период инверсии пола (опыт 6.2) по площади поперечных срезов гонад и числу ооцитов периода превителлогенеза. По оси ординат мера расстояния Евклида в процентах от максимального.

Таблица 2.7.

Состояние гонад у молоди горбуши в возрасте 126 сут (опыт 6.2), 90 и 160 сут (опыт 8) после инъекции  
3 мкл эстрадиола-дипропионата в период естественной инверсии пола в возрасте 14 сут

Возраст рыб, сут	Конт- роль, Опыт	Пол рыб	Число рыб	Масса рыб, г	Длина рыб, L см	Масса гонад, мг	Площадь поперечных срезов гонад $\text{мм}^2 * 10^{-3}$	Число ооцитов ПВ на срез	Число на один срез, %			Диаметр ооцитов ПВ, мкм
									Гониев	Мейо- цитов	Ооци- тов ПВ	
126	К-ль	♀	23	1,37±0,14	5,60±0,16	8,4±0,9	389,9±29,7	6,9±0,3	7,6	3,2	89,2	186,5±5,2
		♂	10	1,36±0,12	5,70±0,20	—	13,7±1,6	—	100	—	—	—
	Опыт	♀♂	21	0,98±0,10	4,81±0,15	4,8±0,5	226,4±18,1	7,6±0,4	2,2	2,3	95,5	142,2±4,0
		♂	1	1,35	5,30	—	9,3	—	100	—	—	—
90	К-ль	♀	15	7,27±0,39	4,72±0,08	—	166,8±16,1	7,3±0,4	8,1	5,2	86,7	93,4±1,8
		♂	13	5,00±0,48	4,19±0,12	—	5,1±0,7	—	100	—	—	—
	Опыт	♀	11	5,90±0,58	4,41±0,16	—	162,4±17,0	7,8±0,6	2,5	3,7	93,8	91,7±3,0
		♂	9	5,08±0,69	4,17±0,18	—	12,0±2,8	0-3,1	44,0	38,6	17,4	52,8±5,8
160	К-ль	♀	15	10,03±0,63	11,2±0,21	50,8±3,0	—*	8,5±0,5	10,0	9,4	80,6	305,2±8,3
		Опыт	♀♂	24	9,09±0,41	10,9±0,15	48,6±2,3	—	8,6±0,7	0,5	0,8	98,7
	♂		4	6,69±0,67	10,0±0,27	16,2±2,1	—	7,0±0,8	3,4	1,1	95,5	263,9±25,5
	♂		8	9,62±0,67	11,2±0,25	2,6±0,5	—	—**	—	—	—	—

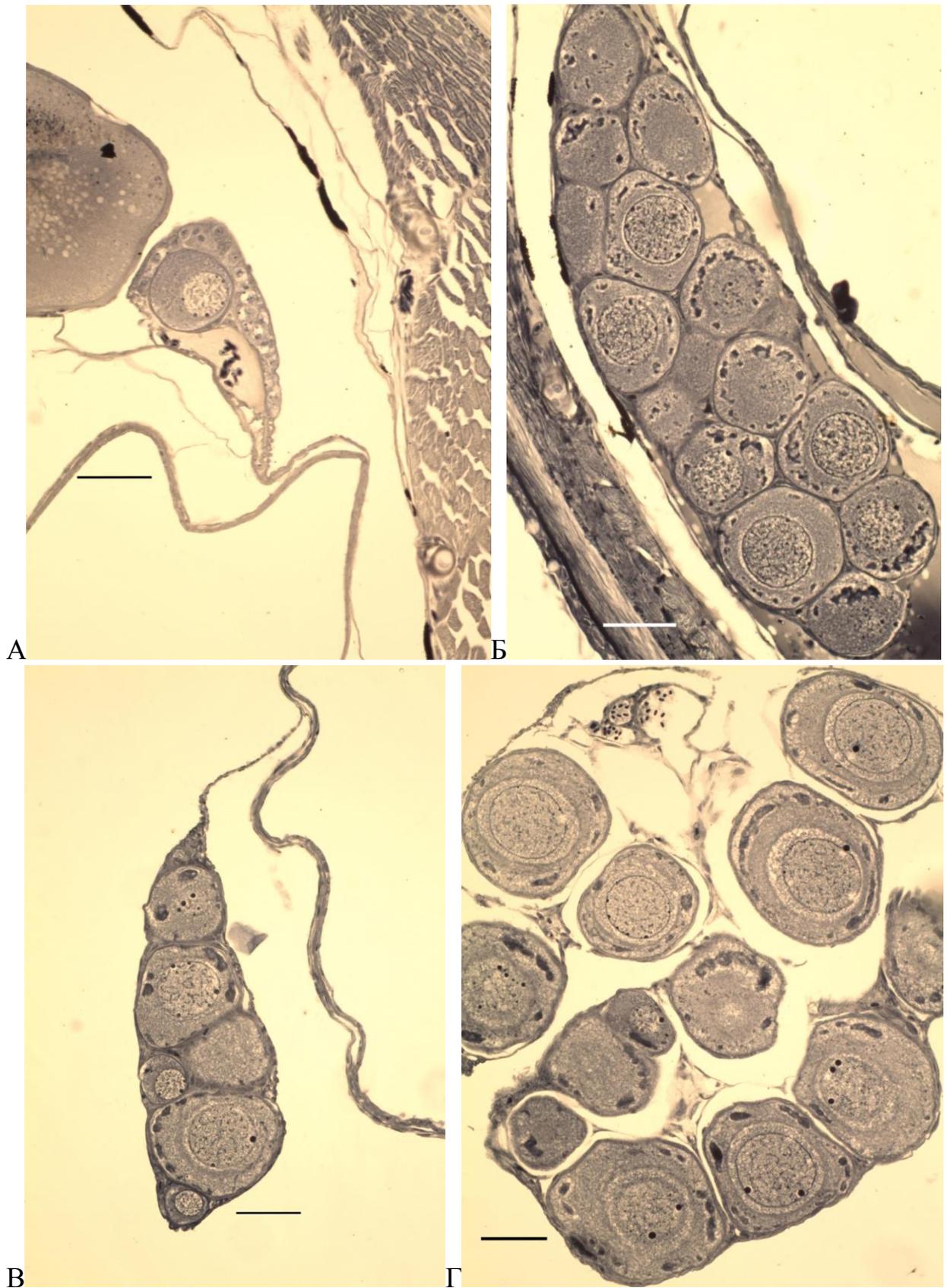
Примечание: \* – в тех случаях, когда могли взвесить гонады, их площадь на поперечных срезах обычно не определяли; \*\* – в этой группе фонд половых клеток у всех рыб составляли гонии и лишь у двух особей присутствовали единичные ооциты периода превителлогенеза.

ооцитов ( $y=0,0286x+147,26$ ;  $r=0,75$ ). С длиной рыб связь этих показателей была такой же тесной: коэффициенты корреляции соответственно 0,88; 0,81 и 0,74.

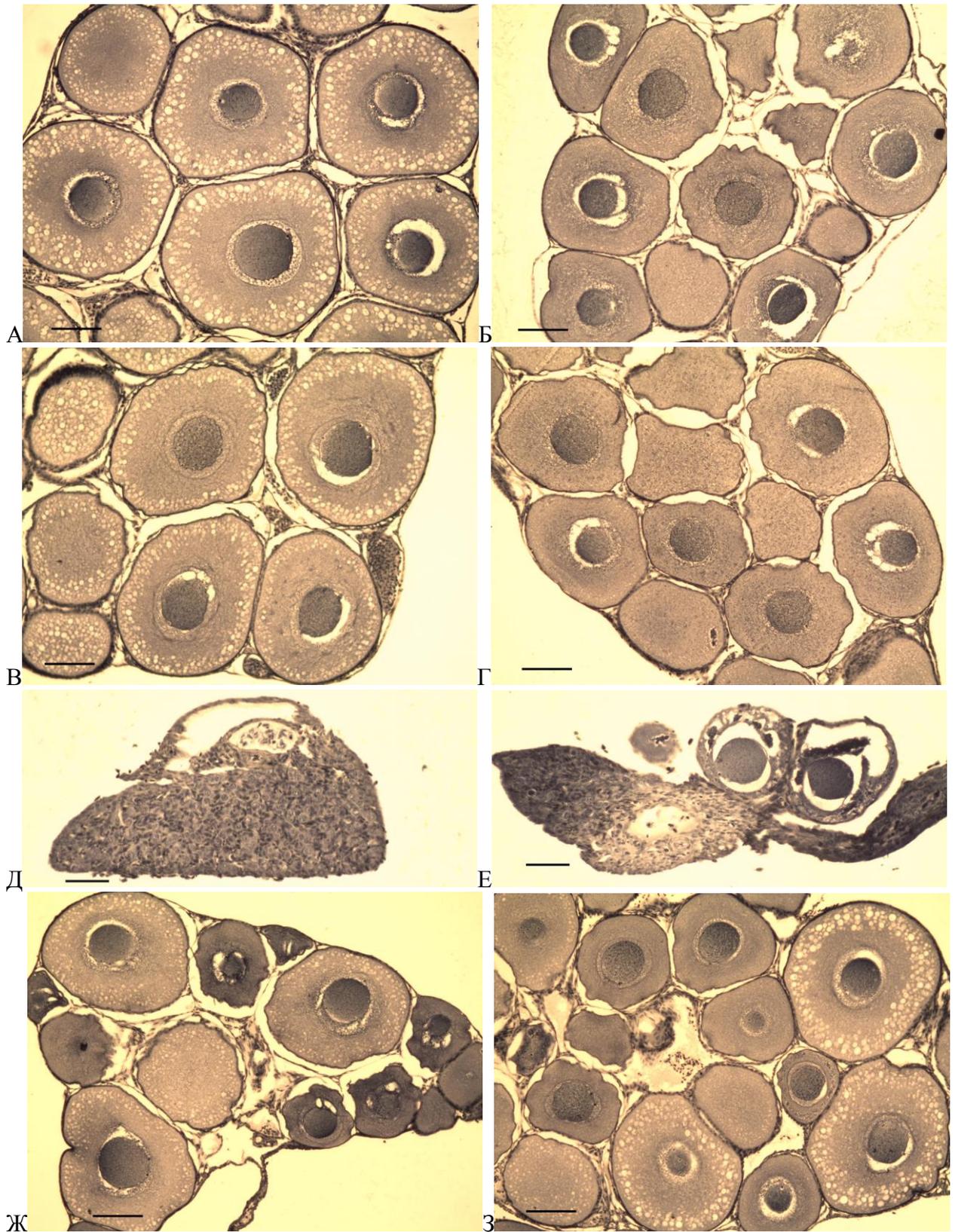
В отличие от контроля, в опыте лишь у одного самца в семенниках присутствовали исключительно гонии. У остальных двадцати одной особи в гонадах можно было видеть многочисленные ооциты периода превителлогенеза. Сравнивая состояние яичников у контрольных и подопытных самок, отметим, что у последних такие показатели, как масса гонад, их площадь на срезах и диаметр ооцитов были значительно меньше (табл. 2.6). Это могло быть следствием и замедленного темпа роста подопытных рыб, масса и длина которых в возрасте 126 сут также оказались достоверно меньше. Однако если не учитывать различий по длине и массе контрольных и подопытных рыб, изъяв из анализа 4-х самых крупных контрольных и 3-х самых мелких подопытных, то выявленные различия несколько уменьшаются, но все равно остаются достоверными. Так, у 19-ти контрольных рыб со средней массой  $1129 \pm 88,9$  мг масса гонад, их площадь на срезах и диаметр ооцитов составили соответственно  $7,1 \pm 0,7$  мг;  $342,7 \pm 21,8$   $\text{мм}^2 \cdot 10^{-3}$  и  $178,8 \pm 4,3$  мкм. У 18-ти подопытных в среднем со сходной массой тела –  $1108 \pm 89,5$  мг соответствующие показатели были значительно меньше –  $4,9 \pm 0,5$  мг;  $237,9 \pm 19,7$   $\text{мм}^2 \cdot 10^{-3}$  и  $145,7 \pm 4,0$  мкм. Нет сомнений, что эти различия указывают на наличие среди подопытных рыб генотипических самцов, однако выявить их по микроанатомической структуре гонад или количественным показателям, оказалось невозможно. Наглядно, это можно видеть на дендрограммах, полученных в ходе кластерного анализа (рис. 2.13В, Г).

Более тщательно последствия гормональной обработки были исследованы в опыте №8. В возрасте 60 сут, через 46 сут после инъекции, у всех рыб присутствовали ооциты периода превителлогенеза, однако по числу этих клеток гонады генотипических самцов можно было безошибочно отличить от гонад самок –  $0,8 \pm 0,2$  и  $7,9 \pm 1,0$  соответственно (рис. 2.14А, Б). В возрасте 90 сут лишь у одного из 9-ти подопытных самцов ооциты отсутствовали и фонд половых клеток был представлен исключительно гониями. Вместе с тем, гонады остальных самцов, несмотря на наличие ооцитов, как и в предыдущем возрасте, можно было без труда отличить от яичников самок (рис. 14В, Г). Например, площадь срезов гонад у самцов (в среднем  $12,0$   $\text{мм}^2 \cdot 10^{-3}$ ) была в 13,5 раз ( $162,4$   $\text{мм}^2 \cdot 10^{-3}$ ) меньше, чем у самок (табл. 2.7).

Ситуация изменилась в возрасте 160 сут, когда ооциты вступили в период трофоплазматического роста (рис. 2.15А). При этом в контроле присутствовали и особи с менее развитыми ооцитами старшей генерации (рис. 2.15Б). Подопытных рыб в этом возрасте мы уже не могли надежно разделить на генотипических самок и самцов. С одной



**Рис. 2.14.** Характерное состояние гонад у подопытных рыб в возрасте 60 (А, Б) и 90 сут (В, Г) после инъекции эстрадиола-дипропионата в возрасте 14 сут (опыт 8). Можно видеть яичники у генотипических самцов (А, В) и самок (Б, Г). Пояснение в тексте. Шкала = 50 мкм.



**Рис. 2.15.** Характерное состояние гонад у контрольных (А, Б) и у подопытных (В-З) рыб в возрасте 160 сут, после инъекции эстрадиола-дипропионата в возрасте 14 сут (опыт 8). Можно видеть синхронное развитие ооцитов у самок в контроле и все возможные варианты состояния гонад у подопытных рыб. Пояснение в тексте. Шкала А-Г, Ж, З = 100 мкм; Д, Е = 50 мкм.

стороны, среди них также присутствовали особи с синхронным развитием ооцитов старшей генерации, которые находились в начале периода вителлогенеза (рис. 2.15В) или на завершающем этапе превителлогенного роста (рис. 2.15Г). С другой стороны среди 36-ти подопытных рыб, исследованных в этом возрасте, у 3-х особей в гонадах присутствовали только гонии (рис. 2.15Д). Еще у 5-ти особей среди гониев можно было видеть лишь одиночные ооциты (рис. 2.15Е). Очевидно, что эти гонады тех и других рыб принадлежали генотипическим самцам, у части которых сохранились единичные ооциты.

У остальных 28-и рыб гонады имели вид типичных яичников с бóльшим или меньшим числом ооцитов периода превителлогенеза. Фонд половых клеток был представлен преимущественно превителлогенными ооцитами, доля которых была даже выше, чем у самок в контроле (табл. 2.8). Однако морфологический и количественный анализ фонда половых клеток позволил выявить среди этих рыб еще несколько генотипических самцов. Так, у 4-х особей масса гонад варьировала от 12 до 21,5 мг (в контроле наименьшее значение – 31 мг), а диаметр ооцитов отличался максимально высокой для рыб этого возраста вариабельностью. Наряду с ооцитами, вступившими в период трофоплазматического роста, можно видеть и клетки значительно меньшего размера (рис. 2.15Ж). Такая асинхронность в размерах, не встречающаяся у контрольных рыб, могла быть следствием исходно разного размера половых клеток. Ранее мы отметили, что при гормональном воздействии после вылупления в гонадах генотипических самцов во всех опытах встречались единичные ооциты периода превителлогенеза и многочисленные мейоциты. Очевидно, что сравнительно крупные клетки – это те превителлогенные ооциты, которые появились у генотипических самцов естественным образом, и резорбция которых была предотвращена гормональным воздействием. В свою очередь, развитие сравнительно мелких клеток было непосредственно индуцировано инъекцией эстрадиола. Далее, мы проанализируем развитие одних и других клеток отдельно.

Наконец, среди подопытных рыб присутствовали особи не только с бóльшим количеством половых клеток, но и с весьма выраженной асинхронностью в их развитии (рис. 2.15З). Эти рыбы в равной мере могли быть представлены, как генотипическим самцами, у которых в момент гормонального воздействия еще сохранилось большое число первичных ооцитов, так и самками, у которых инъекция эстрадиола стимулировала увеличение числа половых клеток.

Ранее было отмечено, что в превителлогенных ооцитах самцов, в отличие от клеток этого состояния у самок, в составе формирующейся гранулезы не выявлялись

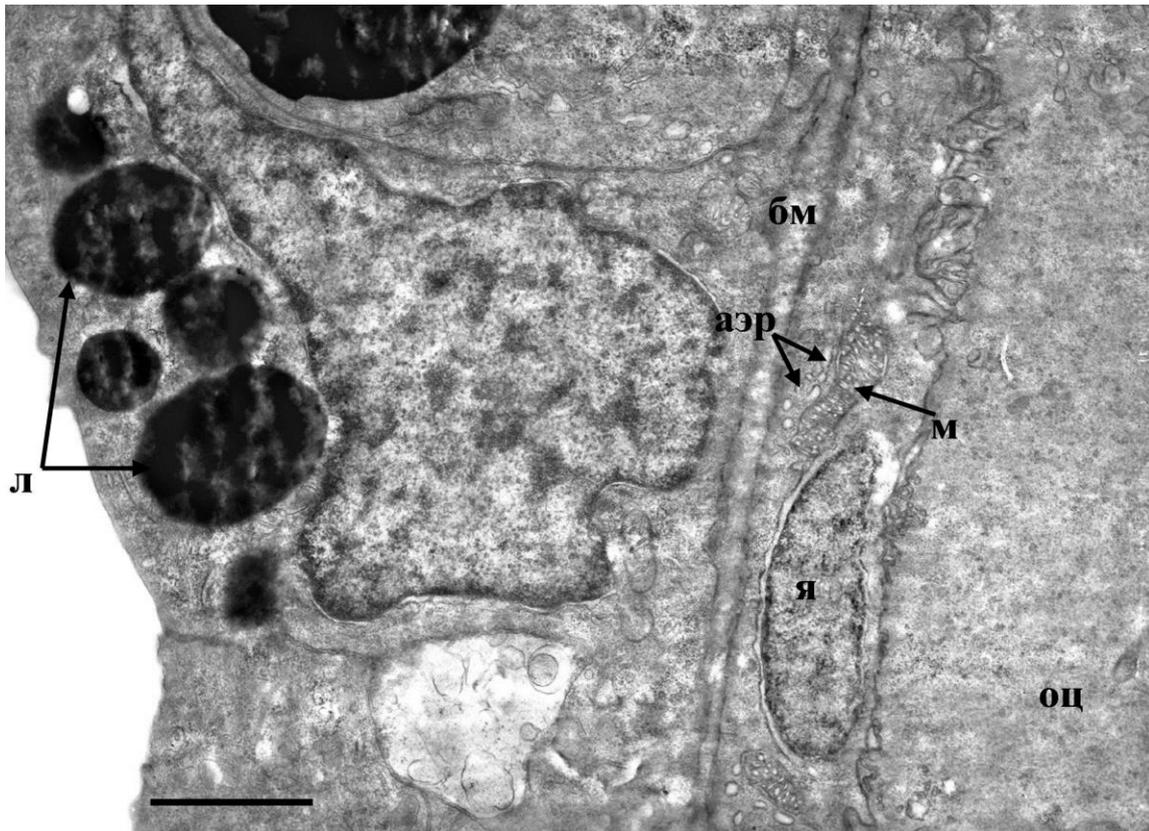
стероидсекреторные клетки, отличные по своей ультраструктурной организации от клеток в строме гонад. Ситуация изменилась, когда резорбция этих ооцитов по программе естественной инверсии пола оказалась предотвращена. Так, в возрасте 90 сут у контрольных самцов стероидсекреторные клетки располагались в строме гонад. У подопытных самцов в этом возрасте через 76 сут после единственной инъекции эстрадиола (опыт 8), эти клетки были обнаружены как в строме, так и в составе гранулезы оставшихся в семенниках ооцитов периода превителлогенеза. Более того, активность этих клеток в строме семенников была понижена, о чем можно судить по достоверному снижению размеров самих клеток, а также объемной плотности митохондрий и агранулярного эндоплазматического ретикулума. Активность секреторных клеток, локализованных в составе гранулезы, напротив, значительно возросла (табл. 2.8); в их цитоплазме выявили многочисленные липидные включения, характерные для активных стероидсекреторных клеток (рис. 2.16). Например, размер митохондрий и их объемная плотность в этих клетках в среднем 0,75 мкм и 25,0% – значительно больше, чем в секреторных клетках в строме у контрольных самцов, где они были, соответственно, 0,55 мкм и 13,1%. Таким образом, можно заключить, что в отличие от ооцитов периода превителлогенеза, которые появляются у самцов естественным образом, у ооцитов,

Таблица 2.8.

Характеристика стероидсекреторных клеток (СК) в гонадах у самцов горбуши после воздействия эстрадиолом (в скобках дана объемная плотность органоидов, %)

Конт-роль / Опыт	Локализация СК	Размер, мкм			
		СК	ядра СК	митохондрии	канальца АЭР
<b>В возрасте 90 сут после инъекции эстрадиола-дипропионата в возрасте 14 сут (опыт 8)</b>					
Контроль	строма	<b>7,5±0,89</b>	<b>4,7±0,82</b>	<b>0,55±0,034</b> (13,1±0,8)	<b>0,23±0,021</b> (21,7±1,2)
Опыт	строма	<b>5,5±0,44</b>	<b>3,7±0,36</b>	<b>0,49±0,045</b> (9,0±0,8)	<b>0,16±0,049</b> (14,5±1,03)
	гранулеза	<b>20,6±2,15 x</b> <b>1,9±0,27</b>	<b>8,6±0,58 x</b> <b>1,5±0,32</b>	<b>0,75±0,098</b> (25,0±1,0)	<b>0,32±0,048</b> (20,8±1,1)
<b>В возрасте 85 сут после воздействия эстрадиола-дипропионата с кормом с возраста 62 сут (опыт 10)</b>					
Контроль	эпителий гонады	<b>4,5±0,35</b>	<b>3,7±0,42</b>	<b>0,69±0,041</b> (14,3±1,1)	<b>0,16±0,021</b> (15,2±1,0)
Опыт	строма	<b>6,6±0,52</b>	<b>4,7±0,34</b>	<b>0,96±0,043</b> (16,2±1,2)	<b>0,32±0,022</b> (13,7±0,6)

резорбция которых была предотвращена экзогенным эстрадиолом, в составе фолликула появляются активные секреторные клетки. Вероятно, это обстоятельство в немалой степени влияет на то, что такие ооциты развиваются в обычном для них темпе, а гонады у генотипических самцов, отличающиеся вскоре после гормонального воздействия, со временем перестают отличаться от яичников генотипических самок.



**Рис. 2.16.** Стероидсекреторная клетка в гранулезе превителлогенного ооцита в гонаде подопытного самца горбуши после воздействия экзогенным эстрадиолом в период естественной инверсии пола. Можно видеть крупные липидные включения. Обозначения: ОЦ – ооцит, Я – ядро СК, БМ – базальная мембрана, митохондрии (М) с трубчато-везикулярными кристами, канальцы агранулярного (АЭР) эндоплазматического ретикулума, липиды (Л). Шкала = 2 мкм.

#### 2.4. Развитие фонда ооцитов у самцов рыб при индуцированной инверсии пола

Часть работы по индуцированной инверсии пола изначально представлялась более простой. Как уже было отмечено ранее, в литературе накоплено большое число сведений о полоопределяющем действии половых стероидных гормонов. Однако эти сведения все

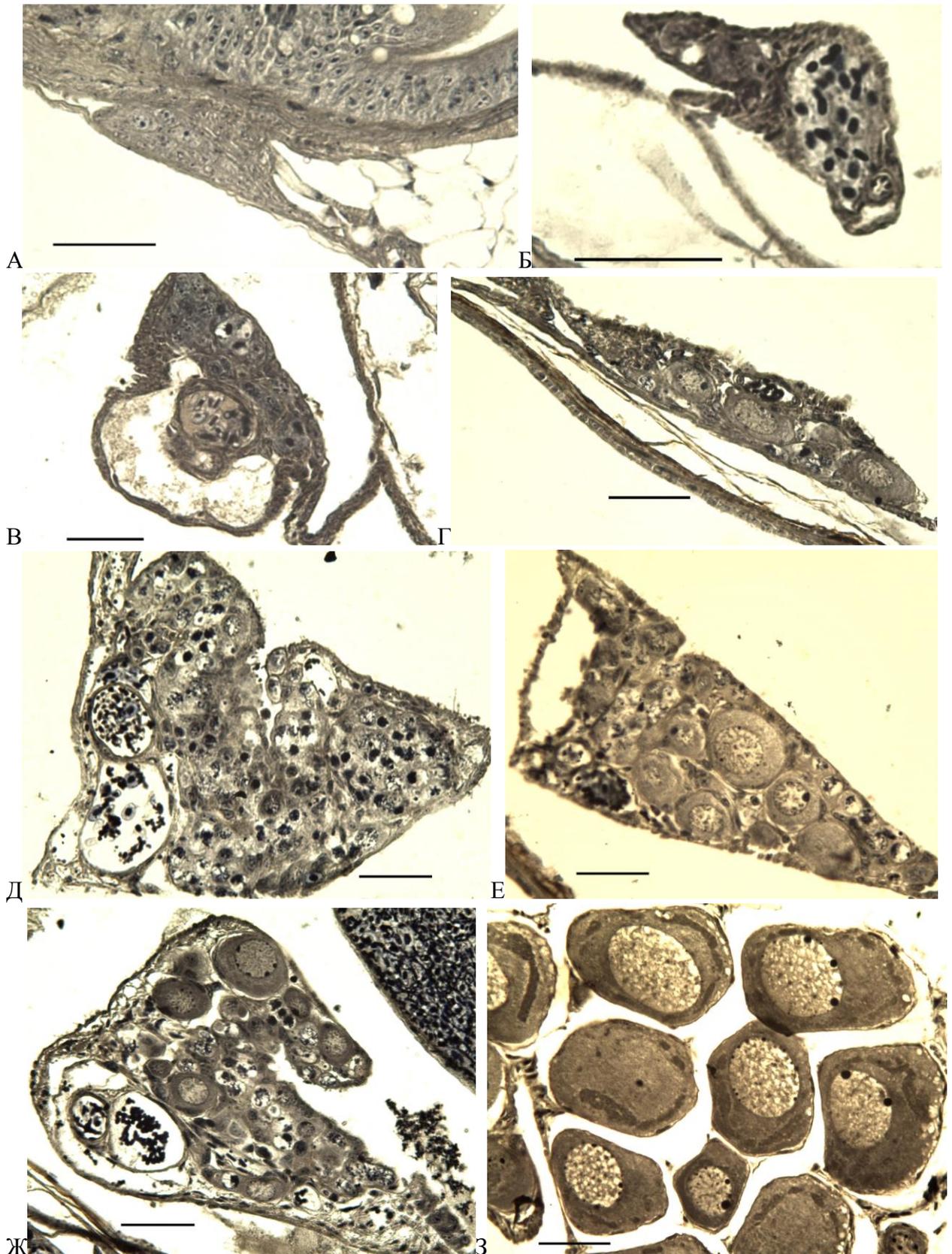
же следовало тщательно проанализировать, поскольку при большом числе удачных результатов, когда в работе получали переопределение пола в нужном направлении, немало накоплено и неудач, когда в результате гормонального воздействия получали стерильных и интерсексуальных или гермафродитных особей (Demska-Zakes, Zakes, 1997; Orn et al., 2003; Lee et al., 2009). Считается, что появление в экспериментальных партиях рыб с такими отклонениями в состоянии гонад является результатом либо неверно подобранной дозы, либо неверно подобранного режима гормональной обработки.

Мы проследили за процессом формирования фонда ооцитов у мужских особей не только у ювенильного протогинического гермафродита горбуши, но и у самцов кеты и кижуча – двух видов из рода тихоокеанских лососей, для которых естественная инверсия пола не свойственна.

В момент начала гормонального воздействия, которое оказывали с момента перевода личинок на экзогенное кормление, семенники у мальков кеты представляли собой малодифференцированные половые железы, фонд половых клеток в которых был представлен единичными гониями (рис. 2.17А).

Через 20 сут после начала опыта в семенниках по-прежнему присутствовали только гонии, но у подопытных рыб заметно увеличился кровеносный сосуд, проходящий у основания мезорхия; площадь его поперечного сечения практически у всех самцов была больше площади всей остальной части семенника (рис. 2.17Б). Через 50 сут выявили качественные отличия в состоянии семенников; у части мальков в гонадах начались мейотические преобразования и появились ооциты периода ранней профазы мейоза в состоянии зиготены (рис. 2.17В). Первые ооциты периода превителлогенеза появились у рыб примерно через 70 сут после начала воздействия.

Интересно отметить, что динамика формирования фонда ооцитов у разных особей существенно различалась, что по нашему мнению, являлось отражением индивидуальных особенностей формирования фонда половых клеток у разных рыб, а не динамикой потребления гормонального препарата. Так, у одних самцов ооциты периода превителлогенеза появлялись при относительно небольшом числе половых клеток (рис. 2.16Г). У других рыб, напротив, первоначально формировался большой фонд мейоцитов и соответственно большому числу половых клеток увеличивалась и соматическая составляющая половой железы, а, следовательно, и ее объем (рис. 2.16Д). Но в конечном итоге формирование фонда ооцитов у генотипических самцов кеты полностью соответствовало формированию фонда ооцитов у генотипических самок (Коломыцев и др., 2018; Зеленников, 2019а). У особей кеты обоих полов мейоциты в течение

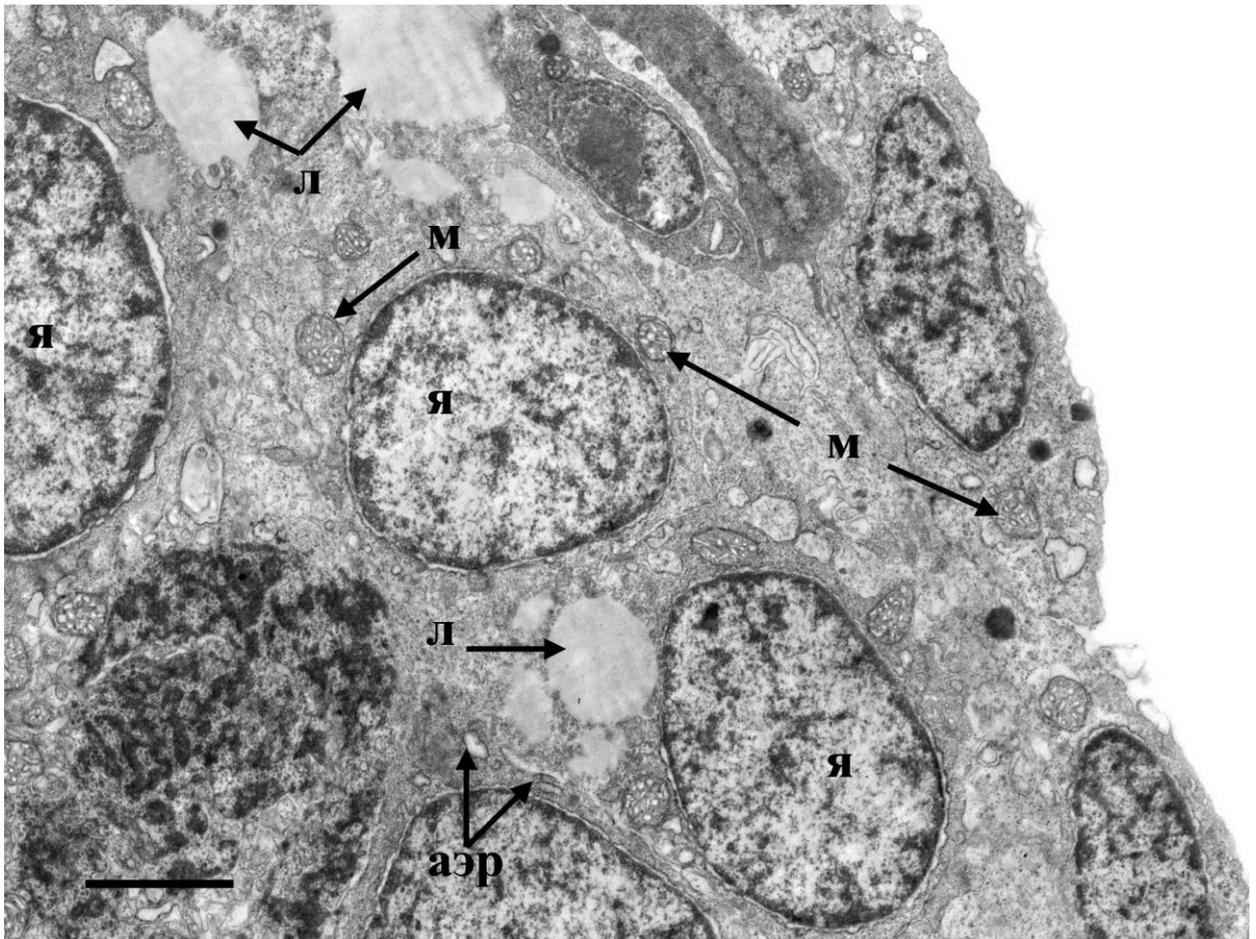


**Рис. 2.17.** Развитие фонда ооцитов в семенниках мальков кеты через 1 (А; 114 сут после оплодотворения), 18 (Б), 54 (В) и 98 сут (Г-Ж) после начала воздействия экзогенным эстрадиолом (опыт 14). Можно видеть увеличение кровеносного сосуда (Б, В) и формирование фонда ооцитов. З – состояние яичника у самки кеты в момент окончания эксперимента. Шкала = 50 мкм.

относительно продолжительного периода вступали в превителлогенез (рис. 2.16Е, Ж). В отличие от кеты, у молоди горбуши вступление мейоцитов в период превителлогенеза происходит более синхронно (Персов, 1965; Зеленников, 2019б), что, конечно, определяется одновременным и максимально быстрым среди лососевых рыб половым созреванием (Смирнов, 1975).

Инициация оогенеза у молоди сопровождалась значительной активизацией стероидсекреторных клеток, состояние которых было исследовано у генотипических самцов горбуши, на которых оказывали воздействие эстрадиолом уже после завершения у них естественной инверсии пола (опыт 10). Число стероидсекреторных клеток в ходе гормонального воздействия увеличилось, отчего суммарная площадь их срезов занимала не менее 25% площади среза семенников. Стероидсекреторные клетки присутствовали не только в оболочке, но и (преимущественно) в строме гонад, группами по 5-6 клеток (рис. 2.18), окружая делящиеся гонии и мейоциты. Для этих клеток были характерны многочисленные митохондрии с трубчато-везикулярными кристами и обширная агранулярная сеть. Размер самих СК, митохондрий и канальцев агранулярного ЭПР у подопытных рыб были достоверно больше, чем у контрольных, соответственно в среднем 6,6 и 4,5 мкм, 0,96 и 0,69 мкм, 0,32 и 0,16 мкм (табл. 2.8). Отметим также, что у подопытных самцов в гонадах присутствовали многочисленные липидные включения (рис. 2.18), диаметр которых в среднем составлял  $1,7 \pm 0,17$  мкм.

Процесс инверсии пола у самцов кижуча, индуцированный экзогенным эстрадиолом проанализируем в опытах с наиболее продолжительным гормональным воздействием (опыты 12.2 и 12.4). Гормональное воздействие на молодь кижуча начали оказывать в возрасте 58 сут от вылупления, когда в гонадах у всех особей присутствовали исключительно гонии, а закончили в возрасте 99 сут, когда в контроле завершилась дифференцировка пола, а у самок произошло формирование и обособление генерации ооцитов периода превителлогенеза. У контрольных самцов кижуча в возрасте 99 сут фонд половых клеток был представлен только гониями. У подопытных самцов, подвергнутых гормональному воздействию, как уже было отмечено, формировался фонд ооцитов, при этом оогенез у них по одним параметрам отличался от обычного оогенеза контрольных самок, а по другим – был принципиально сходным. Отличие заключалось в разном темпе развития яичников. Несмотря на то, что с началом гормонального воздействия у тех и других в гонадах присутствовали только гонии, к окончанию воздействия масса гонад у подопытных самцов была в 3,1 (опыт 12.2) и 3,9 раза (опыт 12.4) меньше, чем у самок, а диаметр ооцитов был меньше на 28 и 35% соответственно (табл. 2.9).



**Рис. 2.18.** Стероидсекреторные клетки в гонаде самца горбуши после воздействия эстрадиолом после завершения естественной инверсии пола. Обозначения: Я – ядро СК, митохондрии (М) с трубчато-везикулярными кристами, каналцы агранулярного (АЭР) эндоплазматического ретикулума, липиды (Л). Шкала = 2 мкм.

**Таблица 2.9.**

Состояние гонад у контрольных самок и подопытных самцов кижуча в возрасте 99 сут. после воздействия эстрадиолом с 58-суточного возраста

Пол	Вариант опыта	Число рыб	Масса рыб, г	Длина рыб, L мм	Масса гонад, мг	Число ооцитов ПВ на срез	Диаметр ооцитов ПВ, мкм
Самки	Контроль	21	3,30±0,21	68,0±1,3	14,0±0,6	30,6±1,1	150,8±1,8
Самцы	Опыт 12.2	13	2,69±0,16	60,2±1,3	4,45±0,48	29,8±2,2	109,2±5,0
	Опыт 12.4	11	2,50±0,13	57,7±0,8	3,59±0,28	17,4±1,7	97,3±3,7

Вместе с тем, структуризация фонда половых клеток у самцов кижуча осуществлялась именно так, как это происходит и у генотипических самок. В их гонадах происходило формирование характерной для самок моноциклических лососевых единственной генерации ооцитов периода превителлогенеза, число которых на срезе у подопытных

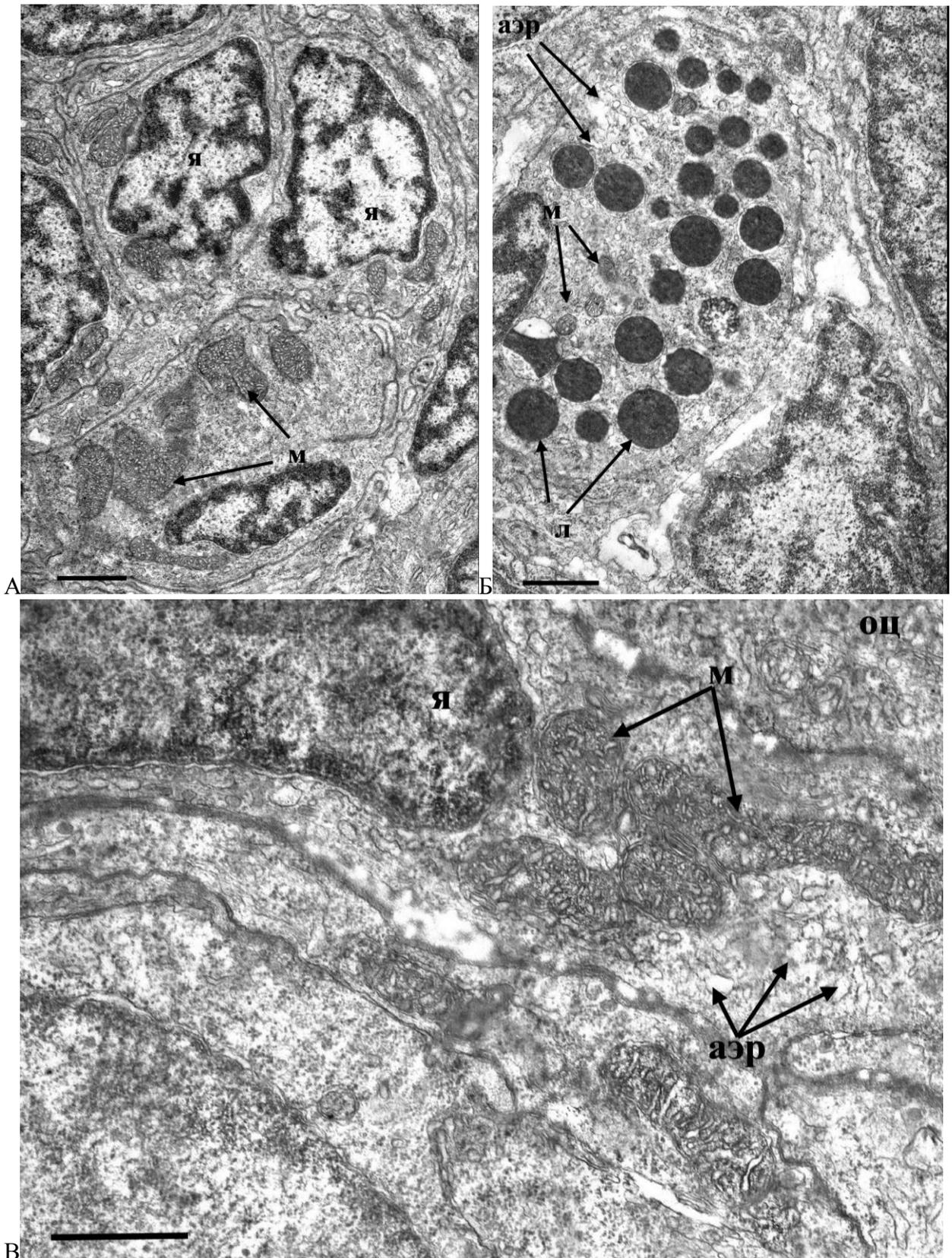
самцов в среднем составило 11.2 (табл. 2.9) и было, фактически, таким же, как и у контрольных самок. Отметим, что в обоих вариантах опыта мы легко могли идентифицировать самцов, так как формирование яичников и темп роста ооцитов был замедлен не только относительно контрольных, но и подопытных самок, также получавших с кормом эстрадиол. При более высокой концентрации гормонального препарата, в опыте 12.4, число ооцитов на срез оказалось достоверно меньше, однако их диаметр и доля от общего числа половых клеток были такими же, как у самцов в предыдущем опыте (табл. 2.9). Таким образом, можно заключить, что в результате гормонального воздействия у подопытных самцов, пусть и более медленным темпом, формировался обычный для самок кижуча фонд ооцитов.

В ходе ультраструктурного анализа семенников у самцов кижуча в контроле стероидсекреторные клетки выявляли как в эпителии, так и в строме половых желез. Интересно отметить, что в отличие от горбуши, у самцов кижуча в строме семенников выявлялись клетки двух типов, принципиально различавшихся по своей ультраструктурной организации. Одни клетки (строма I) содержали крупные митохондрии (рис. 2.19А), в других (строма II), напротив, можно было видеть относительно мелкие митохондрии, но при этом многочисленные липидные капли (рис. 2.19Б).

Таблица. 2.10.

Характеристика стероидсекреторных клеток (СК) в гонадах молоди кижуча в возрасте 99 сут после воздействия эстрадиолом (кормление) (в скобках дана объемная плотность органоидов, %).

Контроль / Опыт	Локализация СК	Размер, мкм				
		СК	ядра СК	митохондрий	канальцев АЭР	липидов
Контроль	строма 1	<b>6,3±0,42</b>	<b>4,2±0,38</b>	<b>0,75±0,051</b> (29,6±0,5)	<b>0,21±0,019</b> (17,8±0,6)	—
	строма 2	<b>8,4±1,06</b>	<b>4,7±0,75</b>	<b>0,41±0,085</b> (5,8±0,9)	<b>0,13±0,014</b> (20,3±0,6)	<b>0,7±0,03</b> (39,0±1,1)
	эпителий гонад	<b>8,8±0,81</b>	<b>5,9±0,85</b>	<b>0,66±0,051</b> (10,5±0,5)	<b>0,35±0,040</b> (32,6±1,1)	—
Опыт 12.4	гранулеза	<b>28,5±0,96 x</b> <b>4,8±0,94</b>	<b>9,8±0,70 x</b> <b>3,1±0,58</b>	<b>0,59±0,090</b> (24,6±1,1)	<b>0,20±0,019</b> (29,3±0,9)	<b>0,6±0,09</b> (8,1±0,6)
	строма	<b>8,7±1,26</b>	<b>3,9±1,30</b>	<b>0,52±0,093</b> (7,4±1,0)	<b>0,12±0,018</b> (10,4±0,6)	<b>0,9±0,05</b> (37,7±0,9)



**Рис. 2.19.** Стероидсекреторные клетки в строме семенника у контрольного самца кижуча (А, Б) а также в гранулезе фолликула (В) у подопытного самца. А - группа СК I вида. Б - СК II вида. В цитоплазме содержится большое количество липидных включений. Пояснение в тексте. Обозначения: ОЦ – ооцит, Я – ядро СК, митохондрии (М) с трубчато-везикулярными кристами, каналцы агранулярного (АЭР) эндоплазматического ретикулума. Шкала = 1 мкм.

У подопытных самцов после начала формирования генерации ооцитов периода превителлогенеза в строме гонад остались только СК с липидными включениями, но при этом многочисленные и активные СК можно было видеть в составе гранулезы этих ооцитов (рис. 2.19В; табл. 2.10). Таким образом, представляется очевидным, что у генотипических самцов тихоокеанских лососей после инициации оогенеза экзогенным эстрадиолом стероидсекреторная активность возрастает сначала в строме семенников, а после появления ооцитов периода превителлогенеза смещается в их оболочки.

## 2.5. Заключение

По совокупности полученных данных мы можем заключить, что феминизация гонад у самцов круглоротых и рыб – ювенильных протогинических гермафродитов может осуществляться на разном этапе онтогенеза – в период эмбрионального, личиночного или малькового развития. При этом естественная инверсия пола у всех видов завершается не раньше, чем в их яичниках появятся ооциты периода превителлогенеза.

В ходе сравнительного анализа было установлено, что ооциты начала периода превителлогенеза на гистологическом уровне у самок и самцов не различаются. Вместе с тем, если у самок стероидсекреторные клетки формировались как в строме гонад, так и в оболочках окружающих ооциты, то у будущих самцов эти клетки обнаруживали только в строме половых желез. Это обстоятельство позволило предположить, что полноценный переход ооцитов к превителлогенному росту у генотипических самцов не происходит.

В пользу этой гипотезы свидетельствуют данные гормональной обработки самцов горбуши. Если предотвратить феминизацию гонад у зародышей нам не удалось, то предотвратить естественную инверсию пола удалось во всех опытах. В отличие от ооцитов у интактных самцов, в оболочках ооцитов, резорбция которых была предотвращена гормональным воздействием, формировались стероидсекреторные клетки, а сами ооциты, как и у самок, развивались обычным образом.

Подчеркнем, что гормональное воздействие останавливало инверсию пола на том этапе, на котором заставляло этот процесс. Чем в более раннем возрасте мы осуществляли гормональное воздействие, тем больше ооцитов полноценно переходили к превителлогенезу. При этом воздействие в период эмбрионального развития, очевидно, предотвращало инверсию полностью и способствовало тому, что гонады генотипических самок и самцов впоследствии, фактически, не различались.

Помимо защиты превителлогенных ооцитов от резорбции, экзогенный эстрадиол стимулировал и другой процесс – гормональную инверсию пола в женском направлении,

который осуществлялся одинаково у разных видов рыб и при различном исходном состоянии гонад. У самцов кижуча и горбуши с незавершенной или завершенной инверсией пола наблюдали формирование комплекса ооцитов периода ранней профазы мейоза, а впоследствии, как и у обычных генотипических самок, фонд сходных по состоянию и размеру ооцитов периода превителлогенеза так, как это характерно для моноциклических рыб. Этот процесс сопровождался формированием фонда и активизацией стероидсекреторных клеток, численность которых увеличивалась сначала в строме гонад, а после появления превителлогенных ооцитов и в фолликулярных оболочках.

## **Глава 3. ФОРМИРОВАНИЕ ФОНДА ПОЛОВЫХ КЛЕТОК У МОЛОДИ КРУГЛОРОТЫХ И РЫБ ПРИ СТАНОВЛЕНИИ ЦИКЛИЧНОСТИ ВОСПРОИЗВОДСТВА**

### **3.1. Полициклия у рыб. Развитие фонда ооцитов у молоди полициклических рыб на примере радужной форели**

Едва ли не самым изученным показателем в области репродуктивной биологии рыб является величина абсолютной плодовитости, и, конечно, наиболее важным для практического применения. С одной стороны, изучать этот показатель относительно легко, учитывая, что ооциты дефинитивного состояния у рыб – объектов промысла и аквакультуры – имеют диаметр более одного миллиметра и поддаются даже визуальному подсчету. С другой стороны, величина абсолютной плодовитости лежит в основе динамики численности популяций промысловых рыб и, следовательно, является одной из отправных точек в схеме прогнозирования промыслового изъятия. Эти два обстоятельства и привели к тому, что величина абсолютной плодовитости определена для всех видов, имеющих рыбохозяйственное значение в качестве кормового объекта или объекта промысла. Известны факторы, влияющие на формирование абсолютной плодовитости в онтогенезе у взрослых рыб – половозрелых или близких к половому созреванию в пределах и за пределами естественных ареалов, в условиях пищевой конкуренции и действия других внешних факторов (Кошелев, 1984; Иванков, 1983; 1985; Гараджаева, 1997; Giesy et al., 2000; Микодина и др., 2000; 2005; Зорбиди, 2012 и другие)

Вместе с тем отправной точкой в становлении абсолютной плодовитости, а также порционности нереста являются процессы формирования, пополнения и расходования фонда ооцитов периода превителлогенеза (Иванков и др., 1996; Anwand, 1998; Дубинина, Золотов, 2015). Следует особо отметить, что процессы становления последнего, как правило, не были темой специального исследования, а сама проблема остаётся наименее изученной в репродуктивной биологии рыб. Исследовательские задачи авторов большинства работ позволяли им рассматривать рыб одного возраста или вида, контрольных или подопытных вариантов, а также общего места отлова как единую группу с усреднением данных (Иванков и др., 1996; Кузнецов и др., 1997; Demska-Zakes et al., 1998; Coward, Bromage, 1999; Uribe, Grier, 2011; Селюков и др., 2012; Маренков и др., 2013; Шуман, 2015). Это делали и при исследовании оогенеза радужной форели в связи с анализом разных вопросов (Van den Hurk, Slof, 1981; Lebrun et al., 1982; Захарова, 1984). Мы, в свою очередь, исследуя особенности формирования фонда ооцитов у рыб при воздействии различных факторов (Зеленников, 1999; 2003а; Зеленников, Голод, 2019),

выявляли весьма различное состояние фонда ооцитов у одновозрастных и одноразмерных особей, при этом выращиваемых совместно в одинаковых условиях. Это позволило предположить, что различия в состоянии гонад связаны с индивидуальными особенностями пополнения и структуризации фонда ооцитов периода превителлогенеза. Такое предположение обусловило актуальность и цель самостоятельного фрагмента работы – на примере радужной форели изучить объём, структуру и динамику фонда ооцитов периода превителлогенеза.

Для нашей работы, и особенно для обсуждения проблемы становления цикличности воспроизводства в онтогенезе, радужная форель является чрезвычайно важным, фактически, незаменимым модельным объектом с учетом ее систематического положения, являющегося дискуссионным. Так, по широко признанному мнению ряда авторов, радужная форель определяется как *Oncorhynchus mykiss* и, следовательно, принадлежит к роду тихоокеанских лососей (Smith, Stearley, 1989; Behnke, 2002; Медников и др., 1999). Другие авторы не находят для этого достаточных оснований (Осинов, 1999; 2004), выводят этот вид в самостоятельный род *Parasalmo* и определяют его как *P. mykiss* (Дорофеева, 1999). Вместе с тем, все исследователи признают, что радужная форель среди полициклических лососевых является самым близким родственником для моноциклических тихоокеанских лососей.

Поскольку радужная форель является широко распространенным модельным объектом для экспериментальных исследований (Игнатьева, 1975), ее гаметогенез и функционирование репродуктивной системы в целом хорошо изучены. Популярности форели для экспериментальной работы, конечно, способствует ее полуторавековая селекция в качестве повсеместно распространенного объекта товарного выращивания (Грачева, 1955; Боровик, 1969; Титарев, 1980; Галасун, 1981; Ростовцев, 2000; Голод, 1992; Янковская, 1999; Богерук и др., 2001; Пестрикова, 2004; Богерук, 2006; Есавкин, 2012). Известны особенности ее полового созревания (Nomura, 1970; Титарев, 1975; Чаплыгин и др., 1985; Nakari et al., 1987; Терентьева, 2005), гормональная регуляция процессов гонадо- и гаметогенеза на разных этапах репродуктивного цикла (Scott et al., 1980; Van den Hurk, Slof, 1981; Schulz, 1984); раннему оогенезу форели посвящены целые диссертации (Захарова, 1984; Алешин, 1987). Все эти данные помогли при планировании нашей работы, однако для ее выполнения мы были вынуждены разработать отдельные приемы.

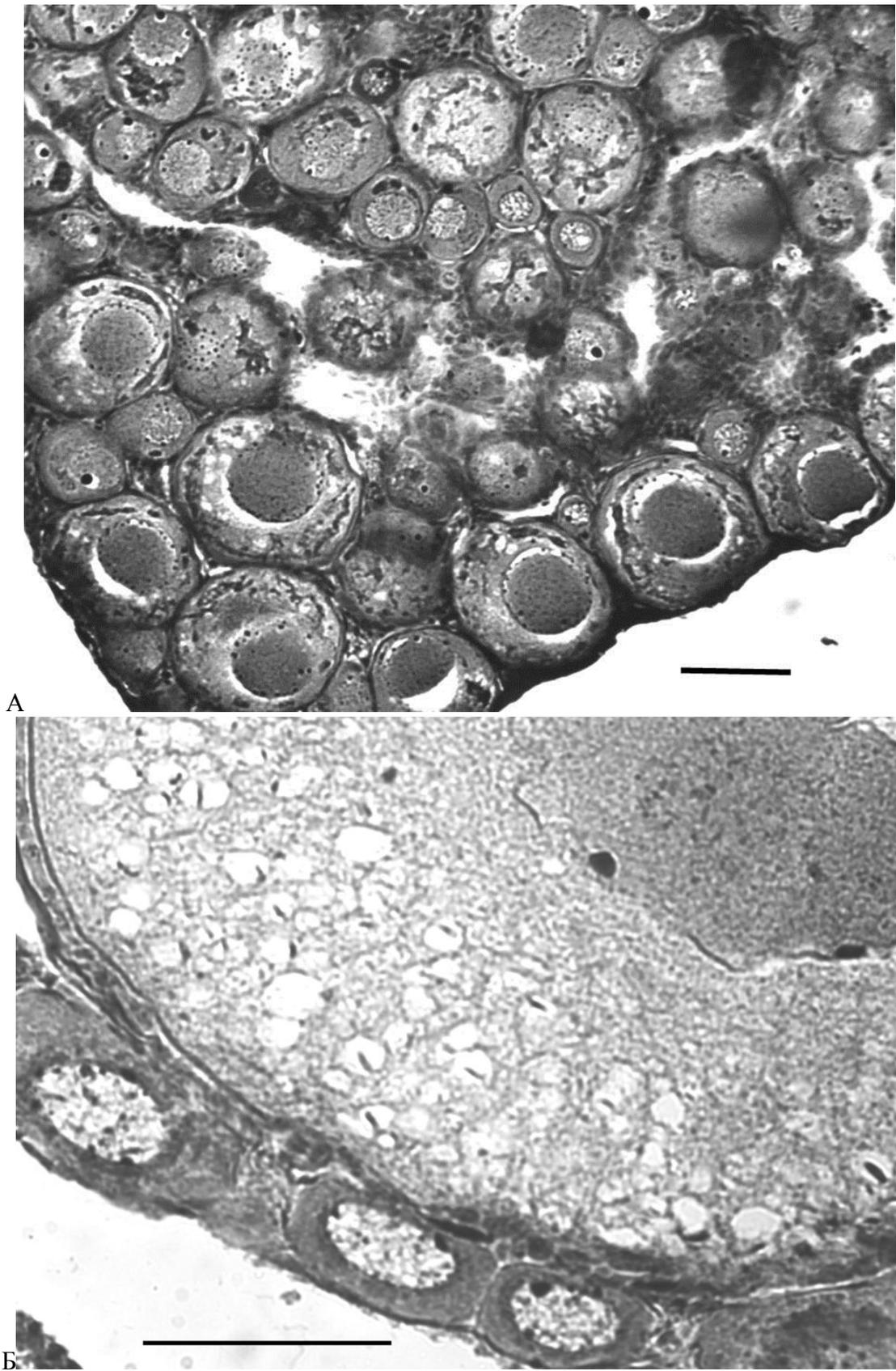
Мы анализировали самок форели в возрасте 10-12 мес. при длине рыб от 153 до 203 мм и массе от 38 до 97 г и в возрасте 20 мес. при длине от 272 до 330 мм и массе от 298 до

713 г. В ходе работы анализировали столько срезов, чтобы общее число подсчитанных клеток для каждого яичника было более 200. Количество ооцитов каждой группы рассчитывали по формуле (представлена в методике) в объёме среза гонад толщиной, равного диаметру самого крупного ооцита. На основании этих расчётных данных определяли процентное соотношение ооцитов различных размерных групп.

Общее число ооцитов подсчитывали в навеске яичника массой 5-10 мг. Перед подсчётом, чтобы снизить прочность соединительнотканной теки овариальных фолликулов и стромальной ткани гонад, навески на 5–7 сут помещали в 0,1 %-ный раствор пепсина в 0,2 %-ном растворе соляной кислоты при температуре 37°C. Измерив по 20 самых крупных ооцитов с помощью стереоскопического микроскопа на тотальном препарате и обычного микроскопа на гистологическом срезе той же гонады, вычисляли их средние диаметры. Затем подсчитывали все ооциты старшей размерной группы в навеске. Зная относительную численность ооцитов этой размерной группы, подсчитанную на срезах, определяли общее число превителлогенных ооцитов и число этих ооцитов разных размерных групп в навеске, после чего производили пересчёт на общий вес гонад, определив, таким образом, и объём всего резервного фонда, и число ооцитов в отдельных размерных группах.

В возрасте 10-12 мес в яичниках всех особей присутствовали превителлогенные ооциты диаметром от 20 до 200 мкм (рис. 3.1А), которые в целях последующего анализа были разделены на пять размерных групп с одинаковым диапазоном диаметров клеток: I группа – 20-55 (в среднем 37,5 мкм), II – 56-91 (73,5 мкм), III – 92-127 (109,5 мкм), IV – 128-163 (145,5 мкм), V – 164–199 (181,5 мкм).

Относительная численность ооцитов одних и тех же размерных групп у разных рыб сильно варьировала. Поскольку взятые для анализа самки различались по массе и длине, возникло предположение, что у более крупных рыб яичники были более развитыми, о чем могло свидетельствовать увеличение доли клеток III, IV и V размерных групп. Для проверки этого предположения все особи формально были разделены на две группы: 12 самых мелких и 12 самых крупных особей, длина и масса которых в среднем достоверно ( $p < 0,01$ ) различались. Как свидетельствуют полученные данные, число ооцитов разных размерных групп у мелких и крупных самок было практически одинаковым (табл. 3.1).



**Рис. 3.1.** Общий вид ооцитов периода превителлогенеза и начала вителлогенеза разных размерных групп у самок форели в возрасте 10-12 мес (А), а также ооцитов 1-ой и 8-ой размерных групп у самок форели в возрасте 20 мес (Б). Шкала = 50 мкм.

Таблица 3.1.

Соотношение числа ооцитов периода превителлогенеза разных размерных групп у радужной форели

№	Длина рыб, мм	Масса рыб, г	Число рыб	Относительное число ооцитов различных размерных групп, %							
				I 20-55*	II 56-91	III 92-127	IV 128-163	V 164-199	VI 200-235	VII 236-325	VIII 326-415
<b>Возраст 10-12 мес. Группы мелких и крупных особей</b>											
Мелкие	172,0±2,3	55,4±2,0	12	44,5±3,7	27,9±2,2	19,2±2,9	7,5±1,9	0,9±0,6	—	—	—
Крупные	192,0±2,6	78,3±3,4	13	46,8±2,3	28,1±1,7	18,3±2,0	6,5±1,0	0,3±0,1	—	—	—
<b>Возраст 10-12 мес. Варианты в структуре фонда ооцитов</b>											
1	182,4±3,7	66,0±4,0	11	53,6±1,1	26,0±1,4	14,6±0,9	5,6±1,1	0,2±0,04	—	—	—
2	183,3±8,4	67,7±11,7	3	47,6±1,7	<b>39,3±0,9</b>	8,6±0,9	4,2±1,2	0,4±0,1	—	—	—
3	177,3±5,7	62,0±5,9	6	37,8±3,5	29,0±0,9	<b>27,5±2,8</b>	5,6±0,8	0,2±0,1	—	—	—
4	185	67	1	16,1	<b>56,8</b>	<b>26,6</b>	0,4	0,1	—	—	—
5	188,7±7,6	74,7±11,2	3	38,1±1,7	25,9±1,6	<b>22,9±0,3</b>	<b>12,6±0,8</b>	0,5±0,3	—	—	—
6	178	81	1	26,2	16,7	<b>28,0</b>	<b>22,0</b>	<b>7,1</b>	—	—	—
<b>Возраст 20 мес. Группы мелких и крупных особей</b>											
Мелкие	286,3±4,2	448,3±42,9	6	30,1±4,2	15,4±2,4	15,8±1,4	15,9±2,2	12,0±1,8	6,2±0,8	4,3±1,3	0,3±0,1
Крупные	320,2±4,4	612,3±32,0	7	33,9±6,0	24,4±4,8	14,8±3,1	11,3±1,5	7,8±2,6	3,2±0,7	4,4±1,0	0,2±0,1
<b>Возраст 20 мес. Варианты в структуре фонда ооцитов</b>											
1	298,6±9,9	506,0±57,4	5	41,5±4,6	20,2±1,2	14,3±1,5	9,8±1,4	7,0±1,9	3,9±1,0	3,0±0,4	0,3±0,1
2	331,0±1,0	682,5±30,5	2	23,1±6,4	<b>36,8±1,6</b>	14,3±0,5	13,0±3,7	6,8±1,7	1,9±0,6	3,7±2,5	0,2±0,1
3	318	615	1	20,8	25,4	<b>28,6</b>	11,6	5,0	3,4	5,1	0,1
4	296,0±3,0	546,0±50,0	2	17,2±6,0	16,7±1,2	<b>19,9±0,1</b>	<b>21,8±1,2</b>	<b>14,0±1,7</b>	6,6±0,1	4,1±1,7	0,2±0,1
5	287,3±8,7	403,3±53,8	3	35,1±3,7	6,5±1,0	10,4±2,3	<b>16,2±2,2</b>	<b>16,6±2,8</b>	<b>7,6±0,8</b>	<b>7,1±2,6</b>	0,4±0,3

\*Диаметр ооцитов каждой из размерных групп, мкм. \*\*Полужирным шрифтом во всех случаях выделено достоверное увеличение по сравнению со значением для 1-ой группы.

Детальный анализ относительной численности ооцитов периода превителлогенеза у всех исследованных самок позволил выявить характерные особенности в структуре их фонда и на основании этих наблюдений представить картину клеточных перестроек в ходе превителлогенеза у радужной форели. Так, у 11 исследованных рыб в яичниках были наиболее многочисленными ооциты первой размерной группы (53,6%), тогда как численность ооцитов каждой следующей группы последовательно, в 2-3 раза, уменьшалась (табл. 3.1). Показательно, что такую структуру фонда превителлогенных ооцитов отмечали как у мелких, так и у более крупных рыб. У вторых рыб была существенно выше ( $p < 0,01$ ) доля ооцитов II размерной группы. Ясно, что её пополнение могло произойти только за счет ооцитов I группы, однако прирост численности ооцитов II группы составил в среднем 14,4%, а дефицит в I группе – только 5,9%. Такое несоответствие можно объяснить только одним – одновременным пополнением состава первой группы в связи с вступлением части ооцитов ранней профазы мейоза в период превителлогенеза.

Третий вариант структуры фонда превителлогенных ооцитов отличался значительным ( $p < 0,01$ ) увеличением доли клеток III размерной группы. Тенденция – перехода ооцитов из I во II размерную группу – особенно чётко проявилась в следующем, четвёртом, варианте, в котором доля клеток I группы снизилась до предельно низкого уровня (16,1%), тогда как доля ооцитов II группы была наиболее высокой (56,8%). При этом значительно выше была и доля ооцитов III размерной группы. В следующем, пятом, варианте относительная численность клеток самой младшей размерной группы оказывается увеличенной до 38,1%. Но при этом, по сравнению с первым вариантом, существенно выше оказывается доля ооцитов не только III ( $p < 0,01$ ), но и IV группы ( $p < 0,05$ ). В шестом варианте за счёт сокращения доли клеток двух первых групп, реально выше, чем в первом варианте, оказалась относительная численность III, IV и V размерных групп. Очевидно, что в данном случае не было существенного пополнения состава ооцитов I и II групп из фонда мейоцитов, но был переход из этих групп в группы более крупных ооцитов.

Полученные данные позволили проследить весь цикл перехода превителлогенных ооцитов от I до V размерной группы, на протяжении которого отмечены признаки, по меньшей мере, двухразового пополнения фонда ооцитов периода превителлогенеза за счёт ооцитов периода ранней профазы мейоза. При достижении относительной численности ооцитов двух первых размерных групп до 55-57% следовал переход части клеток в следующую размерную группу. Такие вариации относительной доли ооцитов в каждой из

групп свидетельствует о прерывистой неравномерности пополнения фонда ооцитов в период превителлогенеза. В противном случае структура фонда ооцитов оставалась бы относительно стабильной как, например, в первом из рассмотренных вариантов.

Общая численность ооцитов у рыб в возрасте 10-12 мес., определённая у 20 самок, в среднем составила  $25,71 \pm 3,01$  и варьировала от 4,53 до 76,72 тыс. Чтобы выяснить, как соотносятся эти величины с размерами рыб, все исследованные особи были поделены на две равные группы. В одну из них включили 10 самых мелких особей, длиной от 153 до 180 мм (в среднем  $173,0 \pm 2,3$  мм.) и массой от 38 до 62 г. ( $55,0 \pm 2,0$  г.), а в другую – 10 наиболее крупных самок длиной от 181 до 203 мм. ( $190,0 \pm 2,7$  мм.) и массой от 65 до 97 г. ( $75,5 \pm 3,7$  г). Суммарная численность всех превителлогенных ооцитов у рыб первой группы варьировала в пределах от 4,53 до 78,72 тыс. ( $27,85 \pm 7,38$  тыс.), а у самок второй группы – от 5,35 до 71,59 тыс. ( $24,10 \pm 7,08$  тыс.). Мы видим, что в конце первого года жизни у форели нет выраженной связи между объёмом резервного фонда ооцитов и размерно-весовыми показателями самок.

В возрасте 20 мес. помимо пяти размерных групп ооцитов, выделенных в гонадах ранее, у самок форели были обнаружены более крупные клетки. Они составили дополнительно ещё три размерные группы: VI – диаметром 200-235 мкм. (в среднем 217,5), VII – 236-325 мкм. (280,5) и VIII – 326-415 мкм. (370,5). Часть клеток VII и все клетки VIII группы – были представлены ооцитами в фазе вакуолизации цитоплазмы (рис. 3.1Б).

Выявляя зависимость структуры фонда ооцитов от размеров самок, мы разделили подопытных рыб на две группы мелких и крупных особей (соответственно до – и более 300 мм). В среднем длина и масса самок двух групп существенно ( $p < 0,01$ ) различались. При этом число ооцитов разных размерных групп оказалось сходным (табл. 3.1).

Анализ фонда превителлогенных ооцитов также позволил выявить несколько вариантов его структуры. Так, у пяти самок преобладали ооциты I размерной группы, а доля клеток каждой последующей группы была меньше, чем предыдущей. У других рыб преобладали клетки II размерной группы (второй вариант) или III группы (третий вариант), III, IV и V групп (четвёртый вариант) и, наконец, IV, V, VI и VII групп (пятый вариант) (табл. 3.1). Таким образом, как и у рыб в возрасте 10-12 мес., у этих, более старших рыб, изменение фонда превителлогенных ооцитов также представляло собой своего рода «волну». Очевидно, что у рыб с первого по пятый варианты доминирующей оказывалась группа ооцитов более крупного размера. При этом обращает на себя внимание следующий факт. Доля ооцитов I размерной группы была наибольшей у особей

первого варианта. У рыб второго, третьего и четвёртого вариантов она последовательно снижалась. И, наконец, у рыб пятого варианта доля ооцитов I размерной группы вновь оказалась значительной. Но именно у этих рыб в сумме была самой большой доля ооцитов старших размерных групп (табл. 3.1). Таким образом, по мере того, как часть ооцитов переходила из одной размерной группы в другую, а доля ооцитов самого начала периода превителлогенеза снижалась, происходило её пополнение за счёт фонда ооцитов периода ранней профазы мейоза.

Общая численность ооцитов, определённая у пяти рыб, варьировала от 89,7 до 487,0 тыс. и в среднем составила 239,5 тыс. Таким образом объём фонда превителлогенных ооцитов у самок форели в возрасте 20 мес. был в среднем в 9,5 раза больше, чем у самок в возрасте 10-12 мес.

Обсуждая полученные факты, отметим, что нам не известны литературные данные о волновой динамике формирования фонда ооцитов периода превителлогенеза у рыб. Поскольку превителлогенные ооциты, относящиеся, в том числе, и к одной ступени, могут весьма существенно различаться по размерам (Кузнецов и др., 1997), единственным надёжным критерием исследования динамики их фонда является подразделение этих клеток на размерные группы (Uradhyau et al., 1978) и подсчёт их числа (Lebrun et al., 1982). Применённый в данной работе подход с подсчётом числа клеток, во-первых, в объёме яичника, во-вторых, с формальным подразделением ооцитов по размерам и позволило выявить волновой характер формирования их фонда. При этом общее число ооцитов периода превителлогенеза у самок варьировало в широких пределах, например, в возрасте 10-12 мес в 17 раз. Можно полагать, что инициация новых мейотических циклов и вступление мейоцитов в превителлогенез у одних особей осуществляется более интенсивно, чем у других. Не исключено, что у рыб с более высокой интенсивностью пополнения резервного фонда ооцитов будет и более высокая абсолютная плодовитость.

В практическом плане понимание волновой динамики формирования фонда ооцитов поможет проведению исследований сравнительного плана. Например, в литературе накоплено много сведений о развитии яичников у рыб, подвергнутых какому-либо экспериментальному воздействию, где авторы вынуждены были использовать сравнительно небольшое число рыб, в 2-5 экз. (Чмилевский, 1982; 1985). Исходя из полученных данных, мы считаем, что состояние гонад конкретных особей может различаться, но при этом отражать не уровень развития половых желёз всей группы, а всего лишь определённую фазу в развитии фонда ооцитов у этих самок. В связи с этим можно полагать, что только выборка определённого размера, например, у радужной

форели не менее 10 экз., позволяет более достоверно решить вопрос о том, у рыб какой группы гонады имеют более высокий уровень развития. При работе с другими видами рыб объём выборки, вероятно, может быть другим. Однако можно полагать, что для всех полициклических рыб в той или иной степени может быть присущ волновой характер пополнения фонда ооцитов периода превителлогенеза, поскольку известно, что их общее число с возрастом увеличивается, как это произошло и у изученных нами самок форели.

## **3.2. Моноциклия у круглоротых и рыб**

### **3.2.1. Формирование фонда ооцитов у молоди**

#### **миног и тихоокеанских лососей**

Абсолютное большинство рыб являются полициклическими животными и размножаются в течение ряда лет. Лишь у немногих видов в процессе эволюции выработалась иная экологически оправданная стратегия размножения – моноциклия, характеризующаяся единственным в жизни нерестом и тотальной постнерестовой гибелью производителей. Моноциклия очень редко распространена среди рыб, однако уже то, что она характерна для таких чрезвычайно заметных групп животных, как миноги и тихоокеанские лососи, оправдывает исследовательский интерес к этому явлению.

Миноги – одна из наиболее древних групп позвоночных животных (Берг, 1948; Микулин, 2003), и специфика их развития может представлять несомненный интерес в эволюционном аспекте. В промысловом же плане это едва ли не самая «противоречивая» группа животных. С одной стороны, в связи с паразитическим образом жизни в морской период, миноги наносят колоссальный вред численности промысловых видов рыб, а проникнув в новое местообитание – способны принципиально изменить ихтиологическое сообщество (Орлов, Пеленев, 2009; Jones et al., 2015). По мнению ряда авторов, по сравнению с влиянием миноги на численность, например, молоди тихоокеанских лососей, влиянием всех остальных хищников, вместе взятых, можно пренебречь (Рослый, Новомодный, 1996). Не удивительно, что исследовательский интерес к миноге зачастую связан с разработкой методов борьбы с ней (Gambicki, Steinhart, 2017; Howe et al., 2006). Однако, с другой стороны, миноги сами являются объектом промысла и продуктом питания, для которых даже разработана биотехника искусственного воспроизводства на рыбноводных заводах (Аршавская и др., 2008; Павлов, Саидов, 2016).

В свою очередь, значение тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus* трудно преуменьшить. Достаточно сказать, что это самая массовая группа рыб из тех, промысел которых осуществляется в прибрежной зоне или уже в пресной воде. Обитая на всей

акватории Северной Пацифики и проникая в реки на расстояние до 4 тыс. километров (Смирнов, 1975), тихоокеанские лососи являются важнейшим элементом как морских, так и пресноводных экосистем (Шунтов, Темных, 2011), а в настоящее время еще и важнейшим объектом аквакультуры (Леман и др., 2015; Кловач и др., 2018) и наиболее изучаемой группой рыб (Глубоковский, 1995; Каев 2003; Микодина и др., 2007; Кузицин, 2010; Антонов, 2011; и другие). Специфика же их отлова – преимущественно в прибрежье – наряду с потребительской ценностью, делает этих рыб заметным элементом питания для населения на обширной территории азиатского и американского континентов, а в некоторых регионах, фактически, основным элементом формирования социума.

Исследовательский интерес к моноциклии не исчерпывается только изучением специфической стратегии размножения у миног и тихоокеанских лососей. Нам известны и другие виды рыб, размножающихся один раз в жизни, например, европейский угорь (Krueger, Oliveira, 1997; Yoshiura et al., 2003), пресноводная карликовая форма корюшки – снеток (Кузнецов, 1986) и другие. В отличие от истинно моноциклических животных – миног и тихоокеанских лососей – у этих видов рыб фонд половых клеток дифференцирован. Поэтому даже после, фактически, единственного нереста в их гонадах сохраняются половые клетки на ранних этапах развития.

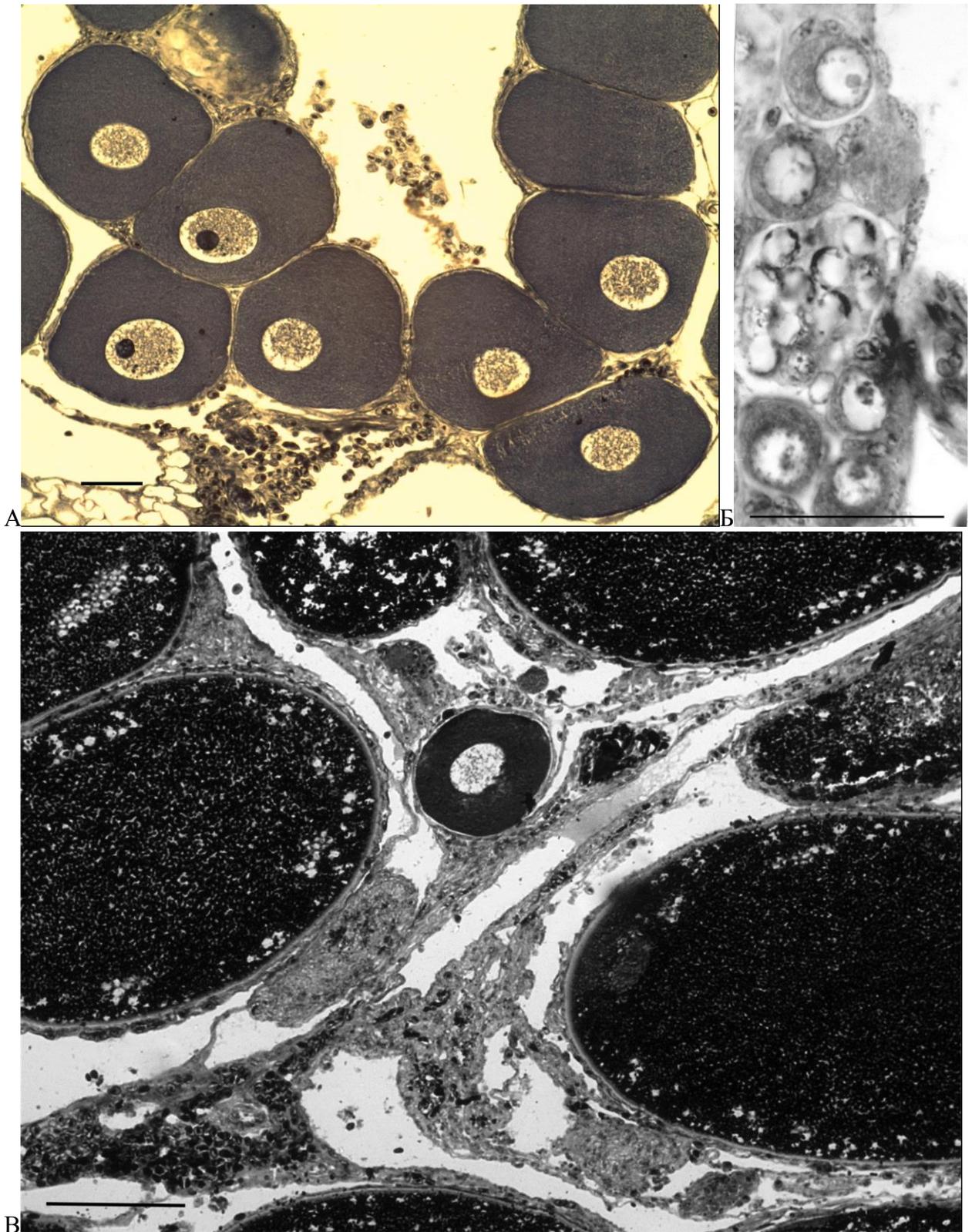
Вместе с тем, и в ходе становления моноциклии у миног и тихоокеанских лососей в раннем возрасте наблюдается асинхронность в развитии половых клеток, которую, очевидно, можно объяснить двумя причинами. С одной стороны, эта асинхронность может быть естественным следствием формирования сравнительно большого количества ооцитов из исходно небольшого числа первичных половых клеток. С другой стороны, асинхронность развития ооцитов в раннем онтогенезе может указывать на изначальную полициклическость предков этих животных, то есть являться своего рода атавизмом.

К настоящему времени в литературе накоплены многочисленные данные о родственных связях тихоокеанских лососей (Царев и др., 1984; Чернов, Борксениус, 1989), представляющие для нашей работы очень большой интерес. Они не оставляют сомнений в том, что среди тихоокеанских лососей есть как генеалогическим более близкие, так и более далекие виды. Принимая это во внимание, а также с учетом возможного полициклического общего предка, в качестве рабочей гипотезы можно было предположить, что разные виды этого рода переходили от изначальной полициклии к дефинитивной моноциклии не одновременно, и к настоящему времени прошли по пути становления моноциклии не одинаковый путь. Поэтому не исключено, что анализируя процесс формирования

единственной генерации ооцитов у молоди тихоокеанских лососей, можно выявить этапы такого становления.

Выполнить эту работу, опираясь на литературные данные, оказалось невозможно, поскольку практически во всех публикациях в интересующем нас аспекте на горбуше (Пахомова, Хлевная, 1977; 1978а, б), кете (Панасенко, 1978; Лукина и др., 1988; Мосягина, Кузнецов, 1997; Заварина, Городовская, 2011), кижуче (Кузнецов и др., 1997; Христофоров, 1986; Goetz et al., 1979 и др.), сима (Иванков, Чикина, 1977; Nakamura et al., 1974) или нерке (Горшкова, Горшков, 1977; Иевлева, 1982, 1985; Толстяк, 1989) авторы анализировали состояние ооцитов периодов превителлогенеза и вителлогенеза, тогда как информация, например, о состоянии фонда оогониев и мейоцитов у самок в период поклатной миграции или о продолжительности размножения оогониев в литературе, практически, отсутствует. Отметим также, что работы, в которых проводится сравнительный анализ раннего гаметогенеза сразу у нескольких видов тихоокеанских лососей, крайне малочисленны и также, либо посвящены изучению процесса дифференцировки пола (Персов, 1966; 1968), либо состоянию ооцитов старшей генерации уже в период морской миграции (Городовская, Сушкевич, 2015).

**МИНОГИ.** Специалистами уже давно отмечено большое сходство в биологии миног и лососевых рыб (Абакумов, 1956; 1960; Берг, 1953; Гриценко, 1968). Вместе с тем, моноциклия объединяет только миног и тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus*. При этом как сходный образ жизни у миног и лососевых рыб формировался независимо друг от друга (Гриценко, 1968), так и, вероятно, к моноциклии те и другие шли различными путями. По крайней мере, весьма распространенным является мнение, что миноги являются первично моноциклическими животными, тогда как тихоокеанские лососи – вторично моноциклические. Этот тезис, в первую очередь, основан на том, что ооциты в яичниках миног развиваются чрезвычайно синхронно в течение всего репродуктивного цикла (рис. 3.2А), а у тихоокеанских лососей в раннем возрасте наблюдается заметная асинхронность в развитии половых клеток (Персов, 1975; Зеленников, 2003б).



**Рис. 3.2.** Состояние яичников у речной (А, Б) и ручьевой (В) миноги. Можно видеть единственную генерацию ооцитов периода превителлогенеза (А), асинхронное развитие ооцитов в период дифференцировки пола (Б) и незадолго до полового созревания (В). Шкала А, Б = 50 мкм, В = 100 мкм.

Мы проводили гистоморфологический анализ состояния яичников у ручьевой миноги *Lampetra planeri* в течение полного репродуктивного цикла, и в ходе анализа выявили два периода выражено асинхронного развития ооцитов, причем на качественно различных этапах развития гонад. Первый период наблюдается в раннем онтогенезе на этапе дифференцировки пола, когда в яичниках можно одновременно видеть гонии, ооциты периодов ранней профазы мейоза и превителлогенеза (рис. 3.2Б). Эти данные не являются новыми, поскольку асинхронность в развитии ооцитов у миног в период дифференцировки пола отмечали и другие авторы (Hardisty, 1965; Кузнецов, 1986). Возможно, эта асинхронность ничего не говорит о развитии моноциклии и объясняется, например, естественным следствием формирования генерации в несколько тысяч ооцитов из сравнительно малого числа исходных первичных половых клеток (около 50-ти).

Второй период асинхронного развития половых клеток, в интересующем нас аспекте, представляется более информативным. Нами впервые были выявлены ооциты периода превителлогенеза среди близких к дефинитивному состоянию ооцитов периода вителлогенеза незадолго до полового созревания (рис. 3.2В).

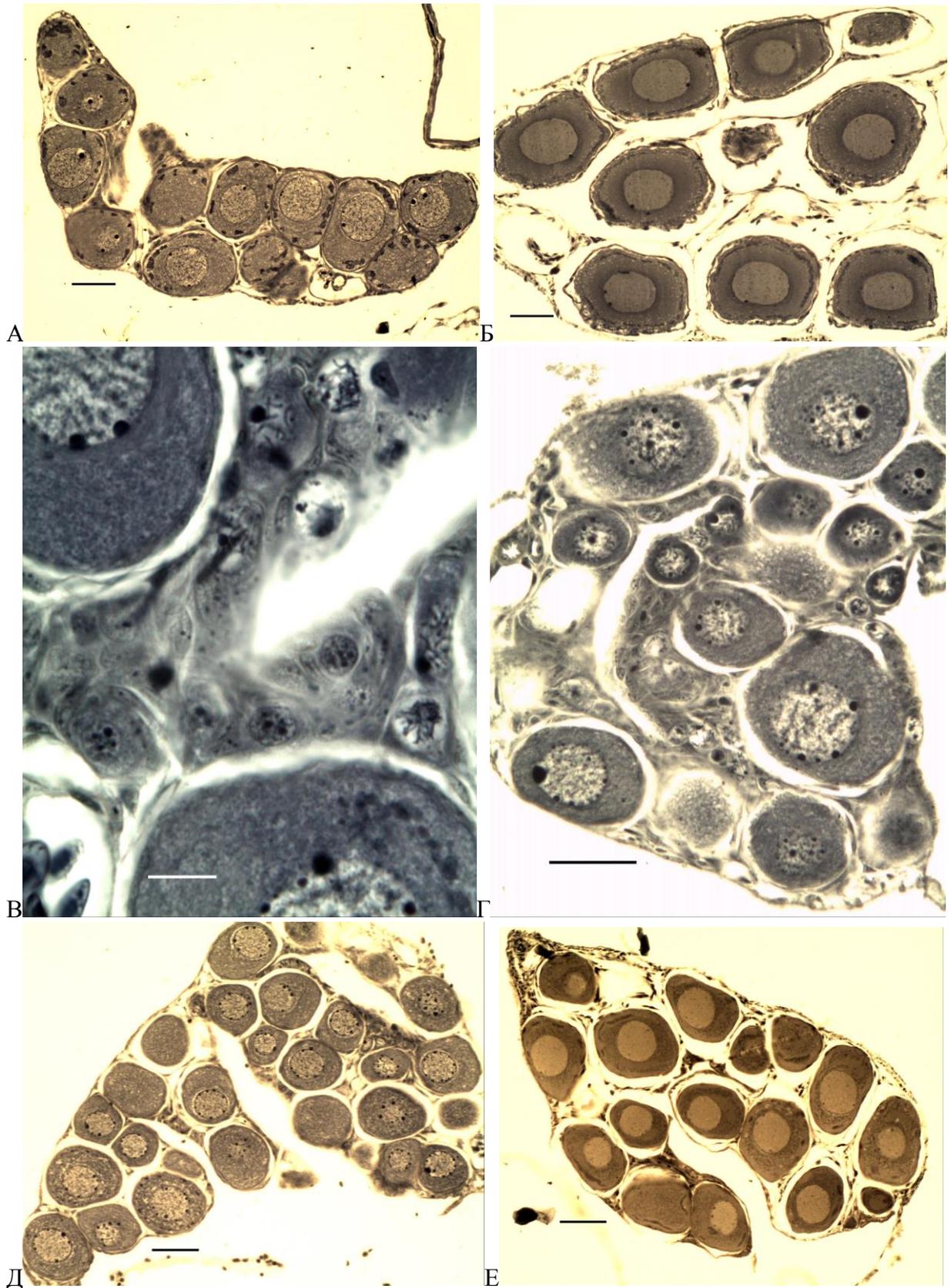
Сам факт присутствия таких клеток в гонаде свидетельствует о том, что асинхронное развитие ооцитов в яичниках у миноги возможно в течение нескольких лет. Ведь появлению таких ооцитов могли предшествовать два события: либо длительное сохранение в яичнике оогониев, не утративших способность к митотическому размножению, либо медленный рост таких ооцитов, как это характерно для полициклических рыб.

Таким образом, мы можем заключить, что асинхронное развитие ооцитов в яичниках миног может быть выражено не меньше, чем это характерно для самок тихоокеанских лососей. К тому же в литературе появились доказательства полициклического типа воспроизводства у миксин (Powell et al., 2004), являющихся самыми близкими «родственниками» для миног среди всех животных. Все эти факты позволяют нам предполагать, что формирование моноциклического типа воспроизводства у миног и тихоокеанских лососей осуществлялось сходным образом, а соответственно те и другие являются вторично моноциклическими животными, предки которых размножались многократно.

**ГОРБУША.** Развитие гонад у молоди другого моноциклического вида – горбуши – подробно было прослежено в первой главе и хорошо изучено, как в экспериментальном режиме (Персов, 1967; Хлевная, Карачун, 1981; Пахомова, Хлевная, 1986), так и в естественных условиях обитания (Персов, 1965б, в; Ландышевская, 1967; Арбузова, 1996),

в том числе и нами (Федоров и др., 1996; Зеленников и др., 2007а; Отставная и др., 2008; Федоров, Зеленников, 2009; Зеленников и др., 2020). Именно у горбуши, как наиболее быстро созревающей среди тихоокеанских лососей, раньше всех начинается и завершается формирование единственной генерации ооцитов, характерной для этих моноциклических рыб. В ходе личиночного и малькового развития у генотипических самок горбуши, как впрочем и у молоди полициклических рыб, происходит формирование и развитие старшей генерации половых клеток, которую составляют ооциты периода превителлогенеза. После достижения этой генерацией определенной численности, ее пополнение прекращается, а половые клетки более ранних этапов развития, не вошедшие в состав этой генерации, элиминируются (Зеленников, 2003б). В результате яичники у самок горбуши из разных мест обитания, в интересующем нас аспекте, оказываются практически одинаковыми. Например, у самок первой партии, на самом тепловодном для горбуши в Сахалинской области Рейдовом ЛРЗ, перед выпуском при практически одинаковой массе и длине тела были достоверно больше площадь срезов гонад и диаметр ооцитов, чем у самок также первой партии перед выпуском, но выращенных на одном из самых холодноводных – Анивском ЛРЗ (табл. 3.2). При этом доля оогониев и мейоцитов на срезах гонад у тех и других была сходной и не превышала 2%. В дальнейшем число этих клеток еще более уменьшалось. Например, у самок горбуши массой в среднем 1,35 г, выращенных на Анивском ЛРЗ в экспериментальном режиме (табл. 3.2), а также у рыб, пойманных в море. Так, у мальков перед выпуском с рыбозавода при массе в среднем 0,35 г в яичниках можно видеть сходные по размеру и состоянию ооциты (рис. 3.3А). Такие же морфологически сходные клетки присутствуют в яичниках у рыб, выловленных в Курильском заливе (рис. 3.3Б). Отметим, что у рыб, пойманных в море, масса тела была в 8 раз, а диаметр ооцитов в 1,5 раза больше, чем у рыб, взятых на заводе (табл. 3.2), однако число ооцитов, приходящихся в среднем на один срез гонады, у тех и других оказалось практически одинаковым. Очевидно, что после ската в прибрежье пополнения фонда ооцитов периода превителлогенеза не произошло и, вероятно, не могло произойти. Если у молоди в пресной воде очень редко мы еще встречали гонии и их митозы, то у молоди, пойманной в море, единичные гонии обнаружили только у одной особи в двух исследованных партиях рыб (табл. 3.2).

**КЕТА.** Как и у всех тихоокеанских лососей, у молоди кеты в яичниках происходит формирование старшей, а затем и единственной генерации ооцитов. Оогенез зависит от температуры воды, но осуществляется медленнее и при больших длине и массе тела, чем у горбуши (Персов, 1965). Анализируя срезы яичников у самой большой группы рыб из



**Рис. 3.3.** Состояние яичников у молоди горбуши перед выпуском с Курильского ЛРЗ (А), выловленных в Курильском заливе (Б), а также гонад кеты, выловленной в озере Сопочное (В, Г, Д) и Курильском заливе (Е). В гонадах можно видеть гонии и мейоциты (С), а также разную степень разнокачественности фонда ооцитов периода превителлогенеза. Шкала А, Б, Г, Д, Е = 50 мкм, В = 20 мкм.

Таблица 3.2.

## Состояние яичников у молоди тихоокеанских лососей

Место вылова	Дата вылова	Возраст	Число рыб	Масса рыб, г	Длина рыб, L мм	Масса гонад, мг	Площадь поперечных срезов гонад, мм <sup>2</sup>	Ооцитов периода ПВ* на срез		Диаметр ооцитов, мкм
								шт	%	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<b>ГОРБУША</b>										
Анивский	23.05.97	0+	10	0,25 ± 0,02	33,8 ± 0,5	—	0,044±0,003	9,4 ± 0,6	98,7 ± 0,4	66,3 ± 1,7
Рейдовый	25.05.97	0+	12	0,25 ± 0,02	34,2 ± 0,7	—	0,057±0,003	9,6 ± 0,4	99,1 ± 0,3	79,3 ± 1,6
Анивский ОПЫТ	30.06.98	0+	16	1,35 ± 0,09	56,9 ± 0,12	5,5 ± 0,3	0,33 ± 0,02	11,5 ± 0,7	99,7 ± 0,2	142,8 ± 3,0
Курильский завод	10.06.10	0+	9	0,35 ± 0,04	39,6 ± 1,4	—	—	10,9 ± 0,5	98,2±1,4	115,5 ± 1,7
залив Курильский	16.07.10	0+	8	2,85 ± 0,16	71,1 ± 1,2	—	—	12,2 ± 0,9	100	177,3 ± 7,9
залив Курильский	20.07.04	0+	19	2,35 ± 0,07	68,4 ± 0,8	5,8 ± 0,3	—	10,0 ± 0,5	99,8 ± 0,1	163,7 ± 2,6
<b>КЕТА</b>										
озеро Сопочное	19.07.10	0+	19	1,42 ± 1,01	46,5 ± 1,5	—	—	10,7 ± 0,8	70,1 ± 4,7	53,6 ± 3,2
река Курилка	16.07.10	0+	16	1,23 ± 0,84	51,2 ± 1,0	—	—	10,6 ± 1,1	63,5 ± 5,2	78,2 ± 3,5
залив Курильский	16.07.10	0+	8	3,24 ± 0,29	71,2 ± 1,9	—	—	10,6 ± 1,0	91,3 ± 3,8	108,8 ± 13,1
река Ударница	26.06.11	0+	10	1,28 ± 0,09	48,9 ± 1,5	—	—	14,8 ± 1,2	96,2 ± 1,2	75,1 ± 1,5
река Ударница	14.07.11	0+	8	1,95 ± 0,20	60,0 ± 2,1	—	—	14,0 ± 1,0	86,5 ± 1,7	84,9 ± 3,8
залив Невельский	02.06.00	1+	2	18,5 ± 0,05	127,0 ± 0,1	—	0,49 ± 0,13	16,3 ± 0,9	100	136,7 ± 19,4
<b>НЕРКА</b>										
озеро Сопочное	19.07.10	0+	15	1,42 ± 0,11	50,4 ± 1,2	—	—	15,6 ± 1,9	69,6 ± 4,6	68,0 ± 1,8
озеро Сопочное	19.07.10	1+	21	13,70 ± 0,79	104,7 ± 2,8	19,6 ± 1,2	—	15,9 ± 0,7	79,5 ± 2,2	135,8 ± 3,8

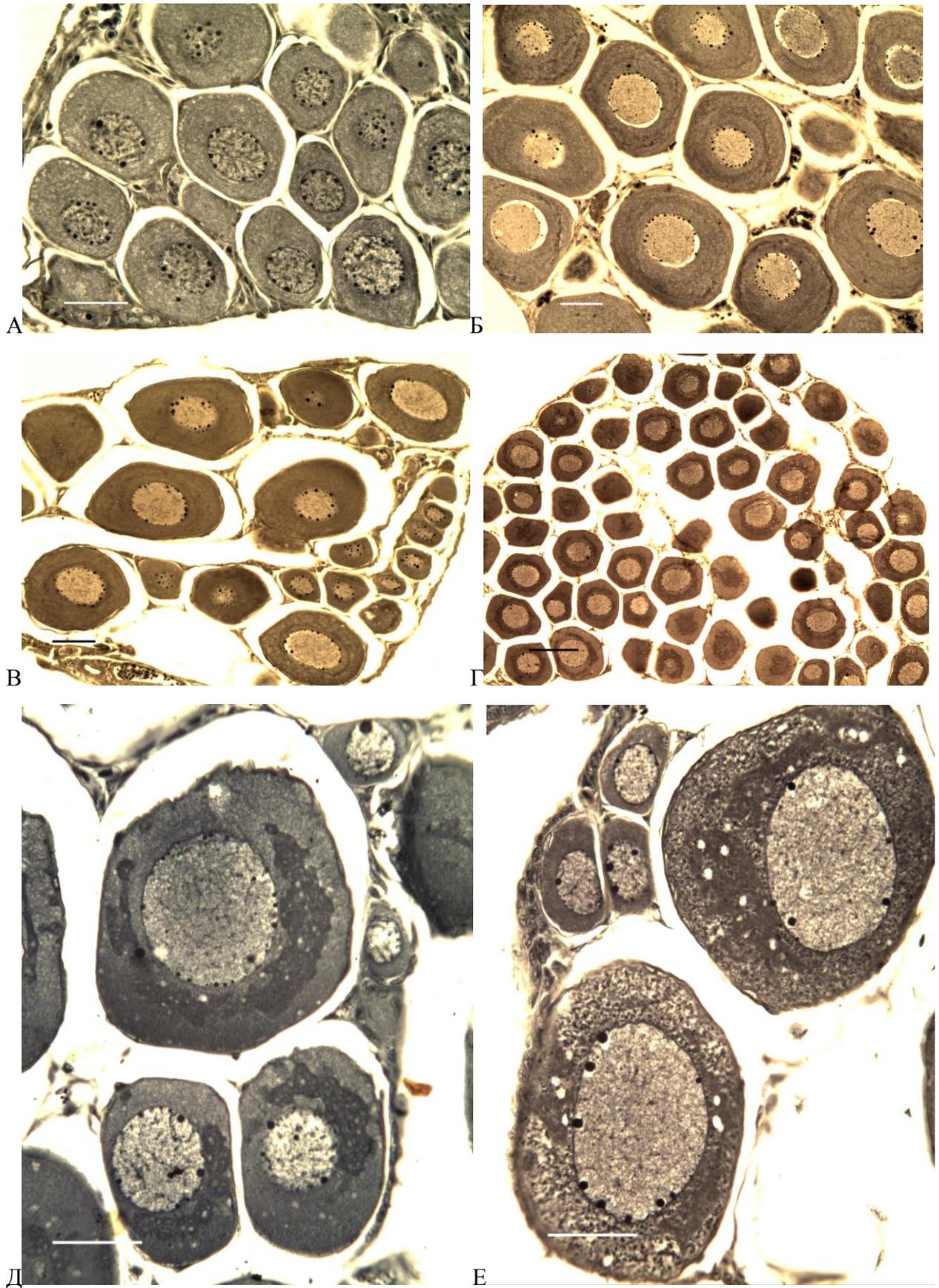
Таблица 3.2. (продолжение).

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
озеро Курильское	24.06.03	2+	36	$6,51 \pm 0,32$	$90,7 \pm 1,4$	$22,7 \pm 1,1$	$0,36 \pm 0,013$	$28,5 \pm 1,1$	$86,8 \pm 1,7$	$137,5 \pm 2,0$
Охотский завод	08.06.99	0+	16	$2,03 \pm 0,21$	$60,4 \pm 1,9$	—	$0,15 \pm 0,02$	$25,0 \pm 2,2$	$65,9 \pm 6,5$	$80,7 \pm 2,7$
Охотский завод	08.06.99	1+	5	$29,7 \pm 4,1$	$143,6 \pm 0,6$	—	—	$32,6 \pm 6,2$	$93,9 \pm 2,0$	$182,0 \pm 4,5$
<b>КИЖУЧ</b>										
Буюкловский ЛРЗ	06.06.99	0+	10	$0,47 \pm 0,08$	$33,4 \pm 1,2$	—	$0,023 \pm 0,004$	$2,4 \pm 1,1$	$3,2 \pm 11,3$	$29,5 \pm 1,9$
Буюкловский ЛРЗ	06.06.99	1+	5	$2,48 \pm 0,30$	$5,6 \pm 0,2$	$34,0 \pm 2,9$	$1,63 \pm 0,08$	$35,3 \pm 0,2$	$78,5 \pm 0,9$	$186,7 \pm 5,8$
Охотский завод	08.06.99	0+	16	$2,48 \pm 0,33$	$56,0 \pm 3,9$	—	$0,41 \pm 0,05$	$41,4 \pm 3,9$	$69,1 \pm 5,7$	$109,9 \pm 4,7$
Охотский завод	08.06.99	1+	18	$12,17 \pm 1,02$	$107,3 \pm 3,2$	$70,1 \pm 5,0$	$2,21 \pm 0,17$	$27,6 \pm 1,5$	$88,0 \pm 2,0$	$228,4 \pm 6,0$
озеро Сопочное	19.07.10	1+	4	$18,15 \pm 2,19$	$107,2 \pm 1,1$	$60,5 \pm 4,2$	—	$23,4 \pm 2,8$	$78,9 \pm 12,1$	$193,9 \pm 3,5$
озеро Сопочное	19.07.10	2+	3	$31,50 \pm 5,73$	$135,3 \pm 2,3$	$105,7 \pm 22,2$	—	$24,1 \pm 8,3$	$68,1 \pm 11,3$	$208,1 \pm 11,1$
<b>СИМА</b>										
Анивский ЛРЗ	05.06.98	0+	7	$1,03 \pm 0,10$	$46,7 \pm 1,1$	—	$0,16 \pm 0,01$	$16,2 \pm 1,3$	$98,4 \pm 2,8$	$90,3 \pm 1,7$
Рейдовый завод	10.07.04	0+	6	$2,18 \pm 0,10$	$56,7 \pm 0,7$	—	—	$20,1 \pm 0,2$	$82,0 \pm 5,8$	$106,5 \pm 3,4$
Рейдовый завод	10.07.04	1+	34	$10,87 \pm 0,22$	$102,3 \pm 2,2$	$27,8 \pm 1,4$	—	$16,7 \pm 0,8$	$75,1 \pm 3,6$	$232,4 \pm 3,3$
река Быстрая	05.06.98	1+	30	$18,22 \pm 2,25$	$109,8 \pm 4,8$	$42,7 \pm 5,6$	$0,91 \pm 0,10$	$15,7 \pm 0,9$	$87,3 \pm 3,4$	$264,4 \pm 11,3$
<b>ЧАВЫЧА</b>										
река Большая	08.06.03	1+	10	$8,18 \pm 0,51$	$90,7 \pm 2,1$	$30,9 \pm 2,9$	—	$43,8 \pm 2,9$	$88,2 \pm 4,4$	$143,5 \pm 2,4$
Малкинский ЛРЗ	19.05.03	0+	20	$5,24 \pm 0,61$	$73,2 \pm 3,7$	$8,2 \pm 0,8$	—	$34,2 \pm 1,7$	$92,9 \pm 1,3$	$106,6 \pm 4,5$
Малкинский ЛРЗ	09.06.03	0+	10	$8,91 \pm 0,45$	$88,5 \pm 1,2$	$11,4 \pm 0,7$	—	$35,3 \pm 2,2$	$93,3 \pm 3,1$	$97,9 \pm 2,2$

озера Сопочное (19 шт. массой от 0,7 до 2,1 г), мы выявили два различных состояния фонда превителлогенных ооцитов. У одних особей в гонадах присутствовали клетки разного размера: от самого начала превителлогенеза диаметром 20-30 мкм до ооцитов диаметром 60-70 мкм (рис. 3.3Г). Представлялось очевидным, что у этих рыб только формировался унитарный фонд ооцитов, и в ходе этого процесса половые клетки переходили к периоду роста неодновременно. У других рыб ооциты также различались по размерам, однако не столь существенно, как в первом варианте (рис. 3.3Д). При этом в яичниках при наличии гониев и мейоцитов не встречались наиболее мелкие ооциты периода превителлогенеза. Складывалось впечатление, что формирование единственной генерации у этих рыб завершилось, и пополнение ее численности за счет новых мейотических циклов не осуществлялось.

Следующие две группы рыб были выловлены в один день, но одна из них в Курильском заливе, а другая в реке Курилке, в том месте, куда около месяца назад завершился выпуск молоди с Курильского завода. Молодь, пойманная в море, в среднем была в 2,5 раза крупнее, имела значительно ( $p < 0,01$ ) более крупные ооциты, чем молодь, пойманная в реке (табл. 3.2). Отметим, что в прибрежье острова Итуруп благодаря особенностям гидрологии (Лапин, Кивва, 2014) и хорошей кормовой базе (Кун, 1986; Френкель, Смирнов, 2015; Чебанова и др., 2015) молодь длительное время держится в прибрежье (Шубин, 1994). Вместе с тем, число ооцитов периода превителлогенеза в среднем на срез у тех и других оказалось одинаковым – по 10,6 клетки. У каждой из исследованных самок ооциты имели сходные размеры и внешний вид (рис. 3.3Е). В реке Ударнице самок кеты также выловили в месте их выпуска с Охотского завода через 2 и 4,5 недели после того, как выпуск заводских рыб был завершен. У рыб, пойманных позднее, была достоверно больше масса тела ( $p < 0,01$ ) и диаметр ооцитов ( $p < 0,05$ ). Однако число превителлогенных ооцитов в среднем на поперечный срез было практически одинаковым, при этом число клеток резервного фонда у рыб, пойманных позднее, оказалось даже больше ( $p < 0,05$ ; табл. 3.2). И, наконец, у двух самок со средней массой 18,5 г в возрасте 1+, выловленных в Татарском проливе в районе устья реки Ясноморки, оогонии и мейоциты в гонадах не обнаружили (табл. 3.2).

**НЕРКА.** У молоди нерки, как лосося с длительным периодом речного развития, исследовали состояние яичников у рыб разного возраста. У всех 93 исследованных самок в гонадах присутствовали многочисленные гонии и ооциты периода ранней профазы мейоза, при этом наиболее многочисленными, как и ожидалось, они были у рыб в возрасте



**Рис. 3.4.** Состояние яичников у молоди нерки, пойманной в возрасте 0+ (А) и 1+ (Б, В) в озере Сопочное и в возрасте 2+ (Г, Д, Е) в озере Курильское. Можно видеть синхронное развитие превителлогенных ооцитов (А, Б, Г), а также клетки этого периода разного размера (Б, Д, Е). Пояснение в тексте. Шкала Г = 100 мкм, остальные = 50 мкм.

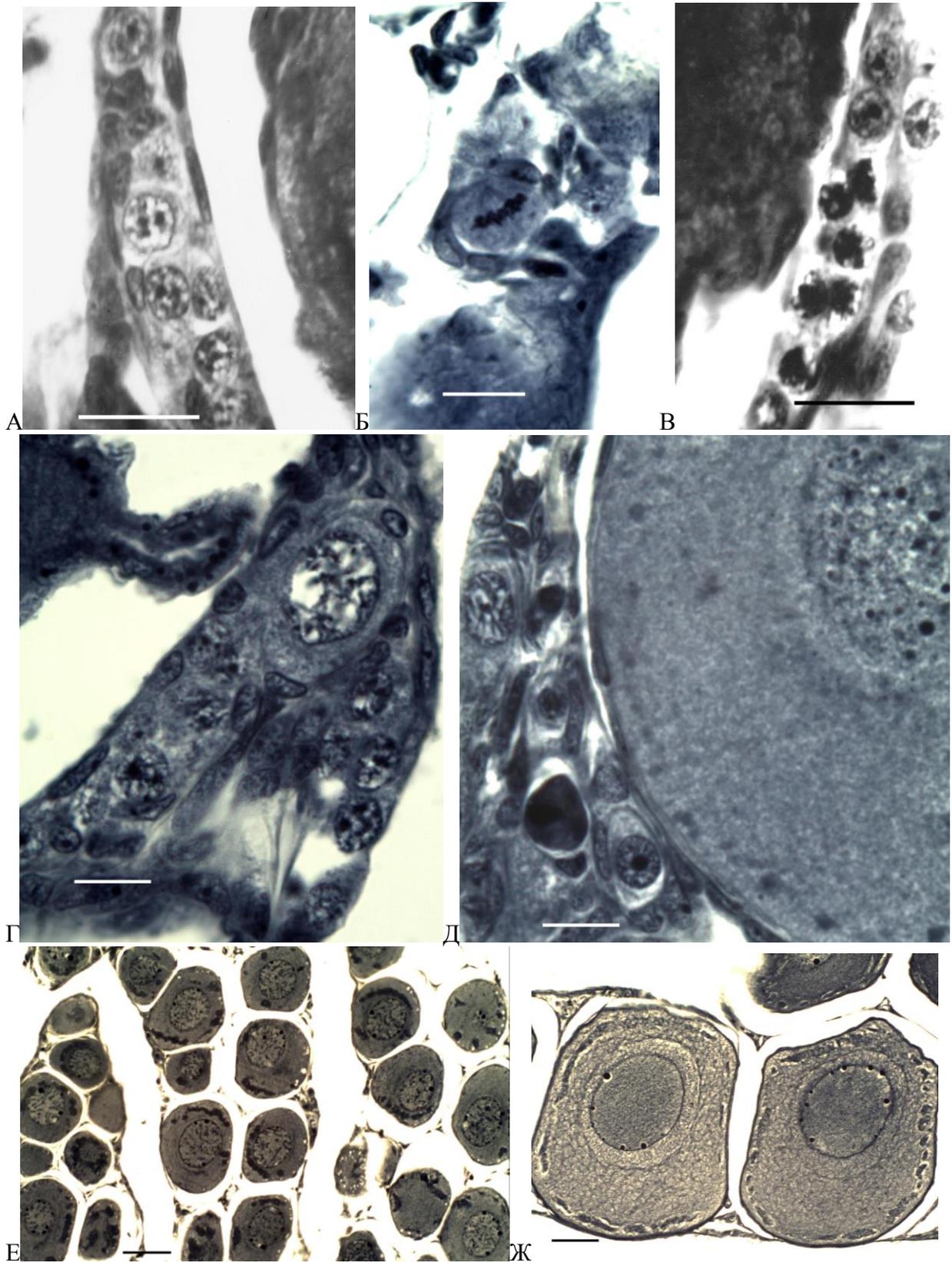
0+. Вместе с тем, ни у одной из 15 самок этого возраста, выловленных в озере Сопочное, не выявили пополнения генерации ооцитов периода превителлогенеза за счет клеток резервного фонда. Гонии делились митотически, вступали в мейоз, достигали периода превителлогенеза и подвергались резорбции. Об этом свидетельствовали и многочисленные пикноморфные ядра на месте резорбции клеток, и тот факт, что в гонадах отсутствовали превителлогенные ооциты начального периода роста диаметром 20-40 мкм (рис. 3.4А).

У молоди в возрасте 1+ были выявлены два различных состояния фонда ооцитов периода превителлогенеза. У одних рыб все ооциты были сходного размера, различаясь не более чем в 1,5-2 раза (рис. 3.4Б). У других они были представлены двумя генерациями около 40-50 и 130-150 мкм (рис. 3.4В). В гонадах присутствовали ооциты и самого начала периода превителлогенеза диаметром около 20 мкм. Однако два обстоятельства позволяют сделать вывод, что у молоди нерки в возрасте 1+ пополнения фонда превителлогенных ооцитов не происходило. Во-первых, в гонадах отсутствовали ооциты диаметром 20-40 мкм. Во-вторых, общее число ооцитов периода превителлогенеза в среднем на один срез у рыб в возрасте 0+ и 1+ оказалось практически одинаковым – 15,6 и 15,9 (табл. 3.2), хотя при подсчете учитывали все клетки, в том числе и самого начала превителлогенеза, которые, по нашему мнению, будут подвергнуты резорбции. Подобную ситуацию мы выявили, обследуя молодь нерки крупнейшей азиатской популяции в оз. Курильском в возрасте 2+ незадолго до начала миграции в море. У всех самок в гонадах присутствовала генерация ооцитов периода превителлогенеза; диаметр клеток, составляющих эту генерацию, различался в 1,5-2 раза. Эту картину наглядно можно представить, просматривая срезы гонад при малом увеличении (рис. 3.4Г). Вместе с тем, количественный анализ яичников позволил выявить у каждой особи гонии, мейоциты и ооциты самого начала периода превителлогенеза (рис. 3.4Д). Однако даже анализ не менее 100 серийных срезов яичников не позволил обнаружить у рыб ооциты диаметром от 40 до 70 мкм, т.е. клетки промежуточного размера между ооцитами мелкой и средней размерных групп. Единичные клетки такого диаметра (рис. 3.4Е) были отмечены у 6 из 36 исследованных самок. Крайняя редкость их встречаемости не позволяет заключить, что у самок нерки в возрасте 2+ между ооцитами начала превителлогенного роста и ооцитами старшей генерации есть генерация клеток переходного состояния.

**КИЖУЧ.** Исследование кижуча, зафиксированного в сходные сроки на относительно "холодноводном" Буюкловском ЛРЗ и "тепловодном" Охотском ЛРЗ подтверждают роль условий выращивания для формирования генерации ооцитов периода

превителлогенеза. В условиях Буюкловского завода у молоди в возрасте 0+ площадь срезов, число, доля и диаметр ооцитов периода превителлогенеза были значительно меньше, чем у молоди, выросшей в более комфортных условиях (табл. 3.2). В возрасте 1+ у молоди на Охотском ЛРЗ при сходных размерах гонады были в два раза крупнее и значительно больше диаметр ооцитов, однако на обоих заводах у самок уже была сформирована старшая генерация ооцитов, а в яичниках присутствовала сходное соотношение оогониев и мейоцитов (табл. 3.2). Именно у кижуча, по сравнению с рассмотренными ранее видами, число этих клеток наиболее велико, что позволило внимательно исследовать их динамику. Так, в гонадах всех рыб можно было видеть многочисленные гонии (рис. 3.5А), их митозы (рис. 3.5Б), мейоциты всех состояний (рис. 3.5В), единичные ооциты самого начала периода превителлогенеза диаметром до 30-40 мкм (рис. 3.5Г). Отметим также пикноморфные ядра, свидетельствующие о резорбции половых клеток сравнительно малого размера (рис. 3.5Д). При этом ни у одной особи не было ооцитов диаметром, например, от 50 до 150 мкм на Буюкловском и от 50 до 170 мкм на Охотском ЛРЗ, т.е. превителлогенных ооцитов среднего размера. Можно заключить, что гонии продолжали митотически размножаться, вступали в период ранней профазы мейоза, затем, по крайней мере, часть ооцитов вступала в период превителлогенеза и в дальнейшем подвергалась резорбции. При этом продолжался рост ооцитов старшей генерации, ооцитов периода превителлогенеза. Изменение их размера у самок с возраста 0+ до возраста 1+ можно видеть на микрофотографиях, выполненных при одном увеличении (рис. 3.5Е, Ж).

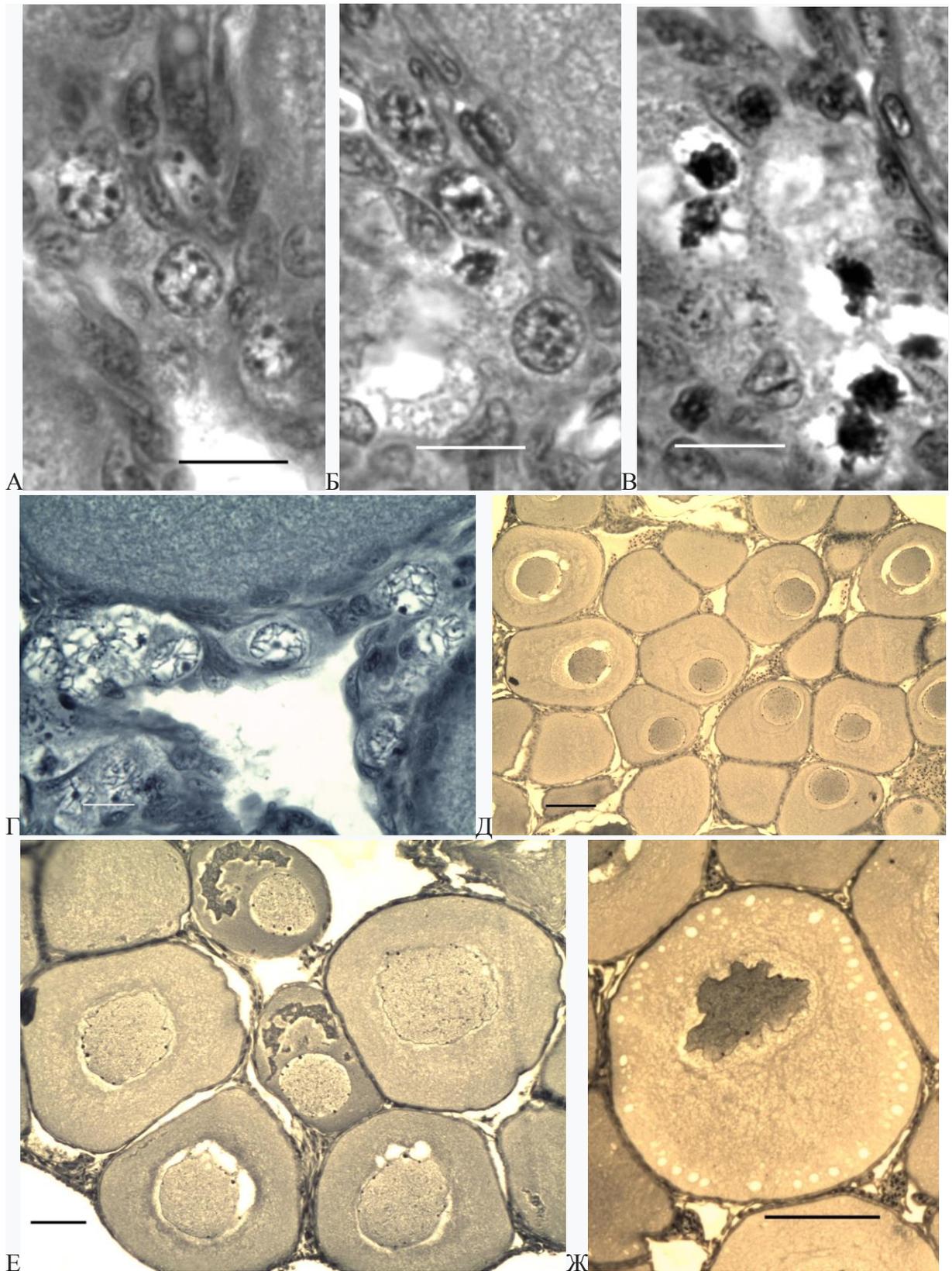
**СИМА.** О развитии яичников у молоди симы следует сказать особо. Ранее было показано, что уже у сеголеток массой около 1 г доля гониев и мейоцитов на срез составляла 1,6%, а у двухлеток массой в среднем 13,5 г эти клетки практически отсутствовали (Зеленников, 2003б). Однако в дальнейшем были обнаружены двухлетки симы, в яичниках которых присутствовало значительное число половых клеток на ранних этапах развития, главным образом гониев. Этот факт потребовал пересмотреть сделанное ранее заключение и продолжить исследование.



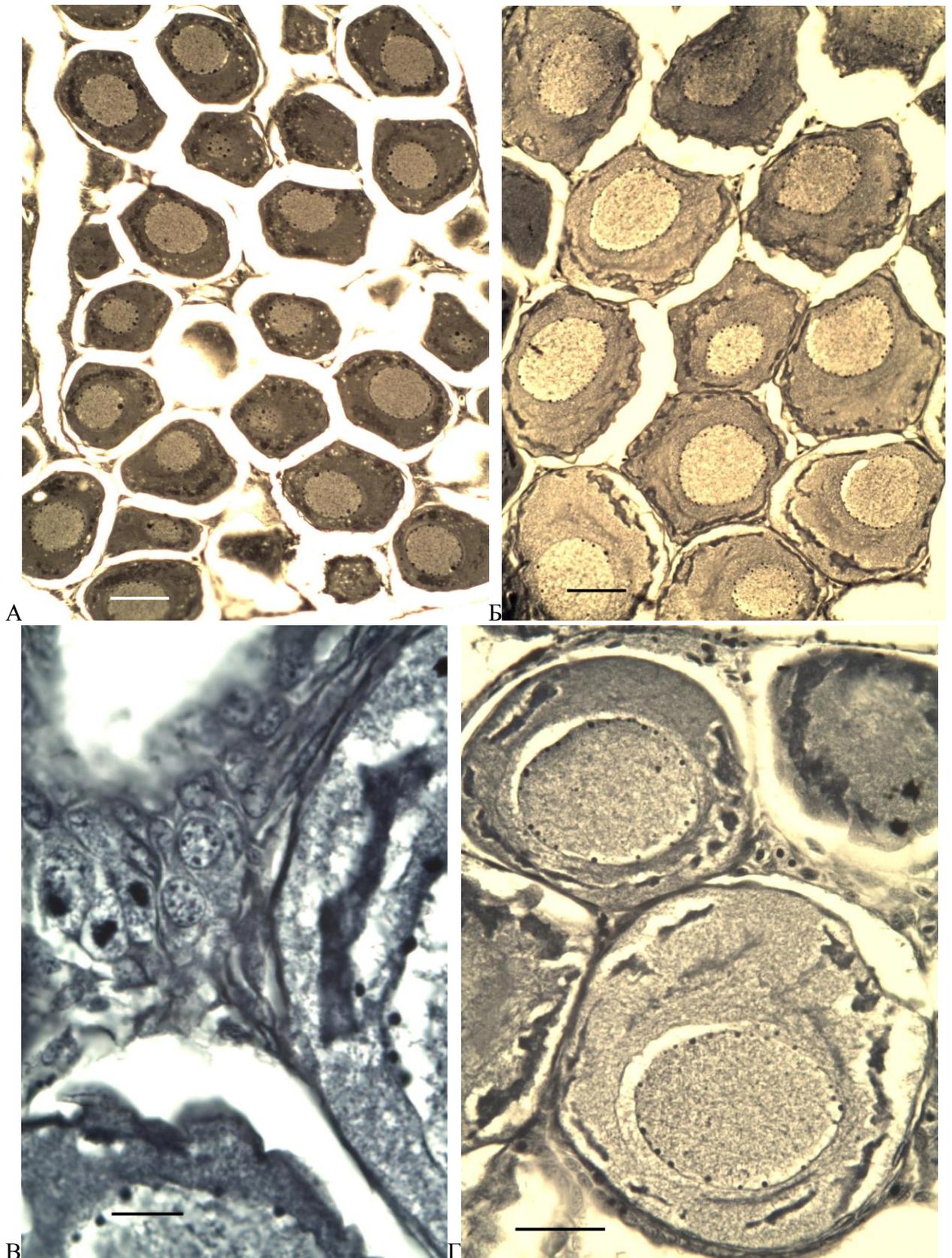
**Рис. 3.5.** Состояние яичников у молоди кижуча на Охотском ЛРЗ в возрасте 0+ (Е) и 1+ (остальные). Можно видеть гонии (А), их митозы (Б), ооциты в состоянии ранней профазы мейоза (В), начала периода превителлогенеза (Г) и их резорбцию (Д), а также характерное состояние ооцитов периода превителлогенеза (Е, Ж), представленное при одном увеличении. Шкала А-Д = 20 мкм, Е, Ж = 50 мкм.

Было установлено, что у молоди симы в любом возрасте также присутствовали гонии (рис. 3.6А, Б), мейоциты (рис. 3.6В) и ооциты начала периода превителлогенеза (рис. 3.6Г). При этом фонд превителлогенных ооцитов в возрасте, как 0+, так и 1+ составляли клетки сходного размера и состояния (рис. 3.6Д). У некоторых рыб различия между ооцитами могли быть несколько более существенными (рис. 3.6Г). Однако даже такие картины внешне различных ооцитов не позволяют говорить о возможном пополнении фонда превителлогенных ооцитов у сеголеток или двухлеток. Ни у одной из исследованных самок в возрасте 1+ не удалось обнаружить генерацию превителлогенных ооцитов диаметром от 30 до 70 мкм, а число ооцитов в среднем на один срез яичников у рыб разного возраста было сходным (табл. 3.2).

**ЧАВЫЧА.** У самок чавычи массой 0,5 г, пойманных недалеко от устья реки Большая, фонд половых клеток был представлен только гониями и мейоцитами (Зеленников и др., 2007б), что, вероятно, естественно для рыб, достигающих половой зрелости в течение наиболее длительного для тихоокеанских лососей периода (Смирнов, 1975). О соотношении ооцитов старшей генерации и половых клеток более ранних этапов развития можно было судить, исследуя сеголеток на Малкинском ЛРЗ. На этом заводе, единственном в Российской Федерации, на котором воспроизводят молодь чавычи, используются в большом количестве геотермальные воды, благодаря которым разработана биотехника, позволяющая добиваться смолтификации мальков в первый год выращивания (Попова и др., 2005). Акселерация заводских сеголеток, которая у лососевых рыб напрямую зависит от температуры содержания (Басов, 1986), позволяет нам видеть значение возраста и роста для формирования фонда ооцитов периода превителлогенеза у моноциклических лососей. Несмотря на одинаковую массу тела у заводских рыб в возрасте 0+, зафиксированных 9 июня (8,91 г), и природных мальков в возрасте 1+, зафиксированных днем ранее, 8 июня (8,18 г), состояние гонад у рыб двух групп принципиально различалось (рис. 3.7А, Б). У молоди от естественного нереста были в три раза крупнее гонады, более многочисленные ( $p < 0,01$ ) и крупные ооциты ( $p < 0,01$ ). Впрочем, этот факт лишь подтверждает хорошо известную закономерность о том, что при одинаковых размерах у более старших рыб гонады всегда более развиты (Смирнов, 1982; 1983; Смирнов, Заболкин, 1982). Вместе с тем, у тех и других рыб в гонадах присутствовали гонии и мейоциты (рис. 3.7В), а их доля у самок двухлетнего возраста была не меньше, чем у самок первого года жизни (табл. 3.2). В ооцитах природной молоди можно было видеть столь характерные для них элементы циркумнуклеарного комплекса



**Рис. 3.6.** Состояние яичников у молоди симы в возрасте 1+, пойманной в реке Быстрая. Можно видеть гонии (А, Б), ооциты в стадиях зиготены (В) и пахитены (Г), а также характерное состояние ооцитов периода превителлогенеза при синхронном (Д) и асинхронном развитии (Е), ооциты начала фазы вакуолизации у наиболее крупных особей (Ж). Пояснение в тексте. Шкала А-Г = 20 мкм, Е = 50 мкм, Д, Ж = 100 мкм.



**Рис. 3.7.** Характерное состояние яичников у молоди чавычи в возрасте 0+ перед выпуском с Малкинского ЛРЗ (А) и 1+, пойманной в реке Большая (Б, В, Г). Можно видеть характерные элементы циркумнуклеарного комплекса (Б, Г), а также гонии и мейоциты (В). Пояснение в тексте. Шкала В = 20 мкм, остальные = 50 мкм.

(рис. 3.7Г), многократно описанные именно для молоди тихоокеанских лососей из рек Камчатки (Городовская, 2002; 2008).

Обобщая полученные данные, мы можем заключить, что по состоянию гонад и динамике формирования потенциальной плодовитости из общего ряда видов несколько выделяется горбуша. Во-первых, у самок этого вида меньше, чем у других, ооцитов периода превителлогенеза, что соответствует ее меньшей плодовитости. Во-вторых, клетки единственной генерации превителлогенных ооцитов развиваются наиболее синхронно, а митотическая активность гониев быстро «затухает». И наконец, в третьих, у горбуши самая высокая скорость роста ооцитов, что соответствует ее более быстрому половому созреванию. Достаточно отметить, что у молоди горбуши при выпуске с Курильского завода и у молоди кеты, выловленной в Курильском заливе, диаметр ооцитов был практически одинаковым, несмотря на то, что молодь кеты была в 10 раз крупнее.

У молоди остальных пяти видов рыб, причем всех возрастных групп, состояние гонад было практически одинаковым. В их яичниках присутствовали гонии, ооциты периода ранней профазы мейоза и периода превителлогенеза. При этом только у некоторых самок кеты, выловленных в озере Сопочное, мы выявили превителлогенные ооциты на разных этапах развития. Ясно, что уже у кеты и других видов ооциты переходят к превителлогенному росту менее синхронно, чем у горбуши, и в какой-то момент можно наблюдать эти клетки разного размера. Однако после того как число клеток достигает определенной численности, например, у кеты от 7-8 до 15-17 клеток в среднем на срез яичника, в гонадах проявляются два процесса, внешне не связанные друг с другом.

С одной стороны, гонии, присутствующие в гонадах в большем или меньшем количестве, но у всех исследованных рыб, продолжают размножаться митотически, вступают в мейоз и в состоянии мейоцитов и ооцитов самого начала периода превителлогенеза подвергаются резорбции. При этом с возрастом в пресной воде мы не наблюдаем затухания митотической активности. Если у нерки в возрасте 0, 1 и 2+ доля ооцитов периода превителлогенеза закономерно увеличивается и, соответственно, доля гониев и мейоцитов уменьшается, то у симы, кижуча и чавычи мы этой закономерности не видим.

Второй процесс – это рост и развитие ооцитов периода превителлогенеза старшей и, фактически, единственной функциональной генерации половых клеток. Пополнение этой генерации за счет фонда мейоцитов заканчивается уже в возрасте 0+. Ни у одной из исследованных особей всех видов мы не встретили в заметном количестве

превителлогенные ооциты начальных этапов развития крупнее 25-35 мкм. У большинства рыб такие клетки в гонадах полностью отсутствовали. К тому же число превителлогенных ооцитов в среднем на срез у рыб в возрасте 1+ было либо таким же, либо меньше, чем у особей в возрасте 0+.

Отдельно необходимо рассмотреть факт, установленный нами при исследовании молоди нерки, а именно выявление фактически двух генераций ооцитов периода превителлогенеза в яичниках отдельных особей. Этот факт интересно рассмотреть в сравнении с состоянием гонад у других видов. Поскольку все особи горбуши одного поколения достигают полового созревания одновременно, то синхронное развитие ооцитов в их яичниках выглядит естественным. В отличие от горбуши, одновозрастные самки кеты достигают полового созревания в различном возрасте (Смирнов, 1975; Иванков и др., 1997; Лысенко, 2003; Панасенко и др., 2003), однако ооциты у рыб этого вида в период выхода в морскую среду значительно меньше, чем у самок всех остальных видов тихоокеанских лососевых. При диаметре ооцитов в среднем до 100 мкм значительная разнокачественность в состоянии репродуктивного фонда не выявляется. В отличие от кеты, самки кижуча в Сахалинской области (Жульков, 1978) проводят в море один год, чему предшествует синхронное развитие ооцитов у особей в возрасте 1 и 2+. Самки симы в популяции южного Сахалина проводят в море преимущественно один, реже два года (Антонов, 2007; Никифоров, Игнатъев, 2008). Нельзя исключать, что асинхронность, выявленная нами в состоянии фонда ооцитов у отдельных особей симы, является отражением их более продолжительного полового созревания. Самое же значительное возрастное разнообразие среди тихоокеанских лососей характерно для нерки, когда на нерестилище одновременно могут присутствовать производители 15 и более возрастных групп по сумме речного и морского периодов жизни (Бугаев, 2011). Представляется вероятным, что наличие значительного числа ооцитов меньшего размера в яичниках отдельных самок отражает более медленный темп формирования у них фонда ооцитов в связи с более продолжительным периодом полового созревания.

По итогам проведенного исследования мы, выявив очевидное сходство в формировании фонда ооцитов у молоди тихоокеанских лососей, обнаружили и некоторые различия. И главное из них, предположительно, зависимое от продолжительности периода полового созревания, связано с разным темпом роста ооцитов в онтогенезе рыб разных видов. Поэтому следующим этапом работы было ультраструктурное исследование стероидсекреторных клеток в гонадах у мальков разных видов. Предполагая, что все

процессы раннего гаметогенеза в той или иной степени регулируются стероидными гормонами, мы, тем не менее, не встречали публикаций с их влиянием на темп роста ооцитов начала периода превителлогенеза. Хорошо известна лишь роль половых стероидных гормонов в регуляции дифференцировки пола (Van den Hurk et al., 1982; Федоров и др., 1990; Devlin, Nagahama, 2002), которая, впрочем, рядом авторов также ставится под сомнение (Kawahara, Iamatsu, 1999).

Для исследования мы взяли гонады сеголеток горбуши, кеты и симы, выращенных в течение полного рыбоводного цикла, соответственно на Соколовском, Ясноморском и Анивском ЛРЗ и зафиксированных непосредственно перед их выпуском в естественную среду. Исследовали также проходных и карликовых самцов симы в возрасте 1+, которых единственный раз вырастили до этого возраста на Рейдовом ЛРЗ (Погодин и др., 2019).

Нами (Зеленников, 2003б) высказывалось мнение, что у молоди этих трех видов быстрее, чем у молоди нерки, кижуча и чавычи блокируется процесс размножения гониев. Однако в дальнейшем были исследованы многочисленные особи симы в возрасте 1+ и 2+, у которых размножение гониев активно продолжалось, что заставило отказаться от ранее сделанного ошибочного вывода.

Молодь горбуши, зафиксированная для исследования, имела массу  $0,22 \pm 0,02$  г, площадь яичников на срезах –  $38,1 \pm 3,3 \text{ мм}^2 \times 10^{-3}$ , число ооцитов периода превителлогенеза в среднем на срез –  $8,7 \pm 0,5$ , их доля – 97,9%, и диаметр –  $67,7 \pm 1,7$  мкм. То есть в целом она была такой же, как молодь горбуши, исследованная на Анивском или Рейдовом ЛРЗ (табл. 3.2). Эти же показатели у молоди кеты составили – масса  $1,39 \pm 0,12$  г; площадь срезов гонад –  $52,3 \pm 6,0 \text{ мм}^2 \times 10^{-3}$ , число превителлогенных ооцитов, их доля и диаметр – соответственно  $13,3 \pm 0,6$ ; 65,6% и  $56,1 \pm 3,2$  мкм. Молодь симы в возрасте 0+ взяли из той же партии на Анивском ЛРЗ, данные по которым – соответственно  $16,2 \pm 1,3$ ; 98,4 и  $90,3 \pm 1,7$  представлены в таблице (табл. 3.2).

У самцов горбуши и кеты стероидсекреторные клетки присутствовали только в эпителии половых желез. Это были относительно некрупные клетки – в среднем соответственно 5,4 и 5,3 мкм, которые поодиночке или небольшими группами (по 2-3) располагались преимущественно вблизи крупного кровеносного сосуда и в основании мезорхия. В их цитоплазме можно было видеть единичные светлые митохондрии с трубчато-везикулярными кристами и умеренно развитую агранулярную сеть (табл. 3.3; рис. 3.8А). В отличие от этого, у самцов симы секреторные клетки располагались не только в эпителии, но и в строме семенников, причем большее их число находилось именно среди стромальных клеток. По сравнению с клетками у горбуши и кеты, у симы

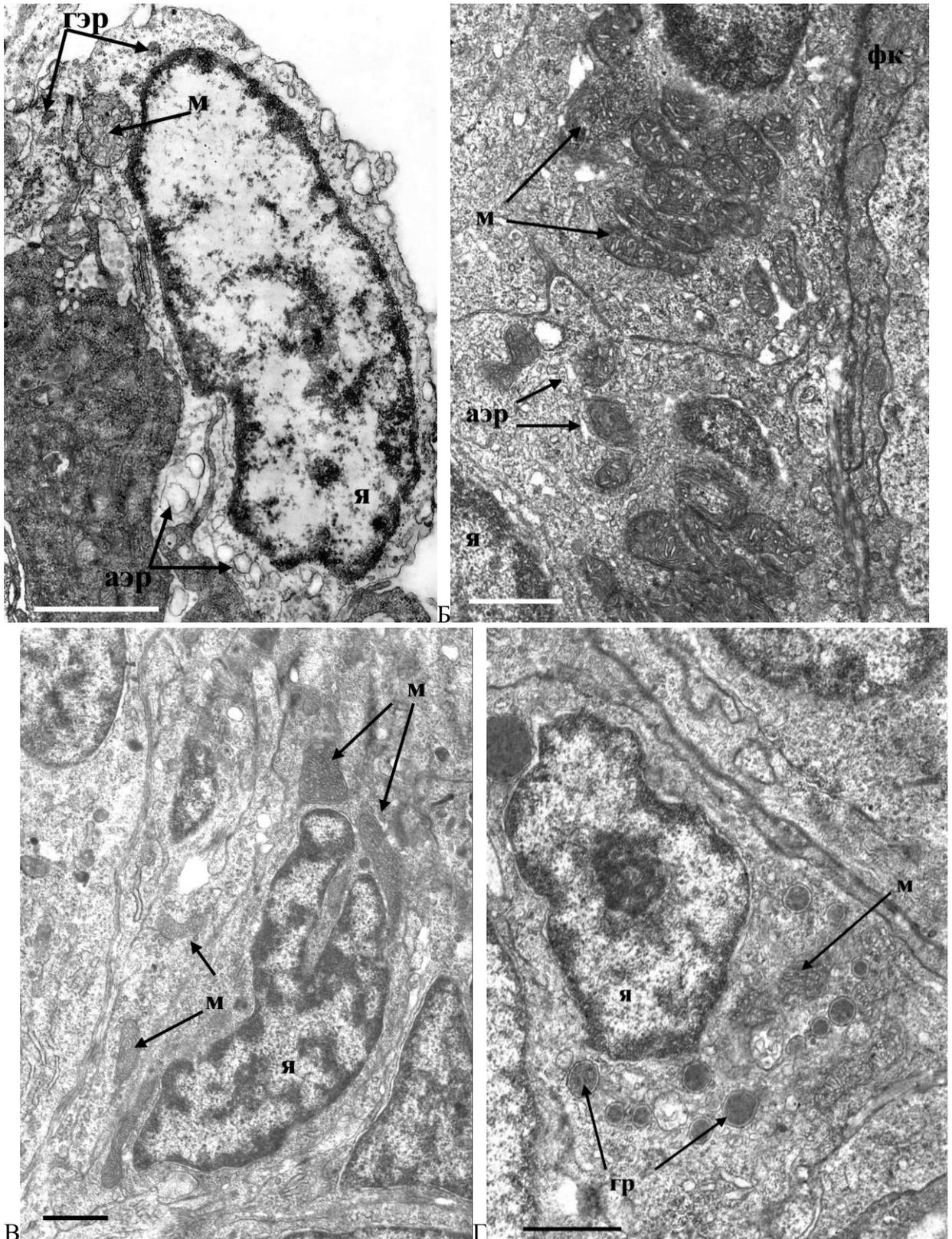
они были значительно более крупными (в среднем 10,3 мкм) и более функционально активными. Об этом можно судить по размерам многочисленных митохондрий и хорошо развитой агранулярной эндоплазматической сети (рис. 3.8Б). У проходных и карликовых самцов сима в возрасте 1+ секреторные клетки также были выявлены только в строме семенников (рис. 3.8В, Г). По количественным характеристикам эти клетки мало различались у рыб с разной стратегией размножения (табл. 3.3).

У самок разных видов состояние стероидсекреторных клеток отличалось значительно большим разнообразием, чем у самцов. У горбуши секреторные клетки можно было видеть поодиночке или небольшими группами (по 2-3) преимущественно среди клеток теки, реже в строме яичника и наиболее редко в составе гранулезы фолликулов. Клетки в составе теки и гранулезы имели сходную организацию.

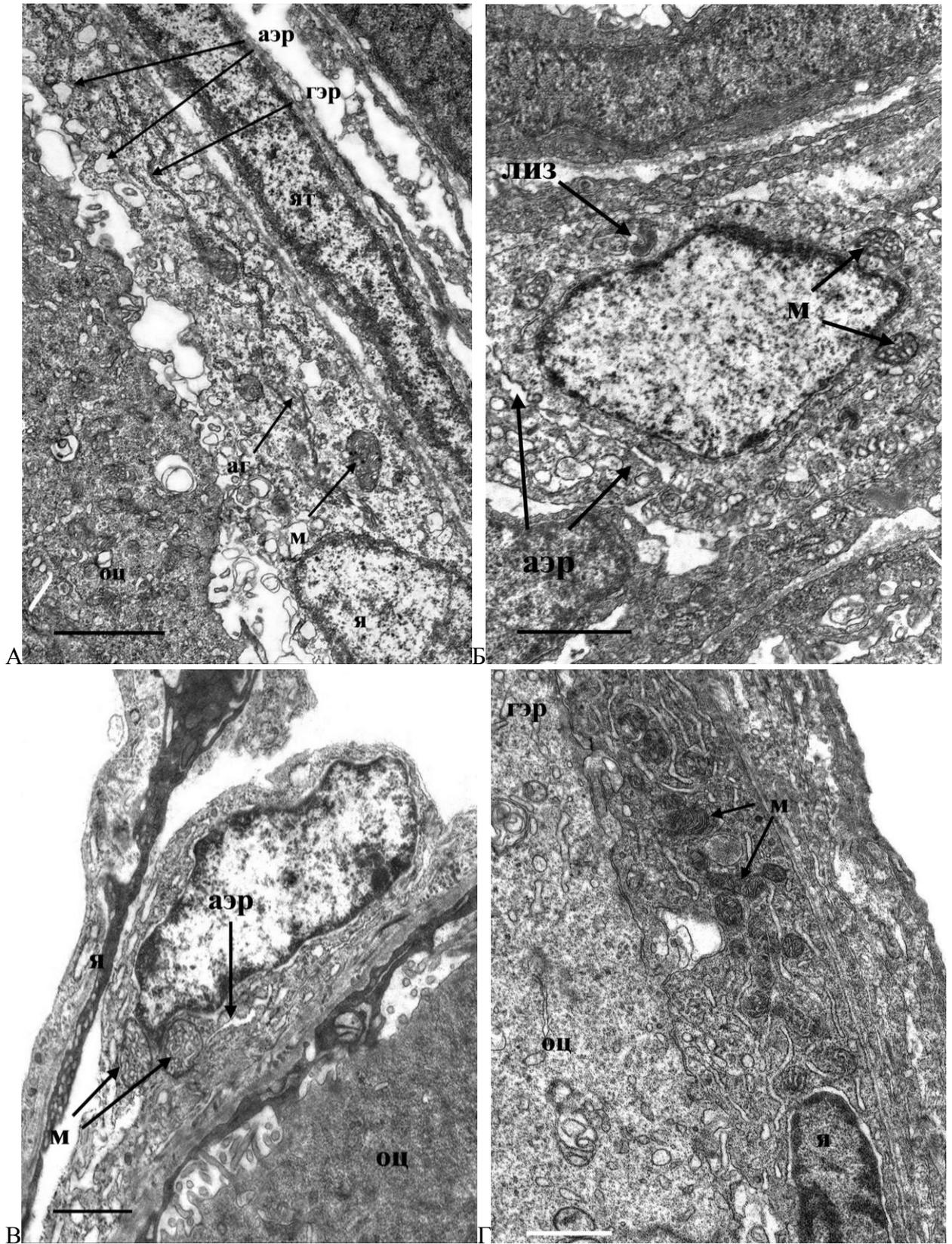
Таблица 3.3.

Характеристика стероидсекреторных клеток (СК) в гонадах у мальков лососей, выращенных в течение полного рыбоводного цикла на рыбоводных заводах в Сахалинской области (в скобках объемная плотность, %).

Вид	Локализация СК	Размер, мкм			
		СК	ядра СК	митохондрий	Канальцев АЭР
<b>САМЦЫ</b>					
Горбуша	эпителий гонады	<b>5,4±0,79</b>	<b>3,8±0,50</b>	<b>0,70±0,040</b> (12,9±1,27)	<b>0,16±0,021</b> (13,6±1,27)
Кета	эпителий гонады	<b>5,3±0,84</b>	<b>3,9±0,52</b>	<b>0,65±0,059</b> (26,2±1,38)	<b>0,15±0,017</b> (11,2±0,63)
Сима 0+	строма	<b>10,3±1,14</b>	<b>4,9±0,54</b>	<b>0,87±0,072</b> (31,5±1,21)	<b>0,28±0,023</b> (13,4±1,13)
Сима 1+ проходные	строма	<b>8,0±0,75</b>	<b>4,8±0,88</b>	<b>0,59±0,054</b> (21,4±0,76)	<b>0,26±0,042</b> (10,6±0,49)
Сима 1+ карликовые	строма	<b>6,8±1,0</b>	<b>4,6±0,98</b>	<b>0,51±0,033</b> (13,7±0,94)	<b>0,13±0,018</b> (15,1±0,89)
<b>САМКИ</b>					
Горбуша	тека	<b>10,9±1,46 x</b> <b>3,8±0,56</b>	<b>6,3±0,87 x</b> <b>2,2±0,42</b>	<b>0,60±0,031</b> (17,1±1,04)	<b>0,25±0,032</b> (20,9±0,91)
	гранулеза	<b>11,5±1,07 x</b> <b>3,7±0,61</b>	<b>6,4±0,78 x</b> <b>2,1±0,34</b>	<b>0,70±0,059</b> (13,2±1,01)	<b>0,28±0,033</b> (14,5±0,53)
	строма	<b>4,9±1,10</b>	<b>2,9±0,45</b>	<b>0,36±0,030</b> (11,0±0,75)	<b>0,16±0,016</b> (25,7±1,30)
Кета	гранулеза	<b>15,6±1,34 x</b> <b>2,4±0,37</b>	<b>5,8±1,41 x</b> <b>1,1±0,07</b>	<b>0,44±0,022</b> (19,7±1,20)	<b>0,08±0,007</b> (10,4±0,67)
Сима	строма	<b>5,4±0,89</b>	<b>3,2±0,75</b>	<b>0,40±0,020</b> (12,4±1,19)	<b>0,09±0,008</b> (10,6±1,39)



**Рис. 3.8.** Стероидсекреторные клетки в семенниках у мальков горбуши (А) и симы в возрасте 0+ (Б) и 1+ у проходного (В) и карликового (Г) самцов. Клетки расположены в эпителии (А) и строме (Б, В, Г) гонад. Обозначения: ФК – фолликулярные клетки, Я – ядро СК, митохондрии (М) с трубчато-везикулярными кристами, каналцы агранулярного (АЭР) и гранулярного (ГЭР) эндоплазматического ретикулума, ГР - гранулы. Шкала = 1 мкм.



**Рис. 3.9.** Стероидсекреторные клетки в яичниках у мальков горбуши (А, Б, В) и кеты (Г) в составе гранулезы (А), стромы (Б) и теки (В, Г). Обозначения: ОЦ – ооцит, Я – ядро СК, митохондрии (М) с трубчато-везикулярными кристами, каналцы агранулярного (АЭР) и гранулярного (ГЭР) эндоплазматического ретикулума, ЛИЗ – лизосомы, АГ – аппарат гольджи. Шкала А = 2 мкм, остальные = 1 мкм.

Отличительной особенностью последних является помимо агранулярной и хорошо развитая гранулярная сеть (рис. 3.9А, В). Локализованные в строме гонад клетки, напротив, были сравнительно некрупными и содержали немногочисленные мелкие митохондрии (рис. 3.9Б).

В яичниках кеты и симы, в отличие от горбуши, ни по одному из трех признаков активные стероидсекреторные клетки выявить не удалось. У кеты слабо дифференцированные клетки (табл. 3.3) обнаруживались в составе гранулезы и теки (рис. 3.9Г), а у симы только в строме яичников (табл. 3.3).

Таким образом, наиболее активные и дифференцированные стероидсекреторные клетки были обнаружены в яичниках у мальков горбуши. При этом максимальное их число присутствовало в теке фолликулов. Как известно, с возрастом стероидсекреторная активность практически полностью смещается в теку, тогда как доля клеток в составе гранулезы и стромы снижается. Ведь у половозрелых рыб именно в теке фолликулов ооцитов присутствуют активные стероидсекреторные клетки (Christensen, Gillim, 1969; Ноар, Nagahama, 1978; Nagahama et al., 1978). Следовательно, у молоди горбуши большинство активных стероидсекреторных клеток было локализовано там же, где и у половозрелых самок незадолго до нереста.

Яичники у самок кеты были менее развиты, чем у самок горбуши, и представляется естественным, что в их гонадах присутствуют менее дифференцированные и активные секреторные клетки. В связи с этим рассуждением данные для самок горбуши и симы в сравнительном плане представляются противоречивыми. Действительно, у самок симы крупнее гонады, крупнее ооциты периода превителлогенеза (в среднем 90,3 против 67,7 мкм) и у них столь же немногочисленные, как и у мальков горбуши, гонии и мейоциты. Однако это противоречие разрешается, если рассмотреть полученные данные в динамике. Так, оплодотворенную икру горбуши исследованной партии заложили на инкубацию 15 сентября, а молодь зафиксировали 6 июня. Икру симы заложили раньше – 30 августа, а саму молодь зафиксировали позже – 5 июля. Таким образом, молодь симы была старше молоди горбуши. Данные, полученные нами ранее, при исследовании другой проблемы (Зеленников, Федоров, 2005), позволяют уверенно прогнозировать, как изменилось бы состояние гонад у самок горбуши, если бы их фиксировали одновременно с гонадами симы. Так, у молоди горбуши, которую дополнительно в течение месяца после выпуска основной партии подращивали на Анивском ЛРЗ, диаметр ооцитов к 30 июня увеличился до 142,8 мкм. Данные по этой опытной партии приведены в таблице 3.2.

Очевидно, что если ооциты у самок симы непосредственно перед фиксацией и были крупнее, чем у горбуши, то темп их роста, напротив, был существенно ниже.

При анализе семенников у заводских рыб мы обнаружили прямо противоположное состояние секреторных клеток. В отличие от яичников, наиболее крупные и функционально активные клетки были обнаружены именно у молоди симы, а значительно менее активные – у горбуши и кеты. Причем у последних двух видов секреторные клетки присутствовали исключительно в оболочке ооцитов, а у симы преимущественно в строме. Именно в строме семенников стероидсекреторные клетки – так называемые клетки Лейдига – присутствуют у половозрелых рыб, в том числе и у горбуши (Nagahama et al., 1978; Арбузова, 1995). В строме, по мере развития семенников, эти клетки оказываются и у молоди горбуши, о чем мы говорили в главе 2. Впрочем, имеющиеся данные не позволяют объяснить, почему у заводских самцов симы стероидсекреторные клетки более активны, чем у молоди горбуши, в том числе и выращенной в лаборатории. Не исключено, что эта активность может быть связана с реализацией видовой специфики развития семенников у симы, а именно – переходом примерно половины из них в нерестовое состояние в возрасте 1+.

### **3.2.2. О связи числа ооцитов начала периода превителлогенеза и величины абсолютной плодовитости**

Казалось бы, заключению, сформулированному в конце предыдущего раздела, противоречат некоторые факты. Так, у молоди нерки в возрасте 2+ число ооцитов периода превителлогенеза, приходящихся на один срез, значительно больше, чем у рыб в возрасте 1+. Больше ооцитов и у самок чавычи в возрасте 1+ по сравнению с их числом у рыб в возрасте 0+. Однако имеющиеся в литературе сведения позволяют объяснить эти факты с позиции изменения величины абсолютной плодовитости у рыб разных популяций, не связывая их с увеличением потенциальной плодовитости в онтогенезе самок тихоокеанских лососей.

Как мы уже отмечали ранее, абсолютная плодовитость – это едва ли не самый изученный показатель в репродуктивной биологии у промысловых рыб, в том числе и тихоокеанских лососей (Белянина, 1963; Иванков, Андреев, 1969; Жульков, 1978; Veasnam, 1982; Зорбиди, 2012; Зикунова, 2014). Выбирая данные по плодовитости тихоокеанских лососей, мы учли, что она различается у рыб разных популяций (Ковтун, 1984; Иванков, Бисага, 1995; Бугаев, 2011), широко варьирует из года в год и к тому же может направленно изменяться со временем (Каев, Каева, 1986; Хоревин, 1990). Поэтому

мы взяли данные по абсолютной плодовитости только для тех популяций, из которых исследовали молодь. Величина абсолютной плодовитости в среднем составила: у горбуши – 1214 (наши данные), у кеты – 2001 (наши данные), у симы – 2209 (рабочая плодовитость, наши данные), у нерки озера Сопочное – 2500 (отчет ВНИРО, неопубликованные данные) и озера Курильское – 3730 (Бугаев, 2011), кижуча – 5186 (Любаев, 2002), чавычи – 7783 (рабочая плодовитость, наши данные). Если по данным таблицы (табл. 3.2) найти среднее арифметическое числа превителлогенных ооцитов, приходящихся на один срез, то мы получим следующие значения: у горбуши – 10,6; у кеты – 12,8; 2 симы – 17,2; у нерки озера Сопочное – 15,7 и озера Курильское – 28,5; у кижуча – 30,4 и у чавычи – 37,8. Сопоставив полученные значения и значения величины абсолютной плодовитости, мы получаем практически прямую зависимость ( $y = 212.14x - 1119,3$ ;  $r = 0,96$ ). Такая связь между числом ооцитов, приходящихся на один поперечный срез яичников, и величиной абсолютной плодовитости позволяет анализировать изменение этого показателя, но уже в пределах каждого вида. И различия в числе ооцитов, подсчитанных нами, полностью соответствуют тому, что абсолютная плодовитость нерки озера Курильского (Бугаев, 2011) на 33% больше, чем у рыб из озера Сопочного, а снижение величины плодовитости у чавычи на Малкинском ЛРЗ объясняется ускоренным выращиванием молоди на геотермальных водах (Попова, Чебанов, 2004).

### **3.2.3. О продолжительности пополнения фонда ооцитов при становлении моноциклии у рыб**

По совокупности полученных фактов и соображений, высказанных в предыдущих разделах, мы можем заключить, что формирование старшей и, фактически, единственной функциональной генерации половых клеток, состоящей из ооцитов периода превителлогенеза, у самок тихоокеанских лососей завершается в возрасте 0+ при массе около 0,2-0,3 г горбуши и 1-2 г у самок остальных видов. Во всех случаях формирование этой генерации завершается в пресноводный период жизни. Можно предположить, что этот процесс является атавистическим и указывает на изначальную полициклию этих рыб. В любом случае причина, по которой у самок моноциклических лососей длительное время сохраняется размножение гониев, не понятна. Можно было ожидать, что этот процесс – размножение гониев и инициирование новых мейотических циклов – должен постепенно прекращаться. Однако на практике этого не происходит. Казалось бы, у молоди горбуши в ходе ее подращивания на рыбоводных заводах мы выявили постепенное уменьшение доли гониев и мейоцитов. Однако сведения, полученные на молоди лососей с длительным

периодом речного развития, не показывают уменьшения с возрастом митотической активности гониев. Эти клетки размножаются в яичниках всех возрастных групп и у рыб в возрасте 1 и 2+ не менее интенсивно, чем у рыб в возрасте 0+.

Наиболее тщательно мы исследовали динамику митотической активности у молоди симы – вида, который согласно современным представлениям (Осинов, 2004), наиболее близок современным видам полициклических лососевых. Было установлено, что у самок симы в возрасте 0+ число гониев и мейоцитов может существенно варьировать без видимой зависимости от размеров рыб. Так, у молоди симы массой 1 г, зафиксированной перед выпуском на Анивском ЛРЗ, доля гониев и мейоцитов составила 1,6%, а при массе 2,1 г на Рейдовом ЛРЗ – 13,5%. У самок в возрасте 1+ в р.Быстрая (базовая река Анивского ЛРЗ) и на Рейдовом ЛРЗ состояние гонад при одинаковой массе тела в среднем было сходным (у первых было несколько меньше число ооцитов, но больше их диаметр). Однако, и у тех, и у других доля гониев и мейоцитов была не меньше, как мы ожидали до начала работы, а больше, чем у сеголеток – 9,5 и 22,5% соответственно. Исследование многочисленной выборки из р.Быстрой (30 шт. массой от 2,1 до 46,0 г) позволило выявить еще одну закономерность. Так, у рыб массой 2,1-7,6 г (в среднем 5,2 г), 9,9-22,8 г (15,8 г) и 25,2-46,0 г (32,0 г) масса гонад в среднем составила соответственно 13,2; 36,1 и 74,9 мг, а диаметр ооцитов – 202,0; 259,8 и 324,8 мкм. Как можно видеть оба этих показателя с массой рыб закономерно увеличивались. Однако если у первых доля гониев и мейоцитов была относительно невелика – в среднем 5,4%, то у вторых она составила 18,0%, а у третьих – 30,1%. При этом большую часть внутри этой доли составляли гонии. Складывалось впечатление, что у молоди симы с увеличением размеров происходило не уменьшение, а, напротив, усиление митотической активности. Мы не определяли возраст исследованной молоди. Однако согласно данным литературы, полученным для рек южного Сахалина (Никифоров, Игнатьев, 2008), рыбы длиной от 12,3 см были в возрасте 2+. Таким образом, не только с размером, но и с возрастом происходило усиление митотической активности гониев.

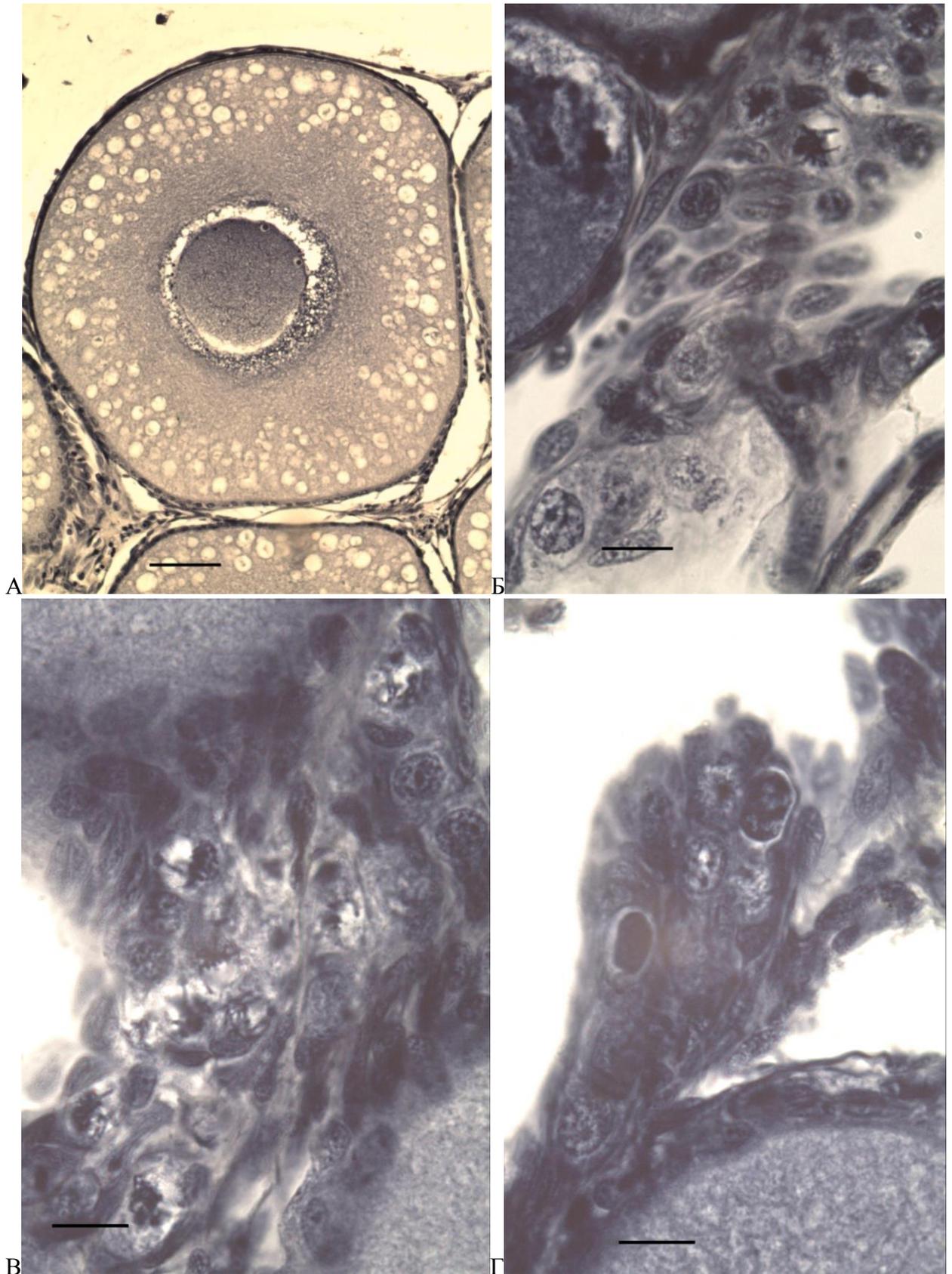
В связи с этими данными необходимо вновь вернуться к фактам, которые мы установили во второй главе, когда рассматривали итоги выращивания молоди горбуши в лабораторных условиях. В ходе многочисленных опытов, проведенных в лаборатории, при исследовании гонад у самок во всех контрольных вариантах, были отмечены как сходные черты с развитием яичников у самок в естественном ареале, так и отличные. Сходным было то, что как у тех, так и у других самок горбуши происходило формирование старшей генерации ооцитов. Развитие составлявших ее ооцитов

происходило либо более, либо чуть менее синхронно, что можно было заметить при переходе половых клеток к качественно новому состоянию, например, периоду вителлогенеза. Однако в отличие от молоди горбуши, исследованной на Сахалине, у рыб при выращивании в лаборатории размножение гониев и их вступление в мейоз не прекратилось. Это было особенно наглядно у рыб массой в среднем более 10 г. У всех самок, выращенных в лабораторных условиях до возраста 160 сут, в яичниках можно было видеть многочисленные гонии (рис. 3.10А), митотическое размножение которых продолжалось, а также ооциты периода ранней профазы мейоза в стадиях зиготены и пахитены (рис. 3.10Б, В). Отмечались и пикноморфные ядра как результат резорбции половых клеток. И это притом, что ооциты старшей генерации вступили в период вителлогенеза и достигли диаметра 400-500 мкм.

Полученные факты, позволяют нам утверждать, что именно пребывание в пресной воде стимулирует митотическое размножение гониев и инициирует развитие новых мейотических циклов.

### **3.2.4. Роль половых стероидных гормонов в становлении моноциклии у рыб**

Почему же с определенного момента у самок моноциклических видов блокируется превителлогенный рост ооцитов более поздних генераций? Можно полагать, что важная роль в регуляции этим процессом принадлежит половым стероидным гормонам. Во-первых, как мы уже отмечали, хорошо известна роль половых стероидных гормонов в регуляции самых разных процессов, в том числе и раннего оогенеза. Во-вторых, ранее (Глава №2) мы уже убедились, что, изменяя их баланс, можно стимулировать развитие ооцитов, которые в ходе естественного развития должны были подвергнуться резорбции. В третьих, у молоди тихоокеанских лососей в период формирования старшей генерации ооцитов в яичниках уже присутствуют активные стероидсекреторные клетки. Например, по нашим данным, у сеголеток кижуча в лабораторных условиях, непосредственно после завершения формирования фонда превителлогенных ооцитов (возраст 99 сут после вылупления, масса рыб в среднем 0,53 г) эти клетки (как и у молоди горбуши после завершения личиночного периода развития) можно было обнаружить практически повсеместно: в составе теки и гранулезы превителлогенных ооцитов, а также в строме гонад. При этом в отличие от горбуши, у самок кижуча секреторные клетки присутствуют не только во внутренней, но и во внешней теке. Их отличительной особенностью во



**Рис. 3.10.** Состояние гонад у самок горбуши в возрасте 160 сут при выращивании в лаборатории. Можно видеть ооциты старшей генерации (А), Гонии и ооциты периода ранней профазы мейоза (Б, В), пикноморфные ядра (Г) на месте резорбции половых клеток. Шкала А = 50 мм, Б-Г = 20 мкм.

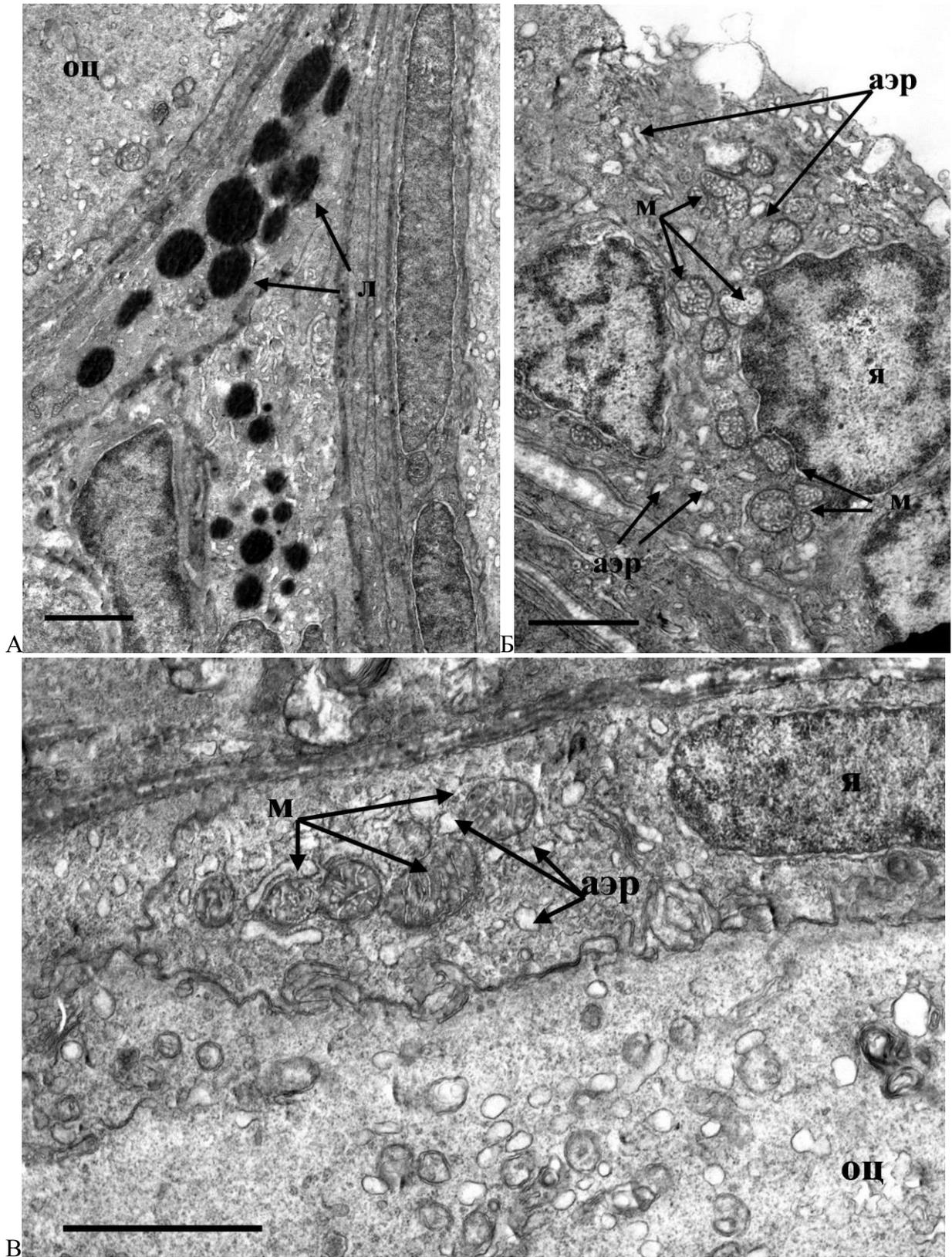
внутренней теке являлось наличие в цитоплазме липидных включений диаметром  $1,04 \pm 0,05$  мкм, количество которых сильно варьировало (рис. 3.11А).

В секреторных клетках, локализованных во внешней теке, липидные включения отсутствовали (рис. 3.11Б). Эти клетки содержали большое количество некрупных округлых митохондрий и хорошо развитую агранулярную эндоплазматическую сеть; на апикальной стороне можно видеть картины экзоцитоза. Таким образом, стероидсекреторные клетки в яичниках у молоди кижуча можно было идентифицировать по всем трем основным признакам. Стероидсекреторные клетки в составе гранулы также были функционально активными, о чем свидетельствовала обширная агранулярная сеть, развитый аппарат Гольджи и множество крупных митохондрий (рис. 3.11В). Многочисленные секреторные клетки в строме яичников (до 7-11 на срез гонады) отличались полигональной формой с округлым или слаболопастным ядром, небольшим числом сравнительно мелких митохондрий, но в то же время хорошо развитой агранулярной сетью

Высказанное предположение о роли половых стероидных гормонов в структуризации фонда ооцитов определило задачи для дальнейшей работы, и в первую очередь – исследовать динамику основных гормонов – тестостерона и эстрадиола-17 $\beta$  в яичниках молоди тихоокеанских лососей в период обособления у них старшей генерации ооцитов. Эту задачу решали на молоди кижуча, которого выращивали в лабораторных условиях при температуре 12-14 $^{\circ}$ С.

При вылуплении масса тела зародышей составила 178,4 мг и до возраста 58 сут, когда личинки перешли на экзогенное питание, достоверно не изменилась – в среднем 205,7 мг при вариации от 140 до 278 мг. Очевидно, что до этого возраста рост тела зародышей компенсировался уменьшением массы желточного мешка. Затем масса молоди начала увеличиваться, достигнув величины в среднем 1,1 г к возрасту 99 и 3,3 г к возрасту 128 сут соответственно. К моменту окончания работы в возрасте 204 сут масса интактных рыб составила  $11,1 \pm 1,0$  г.

В возрасте 58 сут в яичниках всех самок присутствовали гонии, мейоциты преимущественно стадий зиготены и пахитены (рис. 3.12Б). По размерам, семенники (рис. 3.12А) и яичники в этом возрасте практически не различались. Таким образом, в период эндогенного питания у личинок кижуча произошла дифференцировка пола, однако ооциты еще не вступили в период превителлогенеза. Первые превителлогенные ооциты в яичниках появились в возрасте 63 сут (рис. 3.12В), их число постепенно возрастало (рис. 3.12Г) и до возраста 78 сут они заняли практически весь объем гонад (рис. 3.12Д).



**Рис. 3.11.** Стероидсекреторные клетки в составе внутренней (А), внешней (Б) теки и гранулезы (В) фолликула превителлогенного ооцита в яичнике контрольной самки кижуча в возрасте 99 сут. Обозначения: ОЦ – ооцит, Я – ядро СК, митохондрии (М) с трубчато-везикулярными кристами, каналцы агранулярного (АЭР) эндоплазматического ретикулама, Л - липиды. Шкала = 2 мкм.

Вместе с тем, помимо превителлогенных ооцитов старшей генерации, в яичниках всех самок в большом числе можно было видеть гонии, мейоциты и ооциты в самом начале превителлогенеза. Однако мы полагаем, что формирование фонда превителлогенных ооцитов к возрасту 78 сут завершилось и в дальнейшем уже не пополнялось за счет новых мейотических циклов. Об этом свидетельствует то, что именно в возрасте 78 сут число превителлогенных ооцитов на поперечных срезах яичников превысило 30 шт. и в дальнейшем больше не увеличивалось. С этого момента только рост ооцитов определял увеличение объема и массы гонад (рис. 3.12Е).

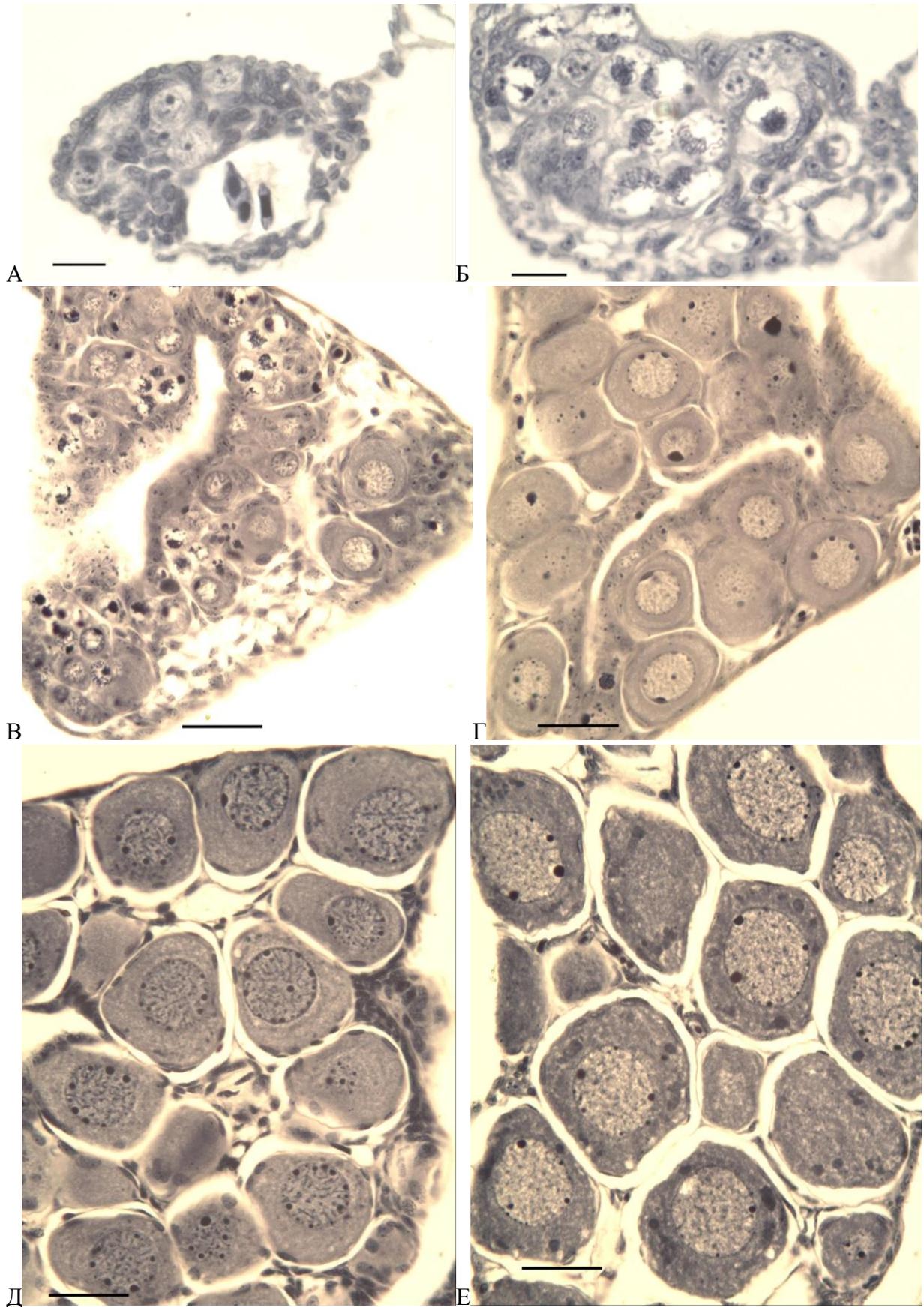
Концентрация тестостерона у молоди кижуча в момент вылупления в среднем составила  $2,10 \pm 0,10$  нг/г массы тела и до возраста 78 сут практически не изменилась –  $1,96 \pm 0,08$  нг/г, достоверно понизившись только к возрасту 99 сут ( $1,79 \pm 0,13$  нг/г).

Концентрация эстрадиола в момент вылупления составила  $801,9 \pm 92,6$  пг/г и до возраста 58 сут также не изменилась –  $831,6 \pm 43,7$  пг/г., но к возрасту 78 сут понизилась в два с лишним раза – до  $395,7 \pm 11,0$  пг/г. Таким образом, концентрация обоих гормонов в гомогенате молоди кижуча заметно понизилась, но не от момента вылупления, а после завершения дифференцировки пола в возрасте 58 сут. При этом концентрация эстрадиола понизилась более существенно, чем концентрация тестостерона.

Как известно, косвенной оценкой интенсивности синтеза эстрадиола является отношение его концентрации к концентрации тестостерона. Такая оценка используется для выявления роли эстрадиола в исследованиях с разными задачами (Johnson, Thomas, 1995; Shang et al., 2006). Можно видеть, что максимальным это соотношение было у рыб в возрасте 58 сут, т.е. непосредственно после завершения дифференцировки пола, когда в яичниках присутствовали только гонии и мейоциты преимущественно в состоянии зиготены.

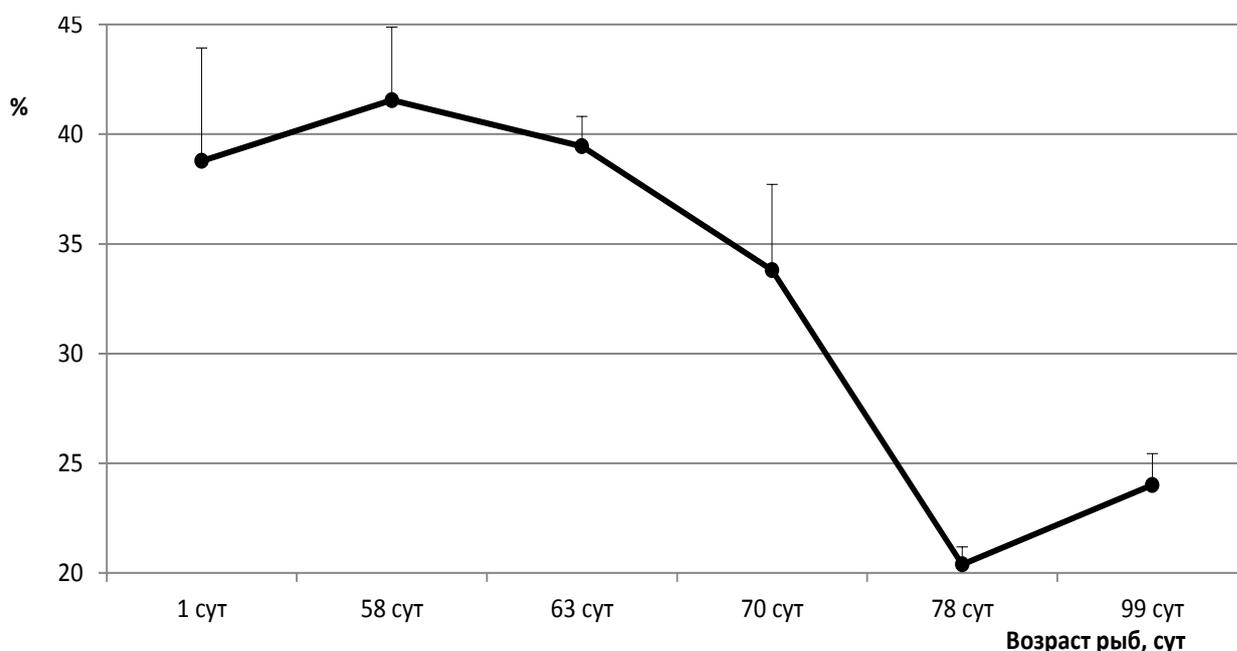
Затем, в период с 63 по 78 сут соотношение эстрадиол-тестостерон многократно понизилось, а к возрасту 99 сут повысилось вновь (рис. 3.13). Таким образом, можно заключить, что полный период формирования и обособления старшей генерации ооцитов проходит на фоне снижения концентрации эстрадиола относительно тестостерона.

Полученные сведения частично повторяют и дополняют данные, имеющиеся в литературе. Ранее уже было показано уменьшение концентрации эстрадиола в гомогенате тела у молоди кижуча (Grant et al., 1990). Однако в цитируемой работе исследовали процесс дифференцировки пола, и наблюдение было прекращено с началом периода



**Рис. 3.12.** Состояние у молоди кижуча: семенников в возрасте 58 (А) сут и яичников в возрасте 58 (Б), 63 (В), 70 (Г), 78 (Д) и 99 (Е) сут, выращенных в лабораторных условиях при температуре 12-14°C. Можно видеть формирование и развитие генерации ооцитов периода превителлогенеза Шкала А, Б = 20 мкм, В-Е = 50 мкм.

превителлогенеза. У нас другая задача. Мы наблюдали за динамикой эстрадиола уже после завершения дифференцировки пола, т.е. более продолжительное время, и отметили не только уменьшение, но и увеличение интенсивности синтеза эстрадиола. Причем это увеличение произошло тогда, когда у самок завершилось формирование старшей генерации ооцитов. Это совпадение, на наш взгляд, не исключает взаимосвязь между снижением синтеза эстрадиола и тем, что старшая генерация ооцитов периода превителлогенеза сразу становится и единственной. Вступление в превителлогенез мейоцитов в последующем блокируется, хотя они и длительное время сохраняются в гонадах.



**Рис. 3.13.** Соотношение концентрации эстрадиола-17 $\beta$  к тестостерону (%) у молоди кижуча в период дифференцировки пола.

### 3.2.5. Экспериментальный анализ влияния половых стероидных гормонов на формирование моноциклии

В свете данных, полученных в предыдущем разделе, кажется вполне логичным, что увеличив концентрацию эстрадиола при определенном состоянии гонад, можно стимулировать переход мейоцитов к периоду превителлогенеза и сформировать вторую генерацию превителлогенных ооцитов. Однако в опытах с горбушей и симой сделать это не удалось.

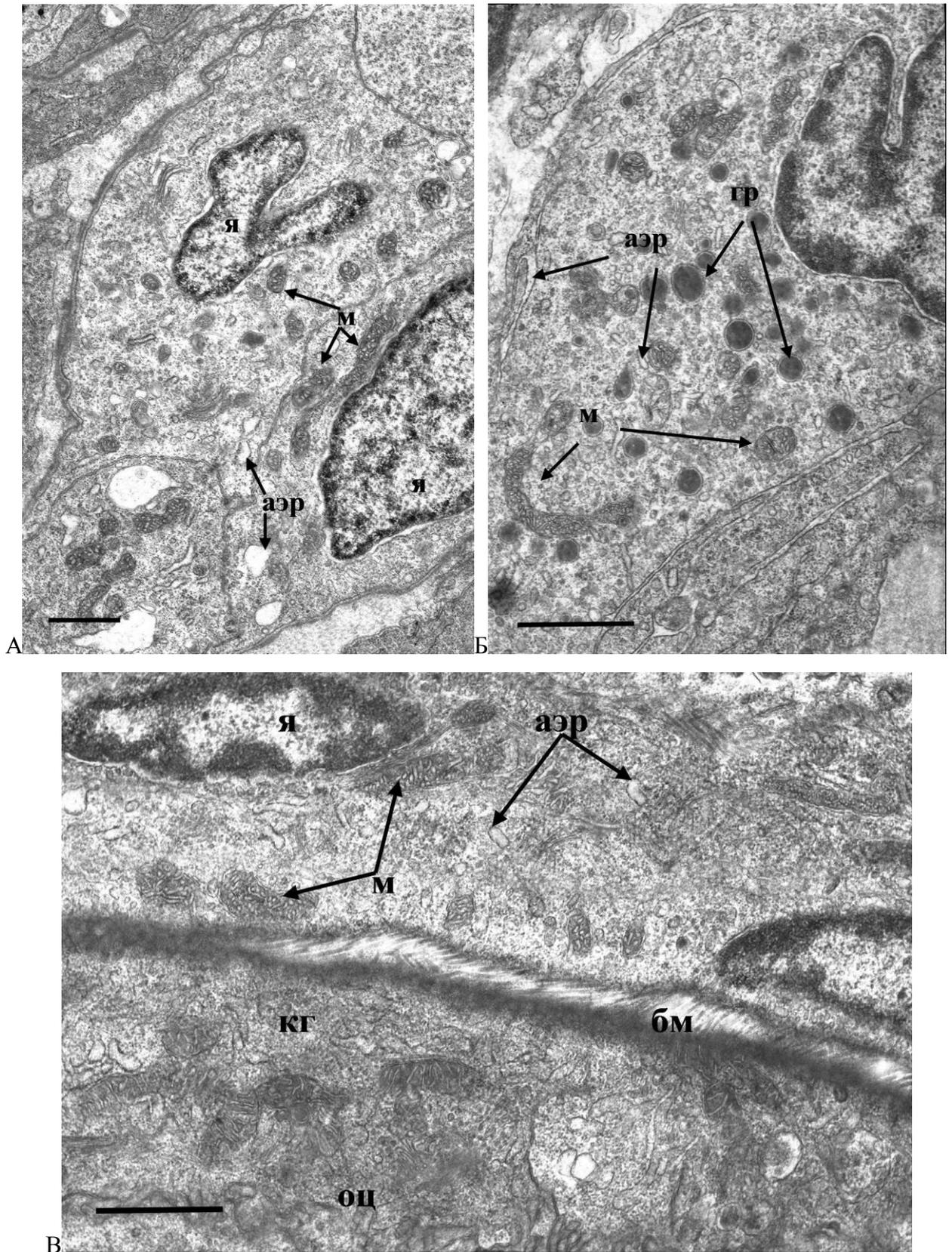
Так, молоди горбуши задавали в корм масляный раствор эстрадиола-дипропионата в концентрации 50 мг/кг корма после завершения естественной инверсии пола в возрасте с 62 до 92 сут (опыт 10). В начале воздействия в яичниках была сформирована генерация ооцитов периода превителлогенеза и присутствовали единичные гонии и мейоциты. В ходе гормонального воздействия число половых клеток ранних этапов развития сокращалось, а после окончания опыта эти клетки в яичниках контрольных и подопытных рыб отсутствовали. При этом число ( $7,0 \pm 0,5$  и  $7,4 \pm 0,5$ ) и диаметр ( $228,2 \pm 9,6$  и  $211,6 \pm 4,9$ ) превителлогенных ооцитов у тех и других не различалось.

Перед опытами с симой сеголеток до массы 1,7-3,6 г и двухлеток до массы 4,3-49,6 г выращивали на Рейдовом ЛРЗ. В экспериментах (опыты 15 и 16) тех и других выдерживали в течение 28 сут, добавляя в корм масляный раствор эстрадиола-дипропионата в дозе 100 мкг/кг корма и задавая его из расчета 3% от массы тела в сут для сеголеток и 2% – для двухлеток.

Единственным заметным отклонением от контроля стало не увеличение, а напротив, уменьшение числа половых клеток разных этапов развития: гониев на 64,6%, мейоцитов на 72,3%, ооцитов периода превителлогенеза на 19,2% ( $14,3 \pm 1,2$  против  $17,7 \pm 1,0$ ), а также к снижению темпа роста превителлогенных ооцитов ( $207,8 \pm 5,1$  против  $225,7 \pm 5,5$  мкм). Влияние эстрадиола на развитие семенников не выявили.

У самок симы в контроле в возрасте 0+ стероидсекреторные клетки присутствовали только в строме яичников. Они были немногочисленными и по форме, размерам, ультраструктурной организации (рис. 3.14А) и количественным показателям (табл. 3.4) не отличались от клеток в строме яичников самок симы, исследованных нами ранее, перед выпуском с Анивского рыбоводного завода (Раздел 3.2.1).

У подопытных самок стероидсекреторные клетки присутствовали также только в строме яичников. Однако у подопытных рыб достоверно больше оказался диаметр канальцев агранулярной сети (табл. 3.4), что свидетельствовало о возрастании синтетической активности клеток. В цитоплазме появилось также большое количество



**Рис. 3.14.** Стероидсекреторные клетки в составе стромы у контрольной (А), и подопытной (Б) самки симы в возрасте 0+ и теки (В) фолликула превителлогенного ооцита в яичнике контрольной самки симы в возрасте 1+. Обозначения: ОЦ - ооцит, Я - ядро СК, КГ - клетки гранулезы, БМ - базальная мембрана, митохондрии (М) с трубчато-везикулярными кристами, каналцы агранулярного (АЭР) эндоплазматического ретикулаума, ГР - гранулы. Шкала = 1 мкм.

Таблица 3.4.

Характеристика стероидсекреторных клеток (СК) в яичниках у самок симы после воздействия эстрадиолом (в скобках дана объемная плотность органоидов, %)

Контроль / Опыт	Локализация СК	Размер, мкм			
		СК	ядра СК	митохондрии	канальца АЭР
<b>ВОЗРАСТ 0+ (335-363 сут)</b>					
Контроль	строма	<b>5,7±0,95</b>	<b>3,4±0,64</b>	<b>0,42±0,024</b> (15,2±0,76)	<b>0,08±0,003</b> (12,0±1,19)
Опыт 15 28 сут	строма	<b>6,1±0,32</b>	<b>4,4±0,79</b>	<b>0,37±0,022</b> (14,8±0,83)	<b>0,18±0,032</b> (13,6±0,76)
<b>ВОЗРАСТ 1+ (702-730 сут)</b>					
Контроль	тека	<b>16,0±1,01 x</b> <b>2,5±0,31</b>	<b>5,5±0,54 x</b> <b>1,3±0,17</b>	<b>0,53±0,105</b> (16,8±1,25)	<b>0,14±0,026</b> (14,6±0,60)
	строма	<b>6,4±0,89</b>	<b>3,6±0,59</b>	<b>0,54±0,055</b> (18,4±1,15)	<b>0,22±0,026</b> (19,9±0,92)
Опыт 16 21 сут	тека	<b>18,3±0,40 x</b> <b>2,2±0,29</b>	<b>6,5±0,37 x</b> <b>1,5±0,19</b>	<b>0,52±0,041</b> (17,2±0,97)	<b>0,15±0,019</b> (13,6±0,73)
	строма	<b>6,9±0,68</b>	<b>3,9±0,56</b>	<b>0,33±0,048</b> (16,5±0,42)	<b>0,13±0,021</b> (23,6±0,70)
Опыт 16 28 сут	строма	<b>10,2±0,98</b>	<b>5,5±0,76</b>	<b>0,50±0,054</b> (13,8±0,65)	<b>0,14±0,024</b> (9,2±0,90)

секреторных гранул, в среднем 0,29 мкм в диаметре (рис. 3.14Б). До сих пор подобные структуры не встречались в описываемых клетках в гонадах ни у одного из исследованных видов.

В возрасте 1+ у контрольных самок стероидсекреторные клетки присутствовали в теке фолликулов превителлогенных ооцитов (рис. 3.14В) и строме яичников. Число тех и других было примерно одинаковым. Клетки в составе стромы яичников по форме и размерам не отличались от клеток в строме яичников симы в возрасте 0+ (табл. 3.4).

У подопытных самок в возрасте 1+ через 21 сут после начала воздействия количество секреторных клеток в составе теки фолликулов значительно уменьшилось. Секреторная активность клеток, расположенных в строме яичников, также понизилась, о чем свидетельствует уменьшение размеров и объемной плотности митохондрий (табл. 3.4). В цитоплазме этих клеток в большом количестве появились гранулы (в среднем 0,28 мкм в диаметре) и увеличился объем гранулярной сети. Через 28 сут после начала воздействия секреторных клеток в яичниках оказалось очень мало и расположены они были только в строме гонад. Этот факт, безусловно, свидетельствовал о снижении секреторной функции клеток. К тому же в составе секреторных клеток достоверно

понижилась относительная объемная плотность митохондрий и канальцев агранулярного ЭПР (табл. 3.4).

Очевидно, что неудаче в опытах могла предшествовать как неверно сформулированная гипотеза, так и неверно подобранный режим гормонального воздействия. Разумеется, при планировании экспериментов мы опирались на имеющиеся в литературе данные. Однако во всех публикациях авторы ставили совершенно иную задачу – используя экзогенный эстрадиол, стимулировать инверсию пола у генотипических самцов как полициклических, так и моноциклических лососевых. Мы же воздействовали эстрадиолом на оогенез генотипических самок и, продолжив исследование на молодежи кижуча, сознательно в семи экспериментах использовали разные дозировки, срок и продолжительность воздействия.

В первых четырех вариантах использовали молодежь непосредственно после завершения дифференцировки пола. В начале гормонального воздействия в возрасте 58 сут в гонадах всех самок присутствовали только гонии и мейоциты, а при его завершении еще и ооциты периода превителлогенеза диаметром 80-90 мкм у самок в возрасте 87 сут (опыты 12.1. и 12.3.) и 100-110 мкм – в возрасте 99 сут (опыты 12.2. и 12.4.). При завершении опытов масса контрольных и подопытных рыб варьировала в диапазоне от 1,5 до 5,6 г, масса гонад – от 5,2 до 20 мг, а диаметр ооцитов – около 150 мкм (рис. 3.15А).

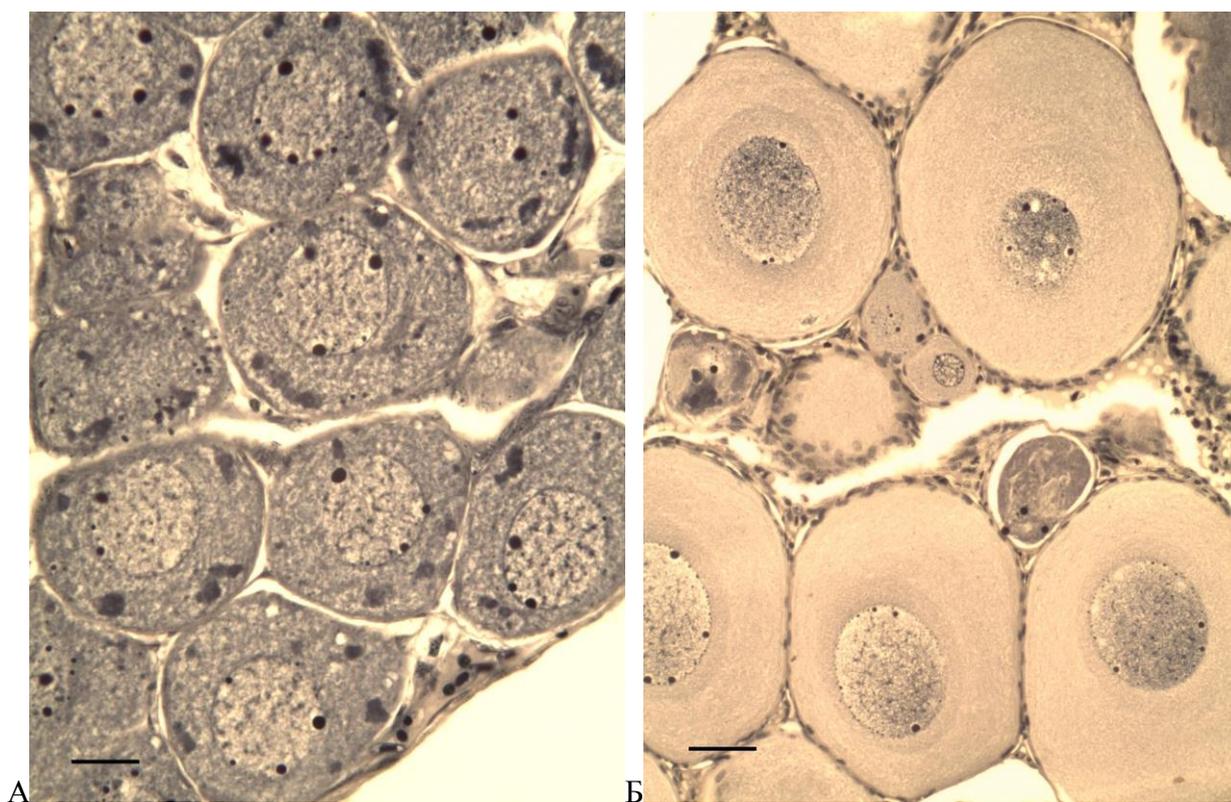
Как и в опытах с горбушей и симой, экзогенный эстрадиол привел к замедлению оогенеза у подопытных самок кижуча. У подопытных рыб были меньше число ооцитов периода превителлогенеза, их диаметр, общее число половых клеток и, как следствие, величина гонадо-соматического индекса. При этом меньше всего отличались от контроля самки в опыте 12.1, на которых воздействовали с наименьшей концентрацией гормона (20 мкг/кг корма) и период воздействия также был наименее продолжительным (30 сут). Более очевидным было отставание от контроля в опыте с более продолжительным воздействием (20 мкг/кг; 72 сут; опыт 12.2.), а также в обоих экспериментах, где использовали концентрацию гормона 100 мкг/кг корма (табл. 3.5).

О замедлении темпа оогенеза свидетельствовало и состояние стероидсекреторных клеток. После воздействия экзогенным эстрадиолом у самок секреторные клетки, также как и в контроле, были обнаружены в составе теки и гранулезы фолликулов превителлогенных ооцитов, а также в строме яичников. Вместе с тем, в теке мы обнаружили только один тип этих клеток, активность которых была понижена, о чем свидетельствует достоверное ( $p < 0,05$ ) уменьшение размеров как самих клеток, так и митохондрий (табл. 3.6).

Таблица 3.5.

Состояние яичников у контрольных и подопытных самок кижуча после гормонального воздействия в возрасте с 58 и 178 сут

Опыт	Число рыб	Масса		Площадь поперечных срезов гонад в 128 сут – мм <sup>2</sup> × 10 <sup>-3</sup> в 204 сут – мм <sup>2</sup>	Число половых клеток на один срез				Диаметр ооцитов, мкм
		Рыб, г	Гонад, мг		Гонии	ооцитов РПМ	ооцитов ПВ	Всех клеток	
<b>Возраст 128 сут</b>									
Контроль	21	3,30±0,21	13,98±0,63	11,95±0,60	3,71±0,67	2,45±0,55	30,61±1,11	36,78±1,82	150,8±1,8
Опыт 12.1	16	3,41±0,22	13,09±0,94	12,47±0,86	3,37±0,81	2,43±0,70	29,91±1,58	35,71±2,53	148,4±2,7
Опыт 12.2	14	2,78±0,15	11,71±0,66	10,37±0,55	2,49±0,56	1,99±0,48	24,80±1,44	28,56±1,49	144,4±3,7
Опыт 12.3	11	2,98±0,23	10,36±0,74	10,36±0,79	3,53±0,90	2,52±0,83	24,50±1,66	30,54±2,35	133,7±3,2
Опыт 12.4	15	2,67±0,17	10,47±0,47	9,75±0,43	1,91±0,57	1,01±0,28	24,06±0,87	26,98±1,20	134,7±1,6
<b>Возраст 204 сут</b>									
Контроль	18	11,12±0,99	43,17±2,62	0,385±0,022	4,62±0,44	1,99±0,38	24,74±1,07	31,36±1,52	221,0±4,0
Опыт 13.1	12	9,87±0,75	43,33±2,28	0,429±0,028	6,77±0,91	3,04±0,74	27,75±1,00	37,64±1,64	225,4±4,0
Опыт 13.2	13	12,86±1,69	52,55±5,21	0,403±0,028	2,63±0,57	2,43±0,92	27,15±1,12	32,22±1,37	230,4±7,1
Опыт 13.3	10	12,06±1,11	54,40±4,66	0,449±0,039	8,16±1,91	8,55±2,82	29,96±1,69	46,73±5,55	219,5±5,5



**Рис. 3.15.** Характерное состояние ооцитов старшей генерации у молоди кижуча в момент окончания серии опытов 12.1-12.4 в возрасте 128 (А) сут и серии опытов 13.1-13.3 в возрасте 204 (Б) сут. Шкала = 50 мкм.

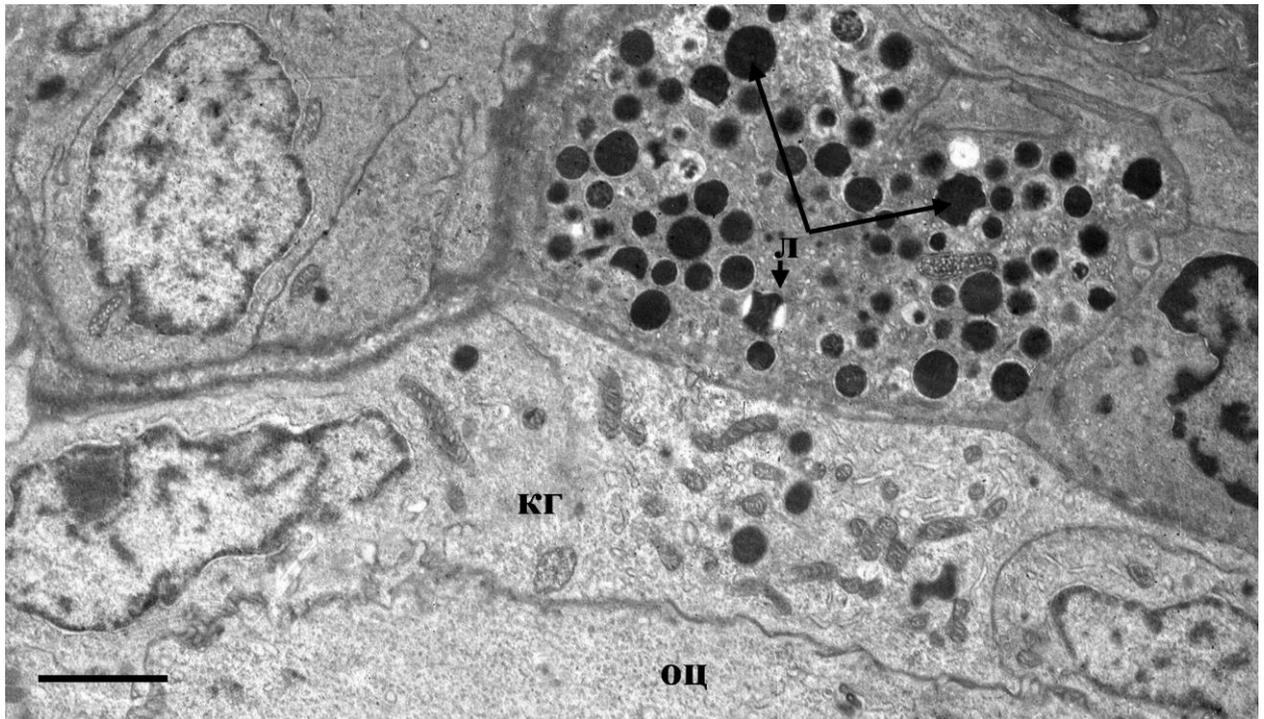
**Таблица 3.6.**

Характеристика стероидсекреторных клеток (СК) в гонадах у самок кижуча в возрасте 99 сут от вылупления после воздействия эстрадиолом (в скобках дана объемная плотность органоидов, %)

Конт- роль / Опыт	Локали- зация СК	Размер, мкм				
		СК	ядра СК	митохонд- рий	Каналь- цев АЭР	липидов
Конт- роль	внешняя тека	<b>6,7±0,81</b>	<b>3,3±0,06</b>	<b>0,53±0,025</b> (16,9±0,4)	<b>0,19±0,012</b> (27,3±0,6)	нет
	внутренняя тека	<b>19,5±1,10 x</b> <b>6,2±0,35</b>	<b>9,0±0,76 x</b> <b>3,7±0,35</b>	<b>0,67±0,058</b> (11,3±0,8)	<b>0,11±0,010</b> (15,8±0,8)	<b>1,0±0,05</b> (48,9±1,1)
	гранулеза	<b>15,8±1,50 x</b> <b>2,1±0,30</b>	<b>6,8±1,09 x</b> <b>1,7±0,23</b>	<b>0,71±0,056</b> (23,4±0,8)	<b>0,17±0,021</b> (22,3±1,1)	нет
	строма	<b>9,0±1,43</b>	<b>5,3±0,63</b>	<b>0,42±0,078</b> (19,0±1,0)	<b>0,16±0,19</b> (14,6±0,7)	нет
Опыт	тека	<b>10,7±0,85 x</b> <b>1,2±0,27</b>	<b>4,1±0,52 x</b> <b>0,8±0,11</b>	<b>0,44±0,015</b> (9,0±0,9)	<b>0,15±0,035</b> (9,1±0,6)	<b>0,67±0,04</b> (37,5±1,2)
	гранулеза	<b>23,0±1,60 x</b> <b>2,3±0,04</b>	<b>6,8±0,62 x</b> <b>1,4±0,08</b>	<b>0,69±0,048</b> (27,4±1,3)	<b>0,17±0,010</b> (28,1±0,7)	нет
	строма	<b>7,7±0,77</b>	<b>3,8±0,61</b>	<b>0,42±0,030</b> (8,1±0,6)	<b>0,11±0,009</b> (12,5±1,1)	<b>0,7±0,04</b> (38,6±0,9)

Секреторные клетки в составе гранулезы у подопытных рыб, напротив, достоверно ( $p < 0,05$ ) увеличились в размерах, что может свидетельствовать о возрастании секреторной активности. Размеры расположенных в строме гонад подопытных самок стероидсекреторных клеток, их ядер и органоидов значимо не отличались от таковых у клеток контрольных особей (табл. 3.6). Отличительной особенностью этих клеток явилось значительное (по сравнению с контролем примерно на порядок) увеличение в их цитоплазме липидных включений (рис. 3.16).

После воздействия эстрадиолом в яичниках подопытных самок снизилась активность секреторных клеток в составе теки. Одновременно в цитоплазме клеток, локализованных в строме яичников, появилось большое количество липидных включений, которые у контрольных рыб отсутствовали. Таким образом, при воздействии эстрадиолом у самок кижуча происходило подавление оогенеза, которое сопровождалось снижением стероидогенной активности в теке фолликулов превителлогенных ооцитов и ее повышением в строме.



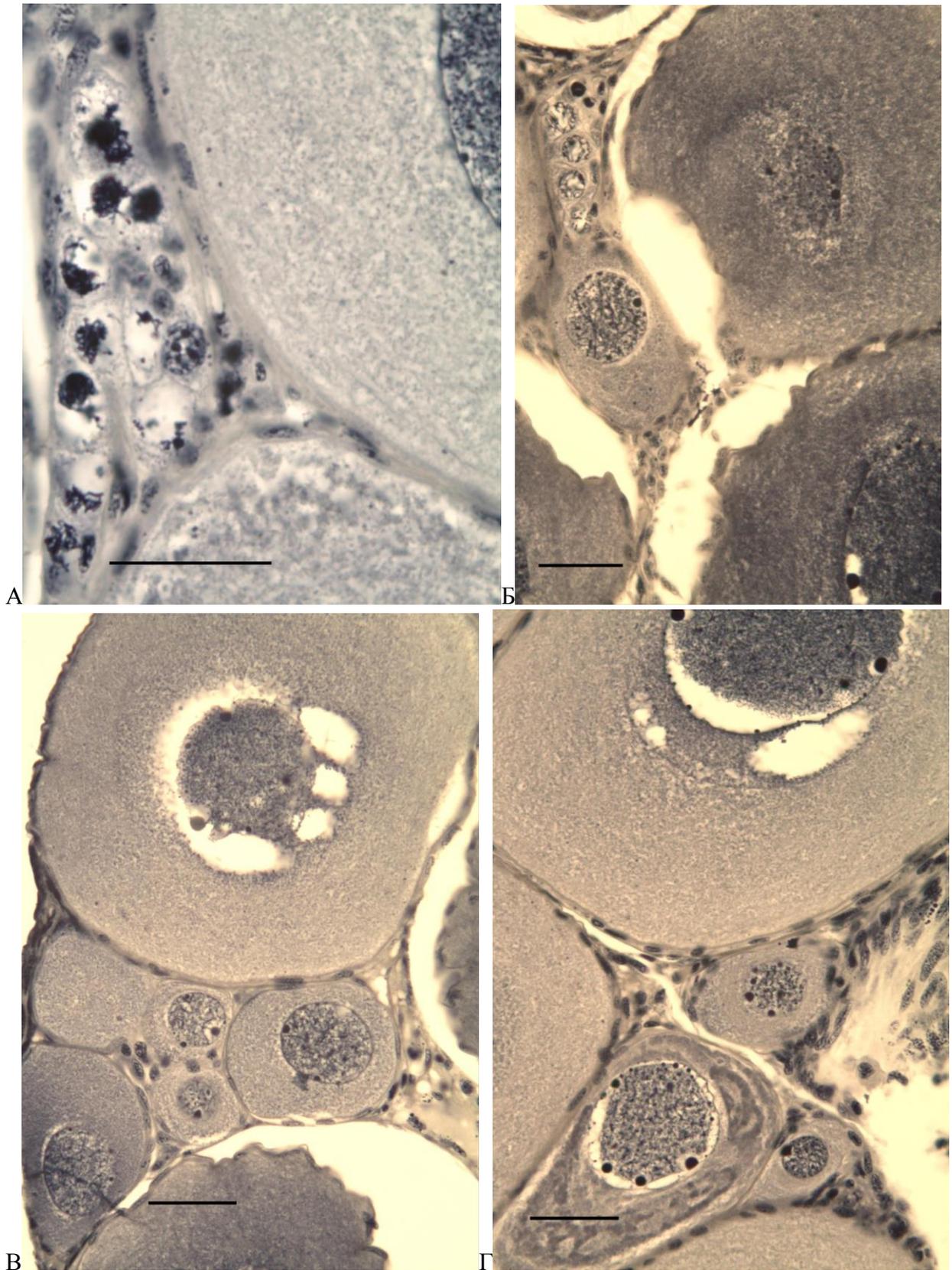
**Рис. 3.16.** Стероидсекреторные клетки в составе стромы яичника подопытной самки кижуча после индуцированной инверсии пола. В цитоплазме содержится большое количество липидных включений. Обозначения: ОЦ - ооцит, КГ – клетки гранулезы, Л – липиды. Шкала = 5 мкм.

Принципиально иной была динамика фонда половых клеток у самок кижуча во второй серии опытов, при начале которых в яичниках всех особей присутствовали гонии и мейоциты, а также превителлогенные ооциты диаметром 190-250 мкм (рис. 3.15Б). При завершении опытов масса рыб варьировала в диапазоне от 6,3 до 20,7, а масса гонад – от 28 до 88 мг, т.е. эти величины были в 4 раза больше соответствующих величин у самок после завершения первой серии опытов (табл. 3.5).

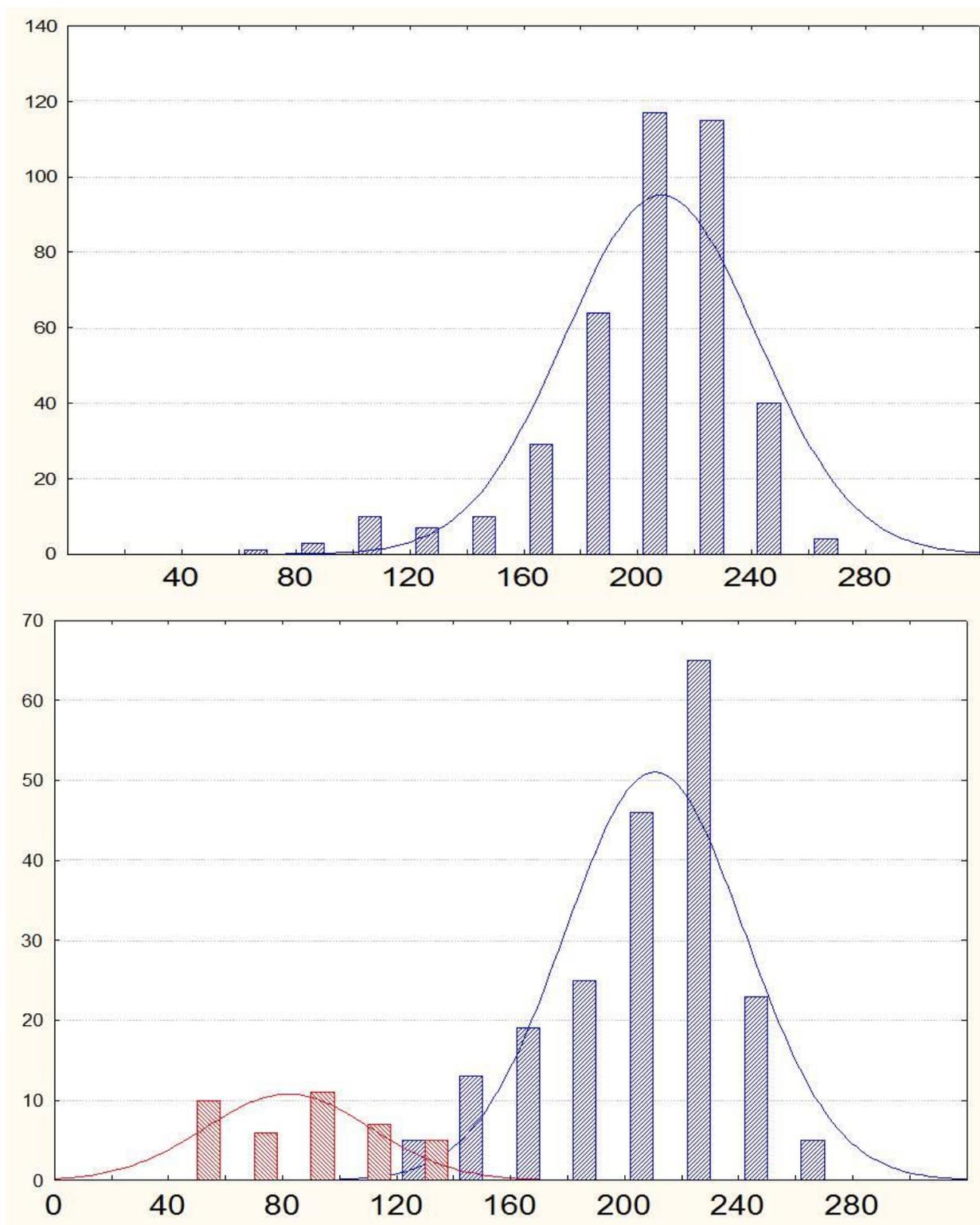
На этот раз гормональное воздействие привело к достоверному увеличению числа всех половых клеток, как общего их числа, так и отдельно гониев, мейоцитов и ооцитов периода превителлогенеза. Увеличение числа превителлогенных ооцитов особенно интересно, поскольку произойти это могло только в случае перехода к превителлогенезу части мейоцитов. Действительно, анализируя размерный состав ооцитов периода превителлогенеза, мы можем видеть, что в контроле диаметр этих клеток составляет преимущественно 160-240 мкм (табл. 3.5). В отличие от этого, в опытах, например, с наиболее продолжительным воздействием, помимо ооцитов старшей генерации в яичниках есть еще одна генерация ооцитов диаметром 50-120 мкм (рис. 3.17, Б-Г, рис. 3.18).

Появление дополнительной генерации ооцитов периода превителлогенеза не только привело к достоверному увеличению их числа у подопытных рыб, но и к достоверному увеличению массы яичников. Например, в контроле масса яичников была равна 43,17 мг, а в опыте 12.3, в которых наблюдали наиболее значительное увеличение числа половых клеток и ооцитов периода превителлогенеза – 54,4 мг. Представляется очевидным, что увеличение массы яичников если не исключительно, то в значительной степени было связано с появлением дополнительной генерации ооцитов. Ведь диаметр ооцитов старшей генерации у контрольных и подопытных рыб этой группы оказался практически одинаковым – 221,0 и 219,5 мкм (табл. 3.5).

Анализируя полученные данные, в первую очередь отметим, что кижуч в качестве модельного объекта был выбран с учетом сразу нескольких факторов. Во-первых, кижуч, согласно нашим данным (Зеленников, 2003б), имеет в гонадах наиболее многочисленные гонии и мейоциты после формирования старшей генерации ооцитов. Во-вторых, у молоди кижуча наиболее полно изучен ранний оогенез (Христофоров, 1986; Grant et al., 1990; Кузнецов и др., 1997), в том числе и нами (Зеленников, 2003б; 2019б; Мосягина, Зеленников, 2012). Кроме этого, в литературе есть сведения о концентрации половых



**Рис. 3.17.** Состояние яичников у самок кижуча в возрасте 204 сут, после гормонального воздействия с возраста 178 сут. Можно видеть мейоциты (А, Б) и ооциты периода превителлогенеза второй генерации (Б, В, Г). Пояснение в тексте. Шкала = 50 мкм.



**Рис. 3.18.** Характеристика фонда ооцитов периода превителлогенеза у самок кижуча в возрасте 204 сут в контроле (А) и опыте 13.3 (Б), после гормонального воздействия с возраста 178 сут.

стероидных гормонов у молоди кижуча (Fitzpatrick et al., 1987; Grant, 1990; Feist et al., 1990; Estay et al., 1995, 1998; Campbell et al., 2004), а также данные о влиянии эстрадиола на развитие гонад у рыб этого вида в раннем возрасте (Goetz et al., 1979; Dickey, Swanson, 1998). Не исключено, что именно предварительный анализ многочисленных литературных данных и позволил спланировать проведение гормонального воздействия таким образом, которое позволило добиться стимулирования развития ооцитов второй генерации.

### 3.3. Заключение

По совокупности выполненных работ мы можем заключить, что формирование фонда ооцитов при поли- и моноциклической стратегии развития в раннем онтогенезе круглоротых и рыб оказывается принципиально сходным. При полициклиии в яичниках постоянно происходит митотическое размножение гониев, вступление в мейоз которых происходит группами или отдельными порциями. И именно эти группы затем переходят в период превителлогенеза, определяя своего рода волновой характер формирования фонда ооцитов.

При моноциклиии также происходит очень длительное размножение гониев и их вступление в мейоз. Как долго продолжаются эти процессы в яичниках моноциклических рыб сказать сейчас сложно. Уверенно можно утверждать только два обстоятельства. Во-первых, активное размножение гониев продолжается у самок всех видов тихоокеанских лососей до выхода в морскую воду. Во-вторых, переход ооцитов старшей генерации в период вителлогенеза не останавливает ни митотическое размножение гониев, ни инициирование новых мейотических циклов.

В процессе формирования фонда превителлогенных ооцитов только у части самок горбуши переход мейоцитов в период превителлогенеза осуществляется единовременно, или одной генерацией. У других самок горбуши в раннем онтогенезе этот процесс реализуется, по крайней мере, в два приема, о чем свидетельствует значительная размерная гетерогенность ооцитов. У кеты и более плодовитых самок остальных видов, уже у всех особей формирование фонда превителлогенных ооцитов осуществляется в несколько приемов. Количество этих пополнений может быть различным. Однако представляется очевидным, что формирование фонда ооцитов у самок моноциклических лососевых осуществляется по той же схеме, что и у полициклической радужной форели.

Мы также установили, что формирование фонда превителлогенных ооцитов при моноциклиии осуществляется на фоне относительного уменьшения эстрадиола. После того как фонд превителлогенных ооцитов у самок моноциклических лососей достигнет

определенной численности, причем различной в разных популяциях в пределах общего ареала, пополнение его прекращается. Вновь появившиеся мейоциты большей частью вступают в период превителлогенеза и подвергаются резорбции. Об этом убедительно свидетельствуют не только картины пикноморфных ядер, но главное, все увеличивающиеся различия в размерах между ооцитами начала периода превителлогенеза, которые присутствуют у всех самок тихоокеанских лососей в речной период жизни и ооцитами старшей, фактически, единственной функциональной генерации. Эти различия становятся особенно значительными у самок тихоокеанских лососей с длительным периодом речного развития.

Представляется очевидным, что полноценного перехода к периоду превителлогенеза у самок тихоокеанских лососей не происходит. Но, как и в случае с генотипическими самцами горбуши, проведение гормонального воздействия может стимулировать развитие этих ооцитов.

## **Глава 4. ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ НА ФОРМИРОВАНИЕ ФОНДА ПОЛОВЫХ КЛЕТОК У МОЛОДИ РЫБ**

### **4.1. Влияние закисления воды на формирование фонда ооцитов**

#### **4.1.1. Закисление воды как модельное токсическое воздействие**

Одним из важнейших факторов, который в современных условиях оказывает большое влияние на функционирование ихтиологических сообществ, является воздействие на водоемы, рыб и их воспроизводительную функцию загрязняющих или токсических веществ. К настоящему времени в литературе накоплены многочисленные данные о том, что в условиях хронического или аварийного токсического воздействия у рыб наблюдаются анатомические, цитологические и функциональные нарушения в развитии эндокринных желез, печени, гонад и других органов, вовлеченных в работу воспроизводительной системы, о массовой резорбции половых клеток и сокращении плодовитости, об изменении темпа полового созревания и репродуктивного поведения (Шатуновский, 1991; Кашулин и др., 1999; Лукин, 2001; Гераскин и др., 2005; Решетников и др., 2000; 2016; Селюков, 2010; 2012; Рубан 2017; Минеев, 2017 и другие). Анализируя работы, в которых приводятся данные о влиянии токсикантов на гонадо- и гаметогенез у рыб, можно отметить, что абсолютное большинство из них было получено при сборе материалов в естественных водоемах. Понимая, что только анализ ситуации в природных водоемах и водотоках при естественном воздействии комплекса абиотических и биотических факторов на рыб позволяет, в конечном счете, судить о влиянии токсических веществ и соединений на структуру ихтиологического сообщества, все же отметим очевидное. При изучении естественного водоема, исследователь, как правило, сталкивается с комплексным антропогенным влиянием на его функционирование. При этом выявленные нарушения в состоянии гонад могут быть и не связаны (или связаны частично) с действием собственно токсикантов, а объясняться другими факторами, например, напряженностью внутри- и межвидовых пищевых отношений.

Казалось бы однозначно судить о специфике действия того или иного загрязняющего вещества на функционирование воспроизводительной системы у рыб и, в частности, развитие гонад можно в ходе экспериментального анализа. Однако до настоящего времени такие работы, применительно к рыбам, являются крайне малочисленными. В отдельных публикациях сообщается, что после кратковременного воздействия сульфата меди, гексахлорида бензола, сульфата аммония и хлорида кадмия у разных видов рыб наблюдали дегенеративные изменения в гипофизе, деструкцию ткани печени и разбухание гепатоцитов, некроз интерстициальных клеток, дегенерацию как

отдельных сперматогониев, так и цист в семенниках, массовую атрезию фолликулов в яичниках и, как следствие этого, снижение гонадосоматического индекса (Sehgal, Pandey, 1984; Bengeri, Patil, 1987; Ram, Sathyanesan, 1987). Однако составить цельное представление о развитии гонад у рыб в условиях действия токсических веществ по этим отрывочным данным невозможно. При этом лабораторные эксперименты с анализом воздействия на молодь рыб, в частности, о влиянии токсикантов на формирование фонда или рост ооцитов периода превителлогенеза, нам не известны.

При выборе модельного токсического воздействия, казалось бы, следовало принять во внимание сравнительно подробное изучение воздействия на развитие гонад у рыб, в том числе и молоди, рентгеновского облучения. Тем более что сведения, полученные разными авторами, во многом оказываются сходными. Так, у различных видов рыб реакция гонад на облучение выражалась в дозозависимой массовой гибели половых клеток (Чмилевский, 1978; 1985; Hamaguchi, 1980). В гонадах как самцов, так и самок наблюдали также уменьшение числа митозов гониев и задержку мейотических преобразований (Мигаловский, 1971; Чмилевский, Васьков, 1994). Массовая резорбция ооцитов, которая по мнению авторов была следствием как прямого действия радиации, так и дезинтеграции регуляторной функции гипофиза (Персов, 1967; Кащенко, 1971; Оганесян, 1971), могла привести к стерилизации рыб (Konno, 1980; Konno, Tashiro, 1982). Если облучение не приводило к полному разрушению всей генеративной ткани гонад, то после гибели ооцитов и части гониев наблюдали восстановление фонда половых клеток, темп которого зависел от состояния половых желез в момент облучения (Тьюнг, 1970; Захарова, 1984; 1989; Чмилевский, 2017).

Вместе с тем влияние рентгеновского облучения на репродуктивную функцию рыб все же принципиально отличается от влияния токсикантов, поскольку лучи Рентгена непосредственно воздействуют на гонады и половые клетки, тогда как токсические соединения оказывают на них опосредованное воздействие, через изменение физиологического состояния организма. Так же действуют и обычные экологические факторы, например, пониженная или повышенная температура, изменение фотопериода, голодание и другие. По совокупности всех соображений, мы в качестве экспериментального токсического воздействия использовали пониженную кислотность воды, руководствуясь при этом четырьмя принципиальными обстоятельствами.

В качестве первого обстоятельства отметим огромный массив накопленных к настоящему времени литературных данных о влиянии кислотной среды на рыб. Данных, которые позволяли как более качественно провести сами опыты, так и более широко

проанализировать полученные факты. Закисление природных водоемов во многих регионах Мира прогрессировало, а потому широко и всесторонне изучалось и изучается в настоящее время. Первые упоминания о влиянии повышенной кислотности воды в результате хозяйственной деятельности человека относятся к 20-м годам XX века. Они свидетельствовали сначала о резком уменьшении численности, а затем и исчезновении популяций атлантического лосося в нескольких реках Южной Норвегии (Jensen, Snekvik, 1972; Haines, 1981). В последующие годы процессы ацидофикации стремительно прогрессировали, что выразилось не только в увеличении уровня кислотности, но и в распространении этого явления на новые акватории. Во второй половине XX века закисление природных водоемов стало характерно для разных регионов Японии (Imada et al., 1989), Китая (Wang Deming et al., 1989), на севере России (Комов, Лазарева, 1994; Моисеенко, 1996) и в ряде ее центральных областей (Таликина и др., 1996), во многих регионах Сибири (Моисеенко и др., 2015), в центральной Европе (Korwin-Kossakovski, 1989; Marthaler et al., 1989), странах Скандинавского полуострова (Almer et al., 1974; Wright et al., 1975; Rask, Pantaniemi, 1990), Великобритании (Milner, Varallo, 1990) и в северо-восточных частях Северной Америки (Beamish, Harvey, 1972; Carter et al., 1986; Haines, Baker, 1986).

Вторым обстоятельством является то, что в общем массиве полученных данных есть и сведения о влиянии кислотной среды на воспроизводительную систему рыб, о чем речь пойдет далее. При этом данные получены как при исследовании естественных водоемов, так и в ходе экспериментальной работы, а фактов влияния кислотной среды на развитие воспроизводительной системы у рыб в эксперименте (т.е. когда точно известно и соединение, и его концентрация) больше, чем о влиянии всех остальных токсических соединений вместе взятых.

В качестве третьего обстоятельства отметим то, что рН воды является не только токсическим (при критическом снижении или повышении его значения), но и естественным экологическим фактором, таким же как, например, температура воды. Следовательно, полученные результаты мы сможем проанализировать не только с учетом сравнительно немногочисленных данных о влиянии на гонадо- и гаметогенез рыб токсических веществ, но и на основании многочисленных данных о влиянии на развитие гонад именно у молодежи рыб различных экологических факторов. Такими выступают пониженная (Алешин, Плюхин, 1987; Ахундов, 1989; 1991; Шурухин, 1985; Чмилевский, 1994; 1997 и другие) или повышенная температуры воды (Алешин, 1987; Лаврова, Чмилевский, 1987), голодание, недоброкачественные корма (Алешин, Чмилевский, 1987;

Ахундов, 1991; Ивойлов, 1997) и другие. Здесь же отметим, что влияние температурного фактора мы еще подробно рассмотрим в настоящей работе и в заключительной главе получим возможность сопоставить кислотное и температурное воздействие на ход гаметогенеза.

Наконец, четвертым обстоятельством является возможность анализа на основании экспериментальных данных ситуации в естественных водоемах. Хорошо известно, что очень часто в естественной среде кислотное воздействие на рыб является сезонным, например, во время ливневых дождей (Janichi, Greening, 1986) или весеннего половодья (Gunn, Keller, 1986). Так, в результате таяния снега и быстрого поступления больших количеств кислоты в некоторых водоемах на короткий период времени рН воды может существенно понижаться (Билько, Макиевский, 1987), и именно кратковременное снижение рН воды ведет к истощению и исчезновению популяций многих видов рыб в естественных водоемах (Harvey, Jackson, 1995; Lacroix, Korman, 1996). Причиной этого является то, что относительно кратковременному кислотному воздействию, которое в общем виде экспериментально можно смоделировать в лабораторных условиях, часто подвергается именно молодь рыб.

#### **4.1.2. Влияние закисления воды на репродуктивную функцию рыб (Обзор литературы)**

Систематическое исследование последствий ацидофикации было начато в Норвегии по проекту «Кислые осадки – влияние на леса и рыб» (SNSF-Project). Наиболее многочисленные исследования в рамках этого проекта были выполнены непосредственно в полевых условиях, по анализу этапности закисления конкретных водоемов, изменения видовой структуры ихтиофауны и возрастной структуры популяций отдельных видов (Gjedrem, 1976; Edwards, Hjeltnes, 1977; Rosseland et al., 1986). Следует отметить, что и в настоящее время в режиме регулярного мониторинга исследуется состояние ихтиоценоза в десятках и сотнях озер в регионах наиболее масштабного закисления в Финляндии (Rask et al., 2014), Швеции (Holmgren, Buffam, 2005), Норвегии (Hesthagen et al., 2016), на Американском континенте (Baldigo et al., 2016) и других.

Помимо непосредственного влияния водородных ионов было изучено их опосредованное действие на рыб, связанное с обеднением кормовой базы (Stephenson, Machie, 1986), а также с тем, что при низком значении рН усиливается токсичность разных элементов: цинка (Everall et al., 1989), свинца (Sayer et al., 1989), меди (Lauren, McDonald, 1986), кадмия (Peterson et al., 1985), а также сульфатов, соединений хлора,

аммиака и многих других (Лукьяненко, 1967; Алабастер, Ллойд, 1984), но особенно ионов алюминия (Dalziel et al., 1986; Hunn et al., 1987; Jagoe et al., 1987; Wunder, Schmeller, 1988; Dietrich, Schlatter, 1989; Witters et al., 1989; Ingersol et al., 1990). Изменение токсичности ионов металлов в зависимости от кислотности воды создает особые трудности в изучении проблемы ацидофикации, поскольку возникает необходимость в специальных исследованиях едва ли не в каждом водоеме, которые отличаются уровнем минерализации или соотношением солей в воде.

За годы исследования проблемы ацидофикации установлены предельно допустимые значения рН воды едва ли не для всех видов рыб, обитающих в районах закисления. Показано, что нижняя граница выживания взрослых особей большинства видов рыб находится в диапазоне рН 4,0-4,8 (Лукьяненко, 1967; Daye, Garside, 1979; Каримов, Аршаница, 1985; Leuven et al., 1987; Mills et al., 1987; Wood et al., 1990). Лишь наиболее устойчивые к кислотной среде линь (*Tinca tinca*), речной окунь (*Perca fluviatilis*) и карликовая евдошка (*Umbra limi*) способны жить и даже размножаться при рН ниже 4,0, что объясняется низкой чувствительностью их систем ионной и кислотно-щелочной регуляции (Виноградов, Комов, 1985; Linlokken, 1988; Gonzales et al., 1989). При этом наиболее уязвимыми к кислотному воздействию у всех видов рыб являются эмбрионы как в период инкубации (Runn et al., 1977; Peterson et al., 1980; Билько, 1995), так и на стадии вылупления (Brown, Lynam, 1981; Lacroix et al., 1985). Развитие зародышей и личинок в условиях кислотной среды приводит к аномалиям в закладке и развитии позвоночника, жабр, почек и желудочно-кишечного тракта (Daye, Garside, 1980; Oyen et al., 1991). Примечательно, что у рыб не вырабатывается привыкание или акклимация к рН-фактору, а напротив, снижается их сопротивляемость в кислотной среде (Edwards, Hjeltnes, 1977; Audet, Wood, 1988).

Известно, что рыбы высокочувствительны и по возможности избегают закисленные воды (Johnson, Webster, 1977). Первыми симптомами влияния закисления являются нарушения хеморецепции при питании и, как следствие, снижение потребности в пище (Lemly, Smith, 1985; Рыка, 1989), понижение двигательной активности (Naya et al., 1985; Nelson, 1989) и учащение дыхательных движений (Neville, 1979; Malte, 1986).

В соответствии с реализацией программы общего адаптационного синдрома, у рыб в условиях кислотной среды формируется противодействие токсическому влиянию, в основе которого лежит повышение секреции адренкортикотропного гормона и кортизола (Goss, Wood, 1988; Brown et al., 1989). С одной стороны, кортизол оказывает влияние на морфологическое строение и функцию хлоридных клеток (Laurent, Perry, 1990),

значительно увеличивает их количество (Матей, 1987; 1988; Majeovski et al., 1990), способствующее стабилизации ионного обмена (Jagoe, Haines, 1990), возрастанию величины гематокрита в крови (Lee, Gerking, 1983) и, в конечном счете, к повышению ее кислородной емкости (Audet et al., 1988; Nelson et al., 1988) и другим. С другой стороны, высокий уровень кортизола сопровождается снижением синтеза белка и изменением метаболизма гликогена в печени и мышцах (Bhaskar, Govindappa, 1985; 1986), оказывает тормозящее действие на функцию соматотропных и тиреотропных клеток гипофиза (Tam et al., 1988), а на уровне всего организма ведет к значительному замедлению или практически полной остановке роста (Menendez, 1976; Kwain, Rose, 1985; Tam et al., 1986a).

Описание влияния кислотной среды на репродуктивную систему рыб начнем с анализа ее центрального звена – гонадотропной функции аденогипофиза. У многих видов рыб (Бурлаков, 1997), в том числе и лососевых, идентифицировано два типа гонадотропных клеток гипофиза – гранулярные и глобулярные гонадотропоциты, различающиеся ультраструктурой секреторных включений. Их реакция при кислотном воздействии на гольца (*Salvelinus fontinalis*) была одинаковой и выражалась в достоверном уменьшении как самих клеток, так и их ядер (Tam et al., 1988). Можно предположить, что уменьшение размеров гонадотропных клеток свидетельствует о понижении их биосинтетической и секреторной активности, что, в свою очередь, ведет к снижению синтеза эстрогенов у самок (Tam et al., 1990) и андрогенов у самцов (Freeman et al., 1983; Freeman, Sangalang, 1985). Снижение концентрации половых стероидных гормонов в крови определяет понижение вителлогенной активности печени. Так, у самок радужной форели синтез вителлогенина в печени замедлялся соответственно степени снижения pH воды (Roy et al., 1990). Инъекции эстрогенов в эффективных дозах практически не приводили к изменению концентрации вителлогенина в крови у рыб в кислотной среде, тогда как у контрольных самок концентрация вителлогенина после инъекций эстрогенов возрастала более чем в 20 раз (Tam et al., 1987).

Изменение гормонального статуса организма, а также снижение синтеза вителлогенина не приводят к задержке начала периода накопления желтка в ооцитах (Tam, Payson, 1986), но замедляет темп их роста (Ruby et al., 1977; Freeman, Sangalang, 1989; Sangalang et al., 1990). Кроме того, в период кислотного воздействия увеличивается число резорбирующихся желтковых ооцитов, особенно на завершающих этапах вителлогенеза. Относительное число атретичных фолликулов в яичниках достигает 60% (Lee, Gerking, 1980; McCormick et al., 1987; Tam et al., 1990). Торможение роста ооцитов

и массовая гибель наиболее крупных из них, в конечном итоге, приводит к уменьшению размеров овулировавших икринок, снижению абсолютной и относительной плодовитости самок (Mount, 1973; Gerking, Lee, 1982; Lee et al., 1983; Виноградов, Комов, 1985). При этом эмбрионы, вылупившиеся из икринок с меньшим запасом трофических веществ, менее жизнеспособны (Lee, Gerking, 1980; Parker, McKeown, 1987). Кроме того, задержка в развитии ооцитов приводит, например, у окуня к задержке нереста или даже пропуску нерестового сезона (Rask et al., 1990).

Влияние кислотной среды на развитие воспроизводительной системы у самцов либо не было выявлено (Tam, Payson, 1986), либо было менее очевидно, чем у самок, и выражалось в некотором снижении объема зрелой спермы (Ruby et al., 1978). Хорошо известно, впрочем, что при низких рН воды уменьшается двигательная активность спермиев и, следовательно, снижается их оплодотворяющая способность (Baynes et al., 1981; Stoss, Holtz, 1981; St-Pierre, Moreau, 1987).

#### **4.1.3. Влияние закисления воды на репродуктивную функцию рыб в раннем онтогенезе. (Обзор литературы по материалам диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук)**

Несмотря на масштабные и разноплановые исследования проблемы ацидофикации природных вод, в исследованной нами области остался дефицит данных. Все исследования по влиянию кислотной среды на репродуктивную функцию рыб были выполнены на сравнительно взрослых рыбах – близких к половому созреванию. Работы на молоди рыб известны только по публикациям автора, а их результаты были обобщены в диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук (Зеленников, 1997). В обобщенной работе проанализировано влияние кислотной среды на разные аспекты репродуктивной функции личинок и мальков рыб. Были выявлены также отдаленные последствия кислотного воздействия на рыб в раннем возрасте. Наличие диссертации и серии предшествующих ей публикаций (Зеленников, 1993; 1994а; 1994б; 1996; Зеленников, Чмилевский, 1997; Zelennikov, 1997) определило актуальность самостоятельного раздела обзора литературы, тем более, что продолжение работы по исследованию влияния кислотной среды на репродуктивную функцию рыб было организовано с учетом ранее полученных данных.

При отсутствии сведений о влиянии пониженной кислотности воды на оогенез у молоди рыб, для исследования использовали сразу несколько видов рыб далеких друг от друга в эволюционном плане (Микулин, 2003) – русского осетра, радужную форель и

мозамбикскую тилапию. Вместе с тем, все выбранные виды являются широко распространёнными модельными объектами, и в литературе имелись сведения о содержании этих рыб в воде пониженной кислотности (Ikuta, Kitamura, 1995; Cornish et al., 1996).

С началом сублетального кислотного воздействия у подопытных рыб всех видов наблюдали снижение двигательной активности и практически полное прекращение питания. Как следствие этого, рост подопытных рыб прекращался (Зеленников, 1994б). С продолжением кислотного воздействия в динамике роста рыб выявились видовые различия. Масса тела молоди русского осетра уменьшалась в течение всего эксперимента и через 25 сут кислотного воздействия была на 18,7% меньше массы рыб исходного состояния и на 29,2% меньше массы контрольных рыб (Зеленников, 1997).

У подопытной молоди форели восстановление скорости роста наблюдали уже непосредственно во время кислотного воздействия (Зеленников, 1994б). Через 15 сут после начала воздействия нарастание массы тела у контрольных и подопытных рыб осуществлялось сходным образом независимо от того, оставались последние в условиях кислотной среды или их переводили в воду с обычным рН. При этом различия в массе тела, проявившиеся с началом опыта, не были компенсированы в дальнейшем вплоть до полового созревания (Зеленников, 1997).

Наконец у молоди мозамбикской тилапии уже во время опыта замедление темпа роста сменилось его ускорением и в момент окончания кислотного воздействия масса подопытных рыб была практически такой же, как у контрольных. После того, как воздействие было закончено, наблюдали ускорение темпа роста у подопытных рыб, в результате которого уже через 10 суток после перевода рыб в воду с обычным рН их масса тела была в 1,5 раза больше, чем у рыб в контроле (Зеленников, 1993). Таким образом, в данном случае наблюдали не только восстановление, но и стимуляцию темпа роста у молоди в кислотной среде. Впрочем, эффект «парадоксального», по мнению авторов, ускорения темпа роста при кислотном воздействии, ранее уже был показан на гольце *Salvelinus fontinalis* (Tam et al., 1986a).

Пониженное (6,0) и сублетальное (5,0) значение рН воды не оказали влияния на темп дифференцировки пола у молоди форели (Зеленников, 1996; Zelennikov, 1997). Более того, общее число половых клеток у подопытных самок форели в течение первых 2-4 недель воздействия во всех экспериментах оказалось существенно больше, чем у контрольных (Зеленников, 1996). Таким образом, на фоне уменьшения массы тела у подопытных рыб происходило ускорение гаметогенеза. Однако происходило это только в

период, когда фонд половых клеток составляли гонии и мейоциты. С началом превителлогенного роста ооцитов картина качественно изменилась, и увеличение числа половых клеток сменилось его существенным и достоверным уменьшением в 2-4 раза (Zelennikov, 1997). Такое же уменьшение числа превителлогенных ооцитов отметили и у самок тилапии во время кислотного воздействия (Зеленников, 1994а).

Объективно, небольшие размеры молоди большинства видов рыб не позволяли выполнить комплексное исследование репродуктивной системы при токсическом воздействии подобно тому, которое было выполнено на взрослых особях гольца *Salvelinus fontinalis* (Tam et al., 1986b; 1987; 1988; 1990). Это оказалось возможным сделать только на молоди осетра, значительные размеры которой в период дифференцировки пола позволили получить количество сыворотки, достаточное для определения в крови содержания гормонов. Не все, впрочем, работы оказались результативными. Анализ состояния клеток крупноклеточной области преоптического ядра гипоталамуса, активность которых показана в связи с ростом превителлогенных ооцитов у рыб (Фулга, 1995), оказался не продуктивным. В период дифференцировки пола эти клетки были слабо дифференцированы, а их состояние было сходным при существенно различном состоянии гонад у контрольных и подопытных самок (Зеленников, 1997).

Как и у самок форели, у самок осетра с началом кислотного воздействия достоверно повысилось число гониев, увеличение которых осуществлялось на фоне активизации гонадотропных клеток аденогипофиза. При сравнительном исследовании этой зоны отмечали значительную индивидуальную вариабельность ее морфофункционального состояния. Морфологическим выражением поэтапного возрастания ее секреторной активности было последовательное развитие процессов дифференцировки, грануляции и увеличения числа зрелых гонадотропоцитов, вакуолизация их цитоплазмы, голокриновое перерождение, запустение клеточных ячеек, образование межклеточных скоплений коллоида и локальная васкуляризация железистой паренхимы (Зеленников, 1997). Ключевым звеном в этой цепи событий является формирование фонда гранулированных альциан+ базофилов в вентральной зоне proximal pars distalis; на 8 сут кислотного воздействия доля гранулированных гонадотропоцитов у подопытных рыб была в два раза выше, чем у контрольных. Усиление активности гонадотропоцитов коррелировано со значительным (в 2-2,5 раза) увеличением концентрации тестостерона.

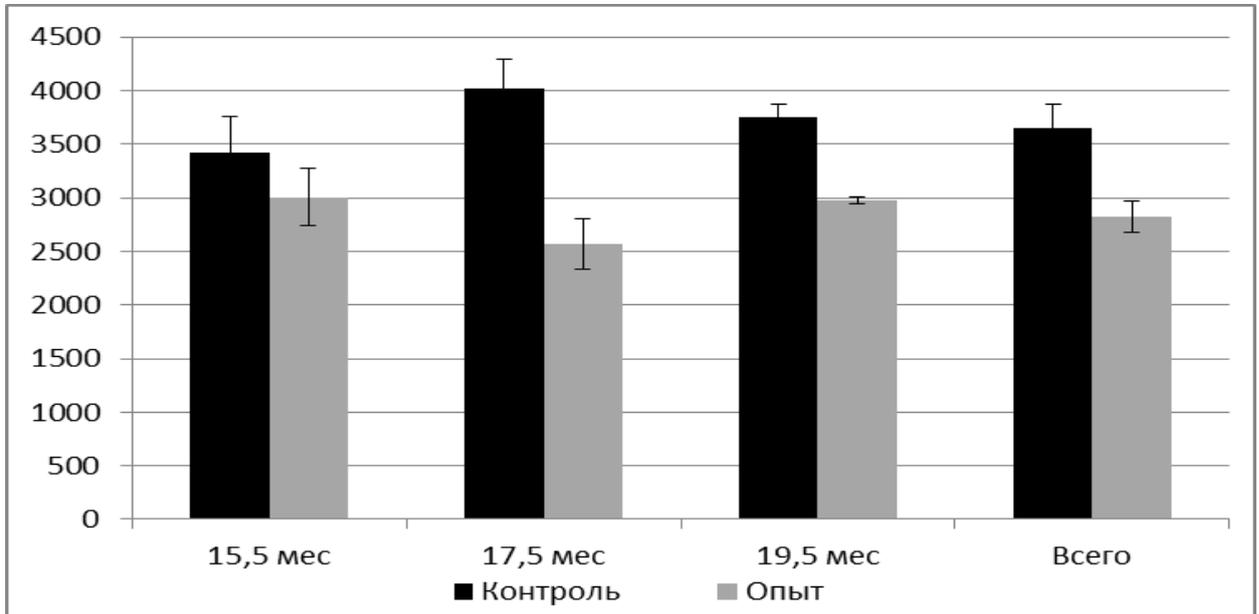
Однако с продолжением токсического воздействия активность гонадотропоцитов понижалась, уменьшалась концентрация тестостерона, а у самок достоверно понизилась и концентрация эстрадиола. Как следствие этих изменений, фонд половых клеток, который

у самок состоял из гониев и ооцитов периода ранней профазы мейоза, достоверно сократился (Зеленников, 1997).

Важнейшей задачей выполненных работ был анализ отдалённых последствий кислотного воздействия. По результатам всех проведенных опытов было установлено, что в момент окончания сублетального кислотного воздействия число ооцитов периода превителлогенеза у подопытных рыб оказалось меньше, чем у контрольных. Естественно возник вопрос, в течение какого срока сохранятся эти различия? Не произойдет ли компенсаторное увеличение их количества на протяжении сравнительно длительного репродуктивного цикла, например, у радужной форели? Для ответа на этот вопрос в одном из экспериментов молодь форели подвергли сублетальному кислотному воздействию (рН 5,0) в возрасте от 16 до 90 сут, и затем выдержали контрольных и подопытных рыб в системе с оборотным водоснабжением вплоть до полового созревания. В момент окончания воздействия число превителлогенных ооцитов в яичниках у подопытных рыб в среднем на поперечный срез было на 25,4% меньше, чем у контрольных (Zelennikov, 1997).

Впервые определить величину плодовитости удалось у самок в возрасте 15,5 мес, когда масса рыб варьировала от 890 до 1280 г, масса гонад – от 11,3 до 20,1 г, а масса ооцитов у разных особей – от 1,84 до 6,08 мг. Плодовитость у рыб в этом возрасте широко варьировала – от 2444 до 5071 ооцита, а в среднем у контрольных рыб составила 3418 шт. (рис. 4.1; Зеленников, 1997). В возрасте 17,5 мес. масса ооцитов у самок в контроле в среднем возросла до 13,7мг, а в возрасте 19,5 мес. – до 50,6 мг, плодовитость при этом составила 4016 и 3755 соответственно. Можно видеть, что при значительном возрастании массы ооцитов, плодовитость в каждом возрасте была статистически сходной (рис. 4.1). У подопытных рыб величина абсолютной плодовитости в возрасте 15,5, 17,5 и 19,5 мес. составила 3004, 2568, 2979 шт., и у самок разных возрастных групп также достоверно не различалась (рис. 4.1). То, что у контрольных рыб, с одной стороны, и у подопытных рыб, с другой стороны, значение плодовитости в каждом возрасте было сходным, позволило объединить данные соответственно для контрольного и опытного вариантов. В результате такого объединения получили, что величина абсолютной плодовитости у контрольных рыб в объединенной выборке составила 3652, а у подопытных 2825 ( $p < 0,01$ ). Можно видеть, что число ооцитов у подопытных рыб в среднем было на 23,7% меньше, чем у контрольных. Таким образом, уменьшение числа ооцитов периода превителлогенеза в среднем на поперечный срез, подсчитанных у самок форели непосредственно после окончания кислотного воздействия, при прочих равных условиях не было компенсировано

впоследствии и привело к уменьшению у них величины абсолютной плодовитости (Зеленников, 1997).



**Рис. 4.1.** Абсолютная плодовитость у самок радужной форели после кислотного воздействия в возрасте 16-90 сут (Зеленников, 1997).

#### 4.1.4. Формирование фонда половых клеток у рыб в период и после кислотного воздействия

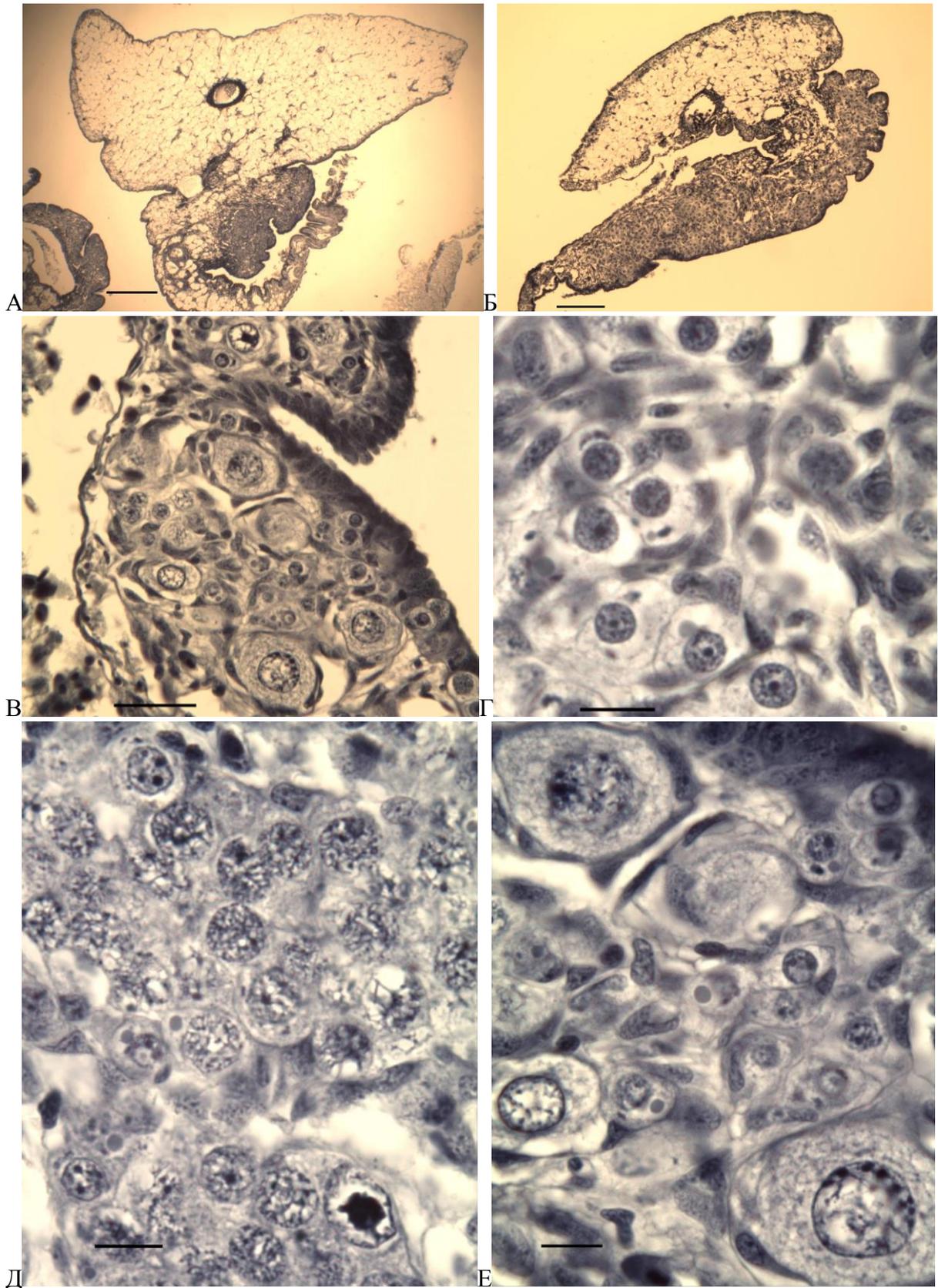
По итогам диссертационной работы были поставлены задачи, определившие методику новых экспериментов. Так, во всех ранее проведенных опытах на рыб начинали воздействовать до начала цитологической дифференцировки пола, когда фонд половых клеток в яичниках был представлен исключительно гониями. В новых опытах в условия сублетальной кислотности рыб помещали после того, как в их гонадах появлялись ооциты периода превителлогенеза. В качестве модельных объектов были выбраны тихоокеанский лосось горбуша и мозамбикская тиляпия. Горбуша – моноциклический лосось, самки которого достигают половой зрелости максимально быстро для лососевых рыб и в каждом поколении одновременно. Тиляпия – широко используемый в мировой научной практике модельный объект, в том числе и при исследовании в области репродуктивной биологии, гаметогенез которого хорошо изучен.

Однако первоначально была исследована контрольная и подопытная молодежь русского осетра, зафиксированная через 30 сут после окончания кислотного воздействия;

эти материалы в предыдущую диссертационную работу не вошли. Как было отмечено в разделе 4.1.3, в момент окончания 25-суточного кислотного воздействия число половых клеток, представленных гониями и мейоцитами, на единицу генеративной части гонад оказалось одинаковым. Но поскольку сама эта часть была в 2-2,5 раза меньше, чем у контрольных рыб (табл. 4.1), то и число половых клеток у подопытных самок также оказалось значительно меньше – соответственно  $112,4 \pm 35,1$  и  $39,9 \pm 9,6$ .

После окончания кислотного воздействия подопытные рыбы стали активно питаться и в течение 30 сут их масса в среднем увеличилась в два раза. Состояние гонад у одновозрастных рыб качественно различалось. Так, у самки с наименее дифференцированными гонадами фонд половых клеток был представлен только гониями (рис. 4.2А), а ее пол можно было отличить только по анатомическим особенностям гонад, в частности, по наличию борозды-щели. Еще у одной самки в яичниках помимо гониев присутствовали ооциты периода ранней профазы мейоза (рис. 4.2Б), а у двух самок – ооциты периода превителлогенеза, диаметр которых достигал 50 мкм (рис. 4.2В). Такая разнокачественность в состоянии яичников является обычной для молоди осетровых и отражает относительно длительный период первого полового созревания. Такие же различия в состоянии гонад были выявлены и у подопытных рыб. У одной особи в гонадах присутствовали только гонии, еще у одной помимо гониев – мейоциты и еще у трех самок – ооциты периода превителлогенеза (рис. 4.2Г). Вместе с тем, гонады каждого состояния у подопытных рыб были значительно крупнее и более дифференцированы. В результате при сходной массе тела объем генеративной части гонад, судя по их площади на поперечных срезах, у подопытных рыб был почти в два раза крупнее –  $17,3 \pm 3,3$  и  $9,3 \pm 1,7$  ( $p < 0,01$ ; табл. 4.1). Кроме этого подсчеты показывают, что при сходном числе половых клеток в обоих вариантах относительное число гониев и ооцитов на срезах яичников у контрольных самок было соответственно 91,5 и 8,5%, в то время, как у подопытных рыб – 69,2 и 30,8%, т.е. доля ооцитов была почти в 4 раза больше. Очевидно, что мы можем говорить не только о компенсации последствий кислотного воздействия у подопытных рыб, но и о стимуляции у них темпа развития яичников после его прекращения.

Использование молоди горбуши по сравнению с молодью форели открывало новые возможности для исследования влияния кислотной среды на ход гонадо- и гаметогенеза у рыб и было призвано дополнить полученные ранее данные. Во-первых, молодь форели во время воздействия мы были вынуждены кормить. Но поскольку подопытные рыбы



**Рис. 4.2.** Состояние яичников у самок русского осетра в контроле через 55 сут после начала опыта при большой (А) и умеренной (Б) доле жировой части; анатомическая борозда-щель (В). Старшую генерацию половых клеток составляют гонии (Г), ооциты периода ранней профазы мейоза (Д) и превителлогенеза (Е). Пояснение в тексте. Шкала А = 300 мкм, Б = 100 мкм, В = 50 мкм, Г-Е = 20 мкм.

Таблица 4.1.

Состояние яичников у молоди русского осетра (Опыт 19) в период и после кислотного воздействия в течение 25 суток

Над чертой – среднее значение показателя и его ошибка, под чертой – предел варьирования показателя, третья строка – коэффициент вариации, %

Сутки от начала опыта	Контроль Опыт	Число рыб	Масса рыб, г	Площадь генеративной части гонад на поперечном срезе, мм <sup>2</sup> *10 <sup>-2</sup>	Число половых клеток на 0,01 мм <sup>2</sup> площади генеративной части гонад.
8	Контроль	11	<u>66,5±6,8</u> 29-99 33,9	<u>4,2±0,6</u> 0,6-7,6 52,3	<u>10,0±0,9</u> 7,1-15,4 28,9
	Опыт		7	<u>66,7±8,3</u> 54-101 32,9	<u>3,5±0,6</u> 1,1-5,5 48,5
25	Контроль	8	<u>82,8±9,5</u> 45-120 32,3	<u>6,6±1,2</u> 2,0-12,3 51,5	<u>15,3±2,1</u> 7,6-26,6 39,8
	Опыт		8	<u>72,0±7,0</u> 44-107 30,0	<u>2,5±0,3</u> 1,1-4,2 40,0
55	Контроль	4	<u>154,2±34,5</u> 105-255 44,7	<u>9,3±1,7</u> 4,6-12,3 36,6	<u>22,6±0,9</u> 21,1-25,0 8,4
	Опыт		5	<u>162,6±24,4</u> 112-252 33,5	<u>17,3±3,3</u> 9,0-25,6 43,1

первоначально не питались и не росли, то в каждом возрасте мы сравнивали состояние гонад у разновозрастных особей. В отличие от этого, все интересующие нас этапы развития гонад у молоди горбуши, в том числе и начало превителлогенного роста ооцитов приходится на личиночный период развития и поэтому в течение всего эксперимента рыб не кормили. Во-вторых, мы могли исследовать ход естественной инверсии пола в условиях токсического воздействия. Такие данные из литературы нам не известны.

Инкубация зародышей от оплодотворения до массового вылупления в условиях рыбного завода на Сахалине и в лаборатории ихтиологии продолжалась 100 сут. В период пика вылупления длина и масса зародышей составила в среднем соответственно  $17,9 \pm 0,5$  мм и  $104,6 \pm 6,1$  мг, а масса желточного мешка –  $76,1 \pm 1,4\%$  от общей массы. У всех исследованных особей фонд половых клеток был представлен гониями и ооцитами

периода ранней профазы мейоза преимущественно в состоянии зиготены и пахитены. Сразу после вылупления у горбуши впервые были отмечены единичные половые клетки в состоянии резорбции, которые можно было отличить по интенсивно окрашенным пикноморфным ядрам.

В возрасте 14 сут после вылупления генотипических самцов и самок уже можно было отличить по состоянию гонад. У самцов на поперечных срезах гонад, площадь которых составляла не более  $2,0 \times 10^{-3}$  мм<sup>2</sup>, присутствовали 1-3 ооцита периода превителлогенеза. У самок площадь срезов гонад в среднем была в 9 раз больше ( $18,1 \times 10^{-3}$  мм<sup>2</sup>), а ооциты периода превителлогенеза – более многочисленными (до 10-12 на срез).

К возрасту 63 сут после вылупления длина и масса самок горбуши контрольной группы увеличились в среднем до 29,0 мм и 140,2 мг. Желток к этому возрасту был уже практически утилизирован, его относительная масса в среднем составляла 0,72%. Фонд половых клеток на поперечных срезах яичников был практически полностью представлен ооцитами периода превителлогенеза, число которых на срез в среднем варьировало от 4,7 до 15,9, а диаметр наиболее крупных из них достигал 100–115 мкм (табл. 4.2). Гонии и мейоциты были единичными.

У подопытной молоди горбуши в течение 2 нед. кислотного воздействия значительно снизились темпы соматического роста и расходования ими желтка, как это ранее было показано для личинок и молоди других видов лососевых рыб (Brown, Lynam, 1981; Kwain, Rose, 1985; Lacroix, et al., 1985). В отличие от контроля, где в течение проведения исследований погибло только 2,8% от исходного числа рыб, доля погибших личинок в опыте оказалась более значительной. Так, уже в течение первых 12 сут кислотного воздействия гибель их составила 4%, а с 13 по 21 сут – уже 47,1% от первоначального числа, хотя воздействие было организовано с учетом имеющихся в литературе данных (Rambough, 1982). Считаем, что массовая гибель подопытных рыб в этот период была вызвана не низкими значениями pH воды, так как уровень pH повышали, а суммарной дозой полученного воздействия. Через двое суток pH воды вновь понизили, и до конца эксперимента гибель подопытных рыб была единичной – 1,6%.

В возрасте 63 сут у мальков, на которых оказывали кислотное воздействие от момента вылупления (опыт 20.1), площадь поперечных срезов гонад изменялась в диапазоне от 35,4 до  $61,8 \times 10^{-3}$  мм<sup>2</sup> и в среднем была достоверно меньше площади половых желез у самок в контроле (табл. 4.2). В яичниках всех особей присутствовали гонии, мейоциты и ооциты периода превителлогенеза. Число превителлогенных ооцитов у подопытных рыб было значительно меньше, чем в контроле. Вместе с тем, диаметр

Таблица 4.2.

Состояние яичников у самок горбуши в возрасте 63 сут после кислотного воздействия в возрасте от 1 до 63 сут (опыт 20.1), от 1 до 25 сут (опыт 20.2) и от 25 до 63 сут (опыт 20.3)

Над чертой – среднее значение показателя и его ошибка, под чертой – предел варьирования показателя, третья строка – коэффициент вариации, %

Конт-роль/ Опыт	Число рыб	Масса рыб, мг	Длина рыб, мм	Площадь поперечных срезов гонад, мм <sup>2</sup> ×10 <sup>-3</sup>	Число ооцитов ПВ* на срез	Диаметр ооцитов мкм
Контроль	21	<u>140,2±6,5</u> 110-180 14,6	<u>29,0±0,5</u> 27,0-31,5 5,1	<u>71,5±9,9</u> 25,3-144,6 44,0	<u>8,6±1,0</u> 4,7-15,9 36,4	<u>100,7±2,8</u> 87,1-114,5 9,2
Опыт 20.1	22	<u>130,9±6,1</u> 95-163 14,7	<u>27,3±0,5</u> 23,5-29,0 6,0	<u>49,4±2,7</u> 35,4-61,8 17,4	<u>5,9±0,3</u> 4,6-7,2 15,5	<u>98,3±2,4</u> 87,1-114,5 7,7
Опыт 20.2	14	<u>138,7±3,2</u> 128-154 6,2	<u>27,9±0,2</u> 26,5-28,5 2,5	<u>59,4±2,8</u> 51,2-71,8 12,5	<u>6,9±0,2</u> 6,2-7,5 8,0	<u>100,8±1,8</u> 93,7-107,5 4,7
Опыт 20.3	15	<u>127,8±4,4</u> 113-143 8,3	<u>27,4±0,1</u> 27,0-28,0 1,4	<u>74,3±5,9</u> 55,6-96,1 19,6	<u>8,5±0,3</u> 7,7-9,7 10,2	<u>102,9±2,7</u> 93,7-108,4 6,4

ооцитов у контрольных и подопытных самок изменялся в одинаковом диапазоне и в среднем мало различался (табл. 4.2). Доля гониев и мейоцитов у подопытных особей – 5,7% была незначительно больше, чем в контроле. Полученные данные позволили заключить, что кислотное воздействие в течение 63 сут от вылупления привело к сокращению числа ооцитов периода превителлогенеза, но не оказало заметного влияния на темп роста этих ооцитов.

У самок, на которых кислотное воздействие было оказано в течение первых 25 сут после вылупления (опыт 20.2), в возрасте 63 сут фонд половых клеток был представлен преимущественно ооцитами периода превителлогенеза; доля гониев и мейоцитов на срезах гонад составила 4,3%. Площадь поперечных срезов гонад и число превителлогенных ооцитов на срез были достоверно меньше, чем у контрольных рыб. Средние значения диаметра ооцитов у самок в опыте и контроле практически не различались (табл. 4.2).

У самок, содержащихся в кислой среде в возрасте от 25 до 63 сут (опыт 20.3), фонд половых клеток также преимущественно был представлен ооцитами периода превителлогенеза; доля гониев и мейоцитов (1,8%) была меньше, чем у контрольных рыб. При этом площадь поперечных срезов яичников, число превителлогенных ооцитов на срез и их диаметр в среднем были даже несколько (недостаточно) больше, чем у самок в контроле (табл. 4.2). Очевидно, что кислотное воздействие, проведенное после формирования у самок фонда превителлогенных ооцитов, в течение почти 40 сут не оказало заметного влияния на развитие яичников.

Анализируя полученные данные, в первую очередь отметим, что в возрасте 63 сут длина молоди в контроле была значительно ( $p < 0,05$ ) больше, чем во всех вариантах опыта. Масса рыб оказалась более сходной, но объясняется это замедлением утилизации желтка личинками в условиях экспериментов.

При кислотном воздействии в течение первых 25 сут после вылупления у самок горбуши произошло значительное снижение числа превителлогенных ооцитов и, как следствие, уменьшение объема яичников. Кислотное воздействие на молодь горбуши в течение 63 сут от вылупления привело к еще большему сокращению фонда превителлогенных ооцитов и уменьшению объема гонад. Однако, несмотря на значительное снижение темпа роста подопытных рыб, рост превителлогенных ооцитов не замедлился, что противоречит данным, полученным ранее на радужной форели (Зеленников, 2003). Возможно, это объясняется тем, что ооциты периода превителлогенеза у форели появляются в гонадах уже после окончания личиночного периода. В противоположность этому, у горбуши начало периода превителлогенеза ооцитов совпадает с периодом личиночного развития, а у личинок этого вида изменение всех известных количественных показателей в состоянии половых желез не связано с изменением их массы и длины (Зеленников, Федоров, 2005). Если учесть, что относительное уменьшение размеров ооцитов в раннем возрасте не компенсируется в дальнейшем (Зеленников, 2003), то мохрагнтн обычного темпа их роста у горбуши представляется очень важным для выживания будущих зародышей. Очевидно, что уменьшение размеров икринок у производителей приведет либо к задержке полового созревания и нереста, либо к массовой гибели зародышей и личинок, т.е. в любом случае будет сопровождаться снижением популяционной численности. Поэтому не исключено, что сохранение обычного темпа роста ооцитов в условиях токсического воздействия, видимо, даже за счет сокращения их числа, является важной видовой адаптацией

горбуши, для которой в силу чрезвычайно короткого жизненного цикла пропуск нерестового сезона является невозможным.

На основании полученных результатов можно сделать следующее заключение. У самок горбуши кислотное воздействие не повлияло на рост превителлогенных ооцитов, но оказало влияние на формирование фонда половых клеток; его проявление зависело от исходного состояния половых желез. Если в яичниках присутствовали преимущественно гонии и мейоциты, в условиях кислотного воздействия происходило уменьшение фонда половых клеток и, как следствие, уменьшение объема яичников. В отличие от этого, кислотное воздействие на рыб после формирования генерации превителлогенных ооцитов, не оказало заметного влияния на гонадо- и гаметогенез.

С учетом полученных данных вновь стал актуальным анализ долгосрочных последствий перенесенного в раннем возрасте сублетального токсического воздействия. Эти эксперименты были выполнены на мозамбикской тилапии. Использование в работе именно тилапии предоставляло новые возможности, которых не имели в проведенных ранее работах. Во-первых, с учетом имеющихся данных (Ивойлов, 1986), ожидали, что полового созревания рыбы будут достигать в возрасте 5-6 мес. Во-вторых, для проведения эксперимента использовали потомство одной самки, т.е. генетически наиболее близкий материал, которое случайным образом разделили на контрольный и опытный варианты.

В первом из проведенных экспериментов доводить рыб до полового созревания не стали. Ввиду относительно небольшой исходной численности мальков и их значительной (около 34%) гибели при сублетальном кислотном воздействии, рыб в опыте оказалось недостаточно. Можно отметить, что доля половых клеток разных периодов развития у контрольных и подопытных рыб как непосредственно после окончания воздействия, так и впоследствии оказалась сходной. Недостовверное уменьшение числа половых клеток у подопытных самок в возрасте 50 сут сменилось их недостоверным увеличением в возрасте 150 сут, т.е. число половых клеток у контрольных и подопытных рыб не различалось (табл. 4.3). Вместе с тем, результаты этого эксперимента, совместно с другими аналогичными опытами, в том числе приведенными ранее в диссертационной работе (Зеленников, 1994а), позволяют не только иначе планировать продолжение исследований, но и по новому взглянуть на результаты ряда работ, где были использованы выборки самок мозамбикской тилапии в 2-3 экз. (Чмилевский, 1982; 1985; Зеленников, 1993).

Таблица 4.3.

Состояние яичников у самок мозамбикской тилапии после кислотного воздействия в возрасте от 20 до 50 сут (опыт 17)

Возраст	Контроль Опыт	Число рыб	Масса рыб, г	Коэффициент зрелости	Половых клеток на один срез	Число, %				Диаметр ооцитов, мкм
						Гониев	Ооцитов периода			
							РПМ	ПВ	В	
50	К-ль	2	0,34±0,06	—	17,4±4,2	42,0	33,8	24,2	0	60±5,0
	Опыт	2	0,20±0,07	—	15,4±0,9	33,5	42,2	24,3	0	49±4,1
90	К-ль	2	5,8±0,4	0,19±0,01	95,4±15,5	27,1	27,6	45,3	0	175±9,1
	Опыт	4	4,2±0,4	0,10±0,03	77,2±5,3	27,9	26,8	45,3	0	134±3,0
150	К-ль	3	15,4±2,1	0,19±0,01	56,1±27,4	26,4	19,8	52,0	1,8	320±17,1
	Опыт	3	18,0±2,3	0,15±0,02	83,1±10,5	28,4	22,9	48,7	0	293±29,1

В следующей серии экспериментов подопытных рыб поместили в кислотную среду в возрасте 22 сут, когда по нашим и литературным данным ооциты старшей генерации в возрасте 30-40 сут должны были перейти в период превителлогенеза (Чмилевский, 1995; Зеленников, 1997). Действительно, в возрасте 45 сут ооциты периода превителлогенеза присутствовали у всех как контрольных (рис. 4.3А), так и подопытных самок. Впрочем, у всех рыб это были единичные клетки (рис. 4.3Б). Основу репродуктивного фонда по-прежнему составляли гонии и ооциты периода ранней профазы мейоза.

В возрасте 60 сут состояние яичников у контрольных и подопытных самок тилапии весьма существенно различалось. У одних особей на поперечных срезах можно было видеть лишь одиночные ооциты (рис. 4.3В) у других – более многочисленные (рис. 4.3Г). При этом какая-либо связь между числом ооцитов периода превителлогенеза и массой рыб не прослеживалась. Так, минимальное число клеток – в среднем 1,67 на срез – было выявлено у самой крупной контрольной особи массой 268 мг. У самок с наиболее многочисленными ооцитами периода превителлогенеза наблюдали их подразделение на несколько генераций (рис. 4.3Д).

Масса подопытных рыб была несколько меньше, чем масса самок в контроле, причем в опыте 17.2 – достоверно. Впрочем, уже непосредственно во время воздействия, наблюдали не только восстановление темпа роста подопытных рыб, но и его ускорение. Такая же ситуация была отмечена нами при работе с тилапией и ранее (Зеленников, 1993). При этом как площадь гонад на поперечных срезах, так и число половых клеток во всех случаях у подопытных рыб оказались больше, чем у рыб в контроле. Различия преимущественно были недостоверными, что объясняется небольшим объемом выборок

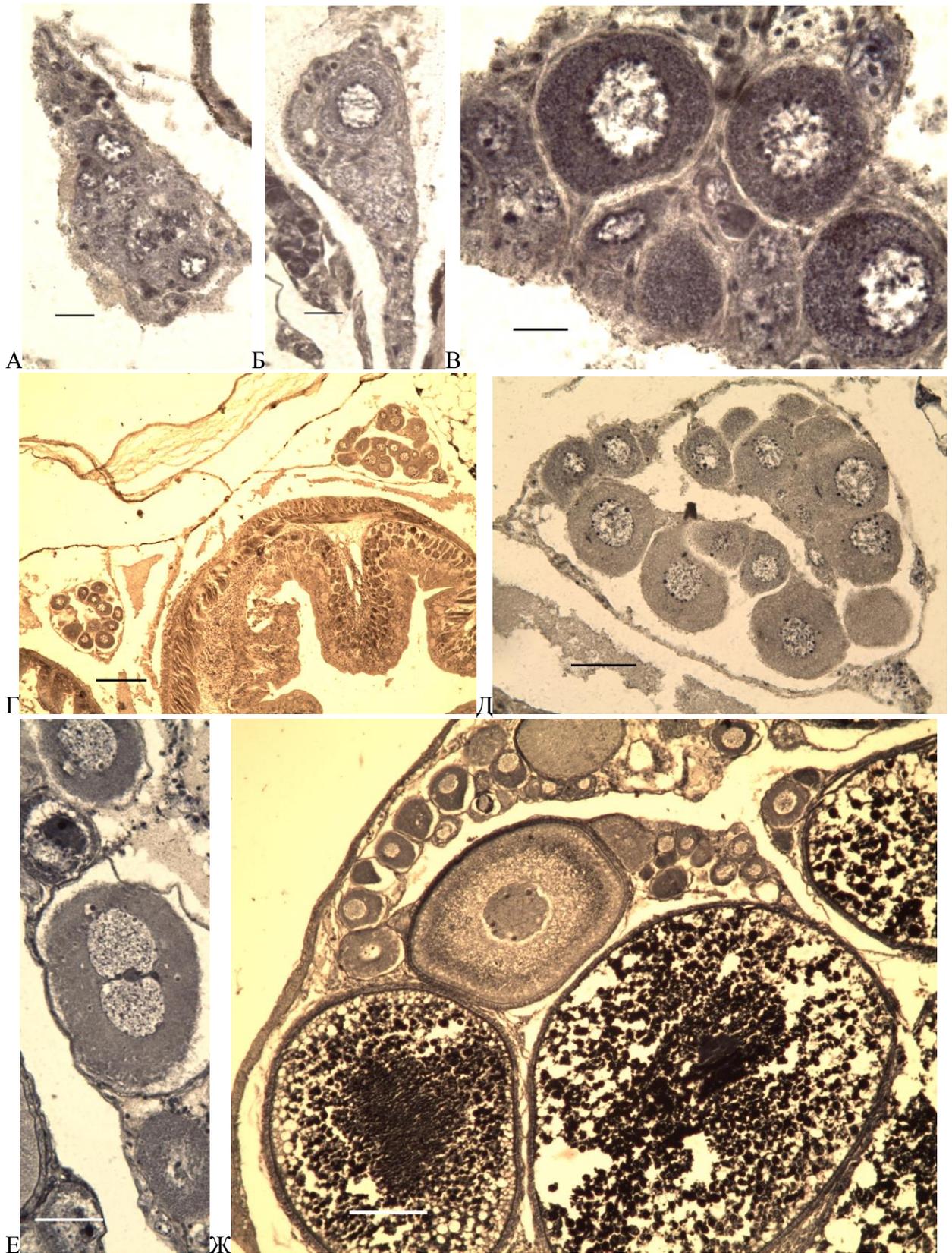
при сравнительно большой вариабельности значений. Однако число ооцитов периода превителлогенеза и их доля у рыб в варианте с наиболее продолжительным воздействием оказались достоверно больше (табл. 4.4). Притом, что диаметры ооцитов у контрольных и подопытных рыб были практически одинаковыми.

Эксперимент прекратили в возрасте 171 сут, т.е. в тот день, когда выявили половое созревание и нерест двух первых особей (одна в контроле, вторая в опыте 17.2). Всех рыб зафиксировали, руководствуясь при этом несколькими соображениями. Во-первых, предполагали, что все имеющиеся самки были близки к половому созреванию. Во-вторых, сам нерест у тилапий это сложный поведенческий акт в значительной мере зависимый от наличия активных самцов. В третьих, была опасность «потерять» икру у самок, нерестящихся впервые.

Как и предполагалось с учетом ранее полученных данных, подопытные рыбы после прекращения на них воздействия росли быстрее контрольных. В результате в возрасте 171 сут масса подопытных самок в обоих вариантах была достоверно больше, чем контрольных (табл. 4.4). При этом сама масса рыб в период с 60 до 171 сут в контроле увеличилась в 70, а в опытных вариантах в 113 и 144 раза.

Состояние яичников у самок в контроле существенно различалось и не зависело от длины и массы рыб. Если масса самок варьировала от 9,5 до 17,8 г, то масса гонад – от 80,0 до 681,2 мг (табл. 4.5). Это было связано с явной асинхронностью полового созревания. И хотя ооциты старшей генерации у всех рыб были в периоде вителлогенеза (рис. 4.3Е), их размеры существенно различались, а сами гонады находились в III, IV и V стадиях зрелости. Как известно, самки мозамбикской тилапии являются постоянно нерестящимися рыбами. При удовлетворительных условиях содержания, достигнув половой зрелости, они нерестятся через каждые 30-40 сут. В результате, в их гонадах можно видеть ооциты разных генераций, в том числе и вителлогенные (рис. 4.3Д, Е). Это обстоятельство несколько затрудняет определение численности старшей генерации. Но поскольку сами гонады после фиксации приобретают значительную твердость, то ооциты в основном крупнее миллиметра (рис. 4.4) доступны для визуального подсчета.

Состояние яичников у подопытных самок было таким же, как и у самок в контроле. Сходным был диапазон варьирования массы гонад и коэффициента зрелости (табл. 4.5). Как и в контроле, самки в подопытных вариантах достигали полового созревания не одновременно, а темп их созревания не был связан с темпом роста самих рыб. Вместе с



**Рис. 4.3.** Состояние яичников у самок мозамбикской тиляпии в возрасте 45 (А, Б), 60 (В, Г, Д) и 171 сут (Е, Ж). Можно видеть начало подразделения ооцитов на несколько генераций (Д) и двухъядерные ооциты (Е). Шкала А-В = 20 мкм, Д, Е = 50 мкм, Г, Ж = 100 мкм.

Таблица 4.4

Состояние яичников у мозамбикской тиляпии в возрасте 60 сут. подвергнутых кислотному воздействию в возрасте 22-45 сут (Опыт 18.1) и 22-60 сут (Опыт 18.2). Над чертой – среднее значение показателя и его ошибка, под чертой – предел варьирования показателя, третья строка – коэффициент вариации, %

Вариант	Число рыб	Масса рыб, мг	Длина рыб L, мм	Площадь поперечных срезов гонад, мм <sup>2</sup> ×10 <sup>-3</sup>	Число на 1 поперечный срез яичников				Диаметр ооцитов, мм
					Всех половых клеток	Гониев и ооцитов РПМ	Ооцитов периода ПВ, шт	Ооцитов периода ПВ, %	
Контроль	8	<u>183,0±21,7</u> 84-268 33,5	<u>22,9±0,8</u> 19,0-26,0 10,0	<u>15,50±2,46</u> 7,31-24,33 43,8	<u>6,72±0,68</u> 3,67-9,83 28,7	<u>3,27±0,66</u> 1-6 56,9	<u>3,45±0,42</u> 1,67-5,67 34,8	<u>53,8±6,8</u> 23,9-75,0 35,8	<u>44,3±2,8</u> 22,1-58,3 18,7
Опыт 18.1	11	<u>164,4±13,6</u> 105-282 27,5	<u>21,9±0,5</u> 19,5-26,0 7,8	<u>15,62±3,25</u> 6,35-44,12 68,1	<u>8,07±1,00</u> 3,17-13,33 41,0	<u>3,57±0,52</u> 0,83-6,33 48,7	<u>4,48±0,81</u> 0,67-10,00 59,8	<u>54,8±5,7</u> 11,2-75,0 34,6	<u>46,6±4,7</u> 21,2-63,2 23,9
Опыт 18.2	6	<u>126,4±22,1</u> 77-200 39,1	<u>19,8±1,1</u> 17,5-23,5 12,4	<u>25,53±7,72</u> 13,32-55,47 67,6	<u>9,57±2,14</u> 4,00-16,5 49,9	<u>2,27±0,55</u> 0,67-3,50 54,7	<u>7,30±1,82</u> 3,33-13,00 55,6	<u>75,1±5,0</u> 61,8-87,0 15,0	<u>48,2±3,7</u> 24,1-62,2 23,0

Таблица 4.5

Состояние яичников у мозамбикской тилапии в возрасте 171 сут. подвергнутых кислотному воздействию в возрасте 22-45 сут (Опыт 18.1) и 22-60 сут (Опыт 18.2). Над чертой – среднее значение показателя и его ошибка, под чертой – предел варьирования показателя, третья строка – коэффициент вариации, %

Вариант	Число рыб	Масса рыб, г	Длина рыб L, мм	Масса гонад, мг	Коэффициент зрелости, %	Число ооцитов в навеске 30 мг	Диаметр ооцитов, мм	Численность ооцитов старшей генерации
Контроль	13	$\frac{12,9 \pm 0,6}{9,5-17,3}$ 17,8	$\frac{91,7 \pm 1,4}{84-102}$ 5,6	$\frac{408,5 \pm 47,7}{80,0-681,2}$ 42,1	$\frac{3,08 \pm 0,30}{0,57-4,21}$ 35,4	$\frac{18,0 \pm 6,04}{8,3-88,6}$ 120,6	$\frac{1,51 \pm 0,10}{0,75-1,89}$ 23,3	$\frac{153,3 \pm 10,5}{96,6-226,1}$ 24,6
Опыт 18.1	11	$\frac{18,6 \pm 0,3}{17,2-20,1}$ 4,7	$\frac{102,7 \pm 0,4}{100-104}$ 1,2	$\frac{474,3 \pm 64,3}{156,5-791,6}$ 45,3	$\frac{2,55 \pm 0,34}{0,78-4,23}$ 44,7	$\frac{27,2 \pm 7,6}{8,2-70,0}$ 92,4	$\frac{1,31 \pm 0,12}{0,71-1,79}$ 29,4	$\frac{274,2 \pm 29,8}{116,9-470,4}$ 36,1
Опыт 18.2	13	$\frac{18,3 \pm 2,9}{13,3-22,3}$ 15,6	$\frac{101,6 \pm 1,5}{91-107}$ 5,0	$\frac{596,6 \pm 54,0}{210,3-816,9}$ 31,2	$\frac{3,24 \pm 0,23}{1,09-4,21}$ 24,3	$\frac{17,6 \pm 6,2}{5,8-84,6}$ 121,8	$\frac{1,53 \pm 0,09}{0,69-1,93}$ 21,1	$\frac{247,5 \pm 35,2}{113,1-550,2}$ 50,1

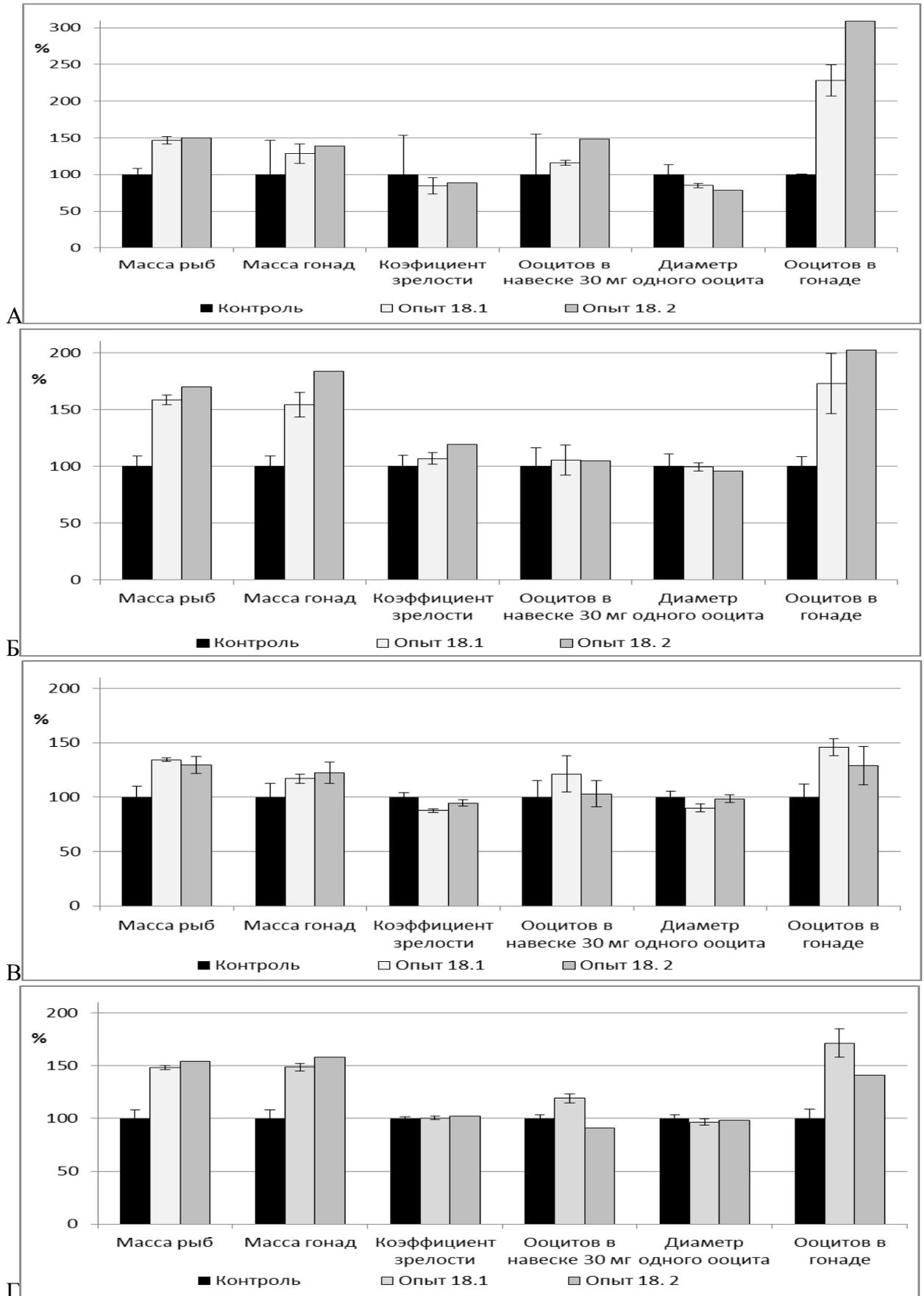


**Рис. 4.4.** Яичники у самок мозамбикской тилапии в возрасте 171 сут в опыте 18.1 (А) и 18.2 (Б), зафиксированные в жидкости Буэна.

тем, число ооцитов старшей генерации у подопытных самок было достоверно больше, чем у самок в контроле.

Поскольку самки в контроле и опыте внутри каждого варианта существенно различались по уровню зрелости, мы разделили контрольных и подопытных рыб обоих вариантов на 4 группы. Первую группу составили самки с коэффициентом зрелости  $\leq 2$ , вторую –  $\leq 3$ , третью –  $\leq 4$  и четвертую –  $> 4$  (%). Таким образом, первые группы контрольных и подопытных рыб составили самки, наиболее далекие от полового созревания (рис. 4.5А), а четвертые группы – особи, наиболее близкие к созреванию и нересту (рис. 4.5Г). Все данные для контрольных рыб приняты за 100%. Данные для подопытных рыб, а также значения статистических ошибок были пересчитаны в процентных значениях относительно данных контрольных рыб.

Можно видеть, что масса подопытных рыб в каждой из групп зрелости больше, чем в контроле. Соответственно массе тела у подопытных рыб во всех вариантах была больше и масса гонад (рис. 4.5). Следующие же три показателя – коэффициент зрелости, число ооцитов в навеске 30 мг и диаметр одного ооцита у контрольных и подопытных особей были сходными (рис. 4.5). На этом фоне особенно наглядно видно, что у подопытных рыб,



**Рис. 4.5.** Состояние яичников у самок мозамбикской тилляпии в возрасте 171 сут с коэффициентом зрелости до 2 (А), до 3 (Б), до 4 (В) и свыше 4% (Г). Пояснение в тексте.

в каждом из уровней состояния гонад, число ооцитов старшей генерации было меньше (рис. 4.5; последние столбцы).

Подводя итоги, мы можем заключить, что кислотное воздействие оказало не столько негативное, сколько скорее стимулирующее влияние на развитие яичников и формирование старшей генерации ооцитов у тилапии. При этом увеличение числа половых клеток, выявленное нами у подопытных самок в возрасте 60 сут, сохранилось у них вплоть до полового созревания.

#### **4.2. Влияние пониженной температуры на развитие гонад у молоди кеты**

Говоря о влиянии условий обитания на формирование фонда ооцитов периода превителлогенеза у молоди рыб, а в конечном итоге – на величину абсолютной плодовитости у производителей, нельзя не рассмотреть дифференциальную чувствительность половых клеток. Так, согласно данным литературы, облучение мозамбикской тилапии в дозе 350 рентген в период, когда репродуктивный фонд был представлен только первичными половыми клетками, после их массовой гибели привел к полному восстановлению репродуктивного фонда у подопытных рыб (Чмилевский, 1978), а в дальнейшем и к увеличению у них величины абсолютной плодовитости (Тыонг, 1970). Если такое же воздействие совпадало с началом анатомической и цитологической дифференцировки пола, то впоследствии восстановления численности репродуктивного фонда не происходило, а часть рыб оказывалась стерильной (Чмилевский, 1985; 2017). Эти данные показывают, что одинаковое воздействие на молодь рыб при различном исходном состоянии гонад может привести к разной динамике в развитии репродуктивного фонда. Очевидно, что рентгеновское облучение является очень удобным для выявления дифференциальной чувствительности половых клеток. Оно дает возможность, во-первых, точно дозировать воздействие, во-вторых, точно воздействовать именно на клетки нужного состояния. В отличие от этого, другие факторы, например пониженная температура воды, захватывает, как правило, несколько этапов в развитии половых клеток. Вместе с тем, как уже отмечалось ранее, облучение вызывает как опосредованное, так и прямое воздействие на репродуктивный фонд в отличие от обычных экологических факторов, оказывающих только опосредованное влияние.

Преследуя цель объединить в анализе весь массив литературных данных, мы провели серию опытов, в ходе которых воздействовали пониженной температурой воды

на молодь кеты. Выбор кеты в качестве экспериментального объекта был обусловлен целым комплексом взаимодополняющих друг друга обстоятельств. Во-первых, у кеты отмечен сравнительно продолжительный период раннего оогенеза, более длительный, чем у горбуши, что позволяло начать и завершить воздействие в течение одного периода развития половых клеток старшей генерации. С другой стороны, у молоди кеты, как и у молоди горбуши, в ходе эмбрионального и личиночного периодов развития в гонадах развиваются все клетки раннего оогенеза – гонии, ооциты периодов ранней профазы мейоза и превителлогенеза. Таким образом, на рыб можно было оказывать температурное воздействие до начала их кормления, что значительно облегчало методику проведения экспериментов. Однако, несмотря на то, что изучению раннего гаметогенеза кеты посвящено много исследований (Robertson, 1953; Долбенская, 1984; Лукина и др., 1988; Седова и др., 2008; Коломыцев и др., 2018 и другие), в области репродуктивной биологии молодь этого вида ранее не становилась объектом экспериментальных работ. И, наконец, возможные данные могли бы иметь дополнительную практическую ценность. Как известно, в настоящее время в практику рыбоводства широко входит программа отолитного маркирования, предусматривающая относительно кратковременное температурное воздействие на зародышей. Ее использование открывает широкие перспективы для исследования миграции рыб (Agler et al., 2001; Kawana et al, 2001; Joyse, Evans, 2011; Чистякова, Бугаев, 2016) и позволяет на новом уровне решать вопрос об эффективности работы рыбоводных заводов (Стекольщикова, 2015; Мякишев и др., 2019; Зеленников, Мякишев, 2020). Однако у специалистов возникает вопрос, как температурные манипуляции отразятся на развитии молоди кеты и в том числе на реализации ее единственного в жизни периода полового созревания.

Всего было проведено шесть вариантов опыта (опыты 21.1-21.6), в которых зародышей и личинок при различном состоянии гонад в течение двух недель выдерживали при пониженной температуре 1,3-1,8°C. Контрольных рыб, а также подопытных особей до и после завершения воздействия содержали в разных отсеках одной инкубационной системы при температуре 9,9-12,0°C. Результаты работы были подведены в возрасте 112 сут, через 50 сут после окончания экспериментального воздействия в последнем варианте.

После перемещения зародышей и личинок кеты в воду с пониженной температурой, их рост практически прекращался во всех вариантах. После завершения воздействия темп роста подопытных рыб восстанавливался, однако дефицит массы тела, возникший в ходе воздействия, не был компенсирован. В результате масса подопытных

рыб всегда была меньше, чем масса контрольных, вплоть до окончания эксперимента. Отставание в массе тела зависело от периода, в течение которого молодь выдерживали при пониженной температуре. Меньше всего от контрольных рыб по массе тела отставали подопытные особи в варианте 1, которых выдерживали при пониженной температуре в период эмбрионального развития (рис. 4.6А). Более значительным было уменьшение массы тела у рыб в вариантах 2 и 3, которых выдерживали при пониженной температуре после вылупления. И наконец, наибольшее отставание по массе тела выявили у особей в вариантах 4, 5 и 6, выдержанных при пониженной температуре во второй половине постэмбрионального периода в возрасте от 28 до 62 сут (рис. 4.6А). Изменению массы тела соответствовало изменение массы яичников (рис. 4.6Б).

То, что при пониженной температуре воды произойдет замедление темпа роста зародышей и личинок кеты, конечно, предполагалось. При этом чем выше была скорость роста рыб, тем больше были различия по массе тела между контрольными и подопытными особями в момент завершения периода воздействия. Предполагалось и то, что после пребывания в воде с пониженной температурой возникший дефицит массы у подопытных рыб не будет компенсирован при дальнейшем содержании контрольных и подопытных особей в сходных условиях. Такой же результат был получен ранее на молоди радужной форели после выдерживания рыб при сублетальной кислотности воды (Зеленников, 1997).

За 9 сут до массового вылупления гонады всех зародышей были сформированными, обособленными и располагались рядом с первично-почечными протоками. Половые клетки были представлены исключительно гониями в количестве 1-3 на поперечный срез (рис. 4.7А), которые размножались митотически (рис. 4.7Б). Вскоре после вылупления у личинок кеты произошла дифференцировка пола и уже в возрасте 10 сут, помимо гониев в яичниках присутствовали ооциты периода ранней профазы мейоза (рис. 4.7В). К возрасту 25 сут увеличилась доля ооцитов стадии пахитены (рис. 4.7Г) и к возрасту 37 сут появились ооциты ранней диплотены, или начала периода превителлогенеза (рис. 4.7Д).

В дальнейшем доля ооцитов периода ранней профазы мейоза уменьшалась, а доля превителлогенных ооцитов увеличивалась (рис. 4.7Е), с формированием их единственной генерации (рис. 4.7Ж). Отметим, что состояние половых желез у рыб в каждом возрасте было сходным; при появлении ооцитов периодов ранней профазы мейоза и превителлогенеза эти клетки присутствовали в гонадах всех изученных рыб.

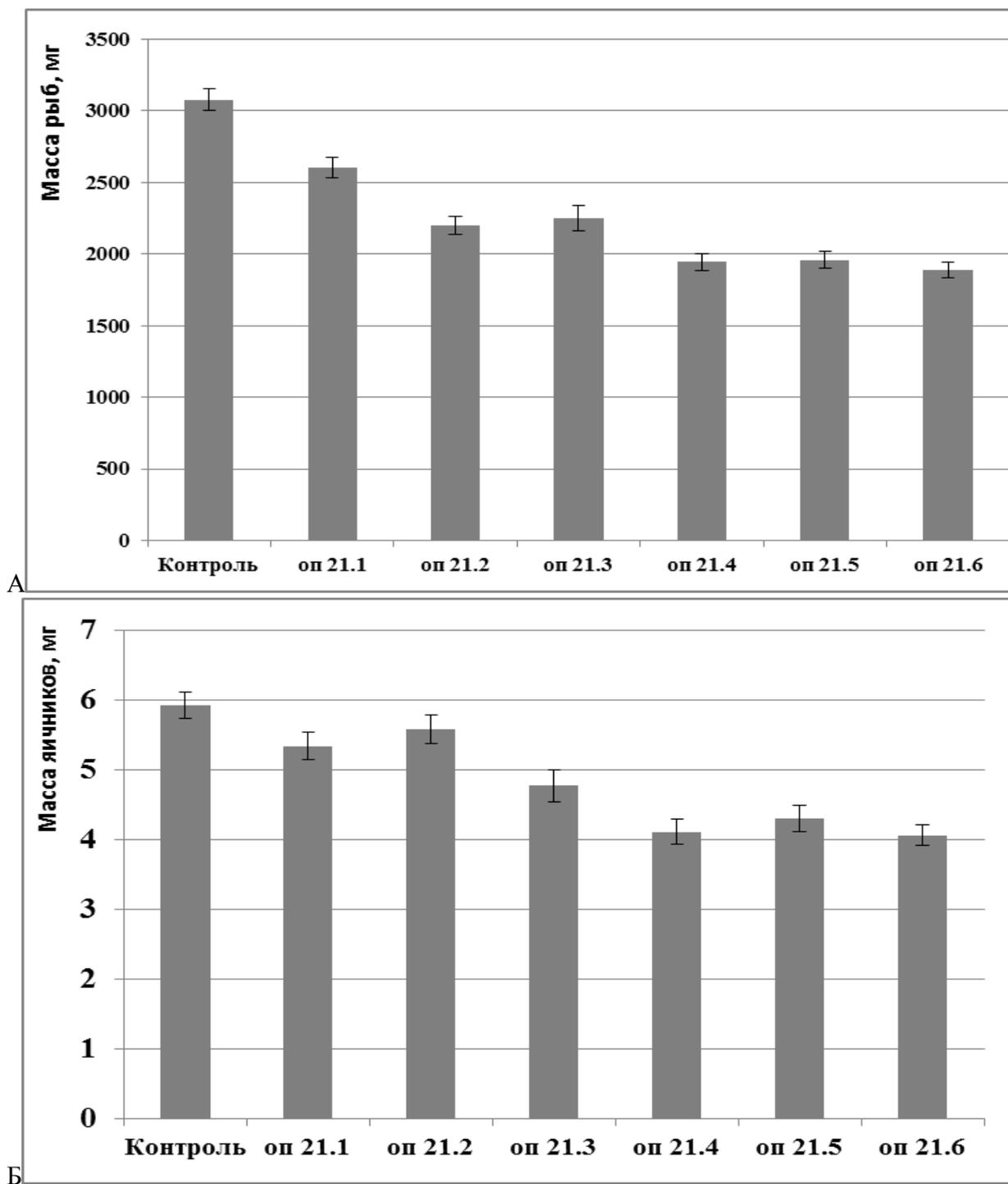
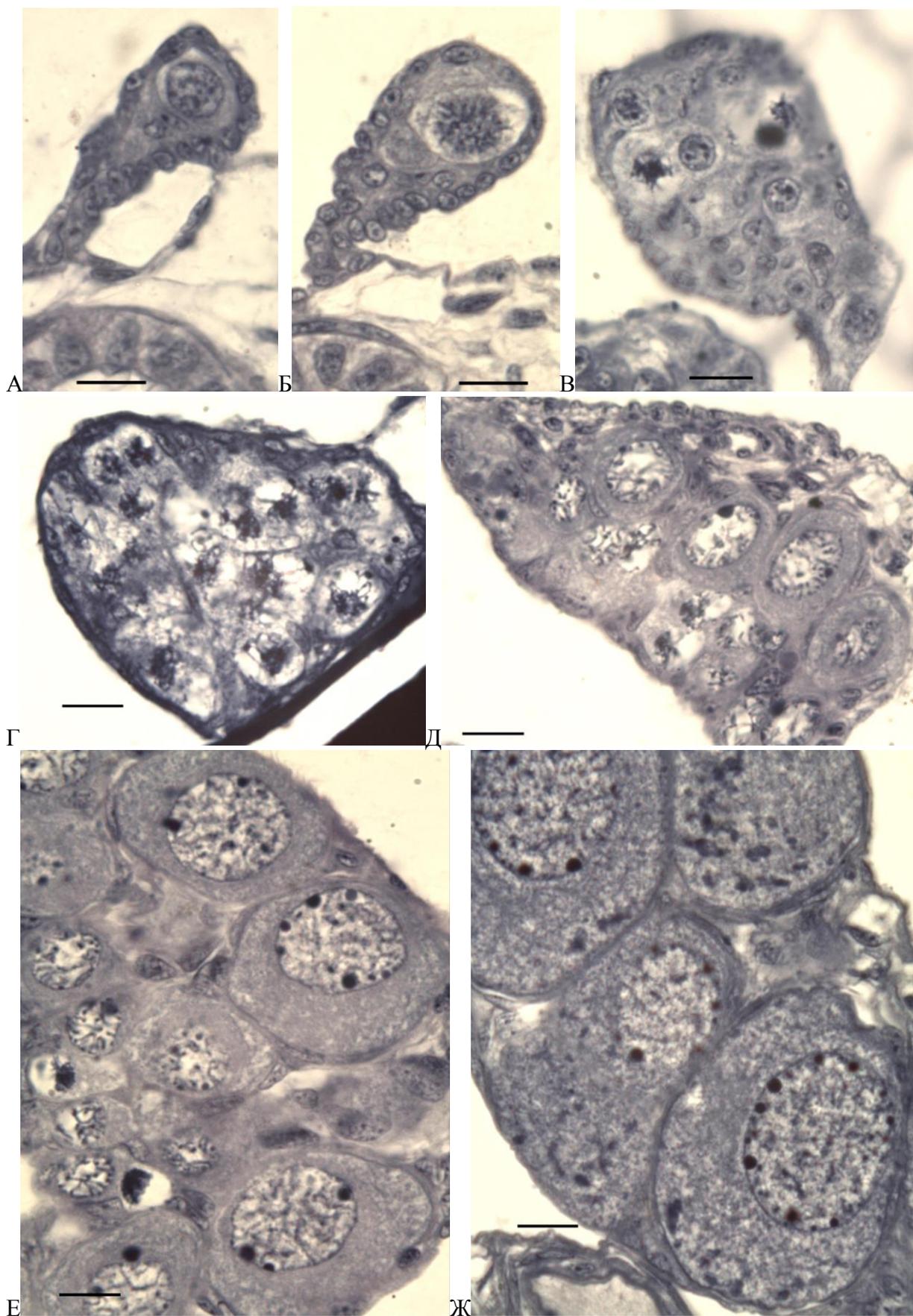


Рис. 4.6. Масса тела (А) и яичников (Б) у молоди кеты в возрасте 112 сут после выдерживания при пониженной температуре на различных этапах эмбрионально-личиночного развития. Различия с контролем достоверны во всех случаях, кроме опыта 21.2 (Б).



**Рис. 4.7.** Состояние яичников у зародышей и личинок кеты за 9 сут до вылупления (А, Б), и в возрасте 10 (В), 25 (Г), 37 (Д), 42 сут (Е), и 62 (Ж) сут при выращивании в лаборатории при температуре от 10 до 12°C. Масштаб = 20 мкм.

Таким образом, в момент начала воздействия пониженной температурой в вариантах 1 и 2 в гонадах зародышей кеты присутствовали только гонии; в вариантах 3 и 4 старшую генерацию половых клеток составляли ооциты периода ранней профазы мейоза, а в вариантах 5 и 6 – ооциты периода превителлогенеза. В каждом варианте состояние гонад в момент окончания воздействия было практически таким же, как и при его начале, а половые клетки старшей генерации не переходили в следующий период развития. Так, в возрасте 10 сут у рыб контрольного варианта в яичниках уже присутствовали ооциты периода ранней профазы мейоза, а у подопытных рыб в опыте 21.2 в возрасте 14 сут, которых содержали при пониженной температуре, фонд половых клеток по-прежнему составляли только гонии. В возрасте 37 сут у рыб контрольного варианта в яичниках уже присутствовали ооциты начала периода превителлогенеза, а у рыб в опыте 21.4 в возрасте 42 сут по-прежнему – только мейоциты.

Сравнительный анализ состояния яичников у рыб был проведен в возрасте 112 сут, через 50 сут после окончания воздействия на рыб в последнем варианте (опыт 21.6). В течение этого периода масса рыб в контроле возросла почти в три раза – в среднем с 1172,3 мг до 3079,4. Такой же темп роста наблюдали и у подопытных особей. В результате масса и длина подопытных рыб оказались меньше, чем у контрольных (табл. 4.6). Соответственно массе тела, масса яичников у подопытных рыб и их площадь на поперечных срезах оказались меньше; ранее мы отмечали, что эти два показателя тесно коррелируют друг с другом (Зеленников, 1997). Вместе с тем, состояние фонда половых клеток у контрольных и подопытных рыб оказалось практически одинаковым. У всех рыб в гонадах присутствовала генерация сходных по размеру ооцитов периода превителлогенеза (рис. 4.8А), хотя у рыб присутствовали, в том числе и заметными группами, половые клетки более ранних этапов развития – гонии и мейоциты (рис. 4.8Б).

Число приходящихся в среднем на один срез превителлогенных ооцитов и общее число половых клеток у рыб разных вариантов не различалось, а у подопытных самок, за исключением варианта 6, было даже больше, чем у рыб в контроле. Практически одинаковыми у рыб всех вариантов были и размеры ооцитов периода превителлогенеза (табл. 4.6).

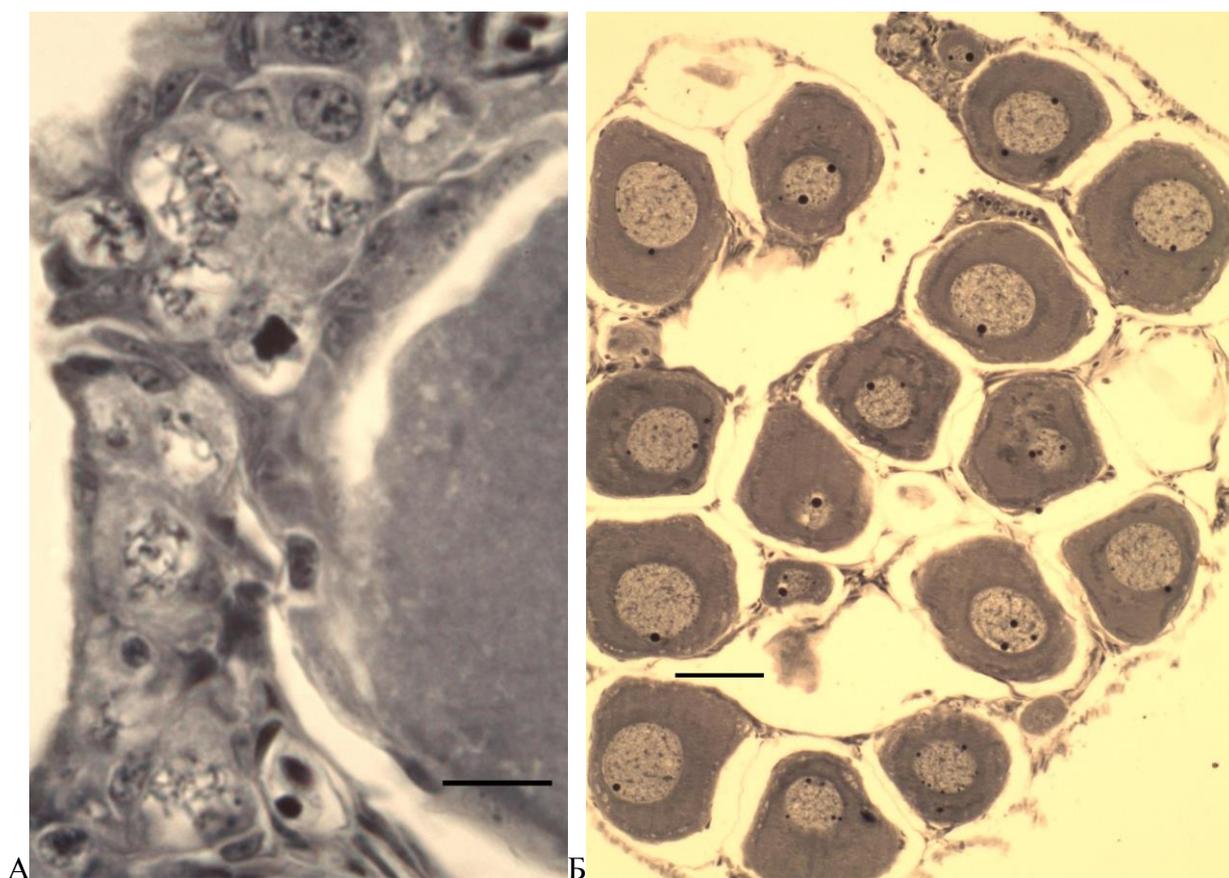
По совокупности полученных данных мы можем заключить, что, с одной стороны, у подопытной молоди кеты в период выдерживания при пониженной температуре воды произошли именно те изменения, которые и ожидали с учетом данных, имеющих в литературе: замедление темпа роста рыб, уменьшение объема и массы яичников,

Таблица 4.6.

Состояние яичников у молоди кеты в возрасте 112 сут после воздействия пониженной температуры в разном возрасте (опыт 21.1-21.6)

(над чертой –  $M \pm m$  под чертой –  $\text{lim}$ ); \* – различия с контролем достоверны ( $p < 0,05$ )

Вариант	Число рыб, экз.	Масса рыб, мг	Длина рыб, мм	Масса гонад, мг	Площадь среза гонад, $\times 10^{-3} \text{ мм}^2$	Число на срез яичника		Диаметр ооцитов, мкм
						ооцитов периода превителлогенеза	всех клеток	
Контроль	26	<u>3164,2±171,5</u>	<u>68,8±1,36</u>	<u>6,1±0,22</u>	<u>231,6±11,8</u>	<u>11,8±0,52</u>	<u>13,1±0,91</u>	<u>106,9±1,8</u>
		1600-4690	53,0-80,0	4,5-9,0	127 - 360	6,5-18,0	7,5-25,5	91,2-127,8
Опыт 21.1	10	<u>2603,0±257,4</u>	<u>66,1±2,01</u>	<u>5,3±0,40</u>	<u>198,0±12,4</u>	<u>12,7±1,06</u>	<u>14,6±1,06</u>	<u>108,6±2,2</u>
		1450-4400	53,0-77,0	4,0-8,0	134 - 260	8,0-19,0	8,5-19,5	99,0-119,4
Опыт 21.2	19	<u>2243,2±139,0*</u>	<u>65,0±1,17</u>	<u>5,6±0,24</u>	<u>226,8±18,1</u>	<u>13,9±0,92*</u>	<u>14,3±0,94</u>	<u>111,8±1,7</u>
		1150-3250	57,0-73,0	4,0-7,5	90 - 416	9,0-23,5	9,0-23,5	97,5-122,4
Опыт 21.3	9	<u>1935,6±119,9*</u>	<u>61,2±1,08*</u>	<u>4,6±0,2*</u>	<u>158,4±11,9*</u>	<u>11,9±1,26</u>	<u>16,4±2,52</u>	<u>110,4±2,3</u>
		1560-2670	58,0-67,0	4,0-5,5	118 - 208	8,0-18,0	8,0-34,0	101,4-124,2
Опыт 21.4	19	<u>1926,8±89,3*</u>	<u>61,3±0,84*</u>	<u>3,9±0,18*</u>	<u>156,0±9,0*</u>	<u>13,5±0,75</u>	<u>17,5±1,28</u>	<u>100,6±2,4*</u>
		1490-2900	56,0-72,0	2,5-5,0	90 - 230	9,0-20,0	11,5-34,0	76,2-114,6
Опыт 21.5	18	<u>1978,9±148,0*</u>	<u>61,3±1,28*</u>	<u>4,3±0,31*</u>	<u>158,4±31,6*</u>	<u>11,9±0,54</u>	<u>15,2±1,04</u>	<u>107,2±2,6</u>
		1170-3000	52,0-70,0	3,0-7,5	112 - 230	8,0-17,0	9,0-25,0	87,0-130,8
Опыт 21.6	19	<u>2022,1±146,9*</u>	<u>59,0±1,24*</u>	<u>4,2±0,23*</u>	<u>158,4±10,1*</u>	<u>11,2±0,65</u>	<u>12,2±0,74</u>	<u>101,6±2,3</u>
		840-3190	49,0-68,0	2,5-6,0	78 - 266	5,5-15,0	5,5-16,5	84,0-121,2



**Рис. 4.8.** Состояние яичников у кеты в возрасте 112 сут. Можно видеть многочисленные мейоциты (А) и ооциты периода превителлогенеза (Б). Масштаб А = 20, Б = 50 мкм.

замедление развития фонда половых клеток. Последствия же воздействия оказались различными. Дефицит массы тела, возникший при пониженной температуре, в дальнейшем, при содержании контрольных и подопытных рыб в одинаковых условиях, компенсирован не был. Масса яичников у подопытных рыб также оставалась меньше, чем у контрольных. Однако относительное уменьшение массы половых желез происходило исключительно за счет клеток стромы, т.е. их соматической части, не затронув в среднесрочной перспективе фонд половых клеток. Число ооцитов и их размеры, а также соотношение ооцитов разных периодов развития, у подопытных и контрольных рыб не различались спустя даже 50 сут после завершения воздействия в последнем варианте опыта. С учетом этих данных в практическом плане мы приходим к выводу, что кратковременные температурные манипуляции не отразятся на развитии фонда ооцитов у молоди кеты, даже если приведут к замедлению темпа их роста.

Полученные данные в значительной мере согласуются со сведениями, имеющимися в литературе. Известно, что пониженная температура, наряду с замедлением

темпа роста у рыб, способствует уменьшению числа ооцитов и замедлению темпа их роста (Чмилевский, 1995). Однако при дальнейшем выращивании рыб происходило восстановление фонда ооцитов, причем спустя какое-то время (разное для разных видов) состояние гонад у подопытных и контрольных самок не различалось (Чмилевский, Лаврова, 1990; Чмилевский, 2017). Такое восстановление, очевидно, является одной из составляющих надежности функционирования репродуктивной системы (Персов, 1972).

В этой связи остаётся неизвестным насколько реакция гонад у молодежи тихоокеанских лососей на внешнее воздействие соответствует реакции гонад полициклических рыб, ведь развитие фонда ооцитов у моноциклических рыб предусматривает формирование единственной генерации ооцитов, численность которой впоследствии может только сокращаться.

Несмотря на то, что тихоокеанские лососи как объекты аквакультуры и промысла всесторонне изучаются, они редко становились модельными объектами при проведении экспериментов в области репродуктивной биологии. Имеющиеся работы либо выполнены на горбуше, в связи с исследованием уникальной для лососевых рыб инверсии пола (Персов, 1967; Пахомова, Хлевная, 1986; Федоров и др., 1996), либо связаны с гормональным воздействием (Goetz et al 1979; Grant, 1990; Campbell et al., 2004 и другие). Однако с учетом даже имеющихся сведений, мы можем полагать, что надежность функционирования репродуктивной системы у тихоокеанских лососей оказывается даже выше, обеспечивая реализацию более строгой программы развития, завершающейся единственным в жизни нерестом. Так, оказывая длительное сублетальное кислотное воздействие на молодь разных видов, мы выявили снижение темпа роста ооцитов старшей генерации у молодежи радужной форели и мозамбикской тилапии (Зеленников, 1997). Как мы установили в предыдущем разделе, аналогичное воздействие на молодь горбуши не повлияло на темп роста ооцитов, хотя за время опыта привело к гибели 48,7% мальков.

#### **4.3. Экспериментальный анализ роли онтогенетических и эндокринных факторов в формировании фонда ооцитов в раннем онтогенезе рыб**

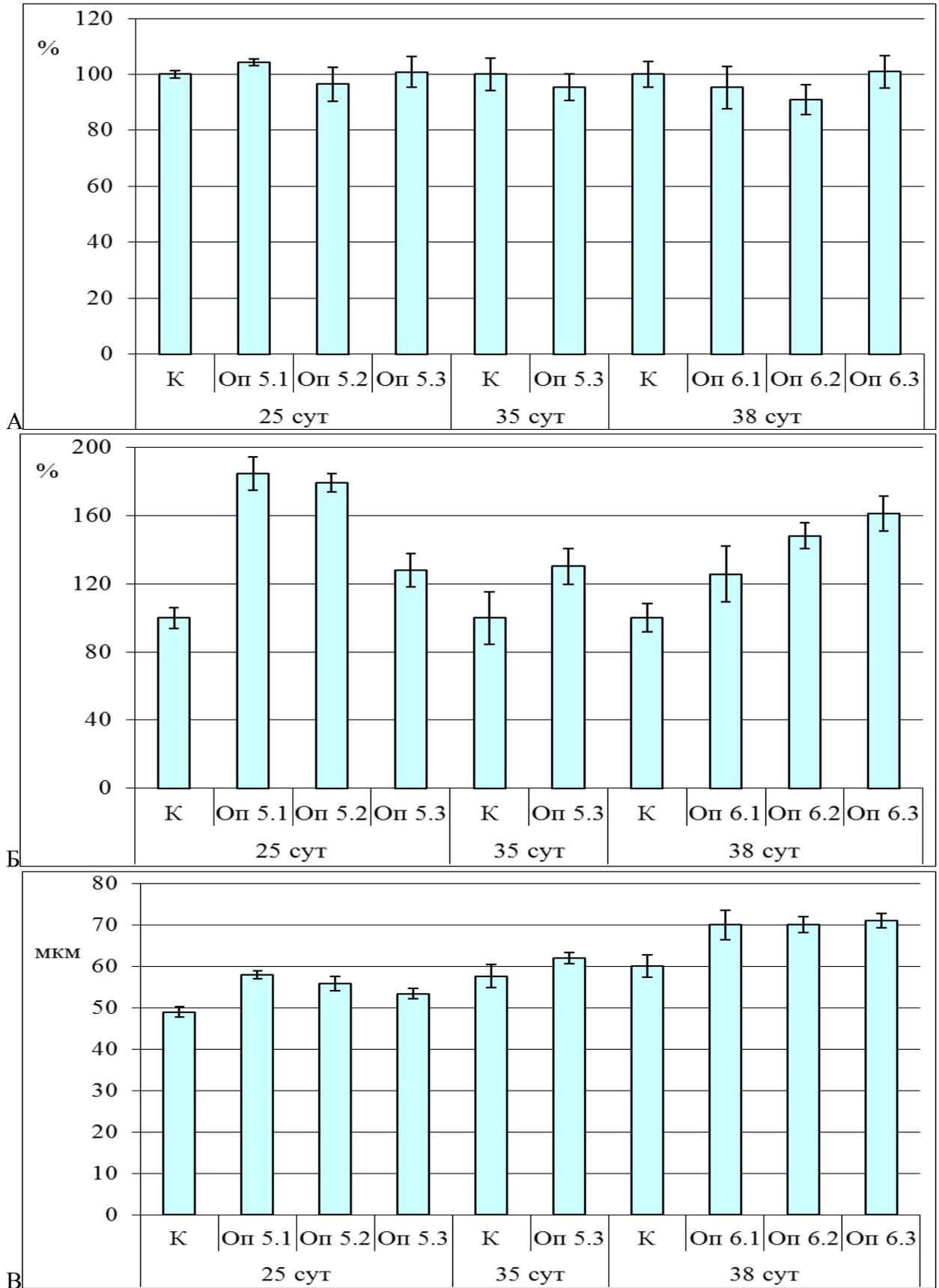
Как было показано выше, кислотная среда стимулировала увеличение репродуктивного фонда у самок форели, однако наблюдали это только до того момента, пока ооциты старшей генерации не вступили в период превителлогенеза. После этого увеличение фонда половых клеток сменилось его сокращением, что в конечном итоге привело к уменьшению величины абсолютной плодовитости. В связи с полученными фактами возникает вопрос, можно ли, оказывая на молодь рыб внешнее воздействие,

стимулировать увеличения фонда ооцитов периода превителлогенеза. Вероятно, добиться этого можно обрабатывая рыб половыми стероидными гормонами, ведь, делая инъекции эстрадиола самцам горбуши, мы предотвращали резорбцию ооцитов. Поскольку резорбция половых клеток происходит не только у мужских, но и у женских особей горбуши можно было предположить, что экзогенный эстрадиол и у самок предотвратит резорбцию, по крайней мере, части ооцитов.

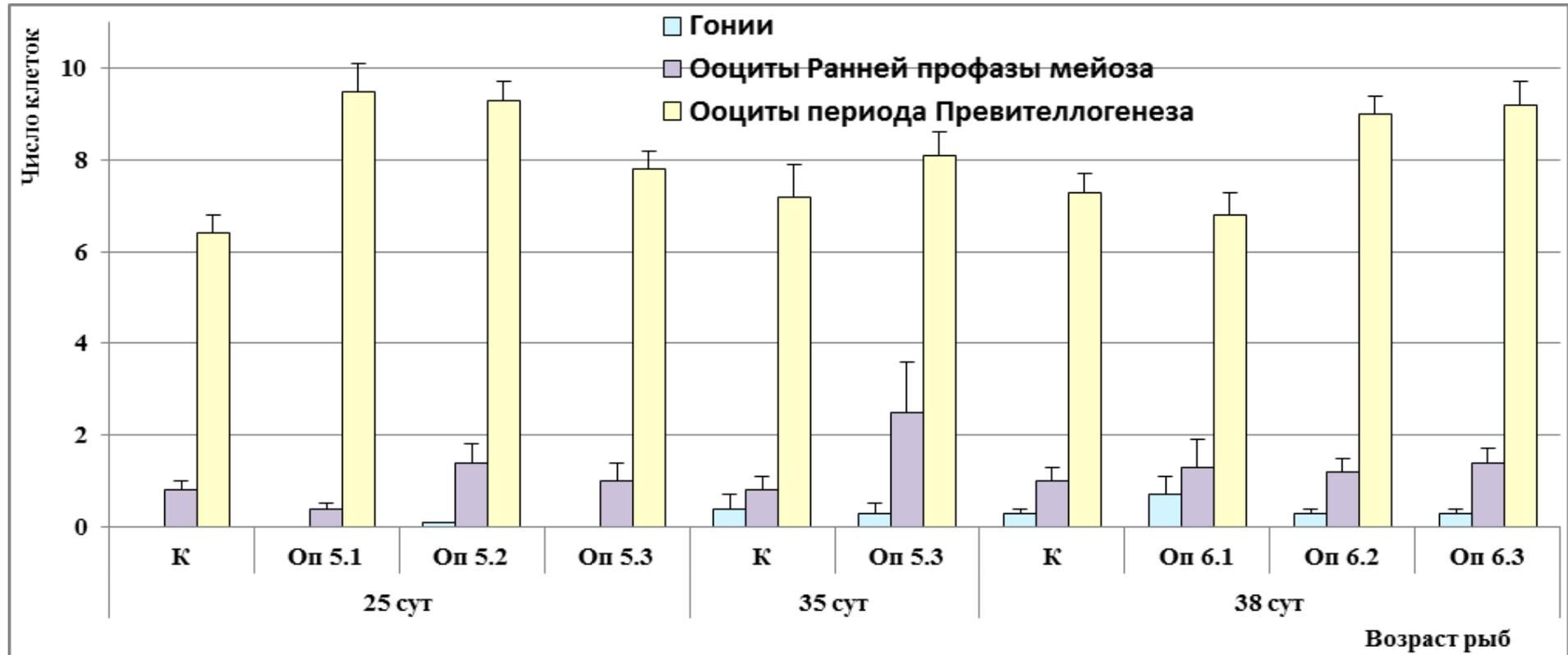
Это предположение проверяли в серии экспериментов, в которых молодь горбуши при различном состоянии гонад обрабатывали экзогенным эстрадиолом. Анализируя полученные данные, отметим, что гормональная обработка не повлияла на темп роста подопытных рыб; их масса перед каждой фиксацией не отличалась от массы тела самок в контрольных вариантах (рис. 4.9А).

Вместе с тем, гормональное воздействие привело к увеличению числа ооцитов периода превителлогенеза в яичниках самок горбуши (рис. 4.10), в результате чего объем половых желез, судя по площади их поперечных срезов, у подопытных рыб был во всех случаях больше, чем у контрольных (рис. 4.9Б). При этом следует подчеркнуть, что увеличение объема гонад было обеспечено не только за счет увеличения числа ооцитов, но и за счет их более быстрого роста; диаметр ооцитов у подопытных рыб был больше, чем у контрольных (рис. 4.9В). Как и в случае с площадью срезов гонад, различия с контролем были значительными и во всех случаях достоверными.

То, что гормональное воздействие в разных опытах было оказано при различном исходном состоянии гонад, позволяет рассмотреть онтогенетические особенности эндокринной регуляции динамики фонда половых клеток. Так, наибольшее увеличение числа ооцитов наблюдали у рыб, которым была сделана единственная инъекция в период эмбрионального развития (опыт 5.1; рис. 4.10). Вторая инъекция гормона, сделанная непосредственно после вылупления (опыт 5.2), очевидно, не усилила эффект от воздействия первой. Наконец, после трех инъекций в возрасте 1, 7 и 14 сут (опыт 5.3) в яичниках у подопытных самок было достоверно меньше ооцитов, чем у рыб в предыдущих опытах. Таким образом, очевидно, что увеличение числа ооцитов в гонадах принципиально зависит от состояния гонад в момент обработки, а не от кратности гормонального воздействия или суммарной дозы введенного гормона.

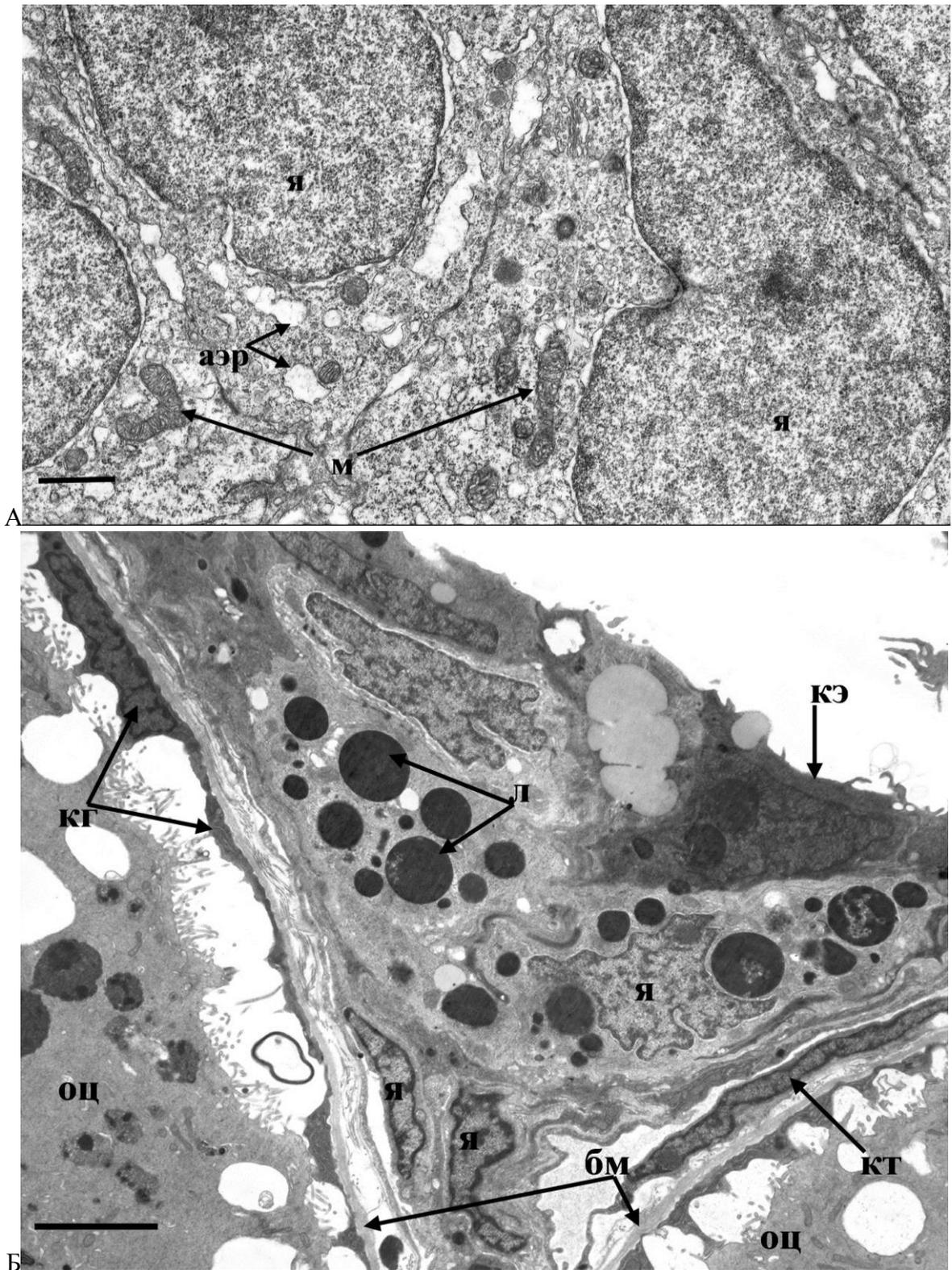


**Рис. 4.9.** Масса рыб (А; в % от контроля), площадь поперечных срезов гонад (Б; в % от контроля), диаметр ооцитов (мкм) у самок горбуши в возрасте 25 сут (опыты 5.1, 5.2 и 5.3), 35 сут (опыт 5.3) и 38 сут (опыты 6.1, 6.2 и 6.3), после инъекции эстрадиолдипропионата.



**Рис. 4.10.** Число гониев, ооцитов периода ранней профазы мейоза и периода превителлогенеза самок горбуши в возрасте 25 сут (опыты 5.1, 5.2 и 5.3), 35 сут (опыт 5.3) и 38 сут (опыты 6.1, 6.2 и 6.3), после инъекций эстрадиола-дипропионата.

Объективно, мы не можем оценить число ооцитов в гонадах у самок спустя продолжительное время после гормонального воздействия, например, в возрасте 126 сут (опыт 6.2) или 160 сут (опыт 8). Как уже было отмечено ранее, в обоих опытах в этом возрасте нет возможности отличить яичники генотипических самок от яичников всех генотипических самцов, у которых развитие ооцитов было индуцировано инъекцией эстрадиола. К тому же при длительном содержании молоди горбуши в пресной воде, в их гонадах продолжается и даже активизируется митотическая активность гониев, а также процесс инициирования новых мейотических циклов. Данные, полученные на самцах горбуши, дают основание полагать, что и у самок развитие дополнительного числа ооцитов будет осуществляться обычным образом. Впрочем, при ультраструктурном анализе гонад у контрольных и подопытных рыб мы выявили некоторое ослабление секреторной функции у подопытных особей. Стероидсекреторные клетки у них, как и у самок в контроле, были локализованы в составе теки, гранулезы и в строме гонад. По размерам клетки у подопытных и контрольных рыб не различались, однако у подопытных самок отмечено достоверное ( $p < 0,05$ ) уменьшение диаметра митохондрий в клетках, локализованных в составе теки и канальцев как агранулярной, так и гранулярной сети в клетках, локализованных в составе гранулезы (табл. 4.7). Одновременно у подопытных самок значительно увеличилось количество секреторных клеток в составе стромы гонад. В отличие от контрольных рыб, где эти клетки в строме встречались крайне редко, в яичниках подопытных самок они образовывали целые скопления между ооцитами по 5-6 клеток (рис. 4.11), и общее их количество на срезе было сравнимо с количеством стероидсекреторных клеток, локализованных в составе теки фолликулов превителлогенных ооцитов. Одновременно, достоверно возросла объемная плотность как митохондрий, так и канальцев эндоплазматической сети (табл. 4.7), что наряду с увеличением количества самих клеток в гонаде может свидетельствовать о возрастании их синтетической активности. Отметим также, что в яичниках подопытных самок, преимущественно в периферической части цитоплазмы ооцитов, значительно возрастало количество липидных включений, средний диаметр которых составил  $1,23 \pm 0,158$  мкм. В яичниках у контрольных самок липидные включения практически отсутствовали.



**Рис. 4.11.** Стероидсекреторные клетки в строме яичников у самок горбуши в возрасте 90 сут после инъекции эстрадиола в период естественной инверсии пола (А; опыт 8) и в возрасте 85 сут, после воздействия эстрадиолом с кормом (Б; опыт 10). Видны многочисленные липидные включения. Обозначения: ОЦ - ооцит, Я - ядро СК, КГ - клетки гранулезы, БМ - базальная мембрана, КТ - клетки теки, КЭ - клетки эпителия гонады, митохондрии (М) с трубчато-везикулярными кристами, каналцы агранулярного (АЭР) эндоплазматического ретикулума, Л - липиды. Шкала А = 1 мкм, Б = 3 мкм.

Таблица 4.7.

Характеристика стероидсекреторных клеток (СК) в гонадах у самок горбуши после воздействия эстрадиолом (в скобках дана объемная плотность органоидов, %)

Контроль / Опыт	Локализация СК	Размер, мкм			
		СК	ядра СК	митохондрии	канальца АЭР
<b>В возрасте 90 сут после инъекции эстрадиола-дипропионата в возрасте 14 сут (опыт 8)</b>					
Контроль	тека	<b>11,9±0,84</b> х <b>4,2±0,53</b>	<b>7,0±0,86</b> х <b>2,3±0,31</b>	<b>0,72±0,130</b> (16,1±1,35)	<b>0,17±0,015</b> (17,7±0,89)
	гранулеза	<b>14,2±1,72</b> х <b>2,3±0,35</b>	<b>6,3±0,87</b> х <b>1,5±0,33</b>	<b>0,66±0,060</b> (15,7±0,97)	<b>0,16±0,008</b> (16,2±1,07)
	строма	<b>5,0±0,68</b>	<b>3,4±0,51</b>	<b>0,46±0,053</b> (10,6±0,65)	<b>0,11±0,013</b> (11,5±0,92)
Опыт	тека	<b>12,0±1,01</b> х <b>3,7±0,56</b>	<b>6,4±0,78</b> х <b>2,1±0,34</b>	<b>0,48±0,032</b> (15,3±0,76)	<b>0,16±0,017</b> (16,5±0,98)
	гранулеза	<b>15,4±2,03</b> х <b>2,1±0,16</b>	<b>6,9±0,92</b> х <b>1,4±0,12</b>	<b>0,62±0,092</b> (16,6±0,89)	<b>0,11±0,009</b> (16,0±1,06)
	строма	<b>5,2±0,72</b>	<b>3,5±0,45</b>	<b>0,47±0,062</b> (13,8±0,55)	<b>0,16±0,017</b> (18,4±0,52)
<b>В возрасте 85 сут после воздействия эстрадиола-дипропионата с кормом с возраста 62 сут (опыт 10)</b>					
Контроль	тека	<b>12,5±0,97</b> х <b>2,9±0,47</b>	<b>8,8±1,08</b> х <b>1,9±0,37</b>	<b>0,62±0,30</b> (18,7±1,2)	<b>0,25±0,031</b> (18,9±0,9)
	гранулеза	<b>13,4±0,56</b> х <b>2,5±0,24</b>	<b>6,2±0,65</b> х <b>1,7±0,43</b>	<b>0,71±0,058</b> (12,7±1,0)	<b>0,28±0,033</b> (13,0±0,7)
	строма	<b>5,1±0,91</b>	<b>3,0±0,54</b>	<b>0,36±0,030</b> (11,6±0,6)	<b>0,16±0,016</b> (21,5±1,0)
Опыт	тека	<b>12,8±1,09</b> х <b>2,3±0,36</b>	<b>8,8±1,03</b> х <b>1,6±0,19</b>	<b>0,64±0,056</b> (19,5±0,6)	<b>0,21±0,011</b> (17,6±1,0)
	гранулеза	<b>16,1±1,17</b> х <b>2,4±0,72</b>	<b>8,0±0,89</b> х <b>1,8±0,62</b>	<b>0,61±0,078</b> (13,5±1,0)	<b>0,16±0,020</b> (11,7±0,7)
	строма	<b>10,7±1,76</b>	<b>6,2±1,15</b>	<b>0,62±1,15</b> (19,9±0,9)	<b>0,21±0,020</b> (15,5±1,2)

Возможность эстрадиола повлиять на численность ооцитов периода превителлогенеза исследовали также в опытах, когда на рыб начинали воздействовать уже после того, как в их гонадах формировалась генерация ооцитов периода превителлогенеза. В этих опытах гормон задавали с кормом.

В начале опыта 8 у самок массой от 108 до 161 мг в яичниках уже была сформирована генерация превителлогенных ооцитов (7-15 на срез) диаметром 60-80 мкм. Исследование гонад и стероидсекреторных клеток проводили непосредственно после

окончания воздействия, у молоди в возрасте 85 сут от вылупления. Воздействие эстрадиол-дипропионата не оказало заметного влияния на развитие гонад у самок – число половых клеток и диаметр ооцитов старшей генерации не отличались от таковых у контрольных рыб, дополнительного увеличения фонда гониев также не наблюдали.

Стероидсекреторные клетки у контрольных и подопытных самок горбуши были выявлены в составе теки, гранулезы, а также в строме яичников, так, как это и характерно для молоди горбуши. Отметим только увеличение ( $p < 0,05$ ) размеров клеток расположенных в строме гонад, диаметра митохондрий и канальцев ЭПР в этих клетках. (табл. 4.7). И именно в этих клетках были выявлены многочисленные липидные включения (рис. 4.11Б). Мы полагаем, что их присутствие может объясняться введением в организм подопытных рыб большого количества масла, так как эстрадиол-дипропионат замешивали в корм в виде масляного раствора.

По итогам проведенного эксперимента нельзя было исключить, что отсутствие влияния эстрадиола на фонд ооцитов периода превителлогенеза могло быть связано с неудачно подобранным режимом гормонального воздействия, например, недостаточной дозой введенного гормона (50 мг/кг) или недостаточно продолжительным периодом кормления. Поэтому в следующих экспериментах на молоди горбуши удвоили и дозу, и продолжительность воздействия – 35 и 72 сут. Однако и более интенсивное воздействие не привело к увеличению численности ооцитов у подопытных рыб. В опыте 11.1, где период воздействия составил 35 сут, наблюдали двукратное уменьшение массы рыб и достоверное уменьшение диаметра ооцитов (табл. 4.8). В варианте с более продолжительным воздействием (опыт 11.2) наблюдали еще более значительное относительное уменьшение диаметра ооцитов и, как следствие этого, уменьшение размеров яичников, судя по их площади на поперечных срезах (табл. 4.7). Таким образом, и в этих опытах увеличения численности репродуктивного фонда не выявили.

#### 4.4. Заключение

В результате проведенных работ мы смогли установить, что два фактора весьма различной природы – кислотное и гормональное воздействия – оказали на развитие фонда ооцитов у молоди рыб сходное влияние. В условиях кислотной среды у самок наблюдали значительное увеличение фонда половых клеток в тот период, когда он был представлен гониями и ооцитами периода ранней профазы мейоза. С началом превителлогенного роста ооцитов их численность сократилась и общее число половых клеток у подопытных рыб оказалось достоверно меньше. Если кислотное воздействие оказывали на самок после

того, как в их гонадах появлялись ооциты периода превителлогенеза, то уменьшения фонда половых клеток не наблюдали.

**Таблица. 4.8.**

Состояние гонад у молоди горбуши в возрасте 144 сут после кормления с добавлением эстрадиола-дипропионата в течение 72-109 сут (опыт 11.1) и 72-144 сут (опыт 11.2).

Над чертой – среднее значение показателя и его ошибка, под чертой – предел варьирования показателя, третья строка – коэффициент вариации, %

Вариант	Число рыб	Масса рыб, г	Длина рыб, мм	Площадь среза гонад*	Число ооцитов ПВ		Диаметр ооцитов, мкм
					шт	%	
Контроль	9	<u>2,28±0,35</u>	<u>65,2±3,9</u>	<u>73,8±6,9</u>	<u>7,0±0,5</u>	99,1	<u>228,2±9,6</u>
		0,76-3,60	45,0-76,0	46,8-117,7	5,3-9,3		189,0-264,0
		45,7	17,9	28,0	21,0		12,6
Опыт 11.1.	14	<u>0,96±0,13</u>	<u>47,0±2,1</u>	<u>73,9±7,7</u>	<u>7,4±0,5</u>	100	<u>211,6±4,9</u>
		0,31-1,99	33,0-60,0	36,0-133,0	4,7-9,5		190,0-246,0
		49,0	17,0	38,8	24,5		8,6
Опыт 11.2.	17	<u>1,24±0,11</u>	<u>53,7±1,6</u>	<u>53,7±3,8</u>	<u>6,3±0,4</u>	100	<u>198,8±5,5</u>
		0,71-2,63	45,0-73,0	25,0-86,0	4,3-9,5		173,0-254,0
		28,1	12,4	29,2	23,3		11,4

Гормональное воздействие, оказанное в период, когда фонд половых клеток составляли только гонии, а также гонии и мейоциты, привело к увеличению фонда ооцитов. Разница с фактором пониженной кислотности заключалась в том, что в момент перехода мейоцитов к превителлогенезу на рыб не оказывали экспериментального воздействия. Не исключено, что именно поэтому излишнее число мейоцитов перешли в период превителлогенеза, а у подопытных самок во всех проведенных опытах численность ооцитов этого периода оказалась увеличенной. Гормональное воздействие на рыб, оказанное после того, как в гонадах появлялись ооциты периода превителлогенеза, у моноциклической горбуши не влияло на их численность.

Температура воды является тем фактором, который, в отличие от гормонального воздействия или кислотной среды, постоянно действует на рыб, выработавших к ее изменению определенную устойчивость. Мы можем заключить, что пониженная температура на развитие гонад оказала меньшее воздействие, чем на рост рыб.

Пониженная температура воды в среднесрочной перспективе не оказала влияние на формирование репродуктивного фонда у самок, независимо от состояния половых желез в момент воздействия.

## **Глава 5. АНАЛИЗ СВЯЗИ МЕЖДУ ТЕМПОМ РОСТА ООЦИТОВ ПЕРИОДА ПРЕВИТЕЛЛОГЕНЕЗА И ВОЗРАСТОМ ПОЛОВОГО СОЗРЕВАНИЯ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ У ЛОСОСЕЙ С КОРОТКИМ ПЕРИОДОМ ЖИЗНИ В РЕКЕ**

### **5.1. Ранний гаметогенез молоди кеты в ходе искусственного воспроизводства на рыбоводных заводах в Сахалинской области**

В предыдущих главах мы в разных аспектах рассматривали закономерности формирования фонда половых клеток. В настоящей главе остановимся на второй составляющей оогенеза – росте ооцитов – и проанализируем возможную взаимосвязь темпа роста интересующих нас мейоцитов и ооцитов периода превителлогенеза с последующим ходом их развития у рыб, а, в конечном счете, с возрастом полового созревания.

Как хорошо известно, по многочисленным данным литературы, возраст полового созревания рыб одних и тех же видов в разные годы и в разных частях ареала может существенно различаться. Например, если самки леща (*Abramis brama* L.) на юге своего ареала достигают половой зрелости в возрасте 4 года и нерестятся порционно, то на севере – в 7-8 лет и нерестятся единовременно (Кошелев, 1984). Различия эти определяются разными факторами, из которых одним из наиболее значимых для рыб, как экзотермных животных, является температура. Однако большинство рыб каждого вида находятся в условиях относительно пониженной или относительно повышенной температуры в течение всего или большей части репродуктивного цикла (например, на севере или юге ареала). Очевидно, что если даже роль превителлогенеза в достижении возраста полового созревания и велика, то определить ее в таком случае практически невозможно. Вероятно, это можно сделать, используя в качестве объекта исследования вид проходных рыб, молодь которого в разных частях ареала развивается в существенно различных условиях, а взрослые особи нагуливаются в море при относительно сходных условиях и зачастую вместе. Например, лососевых рыб. Во-первых, у всех видов проходных лососевых рыб ооциты периода превителлогенеза появляются в гонадах в речной период жизни молоди (Персов, 1975; Христофоров, Мурза, 1998). Во-вторых, именно для лососевых рыб, причем как моноциклических (Иевлева, 1985), так и с полициклическим типом воспроизводства (Мурза, Христофоров, 1991), известна закономерность, согласно которой возраст полового созревания производителей коррелирует с состоянием гонад у самок в период катадромной миграции. При этом доля

рыб, достигших полового созревания в разном возрасте, коррелирует с долей самок, имеющих во время миграции в море ооциты меньшего или большего размера.

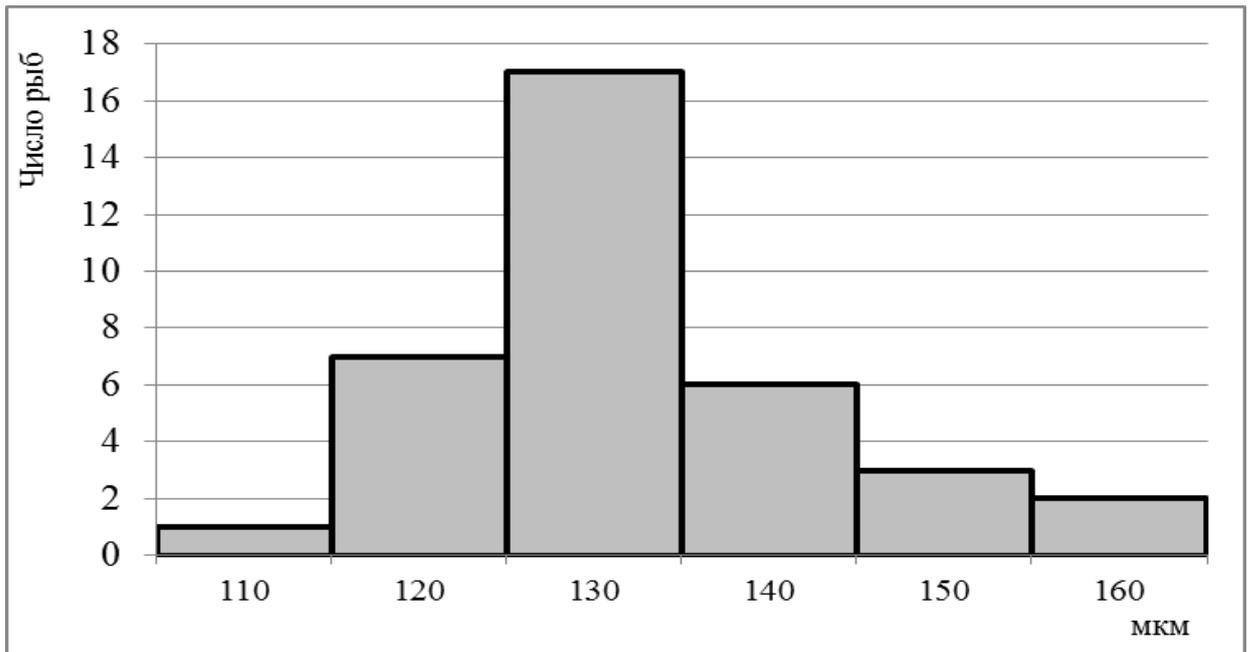
Работая в данном направлении, мы выбрали объектом исследования кету, полагая, что на этом виде, как ни на каком другом, мы могли бы судить о возможной роли темпа роста ооцитов периода превителлогенеза в детерминации возраста полового созревания производителей. Такое предположение основано на данных о состоянии гонад у самок кеты в момент выхода в море, в частности, на том, что в самых разных частях естественного ареала в яичниках покатных самок уже присутствуют ооциты периода превителлогенеза, хотя их диаметр не превышает 60-100 мкм (Коломыцев, 2018). Кроме этого, кета в связи с чрезвычайно высокой рентабельностью (Хованский, 2005) является самым массовым видом рыб, который воспроизводят для пастбищного нагула в море (Леман и др., 2015; Запорожец, Запорожец, 2011а; б; Кловач, 2013), и совершенствование методики прогноза ее возврата является важной прикладной задачей в ихтиологии.

Еще только приступая к работе, мы вполне представляли себе главную трудность, с которой предстояло столкнуться. Все работы в данном направлении были выполнены на лососевых рыбах с длительным речным периодом жизни: нерке, кумже, атлантическом лососе. В отличие от них кета – лосось с коротким периодом жизни в реке. Хотя гипотетически на наличие связи между состоянием гонад у самок и возрастом (временем) полового созревания производителей указывали как для кеты, так и для горбуши (Иванков, 1985). Можно было предположить, что если у молоди кеты каждого поколения и устанавливаются различия в темпе развития и состоянии гонад, которые в будущем определяют половое созревание в разном возрасте, то произойти это может уже на втором году жизни, т.е. в морской период жизни, и у нас не будет возможности это проследить.

С целью проверки такого предположения была проделана предварительная работа, в ходе которой исследовали молодь нерки популяции озера Курильского и реки Озерной, т.е. именно того вида лососей и именно той популяции, на которой впервые была разработана методика прогнозирования полового созревания производителей, основанная на различном темпе раннего оогенеза у самок (Ивлева, 1964; 1974; Городовская, 1988; Миловская и др., 2006). Однако мы исследовали рыб не в период катадромной миграции в июле, когда различия в состоянии гонад между особями, созревающими в разном возрасте, уже устанавливаются, а несколько раньше – в первой половине июня.

Исследуя яичники у большой выборки (36 экз.) самок массой от 3,2 до 11,9 г, мы установили, что у всех особей уже была сформирована генерация сходных по размеру и состоянию ооцитов периода превителлогенеза. Масса гонад тесно коррелировала с массой

и длиной самок (соответственно  $r=0,74$  и  $r=0,77$ ). Корреляция же диаметра ооцитов с массой и длиной рыб была не столь выраженной ( $r=0,55$  и  $r=0,59$ ), и наши предположения подтвердились. Можно видеть, что из общего массива данных не выделяются группы особей с разным диаметром ооцитов (рис. 5.1). Очевидно, различия в состоянии гонад, которые дают возможность прогнозировать достижение полового созревания в разном возрасте, у самок нерки проявляются позже, непосредственно перед началом катадромной миграции.



**Рис. 5.1.** Величина диаметра ооцитов (по оси абсцисс) у молоди нерки оз. Курильского в возрасте 2+.

К настоящему времени в литературе накоплено много сведений о самых разных аспектах биологии кеты (Каев, 2003). В частности, хорошо известно, что условия воспроизводства ее молоди на обширном ареале, например, на азиатском побережье от устья Лены до рек юга Корейского полуострова (Смирнов, 1975), могут существенно различаться. Эти различия определяют разный темп развития молоди. Причем в отдельных регионах оно может быть настолько затянутым, что вылупление зародышей осуществляется только осенью следующего года, когда на нерестилища уже приходят производители новой генерации, а пребывание в реке такой молоди затягивается на год (Волбуев, 1983).

Возрастная структура стад также различается, причем не только в разных, но и в пределах одного региона (Воловик, Ландышевская, 1968; Ковтун, 1981; Николаева, 1987;

Хоревин, 1990; Путивкин, 1999; Хрусталева, Леман, 2007; Заварина, 2003; 2012; Кловач, Ельников, 2013). Например, эти различия можно оценить, анализируя возрастную структуру стад кеты на рыбоводных заводах, расположенных на юге Сахалина. Следует отметить, что Сахалинская область в интересующем нас аспекте – особый регион. Заметное естественное воспроизводство кеты здесь есть только в бассейне реки Тымь, а абсолютное большинство производителей в улове имеет искусственное происхождение (Игнатъев, 2007). Здесь созданы массовые заводские популяции кеты (Любаева и др., 1999), проблемы при создании которых активно исследуются (Пукова, 2002; Широков и др., 2004; Микодина и др., 2007), а деятельность кетовых рыбоводных заводов чрезвычайно заметна не только в Сахалинской области, но и в масштабах всего дальневосточного промысла (Хованский, 2005).

Мы проанализировали возрастную структуру стада кеты на всех рыбоводных заводах Сахалинской области, работающих относительно продолжительное время. Следует отметить, что большинство предприятий, на которых выращивают молодь кеты на островах Сахалин и Итуруп построены в течение последних 10-15 лет (Леман и др., 2015) и возрастная структура стада на них определена лишь для единичных поколений.

Анализируя структуру стада кеты на рыбоводных заводах Сахалинской области, мы можем видеть, что возраст полового созревания производителей на разных предприятиях существенно различается. Так, на заводах Залом и Охотский хоть и единично, как это характерно для кеты (Крыхтин, 1962; Панасенко и др., 2003), но присутствуют особи в возрасте 1+, а основу стада составляют производители в возрасте 2+ и 3+. Общая доля молодых особей составляет 74,9 и 74,6% соответственно (табл. 5.1). Рыбы в возрасте 4+ на обоих предприятиях составляет 24,8 и 24,0%, а в возрасте 5+ встречаются единично. На Соколовском, Побединском, Рейдовом и ЛРЗ Бухта Оля среди производителей также преобладают молодые особи в возрасте 2+ и 3+, однако их число прогрессивно уменьшается, а число рыб в возрасте 4+ соответственно возрастает.

Совершенно другую картину можно видеть на Урожайном, Ясноморском, Сокольниковском и Калининском ЛРЗ. Производители в возрасте 2+ здесь встречаются штучно, особи в возрасте 3+ составляют от 24,9 до 32,2%, а основу промыслового стада составляют рыбы в возрасте 4+ (табл. 5.1). При этом на трех последних заводах долю от 10,7% до 17,1% составляют рыбы в возрасте 5+, а также хоть и в небольшом количестве присутствуют производители в возрасте 6+.

Ситуацию на Таранайском ЛРЗ следует рассмотреть отдельно. В 1999-2000 гг. на заводе прошла реконструкция, после которой при выращивании молоди увеличилось

использование грунтовых вод. В результате на предприятии кардинально изменилась структура стада. Если в период с 1991 по 2000 среди производителей преобладали особи старших возрастных групп, тогда как доля молодых особей составляла 42,4%, то после реконструкции доля молодых особей в среднем увеличилась до 63,7% (табл. 5.1).

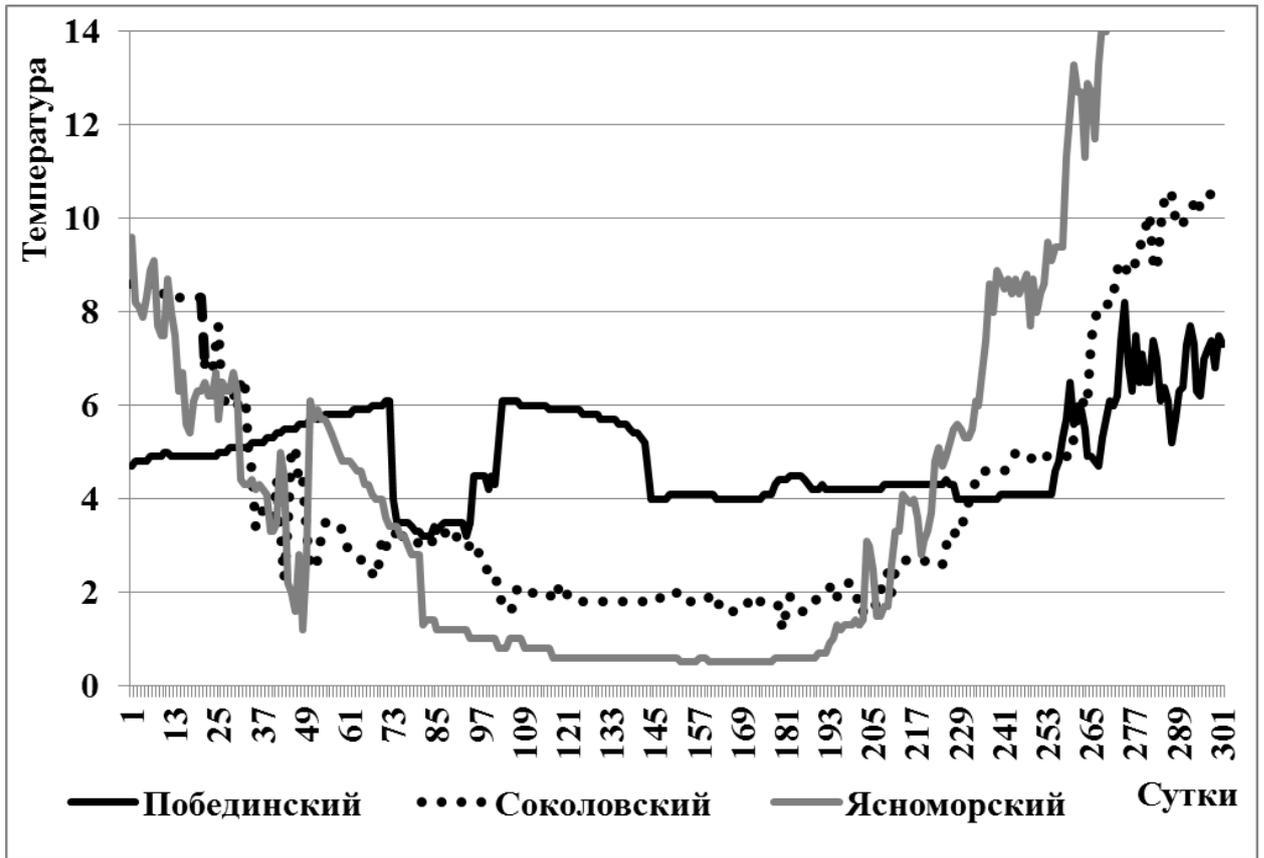
Столь же существенно различаются в настоящее время и условия воспроизводства молоди на разных заводах. В качестве примера рассмотрим изменение температуры воды на Соколовском и Ясноморском ЛРЗ в цикле 2000-2001 годов и Побединском ЛРЗ в цикле 2008-2009 годов.

Так, на Ясноморском ЛРЗ икру после оплодотворения выдерживали при температуре 10-12°C, которая зимой опускалась до 0,5°C, а весной-летом вновь повышалась, и к выпуску молоди составляла 10-14°C (рис. 5.2). На Соколовском ЛРЗ также наблюдали сезонное снижение температуры, однако и перепад температур был значительно меньше, и зимой температура не опускалась ниже 1,5°C.

Таблица 5.1.

Возраст полового созревания кеты в стадах рыбоводных заводов Сахалинской области

Завод	Годы	2+ и 3+	Возраст					
			1+	2+	3+	4+	5+	6+
Охотский	1994-2013	79,0	0,1	10,3	68,6	19,6	1,4	--
Залом	1994-2002	74,9	0,3	21,8	52,8	24,8	0,5	--
Соколовский	1998-2013	66,6		6,1	60,5	28,2	5,2	--
Таранайский	2000-2013	66,4		4,6	61,8	29	4,5	0,1
Бухта Оля	2008-2013	66,3		6,2	60,1	31,2	2,5	--
Побединский	1991-2016	66,0	--	6,5	59,5	31,6	2,2	0,2
Буюкловский	1997-2013	65,2		5,8	59,4	32	2,7	0,1
Рейдовый	1999-2013	63,2		3	60,2	32,9	3,9	--
Таранайский	1991-2000	42,4	--	3,3	39,1	47,1	10,5	--
Ясноморский	2000-2013	35,6		1,5	34,1	54,4	9,5	0,5
Урожайный	2009-2013	33,2	--	1,0	32,2	61,7	5,1	--
Сокольниковский	1999-2013	31,7		0,6	31,1	59,5	8,5	0,3
Калининский	2000-2013	27,2		1	26,2	57	15,3	0,5



**Рис. 5.2.** Температура воды на рыбоводных заводах Сахалинской области при выращивании молоди кеты первых партий от оплодотворения до выпуска на Соколовском и Ясноморском ЛРЗ в цикле 2000-2001 годов и на Побединском ЛРЗ в цикле 2008-2009 годов.

Наконец, на Побединском ЛРЗ температура воды была 4-8°C, что связано с обильным поступлением грунтовых вод – относительно холодных летом и относительно теплых зимой, и в течение всего сезона выращивания молоди практически не изменялась (рис. 4.2). Подчеркнем, что такая динамика температур является естественной для базовых рек данных заводов, а на предприятиях сознательно поддерживается соответствующий режим с тем, чтобы развитие заводской молоди меньше отличалось от развития молоди естественного происхождения. Отметим также, что в Сахалинской области есть и более тепловодные заводы, например, Охотский на юге Сахалина или Бухта Оля на острове Итуруп. На обоих предприятиях используют только грунтовую воду, температура которой варьирует в диапазоне от 6 до 8°C.

Предполагая, что различия в возрастной структуре стада могут быть связаны с разным темпом развития гонад у кеты на разных заводах, мы исследовали оогенез молоди на Ясноморском, Соколовском и Побединском ЛРЗ в течение полного цикла ее

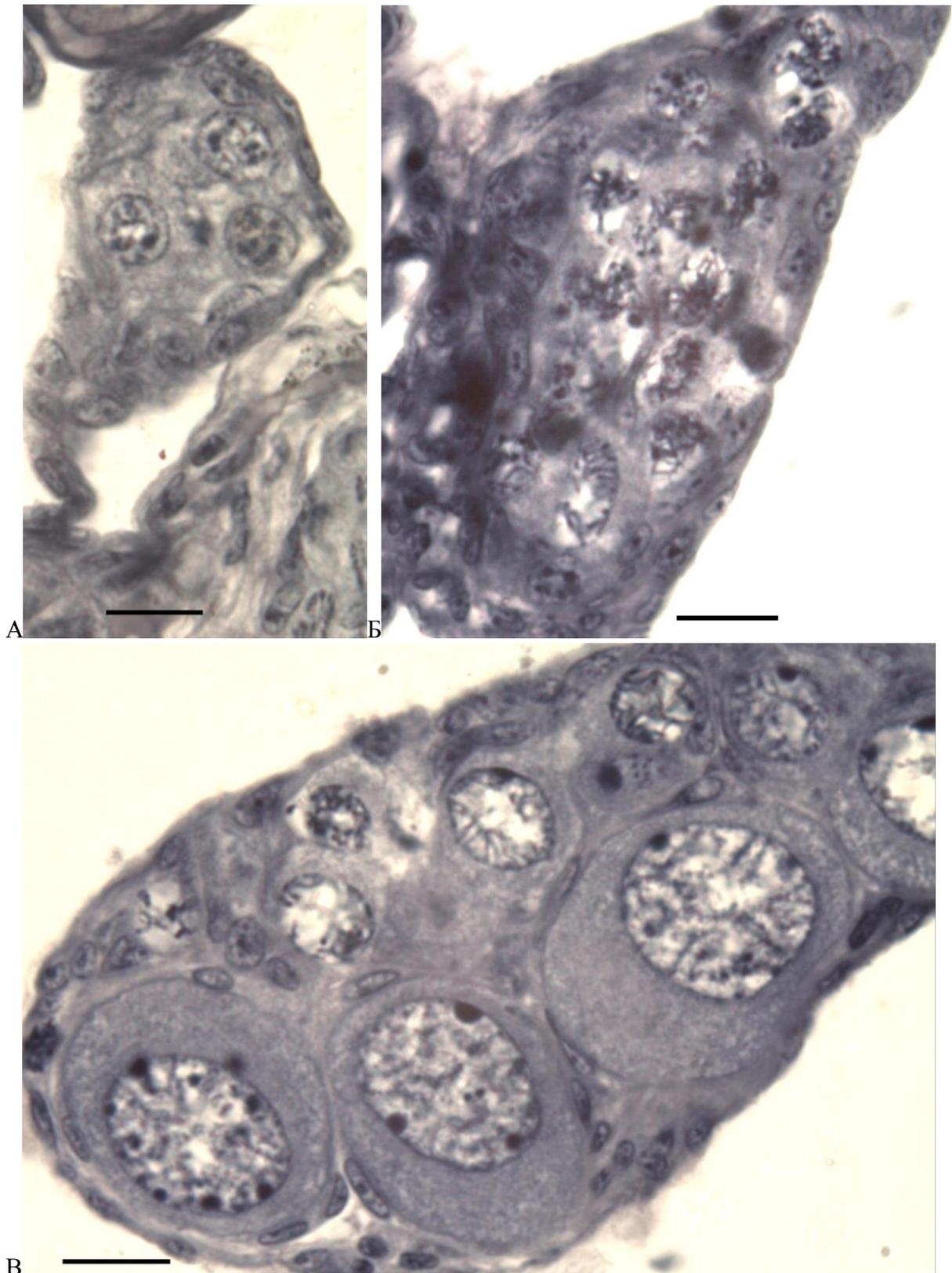
выращивания от закладки икры на инкубацию до выпуска с завода. Для того чтобы судить о развитии гонад у всей заводской молодежи, мы исследовали рыб первой и последней из наиболее массовых партий.

Помимо заводской молодежи исследовали гаметогенез кеты, выращенной в лабораторных условиях при температуре от 9,9 до 12,0°C (при среднем значении 10,8°C). Мы полагали, что эта температура является максимально высокой для инкубации зародышей и подращивания личинок кеты. С этой целью зародышей на стадии пигментации глазных бокалов (32 сут; 275,1 градусо-дней) перевезли с Березняковского ЛРЗ Сахалинской области в лабораторию ихтиологии СПбГУ, где выращивали в замкнутой системе с обратным водоснабжением.

Первая фиксация молодежи кеты в лаборатории была сделана через 49 сут после оплодотворения (438,9 градусо-дней, за 10 сут до вылупления). Масса зародышей и масса желточного мешка в среднем составили 138,3 мг и 81,1% (табл. 5.2). Гонады у всех исследованных рыб были обособлены и располагались рядом с первично-почечными протоками; фонд половых клеток составляли только гонии по 1-3 на срез (рис. 5.3А). В дальнейшем, через 58 и 62 сут после оплодотворения происходило постепенное увеличение числа гониев. Массовое вылупление зародышей наблюдали через 59 сут после начала инкубации (536,1 градусо-дней).

Ооциты периода ранней профазы мейоза (рис. 5.3Б) у самок впервые выявили в возрасте 10 сут (648,0 градусо-дней), когда вылупление зародышей еще полностью не завершилось. С этого момента мы имели возможность анализировать развитие семенников и яичников отдельно. Семенники в течение всего периода исследования представляли собой мало дифференцированные половые железы, площадь которых на срезах в среднем варьировала от 0,9 до 2,0 мм<sup>2</sup>×10<sup>-3</sup> (табл. 5.2); фонд половых клеток составляли только гонии до 2-4 шт. на срез.

У самок до возраста 41 сут площадь яичников на срезах в среднем от 1,5 до 3,5 мм<sup>2</sup>×10<sup>-3</sup> была примерно в два раза больше площади срезов семенников; фонд половых клеток составляли гонии и ооциты периода ранней профазы мейоза (рис. 4.3Б). Ооциты периода превителлогенеза впервые были выявлены у личинок в возрасте 41 сут (980,8 градусо-дней; рис. 5.3В). С началом роста ооцитов объем гонад заметно увеличился; их площадь на срезах, варьируя от 6,3 до 11,8, в среднем составила 9,0 мм<sup>2</sup>×10<sup>-3</sup> (табл. 5.2). В возрасте 104 сут личинок начали кормить. Таким образом, дифференцировку пола при относительно высокой температуре воды наблюдали примерно через 6 сут после пика



**Рис. 5.3.** Состояние гонад у молоди кеты за 10 сут до вылупления (А), а также в возрасте 24 (Б) и 41 сут (В), выращенной в лаборатории при температуре в среднем  $10,8^{\circ}\text{C}$ . Старшая генерация половых клеток представлена гониями (А), ооцитами периода ранней профазы мейоза (Б) и периода превителлогенеза (В). Шкала = 20 мкм.

Таблица 5.2.

Характеристика молоди кеты в раннем онтогенезе при выращивании  
в лаборатории и на рыбоводных заводах в Сахалинской области

Дата	Возраст		Длина рыб, мм	Масса рыб, мг	Масса желточ- ного мешка, %	Площадь срезов гонад*	
	сут от опло- дотворения / вылупления	граду- со- дней				семен- ников	яичников
1	2	3	4	5	6	7	8
Лаборатория							
03.12.	49 / - 9	438,9	12,9	138,3	81,1	0,5	—
12.12.	58 / 0	536,1	18,0	151,3	76,2	0,7	—
17.12.	63 / 5	593,3	19,4	149,0	67,1	0,7	—
22.12.	68 / 10	648,0	21,2	174,3	65,7	1,2	1,5**
26.12.	72 / 14	691,8	23,7	185,7	59,3	1,1	1,6
03.01.	80 / 22	784,8	25,5	205,8	40,0	0,9	2,1
05.01.	82 / 24	805,2	26,3	197,3	42,7	0,9	3,4
08.01.	85 / 27	837,8	26,9	184,9	27,5	0,8	1,8
17.01.	94 / 36	930,2	28,7	215,7	21,4	1,5	3,5
22.01.	99 / 41	980,8	30,3	234,5	15,1	2,0	9,0***
28.01.	105 / 47	1046,6	31,9	250,6	7,6	2,0	11,9
03.02.	111 / 56	1109,5	32,1	289,3	4,9	—	—
Соколовский ЛРЗ							
14.01.	107 / 6	482,5	21,3	169,3	61,6	1,4	—
31.01.	124 / 23	515,8	23,2	182,0	54,1	1,8	—
15.02.	138 / 37	540,7	25,1	240,4	49,9	1,7	—
28.02.	152 / 51	566,8	26,9	258,9	40,2	2,1	—
14.03.	167 / 66	593,0	29,6	305,0	35,1	2,0	—
29.03.	182 / 81	619,5	31,2	306,4	33,0	2,2	—
13.04.	197 / 96	678,3	33,6	358,2	20,8	1,9	4,8**
28.04.	212 / 111	678,3	33,5	307,7	16,1	—	—
12.05.	227 / 126	717,1	35,2	377,7	10,7	2,1	4,7
28.05.	242 / 141	785,0	36,6	362,6	3,4	1,7	5,4
12.06.	257 / 156	858,6	38,3	427,0	0,3	1,9	10,5***
22.07.	297 / 196	1212,8	49,6	853,8	—	—	—
Ясноморский ЛРЗ, 7 партия							
26.12.	110 / 50	650,3	25,4	239,5	59,1	1,3	—
10.01.	125 / 65	666,9	28,5	270,5	47,5	2,2	2,8**
26.01.	141 / 81	680,7	29,6	291,1	40,3	2,3	2,3
10.02.	156 / 96	689,7	31,0	264,6	26,6	2,7	3,9
25.02.	171 / 111	698,7	32,7	299,4	23,7	2,8	4,1
10.03.	185 / 125	706,4	34,0	307,1	20,9	1,7	3,8
24.03.	199 / 139	713,1	34,9	315,6	15,8	1,9	3,0
10.04.	216 / 156	723,4	34,9	335,1	0	2,1	5,6
19.05.	251 / 191	809,8	37,4	381,6	6,5	1,8	6,0
05.06.	268 / 208	1017,0	46,1	751,9	0	1,8	13,7***

Таблица 5.2. (продолжение).

1	2	3	4	5	6	7	8
Ясноморский ЛРЗ, 14 партия							
26.12.	86 / 1	500,5	21,1	213,7	69,4	1,0	—
10.01.	101 / 16	517,1	22,8	237,5	64,3	1,3	—
10.02.	132 / 47	539,9	25,8	223,0	52,3	1,9	—
25.02.	147 / 62	548,9	26,6	243,1	47,2	2,0	—
10.03.	161 / 76	556,6	26,3	246,2	48,5	1,9	—
24.03.	175 / 90	563,6	29,3	290,5	—	2,3	—
10.04.	196 / 111	573,9	29,8	272,0	33,0	2,4	—
19.05.	231 / 146	694,9	33,9	335,1	20,8	2,0	3,6**
05.06.	248 / 163	828,6	38,8	454,5	0,9	2,6	11,0***
Побединский ЛРЗ, 3 партия							
15.12.	107 / 1	518,7	19,7	156,7	—	0,8	—
30.12.	122 / 16	613,9	20,9	167,2	52,1	1,2	—
15.01.	138 / 32	699,6	27,4	207,2	39,0	1,3	2,0**
15.03.	197 / 91	949,0	34,4	275,6	7,9	2,4	5,6
31.03.	213 / 107	1017,0	35,7	296,9	5,7	2,5	10,8***
Побединский ЛРЗ, 33 партия							
10.01.	94 / 1	540,2	21,3	165,0	—	0,8	—
25.01.	109 / 16	622,4	24,7	176,6	50,5	1,6	—
10.02.	125 / 32	710,4	28,5	236,5	37,1	1,3	2,2**
25.03.	168 / 75	914,3	34,7	287,3	12,4	2,6	6,9
10.04.	184 / 91	986,3	36,1	315,3	9,2	2,4	12,2***

Примечание: Площадь поперечных срезов гонад измерена в  $\text{мм}^2 \cdot 10^{-3}$ . Впервые выявлены ооциты: \*\* - периода ранней профазы мейоза; \*\*\* - периода превителлогенеза.

вылупления, а ооциты периода превителлогенеза в яичниках – примерно за 8 сут до начала кормления рыб (табл. 5.3).

На **Соколовском ЛРЗ** исследовали молодь одной партии, заложенной на инкубацию 29 сентября 2000 г. Массовое вылупление зародышей произошло 9 января, на 102 сут инкубации, а первая фиксация личинок была сделана 14 января. Их длина, масса и относительная масса желтка составили в среднем соответственно 21,3 мм, 169,3 мг и 61,6% (табл. 5.2). В период вылупления в гонадах у всех зародышей присутствовали преимущественно гонии и исключительно редко первичные половые клетки, которые отличались от гониев крупными размерами и оптически прозрачной цитоплазмой.

Ооциты периода ранней профазы мейоза впервые выявили у рыб 13 апреля в возрасте 96 сут; их число у разных рыб заметно варьировало – от 10-15 до 25-30 в среднем на поперечный срез. С началом мейотических преобразований в среднем в два раза увеличился объем яичников (табл. 5.2). К 12 июня, когда в связи с весенним прогревом

воды заметно ускорился рост рыб, в яичниках впервые обнаружили единичные ооциты периода превителлогенеза, а общее число половых клеток в среднем на срез увеличилось до 40-50 шт. Таким образом, дифференцировка пола у личинок кеты произошла приблизительно через 87 сут после вылупления, а кормить молодь начали за 7 суток до перехода ооцитов к периоду превителлогенеза (табл. 5.3).

На **Ясноморском ЛРЗ** была взята для исследования молодь 7 и 14 партий, заложенных на инкубацию с промежутком в 26 сут – 8 сентября и 2 октября 2000 г. Массовое вылупление зародышей 7 партии произошло 7 ноября, на 61 сут инкубации, а первую фиксацию рыб сделали только 26 декабря. Поскольку молодь содержали при температуре 0,5-0,7°C, то дифференцировки пола сразу после вылупления не ожидали.

Таблица 5.3.

Этапы развития молоди кеты при различных температурных режимах

Этап	Параметр	Лаборатория	Соколовский ЛРЗ	Ясноморский ЛРЗ		Побединский ЛРЗ	
Закладка	дата	16.10	29.09	8.09	2.10	30.08	8.10
Вылупление	дата	14.12	09.01	7.11	26.12	15.12	10.01
	сут от оплод-я	59	102	61	86	107	94
	градусо-дни	536,1	470,9	520,0	500,5	518,7	540,2
Начало дифференцировки пола	возраст, сут	6	89	57	128	24	24
	градусо-дни	620,6	648,9	658,6	634,4	656,6	669,1
	масса рыб,мг	161,6	332,3	255,0	303,5	179,0	187,1
	масса желтка,%	66,4	26,9	53,3	33,0	45,5	43,8
Начало кормления	дата	10.02	29.04	28.04	20.05	06.03	16.03
	возраст, сут	46	142	172	148	82	66
Начало превителлогенеза Ооцитов	возраст, сут	38	149	201	155	71	83
	градусо-дни	955,5	821,8	913,4	761,7	876,2	952,7
	масса рыб,мг	225,1	394,5	566,4	394,8	286,2	293,1
	масса желтка,%	18,2	1,8	3,2	10,8	6,8	10,8
Выпуск молоди с завода	дата	—	22.07	8.06	24.06	10.06	22.06
	возраст, сут	—	196	211	183	178	164
	градусо-дни	—	1212,8	1017,0	1052,1	1369,0	1373,4
	масса рыб,мг	—	853,8	755,0	1394,0	850,0	874,1
Период роста ооцитов на заводе	сут	—	47	10	28	107	81
	градусо-дни	—	391	103,6	290,4	492,8	423,1
	масса рыб,мг	—	459,3	188,6	999,2	563,8	581,0

Действительно, мейоциты в яичниках, притом единичные и не на каждом срезе, обнаружили у рыб, зафиксированных только 10 января. В течение следующих 4,5 мес. состояние яичников у рыб изменилось незначительно; в гонадах присутствовали гонии и мейоциты преимущественно на стадии зиготены. Можно лишь отметить, что с возрастом число половых клеток на срез у самок возрастало: к 10 марта до 10-15, к 10 апреля – до 15-20 и к 19 мая – до 40-45. Ооциты периода превителлогенеза выявили у самок, зафиксированных только 5 июня. Таким образом, дифференцировка пола у личинок кеты 7 партии, началась примерно через 56 сут после вылупления зародышей, а переход ооцитов к периоду превителлогенеза – через 30 сут после начала кормления молоди и всего лишь за 9 сут до ее выпуска с завода.

Массовое вылупление зародышей 14 партии произошло 26 декабря на 86 сут инкубации. От момента вылупления и, по крайней мере, до 10 апреля гонады у молоди кеты находились в индифферентном состоянии. Ооциты периода ранней профазы мейоза были выявлены только у рыб, зафиксированных 19 мая в возрасте 111 сут. Их число в яичниках у разных особей широко варьировало: от 2-3 до 25-30 в среднем на срез. Такая вариабельность, несомненно, свидетельствовала о том, что начало мейотических преобразований в яичниках самок одного возраста проходило не одновременно. Ооциты периода превителлогенеза выявили в гонадах самок, зафиксированных 5 июня в возрасте 163 сут. В итоге, дифференцировка пола у личинок кеты произошла ориентировочно через 126 суток после вылупления, а кормить молодь начали за 7 суток до перехода ооцитов к периоду превителлогенеза (табл. 5.3).

На **Побединском ЛРЗ** обследовали молодь кеты 3 и 33 партий, заложенных на инкубацию с промежутком 39 сут – 30 августа и 8 октября 2008 г. Работая на этом заводе, мы уже знали данные исследования молоди на Соколовском и Ясноморском ЛРЗ. Поэтому, фиксируя молодь, как и ранее через 15 сут, обрабатывали ее выборочно и только те фиксации, которые (судя по сумме градусо-дней) помогали нам определить сроки начала качественно различных состояний гонад. У рыб, зафиксированных в период пика вылупления 15 декабря, гонады находились в индифферентном состоянии. Ооциты периода ранней профазы мейоза впервые выявили у рыб 15 января в возрасте 32 сут, а ооциты периода превителлогенеза – 31 марта, в возрасте 107 сут (табл. 5.2). Таким образом, дифференцировка пола у личинок кеты произошла ориентировочно через 23 сут после массового вылупления, а кормить молодь начали за 17 сут до перехода ооцитов в яичниках к периоду превителлогенеза.

У рыб 33 партии на Побединском ЛРЗ в период пика вылупления 10 января гонады также находились в индифферентном состоянии. Первые ооциты периода ранней профазы мейоза у личинок кеты выявили 10 февраля в возрасте 32 сут, а ооциты периода превителлогенеза – 10 апреля в возрасте 91 сут (табл. 5.3). В итоге, дифференцировка пола у молоди кеты последней партии началась ориентировочно через 23 сут после массового вылупления, а кормить молодь начали за 17 сут до перехода ооцитов в яичниках к периоду превителлогенеза.

Можно полагать, что температурные режимы, при которых выращивали изучаемых рыб, были наиболее разнообразными для продуктивного воспроизводства кеты. Так, среднесуточная температура воды при выращивании молоди в лаборатории за период инкубации была 9,4°C, а за весь период выращивания – 10,8°C, т.е. можно полагать, что она оказалась близка к максимально возможной. Ранее, работая с радужной форелью, мы установили, что максимально высокая температура, при которой выживаемость эмбрионов на стадии дробления соответствовала нормативу, оказалась 12°C (Зеленников, Голод, 2019). По устному сообщению рыбоводов самого тепловодного завода в Сахалинской области ЛРЗ «Янкито» (о.Итуруп), в случае инкубации молоди кеты при температуре 11-12°C наблюдали значительное увеличение гибели рыб.

С другой стороны, Ясноморский ЛРЗ является самым холодноводным предприятием в Сахалинской области, предназначенным для воспроизводства кеты. Ранее уже было показано, что дифференцировка пола у кеты начинается после массового вылупления зародышей (Персов, 1975). Мы же можем добавить, что происходит это при любом температурном режиме. При этом ооциты в яичниках появляются у рыб принципиально разного возраста – от 65 до 213 сут после оплодотворения, но при почти одинаковой сумме градусо-дней – от 620,6 до 669,1. В отличие от дифференцировки пола, начало роста ооцитов осуществлялось при весьма различной сумме набранного тепла – от 761,7 и до 955,5 градусо-дней. Впрочем, этот результат представляется понятным. Начальные этапы развития гонад проходили на разных заводах при более сходной температуре, тогда, как после дифференцировки пола температурные различия при выращивании рыб оказались максимальными. Мы видим, что чем при более низкой температуре проходит развитие рыб, тем меньшую сумму градусо-дней они набирают за период от начала дифференцировки пола или от того момента, когда в яичниках появляются мейоциты до перехода этих клеток в период превителлогенеза, и тем позже начинается этот рост. Можно полагать, что именно разный темп гаметогенеза в период постэмбрионального развития в разных температурных условиях, и определяет то, что

состояние яичников у молоди на разных заводах при сходной массе тела может столь принципиально различаться. Полагаем, что об этом можно судить, даже опираясь на обычные при гистологическом анализе, но вместе с тем сравнительно малые выборки. Можно видеть, что диаметр ооцитов у молоди кеты на Ясноморском ЛРЗ был меньше, чем у самок на Соколовском и тем более на Побединском ЛРЗ.

Мы также видим, что период, в течение которого у молоди кеты в заводских условиях, т.е. до их выпуска с предприятий присутствуют ооциты периода превителлогенеза, оказывается весьма различным – в нашем случае от 10 сут на Ясноморском ЛРЗ до 107 сут на Побединском ЛРЗ. Нельзя исключать, что, например, более продолжительный период развития ооцитов в сравнительно комфортных температурных условиях может уже в условиях морского нагула определить возврат большего числа производителей в более раннем возрасте. Не исключено также, что именно с позиции разного темпа раннего гаметогенеза у молоди не только в заводских, но и естественных условиях, можно объяснять снижение возраста полового созревания в популяции кеты (Горяинов и др., 2008). Впрочем, согласно полученным нами данным, определять возраст, когда ооциты вступают в период превителлогенеза, можно и не зная суммы набранных молодью градусо-дней. При любом температурном режиме превителлогенез ооцитов у самок начинается на этапе личиночного развития, т.е. незадолго до полной утилизации ими запаса желточного мешка.

Ну и конечно, знание периодизации развития гонад у молоди кеты можно учитывать, сталкиваясь, например, со случаями гермофрадитизма, давно известными в литературе (Honma, Chiba, 1985) и часто сообщаемыми рыбоводами, а также при возможном вовлечении кеты в процесс товарного выращивания. Как известно, в современной аквакультуре часто выращивают генерации однополых рыб, в том числе состоящих только из женских особей, а эффективность процесса передифференцировки пола прямо зависит от того, при каком состоянии гонад на рыб оказывают гормональное воздействие (Pffiferer, 2001).

По совокупности полученных данных и высказанных соображений мы можем сделать следующее заключение. Очевидно, что ранний гаметогенез молоди кеты был исследован нами при весьма различных температурных режимах. Нет сомнений и в том, что молодь кеты можно вырастить, как при более высокой, так и более низкой температуре. Однако мы полагаем, что развитие большей части молоди, как в естественных, так и в заводских условиях укладывается в заданный нами диапазон температурных режимов. В любых условиях дифференцировка пола у зародышей

начиналась уже после их массового вылупления в различном возрасте, но при сходной сумме набранных ими градусо-дней. Период от начала дифференцировки пола до начала роста ооцитов в различных условиях растягивался от 27 до 144 сут причем даже у рыб на одном рыбоводном заводе. Чем ниже была температура воды после начала дифференцировки пола, тем меньшую сумму градусо-дней набирала молодь до начала превителлогенного роста ооцитов и тем менее продолжительным был период от начала роста ооцитов до выпуска мальков с рыбоводных предприятий. При любых условиях период превителлогенеза начинается до завершения личиночного периода развития. Можно полагать, что в естественных и заводских условиях объем желтка в среднем от 2% до 10% у личинок кеты является хорошим внешним показателем начала роста ооцитов.

Полученные результаты определили следующий этап работы, в ходе которого было исследовано состояние гонад молоди при ее выпуске на всех заводах Сахалинской области, для которых известна возрастная структура стада, и где технически возможно проследить развитие каждой партии.

Анализируя полученные результаты, в первую очередь отметим, что масса, которую молодь кеты набирает за период выращивания, во-первых, может быть различной даже на одном рыбоводном заводе, а во-вторых, не зависит от суммы, набранного молодь тепла. Например, молодь с Калининского завода при сумме 1002,7 градусо-дней и рыб с Охотского завода при сумме 1761,7 градусо-дней выпускали практически при одной массе тела 1222,3 и 1286,0 мг (табл. 5.4; строки 1 и 23 соответственно). Отсутствие связи между суммой градусо-дней, которую молодь набирает за полный период выращивания на заводе и массой, с которой ее выпускают, объясняется спецификой температурных режимов и особенностью роста мальков. На сравнительно холодноводных заводах, где невелика доля грунтовых вод, а температура воды при выращивании рыб определяется ее естественным сезонным изменением, молодь набирает наименьшую сумму градусо-дней. Однако, чем ниже температура воды в зимние месяцы, тем выше она в весенние (рис. 5.2). А ведь именно в весенние месяцы молодь начинает питаться и расти, причем ее рост описывается экспоненциальным уравнением (Самарский, 2005; Лапшина, 2017). То, что молодь тихоокеанских лососей, набрав принципиально различную сумму градусо-дней, может иметь одинаковую массу тела, ранее было показано нами и для других видов, например, горбуши (Зеленников и др., 2020) или симы (Мякишев и др., 2019б).

Таблица 5.4.

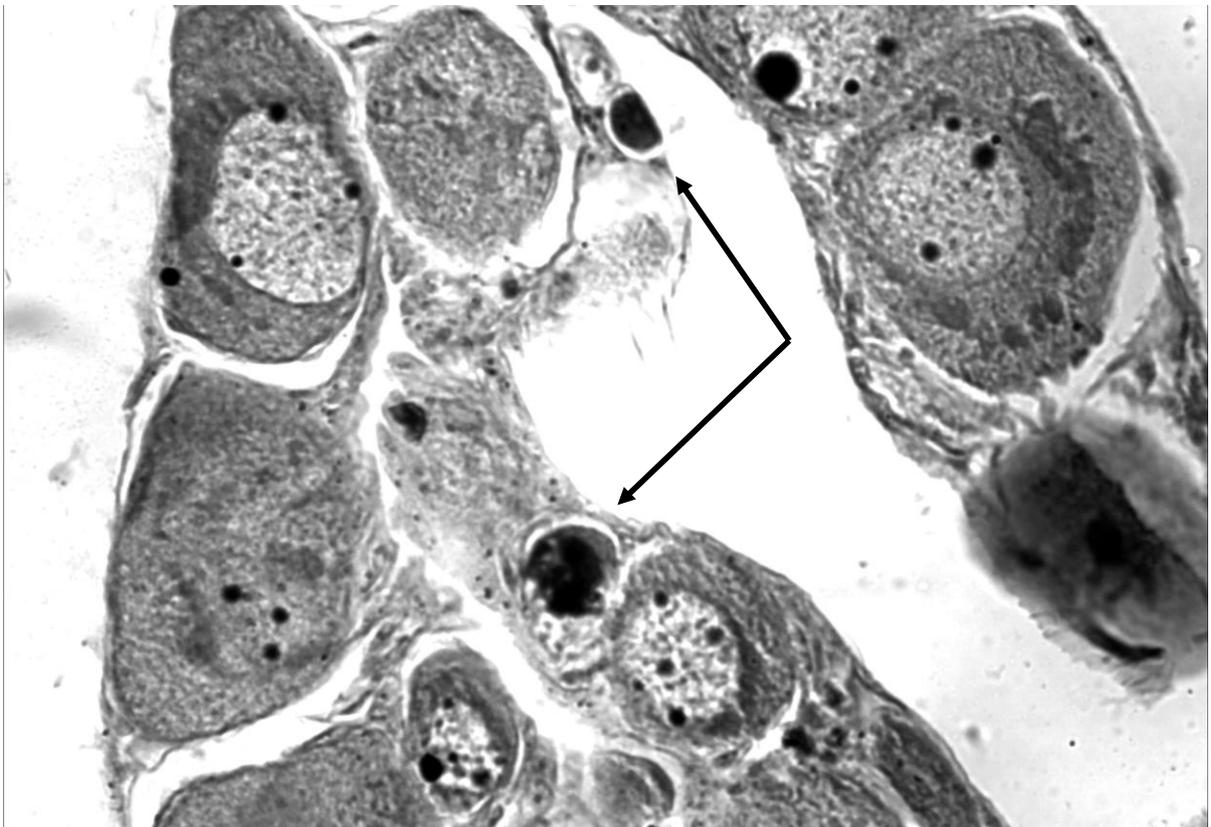
Состояние яичников у самок кеты перед выпуском с лососевых рыболовных заводов Сахалинской области

Группы расположены по мере увеличения набранной молодью суммы градусо-дней

№ п/п	Завод	Число рыб	Дата фиксации	Сумма градусо-дней	Масса рыб, мг	Длина рыб, L мм	Площадь среза гонад, мм <sup>2</sup> *10 <sup>-2</sup> мм <sup>2</sup>	Ооцитов периода ПВ на 1 срез		Диаметр ооцитов ПВ, мкм
								шт	%	
1	Калининский	6	10.06.00	1002,7	1222,3 ± 64,3	53,7 ± 0,8	31,8 ± 1,7	12,6 ± 1,1	44,8 ± 4,0	31,8 ± 1,7
2	Ясноморский	6	08.06.00	1017,0	755,0 ± 107,0	45,7 ± 2,1	13,7 ± 1,8	3,4 ± 1,1	14,8 ± 5,5	36,0 ± 3,3
3	Калининский	11	12.06.02	1031,3	901,5 ± 39,7	47,7 ± 0,6	18,2 ± 1,9	5,7 ± 1,0	28,4 ± 4,5	37,1 ± 3,5
4	Сокольниковский	8	12.06.00	1044,7	1173,4 ± 72,0	54,2 ± 0,6	26,5 ± 4,3	9,7 ± 1,8	38,6 ± 4,9	44,9 ± 1,8
5	Ясноморский	9	24.06.00	1052,1	1394,0 ± 177,8	54,4 ± 2,3	52,4 ± 6,0	13,3 ± 0,6	65,6 ± 5,0	56,1 ± 3,2
6	Побединский	7	25.05.14	1131,1	774,8 ± 29,5	44,8 ± 0,5	11,7 ± 1,8	10,4 ± 1,6	51,5 ± 6,4	43,1 ± 2,9
7	Сокольниковский	11	20.06.00	1139,3	733,6 ± 40,6	47,7 ± 0,9	20,5 ± 2,3	7,5 ± 1,0	39,1 ± 7,2	41,1 ± 2,3
8	Сокольниковский	24	31.05.19	1139,8	800,5 ± 39,6	44,5 ± 0,7	19,6 ± 1,7	9,3 ± 1,1	41,0 ± 4,3	32,9 ± 1,1
9	Сокольниковский	10	30.05.12	1148,1	935,2 ± 47,4	46,8 ± 0,5	20,6 ± 2,7	10,2 ± 1,2	62,3 ± 3,8	35,0 ± 4,1
10	Сокольниковский	10	17.06.12	1152,4	987,7 ± 38,1	47,6 ± 0,5	25,3 ± 2,4	10,1 ± 1,2	63,7 ± 5,9	40,1 ± 1,2
11	Таранайский	8	05.06.19	1056,7	761,2 ± 109,7	40,0 ± 2,1	35,9 ± 6,2	13,6 ± 2,4	45,3 ± 7,3	40,7 ± 1,5
12	Соколовский	7	25.07.00	1102,4	1095,3 ± 142,8	52,1 ± 2,3	55,1 ± 11,7	12,8 ± 1,1	69,7 ± 6,7	60,7 ± 2,6
13	Урожайный	9	30.06.12	1107,3	1019,3 ± 74,0	49,0 ± 0,9	26,2 ± 1,9	9,5 ± 0,8	65,7 ± 7,1	43,0 ± 2,4
14	Сокольниковский	10	30.05.12	1148,1	935,2 ± 47,4	46,8 ± 0,5	20,6 ± 2,7	10,2 ± 1,2	62,3 ± 3,8	35,0 ± 4,1
15	Соколовский	9	22.07.00	1212,8	802,0 ± 78,0	48,5 ± 1,6	32,1 ± 4,0	9,9 ± 1,1	53,4 ± 6,1	50,4 ± 1,8
16	Побединский	8	10.06.14	1289,8	1008,0 ± 78,4	48,1 ± 1,5	40,8 ± 8,1	10,8 ± 1,9	74,0 ± 7,4	77,6 ± 1,6
17	Рейдовый	8	06.06.12	1295,5	862,5 ± 36,3	44,8 ± 0,7	30,9 ± 1,6	10,8 ± 0,8	76,6 ± 2,7	64,6 ± 1,8
18	Залом	8	10.06.98	1361,5	1349,2 ± 71,5	52,4 ± 0,7	65,6 ± 7,7	15,0 ± 2,2	76,0 ± 7,7	68,3 ± 2,6
19	Побединский	10	22.06.01	1373,0	877,8 ± 42,0	45,1 ± 1,4	50,0 ± 6,5	13,1 ± 1,2	80,1 ± 5,3	59,8 ± 2,1
20	Охотский	12	29.05.12	1611,4	1083,4 ± 80,9	50,1 ± 1,1	60,6 ± 3,8	11,8 ± 0,6	99,8 ± 0,2	69,1 ± 2,1
21	Бухта Оля	7	12.06.12	1640,5	887,1 ± 127,8	46,4 ± 1,3	50,2 ± 3,9	14,1 ± 0,8	87,2 ± 2,4	72,4 ± 2,3
22	Охотский	8	16.06.12	1647,4	1023,6 ± 95,1	49,7 ± 1,6	74,6 ± 9,8	13,4 ± 1,1	99,0 ± 0,4	74,5 ± 3,9
23	Охотский	10	08.06.00	1761,7	1286,0 ± 42,8	56,9 ± 0,6	156,1 ± 11,9	15,5 ± 0,9	96,3 ± 1,6	106,4 ± 1,9
24	Охотский	25	05.06.14	1884,5	1429,4 ± 75,0	56,8 ± 1,0	70,4 ± 4,6	12,4 ± 0,6	98,6 ± 0,5	94,5 ± 1,6

У всех самок кеты перед выпуском с рыбоводных заводов в яичниках присутствовали гонии, ооциты периода ранней профазы мейоза и периода превителлогенеза. За единичным исключением, в большинстве исследованных нами партий у самок уже была сформирована единственная генерация ооцитов периода превителлогенеза так, как это характерно для моноциклических тихоокеанских лососей. Об этом можно судить потому, что число ооцитов, приходящихся на один срез гонады, у рыб на разных заводах было сходным, хотя и площадь поперечных срезов, и диаметр ооцитов могли различаться в несколько раз (табл. 5.4). При этом гонии у рыб во всех партиях продолжали делиться, вступали в мейоз и в значительном количестве подвергались резорбции (рис. 5.4).

Все остальные параметры состояния яичников были тесно связаны с суммой накопленного молодью тепла. В первую очередь, по мере увеличения суммы градусо-дней, у молоди кеты прогрессивно увеличивался диаметр ооцитов ( $r=0,88$ ). В результате рыб с разных заводов выпускали со сходной массой тела, но с принципиально разным состоянием гонад (рис. 5.5А, Б). Поскольку ооциты периода превителлогенеза у самок



**Рис. 5.4.** Резорбция гониев и ооцитов периода ранней профазы мейоза в яичнике у малька кеты. Шкала = 50 мкм.

занимали практически весь объем яичников, то и их площадь на поперечных срезах также тесно коррелировала с суммой набранных градусо-дней ( $r=0,73$ ). По мере роста ооцитов периода превителлогенеза закономерно замедлялось митотическое размножение гониев и уменьшалась их доля, а также доля мейоцитов ( $r=0,86$ ).

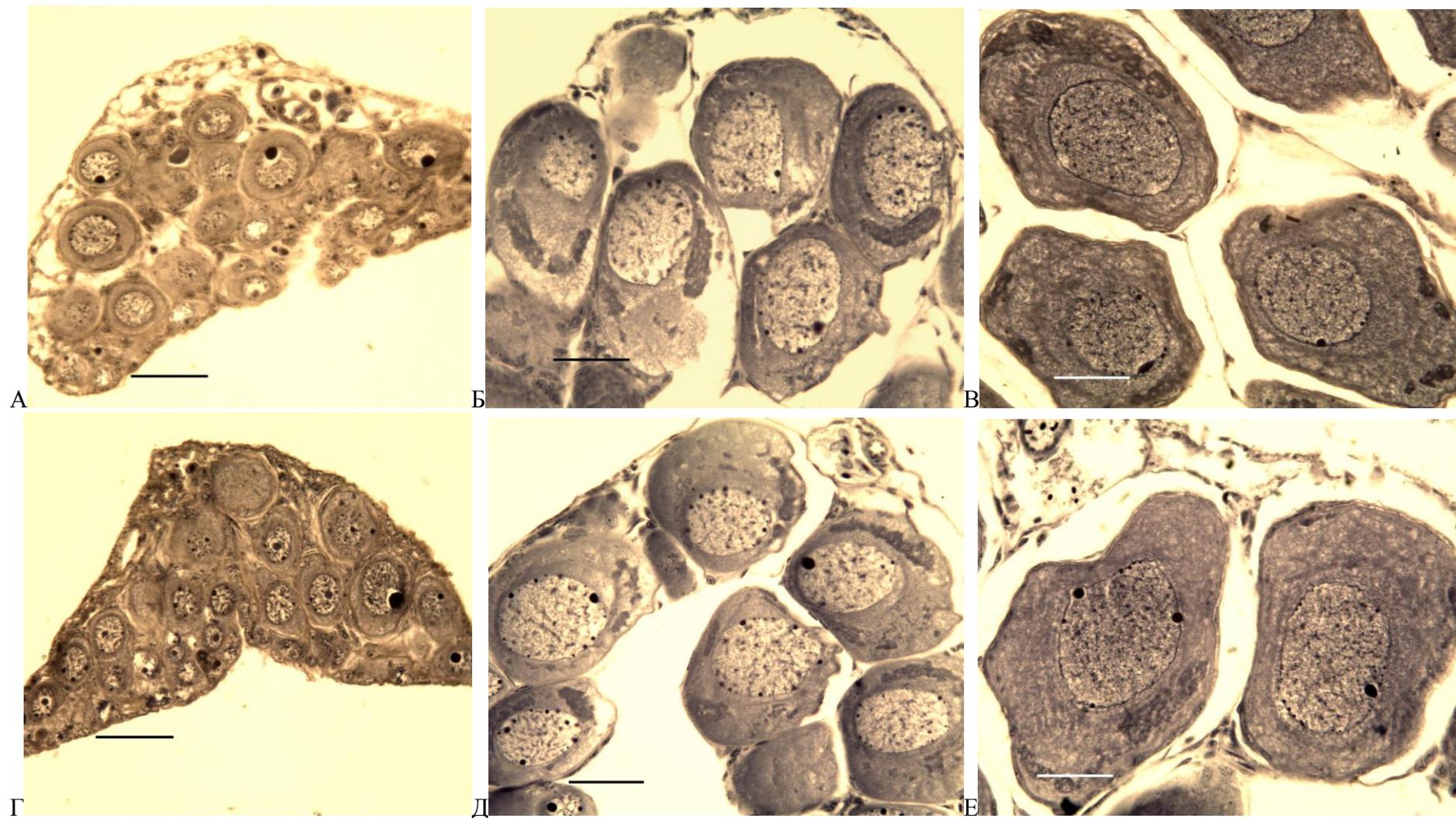
Анализируя весь массив полученных данных, мы можем высказать принципиальное заключение: со всех заводов, на которых среди производителей преобладали особи старших возрастных групп – Калининского, Сокольниковского, Ясноморского, Урожайного – выпускали молодь с наименее развитыми гонадами. И напротив, с заводов, на которых преобладают особи младших возрастных групп – с Охотского, Залома и других выпускали мальков с наиболее развитыми яичниками (табл. 5.4). Вообще если из табл. 5.4. суммировать данные для четырех таких заводов: Калининского, Ясноморского, Сокольниковского и Урожайного, то в среднем площадь срезов гонад, диаметр и доля ооцитов периода превителлогенеза составят соответственно  $25,0 \times 10^{-3} \text{ мм}^2$ ; 39,4 мкм и 47,8%, тогда как на остальных заводах эти же значения будут равны  $56,5 \times 10^{-3} \text{ мм}^2$ , 67,8 мкм и 77,5%. При этом масса тех и других рыб – в среднем 987,1 и 1018,5 мг – не будет существенно различаться. То, что столь разные показатели состояния гонад, в том числе и наиболее важный для нас – диаметр ооцитов, характерны для рыб сходного размера, побудило исследовать зависимость изменения темпа роста ооцитов от темпа роста рыб. Оказалось, что в каждой конкретной партии между этими двумя процессами у молоди кеты в период подращивания на заводах нет взаимосвязи. Так, коэффициент корреляции диаметра ооцитов с массой рыб в каждой из 24 выборок кеты непосредственно перед выпуском достигал  $r=0,37$ , а с длиной рыб –  $r=0,46$ . Более высокая связь диаметра ооцитов с массой – 0,57 была характерна только для одной партии молоди с Сокольниковского ЛРЗ (табл 5.4; строка 8), а также с массой и длиной для обеих партий с Ясноморского ЛРЗ – 0,54 и 0,64 (строка 2); 0,92 и 0,91 (строка 5). Однако последнее исключение легко объяснить, и это объяснение представляется весьма примечательным для дальнейшего анализа. Дело в том, что Ясноморский ЛРЗ, как ранее было отмечено, является самым холодноводным предприятием из тех, на которых выращивают молодь кеты. И хотя молодь этого вида можно вырастить и при более низкой температуре, например, на Анивском или Урожайном ЛРЗ (Коломыцев и др., 2018), все-таки эти предприятия ориентированы на воспроизводство молоди горбуши, и кету выращивают в незначительно количестве. В отличие от всех остальных заводов, на Ясноморском ЛРЗ молодь кеты кормят в одном общем пруду, в который выпускают

личинки из бетонных каналов после их поднятия «на плав». В этой связи, очевидно, выборки рыб, взятые нами для исследования на этом заводе, составили не только разноразмерные, но, главным образом, разновозрастные мальки.

При анализе всего массива полученных данных нельзя исключать, что отсутствие корреляции между диаметром ооцитов и массой рыб могло быть следствием и малого объема выборок. Вообще, эти выборки в 6-14 экземпляров, являющиеся обычными для исследования на гистоморфологическом уровне, для статистического анализа подходят только условно, лишь для предварительного рассмотрения. Формально, мы вообще не можем применять к анализу этих данных коэффициент парной корреляции Пирсона. Поэтому для более качественного исследования степени различий в состоянии гонад у одновозрастных рыб, выращенных при разных температурных режимах, взяли более крупные группы (по 24 малька). Рыб зафиксировали от первых партий на Сокольниковском (1139,8 градусо-дней; табл. 5.4; строка 8), и Охотском (1884,5 градусо-дней; строка 24) лососевых заводах. В качестве контроля исследовали партию молоди горбуши, которую на Китовом лососевом заводе вырастили в ходе опытно-производственного эксперимента до более крупной навески (1282,2 градусо-дня). Как известно, одновозрастные особи горбуши, за редчайшим исключением, достигают половой зрелости двухлетками, и мы полагали, что состояние гонад у рыб одного возраста будет наиболее сходным.

Как и предполагали, с учетом данных, полученных ранее (Глава 3), молодь горбуши имела более развитые гонады, чем молодь кеты любой из обследованных групп. Диаметр ооцитов периода превителлогенеза в среднем составил 119,7 мкм, при этом гонии и мейоциты присутствовали в гонадах как редчайшее исключение, и при количественном анализе на анализируемые срезы не попали. Дисперсия массы тела у горбуши в обследованной группе составила 282, площади гонад на поперечных срезах – 257, а диаметра ооцитов – 23.

У молоди кеты, взятой на Сокольниковском заводе, в массе присутствовали гонии и мейоциты (рис. 5.4), а диаметр ооцитов периода превителлогенеза в среднем составил 32,9 мкм и был в 3,6 раза меньше, чем у молоди горбуши. Дисперсия массы тела была несколько меньше – 258, а площади гонад на срезах и диаметра ооцитов заметно больше – 368 и 130. На Охотском заводе в соответствии с выявленной ранее закономерностью, диаметр ооцитов у молоди кеты в среднем увеличился до 94,5 мкм по мере увеличения суммы градусо-дней. Наглядно различия между размерами ооцитов у молоди кеты на Сокольниковском и Охотском ЛРЗ, а также молоди горбуши на Китовом ЛРЗ можно



**Рис. 5.5.** Характерное состояние яичников у молоди кеты при выпуске с Сокольниковского ЛРЗ массой 614 (А) и 1304 мг (Г), с Охотского ЛРЗ массой 640 (Б) и 1210 мг (Д), а также горбуши при выпуске с Китового ЛРЗ массой 604 (В) и 1304 мг (Е), представленных при одном увеличении. Пояснение в тексте. Шкала = 50 мкм.

представить, сопоставляя внешний вид ооцитов, сфотографированных при одном увеличении (рис. 5.5). Дисперсия массы тела у молоди на Охотском ЛРЗ составила 232,5, а площади гонад на срезах и диаметра ооцитов соответственно 433,7 и 41,5. Таким образом, дисперсия массы тела у молоди горбуши и кеты была сходной. В отличие от этого, дисперсия двух основных показателей состояния гонад – площади яичников и диаметра ооцитов у молоди кеты оказались значительно больше.

Обсуждая полученные результаты, отметим, что степень неоднородности показателей, характеризующих состояние половых желез у молоди кеты, значительно выше, чем у молоди горбуши, имеющей более крупные гонады. Особенно значительно различается диаметр ооцитов у одновозрастной кеты. Можно полагать, что у разных рыб изначально проявляется разный темп оогенеза, который и определяет их половое созревание в разном возрасте. Именно это и происходит у лососей с длительным периодом речного развития.

## **5.2. Ранний гаметогенез молоди горбуши в ходе искусственного воспроизводства на рыбоводных заводах в Сахалинской области**

Анализируя полученные факты, зададимся следующим вопросом. Могут ли выявленные различия в состоянии гонад у самок кеты непосредственно перед выпуском с рыбоводных заводов и, в частности, различия в размерах ооцитов, привести к половому созреванию производителей в разном возрасте. Казалось бы, ответ на этот вопрос может дать анализ состояния гонад у молоди горбуши, ведь для обоих видов характерен короткий цикл развития молоди в реке, но в отличие от кеты, абсолютное большинство производителей горбуши созревает одновременно на втором году жизни. Отметим, что горбушу для исследования кеты используют в разных аспектах, например для прогноза выживаемости молоди (Sinyakov, Ostroumov, 1998), и это несмотря на то, что, в отличие от кеты, отличающейся стабильным хомингом, для горбуши (Глубоковский и др., 1989) характерно массовое отклонение от «родных» нерестовых рек (Исаев, 1961; Крупицкий, Устюгов, 1977; Бьёркнес, Vog; 1981; Agler et al., 2001; Дорофеева и др., 2006) и даже способность при определенных условиях совершать глобальные межрегиональные миграции (Глубоковский, Животовский, 1986; Каев, Животовский, 2017).

Таким образом, в качестве рабочей гипотезы можно было предположить, что если выявленные различия в состоянии гонад у самок кеты на разных заводах определяют половое созревание производителей в разном возрасте, то у молоди горбуши в разных условиях обитания эти различия будут принципиально меньше.

Для проверки этой гипотезы были привлечены данные состояния яичников у молоди горбуши на четырех заводах, где, по мнению руководителей управления ФГУ «Сахалинрыбвод», представлено все многообразие условий, при которых ее воспроизводят в Сахалинской области: Урожайном, Анивском, Соколовском (юг Сахалина) и Рейдовом ЛРЗ (о. Итуруп). Подчеркнем, что исследование молоди кеты было начато в 2000-01 гг., а фиксации гонад у горбуши проводили в мае-июне 1997-98 гг. в связи с исследованием другой проблемы – соотношения полов в генерациях заводской молоди (Зеленников, Федоров, 2000). Таким образом, для проверки данной гипотезы был привлечен собранный ранее материал, что, очевидно, может повысить объективность этой проверки.

Впрочем, помимо молоди горбуши, исследованной в 1997 и 1998 годах (табл. 5.5; строки 1-17), в 2016 и 2017 годах вновь было исследовано состояние гонад у горбуши, но уже на всех 22-ух рыболовных заводах, на которых ее выращивали в эти годы (табл. 5.5; строки 18-39). На всех заводах исследовали молодь от первой массовой партии. Необходимость повторного и более масштабного исследования объяснялась очень быстрым развитием рыболовной практики в этом регионе России (Каев, 2010; Кловач и др., 2017, 2018). За последние 20 лет были либо построены заново, либо полностью перестроены (часто на новом месте) большинство рыболовных заводов, которые к тому же приобрели в ходе реконструкции новые технические характеристики. При этом изменились не только масштаб, но и биотехника выращивания молоди. Фактически, темп развития рыболовной отрасли в Сахалинской области таков, что любые данные по объему выпуска молоди в этом регионе устаревают уже в год их публикации (Зеленников, 2019в).

По современной технологии выращивания молоди горбуши, ее перед выпуском подкармливают в течение 2-4 недель, добиваясь увеличения массы тела в 1,5-2 раза по сравнению с молодь от естественного нереста (Зеленников, Федоров, 2005; Зеленников, Юрчак, 2019), которая в коротких сахалинских реках практически не питается (Казарновский, 1962).

У самок в начале кормления старшую генерацию половых клеток составляли ооциты периода превителлогенеза. При этом состояние яичников у горбуши на разных ЛРЗ в зависимости от температурного режима существенно различалось. Например, молодь последней партии на одном из самых «холодноводных» – Анивском (табл. 5.5; строка 1) и самом «тепловодном» – Рейдовом ЛРЗ (строка 10) перед началом подкормки имела в среднем сходную массу тела (234,1 и 235,6 мг), но к этому времени первые из них набрали только 610 градусо-дней, а вторые – 814 градусо-дней.

Таблица 5.5.

Состояние яичников у молоди горбуши незадолго до- и непосредственно перед выпуском с рыбоводных заводов в 1997-1998 и 2016-2017 гг (группы в обоих циклах расположили по мере увеличения средней массы исследованных рыб).

№	Завод – суток до выпуска*	Дата фиксации	Число рыб, экз.	Гра-дусо-дни	Масса, мг	Длина (L), мм	Площадь среза гонад, $\times 10^{-3}$ мм <sup>2</sup>	Число ооцитов ПВ на срезе		Диаметр ооцитов, мкм
								%	шт	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	Анивский – 7	18.05.98	16	610	234,1 ± 5,5	33,5 ± 0,2	22,1 ± 2,3	70,1	7,8 ± 0,8	49,1 ± 2,4
2	Соколовский – 8	08.06.97	13	642	228,7 ± 14,3	34,6 ± 0,5	29,7 ± 3,1	84,4	7,8 ± 0,5	58,2 ± 1,3
3	Анивский – 10	02.06.97	18	711	196,8 ± 6,3	32,6 ± 0,3	25,7 ± 1,8	94,9	7,6 ± 0,5	57,1 ± 1,3
4	Соколовский	06.06.97	9	761	224,1 ± 21,8	35,5 ± 1,0	38,1 ± 3,3	97,9	8,7 ± 0,5	67,7 ± 1,7
5	Урожайный	17.05.97	17	765	225,3 ± 13,2	34,2 ± 0,4	43,5 ± 1,9	98,3	9,0 ± 0,4	66,1 ± 0,7
6	Анивский	23.05.97	10	770	251,9 ± 16,5	33,8 ± 0,5	44,0 ± 3,2	98,7	9,4 ± 0,6	66,3 ± 1,7
7	Урожайный	18.05.97	17	779	261,8 ± 14,2	34,4 ± 0,4	41,1 ± 1,9	98,2	8,7 ± 0,4	66,1 ± 1,6
8	Анивский	16.05.98	16	781	244,4 ± 17,2	34,4 ± 0,5	76,8 ± 4,4	99,5	10,4 ± 0,3	81,4 ± 1,1
9	Анивский	06.06.98	19	787	253,1 ± 22,6	34,4 ± 0,8	52,0 ± 0,3	99,4	9,9 ± 0,4	74,3 ± 1,4
10	Рейдовый – 10	25.05.98	13	814	235,6 ± 8,5	33,8 ± 0,4	40,4 ± 1,2	93,2	9,3 ± 0,3	68,2 ± 0,9
11	Анивский	22.05.97	9	826	238,1 ± 25,9	33,2 ± 0,9	50,9 ± 3,8	100	9,2 ± 0,5	72,5 ± 1,7
12	Соколовский	04.06.98	16	827	348,5 ± 33,7	33,3 ± 1,0	54,6 ± 4,7	98,3	9,4 ± 0,4	75,8 ± 1,3
13	Рейдовый	23.05.98	19	900	252,1 ± 8,0	34,4 ± 0,3	58,8 ± 2,7	98,1	11,9 ± 0,4	73,9 ± 1,1
14	Рейдовый	25.05.97	16	916	260,4 ± 16,3	34,4 ± 0,5	44,1 ± 2,4	99,2	9,7 ± 0,4	69,6 ± 1,2
15	Анивский	02.06.98	9	955	385,8 ± 53,0	38,1 ± 1,7	104,0 ± 10,8	99,1	12,3 ± 1,1	90,9 ± 2,3
16	Рейдовый	25.05.97	12	993	251,6 ± 15,3	34,2 ± 0,7	57,5 ± 2,9	98,3	9,6 ± 0,4	79,3 ± 1,6
17	Анивский	30.06.98	16	1255	1352,2 ± 9,7	56,9 ± 1,2	316,1 ± 4,6	99,7	11,4 ± 0,7	142,8 ± 3,0

Таблица 5.5. (продолжение).

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
18	Нитуй	10.06.16	5	710	350,2 ± 17,1	39,4 ± 0,6	22,6 ± 1,4	96,5	12,6 ± 1,0	74,9 ± 2,4
19	Мануй	14.06.16	6	803	434,0 ± 48,2	39,2 ± 1,7	42,3 ± 5,1	100	10,8 ± 1,3	97,6 ± 2,5
20	Красноярка	25.05.17	5	826	327,8 ± 40,4	37,8 ± 1,3	15,4 ± 1,1	98,8	10,0 ± 1,3	74,0 ± 4,8
21	Лесной – 10	27.05.16	18	832	270,9 ± 15,8	34,8 ± 0,8	24,2 ± 1,9	99,5	10,5 ± 0,6	76,7 ± 1,8
22	Скальный	20.06.16	5	852	304,6 ± 38,1	37,4 ± 1,1	20,8 ± 2,0	99,0	10,8 ± 1,3	73,0 ± 0,7
23	Пугачевский	09.06.16	5	865	316,7 ± 37,9	36,5 ± 1,0	28,8 ± 3,9	100	11,0 ± 0,7	79,3 ± 3,8
24	Анивский	30.05.16	5	882	298,7 ± 13,0	35,3 ± 0,3	27,2 ± 6,2	95,9	12,2 ± 1,4	79,7 ± 3,3
25	Фирсовка	14.06.16	5	885	319,5 ± 23,0	37,2 ± 0,6	28,4 ± 2,5	100	9,75 ± 0,3	89,9 ± 3,0
26	Бахура	09.06.16	10	890	334,7 ± 23,6	37,4 ± 0,9	28,1 ± 2,1	99,5	9,6 ± 0,6	87,1 ± 1,4
27	Таранайский	30.05.16	5	916	262,2 ± 27,9	35,0 ± 1,4	23,0 ± 3,7	99,2	9,7 ± 1,0	78,6 ± 2,7
28	Лазовой	10.06.16	5	917	300,4 ± 24,0	38,0 ± 0,7	47,4 ± 7,9	96,2	14,6 ± 1,3	104,9 ± 4,9
29	Лесной	07.06.16	19	934	396,0 ± 23,4	38,4 ± 0,9	38,7 ± 1,5	99,0	10,7 ± 0,5	95,4 ± 1,3
30	Долинка	16.06.16	5	984	289,8 ± 20,4	37,2 ± 0,7	36,6 ± 5,4	97,3	9,9 ± 1,8	91,8 ± 1,3
31	Поречье	15.06.17	5	955	387,5 ± 33,2	39,7 ± 0,8	32,7 ± 0,7	97,0	12,0 ± 0,5	88,6 ± 3,7
32	Тихая	09.06.16	5	980	487,4 ± 50,9	41,8 ± 0,9	31,9 ± 3,7	98,2	10,8 ± 0,6	95,4 ± 4,1
33	Курильский	10.06.16	5	1019	388,0 ± 42,9	38,7 ± 1,3	33,1 ± 3,6	98,5	12,2 ± 1,0	88,4 ± 2,5
34	Монетка	31.05.16	5	1023	304,6 ± 39,4	38,6 ± 1,6	33,0 ± 3,9	100	10,8 ± 1,0	94,0 ± 3,3
35	Урожайный	31.05.16	5	1035	476,2 ± 45,3	41,5 ± 1,3	39,2 ± 2,5	95,0	10,6 ± 1,0	97,8 ± 3,5
36	Куйбышевский	06.06.16	5	1047	444,6 ± 9,0	40,2 ± 0,9	37,5 ± 4,0	98,3	12,3 ± 0,5	93,2 ± 2,4
37	Рейдовый	10.06.16	5	1167	492,5 ± 34,9	41,5 ± 0,9	46,4 ± 4,5	100	9,9 ± 0,5	103,5 ± 1,1
38	Китовый	10.07.17	10	1282	910,7 ± 99,6	52,7 ± 1,7	126,4 ± 13,8	97,4	11,6 ± 1,0	133,9 ± 2,5
39	Бухта Оля	23.06.16	18	1664	903,4 ± 94,0	50,0 ± 1,8	96,3 ± 5,6	99,6	12,2 ± 0,5	127,0 ± 2,2

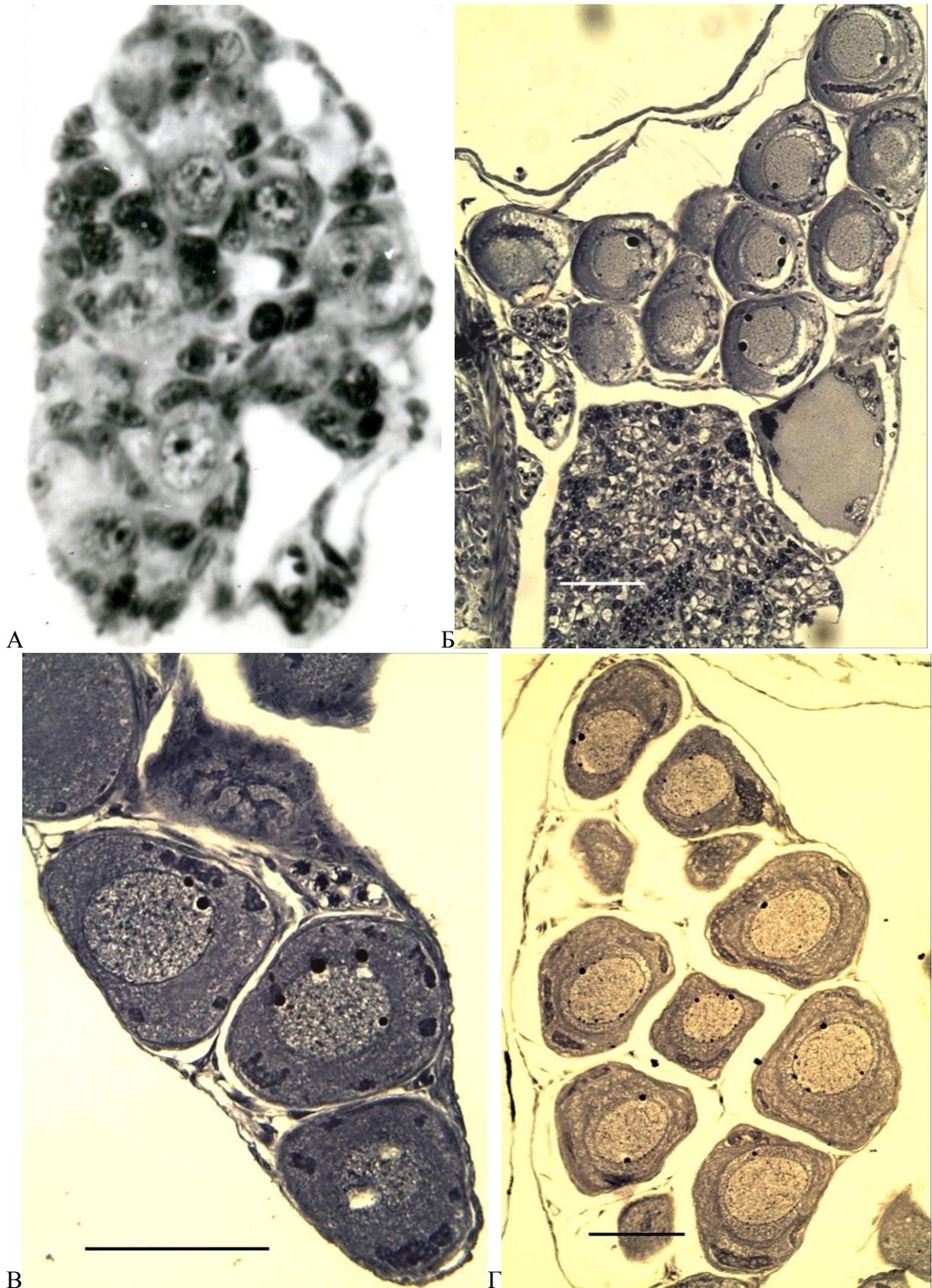
Можно видеть, что при сходных размерах тела у молоди на Анивском ЛРЗ половые железы, судя по площади их срезов, были почти в два раза, а диаметр в полтора раза меньше, чем на Рейдовом ЛРЗ – в среднем 22,1 и  $40,4 \times 10^{-3} \text{ мм}^2$ ; 49,1 и 68,2 мкм.

Перед выпуском масса молоди горбуши в среднем также могла существенно различаться на разных предприятиях. Рассмотрим это на примере рыб, обследованных в 2016-17 гг. Данные в таблице расположили по мере увеличения средней массы исследованных рыб. Можно видеть, что масса заводской молоди на разных предприятиях в среднем изменялась от 262,2 мг на Таранайском до 492,5 мг на Рейдовом ЛРЗ. Исключение составили два кетовых завода – «Бухта Оля» и «Китовый», – на которых в режиме производственного эксперимента вырастили небольшие партии горбуши до массы в среднем 903,4 и 910,7 мг (табл. 5.5).

К началу кормления молоди и тем более к моменту выпуска с рыбоводных заводов инверсия пола у самцов горбуши полностью завершается. У всех самцов гонады представляли собой малодифференцированные железы, на срезах которых присутствовали в среднем от 5 до 10 гониев (рис. 5.6А).

У всех самок горбуши в яичниках также, как и у рыб, исследованных нами в 1997-98 гг., уже была сформирована генерация сходных по размеру и состоянию ооцитов периода превителлогенеза. В их цитоплазме можно было видеть элементы циркумнуклеарного комплекса (рис. 5.6Б). Половые клетки более раннего состояния – гонии и ооциты периода ранней профазы мейоза – присутствовали как исключение (рис. 5.6В). О том, что единственная генерация превителлогенных ооцитов уже была сформирована, свидетельствовал тот факт, что число клеток этого периода в среднем на срез у мальков на разных заводах было сходным, в среднем на поперечный срез составляло от 9,6 до 12,6 (при единственном исключении 14,6) и с увеличением массы тела не изменялось. В отличие от этого, по мере увеличения массы рыб закономерно увеличивались как объем яичников, судя по их площади на срезах ( $r=0,92$ ), так и диаметр ооцитов ( $r=0,87$ ). Также закономерно увеличивались площадь гонад на срезах ( $r=0,80$ ) и диаметр ооцитов ( $r=0,84$ ) у рыб на разных заводах по мере увеличения набранной молодью суммы градусо-дней. Интересно отметить, что состояние гонад у заводской молоди – как обычной, так и выращенной до более крупной навески, по микроанатомической структуре и составу половых клеток было практически одинаковым (рис. 5.6Б, Г).

Для выяснения зависимости параметров состояния гонад от массы в пределах партий одновозрастных рыб мы проанализировали их изменение в выборках более



**Рис. 5.6.** Состояние семенников (А) и яичников (Б, Б', Г) у молоди горбуши при выпуске с рыбоводных заводов. Характерный вид генерации ооцитов периода превителлогенеза при обычном (Б) и более длительном (Г) выращивании. Шкала = 100 мкм.

10 особей. Установили, что оба основных показателя – площадь яичников на поперечных срезах и диаметр ооцитов, как и в случае с кетой, не были связаны с темпом роста рыб. Коэффициент корреляции первого показателя с длиной тела в 15 исследованных партиях варьировал от -0,13 до 0,44, а с массой тела – от -0,37 до 0,46. Коэффициенты корреляции второго показателя с длиной – от -0,19 до 0,41 (одно исключение -0,61) и массой тела – от -0,38 до 0,23 (исключение -0,58) также были не достоверны.

Полагая, что одной из причин отсутствия корреляции может быть малый объем выборки, для статистического анализа корреляции развития яичников с массой тела рыб была отобрана молодежь только тех партий, которые к моменту выпуска с заводов набрали сходную сумму градусо-дней – 761-787: Соколовского (строка 4), Урожайного (строки 5, 7) и Анивского ЛРЗ (строки 6, 8, 9; табл. 5.5). Общий объем выборки составил 88 особей. Результаты статистического анализа подтвердили выводы предварительного наблюдения – диаметр ооцитов и площадь срезов половых желез не были связаны с массой тела рыб (соответственно  $r=0,231$  и  $r=0,064$ ).

Из материалов 2016-17 гг. взяли три группы: молодежь с Лесного ЛРЗ за 10 сут до выпуска массой в среднем 270,9 мг (от 154 до 369 мг), с Лесного ЛРЗ перед выпуском массой 396,0 мг (от 173 до 514 мг) и с ЛРЗ «Бухта Оля» массой 903,4 мг (от 297 до 1682 мг) (табл. 5.5; строки 21, 29, 39 соответственно). С увеличением массы тела наметилась некоторая (недостоверная) тенденция увеличения площади гонад на срезах –  $r=0,59$ ;  $r=0,63$  и  $r=0,47$  соответственно, и увеличения диаметра ооцитов –  $r=0,41$ ;  $r=0,45$  и  $r=0,18$ .

Обобщая полученные данные, мы можем заключить, что состояние гонад у молодежи горбуши перед выпуском с заводов при современной биотехнике ее выращивания оказалось сходным. Фактически у всех самок уже была сформирована старшая и, фактически, единственная генерация ооцитов периода превителлогенеза. В дальнейшем рост ооцитов по мере роста рыб определял увеличение объема гонад.

В завершение анализа гонад у заводской молодежи горбуши отметим, что исключительно редко встречались самки, состояние яичников у которых принципиально отличалось от их состояния у большинства особей. В масштабах рыборазведения и промысловой эксплуатации популяций горбуши этим количеством самок можно пренебречь. Отметим их для полноты изложения и объяснения ряда известных биологических отклонений.

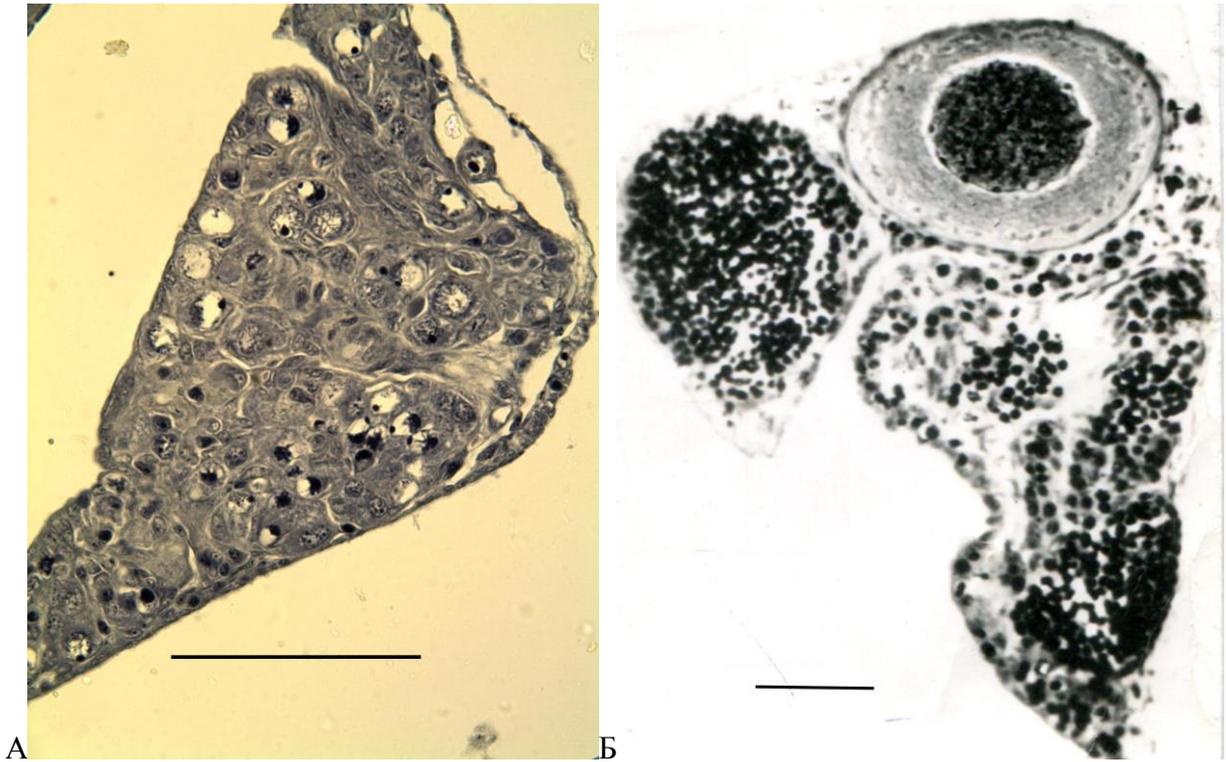
Так, у одних самок в период естественного ската фонд половых клеток был представлен лишь ооцитами периода ранней профазы мейоза, т.е. оогенез у этих рыб осуществлялся явно замедленным темпом. Например, среди рыб, выращенных в

экспериментальном режиме на Китовом ЛРЗ до навески в два раза больше той, с которой рыб выпускают в прибрежье, была обнаружена самка массой 760 мг, у которой фонд половых клеток был представлен только гониями и ооцитами периода ранней профазы мейоза преимущественно в состоянии зиготены (рис. 5.7А). Не исключено, что именно с наличием таких редко встречающихся рыб и связано известное для горбуши более позднее половое созревание отдельных самок (Anas, 1959; Wagner, Stauffer, 1980; Иванов, 1996). Впрочем, сам факт того, что отдельные особи горбуши проводят в море на год дольше основной массы рыб, можно объяснить двояко. С одной стороны, замедленный темп оогенеза в раннем возрасте, определяющий более позднее половое созревание у таких особей, может быть наследственно детерминирован. С другой стороны, известно, что у многих задержавшихся на год в море самок горбуши выявляются значительные аномалии в развитии гонад, вплоть до их стерильности (Лапко и др., 1994). Таким образом, замедление темпа роста ооцитов у самок горбуши в раннем возрасте может быть как нормальным, так и аномальным явлением.

У других, также редко встречающихся рыб, к моменту выпуска формируется единственная, но крайне малочисленная генерация сходных по размеру ооцитов периода превителлогенеза. По-видимому, такое состояние яичников предопределяет крайне низкую величину абсолютной плодовитости этих рыб в будущем, соответствующую ее минимальному значению в общем ряду изменчивости по данному признаку. Например, в 1999 г. в губе Чупа (Белое море) нами была поймана самка горбуши массой 1840 г, у которой в одном из яичников было обнаружено всего 17 нормально развивающихся ооцитов диаметром 4,7-5,0 мм

Состояние гонад у рыб третьей группы следует рассмотреть особо. У них в течение всего речного периода развития сохранялось значительное число гониев и мейоцитов. Назовем это асинхронным оогенезом. Вероятно, этому факту можно было бы не придавать серьезного значения, если бы в лабораторных условиях мы не исследовали длительное развитие, по крайней мере, части таких особей, и не установили одно из направлений их гонадогенеза.

Так, у самок с наиболее выраженным асинхронным оогенезом со временем в гонадах появляются сначала сперматогонии, а впоследствии и оформленные в цисты сперматоциты. При этом постепенно доля генеративной ткани, занятая женскими половыми клетками сокращается, а мужскими – возрастает (рис. 5.6Б). Таким образом, фактически, мы наблюдаем еще один вид инверсии пола. Причем, в отличие от обычных



**Рис. 5.6.** Редко встречаемое состояние яичников у молоди горбуши при выпуске с рыбоводных заводов: гонии и мейоциты в яичнике перед выпуском (А) и гермафродитизм (Б). Пояснение в тексте. Шкала = 100 мкм.

самцов того же поколения, у таких рыб можно видеть активный сперматогенез. Не исключено, что это явление может быть связано с появлением хорошо известных для горбуши «джеков» – самцов, которые возвращаются в реки на нерест после 3-4 месяцев жизни в море (Иванков и др., 1975; 1987; Ефанов, Кочнева, 1980; Никифорова, 1996; Точилина, Смирнов, 2015). Это уникально редкое явление. И количество публикаций связано лишь с тем, что до сих пор каждое обнаружение такой особи является основанием для написания отдельной статьи. Не исключено также и то, что именно с такими особями связано появление гермафродитных особей у тихоокеанских лососей.

### 5.3. К вопросу о соотношении полов у молоди горбуши

С учетом факта, отмеченного в конце предыдущего раздела, рассмотрим вопрос о соотношении полов в промысловых стадах горбуши. Проблема соотношения полов среди производителей не обсуждается ни для лососей с длительным периодом речного развития, имеющих карликовых самцов (Иванков и др., 1977; Крогиус, 1983; Никифоров и др.,

1993), ни для кеты, но регулярно становится актуальной именно для горбуши. При этом специалисты утверждают, что в регионах, где велик вклад искусственно воспроизводимой горбуши, доля самцов оказывается существенно больше (Воловик и др., 1972), что связано с селективностью при выполнении рыбоводных работ (Алтухов и др., 1989). Очевидно, что в основе опасения о нарушении соотношения полов в стадах горбуши лежит и ее уникальный для лососевых рыб механизм дифференцировки пола.

Мы подключились к решению проблемы соотношения полов после того, как в очередной раз, согласно внутренним отчетам ФБГУ «Сахалинрыбвод», доля самцов среди производителей горбуши значительно превысила долю самок. Возникло опасение, что дополнительное кормление молоди, которое производят согласно современной биотехнике для повышения выживаемости (Тарасюк, Тарасюк, 2007), привело к нарушению в соотношении полов, ведь природная молодь горбуши при скате из сравнительно коротких сахалинских рек практически не питается (Двинин, 1959; Казарновский, 1962), а становление системы осморегуляции завершается уже после выхода в прибрежье (Краюшкина и др., 1995).

Отметим и то, что за годы исследования этой проблемы в литературе накопились вестма противоречивые данные. Так, в потомстве горбуши преобладают самцы, если, с одной стороны, мельче родительские особи (Чебанов, 1990), а с другой стороны, напротив, если для рыбоводных целей отбирают наиболее крупных самцов-производителей (Алтухов и др., 1989). В 1962 году на Соколовском ЛРЗ, доля самцов в партиях молоди горбуши по одним данным была равна 57,8 % (Канидьев, 1967), а по другим – 44,2 % (Персов, 1964).

Нельзя исключать, что выявленные противоречия могли объясняться методическими ошибками и, в частности, небольшим числом рыб, взятых для анализа.

Пол определяли у молоди, взятой непосредственно перед выпуском с заводов и отловленной ночью во время ската с естественных нерестилищ. Всего к анализу в данной работе были привлечены выборки численностью не менее 100 экз., в которых пол был определен у 7710 особей.

В 1997 году для определения пола было взято 14 выборок численностью от 100 до 370 рыб. В среднем на всех заводах и в реках среди мальков преобладали самцы. Только в одной выборке их доля – 49,3 % – была меньше половины (табл. 5.6). Преобладание самцов представляется естественным для горбуши, у которой, в отличие от лососевых рыб с длительным периодом развития, нет карликовых самцов и при известной биологической закономерности пониженной жизнестойкости мужских особей, способствует

выравниванию доли самцов и самок у горбуши в период морского нагула (Гриценко, 1990; Ерохин, 1990).

В 1998 году на Анивском, Соколовском заводах и в реке Семга среди мальков было больше самок, а на Рейдовом, Березняковском заводах и в реке Быстрая – самцов (табл. 5.6). При этом в сумме по всем заводам и рекам выявилось незначительное преобладание мужских особей – 50.8 %.

В целом в 1998 году мы взяли для анализа больше рыб, чем годом ранее. Например, на Анивском заводе мы отобрали для исследования от разных производственных партий 8 выборок численностью от 100 до 257 мальков, а также 6 выборок по 100 экз. «дикой» молодежи, скатившейся в разные часы (сутки) по реке Быстрая. Мы установили, что на Анивском ЛРЗ в разных выборках доля самцов варьировала от 44,0 до 55,0 %, а в партиях «дикой» молодежи – от 44,0 до 57,0 % (табл. 5.6). Очевидно, что если бы мы ограничились одной выборкой численностью в 100-200 экз., то в зависимости от обследованной партии, мы могли бы получить заметное преобладание особей одного или другого пола.

**Таблица 5.6.**

Доля самцов в выборках молодежи горбуши (в скобках диапазон значений).

Год	Завод, Река	Число выборок	Число рыб	Доля самцов, %
1997	Урожайный	3	400 (100-200)	54.5 (52.0-57,5)
	Анивский	4	770 (100-370)	53.1 (50.0-56.0)
	Рейдовый	2	400 (200-200)	51.5 (50.5-52.5)
	Соколовский	3	450 (100-200)	52.8 (49.3-58.0)
	река Быстрая	1	150	54.0
	река Крохалина	1	161	50.3
1998	Анивский	8	1087 (100-257)	48.7 (44.0-55.0)
	Рейдовый	2	610 (280-330)	51.9 (50.0-53.8)
	Соколовский	1	312	49.0
	Березняковский	2	400 (200-200)	54.5 (49.0-60.0)
	река Быстрая	6	600 (100-100)	50.8 (44.0-57.0)
	река Семга	3	420 (122-161)	49.9 (49.2-50.9)
1999	Анивский	2	850 (350-500)	52.4 (51.4-53.4)
2011	Курильский	12	1200 (100-100)	50.9 (45.0-55.0)

Показательными в этой связи представляются результаты обследования молоди горбуши на Курильском ЛРЗ в 2011 г., в ходе которого были взяты выборки по 100 экз. от 12 различных производственных партий. Доля самцов в разных выборках варьировала от 45,0 до 55,0% (табл. 5.6). Трудно представить, что на одном заводе в одних партиях среди мальков преобладали самки, а в других – самцы. Можно полагать, что выборки в 100-200 экз. являются недостаточными для определения соотношения полов.

В подтверждение этого вывода рассмотрим изменение изученного признака в двух самых крупных выборках – 500 и 350 экз., исследованных на Анивском ЛРЗ в 1999 г. Последовательно определяя пол, мы установили, что среди 100, 200, 300, 400 и 500 рыб первой партии доля самцов изменялась следующим образом – 47,0; 48,5; 52,0; 53,0 и 51,4% соответственно, а среди 100, 200, 300 и 350 рыб второй партии – 51,0; 52,5; 54,0 и 53,4%. Мы видим, что, взяв только по 100 экз. из каждой партии, получили бы весьма различные результаты. Объем выборки, при исследовании которой был достигнут итоговый результат, составил 241 и 208 экз. соответственно.

В завершение рассмотрим таблицу, в которой представлены данные выборок численностью более 150 экз. (табл. 5.7). В четвертой колонке – доля самцов после обследования 100 экз. в каждой из них, а в пятой колонке – после обследования всех рыб этой выборки. Мы видим, что из девятнадцати выборок только в двух случаях различия оказались менее 2%. При этом в шести случаях преобладание самок сменилось на преобладание самцов или наоборот.

По совокупности полученных данных мы можем заключить, что в среднем во все годы доля самцов среди мальков горбуши была больше, чем доля самок. Можно полагать, что вывод Г.М.Персова (1964) о преобладании доли самок в четные годы базировался на недостаточном объеме обследованных мальков. Мы также можем заключить, что при определении соотношения полов в партиях молоди горбуши выборка в 100-200 экз. не является информативной и взятая однократно может дезинформировать исследователя.

Вероятно, эта информация может быть полезна при определении половой структуры у молоди рыб и других видов, у которых соотношение полов близко 1 к 1. Наши данные также не позволяют утверждать, что является информативной и однократная выборка численностью в 200 экз. Однако мы полагаем, что две и более выборки численностью по 200 и более экз. значительно повысят репрезентативность взятого для исследования материала и позволят выявить реальное преобладание особей одного или другого пола.

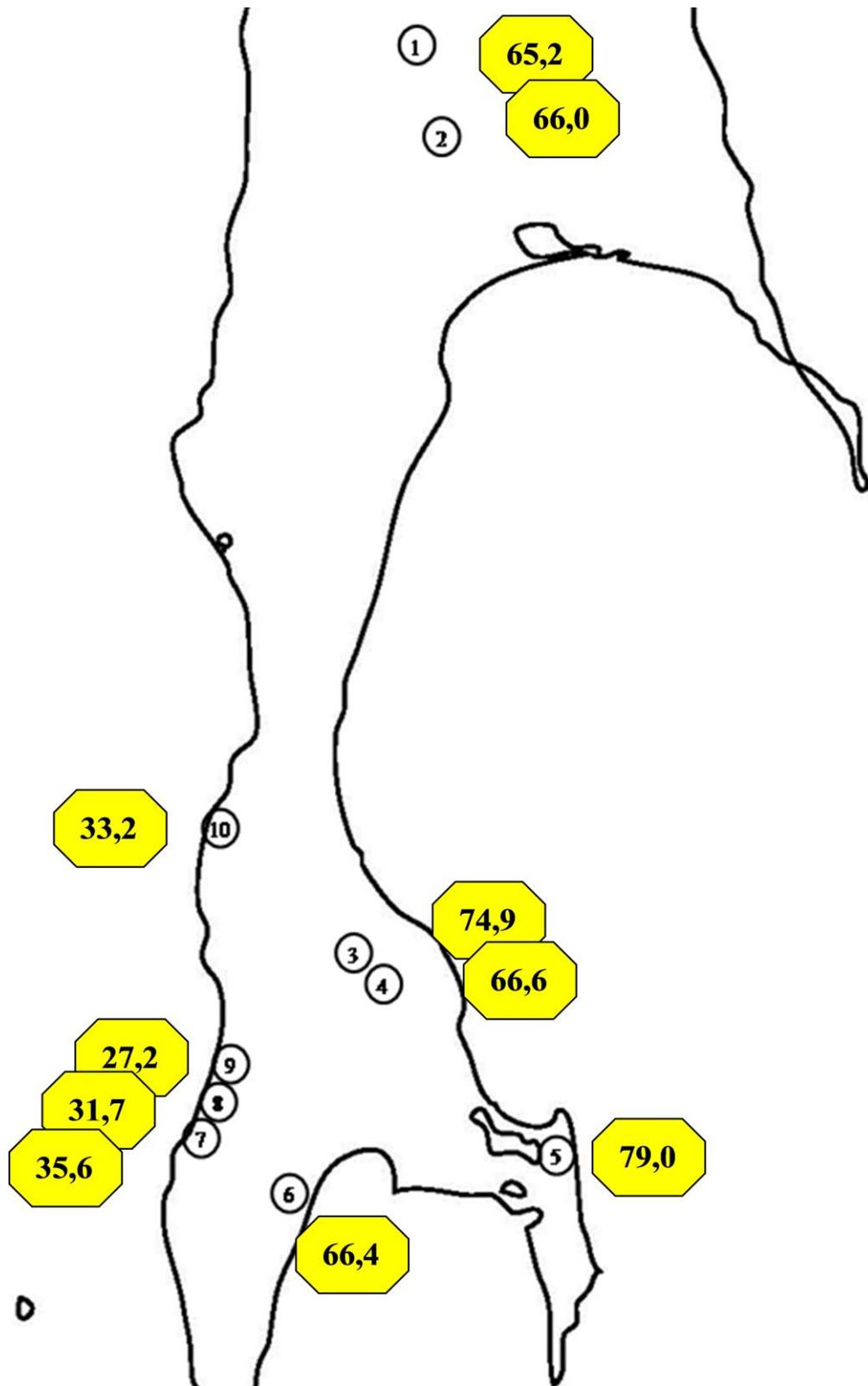
Таблица 5.7.

Доля самцов (%) в выборках среди молоди горбуши численностью от 150 до 500 экз.

Завод, Река	Год	Номер партии на заводе	Доля самцов, среди первых 100 особей выборки (1)	Доля самцов, среди всех особей выборки (числен- ность выборки, 2)	Разница между данными (1) и (2)
Урожайный	1997	1	60,0	57,5 (200)	- 2,5
Анивский	1997	1	43,0	50,4 (370)	+ 7,4
		10	50,0	54,0 (200)	+ 4,0
		19	59,0	53,3 (150)	- 3,0
	1998	11	43,0	45,0 (180)	+ 2,0
		20	53,0	50,2 (257)	- 2,8
	1999	13-16	47,0	51,4 (500)	+ 4,4
	16	56,0	53,4 (350)	- 2,6	
Рейдовый	1997	1	55,0	52,0 (200)	- 3,0
		17	53,0	50,0 (200)	- 3,0
	1998	1	53,0	50,0 (280)	- 3,0
		19	53,0	53,8 (330)	+ 0,8
Соколовский	1997	3	61,0	58,0 (200)	- 3,0
		17	50,0	49,3 (150)	- 0,7
	1998	6	52,0	49,4 (312)	- 2,6
Березняковский	1998	1	52,0	49,0 (200)	- 3,0
		22	63,0	60,0 (200)	- 3,0
река Быстрая	1997	31 мая	57,0	54,0 (150)	- 3,0
река Крохалина	1997	26 мая	46,0	50,6 (176)	+ 4,6

#### 5.4. Состояние гонад у молоди кеты и горбуши в ходе катадромной миграции

Обращает на себя внимание следующий факт. Заводы, на которых среди производителей преобладают особи в возрасте 4+ и 5+, расположены на сравнительно коротких реках недалеко от их устья (рис. 5.7): в 6 км (Ясноморский), в 7 км (Сокольниковский), в 5 км (Калининский) и в 2 км (Урожайный). В отличие от этого, заводы, на которых преобладают производители в возрасте 2+ и 3+, расположены либо в бассейне крупной реки (Поронай, протяженность 350 км) в 70 км (Пугачевский) и 89 км (Буюкловский) от ее устья, либо миграционный путь молоди помимо рек проходит через крупное озеро – Лебединое (Соколовский и Залом) и Тунайча (Охотский). Уже это



**Рис. 5.7.** Доля особей (%) в возрасте 2+ и 3+ среди производителей кеты в стадах на 1 – Буюкловском; 2 – Побединском; 3 – Заломе; 4 – Соколовском; 5 – Охотском; 6 – Таранайском; 7 – Ясноморском; 8 – Сокольниковском; 9 – Калининском; 10 – Урожайном рыбоводных заводах.

простое сопоставление фактов заставляет предполагать важную роль развития молоди в реке для возраста полового созревания. Ведь хорошо известно, что молодь кеты одного поколения затрачивает на миграцию от нерестилищ до устья рек различное время (Kaeriyama, 1997). При этом различия в продолжительности ската между первыми и последними мигрантами оказываются наиболее значительными в протяженной реке или в случае, когда миграционный путь проходит через озеро. Вероятно, важно, что при задержке в реке или озере у молоди в течение дополнительного времени летом гонады развиваются в сравнительно более комфортных условиях, в частности при более высокой температуре воды, чем в море.

В качестве следующей рабочей гипотезы можно было предполагать, что различия в состоянии гонад у молоди горбуши от естественного нереста также будут более близкими, чем у молоди кеты. Однако исследование молоди горбуши, пойманной в сходные сроки и непосредственно в период ската в базовых реках Рейдового ЛРЗ (Крохалина) и Анивского ЛРЗ (Быстрая), опровергло сформулированную нами гипотезу. Так, при сходной массе тела у молоди из реки Крохалины была в 2 раза больше площадь гонад на срезах, в 1,6 раза больше диаметр ооцитов, чем у молоди горбуши, пойманной в реке Быстрая. Кроме того, у последней, в отличие от молоди в реке Крохалине и от всей заводской молоди при выпуске, формирование единственной генерации ооцитов было еще далеко от завершения: доля гониев и мейоцитов на срезах составляла 26,5% (табл. 5.8; строки 1 и 2). Очевидно, что эти различия связаны с различными температурными условиями. Так, в реке Быстрой температура воды в период с ноября по март была около 0°C, тогда как в Крохалине в течение всей зимы она не опускалась ниже 1°C. Таким образом (с учетом обследования молоди в реках Рейдовая, Семга и Тымь), было установлено, что состояние гонад у заводской молоди перед выпуском более сходно, чем у молоди естественного происхождения в период ската из разных мест обитания. Более того, существенно могло различаться состояние гонад у «дикой» молоди горбуши и в одном месте обитания, но в разные годы. Так, в 1998 году при такой же массе тела уровень развития яичников у молоди горбуши был существенно выше, чем у молоди в 1997 году (табл. 5.8; строки 3, 4 и 1) (площадь срезов гонад в среднем 47,5 и 52,5 против  $30,2 \times 10^{-3}$  мм<sup>2</sup>; диаметр ооцитов – 75,1 и 77,9 мкм против 57,8 мкм). Выясняя причины этих различий, мы установили, что температура воды в р. Быстрой в 1997 г. была существенно ниже, чем в 1998 г. Так, сумма среднесуточных температур в октябре, ноябре, мае и первой половине июня в 1996-97 гг. составила соответственно 187, 24, 209 и 92 градусо-дней, а в 1997-98 гг. – 226, 45, 264 и

132 градусо-дней. С января по март температура воды в эти годы была около  $0^{\circ}$ , а в декабре и апреле – не различалась.

Следующий факт следует отметить особо. Состояние яичников у дикой молоди горбуши, пойманной в момент ската в реке Быстрая 16 мая и 1 июня 1998 г. было практически одинаковым (табл. 5.8; строки 3 и 4). На наш взгляд, это свидетельствует о том, что молодь, пойманная в эти дни, была одинакового возраста или сходного онтогенетического состояния. Проверая это предположение, часть рыб, пойманных 16 мая, мы выращивали до 1 июня на Анивском ЛРЗ. Можно видеть, что у таких подрощённых рыб (табл. 5.8; строка 5) и площадь гонад на срезах, и диаметр ооцитов были значительно больше, чем у рыб, пойманных 1 июня в реке. О том, что одновременно мы ловили одновозрастную молодь, косвенно свидетельствуют результаты корреляционного анализа репродуктивных и размерно-массовых показателей. Как и у заводской молоди, в выборках «диких» рыб площадь срезов гонад и диаметр ооцитов не зависели от массы (коэффициенты корреляции от  $-0,37$  до  $+0,33$  и от  $-0,38$  до  $+0,43$ ) и длины рыб (соответственно от  $-0,18$  до  $+0,35$  и от  $-0,19$  до  $+0,51$ ).

Очевидно, что протяженность миграционного пути у молоди горбуши, а, следовательно, продолжительность миграции в разных реках могут существенно различаться. Однако исследование молоди горбуши, выловленной в момент ската в устье реки Большая на Камчатском полуострове (протяженность 275 км) подтвердил закономерность, выявленную нами у молоди в реке Быстрая (протяженность 42 км). Масса рыб, пойманных 27 мая и 15 июня 2003 г. (табл. 5.8; строки 16 и 17) была достоверно меньше, чем у рыб, пойманных в реке Быстрая, а площадь гонад на срезах и диаметр ооцитов, напротив, достоверно больше. При этом состояние яичников у рыб, пойманных в реке Большая с разницей в 19 сут, было практически одинаковым.

После сравнения заводской молоди кеты и горбуши, в ходе которого стало очевидным, что только различиями в состоянии гонад у молоди кеты перед выпуском нельзя объяснить их половое созревание в разном возрасте, логично было бы сравнить «дикую» молодь обоих видов.

Молодь кеты, как и горбуши, отлавливали ночью во время ската с естественных нерестилиц в верховьях рек Тымь и Побединка (центр о.Сахалин), а также в районе устья реки Большая (юг Камчатского п-ва). Уже при исследовании первой выборки кеты из реки Тымь (табл. 5.8; строка 18) мы установили принципиальное отличие природной молоди этого вида от заводской молоди кеты, а также природной и заводской молоди горбуши. У одновременно пойманных самок кеты два главных показателя состояния гонад –

Таблица 5.8. Состояние яичников у молоди горбуши и кеты в момент ската с естественных нерестилищ.

№	Река	Дата фиксации	Число рыб, экз.	Масса, мг	Длина (L), мм	Площадь среза гонад, $\times 10^{-3} \text{ мм}^2$	Число ооцитов ПВ на срезе		Диаметр ооцитов, мкм
							%	шт	
<b>ГОРБУША</b>									
1	Быстрая	22.05.97	18	207,8 ± 6,6	32,5 ± 0,4	30,2 ± 2,6	73,5	8,3 ± 0,8	57,8 ± 1,8
2	Крохалина	26.05.97	15	221,3 ± 7,2	32,8 ± 0,7	61,0 ± 4,2	98,4	10,3 ± 0,6	92,1 ± 1,6
3	Быстрая	16.05.98	19	201,6 ± 6,9	32,9 ± 0,3	47,5 ± 2,2	97,9	9,4 ± 0,3	75,1 ± 1,7
4	Быстрая	01.06.98	20	195,2 ± 6,4	33,9 ± 0,3	52,5 ± 3,1	96,5	9,3 ± 0,4	77,9 ± 2,4
5	Быстрая*	01.06.98	18	272,5 ± 15,2	35,5 ± 0,5	91,7 ± 5,4	99,4	10,8 ± 0,3	90,6 ± 1,6
6	Семга	02.06.98	16	176,8 ± 5,1	32,7 ± 0,3	47,8 ± 1,8	98,1	10,0 ± 0,3	77,0 ± 1,4
7	Рейдовая	24.05.98	14	211,7 ± 6,7	33,9 ± 0,4	54,9 ± 2,3	98,2	10,7 ± 0,4	76,0 ± 1,9
8	Тынь	23.05.98	17	192,6 ± 6,2	32,4 ± 0,3	37,9 ± 2,2	88,8	9,7 ± 0,4	66,0 ± 1,8
9	Очепуха	07.06.17	6	188,8 ± 6,7	32,3 ± 0,3	28,4 ± 0,6	87,9	9,9 ± 0,9	64,4 ± 6,7
10	Бахура	01.06.16	9	189,6 ± 8,3	33,0 ± 0,5	36,0 ± 5,0	93,4	9,3 ± 0,8	74,1 ± 3,6
11	Таранай	02.06.17	12	192,4 ± 6,6	35,1 ± 0,1	35,2 ± 4,0	89,9	9,8 ± 0,5	62,0 ± 2,4
12	Бахура	10.06.16	10	196,5 ± 5,4	32,8 ± 0,4	21,8 ± 3,4	88,8	7,6 ± 0,9	56,9 ± 3,5
13	Рыбацкая	02.06.16	9	207,2 ± 8,2	33,8 ± 0,3	38,4 ± 3,6	91,9	9,9 ± 1,0	76,5 ± 2,7
14	Пугачевка	09.06.16	9	211,1 ± 8,8	34,1 ± 0,3	44,8 ± 6,8	89,2	9,8 ± 1,3	78,1 ± 3,9
15	Очепуха	27.05.16	9	222,3 ± 5,2	34,2 ± 0,4	27,2 ± 0,8	99,4	9,4 ± 1,1	65,8 ± 1,4
16	Большая	27.05.03	9	157,9 ± 8,2	68,8 ± 4,8	68,8 ± 4,8	98,6	9,9 ± 0,4	85,2 ± 2,7
17	Большая	15.06.03	7	167,0 ± 5,3	72,1 ± 6,1	72,1 ± 6,1	99,2	11,2 ± 1,1	85,2 ± 5,7
<b>КЕТА</b>									
18	Тынь	17.06.98	12	647,5 ± 54,9	40,9 ± 0,8	45,4	78,3	13,2 ± 1,2	71,7 ± 5,0
19	Тынь	08.06.00	9	759,7 ± 132,7	44,9 ± 2,5	49,2 ± 10,8	56,8	9,7 ± 1,6	55,9 ± 8,5
20	Тынь	22.06.00	9	935,4 ± 136,6	50,0 ± 2,4	72,9 ± 15,0	76,0	15,4 ± 1,0	71,6 ± 9,2
21	Побединка	08.06.00	7	532,0 ± 62,1	41,4 ± 1,5	30,7 ± 6,8	51,0	12,6 ± 1,1	45,6 ± 6,2
22	Побединка	10.07.00	6	1021,0 ± 17,7	51,5 ± 0,4	72,0 ± 4,4	92,0	15,1 ± 1,0	76,2 ± 1,8
23	Большая	29.05.03	10	846,5 ± 61,9	49,1 ± 5,1	49,1 ± 5,1	83,2	12,4 ± 0,7	58,3 ± 3,9
24	Большая	16.06.03	9	835,5 ± 95,6	44,8 ± 1,7	60,7 ± 10,5	85,3	15,1 ± 1,3	66,8 ± 4,6
25	Большая	25.06.03	10	826,0 ± 104,9	45,7 ± 1,5	63,6 ± 10,7	80,7	13,9 ± 0,9	68,0 ± 3,1

площадь поперечных срезов яичников и диаметр ооцитов – тесно и положительно коррелировали с массой (коэффициенты корреляции 0,81 и 0,76 соответственно) и длиной самок (0,66 и 0,68). Продолжив исследование, мы не только подтвердили выявленный факт, но и установили закономерность, которую не отметили при исследовании молоди горбуши от естественного нереста

Так, у молоди кеты из реки Тымь в период с 8 по 22 июня не только несколько увеличилась средняя масса самок (табл. 5.8; строки 19 и 20), но и достоверно повысилась площадь гонад на срезах – с 49,2 до  $72,9 \times 10^{-3} \text{ мм}^2$  и диаметр ооцитов – с 55,9 до 71,6 мкм. У молоди, обследованной в реке Побединка (табл. 5.8; строки 21 и 22), достоверно и возросли уже все три показателя: масса с 532 до 1021 мг, площадь гонад на срезах – с 30,7 до  $72,0 \times 10^{-3} \text{ мм}^2$  и диаметр ооцитов – с 45,6 до 76,2 мкм. В реке Большая масса пойманных одновременно самок в среднем фактически не изменилась, однако интересующие нас площадь гонад и диаметр ооцитов также достоверно увеличились – с 49,1 до  $63,6 \text{ мм}^2 \times 10^{-3} \text{ мм}^2$  и с 58,3 до 68,0 мкм. При этом оба этих показателя во всех 8-ми выборках тесно и положительно коррелировали с массой (коэффициенты корреляции от 0,62 до 0,95 и от 0,62 до 0,96 соответственно) и длиной самок (коэффициенты корреляции от 0,58 до 0,95 и от 0,59 до 0,97 соответственно).

Исследовав заводскую и природную молодь кеты и горбуши, подведем итог. Мы установили, что в выборках одновозрастных заводских рыб обоих видов репродуктивные показатели и особенно интересующая нас величина диаметра ооцитов не зависели от массы и длины самок. Единичные исключения, вероятно, являются отражением малого объема выборок. То же мы установили и при исследовании «дикой» молоди горбуши, выборки которой, очевидно, составили одновозрастные особи. В отличие от этого, у молоди кеты естественного происхождения такая зависимость была налицо, причем без всяких исключений. Отметим также, что в отличие от горбуши, у выловленной позднее молоди кеты в каждой реке увеличивались и площадь гонад, и диаметр ооцитов. По совокупности полученных фактов мы можем заключить, что выборки одновременно пойманных самок кеты составили не только разноразмерные, но главным образом разновозрастные особи.

Как уже было отмечено ранее, известно, что особи одного поколения затрачивает различное время на миграцию от нерестилищ до устья рек. Одни особи становятся «мигрантами» и сравнительно быстро выходят в прибрежье, другие – «резидентами» и более длительное время остаются в пресной воде (Kaeriyama, 1997). Более того, именно

для Сахалина показано, что если миграционный путь молоди проходит через озеро, то в нем длительное время остается не только кета, но и молодь горбуши. Например, в озере Лебединное в районе устья реки Найба (через это озеро проходит катадромная миграция молоди кеты с Соколовского ЛРЗ) сеголетки горбуши задерживаются дополнительно на 3-4 мес вплоть до захода в озеро в июле-августе производителей, идущих на нерест (Никифорова, 1998). Представляется вероятным, что при задержке в реке или озере у молоди в течение дополнительного времени летом развитие гонад осуществляется в сравнительно более комфортных условиях, в частности, при более высокой, чем в море, температуре воды.

В завершение данного раздела следует отметить, что, несмотря на многочисленные фактические данные, сама взаимосвязь между состоянием гонад у молоди кеты на разных заводах и возрастом производителей в заводских стадах является гипотетической, поскольку ее невозможно проверить экспериментально. Действительно, даже если молодь кеты, не выпуская в море, выдержать до полового созревания в лабораторных условиях, то это уже будет качественное изменение естественного жизненного цикла, ведь для этого вида мы не знаем жилых форм или естественных пресноводных популяций. Именно поэтому о возможном влиянии условий содержания на темп роста ооцитов периода превителлогенеза, и, свою очередь, связи темпа роста ооцитов с возрастом полового созревания более перспективно судить, проводя исследование на другом виде лососевых рыб, как вариант, на радужной форели. Во-первых, будучи полициклической, она, как уже было отмечено, является наиболее близкородственной моноциклическим лососевым. Во-вторых, культурная форма вида *Parasalmo mykiss* – собственно радужная форель достигает половой зрелости в условиях пресноводных рыбоводных хозяйств, при исключении морского периода жизни. В третьих, гаметогенез радужной форели, в том числе и ранний, изучен лучше, чем у любого другого вида лососевых рыб, что дает возможность при анализе данных опереться на многочисленные публикации. И, наконец, в четвертых, самки радужной форели в каждом поколении, как, впрочем, и пресноводные формы рода *Salmo*, достигают половой зрелости в течение нескольких лет, причем, как и кета, преимущественно в течение двух лет.

### 5.5. Заключение

Полученные факты позволяют заключить, что у молоди кеты при любом режиме выращивания цитологическая дифференцировка пола осуществляется после вылупления. Начало периода ранней профазы мейоза в развитии ооцитов старшей генерации тесно связано с температурой при выращивании рыб, осуществляется при сходной сумме набранных градусо-дней, но в весьма различном календарном возрасте. Продолжительность этого периода может быть разной, как в отношении календарного возраста, так и вследствие набранного молодью тепла, но всегда завершается в период личиночного развития. При любом температурном режиме прехителлогенный рост ооцитов начинается либо незадолго до-, либо непосредственно в период начала кормления рыб, но всегда в момент, когда у рыб еще присутствует остаток желточного мешка.

Состояние яичников у молоди кеты непосредственно перед выпуском с рыбоводных заводов существенно различается, тесно связано с суммой градусо-дней, набранных молодью за время выращивания, но не зависит от массы самок, как в среднем на разных заводах, так и в партиях одновозрастных рыб на каждом предприятии.

Состояние яичников у самок горбуши перед выпуском с рыбоводных заводов, так же как и у молоди кеты, тесно связано с суммой градусо-дней и не зависит от массы самок в пределах партии одновозрастных рыб.

Состояние гонад у природной молоди горбуши во время ската может существенно различаться как в разных реках, так и в разные годы в зависимости от конкретных температурных условий, но является сходным в течение сезона катадромной миграции. Можно полагать, что молодь от икры, заложенной на инкубацию первой, первой же и скатывается в прибрежье, а через учетную точку постоянно мигрирует молодь близкого возраста или сходного онтогенетического состояния. В отличие от этого, у природной молоди кеты, пойманной в пункте отлова позднее, гонады по всем показателям всегда более развиты, чем у рыб, пойманных ранее. У них крупнее как сами яичники, так и ооциты старшей генерации, при этом меньше доля гониев и ооцитов периода ранней профазы мейоза. В отличие от природной молоди горбуши, а также заводской молоди горбуши и кеты, у молоди кеты естественного происхождения все параметры, характеризующие состояние гонад, зависели от массы рыб в пределах каждой исследованной партии. Этот факт указывал на то, что выборки одновременно пойманных мальков составляли разновозрастные особи.

## Глава 6. АНАЛИЗ СВЯЗИ МЕЖДУ ТЕМПОМ РОСТА ООЦИТОВ ПЕРИОДА ПРЕВИТЕЛЛОГЕНЕЗА И ВОЗРАСТОМ ПОЛОВОГО СОЗРЕВАНИЯ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ У ЛОСОСЕВЫХ РЫБ

### 6.1. Гаметогенез радужной форели *Parasalmo mykiss* при различном температурном режиме

#### 6.1.1. Гаметогенез радужной форели при естественном сезонном понижении температуры в условиях рыбоводных предприятий (Обзор литературы)

В момент вылупления гонады у зародышей форели представляют собой два "крошечных тѐжа" (Lebrun et al., 1982), лежащих по бокам плавательного пузыря. В гонадах присутствуют только первичные половые клетки – ППК (средний диаметр  $14,3 \pm 0,75$  мкм), общее число которых составляет  $47 \pm 3,5$  клеток (Lebrun et.al., 1982). По мере развития они видоизменяются, что, как известно, связано с изменением их функционального состояния (Персов, 1975). Так, на 21-24 сут развития личинок в гонадах встречаются ППК как с овальными, так и полиморфными ядрами, содержащими одно или несколько ядрышек (Van den Hurk, Slof, 1981). В дальнейшем ядра принимают округлую форму, а скопления хроматина локализуются на их периферии. Такие изменения ППК связаны с их подготовкой к митотическим делениям (Захарова, 1984).

По данным разных исследователей, первые гониальные клетки в гонадах форели отмечали: на 2-ой неделе от момента вылупления личинок (Lebrun et al., 1982), в возрасте 17 сут (Захарова, Чмилевский, 1983) и в возрасте 20 сут (Алешин, 1987). Масса гонад и гонадосоматический индекс (ГСИ – отношение массы гонад к массе тела, %) в этот период составляют  $0,006 \pm 0,002$  г и  $0,003 \pm 0,001\%$  соответственно (Van den Hurk, Slof, 1981). На протяжении некоторого времени ППК присутствуют в гонадах наряду с гониями, однако уже не встречаются у 22-суточных (Захарова, Чмилевский, 1983) и 32-суточных рыб (Алешин, 1987).

Морфологически гонии различаются размерами и числом ядрышек. Вначале в гонадах встречаются более крупные гонии с ядрами диаметром  $8,4 \pm 0,34$  мкм, содержащими 2-3 ядрышка. Приблизительно на 5-ой неделе от вылупления появляются гонии с меньшим диаметром ядра -  $7,35 \pm 0,07$  мкм, несколькими ядрышками и более плотным хроматином. При этом часть ядрышкоподобных структур является скоплением хроматина, выявляемого реакцией Фельгена (Lebrun et.al., 1982; Захарова, 1983).

Как известно, цитологическая дифференцировка пола, связанная с началом мейоза половых клеток у самок костистых рыб видов-гонохористов происходит значительно раньше, чем у самцов. Однако морфологически будущие яичники форели хорошо отличаются от будущих семенников еще до появления ооцитов – по утолщению краниального отдела (Lebrun et al., 1982), а также расположению гониев (Мосягина, 2002). Сроки цитологической дифференцировки пола у форели, указанные разными авторами, оказались сходными – 32-42 сут от момента вылупления (Van den Hurk et al., 1980; Захарова, 1983; 1984; Димчева-Грозданова, 1968 цит. по Захаровой, 1984; Алешин, 1986; 1987). С началом цитологической дифференцировки пола митотическое деление гониев не прекращается и к моменту появления в яичниках ооцитов общее число половых клеток в гонадах увеличивается более чем в 3 раза, но, как и в более раннем возрасте, широко варьирует у разных самок –  $6335 \pm 3558$  (Lebrun et al., 1982).

С переходом ооцитов к периоду превителлогенеза число половых клеток в яичниках возрастает до 11094 (Lebrun et al., 1982, высчитано только у одной самки). Как и у других лососевых, у самок форели в цитоплазме превителлогенных ооцитов встречаются оптически плотные, фрагменты "циркумнуклеарного комплекса", наличие которых, а также внешний вид явились критерием для подразделения превителлогенных ооцитов на ступени (Персов, 1966; Мурза, Христофоров, 1991). Но поскольку само проявление темноокрашенных структур у рыб меняется в зависимости от сезона проведения работ (Кондратьев, 1977а, б; Селюков, 1987), использовать этот принцип периодизации превителлогенных ооцитов именно у радужной форели не всегда удается, что отмечали практически все авторы (Захарова, 1984; Алешин, 1987; Кузнецов и др., 1994; Зеленников, 1996).

К сожалению, большинство цитированных авторов исследовали развитие гонад непродолжительное время, что не дает возможности достаточно точно оценить продолжительность периода превителлогенеза. Можно лишь констатировать, что и в возрасте 370-390 сут старшей генерацией половых клеток в яичниках форели были превителлогенные ооциты (Kobayashi, Mogami, 1958; Van den Hurk, Slof, 1981; Алешин, 1987). Очевидно, что продолжительность периода превителлогенеза непосредственно зависит от температуры воды. Так, в условиях холодноводных рыбоводных хозяйств у большинства самок форели превителлогенез продолжается до 2-летнего возраста. Завершение этого периода в один год и последующее созревание самок в возрасте 1+ или 2 года в этих условиях наблюдается как исключение. В рыбхозах, где температура воды

более высокая, увеличивается и число рыб, созревающих в возрасте 2 лет, а превителлогенез ооцитов у них завершается в 12-14 мес. (Титарев, 1975; Кузнецов, Зимакова, 1983; Мгеладзе, Титарев, 1984; Чаплыгин и др., 1985; 1986). У форели за период превителлогенеза диаметр ооцитов увеличивался с 25-30 мкм до 320-340 мкм, при этом гонадосоматический индекс (ГСИ) в течение всего периода превителлогенеза остается постоянным и не превышает 0,14% (Kobayashi, Mogami, 1958; Van den Hurk, Slof, 1981; Захарова, 1984; Schulz, 1984; Алешин, 1987).

В период превителлогенеза ооцитов отмечены наиболее низкие концентрации вителлогенина в крови у самок форели (Van Bohemen, Lambert, 1981), а также – половых гормонов: гонадотропина –  $3,2 \pm 0,6$  нг/мл в плазме крови, и  $0,55 \pm 0,04$  мкг/мг в гомогенате гипофиза (Weil et al., 1978) и эстрадиола-17 $\beta$  – 200-400 пг/мл и, как исключение, к концу периода до 800 пг/мл (Whitehead et al., 1978; Van Bohemen et al., 1981; Schulz, 1984), причем независимо от того, были ли исследованы образцы крови перед первым или вторым нерестом.

Первые кортикальные вакуоли у форели, свидетельствующие о начале трофоплазматического роста, появляются в ооцитах размером 280-360 мкм (по некоторым данным даже от 200 мкм) и всегда присутствуют в ооцитах крупнее 400 мкм (Синявичене, 1982). По мере развития ооцитов кортикальные, а позже и жировые вакуоли начинают заполнять всю цитоплазму. В течение этого периода диаметр ооцитов увеличивается до 800-850 мкм. Фолликулярный эпителий из уплощенного становится столбчатым, что, как известно, является свидетельством активизации вителлогенной функции. ГСИ повышается до 0,5% (Леманова, 1976б).

Первые желточные включения в виде хорошо окрашиваемых, оптически плотных гранул появляются на периферии ооцитов диаметром 760 мкм и более. В дальнейшем число гранул нарастает от периферии к ядру; идет активный процесс их слияния в более крупные глобулы. Примечательно, что у повторно нерестующих самок форели вителлогенез протекает интенсивнее, чем у нерестящихся впервые, при этом у первых оказывается выше как секреторная активность печени, так и расход перитонеальных отложений жира (Леманова, 1976а; Леманова, Терентьева, 1976). Продолжительность периода трофоплазматического роста ооцитов у форели, по данным ряда авторов, в зависимости от температуры воды, составляет от 7-8 до 10-12 мес (Синявичене, 1982). За это время диаметр ооцитов у впервые нерестующих рыб увеличивается с 0,3-0,4 мм до 3,5-5 мм.

По мере созревания гонад в гонадотропной зоне гипофиза увеличивается грануляция гонадотропоцитов (Peute et al., 1978). Уровень содержания гонадотропина как в гомогенате гипофиза, так и в крови у самок форели постепенно повышается и достигает наивысшего значения (до  $11,1 \pm 1,6$  нг/мл в крови) в период созревания и овуляции ооцитов (Fostier et al., 1978; Weil et al., 1978). Как отмечено многими исследователями, по мере возрастания гонадотропной активности гипофиза в период вителлогенеза активизируется синтез эстрогенов. Концентрация эстрадиола в крови увеличивается по мере созревания половых клеток, причем уровень гормона достоверно коррелирует с величиной гонадосоматического индекса (Lambert et al., 1978; Whitehead, Bromage, 1978; Whitehead et al., 1980; Bromage et al., 1982; Schulz, 1984). Максимальные значения уровня эстрадиола в крови в период вителлогенеза у самок форели широко варьируют и составляют от 4,8-10,0 нг/мл (Schrech, Hopwood, 1974; Whitehead et al., 1978; 1980) до 26-30 нг/мл (Lambert, Van Bochemen, 1980; Schulz, 1984) и даже до 60 нг/мл (Van Bochemen, Lambert, 1981). Не исключено, что большой диапазон этих значений может объясняться как различиями применяемых методик определения содержания гормонов в крови, так и цикличностью их синтеза. Как известно, концентрация половых гормонов может широко варьировать даже в течение суток (O'Connor, 1972). С началом созревания ооцитов по мере увеличения концентрации гонадотропина в крови уровень эстрогенов быстро снижается (Van Bochemen, Lambert, 1981), и в период овуляции составляет, например,  $2,6 \pm 0,3$  нг/мл (Fostier et al., 1978).

С увеличением синтеза эстрогенов в крови у самок форели повышается и концентрация общего белка, что, несомненно, является следствием активизации вителлогенной функции печени (Borchard, 1978; Schulz et al., 1981). В период эндогенного и начала экзогенного вителлогенеза уровень вителлогенина в крови практически не повышается по сравнению с периодом превителлогенеза (0,5 мг/мл). Предполагается, что в это время вителлогенин активно поглощается ооцитами. За 3-5 месяцев до нереста концентрация вителлогенина в крови самок многократно возрастает, достигая максимальных значений (13-14 мг/мл) во время овуляции. После нереста уровень вителлогенина в плазме крови несколько понижается, однако остается еще относительно высоким: до 5 мг/мл. Предполагается, что это связано с выметом ооцитов старшей генерации, которые связывали свободный вителлогенин плазмы крови (Whitehead, Bromage, 1978; Van Bochemen, Lambert, 1980; 1981; Vlaming et al., 1984; Nakari et al., 1987; 1988).

Уровень андрогенов в целом и тестостерона, в частности, остается низким (до 3-4 нг/мл) в течение большей части репродуктивного цикла. С началом вителлогенеза концентрация тестостерона у самок практически не изменяется и лишь в период экзогенного вителлогенеза (приблизительно за 5-6 мес. до полового созревания) начинает быстро возрастать, достигая 100-120 нг/мл и даже 200 нг/мл, и коррелирует с величиной гонадосоматического индекса (Schrech et al., 1972; 1973; Schrech, Hopwood, 1974; Nakari et al., 1987).

По данным ряда авторов, длительность полового созревания радужной форели составляет 24-33 месяца. Масса рыб, достигающих половой зрелости, может составлять 325-1600 г. (Леманова, 1974; Чаплыгин, 1976; Исаков, 1982; Konno, Tashiro, 1982; Сергеева, Титарев, 1991; Welander et al., 1971). Такую вариабельность в сроках созревания и массе созревающих рыб можно объяснить как различными температурными условиями, в которых проходило выращивание рыб, так и тем, что исследователи имели дело с различными породами радужной форели, репродуктивные показатели которых существенно различаются (Боровик, 1969; Леманова, 1976б). Наиболее ранние случаи созревания самок форели отмечены в возрасте 22 мес. при массе 325-520 г (Титарев, 1975) и 635-783 г (Синявичене, Синявичус, 1982). В условиях рыбоводных хозяйств умеренной зоны с обычным для них сезонным понижением температуры, но в возрасте 2 и 2+ достигают половой зрелости от 12 до 50% самок. У остальных особей первый репродуктивный цикл завершается на следующий год (Терентьева, 2018).

Гонадосоматический индекс у впервые нерестующих самок составляет от 9,6-16% (Allen, 1960; Леманова, 1974; Ridelman et al., 1984) до 21-23,3% (Синявичене, 1982; Schulz, 1984). Рабочая плодовитость варьирует от 654 до 2150 (Титарев, 1975; Исаков, 1982), а абсолютная – от 1090 до 5350 икринок (Allen, 1960; Welander, 1971; Буранбаева, 1974).

У впервые нерестующих самок икра обычно мелкая; масса ее в среднем составляет 32-49 мг. Только 5-6% самок продуцируют относительно крупную икру массой до 69 мг (Леманова, 1974; Сергеева, Титарев, 1991). Минимальные размеры овулировавших икринок (15-30 мг) отмечены у наиболее быстро созревающих самок (Титарев, 1975). Примечательно, что икра впервые нерестующих рыб оказывается наиболее плотной по консистенции (Савостьянова, Никандров, 1976). Смертность икры и эмбрионов, полученных от самок впервые, оказывается наиболее высокой и составляет 40% (Чаплыгин, 1976), 50,7% (Welander et al., 1971), 60,2% (Исаков, 1982) и даже до 98% (Синявичене, Синявичус, 1982).

Гонадосоматический индекс у самок перед вторым нерестом увеличивается в среднем до 16-28% (максимум до 35% в возрасте 6 лет) (Леманова, 1974; Чаплыгин, 1976). С увеличением массы гонад увеличивается и индивидуальная плодовитость рыб (Исаков, 1982).

С возрастом у радужной форели размеры продуцируемой икры увеличиваются. Это становится особенно очевидным при сравнении результатов многолетних наблюдений одних и тех же особей (Bregnballe, 1967). При повторном нересте масса икринок не бывает менее 40 мг. Она составляет, по данным разных авторов, от 43-47 до 69-74 мг. Максимальный вес икры у радужной форели обычно достигает 100-130 мг, но иногда бывает даже до 149 мг (Игнатьева, 1975). С увеличением размеров икринок уменьшается плотность их содержимого (Савостьянова, Никандров, 1976).

Эмбрионы, вылупившиеся из крупной икры, более жизнеспособны; их отход составляет от 12-14% (Исаков, 1982; Чаплыгин, 1976) до 40% (Синявичене, Синявичус, 1982). На качество икры, а также сроки созревания самок оказывает влияние ряд экологических факторов. Так, вселение радужной форели в другой водоем может вызвать значительное увеличение плодовитости (до 11120) при уменьшении веса и диаметра икры (Буранбаева, 1974). Показано, что голодание производителей может привести к ухудшению качества половых продуктов и снижению оплодотворяемости икры (Хрусталева, Новоженин, 1991). В то же время, по другим данным, 40-суточное голодание самок форели непосредственно перед нерестом не привело к изменению биохимического состава их икры (Ridelman et al., 1984).

Кроме повышенной температуры, к ускорению созревания самок, несомненно, приводит изменение режима освещенности (Nomura, 1970; Nakari et al., 1987; Randall et al., 1988). Так, путем экспериментального изменения долготы дня полный 12-месячный световой цикл был искусственно завершен в двух разных экспериментах в течение 9 и 6 месяцев, что вызвало сокращение периода полового созревания на 1,5 и 3 месяца соответственно (Whitehead et al., 1978).

Суммируя всю приведенную информацию, можно заключить, что в каждом поколении самок радужной форели, при обычной для рыбоводных хозяйств температуре с ее сезонным понижением, выявляются особи с относительно быстрым и относительно замедленным развитием гонад. В результате этого и достижение полового созревания при одних и тех же условиях наблюдается в разном возрасте.

У самцов форели в возрасте 30-40 сут семенники отличаются от яичников отсутствием компактной генеративной части. На поперечных срезах гонад гонии располагаются разобщенно в окружении стромальных клеток и жировых отложений, среди клеток соединительной ткани группы интерстициальных клеток выделяются более темной окраской ядра (Oota, Jamamoto, 1966; Van den Hurk, Slof, 1981).

В семенниках 70-суточных рыб (в отличие от яичников) обнаруживаются специфические ферменты, участвующие в синтезе андрогенов. Ультраструктурные и энзимоцитохимические исследования показали, что клетки Лейдига функционируют как стероидогенные элементы, поскольку появление большого числа трубчатых крист в их митохондриях совпадало с выявлением в семенниках активности  $17\beta$ -гидроксилазы (Van den Hurk, Slof, 1981; Van den Hurk et al., 1982).

По данным разных авторов, возраст рыб, при котором начинаются мейотические деления гониев, широко варьирует. Так, по одним сведениям, начало мейотических преобразований в сперматогониях отмечается на 147 сут (Захарова, 1984), а наиболее раннее половое созревание самцов происходит в 7-9 мес. (Robertson, 1958; цит. по Бабушкину, 1976) и в 1 год (Oota et al., 1965). По другим данным, первые сперматоциты в семенниках появляются в 16 (Бабушкин, 1976) и 17 месяцев (Зимакова, Кузнецов, 1983), а половой зрелости самцы достигают в возрасте 19-20 мес. (Титарев, 1975; Бабушкин, 1976; Синявичене, 1982), причем первыми созревают, как правило, наиболее крупные особи. Масса самцов существенно колеблется от 270-410 (Титарев, 1975) до 950-2620 г (Сергеева, Титарев, 1991).

Содержание гонадотропина оказывается наиболее низким в начале сперматогенного цикла и составляет 1,3-2 нг/мл в плазме крови и  $0,6\pm 0,1$  мкг/мг в гомогенате гипофиза; концентрация гормона постепенно повышается, достигая 5-6 нг/мл и даже 13 нг/мл плазмы в период спермиации (Billard et al., 1977; Breton, Billard, 1977).

Уровень андрогенов в крови остается низким в течение большей части репродуктивного цикла и колеблется от 2-3 до 5-9 нг/мл. Приблизительно за 5-6 месяцев до полового созревания концентрация основных андрогенов многократно повышается до 130 нг/мл (11 окситестостерон), 150 нг/мл (тестостерон) и 260 нг/мл (11 кетотестостерон), достигая максимальных значений в период спермиации (Fostier et al., 1982; Scott et al., 1980; Schulz, 1984; Lou et al., 1986). Пик продуцирования спермы совпадает с максимумом содержания андрогенов в крови (Sanchez-Roriguez et al., 1978). В дальнейшем уровень андрогенов понижается до 4-9 нг/мл, что обусловлено снижением секреторной активности

гонад и, в частности, клеток Лейдига (Van den Hurk et al., 1978). Примечательно, что концентрация андрогенов у самцов и самок не различается в течение всего периода гаметогенеза (Schreck et al., 1973; Nakari et al., 1987).

Уровень эстрогенов в период репродуктивного цикла у самцов остается низким (Schreck et al., 1973); содержание эстрадиола в крови в среднем не превышает 300-400 пг/мл (Whitehead, Bromage, 1978). Содержание общего белка в сыворотке крови как и у самок достоверно повышается по ходу сперматогенного цикла, причем также за счет синтеза вителлогенина (Borchard, 1978; Schulz et al., 1981).

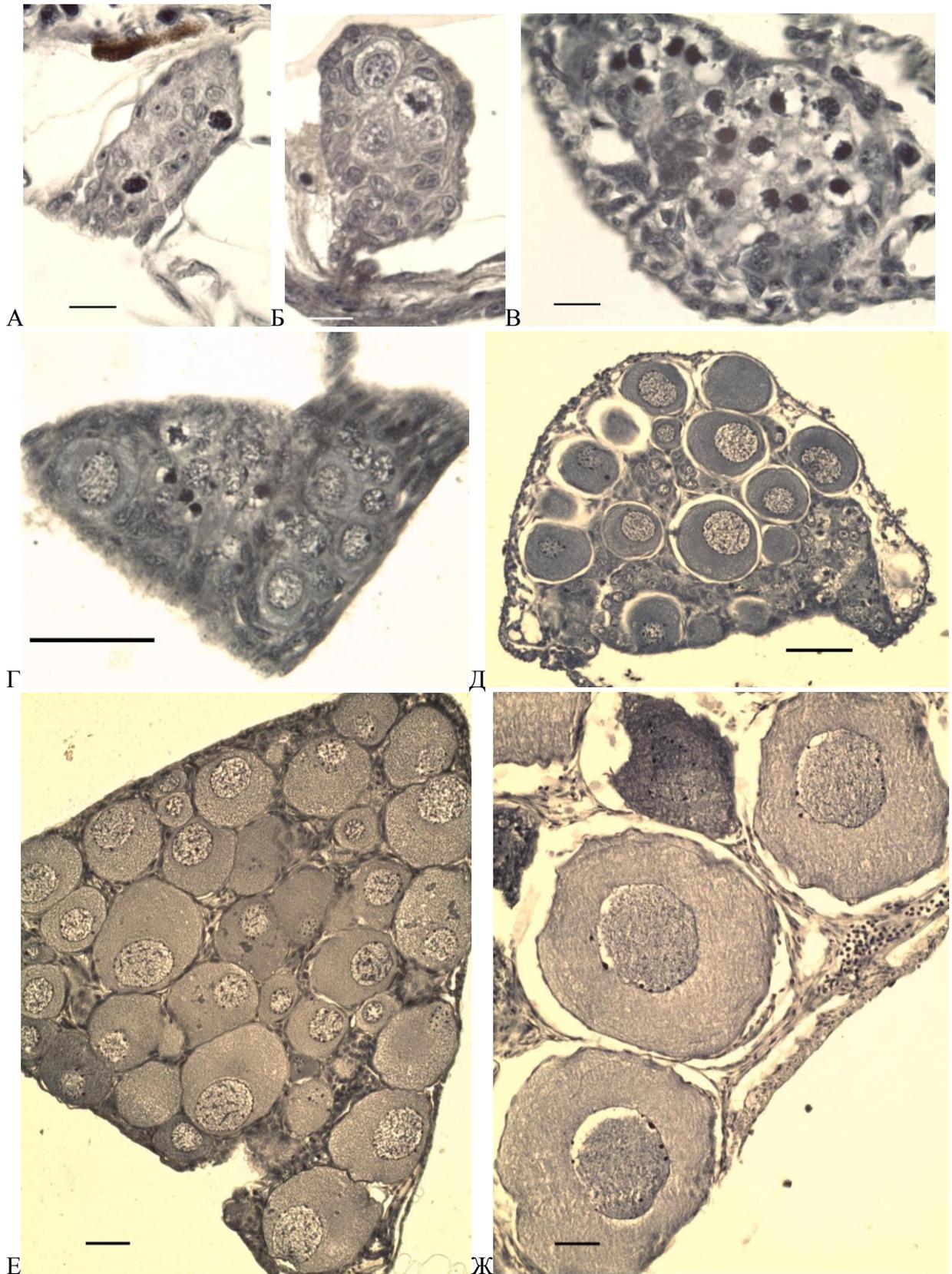
### **6.1.2. Выращивание радужной форели при температуре 15-17°C**

С началом активного плавания в возрасте 16 сут половые железы у молоди были полностью сформированы и обособлены и увеличивались за счет активного размножения стромальных клеток (рис. 6.1А). В гонадах присутствовали только гонии (рис. 6.1Б), 6,19% которых находились в состоянии митотических делений.

В возрасте 25 сут у рыб началась цитологическая дифференцировка пола; в гонадах 3 из 22 особей наряду с оогониями были отмечены ооциты периода ранней профазы мейоза (рис. 6.1В). У остальных в гонадах по-прежнему присутствовали только гонии, однако пол можно было определить по ряду анатомических признаков. Так, у будущих самок гонии были многочисленными, а генеративная часть занимала большую часть поперечного среза гонад. У будущих самцов не было компактной генеративной части гонад; гонии были немногочисленными и располагались поодиночке среди стромальных соединительнотканых клеток. Такие же критерии анатомического определения пола у молоди радужной форели приводятся в литературе (Мосягина, 1998).

К возрасту 40 сут цитологическая дифференцировка гонад завершилась, и в дальнейшем развитие яичников и семенников стало возможным исследовать отдельно. В яичниках фонд половых клеток был представлен оогониями, мейоцитами и у нескольких самок (16,6%), – ооцитами начала периода превителлогенеза (рис. 6.1Г). У наиболее крупных рыб отмечено начало формирования яйценосных пластинок.

В возрасте 55-70 сут превителлогенные ооциты присутствовали в гонадах всех исследованных самок (рис. 6.1Д, Е). Диаметр наиболее крупных из них составил 90-110



**Рис. 6.1.** Состояние яичников у молоди радужной форели в в возрасте 16 (А, Б), 25 (В), 40 (Г), 55 (Д), 70 (Е) и 240 сут (Ж) при выращивании в системе с обратным водоснабжением при температуре 15-17°С. Шкала А-В = 20 мкм, Г-Ж = 50 мкм

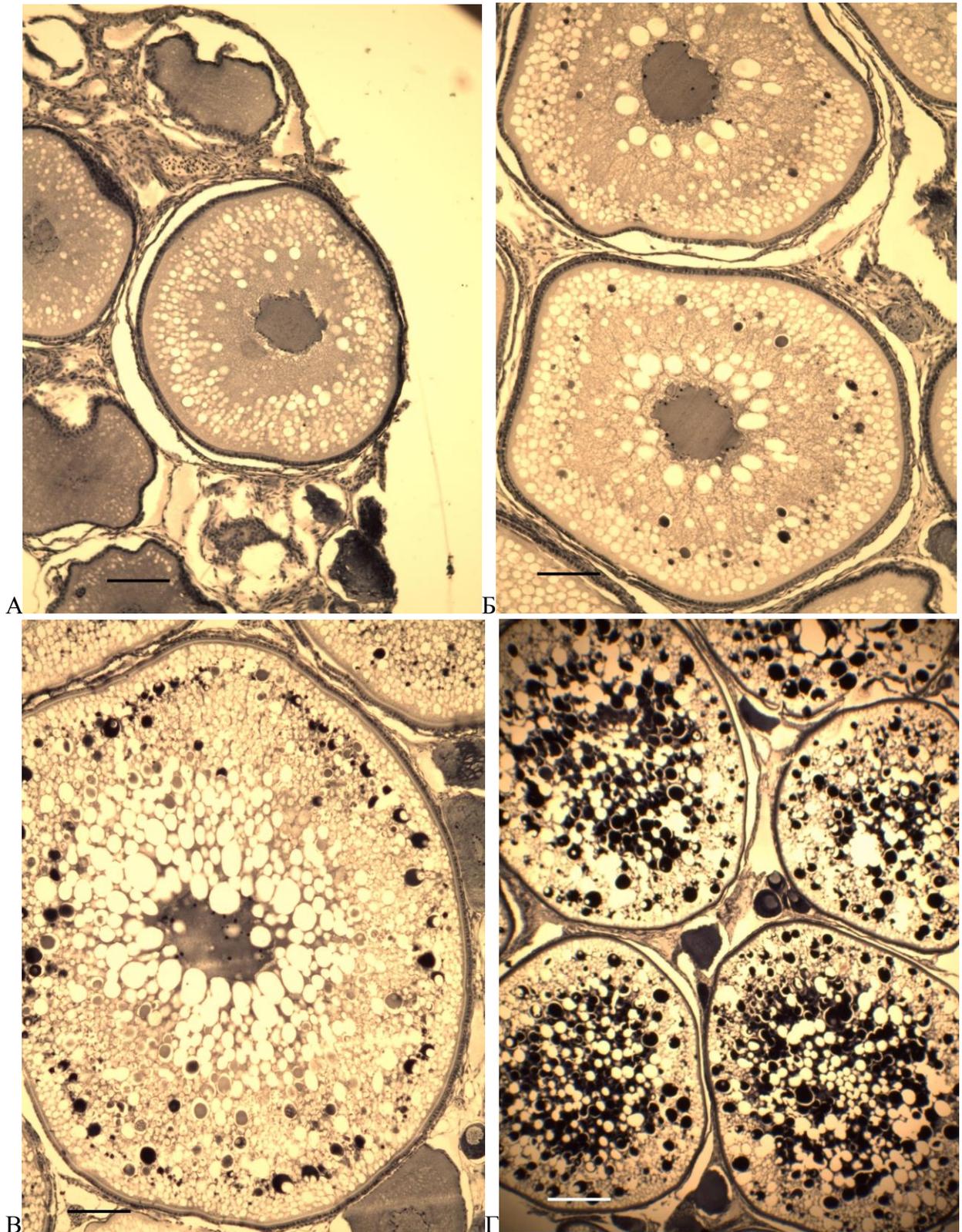
**Таблица 6.1.**

Состояние яичников радужной форели, выращиваемой при температуре 15-17°C в течение первого репродуктивного цикла (над чертой –  $M \pm m$  под чертой –  $lim$ )

Возраст, мес	п, экз.	Масса рыб, г	Длина рыб, L, см	Масса гонад, г	Коэффициент зрелости %	Диаметр ооцитов, мкм	Стадия зрелости
8	33	$\frac{152,7 \pm 5,6}{91-223}$	$\frac{22,6 \pm 0,2}{19,0-26,0}$	$\frac{0,167 \pm 0,089}{0,051-0,254}$	$\frac{0,11 \pm 0,004}{0,03-0,15}$	$\frac{0,23 \pm 0,08}{}$	II
12	4	$\frac{607,7 \pm 36,3}{555-714}$	$\frac{34,7 \pm 0,7}{34-37}$	$\frac{1,36 \pm 0,12}{1,17-1,70}$	$\frac{0,22 \pm 0,01}{0,20-0,24}$	$\frac{0,74 \pm 0,23}{0,68-0,78}$	III
13,5	9	$\frac{865,9 \pm 91,4}{434-1260}$	$\frac{37,7 \pm 1,3}{31-42}$	$\frac{4,24 \pm 0,54}{2,08-6,90}$	$\frac{0,49 \pm 0,03}{0,41-0,69}$	$\frac{1,40 \pm 0,04}{1,20-1,67}$	III
	1	564	35,5	0,66	0,11	0,28	II
15,5	6	$\frac{1078 \pm 58,3}{890-1280}$	$\frac{43,0 \pm 0,8}{40,5-46,5}$	$\frac{14,7 \pm 1,4}{11,3-20,1}$	$\frac{1,35 \pm 0,09}{1,07-1,59}$	$\frac{2,36 \pm 0,05}{2,16-2,53}$	III
17,5	5	$\frac{1450 \pm 136,5}{1230-1700}$	$\frac{46,0 \pm 1,8}{42,5-48,5}$	$\frac{56,0 \pm 11,2}{37,1-76,0}$	$\frac{3,78 \pm 0,42}{3,02-4,47}$	$\frac{2,79 \pm 0,12}{2,55-2,98}$	III
19,5	3	$\frac{2046 \pm 172,9}{1795-2378}$	$\frac{48,6 \pm 2,0}{44,5-50,5}$	$\frac{192,3 \pm 7,2}{182-206}$	$\frac{9,51 \pm 0,79}{7,94-10,47}$	$\frac{4,32 \pm 0,05}{4,26-4,43}$	III
21	6	$\frac{1758 \pm 78,3}{1500-2004}$	$\frac{46,5 \pm 0,9}{44-49,5}$	$\frac{235,3 \pm 19,4}{144-270}$	$\frac{14,9 \pm 1,8}{9,6-23,1}$	$\frac{5,00 \pm 0,06}{4,75-5,27}$	V

мкм. С ростом превителлогенных ооцитов происходила их дифференциация на отдельные генерации.

У рыб в возрасте от 3 до 8 мес. старшую генерацию половых клеток по-прежнему составляли превителлогенные ооциты (рис. 6.1Ж). Их диаметр увеличился со 120-130 мкм до 230-260 мкм. Однако величина коэффициента зрелости на протяжении этого пятимесячного периода не изменилась (от 0,06-0,14% в возрасте 3 мес. до 0,08-0,14% в возрасте 8 мес.), поскольку масса рыб за 5 мес. увеличилась в 51,7, а масса гонад – в 53,7 раза. Очевидно, что в течение всего периода превителлогенеза рост рыб и нарастание массы их яичников шли пропорционально.



**Рис. 6.2.** Состояние ооцитов старшей генерации у радужной форели в возрасте 12 (А, Б), 13,5 (В) и 15,5 мес. (Г) при выращивании в системе с оборотным водоснабжением при температуре 15-17°C. Шкала А-Г = 100 мкм, Д = 300 мкм.

В возрасте 12 мес. диаметр ооцитов старшей генерации увеличился до 680-790 мкм. В цитоплазме ооцитов у всех исследованных самок присутствовали кортикальные альвеолы и многочисленные жировые вакуоли (рис. 6.2А), а в наиболее крупных ооцитах и гранулы желтка (рис. 6.2Б). Клетки фолликулярного эпителия приобрели столбчатую форму, что свидетельствовало о начале вителлогенеза. Масса гонад увеличилась в 8, а коэффициент зрелости в 2 раза по сравнению с предыдущим сроком исследования (табл. 6.1).

В возрасте 13,5 мес. у 9 из 10 исследованных самок ооциты старшей генерации находились в периоде вителлогенеза. В их цитоплазме присутствовали многочисленные гранулы желтка (рис. 6.2В). Масса гонад в среднем увеличилась до 4,24 г, а коэффициент зрелости – до 0,49%. Диаметр ооцитов старшей генерации составил 1,28-1,67 мм. Лишь у одной самки массой 564 г ооциты старшей генерации находились в состоянии превителлогенеза, их диаметр был в среднем 280 мкм. Примечательно, что за единственным исключением, гонады всех самок имели сходный уровень зрелости, независимо от массы рыб (от 434 до 1260 г).

У всех самок в возрасте 15,5 и 17,5 мес. в ооцитах старшей генерации шел процесс слияния желтковых гранул (рис. 6.2Г). Масса гонад в среднем увеличилась до 14,7 и 56,0 г, а ооциты старшей генерации – в среднем до 2,36 и 2,79 мм (табл. 6.1).

К возрасту 19,5 мес. в ооцитах форели процесс слияния желтковых глобул в гомогенную массу практически завершился. Масса гонад в среднем увеличилась до 192,3 г, коэффициент зрелости – до 9,51%, а диаметр ооцитов – до 4,32 мм (табл. 6.1). Однако яичники по-прежнему находились в III стадии зрелости; при инкубации ооцитов *in vitro* у них не происходила поляризация ядра под воздействием вытяжки гормонов из гомогената ацетонированных гипофизов горбуши.

Созревание самок форели произошло в возрасте 21 мес. на 638-643 сут от пика вылупления при массе от 1500 до 2004 г. Масса гонад у созревших рыб составила в среднем 235,3 г, коэффициент зрелости – 14,9%, а диаметр ооцитов – 5,00 мм. Масса овулировавших икринок в среднем составила  $73,8 \pm 2,5$  мг при варьировании от 64,4 до 82,9 мг.

В отличие от двух предыдущих глав, где мы анализировали преимущественно развитие яичников, исследуя гаметогенез лососевых рыб в течение полного периода полового созревания, здесь мы в равной мере уделили должное внимание развитию

яичников и семенников, руководствуясь двумя соображениями. Во-первых, прогноз полового созревания производителей лососевых рыб, основанный на состоянии яичников у самок в период катадромной миграции, предусматривает анализ возврата как самок, так и самцов. Предполагается, что при созревании определенного количества самок в том или ином возрасте, достигнет полового созревания и пропорциональное количество самцов при общей закономерности более раннего созревания мужских особей. Во-вторых, завершающий этап полового созревания самок, как и самцов, является в значительной степени актом поведения, и его реализация тесно связана с наличием готовых к половому созреванию мужских особей. Семенники у рыб в возрасте 40 и 90 сут отличались от яичников отсутствием компактной генеративной части и характерной треугольной формой на поперечном срезе. В гонадах были отмечены только единичные сперматогонии.

В возрасте 8 мес. у 35 из 38 исследованных рыб половые клетки по-прежнему были представлены только сперматогониями; на поперечных срезах гонад были хорошо различимы семенные каналцы (рис. 6.3А). Гонады такого уровня развития соответствовали II стадии зрелости. Масса гонад и коэффициент зрелости в среднем 0,050 г и 0,034% - были в 3 раза меньше соответствующих величин у самок этого возраста (табл. 6.2). Состояние гонад трех остальных самцов принципиально отличалось от состояния гонад у большинства рыб. У двух из них массой 121 и 200 г (масса гонад – 9,8 и 17,2 г; коэффициент зрелости – 8,1 и 8,6% соответственно) семенники содержали зрелые спермии и находились в III-IV стадии зрелости (рис. 6.3Б). Часть спермы выделялась при надавливании на брюшко рыб. У третьего самца массой 146 г степень зрелости семенников соответствовала V стадии (рис. 6.3В). Такие значительные различия в состоянии гонад у двух групп рыб не оставляли сомнений, что приблизительно у 7,9% самцов форели в нашей модельной группе развитие семенников происходило по типу «карликовых» самцов.

В возрасте 12 мес. у всех исследованных рыб отмечены мейотические деления половых клеток, а их семенники находились в III стадии зрелости. В гонадах встречались половые клетки всех этапов сперматогенеза – от сперматогониев до зрелых спермиев (рис. 6.3Г). С началом волны активного сперматогенеза средняя масса половых желез увеличилась до 1,36 г и в среднем была равна массе гонад у одновозрастных самок (табл. 6.2).

К возрасту 13,5 и 15,5 мес. качественных изменений в состоянии гонад не произошло. Во всех семенниках присутствовали зрелые спермии, масса гонад широко варьировала: от 1,3 до 14,5 г и от 13,2 до 24,0 г соответственно возрасту. Суммируя полученные результаты отметим, что у рыб в возрасте 12-15,5 мес семенники находились в III стадии зрелости. Несмотря на различия в гистологической структуре гонад разных самцов, в целом наблюдалась тенденция увеличения на поперечных срезах гонад площади цист с более зрелыми половыми клетками (рис. 6.3Д, Е). Одновременно увеличивалась абсолютная и относительная масса гонад; перехода семенников в «текущее» состояние не происходило.

Среди рыб в возрасте 17,5 мес. был отмечен самец массой 1637 г., состояние гонад которого (массой 116 г) соответствовало III-IV стадии зрелости. У остальных рыб, исследованных в этом возрасте, существенных изменений гистологической структуры гонад не отмечено. Масса их семенников и коэффициент зрелости увеличились в среднем до 61,2 г и 3,95%.

Первый самец, достигший полового созревания, был отмечен в возрасте 19 мес. Его масса была наименьшей среди всех рыб – 973 г. У остальных особей существенных изменений гистологической структуры гонад не отмечено, но масса семенников и коэффициент зрелости увеличились до 105,5 г и 6,00%. Половое созревание всех самцов произошло в возрасте 20-21 мес. Продолжительность поступательного движения спермиев (до 15 сек при температуре 14-15°C) была сравнительно низкой для самцов радужной форели ропшинской породной группы (Бабушкин, 1974); концентрация спермиев варьировала от 10,2 до 29,0 млн/мл<sup>3</sup>.

Обобщая полученные данные, предположим, что использованный нами температурный режим был, по всей видимости, наиболее благоприятным для гаметогенеза молоди радужной форели. Так, первые ооциты периода ранней профазы мейоза были обнаружены в яичниках самок в возрасте 25 сут, а превителлогенные ооциты – в 40 сут. Во всех известных нам исследованиях первые ооциты периода ранней профазы мейоза в яичниках у самок форели появлялись на 32-42 сут (Lebrun et al., 1982; Захарова, 1984; 1989; Алешин, 1986; Алешин, Чмилевский, 1987). Использование повышенной температуры (до 25°C) при содержании личинок несколько ускоряло цитологическую дифференцировку пола (Алешин, 1987), однако вместе с этим наблюдалось замедление как скорости размножения гониев, так и роста ооцитов, а также частичное замещение генеративной части яичников жировой и стромальной тканями. Поэтому первые

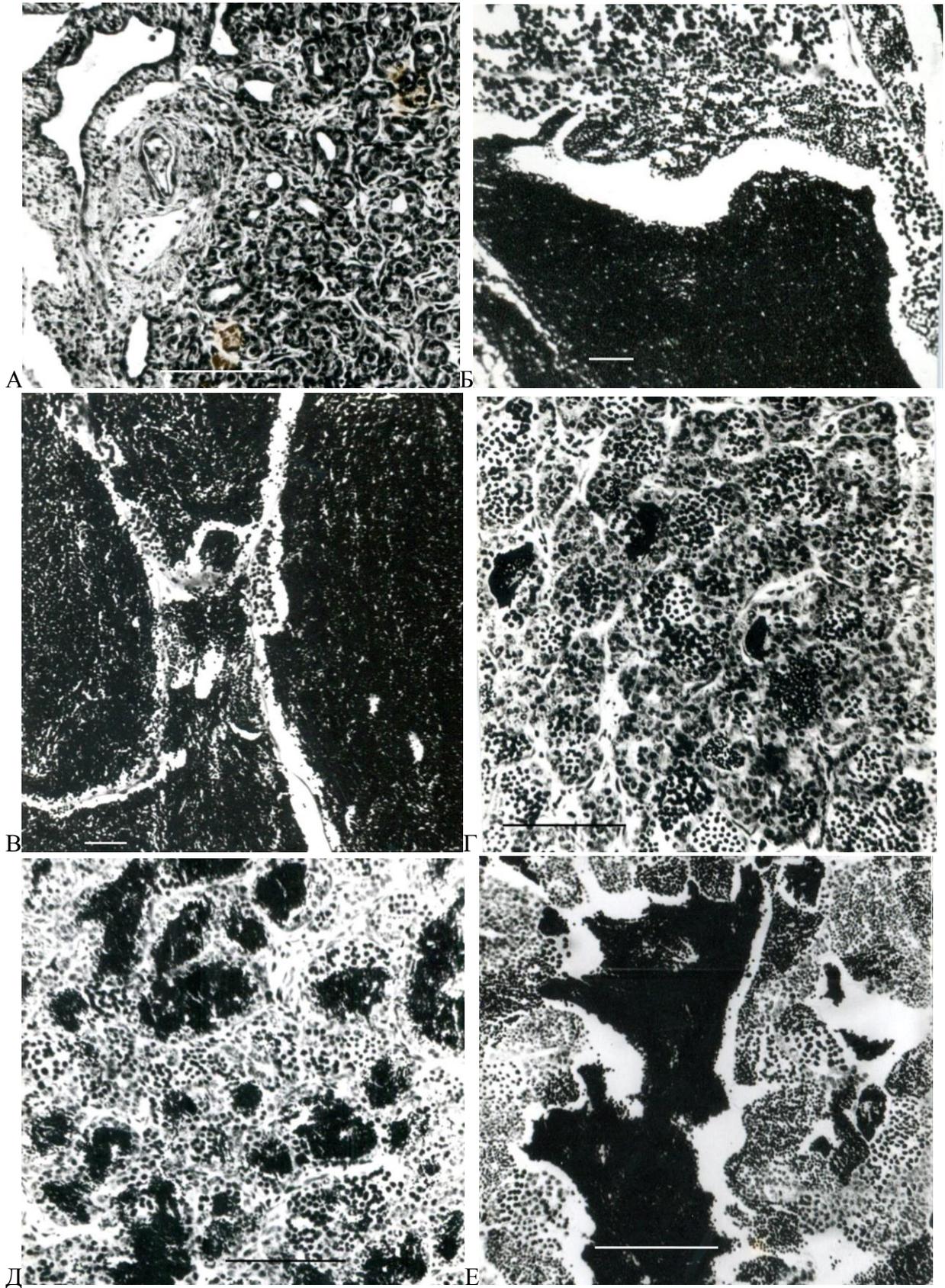
превителлогенные ооциты в яичниках молоди форели как при пониженной, так и при повышенной температуре исследователи отмечали не ранее 52-65 сут (Van den Hurk, Slof, 1981; Алешин, 1987; Захарова, Чмилевский, 1983).

У всех исследованных нами самок радужной форели, за единственным исключением, период вителлогенеза начинался одновременно – с возраста 12 мес., в то время как в условиях рыбоводного хозяйства с сезонным понижением температуры вступление ооцитов старшей генерации в период вителлогенеза у форели ропшинской породной группы происходит асинхронно, что приводит к большой вариабельности размеров икринок у впервые созревающих особей (Леманова, 1976б).

**Таблица 6.2.**

Состояние семенников радужной форели, выращиваемой при 15-17°C в течение первого репродуктивного цикла (над чертой –  $M \pm m$  под чертой –  $lim$ )

Возраст, мес	п, экз.	Масса рыб, г	Длина рыб, L, см	Масса гонад, г	Коэффициент зрелости %	Стадия зрелости
8	38	$\frac{147,7 \pm 4,9}{83-208}$	$\frac{22,3 \pm 0,2}{19,0-25,5}$	$\frac{0,050 \pm 0,002}{0,024-0,088}$	$\frac{0,034 \pm 0,001}{0,017-0,074}$	II
	3	$\frac{156,0 \pm 23,2}{121-200}$	$\frac{22,0 \pm 1,0}{21,0-24,0}$	$\frac{10,2 \pm 4,0}{3,51-17,23}$	$\frac{6,4 \pm 2,0}{2,38-8,61}$	III – V
12	8	$\frac{679,6 \pm 27,5}{560-775}$	$\frac{35,1 \pm 0,4}{33,0-36,0}$	$\frac{1,36 \pm 0,20}{0,62-2,43}$	$\frac{0,19 \pm 0,02}{0,11-0,31}$	III
13,5	9	$\frac{768,2 \pm 55,7}{562-1075}$	$\frac{37,2 \pm 0,5}{34,5-40,0}$	$\frac{5,2 \pm 1,3}{1,3-14,5}$	$\frac{0,62 \pm 0,16}{0,18-1,42}$	III
15,5	4	$\frac{1014 \pm 66,8}{855-1140}$	$\frac{43,5 \pm 0,5}{42,5-45,0}$	$\frac{19,9 \pm 2,4}{13,2-24,0}$	$\frac{2,00 \pm 0,31}{1,19-2,71}$	III
17,5	3	$\frac{1494 \pm 115,6}{1262-1637}$	$\frac{46,1 \pm 1,1}{44,0-48,0}$	$\frac{61,2 \pm 27,4}{31,6-116,0}$	$\frac{3,95 \pm 1,56}{2,28-7,08}$	III
19,5	4	$\frac{1682 \pm 251,4}{973-2152}$	$\frac{45,5 \pm 1,8}{41,0-50,0}$	$\frac{105,5 \pm 16,8}{56-136}$	$\frac{6,32 \pm 0,38}{5,06-6,85}$	III



**Рис. 6.3.** Состояние семенников у самцов радужной форели в возрасте 8 мес. (А, Б, В), 12 мес (Г) и 15,5 (Д, Е) при выращивании в системе с обратным водоснабжением при температуре 15-17°C. Состояние гонад соответствует II (А), III (Г, Д, Е), III-IV (Б) и V стадии зрелости (В). Шкала = 100 мкм.

По данным нашей работы, созревание самок форели, независимо от размера рыб, произошло в возрасте 21 мес, т.е. на один месяц раньше созревания единичных особей в «тепловодных» хозяйствах (Титарев, 1975; Синявичене, 1982). Если учесть, что в нашем случае развитие гонад у всех самок происходило синхронно, то очевидно, что выращивая форель при температуре близкой к оптимальной (вероятно, в пределах 15-17°C), можно добиться созревания практически всех рыб в возрасте до 2 лет, однако вряд ли возможно, оптимизируя температурный режим, еще больше сократить период созревания самок радужной форели, как это предполагалось ранее (Титарев, 1975). Не исключено, что срок первого нереста можно сделать короче, изменяя режим освещенности (Nakari et al., 1987; Whitehead, Bromage, 1978; Whitehead et al., 1978; Randall et al., 1988). Однако следует отметить, что перечисленные авторы работали с ранее отнерестившимися особями, у которых после нереста в яичниках оставался фонд ооцитов и начинался периода вителлогенеза.

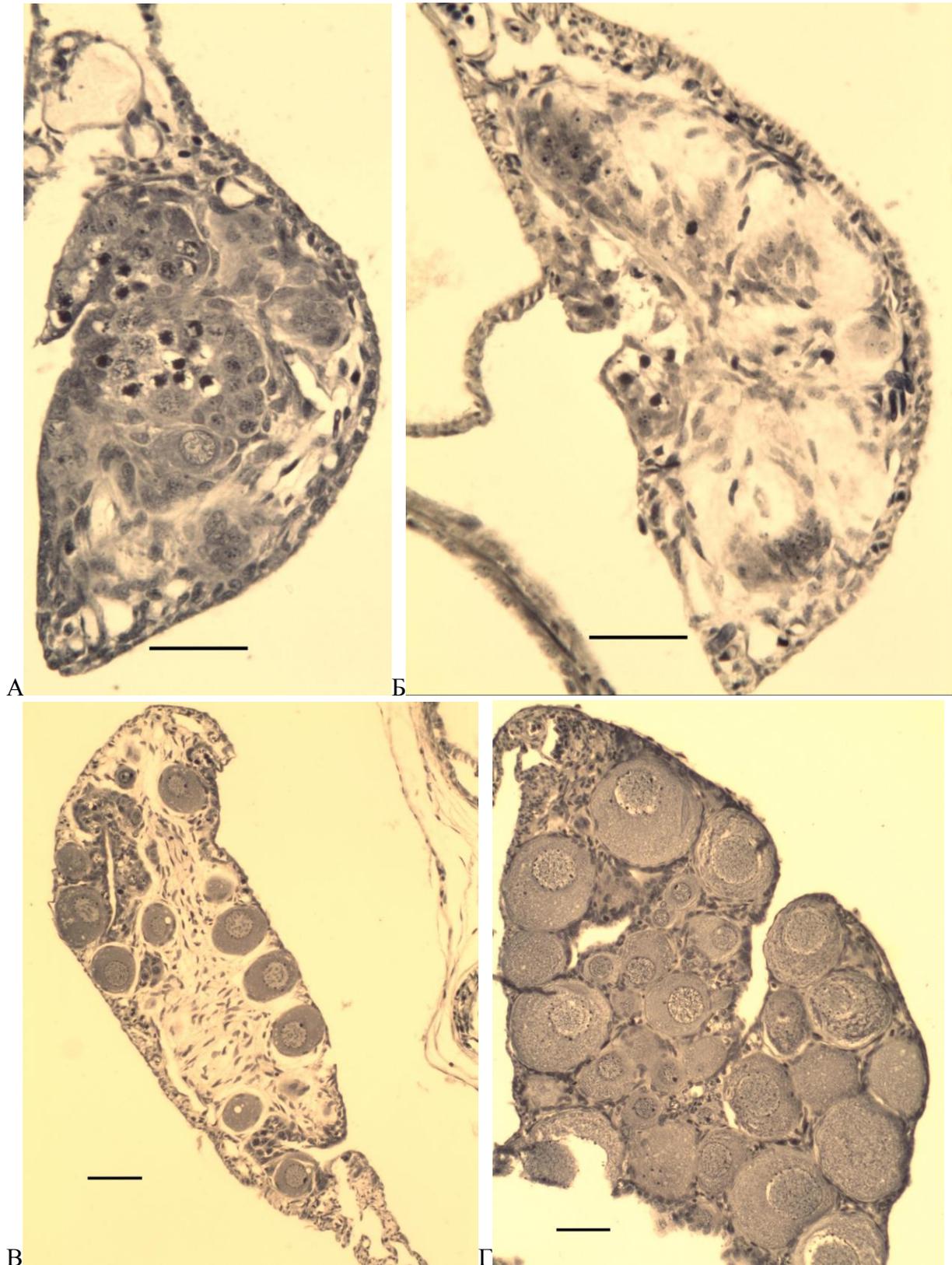
Начало мейотических делений сперматогониев у самцов форели, за редким исключением, произошло в возрасте от 8 до 12 мес. и по времени совпало с началом периода вителлогенеза у самок. Полученные данные во многом совпадают с результатами, известными в литературе. Так, наиболее раннее начало мейотических преобразований в семенниках радужной форели отмечено в возрасте 141 (Konno, 1980) и 147 сут (Захарова, 1984). Не исключено, что упомянутыми авторами были исследованы «карликовые» самцы, созревающие у радужной форели в 7-10 мес. и хорошо известные для других видов лососевых рыб. У большей части самцов форели при выращивании в условиях «холодноводного» хозяйства ФСГЦР «Ропша» мейотические преобразования сперматоцитов происходят в возрасте 16-17 мес., а половое созревание, как и в нашей работе, наступает в возрасте 19 мес. (Бабушкин, 1976). Таким образом, в условиях «холодноводного» хозяйства длительная задержка сперматогенеза происходит на II стадии зрелости гонад. Мейотические преобразования в гонадах начинаются в возрасте 16-17 мес., а половое созревание еще через 1-2 мес. В нашем же случае впервые зрелые спермии обнаружены у всех рыб уже в возрасте 12 мес., но еще в течение 7-8 мес. состояние гонад у самцов соответствовало III стадии зрелости. С учетом этих фактов представляется очевидным, что полового созревания всех или значительной части самцов форели можно добиться и ранее 19 мес., например, изменяя режим освещенности (Breton, Billard, 1977) или при наличии близких к половому созреванию самок.

### **6.1.3. Выращивание радужной форели при температуре 19-20°C**

Исследование развития половых желез начали в возрасте 2,5 мес. от вылупления, когда масса самок варьировала от 0,6 до 1,1 г. Фонд половых клеток у всех особей был представлен гониями и ооцитами периода ранней профазы мейоза (мейоцитами). Лишь у наиболее крупной из исследованных рыб отдельные ооциты вступили в период превителлогенеза (рис. 6.4А), а их диаметр достигал 30-35 мкм.

В возрасте 3 мес. масса исследованных самок варьировала от 0,8 до 2,3 г. В яичниках уже всех особей, помимо гониев и мейоцитов, присутствовали ооциты периода превителлогенеза, диаметр которых достигал 70 мкм. Вместе с тем, по микроанатомической структуре половых желез и состоянию фонда половых клеток яичники у разных рыб существенно различались. Так, у двух самок на 108-и и 138-и серийных срезах обеих гонад были обнаружены соответственно только 1 и 4 ооцита периода превителлогенеза. Отмеченные в яичниках этих особей многочисленные пустоты на месте жировых отложений столь значительны, что на некоторых срезах полностью отсутствовали половые клетки (рис. 6.4Б). Еще у четырех самок ооциты периода превителлогенеза были отмечены практически на всех срезах, но их число (не более 1-3 клеток на срез) было относительно невелико. Наконец, в яичниках еще двух самок на каждом поперечном срезе гонад было по 10-15 превителлогенных ооцитов. Вместе с тем, и у таких рыб площадь, занимаемая половыми клетками на срезах, была относительно невелика, а большая часть яичников была занята клетками стромы и жировыми отложениями (рис. 6.4В).

В возрасте 3,5 мес. мы отметили, что диаметр превителлогенных ооцитов в гонадах у каждой самки существенно различался (рис. 6.4Г), приблизительно от 25-30 до 100-110 мкм. Очевидно, что развитие репродуктивного фонда в яичниках было связано как с



**Рис. 6.4.** Состояние яичников у самок форели в возрасте 2,5 (А), 3 (Б, В) и 3,5 мес. (Г), при выращивании в системе с оборотным водоснабжением при температуре 19-20°C. Ооцит начала периода превителлогенеза (А); на срезе полностью отсутствуют половые клетки (Б); немногочисленные (В) и разноразмерные ооциты периода превителлогенеза (Г). Пояснение в тексте. Шкала = 100 мкм.

Таблица 6.3.

Состояние яичников радужной форели, выращиваемой при 19-20°C в течение первого репродуктивного цикла (над чертой –  $M \pm m$  под чертой –  $lim$ )

Возраст, мес.	п, экз.	Масса рыб, г	Длина рыб, L, см	Масса гонад, г	Коэффициент зрелости %	Диаметр ооцитов, мкм	Стадия зрелости
6	9	$18,2 \pm 4,3$ 6,1-43,9	$11,2 \pm 0,7$ 9,2-15,1	$0,014 \pm 0,003$ 0,007-0,038	$0,082 \pm 0,015$ 0,018-0,163	$149,5 \pm 5,7$ 127-184	II
7	7	$57,4 \pm 4,5$ 46,5-80,9	$15,2 \pm 0,4$ 14,4-17,0	$0,035 \pm 0,004$ 0,025-0,049	$0,062 \pm 0,006$ 0,038-0,084	$171,7 \pm 8,1$ 142-196	II
8	12	$136,8 \pm 19,5$ 59-294	$16,8 \pm 0,8$ 13,2-21,8	$0,061 \pm 0,010$ 0,019-0,146	$0,044 \pm 0,005$ 0,011-0,068	$181,0 \pm 8,3$ 172-215	II
9,5	9	$138,9 \pm 21,5$ 62,255	$20,9 \pm 1,0$ 15,9-25,0	$0,155 \pm 0,021$ 0,099-0,245	$0,122 \pm 0,018$ 0,055-0,207	$222,5 \pm 9,1$ 175-256	II
11	11	$404,2 \pm 33,3$ 166-540	$23,4 \pm 0,7$ 17,6-25,6	$0,206 \pm 0,040$ 0,057-0,434	$0,048 \pm 0,007$ 0,020-0,092	$246,4 \pm 10,3$ 195-321	II
12	7	$307,1 \pm 15,1$ 244-454	$27,1 \pm 0,3$ 25,6-30,1	$0,317 \pm 0,022$ 0,221-0,466	$0,103 \pm 0,007$ 0,074-0,132	$249,5 \pm 13,5$ 194-298	6 – II 1 – III
14	5	$436,1 \pm 88,5$ 298-781	$30,1 \pm 1,7$ 26,2-36,5	$0,526 \pm 0,180$ 0,238-1,2	$0,113 \pm 0,022$ 0,082-0,181	$267,0 \pm 10,7$ 230-293	II
	2	227-425	25,0-30,4	0,610-0,700	0,164-0,268	484-552	III
17	6	$785,2 \pm 74,5$ 535-930	$35,5 \pm 1,1$ 31,5-39,0	$1,02 \pm 0,20$ 0,4-1,4	$0,124 \pm 0,011$ 0,074-0,150	$347,8 \pm 19,6$ 279-415	II
	3	$646,7 \pm 177,0$ 450-1000	$36,8 \pm 1,9$ 33,0-39,0	$18,8 \pm 9,4$ 7,1-37,4	$2,58 \pm 0,63$ 1,58-3,74	$1777 \pm 173,2$ 1400-2000	III
22	3	$1284 \pm 213,8$ 889-1623	$42,6 \pm 2,2$ 38,5-46,0	$1,74 \pm 0,36$ 1,02-2,10	$0,133 \pm 0,014$ 0,11-0,16	$292,3 \pm 26,4$ 240-325	II
	1	865	41,0	3,4	0,39	-	III
	1	1389	42,5	17,7	1,27	-	
	1	1120	42,5	114,0	10,18	3800	

ростом ооцитов, так и с постепенным вступлением в превителлогенез новых поколений мейоцитов.

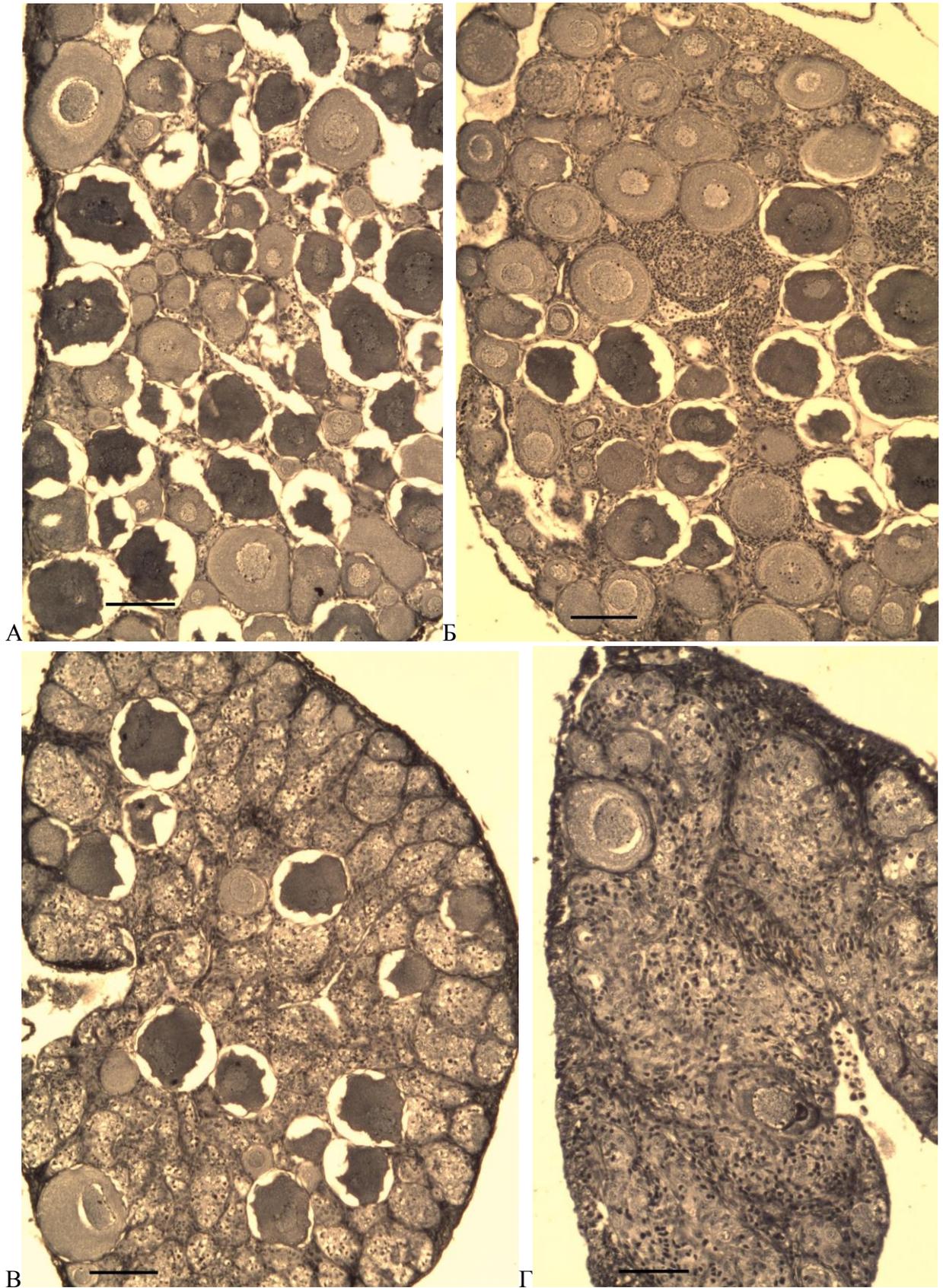
К возрасту 6 мес. яичники увеличились настолько, что их было возможно препарировать от комплекса внутренних органов и взвесить; их масса в среднем составила 0,014 г. Диаметр ооцитов старшей генерации увеличился до 149,5 мкм (табл. 4.3), а его величина тесно коррелировала с длиной ( $r=0,94$ ;  $y=0,113x-5,7$ ) и массой ( $r=0,71$ ;

$y=0,538x-62,25$ ) самок. В возрасте 7 мес. масса гонад и диаметр ооцитов возросли в среднем до 0,035 г и 171,7 мкм (табл. 6.3).

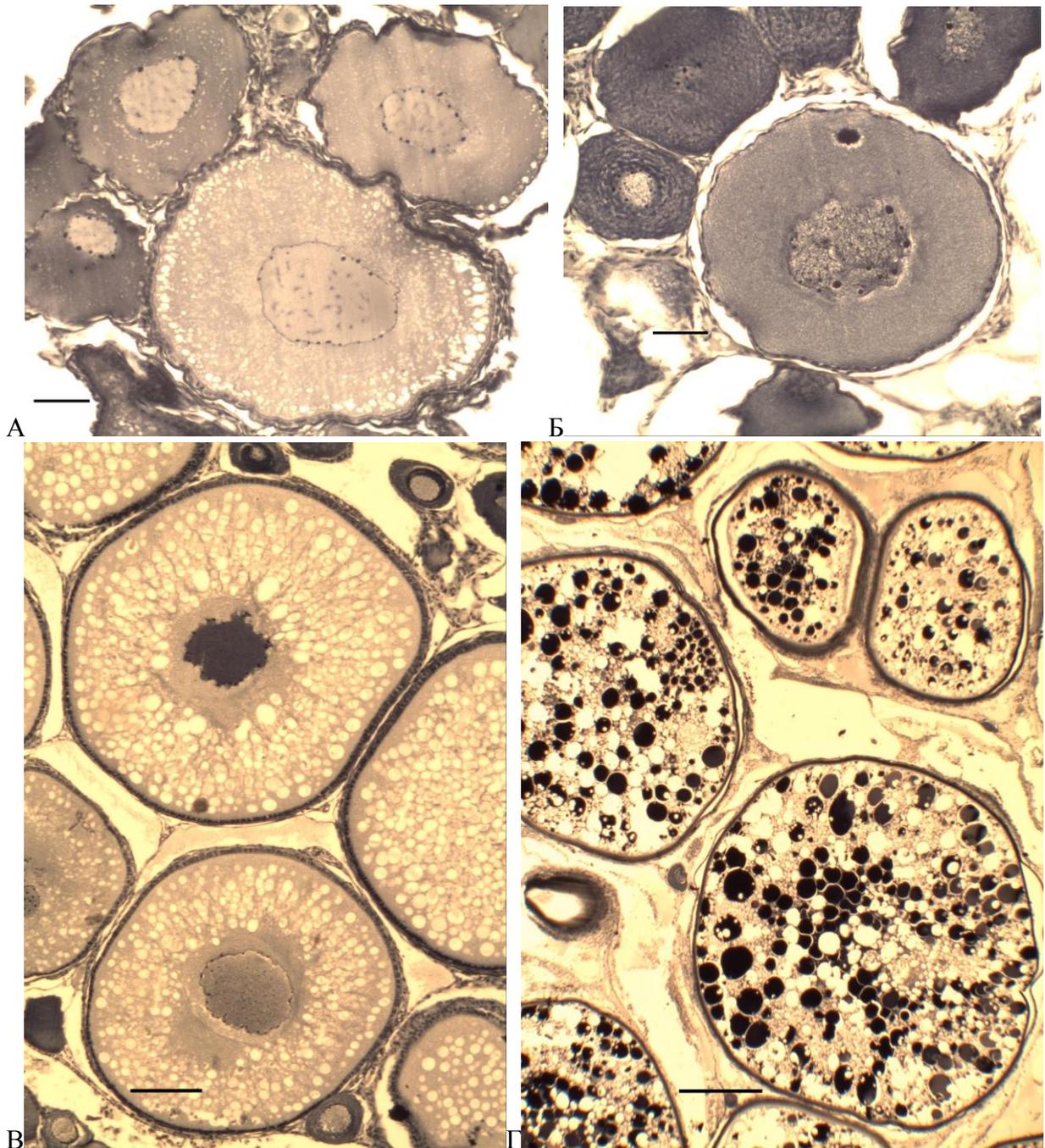
Анализируя состояние яичников у рыб в возрасте 8 мес., мы вновь акцентируем внимание на той закономерности, которую отметили, исследуя рыб в возрасте 3 мес. По микроанатомической структуре и составу половых клеток гонады исследованных самок существенно различались. Так, у одних рыб превителлогенные ооциты занимали практически всю площадь поперечного среза гонад (рис. 6.5А). У других – они были расположены менее плотно и в пространстве между ними в массе присутствовали многочисленные гонии и мейоциты (рис. 6.5Б). У третьих рыб площадь, занимаемая превителлогенными ооцитами на поперечных срезах, была невелика (рис. 6.5В). И, наконец, у последних особей такие ооциты присутствовали как исключение. Например, у одной из самок на 80-и серийных поперечных срезах обоих яичников были обнаружены только два ооцита периода превителлогенеза (рис. 6.5Г). Отметим также, а далее обсудим следующий факт. Практически для всех наиболее крупных ооцитов была характерна деформация и потеря ими обычной эллипсоидной формы.

В возрасте 9,5 и 11 мес. старшую генерацию половых клеток в яичниках у всех 20-ти исследованных самок по-прежнему составляли ооциты периода превителлогенеза, диаметр которых увеличился соответственно возрасту – в среднем до 222,5 и 246,4 мкм (табл. 6.3). В возрасте 11 мес. у некоторых самок в наиболее крупных ооцитах присутствовали желточные ядра, что свидетельствовало о скором завершении периода превителлогенеза.

В возрасте 12 мес.. у одной из восьми самок было отмечено появление кортикальных вакуолей (рис. 6.6А), что свидетельствовало о переходе гонад отдельных особей в III стадию зрелости. В возрасте 14 мес. у пяти самок старшая генерация половых клеток как и ранее была представлена ооцитами периода превителлогенеза, диаметр которых в среднем составлял 267,0 мкм (табл. 6.3). У двух других самок в цитоплазме ооцитов старшей генерации присутствовали кортикальные и жировые вакуоли (рис. 6.6В). Диаметр таких ооцитов – в среднем 518 мкм – был в два раза больше, чем у самок первой группы (табл. 6.3). Таким образом, к возрасту 14 мес. произошло разделение подопытной группы на особей с разным темпом оогенеза. При этом вакуолизация начиналась в ооцитах не самых крупных рыб. Одна из таких самок была наименьшей из всех рыб в данном возрасте.



**Рис. 6.5.** Вариации числа ооцитов периода превителлогенеза в гонадах у самок форели в возрасте 8 мес. при выращивании в системе с оборотным водоснабжением при температуре 19-20°C. Пояснение в тексте. Шкала = 100 мкм.



**Рис. 6.6.** Состояние ооцитов старшей генерации в яичниках самок форели в возрасте 12 (А), 14 (В) и 17 мес. (Б, Г) при выращивании в системе с обратным водоснабжением при температуре 19-20°C. Шкала А, Б = 50 мкм, В = 100 мкм, Г = 300 мкм.

В возрасте 17 мес. дифференциация самок форели по состоянию гонад, отмеченная нами для рыб в возрасте 14 мес., стала еще более выраженной. Так, у шести особей старшая генерация половых клеток вновь была представлена ооцитами периода превителлогенеза (рис. 6.6Б). Масса яичников у этих рыб и величина коэффициента

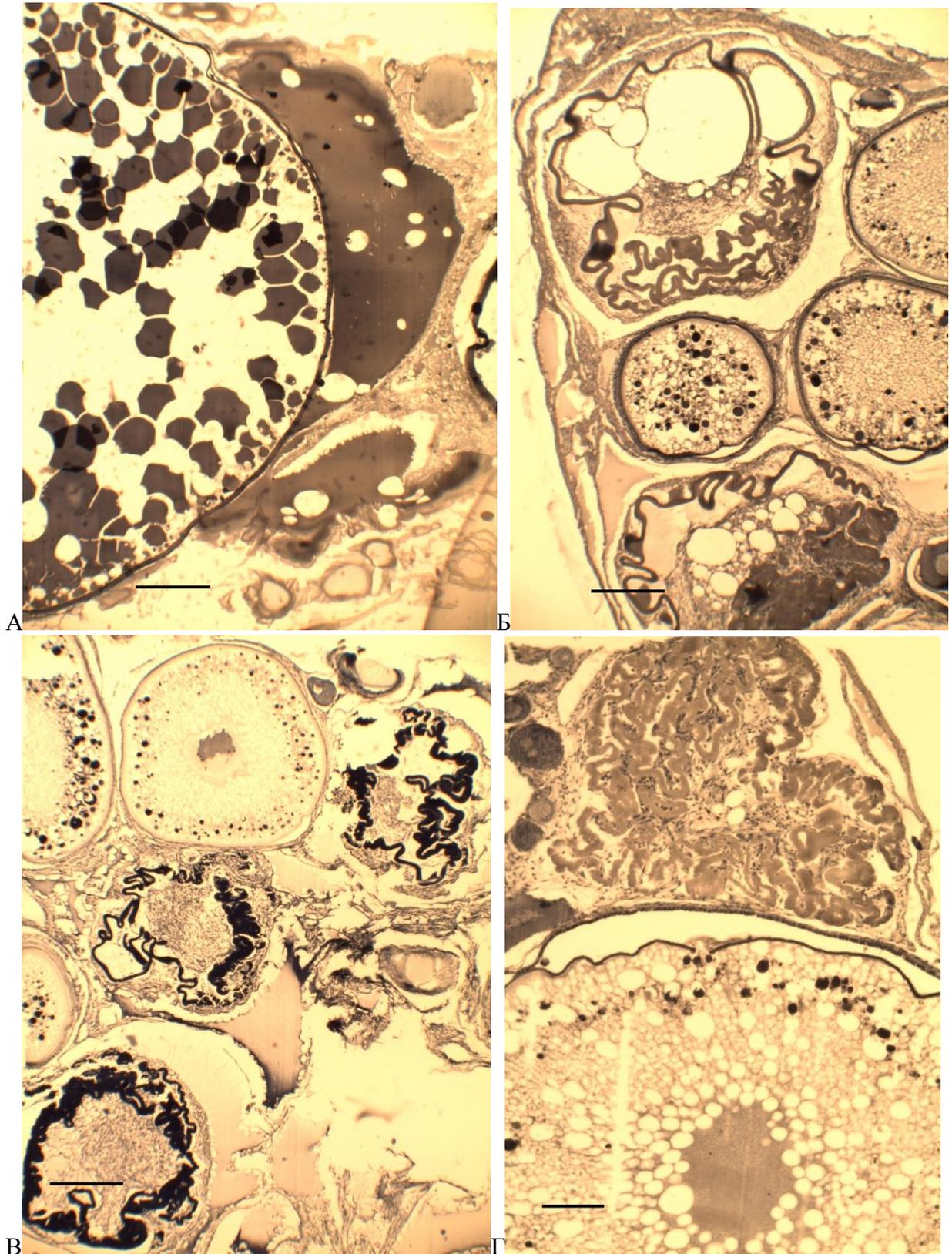
зрелости в среднем составили 0,96 г и 0,12% (табл. 6.3). У трех других самок масса гонад, в среднем 18,8 г и величина коэффициента зрелости – 2,58%, были почти в 20 раз больше, чем у рыб первой группы. Половые клетки старшей генерации были представлены ооцитами периода вителлогенеза. В цитоплазме этих ооцитов помимо жировых вакуолей были отмечены интенсивно окрашенные гематоксилином желтковые глобулы (рис. 6.6Г), диаметр которых достигал 180-200 мкм.

В возрасте 22 мес. по состоянию гонад мы также выявили две группы самок. У одних масса гонад в среднем составила 1,7 г, а наиболее крупные половые клетки по-прежнему были представлены ооцитами периода превителлогенеза. У других самок состояние яичников существенно различалось. Так, у одной особи масса гонад составила 114 г, а диаметр ооцитов – в среднем 3,8 мм. В ходе гистологического анализа (рис. 6.7А) было установлено, что все ооциты находились в состоянии начала резорбции; мы отметили многочисленные нарушения целостности оболочек, а также излияние содержимого ооцитов в межклеточное пространство. Еще у двух рыб на гистологических препаратах наблюдали тотальную резорбцию ооцитов старшей генерации, начавшуюся ранее (рис. 6.7). На месте разрушения ооцитов старшей генерации можно видеть фолликулярные оболочки. Таким образом, всех подопытных самок в этом возрасте по состоянию гонад также можно было разделить на две группы – соответственно с ооцитами периода превителлогенеза или вителлогенеза на разных этапах резорбции.

В возрасте 2,5 мес. семенники у всех исследованных особей находились на I стадии зрелости. Они имели на срезе характерную для лососевых рыб треугольную форму с крупным кровеносным сосудом, расположенным в районе мезорхия. Фонд половых клеток в семенниках был представлен сперматогониями.

В возрасте от 3 до 7 мес. в гонадах у всех рыб по-прежнему присутствовали только гонии, число которых увеличивалось в ходе митотических делений. В течение этого периода в семенниках осуществлялось формирование семенных канальцев, что свидетельствовало о переходе половых желез во II стадию зрелости.

В возрасте 8 мес. были изучено состояние семенников у десяти существенно различающихся по массе рыб. У девяти особей в гонадах массой от 11 до 35 мг по-прежнему присутствовали только гонии (рис. 6.8А). В отличие от этого, у наиболее крупного самца (табл. 6.4) в семенниках массой 982 мг помимо гониев присутствовали половые клетки всех этапов сперматогенеза за исключением зрелых спермиев (рис. 6.8Б).

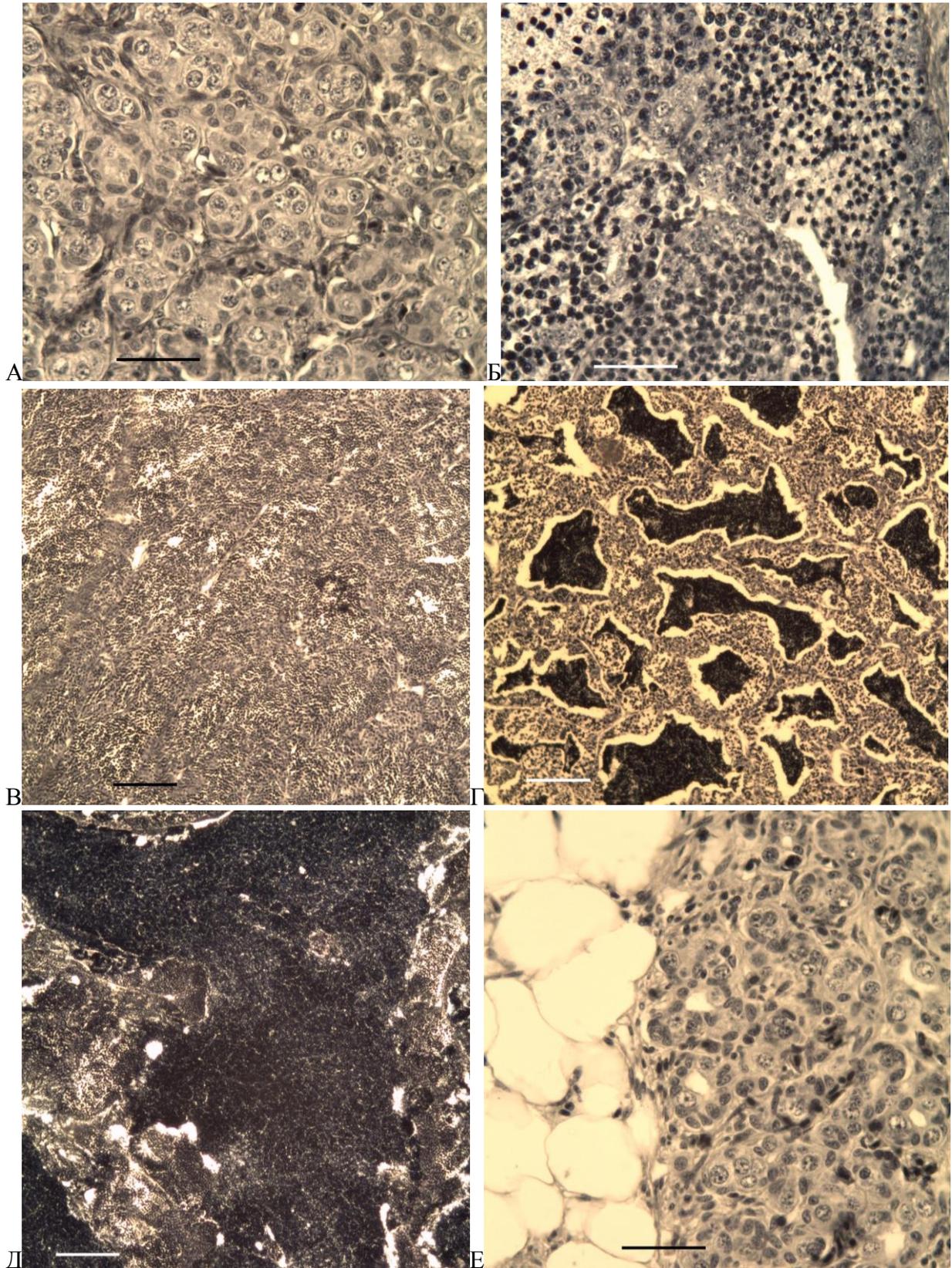


**Рис. 6.7.** Резорбция ооцитов в яичниках самок форели в возрасте 22 мес. на разных этапах их разрушения при выращивании в системе с обратным водоснабжением при температуре 19-20°C. Можно видеть оставшиеся на месте резорбции фолликулярные оболочки. Шкала А, Б = 50 мкм, В = 100 мкм, Г = 300 мкм.

Таблица 6.4.

Состояние семенников радужной форели, выращиваемой при 19-20°C в течение первого репродуктивного цикла (над чертой –  $M \pm m$  под чертой –  $lim$ )

Возраст, мес.	n, экз.	Масса рыб, г	Длина рыб, L, см	Масса гонад, г	Коэффициент зрелости %	Стадия зрелости
6	9	<u>16,8±4,0</u>	<u>11,0±0,8</u>	<u>0,006±0,002</u>	<u>0,029±0,003</u>	II
		2,8-39,0	7,1-14,4	0,005-0,015	0,017-0,041	
7	5	<u>59,6±8,9</u>	<u>14,9±0,9</u>	<u>0,021±0,004</u>	<u>0,034±0,005</u>	II
		39,4-86,0	12,2-17,4	0,010-0,028	0,025-0,050	
8	9	<u>115,0±15,6</u>	<u>14,7±0,8</u>	<u>0,021±0,003</u>	<u>0,019±0,001</u>	II
		55,9-192,4	13,0-19,9	0,011-0,035	0,013-0,025	
	1	219,6	20,0	0,98	0,45	III
9,5	4	<u>146,5±16,4</u>	<u>21,9±0,6</u>	<u>0,068±0,004</u>	<u>0,048±0,006</u>	II
		100,0-171,9	20,3-22,9	0,060-0,076	0,035-0,065	
	2	78,2-139,8	18,1-22,4	0,59-1,32	0,420-0,682	III
11	5	<u>329,2±79,4</u>	<u>20,6±1,7</u>	<u>0,051±0,010</u>	<u>0,016±0,001</u>	II
		164,5-632,5	15,9-26,5	0,032-0,090	0,012-0,019	
	4	<u>636,3±30,1</u>	<u>27,1±0,6</u>	<u>4,111±0,805</u>	<u>0,641±0,123</u>	III
		571,5-716,8	26,2-29,0	1,947-5,800	0,57-0,92	
12	10	<u>252,1±28,1</u>	<u>25,0±0,8</u>	<u>0,161±0,036</u>	<u>0,063±0,013</u>	II
		152,9-384,0	21,6-28,8	0,045-0,394	0,027-0,145	
	10	<u>334,2±22,0</u>	<u>27,6±0,4</u>	<u>7,5±1,4</u>	<u>2,31±0,45</u>	III
		270,5-446,0	25,8-29,8	3,0-17,3	0,67-5,47	
14	1	466,5	30,7	6,2	1,33	II
	4	<u>505,0±46,3</u>	<u>32,2±1,0</u>	<u>8,0±0,9</u>	<u>1,59±0,11</u>	III
		404,9-615,2	30,5-34,0	6,1-10,3	1,51-1,90	
17	7	<u>905,9±79,1</u>	<u>39,4±0,9</u>	<u>9,8±3,3</u>	<u>1,14±0,37</u>	III
		505-1165	36,0-42,5	3,4-27,9	0,37-2,62	
19	5	<u>1124,0±156,3</u>	<u>39,8±2,3</u>	<u>25,9±5,4</u>	<u>2,25±0,25</u>	III
		660-1540	32,5-45,0	11,0-44,6	1,65-2,90	
22	2	961-1890	41,0-45,5	0,2-0,5	0,020-0,026	II
	4	<u>1262,7±157,0</u>	<u>43,6±1,0</u>	<u>35,7±5,2</u>	<u>2,84±0,22</u>	III
		864-1580	42,0-46,7	26,5-50,5	2,22-3,20	



**Рис. 6.8.** Состояние семенников у самцов форели в возрасте 8 (А, Б), 12 (В, Г, Д) и 22 (Е) мес. при выращивании в системе с оборотным водоснабжением при температуре 19-20°C. Можно видеть начало волны активного сперматогенеза (Б), фонд половых клеток, представленный только гониями (А, Е, пояснение в тексте); различное состояние гонад у рыб одного возраста (В-Д). Шкала А, Б, Е = 50 мкм; В-Д = 100 мкм.

Очевидно, что у части рыб этого возраста уже осуществлялась волна активного сперматогенеза.

У рыб в возрасте 9,5, 11 и 12 мес. в общей сложности были изучены гонады 35 самцов. По состоянию семенников всех рыб в каждом возрасте можно было разделить на две группы. У одних особей в гонадах по-прежнему присутствовали только гонии (табл. 6.4). У других рыб масса гонад в среднем составила 0,9, 4,1 г и 7,5 г соответственно возрасту, а в семенниках присутствовали половые клетки разных этапов сперматогенеза – от гониев до зрелых спермиев при весьма различном состоянии гонад (рис. 6.8В-Д). При этом с возрастом площадь на срезах, занимаемая клетками более старших фаз увеличивалась. Отдельные самцы, судя по площади, занимаемой на срезах массами зрелых спермиев, уже в возрасте 12 мес. находились в состоянии близком к половому созреванию (рис. 6.8Д).

В возрасте 14, 17 и 19 мес. были проанализированы гонады 17 особей (табл. 6.4). В отличие от предыдущего периода исследования, состояние семенников у этих самцов было более сходным. Так, у шестнадцати из них на поперечных срезах гонад присутствовали скопления зрелых сперматозоидов, хотя площади, занимаемые ими на срезах у разных особей, существенно варьировали. Вместе с тем, во всех семенниках можно было видеть участки, где интенсивно осуществлялся процесс резорбции зрелых половых клеток. У одного самца в возрасте 14 мес. в гонадах присутствовали только гонии. Однако крупные размеры семенников, а также обильная васкуляризация стромы позволяли предположить, что у данной особи в гонадах ранее уже осуществлялись мейотические преобразования.

В возрасте 22 мес. состояние гонад у подопытных самцов вновь качественно различалось. Так, у двух особей масса семенников, в которых половые клетки были представлены только гониями, составила 0,2 и 0,5 г соответственно. В ходе микроскопического анализа можно было отметить обширные жировые отложения (рис. 6.8Е). Наблюдали также многочисленные случаи утраты контакта гониями связи с фолликулярным эпителием и выведение их в просвет семенных канальцев с последующей резорбцией. В противоположность этому, у четырех других самцов масса гонад – от 26,5 до 50,5 г – была значительно больше, а семенники находились на III стадии зрелости, но лишь у одной особи в семенных канальцах присутствовали незначительные скопления зрелых спермиев.

Анализируя полученные результаты, в первую очередь отметим, что у радужной форели, выявили значительные жировые отложения в яичниках. Здесь, впрочем, следует отметить, что корм производства «Биомар», которым кормили рыб, согласно инструкции был предназначен для использования при более низкой температуре. Не исключено, что значительный объем жировых отложений в гонадах был только косвенно связан с повышенной температурой, и обусловлен использованием корма, не соответствующего данным условиям.

Во-вторых, наблюдали разрастание стромальной ткани и замедление формирования фонда ооцитов периода превителлогенеза. Следует подчеркнуть, что состояние, при котором большая часть гонады занята клетками стромы и жировыми отложениями, является абсолютно нехарактерным для лососевых рыб. В естественном состоянии в период формирования старшей генерации половых клеток из фонда ооцитов периода превителлогенеза эти клетки занимают практически весь объем гонад как у полициклических (Мурза, Христофоров, 1991), так и у моноциклических лососевых рыб (Персов, 1975; Зеленников, 2003б) и именно их рост в дальнейшем определяет увеличение объема и массы половых желез.

В третьих, наблюдали замедление темпа оогенеза и, в частности, уменьшения доли самок, чей репродуктивный цикл завершался в течение двух лет. Так, если при температуре 15-17°C таких рыб было 97,3%, то при температуре 19,5-20,5°C – только 36,6%.

Полученные данные согласуются со сведениями, имеющимися в литературе. Так, замедление темпа оогенеза при повышенной температуре уже отмечали ранее, как у молоди радужной форели (Алешин, 1987), так и у других видов рыб (Lukšiene et al., 2000; Rawson et al., 2000). Содержание молоди форели при температуре 21°C ускоряло у нее цитологическую дифференцировку пола, но вызывало уменьшение числа митозов гониев и замедление роста ооцитов периода превителлогенеза (Алешин, 1987).

Отдельное внимание заслуживают работы о выращивании форели в странах с тропическим климатом, в которых авторы указывают на многочисленные нарушения в развитии гонад – асинхронность роста половых клеток, их резорбция, уменьшение доли самок, достигающих полового созревания и другие (Pankhurst et al., 1996; Pomsoping et al., 2007; Павлов и др., 2013; 2016). Здесь, впрочем, следует отметить, что в условиях тропического климата за пределами толерантности оказывается сразу несколько важных параметров (Павлов, 2011). К тому же в рыбоводстве часто используют более

приспособленных для тропического климата триплоидных рыб (Yamamoto, Iida, 1994), гаметогенез которых и в оптимальных условиях идет с заметными отклонениями (Carrasco et al., 1998; Krisfalusi et al., 2000; Han et al., 2010). Именно с триплоидией в большей степени, а не с воздействием внешних факторов авторы связывают анатомические и цитологические нарушения половых желез (Павлов и др., 2013).

Анализируя развитие семенников, отметим, что волну активного сперматогенеза наблюдали уже в возрасте 8 мес., однако за весь период исследования не выявили ни одной особи с гонадами в V стадии зрелости. Не исключено, что причиной этого могло быть отсутствие близких к половому созреванию самок. Вместе с тем, при температуре 15-17°C с возраста 12 мес. у всех самцов форели гонады находились на III или IV стадии зрелости. При повышенной температуре в настоящей работе в возрасте 12 мес. ровно у половины из 20-ти исследованных рыб гонады еще находились на II стадии зрелости.

Обобщая полученные в настоящем разделе данные, можно сделать следующее заключение. Для самок радужной форели одного поколения как при сравнительно низкой, относительно оптимальной, так и при сравнительно высокой температуре естественным является достижение полового созревания в течение, по крайней мере, двух лет. Тем не менее, даже, казалось бы, при практически единовременном созревании могут оказаться самки с индивидуально замедленным темпом оогенеза и поэтому пропускающие нерестовый сезон. Вместе с тем, повышая температуру воды при содержании форели в условиях рыбоводных хозяйств, можно добиться увеличения доли особей, достигающих половой зрелости в первый для данного поколения нерестовый сезон. Оптимизируя же температурный режим, можно добиться единовременного созревания большинства самок форели.

## **6.2. Гаметогенез каспийского лосося**

Исследование гонад у самок и самцов каспийского лосося начали в возрасте 10 мес. от вылупления, когда масса самок варьировала в диапазоне от 3,9 до 5,5 г, в среднем составив 4,7 г (табл. 6.5). Фонд половых клеток у всех рыб был представлен гониями, ооцитами периода ранней профазы мейоза и превителлогенными диаметром 45–50 мкм.

В возрасте 13,5, 16 и 19 мес. масса рыб прогрессивно возрастала, в среднем до 6,0, 14,1 и 21,1 г, соответственно. Поскольку масса яичников увеличивалась одновременно с

Таблица 6.5

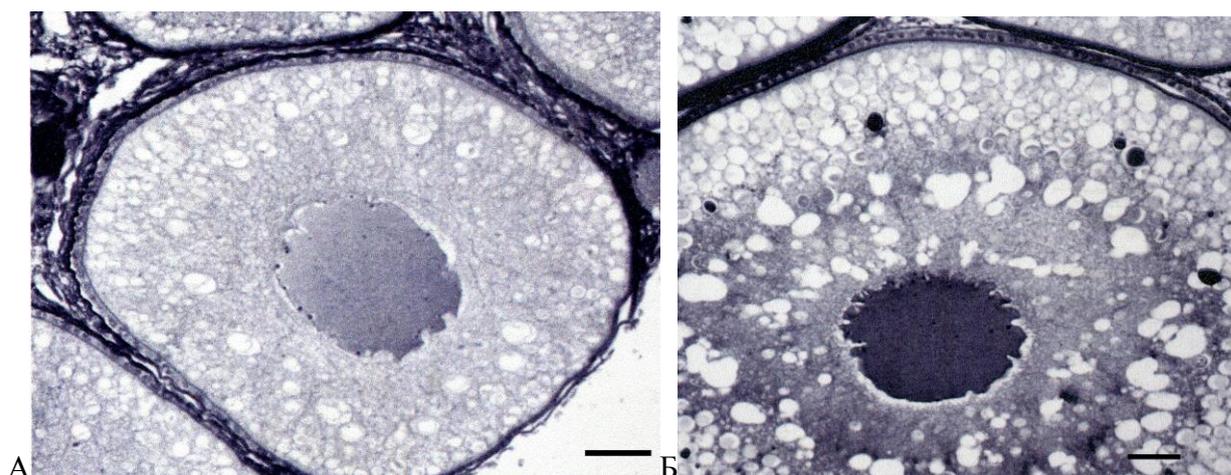
Состояние яичников у самок каспийского лосося, выращенного в течение первого репродуктивного цикла в условиях ФСГЦР «Ропша»

Возраст, мес.	п, экз.	Масса рыб, г	Длина рыб, L, см	Масса гонад, г	Коэффициент зрелости %	Диаметр ооцитов, мкм	Стадия зрелости
10	5	$4,7 \pm 0,3$ 3,9-5,5	$7,7 \pm 0,1$ 7,3-7,9	—	—	—	II
13,5	9	$6,0 \pm 0,7$ 2,9-8,9	$8,4 \pm 0,3$ 6,8-9,3	$0,013 \pm 0,001$ 0,008-0,019	$0,23 \pm 0,02$ 0,16-0,39	$133,1 \pm 1,4$ 110-160	II
16	5	$14,1 \pm 2,5$ 9,3-21,3	$10,4 \pm 0,3$ 9,6-11,2	$0,027 \pm 0,003$ 0,020-0,035	$0,20 \pm 0,02$ 0,17-0,26	$142,8 \pm 2,1$ 110-180	II
19	7	$21,1 \pm 3,4$ 7,9-35,1	$12,4 \pm 0,7$ 9,4-14,3	$0,054 \pm 0,005$ 0,040-0,080	$0,29 \pm 0,04$ 0,18-0,56	$195,6 \pm 2,5$ 145-230	II
21,5	4	$22,1 \pm 3,6$ 12,0-28,7	$12,5 \pm 6,6$ 10,5-13,2	$0,051 \pm 0,005$ 0,039-0,060	$0,24 \pm 0,03$ 0,17-0,32	$205,0 \pm 5,1$ 192-209	II
	3	$78,4 \pm 21,3$ 44-117	$18,7 \pm 1,8$ 15,7-21,9	$0,147 \pm 0,048$ 0,080-0,240	$0,18 \pm 0,01$ 0,16-0,20	$335,0 \pm 26,0$ 290-380	III
25,5	5	$85,0 \pm 9,4$ 70-118	$19,1 \pm 0,7$ 17,8-21,2	$0,16 \pm 0,03$ 0,11-0,28	$0,18 \pm 0,01$ 0,16-0,24	$313,8 \pm 23,7$ 240-455	III
28	4	$63,6 \pm 17,9$ 18-104	$16,9 \pm 1,7$ 12,3-19,7	$0,28 \pm 0,11$ 0,08-0,52	$0,45 \pm 0,11$ 0,16-0,71	$581,5 \pm 101,0$ 260-790	III
31,5	5	$126,0 \pm 25,5$ 64-188	$20,7 \pm 1,3$ 17,4-24,0	$1,00 \pm 0,20$ 0,63-1,72	$0,82 \pm 0,07$ 0,68-0,98	$784,0 \pm 57,6$ 550-1000	III
33,5	7	$147,7 \pm 26,2$ 31-245	$22,8 \pm 1,6$ 14,4-26,9	$1,18 \pm 0,25$ 0,16-2,26	$0,75 \pm 0,05$ 0,52-0,92	$885,3 \pm 13,3$ 760-1020	III
37,5	4	$179,2 \pm 19,3$ 125-212	$24,7 \pm 0,9$ 22,0-26,0	$2,00 \pm 0,32$ 1,4-2,6	$1,11 \pm 0,09$ 0,84-1,24	$1035,5 \pm 64,8$ 800-1230	III
40	6	$184,2 \pm 25,3$ 117-280	$21,7 \pm 1,1$ 18,7-25,2	$2,76 \pm 0,36$ 1,75-3,87	$1,52 \pm 0,10$ 1,20-1,86	$1153,8 \pm 20,7$ 960-1340	III
43	7	$286,8 \pm 29,2$ 142-389	$28,9 \pm 1,0$ 27,5-31,5	$32,5 \pm 3,8$ 13,0-45,4	$11,27 \pm 0,73$ 8,36-14,17	$2611,6 \pm 77,7$ 2000-3250	III
45,5	5	$317,2 \pm 60,4$ 208-454	$28,0 \pm 1,7$ 24,8-32,5	$52,8 \pm 8,6$ 37,3-69,9	$17,02 \pm 0,50$ 15,41-17,93	$4600,0 \pm 2,7$ 3800-4300	IV-3 шт V - 2 шт
49,5	4	$273,7 \pm 27,9$ 218-328	$30,5 \pm 1,1$ 28,6-32,7	$2,2 \pm 0,2$ 1,8-2,6	$0,89 \pm 0,10$ 0,61-1,11	$717,0 \pm 25,0$ 610-845	VI-III
51,5	3	$350,5 \pm 52,6$ 255-436	$30,7 \pm 1,7$ 27,8-33,7	$2,5 \pm 0,5$ 1,8-3,4	$0,73 \pm 0,12$ 0,53-0,94	$1026,4 \pm 23,9$ 825-1200	III

массой тела, величина коэффициента зрелости практически не изменялась. Старшую генерацию половых клеток у всех самок по-прежнему составляли ооциты периода превителлогенеза, диаметр которых в среднем увеличился до 133,1, 142,8 и 195,6 мкм соответственно возрасту (табл. 6.5). У самой крупной 19 месячной особи массой 35,1 г в отдельных ооцитах отметили кортикальные вакуоли, свидетельствующие о начале фазы вакуолизации цитоплазмы.

Гонады самок в возрасте 21,5 мес. были высоко вариабельны. У самых мелких особей массой от 12 до 28,7 г старшую генерацию половых клеток по-прежнему составляли ооциты периода превителлогенеза диаметром в среднем 205,0 мкм. У наиболее крупных рыб массой от 44 до 117 г ооциты старшей генерации вступили в фазу вакуолизации цитоплазмы (рис. 6.9А), а их диаметр оказался значительно больше – в среднем 335,0 мкм. Поскольку ооциты данного состояния выявили у самых крупных рыб, величина коэффициента зрелости у них оказалась даже меньше, чем у рыб только с превителлогенными ооцитами (табл. 6.5).

В возрасте 25,5 мес. ооциты фазы вакуолизации цитоплазмы были выявлены уже у всех исследованных самок, а у рыб в возрасте 28 мес. в цитоплазме ооцитов старшей генерации уже присутствовали гранулы желтка (рис. 6.9Б). С появлением желточных гранул повысился коэффициент зрелости, т.е. увеличение массы гонад начало опережать увеличение массы тела.



**Рис. 6.9.** Состояние ооцитов старшей генерации у самок каспийского лосося в фазе вакуолизации цитоплазмы в возрасте 25,5 мес. (А) и начала периода вителлогенеза в возрасте 28 мес. (Б). Шкала = 50 мкм.

В дальнейшем у рыб в возрасте от 31,5 до 40 мес. наблюдали последовательный рост и развитие ооцитов периода вителлогенеза. В течение этого 9-месячного периода параметры, характеризующие состояние гонад, увеличились незначительно: масса гонад – до 2,76 г, величина коэффициента зрелости до 1,52%, а диаметр ооцитов до 1153,8 мкм (табл. 6.5). Более значительные изменения репродуктивных показателей произошли в течение следующих трёх месяцев – в возрасте от 40 до 43 мес. В течение этого периода масса гонад увеличилась в 12 раз, в среднем до 32,5 г, величина коэффициента зрелости – в 7,5 раз до 11,27% и диаметр ооцитов – в 2,3 раза до 2611,6 мкм. Такой быстрый рост ооцитов явно свидетельствовал о скором завершении периода вителлогенеза. Действительно, половое созревание самок произошло к возрасту 45,5 мес. У двух особей к этому сроку уже осуществилась овуляция и вся масса икры находилась в полости тела. Еще у трёх самок гонады находились в IV стадии зрелости. Величина коэффициента зрелости у всех рыб (в среднем – 17,02%) была наибольшей, а диаметр ооцитов и овулированных икринок варьировал в диапазоне от 3800 до 4300 мкм. О том, что к этому возрасту произошло созревание всех самок, свидетельствовало и состояние рыб, исследованных позже, в возрасте 49,5 и 51,5 мес.

Так, в возрасте 49,5 мес. состояние гонад всех самок соответствовало VI-III стадии зрелости. В полости тела ещё оставались овулированные икринки от 15 до 116 шт. В гонадах можно было видеть массу лопнувших фолликулов и резорбцию редких невыметанных ооцитов. Старшая генерация развивающихся ооцитов находилась в фазе вакуолизации цитоплазмы. Их диаметр варьировал от 610 до 845 мкм, в среднем составив 717,0 мкм (табл. 6.5). Величина коэффициента зрелости – 0,89% – соответствовала таковой у лососёвых рыб с ооцитами начала периода вителлогенеза. К возрасту 51,5 мес. процесс резорбции невыметанных икринок в основном завершился, хотя местами ещё встречались скопления соединительной ткани и крупные расширенные кровеносные сосуды, свидетельствующие о недавней активности репарационных процессов в гонадах. В ооцитах старшей генерации, помимо жировых вакуолей, уже присутствовали желточные гранулы. Диаметр ооцитов в среднем увеличился до 1026,4 мкм (табл. 6.5).

У самцов в возрасте 10 и 13,5 мес. масса тела в среднем была такой же, как и у самок (табл. 6.6). В семенниках всех исследованных рыб присутствовали только гонии, число которых постепенно увеличивалось в результате митотических делений. Качественные различия в состоянии семенников у разных рыб выявили в возрасте 16 мес. У семи особей отметили начало формирования семенных канальцев, но фонд половых

Таблица 6.6

Состояние семенников у самцов каспийского лосося, выращенного в течение первого репродуктивного цикла в условиях ФСГЦР «Ропша»

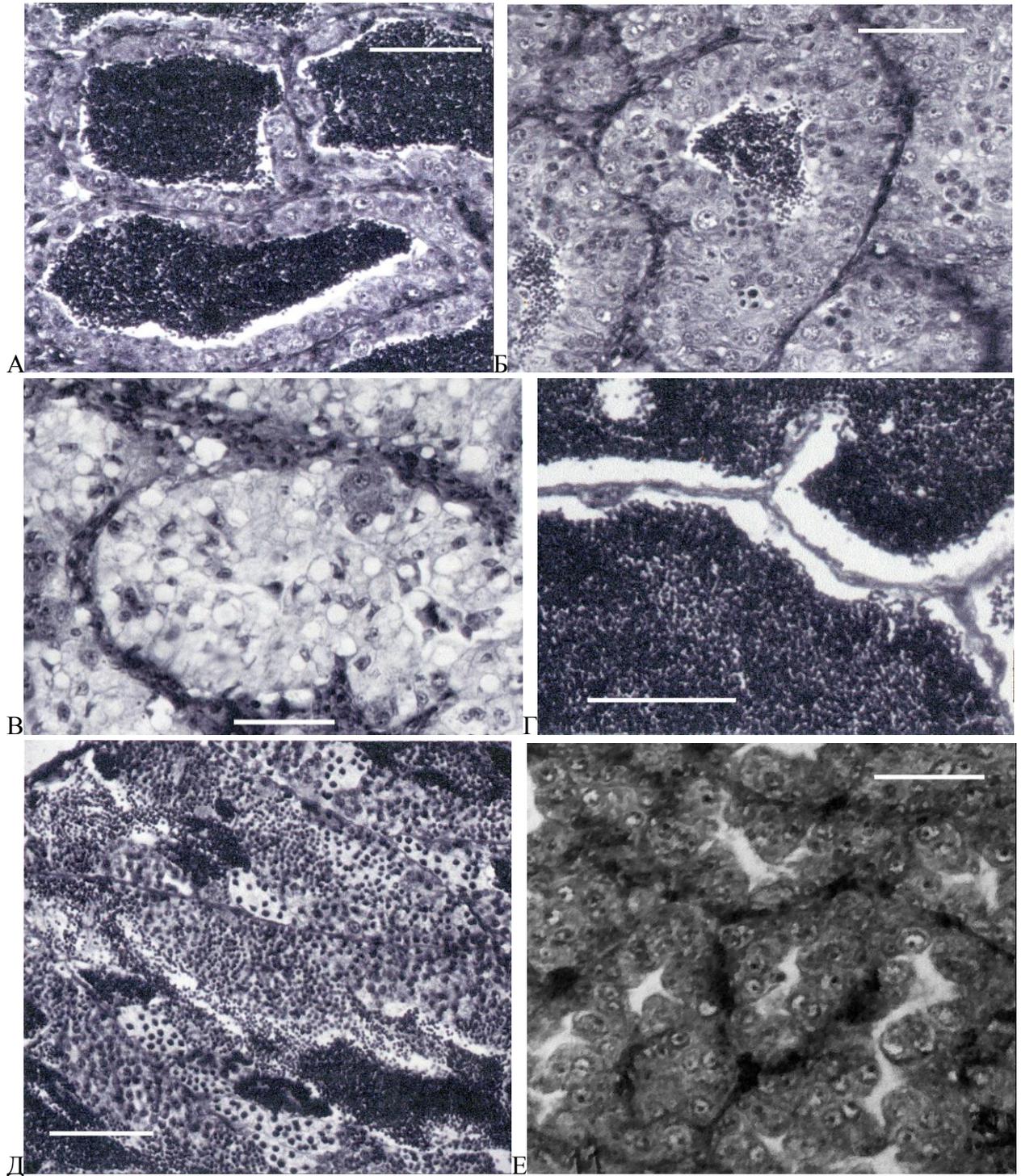
Возраст, мес.	п, экз.	Масса рыб, г	Длина рыб, L, см	Масса гонад, г	Коэффициент зрелости %	Стадия зрелости
10	7	$\frac{4,7 \pm 0,3}{3,6-5,9}$	$\frac{7,77 \pm 0,17}{7,2-8,5}$	—	—	II
13,5	5	$\frac{6,0 \pm 0,8}{3,9-8,8}$	$\frac{8,34 \pm 0,37}{7,4-9,5}$	$\frac{0,043 \pm 0,001}{0,017-0,080}$	$\frac{0,71 \pm 0,11}{0,38-0,94}$	II
16	10	$\frac{17,1 \pm 2,4}{8,1-30,5}$	$\frac{11,3 \pm 0,5}{9,2-14,0}$	$\frac{0,232 \pm 0,055}{0,076-0,512}$	$\frac{1,35 \pm 0,19}{0,49-1,88}$	II-7 шт III-3 шт
19	5	$\frac{26,5 \pm 3,2}{16,6-33,5}$	$\frac{14,3 \pm 0,5}{115-143}$	$\frac{0,230 \pm 0,039}{0,160-0,380}$	$\frac{0,87 \pm 0,09}{0,58-1,13}$	II
	3	$\frac{49,4 \pm 6,2}{40,0-61,1}$	$\frac{16,1 \pm 0,3}{15,2-17,0}$	$\frac{2,733 \pm 0,972}{0,800-3,880}$	$\frac{5,28 \pm 1,67}{2,00-7,49}$	III
21,5	5	$\frac{30,4 \pm 8,9}{14,1-61,2}$	$\frac{13,5 \pm 1,2}{11,0-17,6}$	$\frac{0,19 \pm 0,06}{0,09-0,41}$	$\frac{0,76 \pm 0,18}{0,16-1,13}$	II
	2	33,8-72,6	14,1-18,3	0,68-1,60	2,01-2,20	III
	1	69	17,8	14,0	20,29	V
25,5	10	$\frac{93,9 \pm 12,1}{53-183}$	$\frac{19,3 \pm 0,7}{16,5-24,4}$	$\frac{0,32 \pm 0,05}{0,11-0,61}$	$\frac{0,34 \pm 0,04}{0,16-0,53}$	II-2 шт VI-II-8 шт
28	11	$\frac{122,8 \pm 25,0}{23-316}$	$\frac{20,4 \pm 1,3}{12,8-28,4}$	$\frac{5,31 \pm 1,19}{1,10-14,64}$	$\frac{4,36 \pm 0,53}{2,29-6,26}$	III
31,5	10	$\frac{149,8 \pm 12,2}{81-208}$	$\frac{21,9 \pm 0,6}{17,9-25,0}$	$\frac{6,96 \pm 0,97}{2,24-10,86}$	$\frac{4,50 \pm 0,44}{2,76-7,53}$	III
33,5	9	$\frac{136,7 \pm 12,9}{94-206}$	$\frac{22,8 \pm 0,8}{20,6-26,4}$	$\frac{4,62 \pm 0,60}{2,74-7,70}$	$\frac{3,34 \pm 0,22}{2,58-4,42}$	III
37,5	11	$\frac{151,5 \pm 10,7}{115-204}$	$\frac{22,9 \pm 1,1}{20,5-26,5}$	$\frac{0,84 \pm 0,12}{0,40-1,80}$	$\frac{0,55 \pm 0,06}{0,32-0,89}$	VI-II
40	9	$\frac{187,1 \pm 31,0}{93-338}$	$\frac{21,4 \pm 1,3}{16,8-26,9}$	$\frac{1,32 \pm 0,30}{0,56-3,30}$	$\frac{0,72 \pm 0,11}{0,39-1,26}$	III
43	8	$\frac{347,5 \pm 49,8}{150-503}$	$\frac{30,1 \pm 1,5}{23,5-34,5}$	$\frac{29,40 \pm 4,42}{11,2-42,8}$	$\frac{8,42 \pm 0,54}{6,01-10,93}$	III
45,5	5	$\frac{263,7 \pm 56,0}{128-429}$	$\frac{25,9 \pm 1,7}{20,8-30,2}$	$\frac{10,84 \pm 2,14}{4,40-17,00}$	$\frac{4,34 \pm 0,67}{2,33-6,21}$	III-1 шт V-4 шт
49,5	1	195	26,2	0,20	0,10	II
	5	$\frac{348,5 \pm 35,4}{262-420}$	$\frac{31,1 \pm 2,6}{28,6-42,0}$	$\frac{6,78 \pm 1,21}{2,7-10,2}$	$\frac{1,91 \pm 0,26}{1,03-2,49}$	V
51,5	7	$\frac{424,7 \pm 36,2}{305-578}$	$\frac{32,1 \pm 1,1}{28,3-36,8}$	$\frac{3,74 \pm 0,92}{2,10-8,10}$	$\frac{0,95 \pm 0,37}{0,50-2,65}$	III

клеток по-прежнему составляли только гонии. У трёх рыб наблюдали волну активного сперматогенеза; в их семенниках присутствовали сперматоциты. Вместе с тем, масса гонад – у рыб первой группы от 0,096 до 0,198 г и у рыб второй группы – от 0,266 до 0,512 г – различалась ещё не существенно, поэтому данные по особям обеих групп в таблице объединили (табл. 6.6).

В возрасте 19 мес. состояние семенников у разных рыб различалось более существенно. У пяти самых мелких самцов массой от 16,6 до 33,5 г фонд половых клеток по-прежнему составили только сперматогонии. У трёх самых крупных рыб в этом возрасте массой 40,0, 47,0 и 61,1 г масса гонад составила 0,80, 3,52 и 3,88 г, соответственно, а в семенниках присутствовали клетки разных состояний – от сперматогоний типа А до сперматид включительно. И, наконец, максимальные различия в состоянии семенников у разных особей были выявлены в возрасте 21,5 мес. У пяти рыб с очень различной массой тела – от 14,1 до 61,5 г – фонд половых клеток был представлен гониями. Ещё у двух рыб с массой – 33,8 и 72,6 г в гонадах отметили все половые клетки до зрелых спермиев. Состояние гонад ещё одного самца соответствовало V стадии зрелости. При массе рыбы 69 г масса его семенников составила 14 г, а величина коэффициента зрелости – 20,3%. Эти значения могли быть больше, но часть спермы вытекла в ходе препарирования гонад и фиксации.

В возрасте 25,5 мес. у двух рыб в семенниках по-прежнему присутствовали только гонии. Гистологические картины семенников остальных самцов свидетельствовали о том, что все они к этому возрасту достигли половой зрелости; в их гонадах одновременно наблюдали разные этапы процесса резорбции масс спермиев (рис. 6.10А, Б) и размножение гониев. Резорбция «старых» спермиев, хорошо известная в научной литературе (Макеенко, 2010), происходила благодаря деятельности фолликулярных клеток. Кроме этого, у всех самцов присутствовали пузыревидные клетки (рис. 6.10В), характеризующиеся наличием большой вакуоли, отесняющей к одному из краёв клетки её ядро, и узкий слой цитоплазмы.

К возрасту 28 мес. резорбция спермиев предыдущего срока созревания завершилась, и следов деструктивных процессов в гонадах не наблюдали. Интересно отметить, что масса рыб в этом возрасте оказалась весьма различной: от 23 до 316 г, однако состояние семенников у всех особей было практически одинаковым – в гонадах присутствовали половые клетки всех состояний, от сперматогониев до зрелых спермиев. В результате масса гонад за последние 2,5 мес. увеличилась в 16,5 раз, в среднем до 5,31 г,



**Рис. 6.10.** Состояние семенников у самцов каспийского лосося в возрасте 25 (А, Б, В), 33,5 (Г, Д) и 49,5 мес. (Е). Расположение гониев в стенках семенных канальцев в 1 (А) или 2-3 ряда (Б) при различном объеме спермы при ее резорбции. Пузыревидные клетки (В). Различное количество зрелых спермиев (Г, Д) у одновозрастных рыб. Гонады во II стадии зрелости (Е). Шкала = 50 мкм.

а величина коэффициента зрелости в 12,8 раза – до 4,36% (табл. 6.6). У рыб в возрасте 31,5 и 33,5 мес. репродуктивные показатели были практически такими же, как и у рыб в возрасте 28 мес. В семенниках присутствовали все половые клетки: от гониев до зрелых спермиев; при надавливании на брюшко и извлечении семенников часть спермы вытекала. Такое состояние определяется как поздняя III стадия. Впрочем, следует подчеркнуть, что состояние семенников у отдельных рыб могло различаться весьма существенно – у одних практически всю площадь гонад на срезах занимала масса зрелых спермиев, тогда как у других преобладали клетки на более ранних этапах сперматогенеза (рис. 6.10Г, Д). В возрасте 33,5 мес. вновь наблюдали ранее описанные начальные этапы резорбции спермиев.

В дальнейшем мы проследили за резорбцией массы спермы у рыб до возраста 37,5–40 мес., новое половое созревание к возрасту 45,5 мес., когда масса гонад – в среднем 29,4 г и коэффициент зрелости – 8,42% были наиболее значительными (табл. 6.6) и вновь уменьшение этих показателей – до 3,74 г и 0,97% у рыб в возрасте 51,5 мес. В возрасте 49,5 мес. обнаружили самца, гистологическая организация ткани семенника которого, в частности, расширенные семенные каналы (рис. 6.10Е), позволили предположить, что ранее он уже достигал полового созревания и пропускал очередной репродуктивный цикл. Это хорошо известно для лососёвых рыб, в том числе и для каспийского лосося (Тамарина, 1985).

Суммируя полученные данные, мы можем заключить, что у самок каспийского лосося в ходе первого полового созревания период превителлогенного роста ооцитов ориентировочно продлился до возраста 19-20 мес., а период вителлогенеза – до возраста 45 мес., когда впервые выявили рыб, достигших половой зрелости. У самцов мы два или три раза наблюдали половое созревание и процесс резорбции массы спермиев в семенниках в возрасте около 21,5, 35,5 и 45,5 мес.

Оценивая оогенез каспийской лосося, мы можем заключить, что его темп оказался таким же, как и у рыб в условиях естественного ареала, но в том случае, если рассматривать наиболее скороспелых природных особей. Ведь если в условиях селекционно-генетического центра переход из II в III стадию зрелости в возрасте 1+ – 2 года наблюдали у всех самок, то на рыболовных заводах Азербайджана (Мурза, 1980) или Кабардино-Балкарии (Мурза, Тамарина, 1981; Тамарина, 1985) это происходило у части особей. Понятно, что и половое созревание самок каспийского лосося популяции реки Терек осуществляется в возрасте 3–5 лет (Державин, 1941; Тамарин, 1985), хотя на фоне

гидростроительства в послевоенные годы и наметилось омоложение стада (Тамарин, 1985). Таким образом, достижение полового созревания у самок каспийского лосося исходно терского происхождения в возрасте 3+ является очень быстрым для данной формы.

Интересным является также одновременное половое созревание у самок лосося. Ранее, работая с радужной форелью, мы установили, что только наиболее благоприятные условия содержания обеспечивают одновременное половое созревание рыб одного поколения.

Говоря о возрасте полового созревания самцов, в первую очередь вспомним, что каспийский лосось, обитая в центре происхождения всей группы благородных лососей, (Пипоян, 2012) даже в пределах своего вида отличается наиболее сложной популяционной организацией (Дорофеева, 1998; Якимов, 2002), где ручьевые и озёрные форели, а также проходные экземпляры есть только формы одного вида, которому присущи все переходы (Магомедов, 2002). Его отличительной особенностью является значительное преобладание самок – 80-90% среди проходных особей, тогда как большинство самцов достигает полового созревания, не выходя в морскую воду (Державин, 1941; Якимов, 2002). В свою очередь, именно в стаде реки Терек, по сравнению с другими каспийскими популяциями лосося, наблюдается максимальный дефицит мужских особей как среди мигрирующей в море молодежи – 6–9%, так и среди проходных производителей – 5,4% (Лукьянов, Тамарин, 1990).

Как мы знаем, самцов проходных лососей, созревающих в пресной воде, называют карликовыми, в том числе и применительно к каспийскому лосося (Протасов, Козлова, 1957). Показано, что доля жилых особей в популяциях лосося может увеличиваться со временем (Павлов и др., 2017), поскольку сама эта форма формируется изначально доминантными особями (Павлов и др., 2012).

Известно, что первоначально темп роста карликовых самцов может быть как ниже, например, у атлантического лосося (Христофоров, Мурза, 2005) или кумжи (Павлов и др., 2012), так и значительно выше, например, у мальмы (Груздева и др., 2017) или симы (Погодин и др., 2019), чем у будущих проходных особей. Но в любом случае карликовыми самцы становятся, оставаясь в пресной воде, где темп их роста оказывается замедленным по сравнению с темпом роста рыб, нагуливающих в морской среде. Однако совсем другая картина выявляется при выращивании рыб в одинаковых условиях при исключении возможности выйти в морскую среду. Выращивая в одинаковых условиях

каспийского лосося, у которого в природной популяции практически все мужские особи представлены карликовыми самцами, мы среди 124 рыб не выявили ни одного самца, подходящего под определение карликового (Берг, 1937). На протяжении всего периода выращивания темп роста самок и самцов оставался сходным. Учитывая этот факт, исследованных нами самцов, очевидно, можно назвать скороспелыми, но название «карликовый» применительно к ним оказывается формально неправильным.

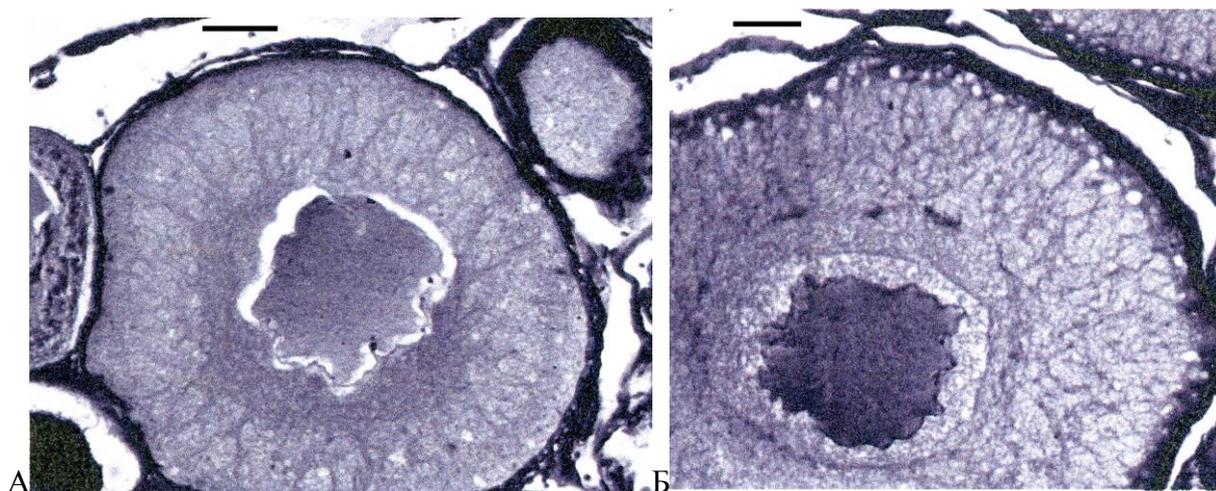
По совокупности полученных фактов и высказанных соображений мы можем сделать следующее заключение. У каспийского лосося при выращивании в условиях селекционно-генетического центра рыбоводства «Ропша» сохранились видовые особенности развития гонад, присущие ему в естественном ареале. При этом как самки, так и самцы достигали полового созревания при сравнительно небольшой массе, как это и характерно для лососёвых рыб при исключении морского периода жизни. Неожиданным представляется сравнительно высокий темп оогенеза у каспийского лосося и половое созревание самок в возрасте 3+, а также специфика развития самцов, созревших в более раннем возрасте.

Рассматривая практическое использование полученных данных, отметим, что при выраженном снижении рыбопродуктивности в каспийском регионе в связи с водопользованием (Абдусаматов, 2004; Гуссейнов и др., 2015) и дефиците производителей каспийского лосося для рыбоводных целей (Студенцова и др., 2006), формирование его маточного стада может быть одним из решений для бесперебойного воспроизводства молоди. Можно предполагать, что при создании маточных стад этого вида в пределах его естественного ареала, темп полового созревания рыб будет столь же высоким, даже если в ходе выращивания у каспийского лосося, как и у родственного ему черноморского, будет наблюдаться разный темп гаметогенеза у потенциально резидентных и проходных форм (Павлов и др., 2014). В целом, применительно именно к каспийскому лососю, наличие жилых форм представляется не минусом, снижающим эффективность рыбоводного усилия, а плюсом. Ведь каспийский лосось из объекта промысла (Державин, 1941) превратилась в редкий и особо охраняемый вид, занесенный в красную книгу всех прикаспийских стран, на территории которых он встречается (Красная книга Астраханской области, 2014). Ясно, что при его воспроизводстве в настоящее время речь идёт не о пополнении промыслового стада, а сохранении вида во всех его разнообразных формах и, в первую очередь, о реинтродукции лосося в те реки, где его популяции оказались утраченными.

### 6.3. Гаметогенез атлантического лосося онежской популяции

Исследование гонад у самок и самцов атлантического лосося онежской популяции (далее онежский лосось) начали в возрасте 8,5 мес. В этом возрасте масса самок варьировала в диапазоне от 5,5 до 21,0 г, в среднем составив 10,5 г (табл. 6.7). Фонд половых клеток был представлен оогониями, ооцитами периодов ранней профазы мейоза и превителлогенеза; диаметр наиболее крупных ооцитов составлял 50-60 мкм.

В дальнейшем, в возрасте с 12 до 38,5 мес. качественных изменений в развитии гонад у самок онежского лосося не наблюдали. За эти 30 мес. сделали 9 фиксаций и исследовали яичники 73 самок. Масса рыб за этот период увеличилась в среднем до 266,1 г. Масса яичников увеличивалась пропорционально массе тела и поэтому величина коэффициента зрелости на протяжении всего этого срока не изменилась (табл. 6.7). В каждом возрасте старшую генерацию половых клеток составляли ооциты периода превителлогенеза, диаметр которых в среднем увеличился до 330,2 мкм. Элементы циркумнуклеарного комплекса постепенно сместились к периферии ооцитов и перестали выделяться при окраске. Такое состояние (рис. 6.11А) свидетельствовало о завершении превителлогенного развития ооцитов и о скором переходе их в фазу вакуолизации цитоплазмы.



**Рис. 6.11.** Состояние ооцитов старшей генерации у самок онежского лосося: завершение периода превителлогенеза в возрасте 38,5 (А) и появление кортикальных альвеол в возрасте 41,5 мес. (Б). Шкала = 50 мкм.

Таблица 6.7.

Состояние яичников у самок онежского лосося, выращенного в течение первого репродуктивного цикла в условиях ФСГЦР «Ропша»

Возраст, мес.	п, экз.	Масса рыб, г	Длина рыб, L, см	Масса гонад, г	Коэффициент зрелости %	Диаметр ооцитов, мкм	Стадия зрелости
8,5	12	$\frac{10,5 \pm 1,3}{5,5-21,0}$	$\frac{9,8 \pm 0,4}{7,8-12,7}$	—	—	—	II
12	9	$\frac{19,2 \pm 3,3}{5,9-35,6}$	$\frac{12,0 \pm 0,8}{8,4-13,1}$	$\frac{0,031 \pm 0,003}{0,014-0,051}$	$\frac{0,18 \pm 0,01}{0,13-0,24}$	$\frac{145,0 \pm 2,2}{125-155}$	II
14,5	6	$\frac{19,1 \pm 3,0}{15,2-34,1}$	$\frac{10,9 \pm 0,6}{9,9-13,6}$	$\frac{0,033 \pm 0,003}{0,023-0,043}$	$\frac{0,18 \pm 0,02}{0,13-0,24}$	$\frac{160,0 \pm 1,2}{150-165}$	II
17,5	9	$\frac{57,7 \pm 6,1}{12,4-73,3}$	$\frac{17,0 \pm 0,8}{10,8-18,6}$	$\frac{0,082 \pm 0,008}{0,040-0,120}$	$\frac{0,16 \pm 0,02}{0,10-0,32}$	$\frac{163,2 \pm 1,7}{135-195}$	II
20	10	$\frac{123,2 \pm 8,3}{87-178}$	$\frac{21,9 \pm 0,6}{19,5-25,7}$	$\frac{0,16 \pm 0,01}{0,12-0,22}$	$\frac{0,13 \pm 0,01}{0,08-0,20}$	$\frac{193,3 \pm 1,6}{170-220}$	II
24	11	$\frac{150,9 \pm 12,5}{96-240}$	$\frac{23,3 \pm 0,6}{20,4-27,2}$	$\frac{0,21 \pm 0,01}{0,16-0,29}$	$\frac{0,14 \pm 0,01}{0,12-0,17}$	$\frac{202,4 \pm 1,4}{165-255}$	II
26,5	7	$\frac{187,6 \pm 12,1}{136-218}$	$\frac{25,2 \pm 0,5}{22,8-26,5}$	$\frac{0,30 \pm 0,03}{0,19-0,46}$	$\frac{0,16 \pm 0,01}{0,13-0,21}$	$\frac{223,1 \pm 2,1}{195-270}$	II
30	8	$\frac{172,9 \pm 6,8}{155-212}$	$\frac{23,7 \pm 0,3}{22,4-24,9}$	$\frac{0,32 \pm 0,01}{0,29-0,38}$	$\frac{0,19 \pm 0,01}{0,16-0,21}$	$\frac{270,7 \pm 3,2}{250-310}$	II
36	6	$\frac{191,8 \pm 6,2}{177-219}$	$\frac{26,7 \pm 0,2}{26,0-27,5}$	$\frac{0,46 \pm 0,04}{0,37-0,59}$	$\frac{0,24 \pm 0,02}{0,19-0,30}$	$\frac{269,6 \pm 3,8}{200-350}$	II
38,5	7	$\frac{266,1 \pm 24,0}{160-327}$	$\frac{26,4 \pm 0,9}{22,3-28,5}$	$\frac{0,58 \pm 0,05}{0,40-0,81}$	$\frac{0,22 \pm 0,02}{0,18-0,28}$	$\frac{330,2 \pm 8,0}{270-440}$	II
41,5	7	$\frac{598,2 \pm 35,9}{492-733}$	$\frac{36,2 \pm 0,6}{34,3-38,5}$	$\frac{1,41 \pm 0,14}{0,90-2,00}$	$\frac{0,23 \pm 0,02}{0,18-0,32}$	$\frac{432,1 \pm 7,72}{345-690}$	III
53,5	4	$\frac{718,2 \pm 98,3}{545-914}$	$\frac{39,4 \pm 1,7}{36,4-42,5}$	$\frac{3,32 \pm 0,79}{1,9-5,1}$	$\frac{0,44 \pm 0,05}{0,34-0,56}$	$\frac{649,2 \pm 94,7}{400-1014}$	III
	6	$\frac{1072,5 \pm 57,0}{901-1217}$	$\frac{43,9 \pm 0,6}{42,2-45,9}$	$\frac{200,6 \pm 13,3}{148,1-230,1}$	$\frac{18,69 \pm 0,71}{17,12-20,61}$	$\frac{6900 \pm 51,0}{6700-7100}$	V

Качественные изменения отметили у рыб в возрасте 41,5 мес. Масса рыб к этому возрасту увеличилась более чем в два раза. И хотя величина коэффициента зрелости не изменилась, в ооцитах старшей генерации выявили кортикальные альвеолы (рис. 6.11Б). С переходом к качественно новому состоянию диаметр ооцитов в среднем увеличился до 432,1 мкм (табл. 6.7).

Последнюю фиксацию сделали незадолго до предполагаемого полового созревания самок онежского лосося в возрасте 53,5 мес. Состояние одновозрастных рыб в этом возрасте принципиально различалось. У 4-х наиболее мелких самок массой от 545 до 914 г старшую генерацию половых клеток составляли ооциты начала периода вителлогенеза диаметром от 400 до 1014 мкм. В отличие от них, шесть более крупных самок массой от 901 до 1217 г достигли в этом возрасте полового созревания. Масса их гонад в среднем составила 200,6 г, величина коэффициента зрелости 17,12%, а диаметр ооцитов – 6900 мкм (табл. 6.7).

Масса самцов онежского лосося в возрасте 8,5 мес. была такой же, как у самок, в среднем – 10,6 г (табл. 6.8). Гонады у всех особей находились в 1 стадии зрелости, на срезах семенников присутствовали немногочисленные гонии.

В дальнейшем, в возрасте 12, 14,5, 17,5, 20, 24, 26,5, 30 и 36 мес. качественных изменений в развитии гонад у самцов онежского лосося, как и у самок, не наблюдали. Фонд половых клеток был представлен только сперматогониями, число которых постепенно увеличивалось; в результате масса гонад возросла в среднем с 4 до 120 мг. Однако ни формирования семенных канальцев, ни мейотических преобразований в семенниках не отметили.

Лишь у рыб в возрасте 38,5 мес. выявили качественно различное состояние семенников. У шести рыб массой от 194 до 367 г масса гонад от 0,07 до 0,11 г была незначительной, а фонд половых клеток по-прежнему был представлен только гониями. У двух других особей массой 298 и 358 г гонады массой 2,47 г и 6,55 г находились в III ранней стадии зрелости, а в семенниках присутствовали клетки различного состояния – от гониев до немногочисленных сперматид.

К возрасту 41,5 мес. масса рыб заметно возросла – в среднем до 409,4 г (табл. 6.8). Однако в семенниках всех исследованных рыб половые клетки вновь были представлены только гониями.

К возрасту 53,5 мес. масса рыб увеличилась до 753,6 г (табл. 6.8). У всех самцов семенники, масса которых в среднем оставила 32,2 г, находились в IV стадии зрелости. Они были молочно-белого цвета, при их разрезе края оплывали. Семяпроводы были расширены и заполнены спермой, которая при извлечении гонад частично вытекала.

Таблица 6.8.

Состояние семенников у самцов онежского лосося, выращенного в течение первого репродуктивного цикла в условиях ФСГЦР «Ропша»

Возраст, мес.	п, экз.	Масса рыб, г	Длина рыб, L, см	Масса гонад, г	Коэффициент зрелости %	Стадия зрелости
8,5	3	$\frac{10,6 \pm 0,8}{9,8-12,2}$	$\frac{10,0 \pm 0,2}{9,3-10,5}$	–	–	I
12	6	$\frac{22,2 \pm 3,4}{8,7-33,3}$	$\frac{12,7 \pm 0,7}{9,6-14,6}$	$\frac{0,004 \pm 0,001}{0,009-0,033}$	$\frac{0,020 \pm 0,002}{0,16-0,030}$	I
14,5	9	$\frac{24,2 \pm 3,4}{16,8-44,5}$	$\frac{11,8 \pm 0,5}{10,8-14,4}$	–	–	I
17,5	6	$\frac{49,8 \pm 7,1}{27,3-69,8}$	$\frac{16,4 \pm 0,7}{13,6-18,2}$	$\frac{0,014 \pm 0,002}{0,008-0,022}$	$\frac{0,029 \pm 0,003}{0,021-0,40}$	I
20	5	$\frac{129,0 \pm 17,5}{90-193}$	$\frac{22,2 \pm 0,9}{19,8-25,3}$	$\frac{0,032 \pm 0,006}{0,018-0,055}$	$\frac{0,022 \pm 0,002}{0,02-0,03}$	I
24	4	$\frac{145,5 \pm 15,9}{111-185}$	$\frac{23,0 \pm 0,8}{21,2-25,1}$	$\frac{0,038 \pm 0,005}{0,03-0,05}$	$\frac{0,025 \pm 0,003}{0,02-0,03}$	I
26,5	8	$\frac{158,5 \pm 21,5}{49-237}$	$\frac{23,7 \pm 1,2}{16,2-27,3}$	$\frac{0,067 \pm 0,019}{0,021-0,082}$	$\frac{0,040 \pm 0,007}{0,020-0,082}$	I
30	7	$\frac{160,9 \pm 22,9}{66-209}$	$\frac{22,8 \pm 1,3}{17,4-25,5}$	$\frac{0,047 \pm 0,009}{0,02-0,08}$	$\frac{0,028 \pm 0,003}{0,017-0,039}$	I
36	10	$\frac{192,9 \pm 11,9}{128-255}$	$\frac{26,7 \pm 0,6}{22,9-29,8}$	$\frac{0,12 \pm 0,02}{0,05-0,24}$	$\frac{0,058 \pm 0,009}{0,03-0,11}$	I
38,5	6	$\frac{257,3 \pm 24,8}{194-367}$	$\frac{25,9 \pm 0,8}{24,0-29,3}$	$\frac{0,095 \pm 0,007}{0,07-0,11}$	$\frac{0,037 \pm 0,003}{0,03-0,05}$	II
	2	298-358	25,5-27,2	2,47-6,55	0,83-1,83	III
41,5	5	$\frac{409,4 \pm 52,9}{305-594}$	$\frac{32,4 \pm 1,2}{29,8-36,5}$	$\frac{0,24 \pm 0,06}{0,13-0,46}$	$\frac{0,06 \pm 0,006}{0,04-0,08}$	II
53,5	5	$\frac{753,6 \pm 44,3}{622-875}$	$\frac{41,2 \pm 0,9}{38,6-43,5}$	$\frac{32,22 \pm 2,03}{28,90-40,00}$	$\frac{4,40 \pm 0,55}{3,30-6,43}$	IV

Обобщая полученные данные, мы, в первую очередь, можем заключить, что самки и самцы онежского лосося, также как и каспийского лосося, достигали полового созревания при сравнительно небольших размерах, что в принципе известно для разных видов лососевых рыб при исключении морского периода развития, в том числе при создании маточных стад (Дихнич, 2004; Мурза, Христофоров, 2010). При этом темп роста у онежского лосося был значительно выше, чем у каспийского. Так, в возрасте 8,5 мес.

самки и самцы онежского лосося были в два раза, а в возрасте 12 мес. в три раза крупнее, чем особи каспийского лосося обоего пола в возрасте 10 и 13,5 мес. соответственно. И в дальнейшем масса, как самок, так и самцов онежского лосося всегда была выше. Можно полагать, что условия ФСГЦР «Ропша» более подходят для содержания северной популяции онежского лосося, чем каспийского, естественный ареал которого расположен значительно южнее. Вряд ли разный темп роста отражает видовые различия, ведь проходные производители каспийского лосося существенно крупнее производителей онежского.

Онежский лосось в условиях холодноводного предприятия сохранил специфику и темп полового развития. И хотя нам неизвестны данные по гаметогенезу этой формы, показано, что среди созревающих самок производителей ладожского лосося в естественной среде значительно преобладают особи в возрасте 4+ (Мурза, Христофоров, 2017). При этом как среди самок, так и среди самцов произошло естественное для этого вида подразделение на рыб, достигающих полового созревания в разном возрасте. А темп полового созревания тех и других был таким же, как и у самок и самцов атлантического лосося популяции реки Наровы при создании его маточного стада в ФСГЦР «Ропша» (Дихнич, 2004)

#### **6.4. Заключение**

Полученные данные позволяют прийти к выводу, что выращивание радужной форели при температуре 15-17°C оказалось наиболее благоприятным для темпа ее гаметогенеза. Об этом в первую очередь свидетельствовал тот факт, что половое созревание практически всех особей осуществилось одновременно и, предположительно, в максимально короткий срок.

В отличие от этого, темп развития гонад у одновозрастных самок форели при температуре около 19-20°C существенно различался, в результате чего, начиная с возраста, по крайней мере, 14 мес. подопытная группа подразделялась на самок, созревание которых должно было произойти в разном возрасте. В возрасте 21-22 мес. должны были достичь полового созревания около 31% от общего числа самок. Переход яичников из II в III стадию зрелости осуществлялся как у наиболее мелких, так и у крупных особей. При этом в каждом возрасте (14, 17 и 22 мес.) масса самок, имеющих более развитые гонады, в среднем была меньше, чем у рыб с менее развитыми яичниками.

Волна «активного сперматогенеза», как и ожидалось, у подопытных рыб началась в возрасте до 8 мес. Затем доля рыб, в гонадах которых мы наблюдали клетки в состоянии мейоза, увеличивалась, как увеличивалась и доля семенниковой ткани, занятая более зрелыми половыми клетками. Далее, в период с 14 до 19 мес. мы фактически не встречали рыб с гонадами во II стадии зрелости, однако отметили резорбцию массы половых клеток, особенно зрелых спермиев. Наконец, в возрасте 22 мес. среди исследованных рыб вновь были выявлены самцы, у которых фонд половых клеток был представлен только гониями. Самцов, достигших полового созревания, с гонадами V стадии зрелости ни в одном возрасте не обнаружили.

Сравнивая гаметогенез каспийского и онежского лососей, мы можем заключить, что его темп у двух форм близкородственных видов также принципиально различался, как у самок, так и у самцов. И эти различия оказались особенно наглядными при выращивании рыб двух видов в сходных условиях. Так, у самок каспийского лосося в ходе полового созревания период превителлогенеза ориентировочно продлился до 19-20 мес., а период вителлогенеза – до 45 мес., когда впервые выявили рыб, достигших полового созревания. У самок онежского лосося период превителлогенеза продлился до 40 мес., т.е. в два раза дольше, а период вителлогенеза – до 53 мес., т.е. в два раза меньше, чем у самок каспийского. При этом следует особо подчеркнуть, что половое созревание самок каспийского лосося, как и самок форели при температуре 15-17°C, осуществлялось одновременно, а самок онежского лосося, как и самок форели при температуре 19-20°C, в разном возрасте.

У самцов каспийского лосося мы два или три раза наблюдали половое созревание и процесс ликвидации массы спермиев в семенниках в возрасте около 21,5, 35,5 и 45,5 мес. У самцов онежского лосося отдельные особи достигли полового созревания в возрасте около 40 мес. и все рыбы – в возрасте 53,5 мес. одновременно с созреванием части самок. Полученные данные дают основание полагать, что для каждого вида лососевых рыб можно создать максимально комфортные условия, при которых производители, достигающие в естественных условиях полового созревания в течение нескольких лет, созреют в один год. При этом разделение генерации одновозрастных рыб на особей достигающих полового созревания в разные годы, происходит в период превителлогенного роста у самок.

## **Глава 7. К ВОПРОСУ О РЕЗОРБЦИИ ООЦИТОВ ПЕРИОДА ПРЕВИТЕЛЛОГЕНЕЗА В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ КРУГЛОРОТЫХ И РЫБ**

В течение последних 30 лет в России значительно возросло число исследований экологической направленности. Это в немалой степени связано с принятием 16 ноября 1995 года «Водного кодекса» (в последней редакции от 27 декабря 2018 года), в котором была отвергнута сама идея использования водоемов и водотоков как акваторий комплексного назначения, где разные виды хозяйственной деятельности признавались равноценными (Водный кодекс, 1995). В новой версии закона прописана обязательность экологического сопровождении изыскательских работ и самой производственной деятельности. Как следствие изменений на законодательном уровне, увеличилось и число исследовательских работ о влиянии как конкретных токсических соединений, так и комплексного токсического воздействия на биологические сообщества, и, в частности, на ихтиоценозы с анализом репродуктивной функции (Решетников, 1988; Шатуновский и др., 1996; Багнюкова, Овен, 1999; Моисеенко, Лукин, 1999; Селюков, 2002, 2012; Шарова и др., 2003; Бархалов, 2005; Сергеева и др., 2012; Рубан, 2017 и другие).

Репродуктивная система рыб и развитие половых клеток как интегральный показатель ее развития, занимают одно из центральных звеньев в проводимых исследованиях. И весьма часто результатом исследований становится резорбция (атрезия) или в трактовке многих авторов – гибель ооцитов. Перед тем как анализировать это явление, в первую очередь, следует определить предмет анализа. Опираясь на общеизвестные закономерности, отметим, что периоды превителлогенеза и вителлогенеза являются самыми продолжительными в развитии ооцитов, а, соответственно, II и III стадии – самыми продолжительными в развитии яичников. На этапе с меньшими энергозатратами – в период превителлогенеза у рыб всех видов наблюдается перепроизводство ооцитов как возможный резерв, призванный обеспечить максимально возможную для особей данного вида абсолютную плодовитость. Хорошо известно, что чем более комфортными будут условия нагула для рыб в текущем репродуктивном цикле, тем больше перешедших в период вителлогенеза ооцитов достигнет дефинитивного состояния. Напротив, чем менее благоприятные условия, например, выраженная пищевая конкуренция, сложатся в текущем цикле, тем большее число ооцитов, перешедших в период вителлогенеза, будет подвергнуто резорбции (Анохина, 1969). Таким образом, резорбция ооцитов периода вителлогенеза (трофоплазматического роста) является

обычной и, можно считать, запланированной в онтогенезе каждой особи. Она широко описана в том числе и в работах, выполненных в последние годы, на видах самых разных систематических групп: осетрообразных (Linares-Casenave et al., 2002), харацинообразных (Miranda et al., 1999), карпообразных (Курдяева, Шаповалов, 2002), окунеобразных (Karlou-Riga, Economidis, 1996; Lukšienė et al., 2000; Donato et al., 2003), трескообразных (Привалихин., 2003; Филина, 2004; Семушкина, 2014; Privalikhin et al., 2015), камбалообразных (Дуркина, 2006; Дуркина, Ким, 2010) и других. Резорбция ооцитов периода вителлогенеза, как и сами эти клетки, не являются предметом нашего исследования.

Резорбция ооцитов периода превителлогенеза представляется иной. Поскольку наблюдается перепроизводство этих клеток в онтогенезе, то выглядит весьма вероятным, что при внешнем, например, токсическом воздействии эти клетки могут быть подвергнуты резорбции. И действительно, к настоящему времени в научной литературе есть много работ, в которых авторы указывают на массовую дегенерацию ооцитов периода превителлогенеза. Много таких исследований выполнено и отечественными специалистами. Однако обращает на себя внимание следующий факт. Все эти работы выполнены на рыбах, пойманных в естественной среде, как правило, на объектах промысла, и очень часто в регионах, где в связи с производственной деятельностью очень остро стоит проблема загрязнения окружающей среды. Такие исследования с указанием на резорбцию превителлогенных ооцитов были выполнены на рыбах Каспийского бассейна (Романов и др., 1996; 2001), водотоков и озер Заполярья (Решетников и др., 1999; Шарова и др., 2003), сибирских рек (Акимова, Рубан, 1996; Рубан, 2017), регионов для которых известно радиационное загрязнение (Веригин и др., 1996; Петриков и др., 1997; Петухов, Петриков, 1997; Белова и др., 2001; 2010) и других (Минеев, 2007; 2009; Емельянова и др., 2014; Дубинина, Золотов, 2015; Сергеева, 2016).

Вместе с тем, в многочисленных экспериментальных работах, как лабораторных, так и производственных, где рыбы находились в условиях голодания, повышенной и пониженной температуры или токсическом воздействии авторы не указывают на массовую атрезию ооцитов периода превителлогенеза либо не отмечают степень этой массовости (Корниенко и др., 1996; Таликина, 1998; Чмилевский, 1998; Рубан, Акимова, 2001; Анохина и др., 2003 и другие). Этот факт, предположительно, можно рассмотреть с двух точек зрения. С одной стороны, экспериментальные данные являются не вполне сопоставимыми с данными при анализе природной ситуации. Ведь в эксперименте автор,

как правило, использует один фактор. В природе же на рыб действует комплекс факторов, например, комплекс токсических соединений. Для обозначения этого явления в литературе был даже предложен отдельный термин – «политоксикоз», а для определения длительного или хронического воздействия – «кумулятивный политоксикоз» (Kornienko et al., 1997; Журавлева, Земков, 2000).

Однако, с другой стороны, возникают вопросы к тому, как авторы, при исследовании рыб в природной среде, выявляют резорбцию ооцитов, особенно если учесть, что специалист, исследуя рыб в заведомо загрязненной токсикантами акватории, изначально оказывается «настроенным» на поиск морфологических нарушений (Акимова и др., 2000).

Например, мы в своей работе, анализируя ооциты периода превителлогенеза у всех видов исследованных рыб, обязательно сталкивались со следующим явлением. При достижении ооцитами старшей генерации диаметра около 200 мкм, у некоторых из них наблюдается деформация или сжатие с потерей обычной для клеток эллипсоидной формы. Причем такие клетки могли быть единичными или многочисленными (рис. 7.1). Часто такая форма клеток была тотальной. В литературе есть много работ, где такая морфология ооцитов у рыб, исследованных в природных условиях, трактуется, как признак начального этапа их массовой резорбции (Акимова, Рубан, 1996; Емельянова и др., 1996; Дуркина, Черкасова, 2007 и другие). Этому выводу, конечно, способствует то обстоятельство, что такие деформированные клетки присутствуют рядом с клетками, для которых такое изменение формы не отмечено.

Вероятно, в каждом случае могут быть свои причины подобных деформаций. Мы же, исследуя рыб, в том числе в течение полного периода от начала превителлогенного роста ооцитов до полового созревания, не можем рассматривать такую форму ооцитов как указание на начало их резорбции. Во-первых, с подобной картиной мы сталкивались, исследуя ход развития гонад у рыб всех видов, например, у форели в процессе ее выращивания при температуре 19-20°C (Глава 6.1.3) и при более низкой температуре (Зеленников, 2003а). Во-вторых, в ходе периодических фиксации при исследовании одной и той же партии рыб мы, безусловно, обнаружили бы не только начальные, но и завершающие этапы резорбции ооцитов с распадением клеток на фрагменты, тем более при такой массовой атрезии. В-третьих, деформация была характерна не для всех превителлогенных ооцитов, а только для клеток определенного размера. И, наконец, в

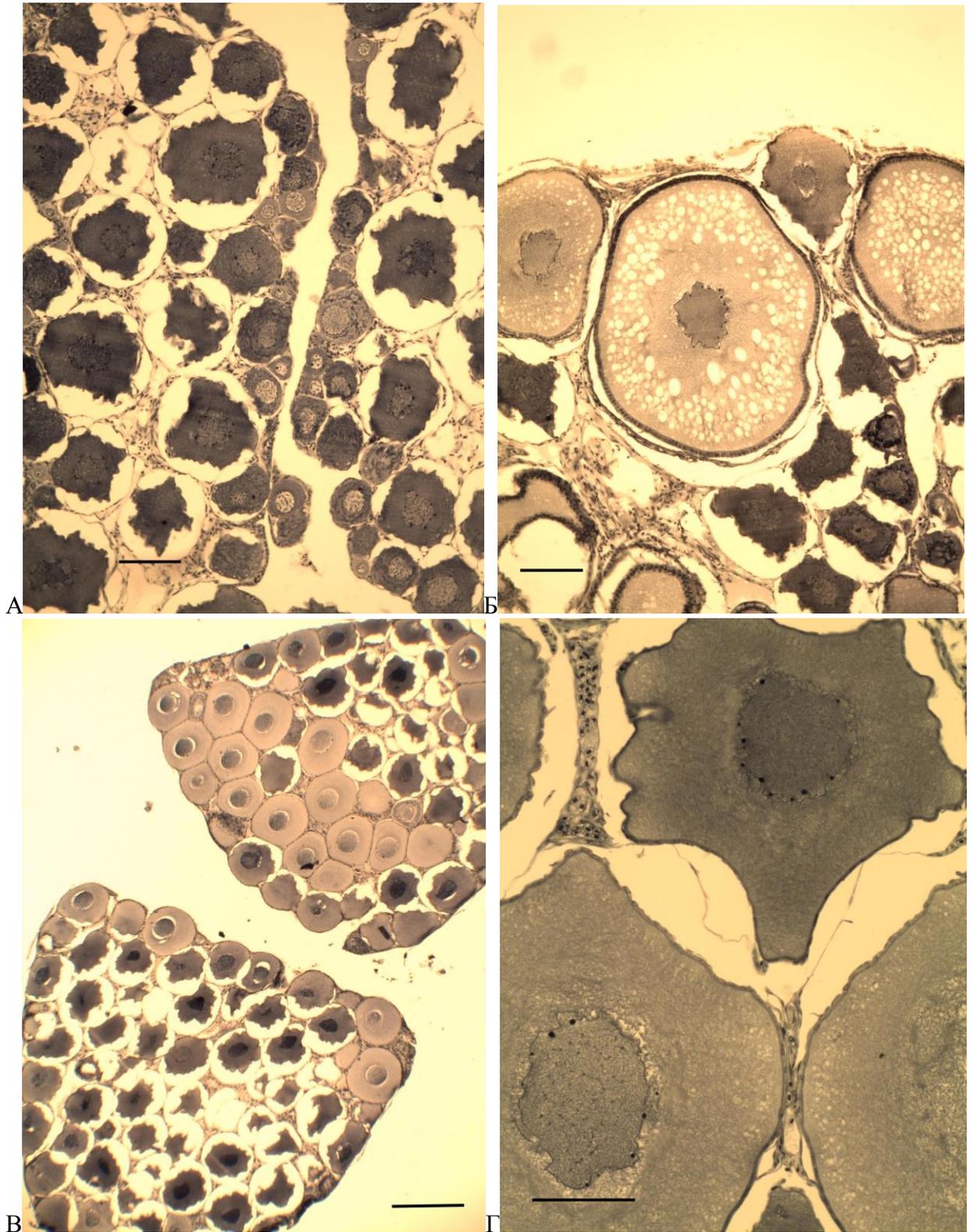


Рис. 7.1. Изменение формы ооцитов периода превителлогенеза у самок радужной форели (А, Б), кнжуча (В) и симы (Г). Шкала А, Б, Г = 100 мкм, В = 300 мкм.

четвертых, исследуя рыб одной партии в течение полного репродуктивного цикла, мы, несомненно, выявили бы снижение числа ооцитов с возрастом.

Исследуя ооциты всех видов лососевых рыб в естественной среде обитания, мы также неизменно отмечали измененный морфологический облик части из них. Вообще, такие ооциты в большем или меньшем числе присутствуют в гонадах всех самок в возрасте 1+ и старше (рис. 7.1В). Их принципиально отличает целостность формы даже с учетом резко деформированного контура (рис. 7.1Г). Очевидно, частая встречаемость таких ооцитов, а также других морфологических отклонений в состоянии гонад и половых клеток стимулировала критический взгляд на трактовку их появления с позиции нарушений. Например, «Критический обзор публикаций о нарушениях репродуктивной системы у осетровых» (Подушка, 2000), где подвергается сомнению резорбция ооцитов и предложено другое объяснение выявленным фактам.

Мы, анализируя деформированные ооциты и частоту их встречаемости, полагаем, что их появление являются артефактом фиксации. Можно полагать, что клетки определенного размера (или состояния) в большей степени, чем другие клетки не изоосмотичны использованным фиксаторам.

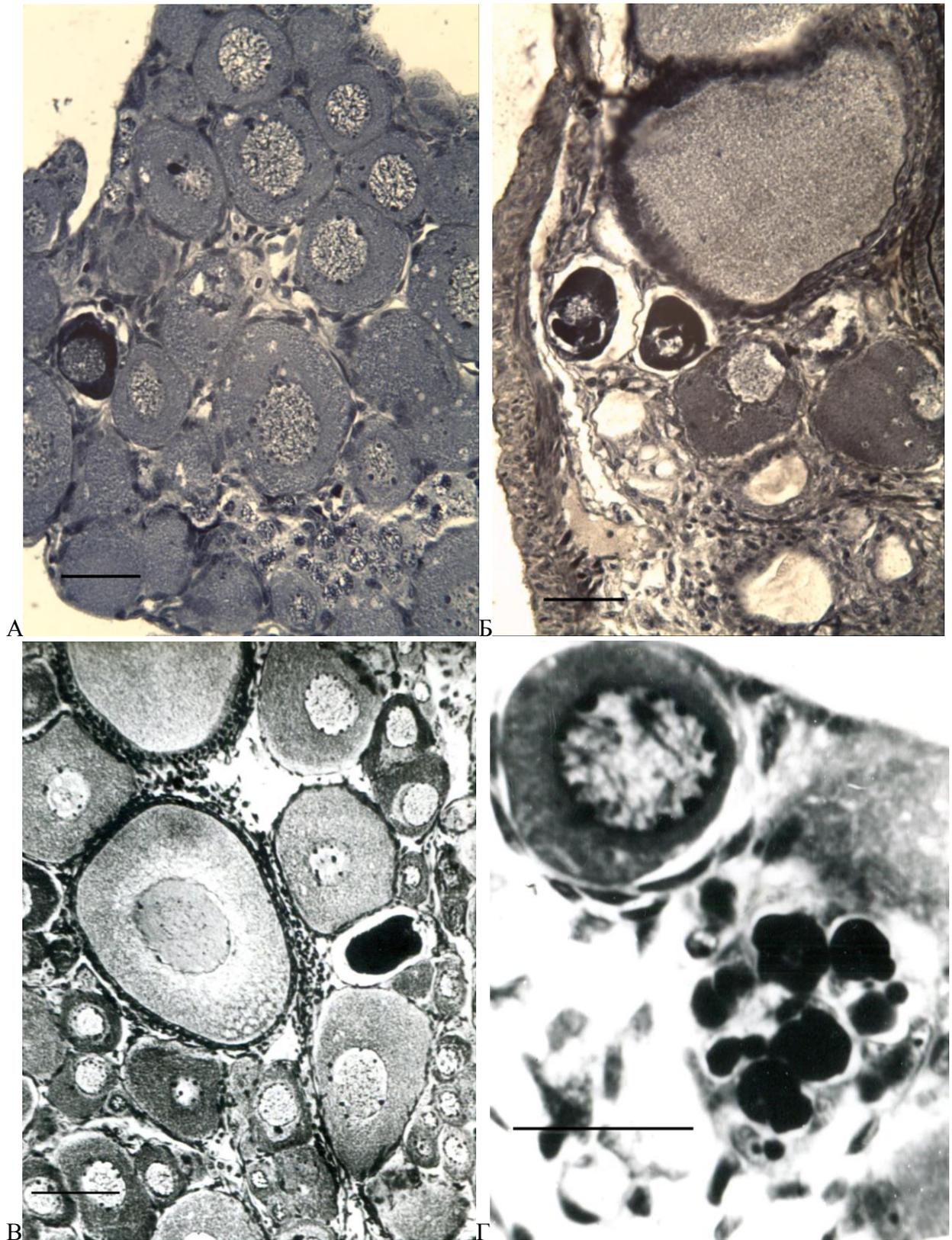
Возвращаясь к обзору литературы, отметим изменения, которые наметились в последние 10-15 лет. Обозначилась ярко выраженная тенденция, согласно которой у рыб уменьшилась массовость различных морфологических отклонений. Эту тенденцию также можно рассмотреть с двух разных позиций.

Во-первых, во многих водных бассейнах произошло заметное очищение вод. Особенно заметным это явление становится в регионах постоянного мониторинга, например, в акватории Азовского моря. Несомненно, этому способствовали принимаемые меры природоохранной направленности. Вслед за улучшением качества воды специалисты отмечают уменьшение массовости различных патологий у рыб, в том числе в плане состояния гонад (Бугаев и др., 2002), а уменьшение рыбопродуктивности трактуют с позиций действия других антропогенных факторов, например, уменьшения площадей заливных лугов вследствие гидростроительства (Подойницын, 2010).

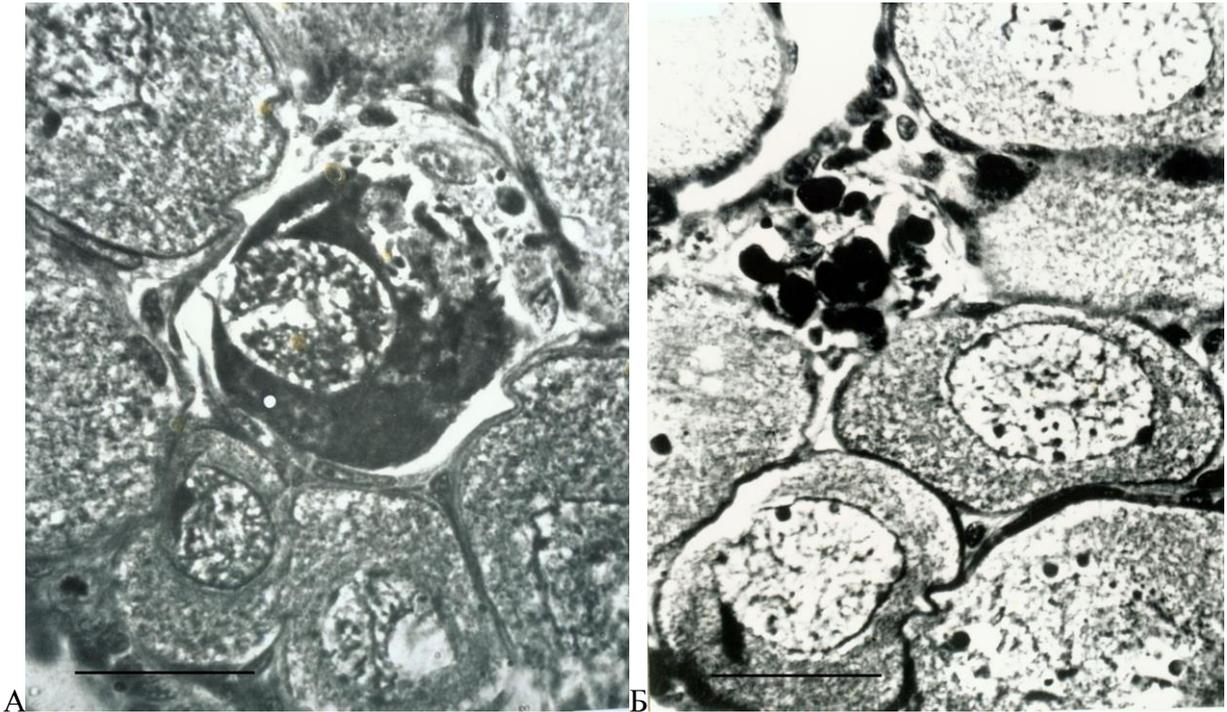
Во-вторых, вероятно, изменился взгляд на трактовку отклонений в состоянии гонад как нарушений в их развитии. По крайней мере, в многочисленных работах, выполненных в акваториях по-прежнему значительно загрязненных, где у рыб выявляются патологии в состоянии разных органов, именно состояние гонад, по мнению авторов, оказывается более благополучным (Таликина и др., 1996; Шарова, 1999; Лукин, Шарова, 2002).

Вместе с тем, мы в гонадах рыб всех видов и возрастов и, фактически, у всех особей выявляли клетки, которые, на наш взгляд, действительно находились в состоянии резорбции. Это были ооциты периода ранней профазы мейоза, о резорбции которых мы много говорили в главах 2 и 3, и ооциты периода превителлогенеза. И те, и другие в момент резорбции отчетливо выделялись. На первом этапе атрезии содержимое клеток уплотнялось и они приобретали облик пикноморфных тел, интенсивно окрашивающихся гематоксилином (рис. 7.2). На втором этапе эти клетки разрушались на отдельные фрагменты (рис. 7.2Г). При этом резорбирующиеся ооциты периода превителлогенеза легче обнаруживались в гонадах, а благодаря более крупным размерам, располагались, как минимум, на 7-8 серийных срезах. Однако во всех случаях это были единичные клетки.

Для того чтобы оценить частоту встречаемости превителлогенных ооцитов в состоянии резорбции, взяли препараты контрольных и подопытных мальков форели в возрасте 55 сут. из выполненного ранее эксперимента (Зеленников, 1997). В ходе этого опыта мальков в возрасте с 16 до 55 сут. выдерживали при сублетальной кислотности воды. В яичниках всех контрольных и подопытных самок присутствовали ооциты периода превителлогенеза в состоянии резорбции. При этом можно было видеть как целые клетки с потемневшей цитоплазмой, но еще хорошо различимым ядром (I группа; рис. 7.3А), так и клетки на более поздних этапах резорбции, утратившие целостность и распавшиеся на отдельные фрагменты (II группа; рис. 7.3Б). На 3581 серийном срезе гонад всех контрольных рыб было обнаружено 56 ооцитов в состоянии резорбции (в среднем один на 63,9 среза), а на 2618 срезах гонад подопытных рыб – только 20 (один на 130,9 среза). Примечательно, что в яичниках контрольных самок клетки первой и второй группы составляли 32,1% и 67,9%, а у подопытных – 20,0% и 80,0% соответственно. Таким образом, частота встречаемости атретических фолликулов в яичниках контрольных самок была выше, а большинство таких ооцитов в яичниках подопытных рыб находились на завершающих этапах атрезии. Очевидно, что кислотное воздействие не привело к нарастанию спонтанно и вяло идущей резорбции некоторой части превителлогенных ооцитов. Их крайне редкая встречаемость позволяет предположить, что отдельные половые клетки нежизнеспособны изначально, и их резорбция не связана с кислотным воздействием. Факторы, определяющие их нежизнеспособность, могли иметь, например, генетическую природу, а внешнее воздействие и связанный с ним энергетический дефицит ускорили процесс их деструкции.



**Рис. 7.2.** Примеры внешнего вида ооцитов периода превителлогенеза в состоянии резорбции у самок радужной форели (А, Г) и мозамбикской тилапии (Б, В). Шкала = 50 мкм.



**Рис. 7.3.** Ооциты периода превителлогенеза в яичнике у самок радужной форели в возрасте 55 сут на начальном (А) и завершающем (Б) этапе резорбции. Шкала = 50 мкм.

Вместе с тем, в развитии рыб есть варианты, когда именно массовая резорбция ооцитов периода превителлогенеза является обычным явлением и сомнений не вызывает. Рассмотрим два примера этого явления. Первый вариант хорошо известен для ряда видов непаразитических миног. Это массовая резорбция превителлогенных ооцитов как начальный этап формирования величины абсолютной плодовитости.

Второй вариант – массовая резорбция превителлогенных ооцитов как механизм сокращения числа особей у вида с циклической динамикой численности. Это было показано для дальневосточной сардины (сардины-иваси). Рассмотрим эти примеры последовательно. Так, плодовитость у широко распространенного и наиболее исследованного вида миног, европейской речной миноги *Lampetra fluviatilis*, в среднем составляет около 15900-22584, варьируя, впрочем, в широком диапазоне – от 3297 до 42 500 икринок (Иванова-Берг, 1932; Lanzing, 1959; Hardisty, 1964; Капун, Кузнецов, 1979 и другие). Как и все миноговые, она является ювенильным протогиническим гермафродитом, половая дифференцировка у которой осуществляется весной в конце первого года жизни при длине от 30 до 60 мм (Кузнецов 1986; Шильдяев и др. 2008). В процессе дифференцировки пола около 75% от общего числа половых клеток подвергаются дегенерации (Hardisty, Potter; 1971), абсолютное большинство которых

составляют ооциты периода ранней профазы мейоза. Иными словами, осуществляется тот процесс, который хорошо известен и у изучаемой нами горбуши.

В специально проведенном исследовании (Kuznetsov et al., 2016) у личинок миноги длиной от 63 до 130 мм после завершения дифференцировки пола и формирования единственной генерации ооцитов периода превителлогенеза было подсчитано их общее число. В двух партиях личинок число ооцитов в среднем составило 19480 и 20830 при вариации от 12138 до 31164. При этом величина абсолютной плодовитости у половозрелых самок этой же популяции в среднем составила 21080 икринок при вариации от 15878 до 28172 шт. Можно видеть, что потенциальная плодовитость, подсчитанная у личинок, и абсолютная плодовитость, подсчитанная у взрослых особей, практически совпадали.

В свою очередь, непаразитическая европейская ручьевая минога *Lampetra planeri* Bloch имеет значительно меньшую плодовитость – в среднем 875-2014, при вариации от 330 до 3700 (Berg, 1931; Pletcher 1963; Абакумов, 1964; Malmqist, 1978 и другие). Казалось бы, меньшая плодовитость самок ручьевой миноги является естественной, поскольку и длина особей этой формы в 2-3 раза меньше, а связь абсолютной плодовитости с длиной у миног хорошо известна (Malmqist, 1978; Корр, 2017). Вместе с тем, величина потенциальной плодовитости, подсчитанная у личинок длиной от 94 до 165 мм в среднем в двух партиях составила 6574 и 7335 шт. при вариации от 2964 до 14580 шт., а величина абсолютной плодовитости была в 4 раза меньше – в среднем 1740 при вариации от 993 до 2259 шт. (Kuznetsov et al., 2016). Таким образом, если у анадромной речной миноги потенциальная и фактическая плодовитость практически совпадают, то у ручьевой миноги фактическая плодовитость составляет всего 25-26% от ее потенциальной плодовитости. Столь резкое расхождение между этими значениями связано с дегенерацией большинства превителлогенных ооцитов.

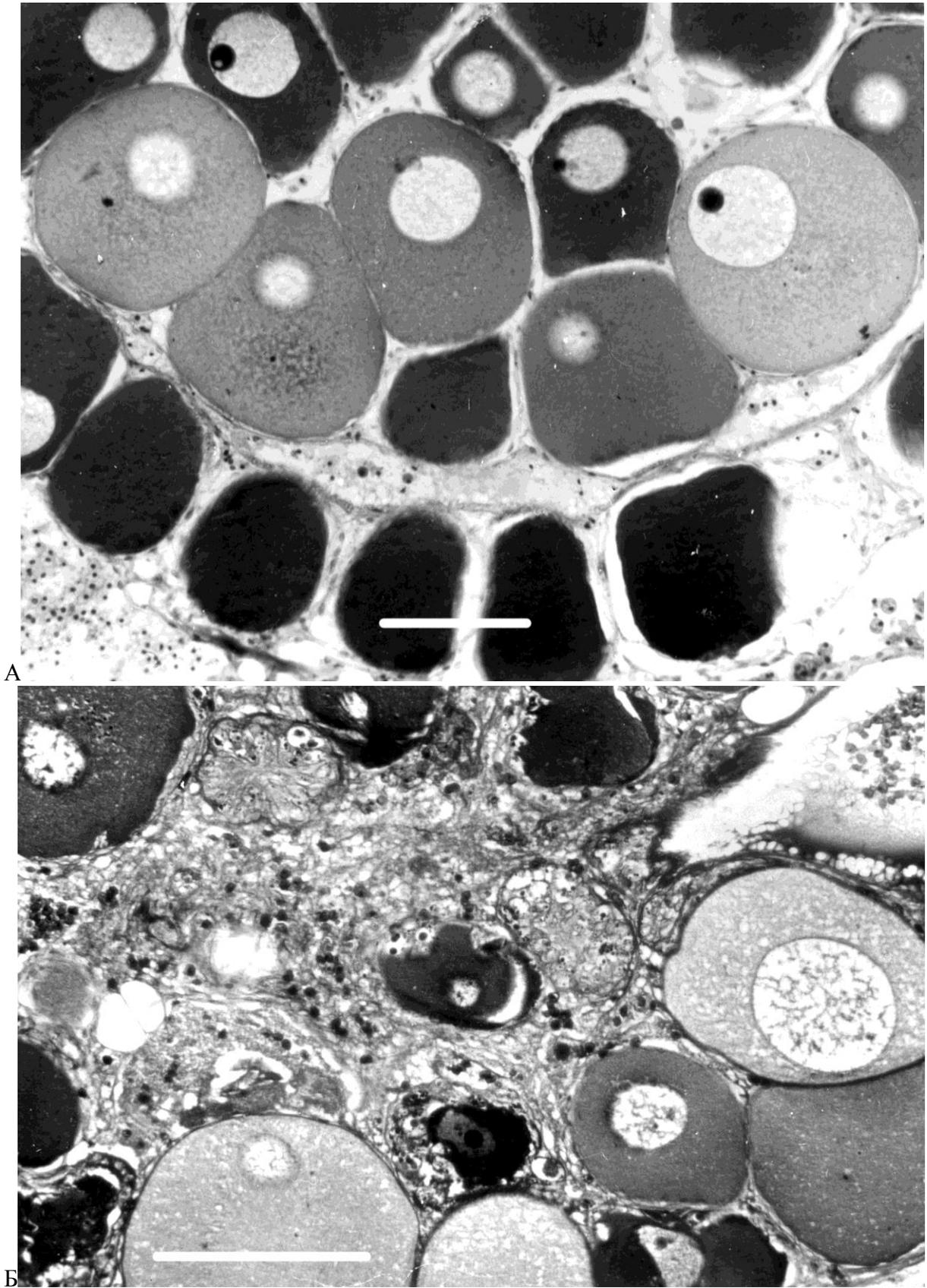
Следует отметить, что это явление – массовая и обязательная в онтогенезе резорбция ооцитов периода превителлогенеза, рассмотренная на примере, с анализом конкретных цифровых данных, давно известна в научной литературе (Weissenberg, 1927; Hardisty, 1965). Оно прослежено и у других видов пресноводных непаразитических миног, предками которых в эволюции были более крупными паразитическими анадромными формами, например, у австралийской миноги *Mordacia praecox* (Hughes, Potter, 1969). Для нашей же работы важно то, что взяв личинок ручьевой миноги определенного размера, мы

обязательно встречаем многочисленные ооциты периода превителлогенеза в состоянии резорбции и можем проследить этапы этого процесса.

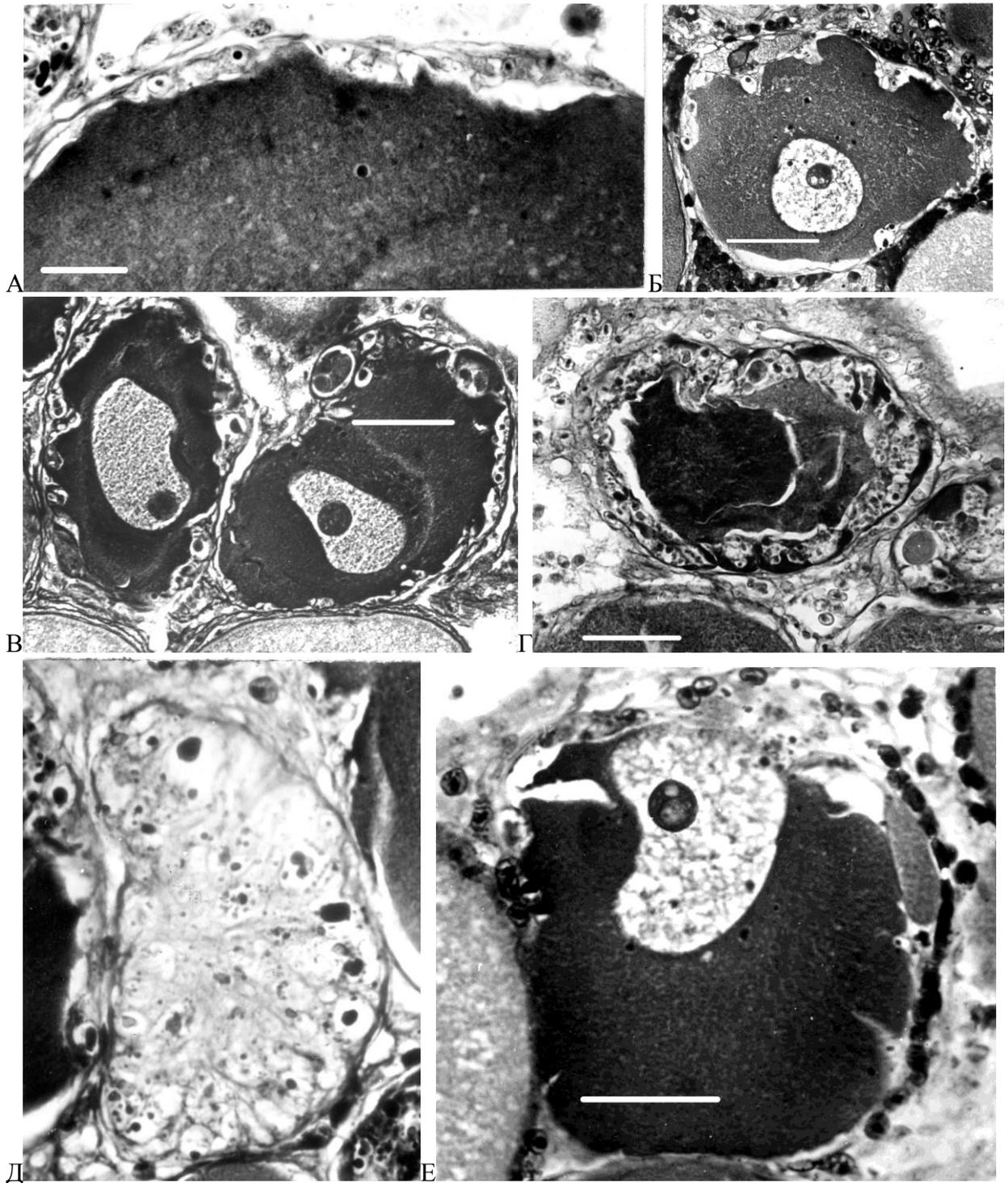
В яичнике личинок до появления видимых внешних изменений, характерных для начала резорбции, можно видеть ооциты разного размера и морфологического облика (рис. 7.4А). Одни клетки являются более крупными и характеризуются светлоокрашенной цитоплазмой. Предположительно, именно эти клетки преимущественно вступят в период вителлогенеза и образуют единственную генерацию ооцитов этого периода. Другие клетки более многочисленны. Они характеризуются заметно меньшими размерами и более темно окрашенной цитоплазмой. Можно было предположить, что преимущественно эти клетки будут подвергнуты резорбции. Действительно, анализируя состояние гонад у личинок более позднего онтогенетического состояния, можно видеть значительные участки яичников, на которых отсутствуют половые клетки, а также ооциты на разных этапах разрушения (рис. 7.4Б).

На начальных стадиях резорбции фолликулярные клетки увеличиваются в размерах и в некоторых областях проникают в цитоплазму ооцита (рис. 7.5А). Впоследствии их проникновение приводит к большим углублениям в периферической области ооцита (рис. 7.5Б) и, далее, к разделению ооцита на фрагменты (рис. 7.5В). Несколько позже ооцит выглядит как «растрескавшийся» из-за уплотнения цитоплазмы во время гистологической обработки (рис. 7.5Г). На заключительной стадии резорбции имеются только значительно увеличенные фолликулярные клетки с небольшими частицами цитоплазмы резорбированного ооцита (рис. 7.5Д).

Непросто судить, насколько описанный вариант резорбции ооцитов является типичным для разрушения клеток этого периода. Мы отметили, что ядро дегенерирующей клетки остается неповрежденным в течение длительного времени, даже когда фагоцитарные фолликулярные клетки приближаются к нему вплотную (рис. 7.5Е). Впрочем, ядро сохраняло свою целостность и в ряде других примеров (рис. 7.4А). Вместе с тем, хорошо известно, что при резорбции ооцитов в первую очередь разрушается именно ядро (Фалеева, 2008), вызывая нарушение функции цитоплазмы. В данном случае – это живые клетки, а не мертвые, подвергающиеся фагоцитозу. Следовательно, на этой стадии включается специфический физиологический механизм, который стимулирует фолликулярные клетки к фагоцитозу живых, но недостаточно крупных ооцитов. Можно предположить, что ооциты, которые перерастают более мелкие клетки, невосприимчивы к факторам, стимулирующим фагоцитарную функцию фолликулярных клеток.



**Рис. 7.4.** Общий вид яичников у личинок ручьевой миноги перед (А) и во время (Б) резорбции ооцитов периода превителлогенеза. Шкала = 100 мкм.



**Рис. 7.5.** Этапы атрезии превителлогенных ооцитов в яичнике ручьевой миноги. А – проникновение фолликулярных клеток в цитоплазму ооцита; Б – рост углублений в ооците под действием фагоцитарных клеток; В – отделение мелких фрагментов от цитоплазмы ооцитов под действием фагоцитарных клеток; Г – трещины в цитоплазме рассасывающегося ооцита вследствие сжатия цитоплазмы при гистологической обработке; Д – заключительная стадия. На месте резорбированного ооцита присутствуют только увеличенные фолликулярные клетки с небольшими включениями цитоплазмы ооцитов; Е. – ооциты в состоянии резорбции сохраняют обычную морфологию ядра даже когда фагоцитарные клетки подходят к нему вплотную. Шкала А = 10 мкм; Б-Е = 30 мкм.

Впрочем, два разных варианта резорбции показаны и для ооцитов периода вителлогенеза (Дуркина, 2006).

Теперь рассмотрим резорбцию ооцитов как механизм сокращения клеток у видов с циклической динамикой численности. Хорошо известно, что такие виды в периоды, когда их численность становится наибольшей, проявляют присущий каждому из них механизм ликвидации излишнего числа особей (Одум, 1975). Для ихтиологов очень интересным примером в этом плане является дальневосточная сардина - *Sardinops melanostictus* (Шунтов, Васильков, 1981). Ее запас, оцениваемый в 1970-е годы в 20 млн. т., в 1990-е понизился в 200 раз, а промысел практически прекратился (Беляев и др., 1991; Пелагические рыбы, 2019). Как известно, масштабное уменьшение численности сардины было спрогнозировано с учетом исторических данных 40-х годов и на основании сокращения количества личинок сардины в планктоне (Беляев и др., 1991). Однако еще раньше снижению численности личинок предшествовала массовая резорбция ооцитов разных периодов развития у половозрелых самок, среди которых была заметной и массовая резорбция превителлогенных ооцитов (Сакун, Свирский, 1992). В настоящее время наблюдается начало нового цикла увеличения численности дальневосточной сардины и, как следствие этого, увеличение ее вылова (Пелагические рыбы, 2019).

Мы провели специальное исследование крупной выборки сардины, предполагая, что если для нее характерна массовая резорбция ооцитов периода превителлогенеза в качестве первого этапа ликвидации излишнего числа рыб, то, вероятно, может наблюдаться резорбция ооцитов этого периода и на этапе их невысокой численности, пусть и в небольшом количестве.

Для работы мы случайным образом взяли выборку в 210 особей из промыслового улова сардины, добытого с использованием кошелькового невода 26 августа 2018 года в районе острова Шикотан (Курильские острова, Сахалинская область). С одной стороны, мы исследовали рыб в момент наиболее высокой жирности (Кеня, 1982), с другой стороны – в начале нового репродуктивного цикла, когда согласно данным литературы, у всех рыб в гонадах должны были завершиться постнерестовые репарационные процессы: ликвидация остатков фолликулов и невыметанных ооцитов (Беляев, Кеня, 1985).

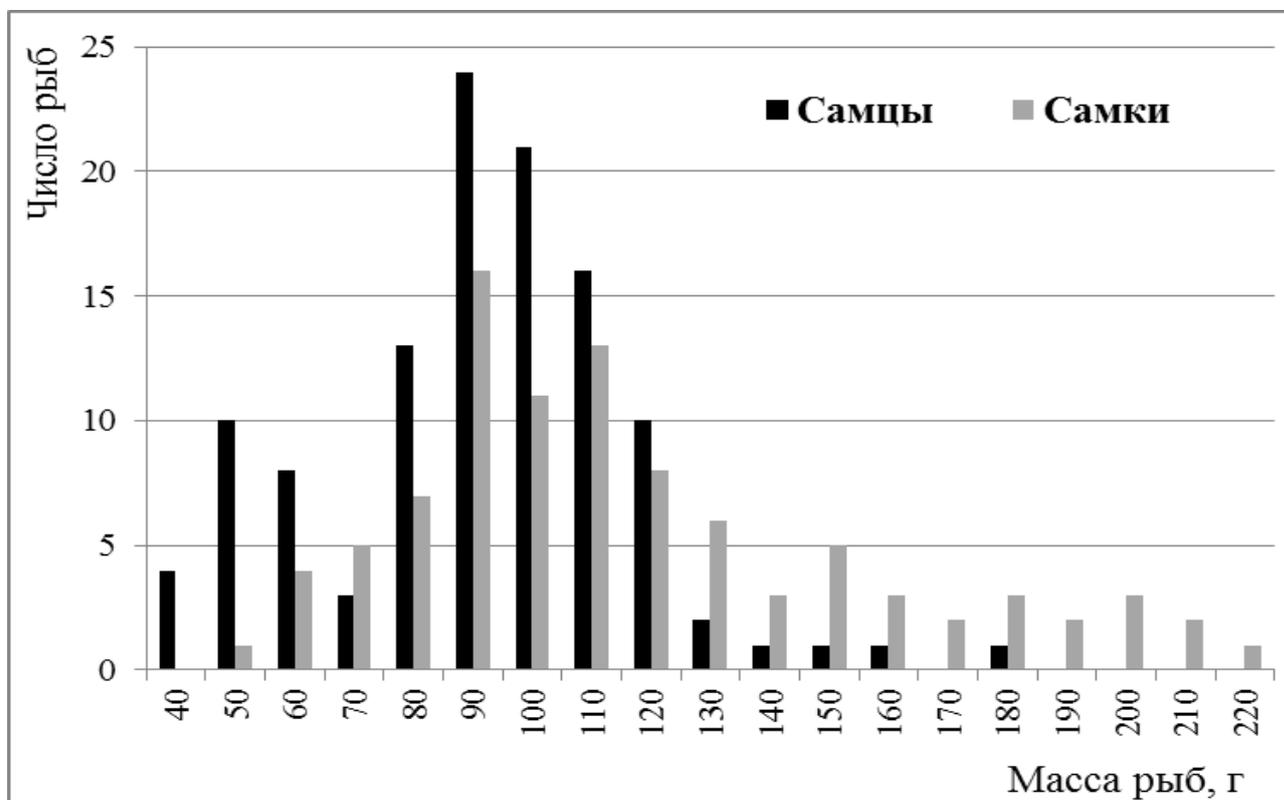
Среди 210 исследованных рыб присутствовали 95 самок и 115 самцов. Длина (L) и масса самок в среднем составили 20,9 см и 120,6 г и были достоверно больше ( $p < 0,01$ ) длины и массы самцов – 19,6 см и 95,2 г соответственно (табл. 7.1). Анализ размерного ряда показал, что 73,0% самцов и 57,9% самок имели массу от 80 до 130 г (рис. 7.6). При

этом среди самцов только 1,7% рыб были крупнее 160 г. Среди самок более крупные рыбы составляли 16,8%, были нередкими особи крупнее 200 г, а самый крупный экземпляр весил 223 г (табл. 7.1).

**Таблица 7.1.**

Характеристика дальневосточной сардины, выловленной 25-27 августа 2018 г. в районе острова Шикотан ( $M \pm m$ , диапазон значений, коэффициент вариации %)

Пол	Число рыб	Длина рыб, L, см	Длина рыб, l, см	Масса рыб, г	Масса рыб, без внутренностей, г
Самки	95	$20,9 \pm 0,21$ 16,5-26,0 9,6	$19,7 \pm 0,20$ 15,5-25,0 9,8	$120,6 \pm 4,03$ 52-223 32,6	$103,7 \pm 3,43$ 44-192 32,2
Самцы	115	$19,6 \pm 0,15$ 16,0-23,0 8,1	$18,4 \pm 0,14$ 15,0-22,0 8,3	$95,2 \pm 2,38$ 42-182 26,9	$81,8 \pm 2,06$ 37-159 27,0

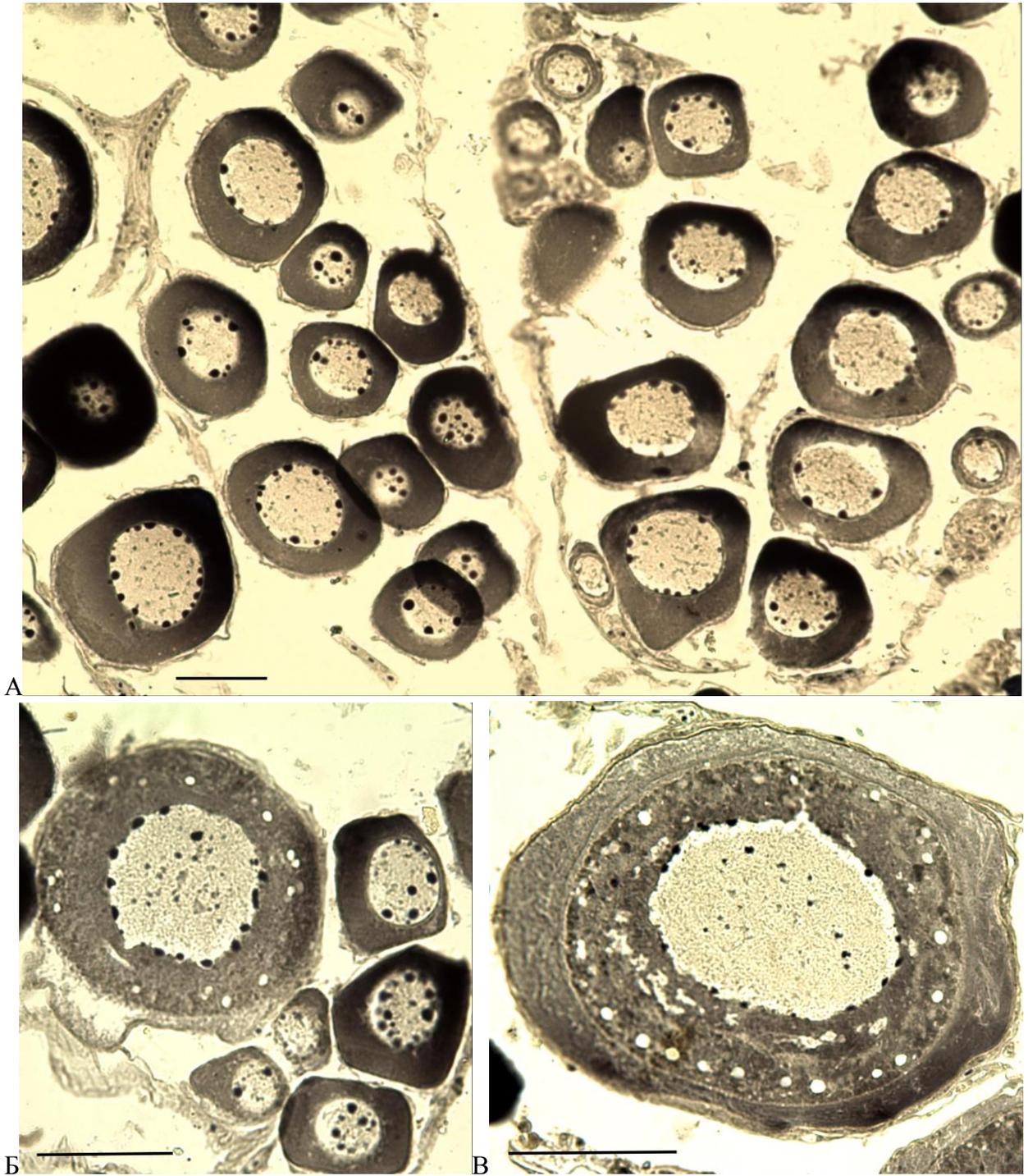


**Рис. 7.6.** Масса самок и самцов дальневосточной сардины, выловленной 25-26 августа 2019 г в районе острова Шикотан.

У всех исследованных самок фонд половых клеток, помимо гониев и ооцитов периода ранней профазы мейоза, был представлен ооцитами периода превителлогенеза, которые в гонадах всех рыб располагались сравнительно неплотно (рис. 7.7А) и были разного размера; их диаметр варьировал от 30-35 до 100-110 мкм (рис. 7.7Б) у самых мелких самок и до 120-130 мкм (рис. 7.7В) у самых крупных особей. В цитоплазме наиболее крупных ооцитов всех самок присутствовали липидные включения (рис. 7.7Б, В), которые, как известно, не являются признаком начала трофоплазматического роста (Беляев и др., 2004). Как и предполагали, в гонадах всех половозрелых особей уже не наблюдали следов резорбции оставшихся после нереста ооцитов дефинитивного состояния или постовуляторных фолликулов. Вместе с тем, ни в одном из исследованных яичников не выявили также резорбции ооцитов периода превителлогенеза, ни по тем критериям, которые были предложены ранее именно для дальневосточной сардины (Сақун, Свирский, 1992; Беляев и др., 2004), ни по морфологическому облику атретических фолликулов, известных при исследовании других видов.

Обсуждая полученные данные, в первую очередь отметим, что масса исследованных нами рыб оказалась значительно больше, чем мы предполагали, учитывая литературные данные (Morimoto, 2003; Беляев и др., 2004). Даже в наиболее современных публикациях указывается, что сардина достигает массы 140 г (Пелагические рыбы, 2019) или 150-200 г (Новиков и др., 2002). Однако мы, даже в выборке, взятой случайным образом, выявили экземпляры крупнее 200 г. Нет сомнений, что при целенаправленном поиске можно было найти и более крупных особей. Несомненно, это свидетельствовало о том, что рыбы этого вида на современном этапе находятся в благоприятных условиях, следствием чего, очевидно, и является увеличение их численности. Впрочем, исследователи, проводя биологический анализ, часто вообще игнорировали такой показатель как масса рыб (Кеня, 1982). Например, в монографии «Рыбы Японского моря» (Линдберг, Легеза, 1965) даже не приводятся данные о массе дальневосточной сардины, а для расчета величины гонадо-соматического индекса предложено использовать не массу, а куб длины (Жигалин, 1987).

Среди исследованных нами рыб существенно преобладали самцы, длина и масса которых были достоверно меньше, чем у самок. Пока трудно судить насколько данные о половом диморфизме являются объективными. Все-таки дальневосточная сардина не является объектом аквакультуры или экспериментальных исследований и работы с ней были ориентированы на определение путей миграции, промысловых скоплений и,



**Рис. 7.7.** Состояние ооцитов старшей генерации у самок дальневосточной сардины массой 70 г (А, Б) и 200 г (В) 25 июля 2018 года. Можно видеть общее состояние фонда ооцитов (А), ооциты периода превителлогенеза разного размера (Б) и липидные включения в цитоплазме ооцитов (Б, В). Шкала = 50 мкм.

главное, на исследование динамики численности (Шунтов, Васильков, 1981; Беляев, Кеня, 1985; Беляев и др., 1991 и другие) и, фактически, были прекращены после многократного сокращения ее промысла.

Анализируя состояние ооцитов, отметим, что в их цитоплазме, фактически, не выявляются элементы циркумнуклеарного комплекса, так, как это характерно, например для тресковых (Широкова, 1971) или лососевых рыб, что объясняется преимущественным обитанием сардины при сравнительно более высокой температуре (Кеня, 1982). Вместе с тем, практически во всех крупных клетках присутствуют липидные включения, как это ранее было показано и для других видов морских рыб (Takemura et al., 1987; Zhukova et al., 2018). Можно полагать, что у иваси появление этих включений объясняется очень высоким содержанием жира, доля которого именно в конце августа-сентябре достигает максимального значения в 30% (Кеня, 1982). Ранее, исследуя развитие стероидсекреторных клеток у молоди разных видов рыб, мы выявили липидные включения в их цитоплазме только у осетровых рыб (Мосягина, Зеленников, 2016), у которых большая часть гонад представлена жировой составляющей (Porova et al., 1997; Zelennikov et al., 1999), и у подопытной молоди кижуча, которой задавали эстрадиол, замешивая его в большом объеме оливкового масла (Мосягина, Зеленников, 2012).

В завершении отметим, что мы не определяли возраст рыб, но судя по их длине (Новиков и др., 2002), все исследованные особи были либо половозрелыми, либо должны были достичь полового созревания в предстоящем сезоне. Состояние гонад свидетельствовало о том, что нерест исследованных особей мог произойти не ранее марта, т.е. во время пика нереста рыб этого вида (Беляев и др., 2004), а, следовательно, в августе рыбы находились максимально далеко от него, причем, как от прошедшего, так и от предстоящего. В гонадах всех самок уже отсутствовали остатки невыметанных ооцитов и постовуляторных фолликулов, а ооциты новой генерации еще находились в периоде превителлогенного роста.

По совокупности высказанных соображений мы можем сделать следующее заключение. Нет сомнений, что ооциты периода превителлогенеза могут быть подвергнуты резорбции. Если исключить возможные артефакты фиксации и гистологической обработки, то можно утверждать, что возможна как резорбция отдельных ооцитов, так и их массовая резорбция. Вместе с тем полученные факты и данные литературы позволяют говорить, что массовая резорбция этих ооцитов возможна в связи с реализацией специфического жизненного цикла. Убедительных данных в массовой резорбции этих ооцитов при воздействии на рыб внешних факторов, на наш взгляд не имеется. В пользу такого высказывания свидетельствуют не только наши исследования, в ходе которых не удалось выявить массовую резорбцию ооцитов периода

превителлогенеза, даже при массовой гибели подопытных рыб, в условиях токсического воздействия. Исключение составили ооциты самого начала этого периода, на наш взгляд, полноценно не вступивших в период превителлогенеза. Нами не обнаружено ни одной публикации, в которых авторы, выполняя экспериментальное воздействие на рыб, указали бы на массовость резорбции превителлогенных ооцитов. Те же специалисты, которые исследовали ооциты как превителлогенеза, так и вителлогенеза, прямо указывают на то, что резорбция первых это редкое явление и реализуется значительно реже, чем резорбция вторых (Miranda et al., 1999).

## **Глава 8. ВЛИЯНИЕ РАННЕГО ООГЕНЕЗА НА РАЗВИТИЕ ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ У КРУГЛОРОТЫХ И РЫБ**

### **Общее заключение**

Еще только приступая к работе с молодью горбуши, мы владели значительной информацией о гаметогенезе этого вида, изученного детальнее, чем у остальных тихоокеанских лососей. Пока невозможно судить, насколько у горбуши необратимо предопределена феминизация будущих семенников в период эмбрионального развития. По крайней мере, применяя даже максимально большие дозы экзогенного тестостерона, мы не смогли предотвратить этот процесс (Федоров, Зеленников, 2012). Вместе с тем известно, что еще задолго до феминизации будущих семенников предопределена их последующая инверсия (Персов, 1966б). Прослеживая последовательно за развитием будущих самок и самцов, мы установили, что в момент вылупления их гонады по размерам и составу половых клеток не различаются. И у первых, и у вторых в гонадах присутствуют гонии и ооциты периода ранней профазы мейоза. Затем постепенно начинают выявляться две группы особей. У одних продолжает увеличиваться число половых клеток, у других – формирование фонда гониев и мейоцитов идет с явно замедленным темпом. Складывается ощущение, что формирование гонад у будущих самцов осуществляется при конкурентном взаимодействии мужского и женского начал. Гонады именно таких особей – с замедленным темпом формирования фонда ооцитов – вступают на путь инверсии.

Следует особо подчеркнуть, что резорбция гониев и мейоцитов не является признаком инверсии пола и, соответственно, признаком будущих семенников. Более того, в яичниках у самок резорбция клеток идет более интенсивно, а сам процесс оказывается более масштабным. Связано это с тем, что к моменту интенсивной резорбции число половых клеток у самок оказывается в несколько раз больше, чем у будущих самцов. Очевидно, что если бы мы ориентировались именно на резорбцию, то не смогли бы различить гонады будущих самок и самцов. Единственным признаком развития гонад у последних является постепенное замедление темпа размножения гониев и, соответственно, пополнения фонда ооцитов.

Развитие немногочисленных ооцитов в будущих семенниках продолжается и в период инверсии, а завершается этот процесс не раньше, чем в гонадах будущих самцов появятся ооциты периода превителлогенеза. Однако в оболочках ооцитов у будущих самцов, в отличие от половых клеток самок (Мосягина, 2006; Мосягина, Зеленников,

2015), не формируются стероидсекреторные клетки. Таким образом, представляется очевидным, что полноценный переход ооцитов к фазе роста или, в трактовке Равена (Равен, 1964), от генеративной к вегетативной фазе оогенеза оказывается невозможным. Можно полагать, что такие же процессы реализуются и у других видов – ювенильных гермафродитов. Косвенно в пользу этого заключения свидетельствуют аналогичные данные сравнительного анализа стероидсекреторных клеток у самок и будущих самцов миноги, а также тот факт, что в момент, когда в будущих семенниках остаются единичные ооциты периода превителлогенеза, гонады у столь разных животных, как минога, горбуша и данио оказываются морфологически практически неразличимыми.

Вместе с тем, судьба ооцитов в гонадах генотипических самцов онтогенетически оказывается предрешенной и их развитие завершится резорбцией. Однако цитологически эти клетки являются живыми и потенциально жизнеспособными. Делая инъекцию эстрадиола зародышам и личинкам горбуши, мы предотвращали резорбцию ооцитов, а их дальнейшее развитие не отличалось от развития ооцитов у генотипических самок. При этом гормональное воздействие останавливало ход инверсии пола на том этапе, на каком его заставляло, и, чем раньше оказывали воздействие, тем меньше впоследствии гонады у генотипических самцов и самок отличались друг от друга по составу половых клеток.

В практическом плане мы установили, что инверсия пола у молоди горбуши при любом температурном режиме завершается в период эмбрионально-личиночного развития. Таким образом, не подтвердились опасения, что кормление молоди на заводах с целью ее акселерации, повышающей выживание (Nagasawa, 1998; Тарасюк, Тарасюк, 2007), в отличие от непитающейся природной молоди (Казарновский, 1962) могут привести к изменению в соотношении полов. Мы также не можем подтвердить вывод о том, что в четные годы среди мальков преобладают самки, а в нечетные – самцы (Персов, 1964), особенно если учесть, что литературные данные оказываются весьма противоречивыми (Канидьеv, 1967). По нашим сведениям (Зеленников, Вараксин, 2018), среди мальков всегда преобладают самцы, что представляется естественным при пониженной жизнеспособности мужских особей для вида, у которого не известны карликовые самцы (Heard, 1991).

Возвращаясь к анализу формирования фонда ооцитов, мы установили, что у молоди всех других видов тихоокеанских лососей также наблюдается значительное производство лишних половых клеток. Лишними мы определяем их условно, руководствуясь тем обстоятельством, что все эти клетки будут элиминированы уже в

раннем состоянии. Так, у самок кеты формирование фонда ооцитов осуществляется с такой же асинхронностью, как и у самок горбуши. Разница заключается лишь в том, что у кеты и у всех остальных видов, достигающих половой зрелости в более позднем, чем горбуша, возрасте, период раннего гаметогенеза оказывается более замедленным, и поэтому более заметным. Однако со временем и у всех остальных видов формирование фонда превителлогенных ооцитов завершается, а его пополнение прекращается. Полученные данные позволяют утверждать, что формирование генерации ооцитов периода превителлогенеза завершается уже на первом году жизни – у мальков кеты, симы, нерки, кижуча и чавычи при массе около 1 г, а их число соответствует величине абсолютной плодовитости. В дальнейшем клетки этого фонда развиваются либо синхронно, либо с заметной асинхронностью, предположительно, в прямой зависимости от продолжительности полового созревания. Чем в более позднем возрасте в связи с темпом раннего оогенеза предполагается половое созревание конкретной особи, тем более асинхронно в ее яичниках первоначально развиваются ооциты.

Можно также утверждать, что после формирования единственной функциональной генерации ооцитов процесс размножения гониев не прекращается и даже не ослабевает. Гонии продолжают размножаться, вступают в мейоз, часть из них – в период начала превителлогенеза и на всех этих этапах половые клетки в массе подвергаются резорбции. Реализуется невозможность развития этих половых клеток, очевидно, посредством гормонального дефицита, но регулируется на генетическом уровне. О первом свидетельствует возможность преодолеть неизбежную резорбцию ооцитов периода начала превителлогенеза, оказывая на рыб гормональное воздействие. Причем, как на зародышей, делая им инъекцию эстрадиола в желточный мешок, так и на молодь, задавая ей гормон с кормом. О втором свидетельствуют многочисленные данные литературы. Так, у гиногенетических и гибридных форм наблюдается задержка или неспособность ооцитов перейти из периода ранней профазы мейоза в период превителлогенеза (Богданова, 1991).

Сопоставляя состояние гонад у моноциклических и полициклических лососевых, мы приходим к заключению, что с учетом массового перепроизводства половых клеток у первых, развитие гонад у тех и других в онтогенезе различается не столь существенно, как мы предполагали это до начала работы. На первом этапе у моноциклических и полициклических рыб происходит формирование генерации ооцитов периода превителлогенеза. Но затем у полициклических рыб мейоциты группами продолжают вступать в период превителлогенеза, обеспечивая волновой характер постоянного

пополнения их фонда. У моноциклических рыб с определенного момента наблюдается тотальная элиминация ооцитов ранних состояний. У молоди горбуши, казалось бы, процесс размножения гониев после выхода рыб в прибрежье завершился (Зеленников, 2019б). Однако это завершение является не онтогенетической закономерностью, а процессом контролируемым условиями нагула. По крайней мере, при экспериментальном выращивании рыб в непривычных для вида условиях, при исключении морского периода в развитии, размножение гониев не прекратилось, и, предположительно, не замедлилось вплоть до начала периода вителлогенеза (Отставная и др., 2008).

В связи с полученными данными возникает логичный вопрос. Если само развитие фонда половых клеток у полициклических и произошедших от них моноциклических круглоротых и рыб, по сути мало различается, то наблюдается ли перепроизводство фонда половых клеток также и у полициклических рыб. Судить об этом при обычном выращивании рыб представляется невозможным. Ведь у моноциклических рыб о перепроизводстве фонда половых клеток судили с точки зрения их биологической судьбы. Большинство половых клеток было подвергнуто резорбции, не перейдя полноценно даже в период превителлогенеза. У полициклических рыб все клетки, вступившие в мейоз, затем вступали и в период превителлогенеза. При этом нежизнеспособность и резорбция отдельных ооцитов общей картины не изменяет.

Однако оказалось, что для полициклических рыб перепроизводство половых клеток столь же характерно, но наглядно выявить его удалось, поместив рыб в экстремальные условия, в частности, в воду с пониженной кислотностью. У молоди осетра (Zelennikov, Fedorov, 1996; Zelennikov et al., 1999) и радужной форели (Zelennikov, 1997) число половых клеток – гониев и ооцитов периода ранней профазы мейоза – при сублетальном кислотном воздействии значительно возросло. Этому возрастанию предшествовало усиление функциональной активности гонадотропных клеток и концентрации тестостерона в крови (Зеленников, 1997).

Факт перепроизводства половых клеток у рыб в условиях сублетального воздействия, на фоне прекращения питания, остановки роста и даже массовой гибели части подопытных особей, тем не менее, представляется вполне объяснимым. Казалось бы половые железы не выполняют явно выраженные функции жизнеобеспечения организма, поэтому было бы логично ожидать, что при неблагоприятных условиях среды ресурсы, предназначенные для развития гонад, могли бы быть переадресованы на компенсацию энергетических затрат, связанных с поддержанием гомеостаза. Однако, во-первых, такой

способ решения проблемы, направленный исключительно на обеспечение выживания индивидуума в экстремальных условиях, вступает в очевидное противоречие с той ролью, которая отводится воспроизводительной системе на популяционно-видовом уровне, когда жизнь конкретной особи, исключенной из процесса воспроизводства, лишена смысла. Во-вторых, процессы размножения гониев и инициирования новых мейотических циклов представляются менее энергозатратными, чем процессы, связанные с ростом ооцитов, даже в период превителлогенеза и, тем более, в период вителлогенеза. И действительно, если экспериментальное воздействие прекращали до того, как начинался превителлогенный рост ооцитов, то впоследствии у подопытных рыб наблюдали увеличение фонда половых клеток, как в опытах с русским осетром и мозамбикской тилляпией. Если же начало превителлогенного роста ооцитов совпадало с продолжением токсического воздействия, наблюдали не только ликвидацию избыточного числа ооцитов, но и сокращение фонда половых клеток у подопытных рыб по сравнению с контрольными, как это произошло в опытах с горбушей и форелью. При этом сокращение числа ооцитов периода превителлогенеза у подопытных рыб не компенсировалось, и впоследствии приводило к сокращению величины абсолютной плодовитости.

Примечательна в этой связи ситуация с мозамбикской тилляпией. Казалось бы, экспериментальное воздействие совпало у подопытных рыб с периодом превителлогенеза. Однако половое созревание одновозрастных самок тилляпии происходит не одновременно, а на протяжении 1-2 мес. Поэтому к моменту окончания воздействия, судя по микрофотографиям поперечных срезов на которых присутствовало по 1-2 клетки, формирование старшей генерации у большинства особей не завершилось. К тому же в отличие от лососевых рыб – горбуши и форели, нерестящихся соответственно один раз в жизни и один раз в год, тилляпия это постоянно нерестящаяся рыба, у которой половые клетки очередной генерации достигают дефинитивного состояния через каждые 30-40 сут. С учетом всех этих обстоятельств, представляется естественным, что у подопытных рыб достоверно увеличилось как число половых клеток в момент окончания воздействия, так и величина абсолютной плодовитости впоследствии.

Если токсическое воздействие на рыб начинали после того, как в гонадах уже была сформирована генерация половых клеток периода превителлогенеза, то не наблюдали ни увеличения ее численности, ни сокращения. Увеличения фонда ооцитов в период превителлогенеза, в условиях экспериментальной нагрузки, конечно, не ожидали, принимая во внимания логику развития адаптивной реакции (Селье, 1960) для

поддержания гомеостаза подопытных рыб. Сокращение же фонда ооцитов представлялось вполне вероятным, особенно с учетом многочисленных литературных данных, приведенных в предыдущей главе.

Однако за все годы исследования ооцитов периода превителлогенеза у рыб в естественных условиях обитания и при заводском выращивании, в экспериментах с применением гибридизации и с использованием пониженной температуры, гормонального или токсического воздействия, а также при выращивании рыб разных видов в течение полного периода полового созревания, выявить массовую резорбцию этих клеток не удалось. Сжатие ооцитов, иногда и массовое, выявленное нами многократно, является артефактом фиксации. Особенно примечательно, что ооциты периода превителлогенеза сохраняют устойчивость даже в периоды массовой гибели части подопытных рыб, что можно рассматривать с позиции хорошо известной идеи о надежности функционирования воспроизводительной системы у рыб (Персов, 1972).

Вместе с тем, не вызывает сомнений, что механизм массовой резорбции ооцитов периода превителлогенеза у миног и рыб существует, однако «применяется» он крайне редко. Наверняка можно исследовать это явление у личинок ряда видов ручьевых миног как механизм сокращения величины потенциальной плодовитости до величины абсолютной плодовитости при переходе от паразитического к непаразитическому образу жизни и значительному уменьшению в связи с этим длины и массы тела (Hardisty, 1964; Hughes, Potter, 1969). Однако даже у миног этот механизм является не повсеместным. Так, у другого непаразитического вида миног – *Ichthyomyzon gagei* размеры тела – от 86 до 152 мм (Dendi, Scott, 1953) и плодовитость – от 713 до 2485 (Beamish, 1982; Beamish et al., 1994), являются такими же, как и у ручьевой миноги. Однако атрезия ооцитов у личинок этого вида отсутствует, а величина потенциальной и фактической плодовитости практически не различаются (Beamish, Thomas 1983). Поскольку род *Ichthyomyzon* считается самым древним в семействе, а род *Lampetra* – одним из самых молодых (Potter, Hilliard, 1987), можно полагать, что механизм устранения избыточного фонда ооцитов с эволюционных позиций существует, по-видимому, как временное явление.

При этом у миног, как и у рыб, массовая атрезия хорошо известна, но в период вителлогенеза. Она может произойти в ходе завершающих фаз оогенеза (Busson-Mabillot, 1967), а также при современном изменении жизненного цикла. Например, морская минога *Petromyzon marinus*, проникнув в Великие озера и лишившись выхода к морю, трансформировалась в пресноводную паразитическую форму. Как это характерно и для

других видов пресноводных паразитических миног, сформировавшихся в ходе эволюции (Renaud, 2011), размеры производителей этой формы и величина абсолютной плодовитости стали меньше, чем у формы с морским нагулом (Applegate 1950; Manion 1972; Potter et al 1983). При этом снижение плодовитости у этих животных осуществляется в онтогенезе и является результатом массовой резорбции ооцитов периода вителлогенеза (Hardisty 1963).

Анализируя темп роста ооцитов, мы установили, что условия воспроизводства молоди горбуши и кеты в Сахалинской области значительно различаются, о чем в первую очередь можно судить по температурным графикам. Ясно, что в пределах обширного ареала обоих видов эти различия оказываются еще более выраженными (Рухлов, 1969; Heard, 1991; Salo, 1991; Путивкин, 1999; Леман, 2003). Главным итогом исследования природной и заводской молоди горбуши и кеты стали значительные различия в состоянии яичников у молоди кеты перед выпуском с разных предприятий, более существенные, чем у созревающей в один год молоди горбуши. Важным стал и известный в научной литературе факт неодновременной катадромной миграции одновозрастной молоди кеты, но показанный нами с позиции состояния яичников.

По совокупности всех полученных данных применительно к возрасту полового созревания кеты можно рассмотреть следующий ход событий. Изначально у молоди кеты в конкретной реке (на рыбозаводе) устанавливается определенный темп гаметогенеза, регулируемый условиями, в которых проходит ее развитие, в первую очередь температурным режимом. При этом различный темп развития и роста ооцитов на разных заводах, соответственно термическим условиям, осуществляется в течение всего периода выращивания от оплодотворения до выпуска.

В дальнейшем, темп гаметогенеза остается высоким либо более длительное время, если молодь летом (при относительно высокой температуре) совершает продолжительную миграцию в прибрежье, либо менее длительное время, если молодь относительно рано выходит в морскую среду. Уже в период морской миграции у разных особей генерации каждого года устанавливается определенная дифференциация в состоянии гонад, соответствующая таковой у лососей с длительным речным периодом (Иевлева, 1970; 1985; Мурза, Христофоров, 1991). Эта дифференциация, являющаяся отражением разного темпа оогенеза, в дальнейшем и приведет к половому созреванию в разном возрасте. Представляется вероятным, что, чем более комфортными были условия для содержания рыб, особенно в период, когда в яичниках начинается развитие ооцитов периода

превителлогенеза, тем большее число особей достигнет половой зрелости в молодом возрасте (3+ и ранее). Можно создать наиболее благоприятные условия и добиться полового созревания всех особей каждого поколения одновременно и в возрасте 2+. Это наглядно было продемонстрировано именно для кеты после ее интродукции в бассейн Каспийского моря (Магомедов, 1970; 2002; Магомедов и др., 1979).

Казалось бы, результаты экспериментов с термическим воздействием на молодь кеты, по крайней мере, не подтверждают данное заключение. Однако следует принять во внимание тот факт, что с момента оплодотворения на Березняковском ЛРЗ и до возраста 111 сут. после вылупления в лаборатории все зародыши, личинки и мальки развивались в одинаковых условиях, за исключением того двухнедельного периода, когда подопытных рыб выдерживали при пониженной температуре. Очевидно, такой короткий срок является недостаточным для того, чтобы пониженная температура могла существенно повлиять на темп роста ооцитов, особенно если учесть, что температура как 10-12°C, так и 1,3-1,8°C не является экстремальной для развития молоди кеты. Эти температуры можно назвать повышенными или пониженными лишь при сравнении друг с другом. Для выращивания молоди кеты и одна, и другая температура воды являются естественными. Так, в Сахалинской области при температуре 10-12°C молодь кеты выращивают на ЛРЗ «Янкито», а при 1,3-1,8°C в зимние месяцы на многих предприятиях – Таранайском, Соколовском, Сокольниковском и других. При этом есть и такие предприятия, на которых молодь кеты успешно выращивают и при более суровых условиях, при температуре ниже 1°C – на Лесном, Ясноморском, Анивском, Урожайном и других.

Вместе с тем, на наш взгляд наиболее убедительно в пользу гипотезы о влиянии темпа роста ооцитов на темп полового созревания производителей кеты, свидетельствуют данные, полученные при выращивании радужной форели – наиболее близкородственного вида для тихоокеанских лососевых среди полициклических лососевых (Царев и др., 1984), рядом авторов относимого к этому же роду *Oncorhynchus* (Smith, Stearley, 1989). Как и у кеты, производители радужной форели одного поколения достигают полового созревания в течение нескольких лет. Мы, создавая, максимально комфортные температурные условия, добились полового созревания всех особей одновременно и, полагаем, в максимально короткий срок. Этот факт позволяет нам отметить два обстоятельства. Во-первых, очевидно, что одновременное половое созревание всех самок радужной форели, так же, как и всех самок кеты в бассейне Каспийского моря, произошло под влиянием условий выращивания. Во-вторых, представляется очевидной роль превителлогенного

роста ооцитов в достижении одновременного полового созревания, потому что именно в период превителлогенеза и происходит разделение группы ровесников на особей, созревающих в разном возрасте, или, как в рассмотренных примерах, не происходит.

По совокупности данных, полученных при выращивании лососевых рыб в течение полного периода полового созревания, а также данных, имеющих в литературе, обозначилась следующая закономерность. У лососей с одновременным половым созреванием период от вылупления зародышей до завершения превителлогенного роста ооцитов всегда короче, чем от начала периода вителлогенеза до полового созревания. Здесь отметим, что период вителлогенеза в данной трактовке (Чмилевский, 2017) начинается с вакуолизации цитоплазмы. В противоположность этому, если период превителлогенного роста оказывается продолжительнее периода вителлогенеза, то полового созревания в первый год для данного поколения достигает только часть особей.

Так, впервые ооциты периода вителлогенеза на этапе вакуолизации цитоплазмы у самок форели при температуре 15-17°C выявили в возрасте 12 мес., причем сразу у всех особей. Однако, руководствуясь данными литературы, такого быстрого наступления этого периода развития не ожидали и фиксации с возраста 8 мес. не делали. Связано это было с экономией в эксперименте уже сравнительно крупных особей при относительно ограниченном объеме лабораторной системы с замкнутым циклом водоснабжения. Если учесть, что диаметр ооцитов у самок в возрасте 12 мес. варьировал от 679 до 784 мкм (Зеленников, 1999), а вакуолизация цитоплазмы начинается в ооцитах 300-330 мкм, то можно полагать, что период вителлогенеза у этих рыб начался не позднее, чем в возрасте 10 мес. Половое же созревание в среднем произошло еще через 11 мес., в возрасте 21 мес.

Точно такая же закономерность прослеживается и при выращивании самок каспийского лосося. Начало периода вителлогенеза у них было выявлено через 21,5 мес. после вылупления, а половое созревание, всех особей, еще через 24 мес., или в среднем в возрасте 45,5 мес.

Совершенно иная картина выявляется у рыб, у которых половое созревание производителей проявляется не одновременно. Так, у радужной форели, в ходе выращивания при температуре 19-20°C, начало вителлогенеза также выявили в возрасте 12 мес. Однако в данном случае, нет сомнений, что в этом возрасте мы наблюдали самое начало этого периода в развитии ооцитов, поскольку вакуоли были выявлены у единственной особи в ооцитах со средним диаметром 298 мкм. Как мы показали, развитие гонад при этой температуре завершилось массовой резорбцией ооцитов, но, судя по темпу

состоянию гонад, половое созревание должно было произойти через 9 мес. после начала вителлогенеза и только у 31,0% особей.

Аналогичной была ситуация и у других видов. Так, у онежского лосося период вителлогенеза начался в возрасте 41,5 мес., а половое созревание части особей еще через 12 мес. (Зеленников и др, 2019в). У самок лосося ладожской популяции начало периода вителлогенеза наблюдали через 29-30 мес., а половое созревание отдельных особей через 12 мес. (Мурза, Христоворов, 2017), хотя преимущественный возраст достижения половой зрелости у рыб этой популяции составляет 4+ (Мурза, Христоворов, 2019). Еще короче оказался период вителлогенеза у части самок атлантического лосося при создании маточного стада этого вида на Лужском лососевом заводе – около 27 мес. до начала вителлогенеза и еще около 5-6 мес. до полового созревания (Мурза, Христоворов, 2010). Такую же тенденцию можно отметить и у видов других групп. Например, у части самок обской пеляди продолжительность периода ранней профазы мейоза и превителлогенеза составляет 70-80% от общей продолжительности периода полового созревания (Селюков, 2012).

Таким образом, именно условия, в которых содержатся рыбы при протекании у них периода превителлогенеза и приводят к половому созреванию в разном возрасте. Примечательно, что при одновременном созревании самок период вителлогенеза оказывается более длительным. Так, период от начала вителлогенеза до полового созревания у всех самок форели при температуре 15-17°C продолжался около 11 мес., а у отдельных особей при температуре 19-20°C – около 9 мес. Период же вителлогенеза у отдельных самок атлантического лосося при создании маточных стад в 5,5-6 мес. является, вероятно, минимально коротким при половом созревании. Представляется очевидным, что относительно ускоренный темп вителлогенеза у отдельных особей определен наследственно и не связан с условиями их выращивания.

По совокупности полученных фактов и высказанных соображений мы сформулировали десять выводов, по два вывода для каждой из пяти заявленных задач.

## ВЫВОДЫ

1. Феминизация гонад у самцов круглоротых и рыб – ювенильных протогинических гермафродитов – является видоспецифичной и осуществляется на разных этапах онтогенеза – в период эмбрионального, личиночного или малькового развития. При этом естественная инверсия пола у самцов всех видов завершается не ранее появления в их гонадах превителлогенных ооцитов.

2. У генотипических самцов гормональный статус не предусматривает полноценного перехода клеток к превителлогенезу, однако потенциально ооциты являются жизнеспособными и применение экзогенного эстрадиола предотвращает их резорбцию; вследствие этого, процесс естественной инверсии пола может быть остановлен на любом этапе его реализации. Со временем различия в состоянии гонад у таких самцов и интактных самок нивелируются, и у всех особей происходит развитие обычных яичников.

3. Формирование фонда ооцитов при поли- и моноциклической стратегии развития в раннем онтогенезе круглоротых и рыб оказывается принципиально сходным. При полициклии мейоциты переходят в период превителлогенеза группами, определяя волновой характер формирования фонда ооцитов. У моноциклических круглоротых и рыб в раннем онтогенезе неизменно осуществляется формирование избыточной генерации половых клеток начальных этапов развития – гониев и ооцитов периода ранней профазы мейоза. После перехода к превителлогенезу определенного числа мейоцитов формируется единственная генерация ооцитов этого периода, численность которой тесно коррелирует на популяционном и видовом уровне с величиной абсолютной плодовитости у производителей.

4. У моноциклических лососевых после формирования единственной генерации ооцитов периода превителлогенеза продолжается размножение гониев и инициирование новых мейотических циклов, которое стимулируется пребыванием рыб в пресной воде и до совершения катадромной миграции не ослабевает. Половые клетки, не вошедшие в единственную генерацию ооцитов на этапах ранней профазы мейоза и начала превителлогенеза, подвергаются тотальной резорбции, предотвратить которую можно внешним эстрогенным воздействием

5. Выращивание полициклических рыб в непривычных для вида условиях, а также при гормональном или умеренно токсическом воздействии может вести к формированию избыточной генерации половых клеток. Дальнейшая их судьба определяется при вступлении в период превителлогенеза. Если до его начала экстремальная нагрузка

прекращается, увеличение числа мейоцитов сопровождается увеличением числа превителлогенных ооцитов, а в дальнейшем – увеличением величины абсолютной плодовитости; при сохранении воздействия происходит ликвидация избыточного и сокращение исходного числа половых клеток, что в конечном итоге ведет к сокращению величины абсолютной плодовитости.

6. Умеренное токсическое, температурное или гормональное воздействие на рыб после формирования в яичниках фонда ооцитов периода превителлогенеза не приводит к изменению числа половых клеток даже в случае заметного снижения темпа роста подопытных рыб; ооциты начала превителлогенеза у молоди рыб устойчивы к сублетальному токсическому воздействию и не подвергаются резорбции при концентрациях, летальных для большей части особей.

7. Темп оогенеза у молоди кеты в зависимости от условий воспроизводства существенно различается, но при любом температурном режиме дифференцировка пола начинается после вылупления зародышей, а превителлогенный рост ооцитов на этапе личиночного развития – при сохранении у рыб остатка желточного мешка.

8. Перед выпуском с рыбоводных предприятий состояние гонад у мальков кеты не зависит от массы рыб, но тесно связано с суммой накопленных за период выращивания градусо-дней. При этом на тех заводах Сахалина, на которых среди производителей преобладают особи старших возрастных групп – 4+, 5+, 6+, выпускают мальков с наименее развитыми яичниками, и напротив, более развитые гонады характерны для мальков на заводах, где основу промыслового стада составляют молодые особи – в возрасте 2+ и 3+. Диаметр ооцитов и уровень развития половых желез у молоди кеты варьирует в более широком диапазоне, чем у молоди горбуши, что является первым шагом выявления среди одновозрастных мальков особей с разным темпом оогенеза.

9. Для каждого вида лососевых рыб путем подбора температурного режима возможно создание максимально комфортных условий, при которых производители, достигающие в природе полового созревания в течение нескольких лет, созреют одновременно.

10. Разделение генерации одновозрастных самок на особей, созревающих в разные годы, приходится на период превителлогенеза. При одновременном половом созревании продолжительность периода вителлогенеза у всех рыб превышает длительность превителлогенеза. При созревании в разные годы первыми достигают зрелости особи, вителлогенез у которых проходит в более сжатые сроки, чем период превителлогенеза.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абакумов В.А. Об образе жизни балтийской проходной миноги // Вопросы ихтиологии. 1956. Вып. 6. С. 122-128.
2. Абакумов В.А. О причинах сходства в экологии между Salmonidae и Petromyzonidae // Научные доклады высшей школы. Биологические науки. 1960. № 3. С. 25-27.
3. Абакумов В.А. Систематика и экология европейской ручьевой миноги *Lampetra planeri* (Bloch) // Вопросы ихтиологии. 1964. V. 4. № 3. Р. 423–432.
4. Абдусаматов А.С. Современное состояние и эколого-экономические перспективы развития рыбного хозяйства Западно-Каспийского региона России // Автореф. дис. док. биол. наук. Махачкала ДГУ. 2004. 46 с.
5. Айзенштадт Т.Б. Цитология оогенеза. М.: Наука. 1984. 248 с.
6. Акимова Н.В., Панаиотиди А.И., Рубан Г.И. Нарушения в развитии и функционировании репродуктивной системы осетровых рыб (Acipenseridae) реки Енисей // Вопросы ихтиологии. 1995. Т. 35. № 2. С. 236-246.
7. Акимова Н.В., Рубан Г.И. Систематизация нарушений воспроизводства осетровых при антропогенном воздействии // Вопросы ихтиологии. 1996. Т. 36. № 1. С. 65-80.
8. Акимова Н.В. Оценка репродуктивной системы // Экол. состояние бассейна р. Чапаевка в условиях антропог. воздействия. Биол. индикация. Тольятти. 1997. С.282-287.
9. Акимова Н.В., Попова О.А., Решетников Ю.С., Кашулин Н.А., Лукин А.А., Амундсен П.А. Морфологическое состояние репродуктивной системы рыб в водоемах Кольского полуострова // Вопросы ихтиологии. 2000. Т. 40. № 2. С. 282-285.
10. Алабастер Д.Ж., Ллойд Р. Критерии качества воды для пресноводных рыб. М.: Наука. 1984. 223 с.
11. Алешин С.А. Особенности формирования фонда половых клеток у молоди радужной форели при выращивании на кормах с повышенным содержанием продуктов окисления жиров // Труды ГосНИОРХ. 1986. Вып. 246. С. 142-148.
12. Алешин С.А. Ранний гаметогенез радужной форели при различных пищевых и температурных режимах // Автореф. дисс. канд. биол. наук. Л. 1987. 20 с.

13. Алешин С.А., Чмилевский Д.А. Функциональные корреляции процессов формирования фонда половых клеток у радужной форели с условиями питания в раннем онтогенезе // Труды ГосНИОРХ. 1987. Вып. 263. С. 35-43.
14. Алешин С.А., Плюхин Г.В. Влияние условий выращивания на морфофункциональную организацию цитоплазмы ооцитов протоплазматического роста у радужной форели // Труды ГосНИОРХ. 1987. Вып. 263. С. 129-137.
15. 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.
16. Акулин В.Н., Гавренков Ю.И., Марковцев В.Г. О нахождении жилой формы симы *Oncorhynchus masu* (Brevoort) (Salmonidae) в водохранилище Артемовского гидроузла (Южное Приморье) // Вопросы ихтиологии. 1984. Т. 24. Вып. 5. С. 856-859.
17. Анохина Л.Е. Закономерности изменения плодовитости рыб. М.: Наука. 1969. 291 с.
18. Анохина В.С. Использование в марикультуре производителей горбуши из рек Кольского полуострова. Рыбохоз. Исслед. Мир. Океана. Тр. Межд. Науч. Конф. Владивосток 27-29 сент 1999. 1999. С. 96-98.
19. Анохина В.С., Журавлева Н.Г., Пахомова Н.А. Состояние репродуктивной системы молоди атлантического лосося // «Наука и образование – 2003», Мурманск, 2-16 апр., 2003. Ч. 4. Мурманск. 2003. С. 59-60.
20. Антонов Н.П. Биология, динамика численности и рациональное использование рыб Камчатки и прилегающих морских акваторий // Автореф. дисс. канд. биол. наук. Москва. ВНИРО. 2011. 51 с.
21. Арбузова Л.Л. Ультраструктурная организация клеток Лейдига горбуши в посленерестовый период // Биология моря. 1995а. Т. 21. № 1. С. 45-50.
22. Арбузова Л.Л. Морфофункциональная характеристика клеток Лейдига семенников горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* в период нерестовой миграции // Морфология. 1995б. Т. 108. № 3. С. 72-75.
23. Арбузова Л.Л. Субмикроскопическое исследование семенников ювенильной горбуши и симы // Тез. конф. по Рыбохозяйственному исследованию океана, 1996, с.168.
24. Артамонова В.С., Пономарева М.В., Игнатенко В.В., Махров А.А. Особенности развития гонад у искусственно выращенной триплоидной и диплоидной

беломорской горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum) // Сибирский экологический журнал. 2018. Т. 25. № 1. С. 366-377.

25. Архипов А.Г., Осадчий В.М., Сазонова Д.Ю., Саускан В.И., Серпунин Г.Г. К вопросу о стратегии развития рыбохозяйственной отрасли Российской Федерации до 2030 года // Известия КГТУ. 2017. № 47. С. 13-21.

26. Аршавская С.В., Иванова М.В., Горбушин С.В. О разведении миноги на Лужском производственно-экспериментальном заводе ФГУ «Севзапрыбвод» // Рыбное хозяйство. 2008. № 6. С. 84-85.

27. Ахундов М.М. Влияние экологических факторов на ранний гамето- и гонадогенез осетровых рыб // Автореф. дис. канд. биол. наук. Баку. 1991. 18 с

28. Ахундов М.М. Влияние температуры на развитие половых желез у молоди стерляди // В кн. "Физиология морских животных" Тез. докл. Всес. конф., Апатиты - 1989 - с.157.

29. Бабушкин Ю.П. Продуцирование спермы самцами радужной форели разных групп и возрастов // Труды ГосНИОРХ. 1974. Вып. 97. С. 115-122.

30. Бабушкин Ю.П. Сперматогенез и половые циклы самцов радужной форели // Труды ГосНИОРХ. 1976. Вып. 117. С. 51-63.

31. Багнюкова Т.В., Овен Л.С. Порционная плодовитость и нарушения гонадо- и гаметогенеза у некоторых черноморских рыб с многопорционным типом нереста // Вопросы ихтиологии. 1999. Т. 39. № 1. С. 98-104.

32. Багров А.М. Гаметогенез и половые циклы растительноядных // Рыбоводство и рыболовство. 2000. № 3. С. 19.

33. Баранникова И.Н. Функциональные основы миграции рыб; Л.: Наука, 1975, 210 с.

34. Баранникова И.А., Дюбин В.П., Буковская О.С., Реброва Л.В., Травкин В.Г. Гонадотропная функция гипофиза и динамика гонадотропина и половых стероидов в крови осенней кеты *Oncorhynchus keta* реки Амур при завершении полового цикла // Вопросы ихтиологии. 1989. Т. 29. № 5. С. 823-830.

35. Баранникова И.А., Дюбин В.П., Боев А.А., Буковская О.С., Васильева Е.В., Травкин В.Г. Роль гормональных воздействий в регуляции созревания самок осенней кеты *Oncorhynchus keta* // Вопросы ихтиологии. 1990. Т. 30. Вып. 4. С. 660-667.

36. Баранникова И. Особенности гормональной регуляции репродуктивной функции низших позвоночных // Физиология, биохимия и биофизика в Санкт-

Петербургском университете: К 70 летию основания института физиологии им. А.А. Ухтомского. СПб. СПбГУ. 2004. С. 50-65.

37. Бархалов Р.М. Особенности развития и функционирования репродуктивной системы рыб (на примере семейства Сурпинidae) в изменившихся экологических условиях водоемов Северно-Западного Каспия // Автореф. дисс. канд. биол. наук. Махачкала. 2005. 27 с.

38. Басов Ю.С. Биологические основы лососеводства на геотермальных водах // Биология моря. 1986. № 2. С. 32-38.

39. Баюнова Л.В. Роль стероидных гормонов в осуществлении жизненного цикла себрюги (*Acipenser stellatus Pallas*) в природе и при искусственном воспроизводстве // Автореф. дисс. канд. биол. наук. 2001. СПб. СПбГУ. 2001. 168 с.

40. Белова Н.В., Емельянова Н.Г., Макеева А.П., Рябов И.Н. Состояние воспроизводительной системы рыб из озера Кожановское (Брянская область), загрязненного радионуклидами в результате аварии на Чернобыльской АЭС // Вопросы ихтиологии. 2001. Т. 41. № 3. С. 358-367.

41. Белова Н.В., Емельянова Н.Г., Полякова Н.И. Состояние репродуктивной системы рыб Киевского водохранилища и р.Тетерев // Радиобиология, радиоэкология, радиационная безопасность. М. 25-28 окт. 2010. Т. 2. Секц. VIII-XIV. 2010. Р. 4.

42. Белянина Т.Н. О плодовитости летней амурской кеты // Биологические науки. 1963. № 4. С. 24-30.

43. Беляев В.А., Кеня В.С. Условия воспроизводства и численность дальневосточной сардины в северо-западной части Тихого океана. Сельдевые северной части Тихого океана. Владивосток: ТИНРО. 1985. С. 77-93.

44. Беляев В.А., Новиков Ю.В., Свирский В.Г. Запасы дальневосточной сардины и изменения в ихтиоценозе СЗТО // Рыбное хозяйство. 1991. № 8. С. 24-28.

45. Беляев В.А., Федоров К.Е., Сакун О.Ф. Оогенез и особенности функции половых желез у рыб эпинеретического комплекса течения Куроисио. СПб.: Изд-во СПбГУ. 2004. 124 с.

46. Берг Л.С. Рыбы пресноводных вод СССР и сопредельных стран. Том. 1. М.-Л. Изд-во АН СССР. 1948. 468 с.

47. Берг Л.С. Экологические параллели между миногами и лососевыми. Очерки по общим вопросам ихтиологии. М.-Л. Изд-во АН СССР. 1953. С. 118-121.

48. Берг Л.С. Карликовые самцы у рыб // Природа. 1937. № 8. С. 96-100.

49. Билько В.П., Макиевский Н.Н. Влияние рН водной среды на воспроизводство рыб // рукопись депонирована в ВИНТИ. 1987. 42 с.
50. Билько В.П. Влияние величины рН воды на икру рыб в период оплодотворения и на различных стадиях ее развития // Гидробиологический журнал. 1995. Т. 31. № 2. С. 23-27.
51. Богданова В.А. Гаметогенез у гиногенетических и гибридных форм сиговых рыб // Автореф. дисс. канд. биол. наук. СПб. СПбГУ. 1991. 17 с.
52. Богерук А.К. Евтихиева Н.Ю., Ильясов Ю.И. Каталог пород, кроссов и одомашненных форм рыб России и СНГ. М. Агропресс. 2001. 206 с.
53. Богерук А.К. Биотехнологии в аквакультуре: теория и практика. М. ФГНУ «Росинформагротех». 2006. 231 с.
54. Боровик Е.А. Радужная форель. Минск. Наука и Техника. 1969. 154 с.
55. Буранбаева Г.Я. Плодовитость и изменчивость размеров икринок радужной форели в связи с ее акклиматизацией в озерах системы Кунгей-Алатау // Тез. докл. на конф. "Биологические основы рыбного хозяйства республик Средней Азии и Казахстана", Ашхабад. 1974. с.24-26.
56. Бугаев Л.А., Рудницкая О.А., Засядько А.С., Ниточка О.А. Состояние гонад осетровых рыб Азовского моря в современный период // Современные проблемы физиологии и экологии морских животных (рыбы, птицы, млекопитающие). Ростов-на-Дону. 2002. С. 21-24.
57. Бугаев В.Ф. Азиатская нерка-2 (биологическая структура и динамика численности локальных стад в конце XX – начале XXI вв.). Петропавловск-Камчатский. Изд-во «Камчатпресс», 2011. 380 с.
58. Бурлаков А.Б. Половая специфичность гипофизарных гонадотропинов у икротечущих рыб. М. Изд-во МГУ. 1997. 208 с.
59. Бурлаков А.Б. Гормональная регуляция репродуктивной функции у икротечущих рыб // Автореферат дисс. докт. биол. наук. М. МГУ. 2002. 48 с.
60. Бурлаков А.Б. Особенности формирования в гонадотропоцитах гипофиза овуляторной волны гонадотропина при искусственном воспроизводстве рыб с высокой плодовитостью // Вестник Тюменского государственного университета. Экология и природопользование. 2015. Т. 1. № 1. С. 126-132.
61. Бурмакин Е.В. Акклиматизация пресноводных рыб в СССР // Труды ГосНИОРХ. Т. 53. Л., 1963. С. 3-317 с.

62. Бьёркнес В., Вог А. Миграция и статистика уловов горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walb.) в районе Финмаркена Северная Норвегия // Вопр. ихтиологии. 1981. Т. 21. вып. 1. С. 57-62.
63. Ванякина Е.Д. Генетика определения пола и некоторые вопросы гормональной регуляции пола у костистых рыб // Генетика, селекция и гибридизация рыб. М. 1969. с. 11-29.
64. Веригин Б.В., Белова Н.В., Емельянова Н.Г., Макеева А.П., Выборнов А.А., Рябов И.Н. Радиобиологический анализ белого толстолобика *Hypophthalmichthys molitrix* в водоеме-охладителе Чернобыльской АЭС в послеаварийный период. 3. Результаты искусственного воспроизводства облученных рыб // Вопросы ихтиологии. 1996. Т. 36. № 2. С. 248-259.
65. Виноградов Г.А., Комов В.Т. Особенности ионной регуляции окуня *Perca fluviatilis* L. в связи с проблемой закисления водоемов // Вопросы ихтиологии. 1985. Т. 25. № 1. С. 137-144.
66. Водный кодекс Российской Федерации от 16 ноября 1995 г. N 167-ФЗ (ВК РФ) (с изменениями и дополнениями).
67. Волобуев В.В. О зимовке молоди кеты в родном нерестовом водоеме // X Всесоюзный симпозиум «Биологические проблемы Севера» Магадан. Часть 2. 1983. С. 158.
68. Воловик С.П., Ландышевская А.Е. Некоторые вопросы биологии осенней кеты Сахалина // Известия ТИНРО. 1968. Т. 65. С. 108-118.
69. Воловик С.П., Ландышевская А.Е., Смирнов А.И. Материалы по эффективности размножения горбуши на Южном Сахалине // Известия ТИНРО. 1972. Т. 81. С. 69-90.
70. Вундер П.А. Эндокринология пола. М. Наука. 1980. 254 с.
71. Галасун П.Т. Форелевое хозяйство. Киев. «Урожай» 1981. 128 с.
72. Гараджаева Н.Н. Влияние голодания на плодовитость, состояние потомства и развитие гуппи (*Lebister reticulatus*) // Институт физиологии АН Азерб. Респ. Деп. в АЗНИИНТИ 13.01.97, № 2449-Аз97. 1997. 7 с.
73. Гарлов П.Е. Нейросекреторная система рыб (функциональная морфология и роль в размножении) // Дисс. кокт. биол. наук. СПб. СПбГУ. 2000. 407 с.
74. Гарлов П.Е., Кузнецов Ю.К., Федоров К.Е. Искусственное воспроизводство рыб: управление размножением. СПб. СПбГАУ. 2014. 256 с.

75. Гарлов П.Е. Нейроэндокринная регуляция размножения рыб и искусственное воспроизводство их популяций. СПб. СПбГАУ. 2017. 413 с.

76. Гарлов П.Е., Мосягина М.В. Рыбалова Н.Б. Эколого-гистофизиологический обзор участия гипоталамо-гипофизарной нейросекреторной системы в размножении рыб // Труды ЗИН РАН. 2019. Т. 323. № 4. С. 476–497.

77. Гераскин П.П., Металлов Г.Ф., Журавлева Г.Ф., Аксенов В.П., Дубровская А.В., Шигапова А.В. Синицина Т.А., Григорьев В.А., Магзанова Д.К., Чухонкина Г.А. Особенности физиологического состояния осетровых, сельдевых и карповых рыб в современных условиях загрязненности Каспийского моря // Рыбохозяйственные исследования на Каспии: Результаты НИР за 2004 год. Касп.НИИ рыб. х-ва. Астрахань. 2005. С. 305-323.

78. Гербильский Н.Л. Метод гипофизарных инъекций и его роль в рыбоводстве // Метод гипофизарных инъекций и его роль в воспроизводстве рыбных запасов. Л. Изд-во ЛГУ. 1941. С. 5-35.

79. Глубоков А.И., Микодина Е.В., Коуржил Я., Барт Т., Вахта Р. Стимуляция созревания пиленгаса с помощью гонадолиберина и нейрорептиков // Рыбное хозяйство. 1991. № 12. С. 63-65.

80. Глубоков А.И., Попова Н.Р. Международные отношения и исследования России в области морского рыболовства от средневековья до первой четверти XX в. Часть 2. Дальневосточные моря // Вопросы рыболовства. 2013. Т. 14. № 3 (55). С. 510-526.

81. Глубоковский М.К., Животовский Л.А. Популяционная структура горбуши: система флуктуирующих стад // Биология моря. 1986. Вып. 2. С. 39-43.

82. Глубоковский М.К., Животовский Л.А., Викторовский Р.М., Броневский А.М., Афанасьев К.И., Ефремов В.В., Ермоленко Л.Н., Калабушкин Б.А., Ковалев В.Г., Макоедов А.Н., Малинина Т.В., Пустовойт С.П., Рубцова Г.А. Популяционная организация горбуши // Генетика. 1989. Т. 25. № 7. С. 1275-1285.

83. Глубоковский М.К. Эволюционная биология лососевых рыб. М.: Наука, 1995. 343 с.

84. Глубоковский М.К., Лепская В.А., Ведищева Е.В., Кловач Н.В. Промысел тихоокеанских лососей в водах северных Курильских островов: история, современное состояние, перспективы. Труды ВНИРО. 2015. Т. 158. С. 75-88.

85. Глубоковский М.К., Глубоков А.И., Синяков С.А. Перспективы развития рыбохозяйственного комплекса России. Москва. Изд-во «Креативная экономика». 2018. 190 с.
86. Голод В.М. Биологические основы селекции радужной форели по теплоустойчивости // Автореф. дисс. канд. биол. наук. Л. ГосНИОРХ. 1992. 21 с.
87. Гомельский Б.И. Гормональное переопределение пола у рыб и возможности его применения в рыбоводстве // Труды ВНИИПРХ. «Генетика и селекция рыб». 1980. Вып. 28. С. 117-135.
88. Городовская С.Б. Влияние фертилизации на гистологические показатели гонад молоди озерновской красной // Проблемы фертилизации лососевых озер Камчатки. Владивосток: ДВГУ. 1988. С. 105–113.
89. Городовская С.Б. Сравнительный анализ состояния яичников покатной молоди нерки *Oncorhynchus nerka* из реки Озерная в разные годы // Труды ВНИРО. 2002. Т. 141. С. 146-151.
90. Городовская С.Б. Влияние факторов среды на гаметогенез нерки р. Озерная (Западная Камчатка) // Дисс. канд. биол. наук. М. ВНИРО. 2008. 120 с.
91. Городовская С.Б., Сушкевич А.С. Темп оогенеза молоди тихоокеанских лососей в Охотском море осенью в 2011–2013 гг. // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана. 2015. Вып. 36. С. 34–41.
92. Городовская С.Б., Сушкевич А.С. Состояние клеток яичников молоди тихоокеанских лососей в Камчатском заливе (Тихий океан) летом 2010 и 2013 гг. // Исслед. водн. биол. ресурсов Камчатки и сев.-зап. части Тихого океана. 2016. Вып. 40. С. 24-31.
93. Городовская С.Б., Сушкевич А.С. Морфологические отклонения в развивающихся яичниках молоди тихоокеанских лососей в период морских миграций в охотском море // Конф. к 125-летию проф. В.А. Водяницкого. Севастополь, 28 мая – 1 июня, 2018 г. 2018. С. 71-78.
94. Горшкова Г.В., Горшков С.А. Карликовая нерка *Oncorhynchus nerka* (Walb.) в Азабачьем озере на Камчатке // Вопросы ихтиологии. 1977. Т. 17. Вып. 2. С. 220-225.
95. Горяинов А.А., Лысенко А.В., Шатилина Т.А. Половозрелые двухлетки (0.1) кеты из зал. Петра Великого (Приморский край) // Бюллетень № 3 реализации «Концепции дальневосточной бассейновой программы изучения тихоокеанских лососей». Владивосток. ТИНРО-центр, 2008. С. 75–78.

96. Грачев Л.Е. Изменение количества ооцитов у горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum) в морской период жизни // Вопросы ихтиологии. 1971а. Т. 11. Вып. 2. С. 248-257.
97. Грачев Л.Е. Изменение количества овоцитов у кеты *Oncorhynchus keta* (Walb.) во время морского периода жизни // Вопросы ихтиологии. 1971б. Т. 11. Вып. 4. С. 686-696.
98. Грачева М.Н. Биологические основы выращивания радужной форели // Автореф. дис. канд. биол. наук. М. 1955. 14 с.
99. Гриценко О.Ф. К вопросу об эб экологическом параллелизме между миногами и лососями // Известия ТИНРО. 1968. Т. 65. С. 157–169.
100. Гриценко О.Ф. Популяционная структура сахалинской горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* // Вопросы ихтиологии. 1990. Т. 30. Вып. 5. С. 825-835.
101. Груздева М.А., Кузищин К.В., Павлов Е.Д., Буш А.Г., Белова Н.В., Поляков М. П., Малютина А.М., Павлов Д.С. Морфофизиологические закономерности формирования жизненных стратегий мальмы *Salvelinus malma* Камчатки // Вопросы ихтиологии. 2017. Т. 57. Вып. 5. С. 534–552.
102. Гусейнов М.К., Гуссейнов К.М., Гасанова А.Ш. О биологических ресурсах Каспия // Юг России: экология, развитие. 2015. Т. 10. № 2. С. 38-53.
103. Двинин П.А. Некоторые особенности молоди горбуши (*Oncorhynchus gorbuscha* Walbaum) при скате из сахалинских рек в море // Зоологический журнал. 1959. Т. 38. Вып. 7. С. 1268-1269.
104. Державин А.Н. Воспроизводство запасов каспийского лосося. Баку. Аз. ФАН, 1941. 74 с.
105. Дихнич А.В. Биологические основы формирования маточных стад атлантического лосося *Salmo salar* L в заводских условиях // Автореф. дис. канд. биол. наук. СПб. ГосНИОРХ. 2004. 24 с.
106. Долбенская Т.С. К методике определения пола у заводской молоди кеты // «Итоги исследований по вопросам рационального использования и охраны биологических ресурсов Сахалина и Курильских островов». 1984. С. 126-127.
107. Дорофеева Е.А. Систематика и история расселения европейских лососей рода *Salmo* // Вопросы ихтиологии. 1998. Т. 38. Вып. 4. С. 437–447.
108. Дорофеева Е.А., Алексеев А.П., Зеленников О.В., Зеленков В.М. Дальневосточная горбуша в бассейне Белого моря // Рыбное хозяйство. 2006. №6. С. 71-73

109. Дубинина А.Ю., Золотов А.О. Атрезия ооцитов северной двухлинейной камбалы *Lepidopsetta polyxstra* (Pleuronectiformes, Pleuronectidae) тихоокеанских вод Камчатки // Известия ТИНРО. 2015. Т. 180. С. 99-106.
110. Дуркина В.Б. Способы резорбции вителлогенных ооцитов у полосатой камбалы *Pleuronectes pinnifasciatus* // Биология моря. 2006. М. 32. № 1. С. 69-72.
111. Дуркина В.Б., Черкасова И.В. Аномалии оогенеза у полосатой камбалы *Pleuronectes pinnifasciatus* из Амурского залива Японского моря // Известия РАН. Серия биологическая. 2007. № 5. С. 591-597.
112. Дуркина В.Б., Ким Л.Н. Оценка состояния яичников некоторых видов рыб из залива Петра Великого Японского моря в связи с его антропогенным загрязнением // Вопросы ихтиологии. 2010. Т. 50. № 4. С. 533-540.
113. Жигалин А.Ю. Расчет гонадосоматического индекса дальневосточной сардины // Биология моря. 1987. № 5. С. 72-74.
114. Жульков А. И. Биологические особенности кижуча острова Сахалин // Биология лососевых. Южно-Сахалинск. 1978. С. 40-42.
115. Журавлева Г.Ф., Земков Г.В. Структурные нарушения в ооцитах в зависимости от патоморфогенеза печени осетровых при кумулятивном токсикозе // Осетровые на рубеже 21 века. Астрахань. 11-15 сент. 2000. С. 144-145.
116. Журавлева Н.Г., Пахомова Н.А., Ларина Т.М. Особенности оогенеза атлантической трески // Мат. межд. науч.-практ. конф. «Наука и образование – 2005». Мурманск 6-14 апр. 2005. С. 9-10.
117. Заварина Л.О. Биологическая структура кеты *Oncorhynchus keta* Северо-Восточного побережья Камчатки // Чтения памяти В.Я.Леванидова. 19-21 марта 2003. Вып. 2. 2003. С. 531-540.
118. Заварина Л.О., Городовская С.Б. Характеристика покатной молоди кеты (*Oncorhynchus keta*) и некоторых гистологических показателей гонад из бассейна р. Хайлюля в 2002-2003 гг. (Северо-восточное побережье Камчатки) // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана. 2011. № 22. С. 63-67.
119. Заварина Л.О. Характеристика нерестового стада кеты (*Oncorhynchus keta*) р. Жупанова (Юго-Восточная Камчатка) // Исслед. водн. биол. ресурсов Камчатки и сев.-зап. части Тихого океана. 2012. № 27. С. 24-32.

120. Зайцева А.Н., Смирнова-Залуми Н.С., Захарова Н.И. Сравнительный анализ роста ооцитов у двух форм байкальского хариуса *Thymallus baicalensis* (Thymallidae) // Вопросы ихтиологии. 2010. Т. 50. № 4. С. 541-547.
121. Зайцева А.Н., Смирнова-Залуми Н.С., Захарова Н.И., Суханова Л.В. Сравнительная морфология ранних этапов оогенеза двух форм байкальского хариуса *Thymallus baicalensis* (Thymallidae) // Гидробиологический журнал. 2017. Т. 53. № 1. С. 63-73.
122. Запорожец Г.В., Запорожец О.М. Лососевые рыболовные заводы Дальнего Востока в экосистемах Северной Пацифики. Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс. 2011а. 268 с.
123. Запорожец Г.В., Запорожец О.М. Лососеводство в зарубежных странах северотихоокеанского региона // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана. 2011б. Вып. 22. С. 28-48.
124. Захарова Н.И. Развитие половых желез радужной форели *Salmo gairdneri* Rich. в пострадационный период. 1. Облучение личинок в возрасте 24 суток после вылупления // Вопросы ихтиологии. 1983. Т. 23. Вып. 6. С. 951-960.
125. Захарова Н.И., Чмилевский Д.А. Влияние пониженной температуры на развитие гонад радужной форели (*Salmo gairdneri*). 1. Воздействие на рыб в возрасте 13 суток после вылупления // Труды ГосНИОРХ. 1983. Вып. 203. С. 40-46.
126. Захарова Н.И. Морфофункциональные закономерности раннего гаметогенеза радужной форели (*Salmo gairdneri* Rich.) при различном температурном режиме и рентгеновском облучении // Автореф. дисс. канд. биол. наук. Л. ЛГУ. 1984. 20 с.
127. Захарова Н.И. Влияние рентгеновского облучения на развитие половых желез в раннем онтогенезе радужной форели // Экология и гистофизиология размножения гидробионтов. Л. ЛГУ. 1989. С. 90-106.
128. Зеленников О.В. О росте рыб и развитии их репродуктивной системы в условиях кислотной среды // Вестник СПбГУ. 1993. Сер. 3. Вып. 2. С. 40-45.
129. Зеленников О.В. Влияние закисления воды на оогенез мозамбикской тилляпии. Воздействие на рыб на этапе дифференцировки пола // Онтогенез. 1994а. Т. 25. № 2. С. 31-36.
130. Зеленников О.В. Влияние закисления воды на физиологическое состояние молоди форели (*Salmo gairdneri* Richardson). Воздействие на рост рыб // Вопросы ихтиологии. 1994б. Т. 34. № 4. С. 575-576.

131. Зеленников О.В. Ускорение и дифференциация оогенеза как формы адаптивной реакции репродуктивной системы рыб на кислотный стресс // ДАН РАН. 1996. Т. 346. № 4. С. 570-572.
132. Зеленников О.В., Чмилевский Д.А. Влияние закисления воды на рост и развитие половых желез тилапии // Труды БиНИИ. 1997. Т. 44. С. 77-83.
133. Зеленников О.В. Влияние закисления воды на становление и развитие воспроизводительной системы рыб в раннем онтогенезе // Дисс. канд. биол. наук. СПб. ГосНИОРХ. 1997. 220 с.
134. Зеленников О.В. Гаметогенез радужной форели *Onchorynchus mykiss*, выращенной в системе с обратным водоснабжением от вылупления до полового созревания при оптимальной температуре // Вопросы ихтиологии. 1999. Т. 39. № 1. С. 89-97.
135. Зеленников О.В., Федоров К.Е. К вопросу о соотношении полов у горбуши в условиях искусственного воспроизводства на Сахалине // «Экологические и функциональные основы адаптации гидробионтов» 2000. С. 30-31.
136. Зеленников О.В. Влияние закисления воды на гаметогенез радужной форели *Parasalmo mykiss* // Вопросы ихтиологии. 2003а. Т. 43. № 3. С. 388-401.
137. Зеленников О.В. Сравнительный анализ состояния яичников у молоди тихоокеанских лососей в связи с проблемой становления моноциклии // Вопросы ихтиологии. 2003б. Т. 43. № 4. С. 490-498.
138. Зеленников О.В., Федоров К.Е. Ранний гаметогенез горбуши *Oncorhynchus gorbuscha Walbaum* при ее естественном и заводском воспроизводстве на островах Сахалин и Итуруп // Вопросы ихтиологии. 2005. Т. 45. № 5. С. 653-664.
139. Зеленников О.В., Сабанова Е.В., Мищенко О.В. Влияние закисления воды на оогенез горбуши *Oncorhynchus gorbuscha Walbaum* // Вопросы ихтиологии. 2007а. Т. 47. № 2. С. 269-272.
140. Зеленников О.В., Мищенко О.В., Отставная Е.В. Морфофизиологический анализ состояния половых желез у молоди чавычи естественного и заводского происхождения // Вестник СПбГУ. 2007б. Сер. 3. Вып. 4. С. 125-128.
141. Зеленников О.В., Вараксин И.А. К методике определения соотношения полов у молоди горбуши // Бюллетень №13 «Концепции дальневосточной бассейновой программы изучения тихоокеанских лососей» Владивосток: ТИНРО. 2018. С. 145-148.

142. Зеленников О.В. Гаметогенез тихоокеанских лососей. 2. Развитие гонад у молоди кеты *Oncorhynchus keta Walbaum* при различных температурных режимах // Известия ТИНРО. 2019а. Т. 198. С. 209-220.
143. Зеленников О.В. Современное состояние рыбоводства в Сахалинской области // «Чтения памяти К.М. Дерюгина» СПбГУ, Биологический факультет. Кафедра ихтиологии и гидробиологии. 2019в. С. 28-39.
144. Зеленников О.В. Гаметогенез тихоокеанских лососей. 3. Сравнительный анализ состояния гонад у молоди тихоокеанских лососей в связи с формированием плодовитости // Труды ЗИН. 2019б. Т. 323. № 4. С. 429-441.
145. Зеленников О.В., Голод В.М. Гаметогенез радужной форели *Parasalmo mykiss*, выращенной от вылупления до полового созревания при температуре около 20°C // Вопросы ихтиологии. 2019. Т. 59. №1. С. 68-79.
146. Зеленников О.В., Мосягина М.В., Кузнецов Ю.К., Голод В.М. Гаметогенез озерного лосося *Salmo salar morpha sebago* онежской популяции в течение периода первого полового созревания // «Состояние и пути развития аквакультуры в Российской Федерации». Калининград. 2019в. С. 105-110.
147. Зеленников О.В., Мякишев М.С. Роль отолитного маркирования молоди тихоокеанских лососей в определении эффективности работы рыбоводных заводов // «Инновационное развитие рыбной отрасли в контексте обеспечения продовольственной безопасности Российской Федерации» Владивосток 18 декабря 2019 г. 2020. С. 39-43.
148. Зеленников О.В., Юрчак М.И. Гаметогенез тихоокеанских лососей. 1. Состояние гонад у молоди горбуши *Oncorhynchus gorbuscha Walbaum*, при ее естественном и заводском воспроизводстве в Сахалинской области // Вопросы ихтиологии. 2019. Т. 59. № 6. С. 741-744.
149. Зеленников О.В., Проскуряков К.А., Рудакова Г.С., Мякишев М.С. Сравнительная характеристика молоди горбуши *Oncorhynchus gorbuscha Walbaum*, при ее естественном и заводском воспроизводстве в Сахалинской области // Биология моря. 2020. Т. 46. № 1. С. 14-23.
150. Зенкевич Г.А., Лаце З.М., Сланке В.П., Кирстукас И.П. Выделение и сравнительная характеристика биологической активности хроматографически очищенных препаратов гипофизарного гонадотропина самцов и самок горбуши *Oncorhynchus gorbuscha (Walbaum)* (Salmonidae) // Вопросы ихтиологии. 1985. Т. 25. Вып. 2. С. 333-342

151. Зикунова О.В. Биологическая характеристика производителей чавычи *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum) бассейна р. Камчатки // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана. 2014. № 32. С. 48-58.
152. Зимакова И.Ю., Кузнецов Ю.К. Состояние семенников у разновозрастных двухлеток радужной форели на протяжении сезона выращивания // Труды ГосНИИОРХ. 1983. Вып. 203. С. 89-95.
153. Зорбиди Ж.Х. Плодовитость и рост кижуча (*Oncorhynchus kisutch*) Камчатки // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана. 2012. Вып. 26. С. 90–100.
154. Евтихиева Н.Ю. О корреляции числа первичных половых клеток и репродуктивных характеристик у видов и пород рыб // Актуальные проблемы водохранилищ. 29 окт. – 3 нояб. Борок. 2002. С. 97-99.
155. Емельянова Н.Г., Павлов Д.А., Лыонг Тхи Бик Тхуан, Во Тхи Ха. Некоторые данные по состоянию гонад полосатой зубатой барабули *Parupeneus multifasciatus* (Mullidae) залива нячанг Южно-Китайского моря // Вопросы ихтиологии. 2013. Т. 53. № 5. С. 603-612.
156. Емельянова Н.Г., Павлов Д.А., Павлов Е.Д., Лыонг Тхи Бик Тхуан, Во Тхи Ха. Аномалии в состоянии яичников полосатой зубатой барабули *Parupeneus multifasciatus* (Mullidae) из прибрежной зоны южной части центрального Вьетнама // Вопросы ихтиологии. 2014. Т. 54. Вып. 1. С. 78-86.
157. Ерохин В.Г. Распределение и биологическое состояние горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* в океане // Вопросы ихтиологии. 1990. Т. 30. Вып. 6. С. 1031–1036.
158. Есавкин Ю.И. Интенсивная технология пресноводного форелеводства // Дисс. Докт. Биол. наук. М. 2012 299 с.
159. Ефанов В.Н., Кочнева З.П. О вторичной поимке половозрелого самца горбуши в возрасте менее одного года // Биология моря. 1980. № 2. С. 88.
160. Иванков В.Н. Внутривидовая дифференциация сахалинской кеты (*Oncorhynchus keta* Walb.) // Рефераты научных работ института биологии моря. 1969. Вып. 1. С. 68-71.
161. Иванков В.Н., Андреев В.Л. Плодовитость тихоокеанских лососей (*p. Oncorhynchus*) // Вопросы ихтиологии. 1969. Т. 9. Вып. 1. С. 80-89.

162. Иванков В.Н. Гибриды осенней кеты *Oncorhynchus keta* (Walb.) с кижучем *O.kisutch* (Walb.) // Вопросы ихтиологии. 1973. Т. 13. Вып. 1. С. 175-176.
163. Иванков В.Н., Митрофанов Ю.А., Бушуев В.П. Случай созревания горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walb) в возрасте менее одного года // Вопросы ихтиологии. 1975. Т. 15. Вып. 3. С. 556-557.
164. Иванков В.Н., Чикина В.С. Формирование плодовитости у моноциклических рыб с разновременным созреванием на примере симы // Биология моря. 1977. № 3. С. 57-63.
165. Иванков В.Н., Падецкий С.Н., Чикина В.С. О посленерестовых неотенических самцах симы *Oncorhynchus masu* (Brevoort) // Вопросы ихтиологии. 1977. Т. 17. Вып. 4. С. 753-757.
166. Иванков В.Н., Падецкий С.Н., Флоран В.С., Чурикова Н.И., Гавренков Ю.И. Неотенические самки симы *Oncorhynchus masu* (Brewer) из реки Кривая (Южное приморье) // Вопросы ихтиологии. 1981. Т. 21. Вып. 5. С. 938-942.
167. Иванков В.Н., О причинах изменчивости плодовитости и возраста полового созревания у моноциклических рыб на примере лососей рода *Oncorhynchus* // Вопросы ихтиологии. 1983. Т. 23. Вып. 5. С. 805-812.
168. Иванков В.Н. Плодовитость рыб. Методы определения, изменчивость, закономерности формирования. Учебное пособие. Владивосток. Изд-во ДВГУ. 1985. 88 с.
169. Иванков В.Н., Митрофанов Ю.А., Омельченко В.Т. Половозрелость горбуши на первом году жизни // Биология моря. 1987. № 1. С. 28-31.
170. Иванков В.Н., Бисага В.Д. Различия популяций симы *Oncorhynchus masu* Приморья и Южного Сахалина // Вопросы ихтиологии. 1995. Т. 35. Вып. 5. С. 580-584.
171. Иванков В.Н., Платошина Л.К., Иванкова З.Г. Определение величины резервного фонда половых клеток и доли желтковых ооцитов в яичниках полициклических видов рыб в период созревания // Биология моря. 1996. Т. 22. № 5. С. 315-317.
172. Иванков В.Н., Марченко С.Л., Ефанова Н.В., Христенко М.К., Кравченко Д.Н., Маслов Д.А., Чавтур А.В. Возраст полового созревания и особенности структуры чешуи кеты в различных частях ареала // Известия ТИНРО. 1997. Т. 122. С. 177-187.
173. Иванов О.А. Морская экология тихоокеанских лососей (*Oncorhynchus sp.*): мифы и явь // Международная конференция «Лососевые рыбы: биология, охрана и воспроизводство», Петрозаводск 18-22 сентября 2017 – с.65-66

174. Иванов О.А. Случай поимки двухгодовиков горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* в море зимой 1994-1995 гг. // Вопросы ихтиологии. 1996. Т. 36. № 5. С. 716-720.
175. Иванова-Берг М.М. Дальнейшие наблюдения над промыслом и биологией невской миноги // Известия ВНИОРХ. 1932. Т. 14. С. 5-36.
176. Ивойлов А.А. Модельные группировки тилапий и анализ их размножения в связи с проблемой полициклического выращивания в установках с замкнутым циклом водоснабжения // Дисс. канд. биол. наук. Л. ЛГУ. 1986. 160 с.
177. Ивойлов А.А. Фенотипическая инверсия пола у самок мозамбикской тилапии *Oreochromis mossambicus* (Peters) в результате применения некачественных кормов // Труды БиНИИ. 1997. № 44. С. 74-76.
178. Игнатъев Ю.И. Некоторые результаты искусственного разведения кеты на о.Сахалин. Динамика численности тихоокеанских лососей и прогнозирование их подходов: Международная научная конференция, Южно-Сахалинск. 2007. С. 16-17.
179. Игнатъева Г.И. Радужная форель *Salmo gairdneri* Richardson, 1936. Объекты биологии развития. М. Наука. 1975. С. 278-308.
180. Иевлева М.Я. Гистологическое строение гонад лососей в период морских миграций // В кн. "Лососевое хозяйство Дальнего Востока". 1964. С. 127-141.
181. Иевлева М.Я. Состояние гонад у молоди красной в период ее миграции из реки в море // Известия ТИНРО. 1970. Т. 73. С. 54-71.
182. Иевлева М.Я. Оогенез и динамика потенциальной плодовитости у молоди красной в озере Дальнем // Известия ТИНРО. 1974. Т. 90. С. 17-37.
183. Иевлева М.Я. К методике раннего прогнозирования возрастной структуры половозрелой части стада красной *Oncorhynchus nerka* (Walbaum)(Salmonida) р.Озерная (Камчатка) // Вопросы ихтиологии. 1982. Том. 22. Вып. 6. С. 949-965.
184. Иевлева М.Я. Оценка темпа полового развития смолтов нерки *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) (Salmonidae) р.Озерной (Камчатка) при прогнозировании возрастной структуры половозрелой части популяции // Вопросы ихтиологии. 1985. Т. 25. Вып. 3. С. 452-458.
185. Изюмова И.М. Рыбоводно-биологическая характеристика самок кижуча выращенных в пресной воде // Труды ГосНИОРХ. 1982. Т. 188. С. 271-277.
186. Исаев А.И. Акклиматизация тихоокеанских лососей в Баренцевом и Белом морях. // Вопросы ихтиологии. 1961. Т.1. вып. 1. С. 46-51.

187. Исаков А.А. Рыбоводно-биологическая характеристика самок ремонтно-маточного стада стальноголового лосося (*Salmo gairdneri Rich.*) в условиях тепловодного хозяйства // Труды ГосНИИОРХ. 1982. Вып. 187. С. 176-188.
188. Каев А.М., Каева В.Е. Изменчивость плодовитости и размера икринок у кеты *Oncorhynchus keta (Walbaum)* и горбуши *Oncorhynchus gorbuscha (Walbaum)* в связи с размерно-возрастной структурой нерестовой части популяции // Вопросы ихтиологии. 1986. Т. 26. Вып. 6. С. 955-964.
189. Каев А.М. Особенности воспроизводства кеты в связи с ее размерно-возрастной структурой. Южно-Сахалинск. СахНИРО. 2003. 287 с.
190. Каев А.М. Значение заводского разведения горбуши и кеты для их промысла с Сахалинской области // Рыбное хозяйство. 2010. №5, С. 57-61.
191. Каев А.М., Животовский Л.А. О вероятном перераспределении горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* между районами воспроизводства разных стад в Сахалино-Курильском регионе // Вопросы ихтиологии. 2017. Т. 57. № 3. С. 264-274.
192. Казанский Б.Н. Овогенез и адаптации, связанные с размножением у рыб // Автореф. дисс. докт. биол. наук. Л. 1956. 36 с.
193. Казарновский М.Я. Питание покатной молоди горбуши и мальмы в реках Сахалина // Рыбное хозяйство. 1962. № 6. С. 24-25.
194. Камышная М.С. Гибриды кеты и горбуши в реках Севера // Рыбное хозяйство. 1963. № 4. С. 24-26.
195. Канидьев А.Н. О формировании пола и размерно-весовой характеристики молоди горбуши *Oncorhynchus gorbuscha (Walbaum)* в связи с условиями развития // Вопросы ихтиологии. 1967. Т. 7. Вып. 4. С. 633-639.
196. Капун Е.А., Кузнецов Ю.К. О потенциальной и конечной плодовитости миног Ленинградской области // Биологическая продуктивность, рыбные ресурсы Балтийского моря и их рациональное использование. Рига. 1979. С. 56-58.
197. Каримов Б.К., Аршаница Н.М. Сравнительная резистентность эмбрионов и личинок карпа, радужной форели и пеляди к низким значениям рН // Труды ГосНИОРХ. 1985. Вып. 235. С. 106-113.
198. Кашулин Н.А. Лукин А.А., Амундсен П.А. Рыбы пресных вод субарктики как биоиндикаторы техногенного загрязнения. Апатиты. Изд-во КНЦ РАН. 1999. 142 с.
199. Кашенко Л.А. Лучевая реакция системы аденогипофизгонады у пойкилотермных животных // Труды ПИНРО. 1971. Вып. 29. С. 135-158.

200. Кеня В.С. Новые данные о миграциях и распределении дальневосточной сардины в северо-западной части Тихого океана // Биология моря. 1982. Т. 9. № 1. С. 44-51.
201. Кирпичников В.С. Генетика и селекция рыб. Л. Наука. 1987. 520 с.
202. Кичигин И.Г., Андреюшкова Д.А., Побединцева М.А., Трифонов В.А. Многообразие типов генетического определения пола лучеперых рыб (*Actinopterygii*) // Цитология. 2016. Т. 58. № 5. С. 405-411.
203. Кловач Н.В. Пространственно-временная динамика встречаемости кеты *Oncorhynchus keta* с размягченными мышцами и факторы ее определяющие // Зоологический журнал. 2001. Т. 80. С. 703-709.
204. Кловач Н.В. Экологические последствия крупномасштабного разведения кеты *Oncorhynchus keta* // Автореф. дисс. докт. биол. наук. М. ВНИРО. 2002. 51 с.
205. Кловач Н.В. Тихоокеанские лососи: Современное состояние, промысел, перспективы // Рыбоводство и рыбное хозяйство. 2013. № 7. С. 3-16.
206. Кловач Н.В., Ельников А.Н. Структура нерестового стада кеты *Oncorhynchus keta* Олюторского залива Берингова моря (Северо-Восточная Камчатка) // Вопросы ихтиологии. 2013. Т. 53. № 6. С. 707-717
207. Кловач Н.В., Леман В.Н., Углова Т.Ю. Современное состояние запасов и промысла горбуши о. Итуруп (Южные Курильские острова) Рыбное хозяйство. 2017. № 6. С. 41-45.
208. Кловач Н.В., Леман В.Н., Ельников А.Н., Вараксин И.А. Воспроизводство и промысел кеты о. Итуруп (Южные Курильские острова): прошлое, настоящее, будущее. Рыбное хозяйство. 2018. № 6. С. 42-47.
209. Ковачева Н.П. Аквакультура ракообразных и иглокожих: достижения и перспективы // Перспективы рыболовства и аквакультуры в современном мире. 2018. С. 26.
210. Ковалев К.В., Купченко С.А., Дума В.В., Дума Л.Н., Балашов Д.А., Пономарева Е.Н., Рекубратский А.В. Регуляция пола у осетровых рыб. Сообщ. 1. Влияние 17 $\beta$ -эстрадиола на дифференциацию пола бестера (*Huso huso* x *Acipenser ruthenus*) и русского осетра (*Acipenser guedenstaedtii*) // Вопросы рыболовства. 2012. Т. 13. № 3. Р. 568-576.
211. Ковтун А.А. Возраст и линейный рост осенней кеты *Oncorhynchus keta* (*Walbaum*) Сахалина // Вопросы ихтиологии. 1981. Т. 21. Вып. 6. С. 1030-1038.

212. Ковтун А.А. О формировании плодовитости кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) Юго-Западного побережья Сахалина // Тез. II научно-практической конференции «Итоги исследований по вопросам рационального использования и охраны биологических ресурсов Сахалина и Курильских островов». 1984. С. 117-119.
213. Коломыцев В.С., Лапшина А.Е., Зеленников О.В. Состояние яичников у молоди кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum, 1792) осенней и летней рас при ее выращивании на рыбоводных заводах Сахалинской области // Биология моря. 2018. Т. 44. № 1. С. 36-40.
214. Комов В.Т., Лазарева В.И. Причины и последствия антропогенного закисления поверхностных вод северного региона на примере сравнительно-лимнологического исследования экосистем озер Дарвинского заповедника // Структура и функционирование экосистем кислотных озер. С-Пб, Наука. 1994. С. 3-30.
215. Кондратьев А.К. Функциональная морфология ооцитов периода превителлогенеза у сибирской стерляди (*Acipenser ruthenus marsiglii Brandt*) в разные периоды ее годового биологического цикла // Вопросы ихтиологии. 1977а. Т. 17. Вып. 5. С. 912-921.
216. Кондратьев А.К. Морфофункциональная характеристика ооцитов периода превителлогенеза в годовом цикле сибирской стерляди (*Acipenser ruthenus ruthenus natio marsiglii brandt*) // Автореф. дисс. канд. биол. наук. 1977б. Л. ЛГУ. 19 с.
217. Корниенко Г.Г., Ложичевская Т.В., Баландина Л.Г., Реков Ю.И., Ковальчук Л.И., Жильцова А.В. Резорбция половых желез азовского осетра в экспериментальных и естественных условиях // Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азовского бассейна. Сборник научных трудов АЗНИИРХ. Ростов-на-Дону. 1996. С. 247-256.
218. Кошелев Б.В. Экология размножения рыб. М. Наука. 1984. 309 с.
219. Красная книга Астраханской области. Астрахань: АГУ. 2014. 413 с.
220. Краюшкина Л.С., Степанов Ю.И., Семенова О.Г., Панов А.А. Функциональное состояние осморегуляторной системы молоди горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* в речной (предмиграционный) и морской (миграционный) периоды жизни // Вопросы Ихтиологии. 1995. Т. 35. Вып. 3. С. 388-393.
221. Крогиус Ф.В. Роль карликовых самцов в воспроизводстве проходной красной *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) // Вопросы ихтиологии. 1983. Т. 21. Вып. 6. С. 976-984.

222. Крупицкий Ю.Г., Устюгов А.Ф. Горбуша *Oncorhynchus gorbuscha* (Walb.) в реках севера Красноярского края // Вопросы ихтиологии. 1977. Т. 17. Вып. 2. С. 360-363.
223. Крыхтин М.Л. Материалы о речном периоде жизни симы // Известия ТИНРО. 1962. Т. 48. С. 84-132.
224. Крыхтин М.Л. Поимка в лимане Амура двухлетка (1+) летней кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) // Вопросы ихтиологии. 1962б. Т. 2. Вып. 3. С. 556-557.
225. Кузицин К.В. Формирование и адаптивное значение внутривидового экологического разнообразия лососевых рыб (семейство Salmonidae) // Автореф. дисс. докт. биол. наук. Москва. МГУ. 2010. 51 с.
226. Кузнецов Ю.К., Зимакова И.Ю. Состояние яичников у разновозрастных двухлеток радужной форели на протяжении сезона выращивания // Труды ГосНИОРХ. 1983. Вып. 203. С. 63-71.
227. Кузнецов Ю.К. Исследование функции яичников в связи с явлением карликовости у рыб и круглоротых на примере представителей родов *Osmerus Lacèpède* и *Lampetra Gray* // Дисс. канд. биол. наук. Л. ЛГУ. 1986. 249 с.
228. Кузнецов Ю.К., Мосягина М.В., Насека А.М. О формировании фонда ооцитов у моно- и полициклических лососевых рыб // Вестник СПбГУ. 1997. Вып. 3. С. 8-30.
229. Кузнецов Ю.К., Коваленко Р.И., Мосягина М.В., Пчеловодова Д.В., Феклов Ю.А. Гистологическое исследование яичников молоди радужной форели, подвергшейся в личиночном периоде воздействию эпифизарного пептидного препарата // Вестник СПбГУ. 1994. Сер. 3. Вып. 4. С.19-35.
230. Кун М.С. Планктон и питание молоди кеты и горбуши в охотоморском прибрежье острова Итуруп // Биология моря. 1986. Т. 13. № 2. С. 60-64.
231. Курдяева В.П., Шаповалов М.Е. О резорбции ооцитов и нарушениях в развитии воспроизводительной системы у представителей подсемейства Cultrinae (семейство Surrinidae) // Известия ТИНРО. 2002. Т. 131. С. 309-408.
232. Куренков С.И., Попова Т.А. Влияние интенсивности кормления на соотношение полов у молоди нерки // Тез. докл. III Всес. совещ. по лососевидным рыбам. Тольятти. 1988. С. 171-172.
233. Ландышевская А.Е. Качественный состав покатной молоди горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum) и кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) рек Сахалина // Вопросы ихтиологии. 1967. Т. 7. Вып. 4(45). С. 640-646.

234. Лапин С.А., Кивва К.К. Гидрологическая структура вод залива Простор (о. Итуруп, Охотское море) как основа для исследований раннего морского периода развития местных популяций тихоокеанских лососей // 16 конф по промысловой океанологии, Калининград. 8-12 сент. 2014. С. 85-87.
235. Лапко В.В., Радченко В.И., Иванов О.А. Поимка неполовозрелых двухлетков горбуши // Биология моря. 1994. Т. 20. № 3. С. 238-241.
236. Лапшина А.Е. Летняя раса кеты (*Oncorhynchus keta*) острова Сахалин: биологические особенности и возможности заводского разведения // Автореф. дис. канд. биол. наук. М. ВНИРО, 2017. 23 с.
237. Леман В.Н. Экологическая и видовая специфика нерестилищ тихоокеанских лососей р. *Oncorhynchus* на камчатке // Чтения памяти В.Я. Леванидова. Владивосток: Дальнаука. 2003. Вып. 2. С. 12-34.
238. Леман В.Н. Смирнов, Б.П. Точилина Т.Г. Пастбищное лососеводство на Дальнем Востоке: современное состояние и существующие проблемы // Труды ВНИРО. 2015. Т. 153. С. 105-120.
239. Леманова Н.А. Сравнительный анализ процесса вителлогенеза у разновозрастных самок радужной форели, впервые и повторно участвующих в нересте // Труды ГосНИИОРХ. 1974. Т. 97. С. 150-154.
240. Леманова Н.А. Особенности вителлогенеза у самок радужной форели впервые достигающих половой зрелости // Труды ГосНИИОРХ. 1976а. Т. 113. С. 36-41.
241. Леманова Н.А. Сравнительный анализ развития ооцитов периода трофоплазматического роста у радужной форели, принадлежащей к разным породным группам // Труды ГосНИИОРХ. 1976б. Т. 117. С. 19-30.
242. Леманова Н.А., Терентьева Е.Г. Изменение морфологического состояния печени во время вителлогенеза у впервые и повторно созревающих самок // Труды ГосНИИОРХ. 1976. Т. 113. С. 46-51.
243. Линдберг Г.У., Легеза М.И. Рыбы Японского моря и сопредельных частей Охотского и Желтого морей. Часть II. Ленинград: Наука. 1965. 392 с.
244. Лукин А.А. Приспособительные реакции и патогенез рыб европейского севера России при антропогенном воздействии // Автореф. дис. докт. биол. наук. Петрозаводск. 2001. 46 с.

245. Лукин А.А., Шарова Ю.Н. Патологии микроструктуры генеративных органов самок сига *Coregonus lavaretus* оз. Имандра // Вопросы ихтиологии. 2002. Т. 42. № 1. С. 114-120.
246. Лукин А., Богданова В., Костюничев В. Перспективы развития российской аквакультуры // Рыбная сфера. 2016. № 1. С. 34-36.
247. Лукина Ю.Н., Лукин А.А. Сезонная динамика оогенеза сиг в субарктическом водоеме в условиях хронического антропогенного воздействия // «Биология, биотехника разведения и состояние запасов сиговых видов рыб». Тюмень. 2013. С. 130-135.
248. Лукина Н.А., Свимонишвили Т.Н., Городилов Ю.Н. Гаметогенез у кеты *Oncorhynchus keta* (Walb.) в зародышево-личиночный период и при подращивании молоди в режимах разных постоянных температур // Труды ГосНИОРХ. 1988. Вып. 276. С. 80-93.
249. Лукьяненко В.И. Токсикология рыб. М. "Пищевая промышленность". 1967. 216 с.
250. Лукьянов А.С., Томарин А.Е. Воспроизводство каспийской кумжи, как повысить эффективность // Рыбное хозяйство. 1990. № 10. С. 36-39.
251. Лунев Г.Е., Федоров К.Е., Зеленников О.В. Влияние экзогенного эстрадиола на развитие гонад горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* Walbaum: Обработка молоди после дифференцировки пола // Вестник СПбГУ. 2007. Сер. 3. Вып. 3. С. 11-22.
252. Лысенко А.В. Размерно-возрастная структура кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) Приморья и численность ее подходов (1987-2000 гг.) // Известия ТИНРО. 2003. Т. 133. С. 94-108.
253. Любаева Т.Н., Любаев В.Я., Сидорова С.В. Формирование заводских популяций кеты и их вселение в естественную среду (на примере Охотского ЛРЗ) // Вопросы взаимодействия естественных и искусственных популяций лососей. Мат. Российско-Американской конф. по сохранению лососевых. Хабаровск. 1999. С. 70-79.
254. Любаев В.Я. Экологические и биотехнические аспекты создания стад кижуча на рыбоводных заводах // Автореф. дисс. канд. биол. наук. М. МГТА. 2002. 21 с.
255. Магомедов Г.М. Некоторые данные о кете *Oncorhynchus keta* (Walb), акклиматизируемой в Каспийском море // Вопросы ихтиологии. 1970. Т. 10. Вып. 4. С. 742-745.

256. Магомедов Г.М., Шишхабеков М.М., Тен Б.В. Развитие и рост половых клеток осенней кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) в условиях каспийского бассейна // Вопросы ихтиологии. 1979. Т. 19. Вып. 5. С. 949-952.
257. Магомедов Г.М. Биологические основы развития лососеводства в водоемах Дагестана // Автореф. дис. докт. биол. наук. Махачкала. 2002. 63 с.
258. Макеенко Г.А. Состояние гонад самок путассу на нерестилище в 2009 г. по данным гистологических исследований // Всер. конф. к 125-летию со дня рождения И.И.Месяцева, 20-22 окт. 2010. С. 109-111.
259. Мамонтов Ю.П. Современное состояние и перспективы развития аквакультуры в России // Дисс. докт. с-хоз. наук. Краснодар. Изд-во Кубанского гос. аграр. универ-а. 2000. 58 с.
260. Маренков О.Н., Федоненко Е.В., Габибов М.И., Абдуллаева Н.М. Развитие гонад леща (*Abramis brama Linnaeus, 1758*) в условиях Запорожского водохранилища // Известия вузов поволжского региона. Естественные науки. 2013. № 4. С. 25-35.
261. Матей В.Е. Ультроструктура жаберного эпителия ручьевой форели в норме и при закислении воды // Цитология. 1987. Т. 29. № 10. С. 1120-1125.
262. Матей В.Е. Слизистые клетки жаберного эпителия молоди семги в норме и при закислении среды // Цитология. 1988. Т. 30. № 4. С. 402-406.
263. Мгеладзе Э.Г., Титарев Е.Ф. Развитие воспроизводительной системы форели на втором году жизни в зависимости от условий содержания // Труды ВНИИПРХ. 1984. Вып. 43. С. 57-65.
264. Медников Б.М., Шубина Е.А., Мельникова М.Н., Савваитова К.А. Проблема родового статуса тихоокеанских лососей и форелей (Геносистемный анализ) // Вопросы ихтиологии. 1999. Т. 39. № 1. С. 14-21.
265. Мигаловский И.П. Развитие икры в ранний период гаметогенеза у зародышей и личинок семги в условиях радиоактивного загрязнения воды // Труды ПИНРО. 1971. Вып. 29. С. 32-44.
266. Миловская Л.В., Городовская С.Б., Толстяк Т.И. К методике определения оптимального количества производителей с учетом влияния условий пресноводного нагула на воспроизводительную систему пократников нерки (*Oncorhynchus nerka Walb.*) р. Озерная (Западная Камчатка) // Труды ВНИРО. 2006. Т. 146. С. 97-116.

267. Микодина Е. В., Пукова Н. В., Кловач Н. В. 2000. Некоторые особенности оогенеза кеты *Oncorhynchus keta* в период морского нагула в норме и у рыб с дегенерацией мышц // Сб. тр.ВНИРО. С. 231-241
268. Микодина Е.В., Микулин А.Е., Микулина Ю.А. Аномальная икра у тихоокеанских лососей на рыбоводных заводах Сахалина: биологические, технологические и нормативные проблемы // Рыбное хозяйство. 2007. № 1. С. 61-63.
269. Микодина Е.В., Седова М.А., Смирнов А.А. Об аномальных гонадах гижигинско-камчатской сельди *Clupea pallasii* (Clupeidae) // Вопросы ихтиологии. 2005. Т. 45. № 2. С. 251-259.
270. Микодина Е.А., Шубин А.О., Седова М.А., Волкова И.М. О разработке шкалы зрелости половых желез тихоокеанских лососей и микижи. Динамика численности тихоокеанских лососей и прогнозирование их подходов: Межд конф 3-5 окт 2007 Южно-Сахалинск 2007 с. 24-25.
271. Микодина, Е.В., Седова, М.А., Чмилевский, Д.А. Микулин А.Е., Пьянова С.В., Полуэктова О.Г. Гистология для ихтиологов. Опыт и советы. М. Изд-во ВНИРО. 2009. 112 с.
272. Микулин А.Е. Зоогеография рыб. М. ВНИРО. 2003. 436 с.
273. Минеев А.К. Некоторые гистологические нарушения гонад у головешкиротана и бычка-кругляка Саратовского водохранилища // Труды молодых ученых Поволжья. Тольятти. 2007. С. 89-92.
274. Минеев А.К. Некоторые гистологические нарушения гонад у головешкиротана (*Perccottus glenii* Dibowski, 1877) и бычка-кругляка (*Neogobius melanostomus* Pallas, 1814) Саратовского водохранилища // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2009. Т. 11. № 1. С. 185-191.
275. Минеев А.К. Современное морфофизиологическое состояние массовых видов рыб в экологических условиях водоемов и водотоков бассейна средней и нижней волги // Автореф. дис. докт. биол. наук. Тольяти. 2017. 37 с.
276. Миронов А.А., Комиссарчик Я.Ю., Миронов В.А. Методы электронной микроскопии в биологии и медицине: методическое руководство. СПб. Наука. 1994. 400с.
277. Моисеенко Т.И. Закисление природных вод Кольского Севера: критические нагрузки и их превышения // Водные ресурсы. 1996. Т. 23. № 2. С. 200-210.
278. Моисеенко Т.И., Лукин А.А. Патологии рыб в загрязняемых водоемах Субарктики и их диагностика // Вопросы ихтиологии. 1999. Т. 39. № 4. С. 535-547.

279. Моисеенко Т.И., Гашкина Н.А., Дину М.И., Кремлева Т.А. Особенности закисления вод на Европейской территории России и в Западной сибире // Доклады Академии наук. 2015. Т. 462. № 5. С. 582-585.
280. Мосягина М.В. Стероидсекретирующие клетки в гонадах радужной форели *Oncorhynchus mykiss* в период дифференцировки пола // Цитология. 1998. Т. 40. № 2/3. С. 147-151.
281. Мосягина М.В., Кузнецов Ю.К. Гистологическое исследование яичников молоди кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) из рек о.Итуруп // Труды БиНИИ. 1997. Вып. 44. С. 18-28.
282. Мосягина М.В., Кузнецова И.В., Зеленников О.В., Гарлов П.Е. Морфо-функциональный анализ состояния стероидсекреторных клеток гонад молоди горбуши (*Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum)) в норме и при воздействии эстрадиолом // Цитология. 2003. Т. 45. № 5. С. 450-455.
283. Мосягина М.В. Развитие стероидсекреторных клеток в гонадах круглоротых и рыб в раннем онтогенезе // Дисс. канд биол наук. СПб. ГосНИОРХ. 2006. 227 с.
284. Мосягина М.В., Зеленников О.В. Экспериментальный анализ влияния половых стероидных гормонов на состояние стероидсекреторных клеток у молоди лососевых рыб // Вестник СПбГУ. 2012. Сер. 3. Вып. 4. С. 3-19.
285. Мосягина М.В., Зеленников О.В. Развитие стероидсекреторных клеток у молоди горбуши и миноги в период дифференцировки пола // Вестник СПбГУ. 2015. Сер. 3. Вып. 3. С. 36-45.
286. Мосягина М.В., Зеленников О.В. Состояние стероидсекреторных клеток и концентрация половых стероидных гормонов в плазме крови сибирского осетра *Acipenser baerii* и стерляди *A. rutenus* (Acipenseridae) в период дифференцировки пола // Вопросы ихтиологии. 2016. Т. 56. Вып. 1. С. 95-101.
287. Мурза И.Г. Закономерности развития гонад у молоди каспийской кумжи *Salmo trutta caspius* Kessler при выращивании на рыбоводных заводах Азербайджана // Труды ГосНИОРХ. 1980. Вып. 149. С. 91-100.
288. Мурза И.Г., Тамарина Ю.А. Развитие гонад у молоди каспийской кумжи в заводских условиях. // Рыбное хозяйство. 1982. № 2. С. 39-40.
289. Мурза И.Г., Христофоров О.Л. Определение степени зрелости гонад и прогнозирования возраста достижения половой зрелости у атлантического лосося и кумжи. ГосНИОРХ. ФНИИ им. Ухтомского ЛГУ, Ленинград, 1991. 102 с.

290. Мурза И.Г., Христофоров О.Л. Рост и половое созревание самок атлантического лосося *Salmo salar L.* без нагула в природных водоемах // «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов». Петрозаводск. 2010. С. 176-191.
291. Мурза И.Г., Христофоров О.Л. Созревание ладожского лосося *Salmo salar L. morpha sebago Girard*, популяции р.Свири в заводских и природных условиях // «Лососевые рыбы: биология, охрана и воспроизводство», Петрозаводск. 2017. С. 102-103.
292. Мурза И.Г., Христофоров О.Л. Пресноводная популяция атлантического лосося (*Salmo salar Linnaeus, 1758*) реки Свири (бассейн Ладожского озера): численность, структура и сохранение // Труды Зоологического института РАН. 2019. Т. 323. № 4. С. 451-475.
293. Мякишев М.С., Иванова М.А., Зеленников О.В. К вопросу о мечении молоди лососей и эффективности работы рыбоводных заводов // Биология моря. 2019а. Т. 45. № 5. С. 342-348.
294. Мякишев М.С., Иванова М.А., Киселев В.А., Зеленников О.В. Экспериментальный анализ современного воспроизводства симы *Oncorhynchus masu* на рыбоводных заводах Сахалинской области // Известия ТИНРО. 2019б. Т. 198. С. 195-208.
295. Никифоров С.Н., Игнатьев Ю.И. Биология молоди симы *Oncorhynchus masou (Brevoort)* (Salmonidae) в водотоках южной части Сахалина // Труды СахНИРО. 2008. Т. 10. С. 57-76.
296. Никифоров С.Н. Макеев С.С., Беловалов В.Ф. Особенности распределения ихтиофауны в пресных водоемах южной части Сахалина и возможные пути ее формирования // Вопросы ихтиологии. 1993. Т. 33. № 4. С. 500-510.
297. Никифорова Г.В. О нахождении половозрелых сеголеток горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* в водоемах юго-восточного Сахалина // Вопросы ихтиологии. 1996. Т. 36. № 6. С. 840-841.
298. Николаева Е.Т. О возрасте полового созревания кеты *Oncorhynchus keta (Walbaum)* некоторых стад Камчатки // Вопросы ихтиологии. 1987. Т. 27. № 2. С. 239-247.
299. Новиков Г.Г., Строганов А.Н. Аквакультура – современный этап // Наука в России. 1997. № 4. С. 63-66.
300. Новиков Н.П., Соколовский А.С., Соколовская Т.Г., Яковлев Ю.М. Рыбы Приморья. Владивосток: Дальрыбвтуз. 2002. 552 с.

301. Оганесян С.А. Гистогенез и функция гипофиза и щитовидной железы у личинок семги в условиях ионизирующей радиации // Труды ПИНРО. 1971. Вып. 29. С. 45-54.
302. Одум Ю. Основы экологии. М. Мир. 1975. 741 с.
303. Орлов А.М., Пеленев Д.В. Межвидовые отношения между трехзубой миногой *Lampetra tridentata* и минтаем *Theragra chalcogramma* // Вестник СВНЦ ДВО РАН. 2009. № 3. С. 46-53.
304. Осинев А.Г. Лососевые рыбы *Salmo*, *Parasalmo* и *Oncorhynchus*: генетическая дивергенция, филогения и классификация // Вопросы ихтиологии. 1999. Т. 39. № 5. С. 595-611.
305. Осинев А.Г. Лососевые рыбы (Salmonidae, Salmoniformes): происхождение, эволюция, филогения, система, охрана // Автореф. докт. биол. наук. 2004. М. МГУ. 48 с.
306. Отставная Е.Г., Лунев Г.Е., Зеленников О.В. Влияние длительного выдерживания молоди горбуши *Oncorhynchus gorbuscha Walbaum* в пресной воде на состояние резервного фонда половых клеток // «Водные и наземные экосистемы: проблемы и перспективы исследований». Вологда. 24-28 ноября. 2008. С. 81-83.
307. Павлов А.Д., Саидов Д.М. Опыт резервирования производителей речной миноги (*Lampetra fluviatilis*) осеннего хода в искусственных условиях (УЗВ) с последующим от них половых продуктов // Морские биологические исследования: достижения и перспективы. конференция к 145-летию Севастопольской биологической станции, 19-24 сент.. Севастополь. 2016. С. 421-422.
308. Павлов Д.А. Стратегия размножения рыб и динамика популяций // Актуальные проблемы современной ихтиологии (к 100-летию Г.В.Никольского). 2010. С. 217-240.
309. Павлов Д.С., Костин В.В., Пономарева В.Ю. Различия размерных и весовых показателей и особенностей питания заводской молоди черноморской кумжи (*Salmo trutta labrax Pall.*) из двух пространственных группировок // ДАН РАН. 2012. Т. 445. № 4. С. 479-481.
310. Павлов Д.С., Павлов Е.Д., Ганжа Е.В., Костин В.В., Пономарёва В.Ю. Цитологическое состояние гонад и уровень тиреоидных и половых стероидных гормонов у двух фенотипических форм молоди черноморской кумжи *Salmo trutta labrax* // Вопросы ихтиологии. 2014. Т. 54. Вып. 4. С. 470-478.

311. Павлов Д.С., Костин В.В., Павлов Е.Д. О карликовых особях черноморской кумжи *Salmo trutta labrax* // «Лососёвые рыбы: биология, охрана и воспроизводство», Петрозаводск. 2017. С. 116-117.
312. Павлов Е.Д., Ганжа Е.В., Нгуен Вьет Туи, Нгуен Ти Хуан Ту. Состояние половых желёз годовиков триплоидной радужной форели в высокогорных условиях Южного Вьетнама при воздействии андрогенного гормона // Вопросы ихтиологии. 2010. Т. 50. Вып. 3. С. 356-365.
313. Павлов Е.Д., Микодина Е.В., Седова М.А., Емельянова Н.Г., Маркевич Г.Н. Состояние гонад жилой нерки *Oncorhynchus nerka* из Толмачевского водохранилища // Вопросы ихтиологии. 2013. Т. 53. Вып. 6. С. 726–740.
314. Павлов Е.Д. Состояние половых желёз лососевых рыб в условиях интродукции // Автореф. дис. канд. биол. наук. М. Изд-во ВНИРО. 2011. 24 с.
315. Павлов Е.Д., Ганжа Е.В., Пономарева В.Ю., Костин В.В., Павлов Д.С., Во Тхи Ха. Влияние метилтестостерона на физиологическое состояние и реореакцию радужной форели *Parasalmo mykiss* (= *Oncorhynchus mykiss*) при неблагоприятных условиях содержания // Вопросы ихтиологии. 2016. Т. 56. Вып. 6. С. 740–752.
316. Панасенко Н.М. Состояние воспроизводительной системы и потенциальная плодовитость молоди осенней кеты в период миграции в русло Амура // «Вопросы раннего онтогенеза рыб». Киев. 1978. С. 85-86.
317. Панасенко Н.М., Рослый Ю.С., Капланова Н.Ф. О нахождении в лимане Амура двухлеток (1+) *Oncorhynchus keta* (Walb.) *infraspecies autumnalis* Berg. // Методические и прикладные аспекты рыбохозяйственных исследований на Дальнем Востоке. Хаб. отд. тихоокеан. н.-и. рыбохоз. центр. Хабаровск. 2003. С. 96-97.
318. Пахомова Н.А., Хлевная А.С. Влияние температуры на гаметогенез у горбуши в период инверсии пола // Биология северных морей европейской части СССР. Апатиты. 1977. С. 38-46.
319. Пахомова Н.А., Хлевная А.С. Влияние некоторых факторов среды на дифференцировку пола у горбуши // «Вопросы раннего онтогенеза рыб». Киев. 1978а. С. 86-87.
320. Пахомова Н.А., Хлевная А.С. Морфология яичников горбуши в морской период жизни. В кн. «Вопросы функциональной морфологии морских животных», Апатиты, изд-во Кольского филиала АН СССР. 1978б. С. 102-108.

321. Пахомова Н.А., Хлевная А.С. Особенности гаметогенеза и дифференцировки пола у горбуши в экспериментальных условиях. «Ихтиофауна и условия ее существования в Баренцевом море». Апатиты. 1986. С. 122-129.

322. Пелагические рыбы (сайра, сардина, скумбрия) – 2019 (путинный прогноз). Владивосток: ТИНРО, 59 с.

323. Пеленев Д.В., Орлов А.М. Ущерб запасам промысловых рыб дальневосточных вод России, наносимый трехзубой миногой *Lampetra tridentata* // Рыбоводство и рыбное хозяйство. 2009. № 5. С. 22-28.

324. Пестрикова Л.И. Радужная форель как объект марикультуры прибрежной зоны Баренцева моря // Автореф. канд. биол. наук. Петрозаводск. ПГУ. 2004. 22 с.

325. Персов Г.М. Характеристика раннего периода развития половых желез горбуши в связи с использованием ее как объекта акклиматизации // Матер. совещ. по вопросам рыбоводства. М. 1960. С. 86-92.

326. Персов Г.М. «Потенциальная» и «конечная» плодовитость рыб на примере горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walb.), акклиматизируемой в бассейне Белого и Баренцева морей // Вопросы ихтиологии 1963. Т. 3. № 3. С. 490-496.

327. Персов Г.М. К вопросу о соотношении полов у молоди горбуши. Материалы сессии Уч. совета ПИНРО по результатам исследований 1962-1963 гг, 1964, с. 173-178.

328. Персов Г.М. Состояние половых желез у кеты и горбуши при переходе к морскому этапу жизни и темп их полового созревания. «Акклиматизация дальневосточных лососей в бассейне Баренцева и Белого морей». Л., Наука. 1965. С. 95-105.

329. Персов Г.М. Развитие половых желез у молоди горбуши в ранний период жизни. Матер. рыбохоз. исслед. северного бассейна, 1965. в. 5. С. 128-136.

330. Персов Г.М. Передифференцировка гонад у горбуши (*Oncorhynchus gorbuscha* Walb.) как норма развития // Научные доклады высшей школы, Серия биологических наук. 1965. № 1. С. 26-30.

331. Персов Г.М. Ранний период гаметогенеза у проходных лососей // Труды ММБИ. "Воспроизводство и акклиматизация лососевых в Баренцевом и Белом морях". 1966. Вып. 12. С. 7-44.

332. Персов Г.М. Радиочувствительность половых клеток горбуши на разных этапах гаметогенеза // Тез. докл. 6 научн. сов. радиобиол. общ. Ленинград, 1966б. С. 6-7.

333. Персов Г.М. Изменения в ходе гаметогенеза как возможное следствие лучевой дезинтеграции эндокринной системы // Вестник АМН СССР. 1967. № 12. С. 45-52.
334. Персов Г.М. Изменение в темпе развития гонад у тихоокеанских лососей в ходе эволюции // «Темп индивидуального развития животных и его изменения в ходе эволюции». Москва. 1968. С. 66-82.
335. Персов Г.М. Дифференцировка пола и становление индивидуальной плодовитости у рыб // Дисс. докт. биол. наук. Л., ЛГУ. 1969. 412 с.
336. Персов Г.М. Надежность функционирования воспроизводительной системы рыб // Вопросы ихтиологии. 1972. Т. 12. Вып. 2. С. 258-272.
337. Персов Г.М. Дифференцировка пола у рыб. Л. Изд-во ЛГУ. 1975. 148 с.
338. Петриков А.М., Петухов В.Б., Кохненко О.С., Воронович А.И. Дегенеративные изменения в ооцитах окуня при хроническом воздействии ионизирующей радиации // Весці АН Беларусі. Сер. біял. н. 1997. № 2. С. 111-115.
339. Петухов В.Б., Петриков А.М. Нарушения гаметогенеза у рыб при хроническом воздействии ионизирующей радиации // Докл. АН Беларуси. 1997. Т. 41. № 4. С. 93-97.
340. Пипоян С. Ихтиофауна Армении. Этапы формирования и современное состояние. Saarbrücken: Palmarium Acad. Publ. 2012. 538 с.
341. Погодин В.П., Борзов С.И., Мякишев М.С., Вараксин И.А., Зеленников О.В. Опыт двухлетнего выращивания молоди симы *Oncorhynchus masu* на рыбоводном заводе острова Итуруп // Известия ТИНРО. 2019. Т. 196. С. 182-192.
342. Подойницын Д.А. Эколого-биологическая оценка состояния популяции судака обыкновенного (*Sander lucioperca* L.) в условиях антропогенного преобразования Азово-донского бассейна // Автореф. дисс. канд. биол. наук. Ростов на Дону. 2010. 23 с.
343. Подушка С.Б. Размерный состав ооцитов в яичниках различных стадий зрелости у самок осетровых // Науч.-техн. бюл. лаб. ихтиологии ИНЭНКО. 1999. № 2. С. 50-63.
344. Подушка С.Б. Критический обзор публикаций о нарушениях репродуктивной системы у осетровых // Научно-техн. бюл. лаб. ихтиол. ИНЭНКО. 2000. № 3. С. 9-30.
345. Поленов, А.Л. Гипоталамическая нейросекреция. М. Наука. 1968. 159 с.

346. Полуэктова О.Г. Морфология гипофиза горбуши на разных стадиях зрелости гонад // Особенности биологии рыб северных морей. Л. 1983. С. 76-85
347. Попова Т.А., Чебанов Н.А., Лашина Е.С. Искусственное воспроизводство чавычи на Камчатке: [с применением геотерм. вод для выращивания молоди] // Рыбное хозяйство. 2005. № 1. С. 48-50.
348. Привалихин А.М. Резорбция развивающихся ооцитов как регуляторный механизм формирования индивидуальной и популяционной плодовитости у минтая *Theragra chalcogramma* (Gadidae) // Вопросы ихтиологии. 2003. Т. 43. № 4. С. 511-520.
349. Протасов А.А., Козлова П.П. Опыт оплодотворения икры у курьинского лосося молоками проходного самца и карликового самца, выращенного в искусственных условиях // Информационный сборник № 1. М. ВНИРО. 1957. С. 56-61.
350. Пукова Н.В. Особенности строения и развития репродуктивной системы кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) в жизненном цикле // Автореф. дисс. канд. биол. наук. М.: ВНИРО. 2002. 25 с.
351. Путивкин С. В. Биология и динамика численности анадырской кеты // Автореф. дисс. канд. биол. наук. Владивосток. 1999. 24 с.
352. Равен Х. Оогенез. М. Мир. 1964. 308 с.
353. Решетников Ю.С. Современный статус сиговых рыб и перспективы использования их запасов // Биология сиговых рыб. М. Наука. 1988. С. 5-17.
354. Решетников Ю.С., Акимова Н.В., Попова О.А. Аномалии в системе воспроизводства рыб Кольского полуострова при антропогенном воздействии // Биологические основы изучения, освоения и охраны животного и растительного мира, почвенного покрова Восточной Фенноскандии. Петрозаводск. 1999. С. 155.
355. Решетников Ю.С., Акимова Н.В., Попова О.А. Аномалии в системе воспроизводства рыб при антропогенном воздействии // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2000. Т. 2. № 2. С. 274-282.
356. Решетников Ю.С., Попова О.А., Новоселов А.П. Современное состояние лососеобразных в водоемах Европейского Северо-Востока // Труды ВНИРО. 2016. Т. 162. С. 6-11.
357. Родина Н.А., Хорват Л. Инверсия пола у данио *Brachydanio rerio* (Cyprinidae) // Онтогенез. 1999. Т. 30. № 6. С. 456-459.

358. Романов А.А., Федорова Н.Н., Туктаров А.В., Шаронов А.Г. Особенности гаметогенеза осетровых в современных условиях Волго-Каспия // 40 научн-техн. Конф. проф-преп. состава Астрах. гос. техн. ун-та Астрахань. 1996. С. 72-73.
359. Романов А.А., Романов Ал.А., Беляева Е.С. Мониторинг гистоморфологических нарушений гонадо-гаметогенеза осетровых рыб Волго-Каспийского региона // Экология молодежи и проблемы воспроизводства каспийских рыб. КаспНИИРХ. М. 2001. С. 246-268.
360. Роскин Г.И., Левинсон Л.Б. Микроскопическая техника. М., Советская наука. 1957. 467 с.
361. Рослый Ю.С., Новомодный Г.В. Элиминация молодежи лососей рода *Oncorhynchus* из реки Амур тихоокеанский миногой *Lampetra japonica* и другими хищными рыбами в раннеморской период жизни // Вопросы ихтиологии. 1996. Т. 36. № 1. С. 50-54.
362. Ростовцев А.А. Промышленное воспроизводство радужной форели в Сибири // Автореф. докт. с-хоз. наук. Новосибирск. 2000. 39 с.
363. Рубан Г.И., Акимова Н.В. Факторы снижения численности и состояние репродуктивной системы сибирского осетра *Acipenser baeri* Brandt p. Оби // Анал. и реф. инф. Сер. Воспр-во и пасбищ. выращивание гидробионтов. Всерос. н.-и. и проект.-конструкт. ин-т экон., инф. и АСУ рыб. х-ва. 2000. № 3. С. 49-57.
364. Рубан Г.И., Акимова Н.В. Состояние репродуктивной системы и причины снижения численности сибирского осетра *Acipenser baeri* реки Оби // Вопросы ихтиологии. 2001. Т. 41. № 2. С. 278-282.
365. Рубан Г.И. Нарушения в развитии и функционировании воспроизводительной системы рыб как показатель антропогенного воздействия на среду их обитания и состояние здоровья среды // Онтогенез. 2017. Т. 48. № 6. С. 443-449.
366. Рухлов Ф.Н. Материалы по характеристике механического состава грунта нерестилищ м нерестовых бугров горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum) и осенней кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) на Сахалине // Вопросы ихтиологии. 1969. Т. 9. Вып. 5. С. 839-849.
367. Савостьянова Г.Г., Никандров В.Я. Зависимость некоторых биометрических показателей икры от возраста самок радужной форели // Труды ГосНИИОРХ. 1976. Т. 113. С. 3-7.

368. Сакун О.Ф., Свирский В.Г. Дегенерация ооцитов периодов превителлогенеза и вителлогенеза в половом цикле дальневосточной сардины *Sardinops sagax melanosticta* // Вопросы ихтиологии. 1992. Т. 32. № 3. С. 52-58.
369. Самарский В.Г. Формирование размерного состава молоди кеты и структуры ее чешуи в условиях искусственного воспроизводства // Дисс. канд. биол. наук: М. ВНИРО. 2005. 167 с.
370. Седова М.А., Самарский В.Г., Павлов Е.Д. Состояние гонад заводской молоди кеты (*Oncorhynchus keta*) в зависимости от сроков начала ее кормления // Чтения памяти В. Я. Леванидова. Владивосток: Дальнаука. 2008. С. 339-345.
371. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. М. Медгиз. 1960. 253 с.
372. Селюков А.Г. Репродуктивная система сиговых рыб (Coregonidae, Salmoniformes) как индикатор состояния экосистемы Оби. 1. Половые циклы пеляди *Coregonus peled* // Вопросы ихтиологии. 2002. Т. 42. № 1. С. 85-92.
373. Селюков А.Г., Ефремова Е.В., Бондаренко Г.Н. Цитоморфологические преобразования первичных половых клеток в эмбриогенезе муксуна *Coregonus muksun (Pallas)* // Вестник ТГУ. 2010. № 3. С. 45-51.
374. Селюков А.Г., Шуман Л.А., Некрасов И.С. Состояние гонад у лососевидных рыб в субарктических озёрах Ямала и Гыдана // Вестник ТГУ. 2012. № 6. С. 31-40.
375. Селюков А.Г. Морфофункциональные изменения рыб бассейна средней и нижней оби в условиях возрастающего антропогенного влияния // Вопросы ихтиологии. 2012. Т. 52. № 5. С. 581-600.
376. Селюков А.Г. Изменение морфофункциональных параметров рыб Обь-Иртышского бассейна в условиях возрастающего антропогенного влияния // Автореф. докт. биол. наук. М. ВНИРО. 2010. 51 с.
377. Селюков А.Г., Кибалова М.В., Михаленко Е.В., Богданова В.А. Формирование фонда герминативных стволовых клеток в эмбриогенезе сигов балтийского бассейна // Вестник ТГУ. Экология и природопользование. 2016. Т. 2. № 4. С. 68-81.
378. Семенов В.В. Возможное происхождение, структура и локализация стероидсекретирующих клеток в яичнике молоди осетровых рыб // Цитология. 1989. Т. 31. № 1. С. 34-41.
379. Семенов В.В. Пополнение фонда половых и секреторных клеток в гонадах половозрелых самок русского осетра *Acipenser gueldenstaedti* // Вопросы ихтиологии. 1995. Т. 35. № 4. С. 487-495.

380. Семенов В.В. Развитие половых и секреторных клеток яичника в раннем онтогенезе осетровых рыб // Цитология. 1996. Т. 38. № 4/5. С. 445-455.
381. Семенов В.В., Федоров К.Е., Ахундов М.М. Ультраструктурный анализ закладки и половой дифференцировки гонад у стерляди и ленского осетра // «Проблемы надежности функционирования репродуктивной системы у рыб». СПб. Изд-во СПбГУ. 1997. С. 7-17.
382. Семушкина А.Ю. Новые данные о резорбции ооцитов у атлантической трески // Ломоносов – 2014, Москва. 7-11 апр. 2014. С. 154.
383. Сергеева Л.С., Титарев Е.Ф. Сравнительная рыбоводно-биологическая характеристика производителей форели Дональдсона и радужной // Рыбное хозяйство. 1991. № 2. С. 38-40.
384. Сергеева С.Г., Корниенко Г.Г., Самарская Е.А. Патология гонад судака обыкновенного (*Sander lucioperca L.*) в Азовском море // 20 Московский международный ветеринарный конгресс. Москва. Ветеринарная патология. 2012. № 1. С. 87-91.
385. Сергеева С.Г., Корниенко Г.Г., Самарская Е.А., Шишкина И.В., Цема Н.И. Особенности созревания и патологии половых продуктов барабули *Mullus barbatus ponticus* и мерланга *Odontogadus merlangus euxinus* Черного моря // Вопросы рыболовства. 2013. Т. 14. № 4. С. 689-702.
386. Сергеева С.Г. Морфологические особенности созревания тарани *Rutilus rutilus* в современных условиях // Морские биологические исследования: достижения и перспективы. 19-24 сент. 2016. Севастополь. 2016. С. 286-289.
387. Синявичене Д.П. Изучение воспроизводительной системы радужной форели при различных условиях обитания в прудах // Использование теплых вод в рыбном хозяйстве. Вильнюс. «Мокслас». 1982. С. 71-85.
388. Синявичене Д.П., Синявичус П.Ю. Влияние измененных условий среды обитания радужной форели на качество производителей и его потомство // Использование теплых вод в рыбном хозяйстве. Вильнюс. «Мокслас». 1982. С. 86-91.
389. Скоблина М.Н. Оводнение ооцитов костистых рыб // Онтогенез. 2010. Т. 41. № 1. С. 5-18.
390. Смирнов А.Н. Биология, размножение и развитие тихоокеанских лососей. М. МГУ. 1975. 336 с.

391. Смирнов Е.В. Пути управления соотношением между процессами роста и полового развития у самок карпа в условиях тепловодных хозяйств // Дисс. канд. биол. наук. Л. 1983. 157 с.
392. Смирнов Е.В., Заболкин А.В. Характер взаимосвязи между ростом тела и развитием яичников в онтогенезе карпа // Труды ГосНИОРХ. 1982. Вып. 190. С. 108-115.
393. Смирнов Е.В. Взаимосвязь размеров тела с уровнем развития яичников у сеголеток карпа, полученных в разные сроки одного вегетационного сезона // Труды ГосНИИОРХ. 1982. Вып. 178. С. 121-133.
394. Стекольников М.Ю. Некоторые результаты мониторинга заводских стад горбуши зал. Анива (о. Сахалин) // Известия ТИНРО. 2015. Т. 183. С. 51-60.
395. Студенцова Н.А., Ломакина О.А., Зюзина О.Н. Расчет возможности реаклиматизации каспийской кумжи (*Salmo salar caspinus Kessler*) методом математического моделирования // Известия вузов. Пищевая технология. 2006. № 1. С. 113-115.
396. Таликина М.Г., Комов В.Т., Зеленецкий Н.М. Гистофизиологическая характеристика гонад окуня *Perca fluviatilis* из кислотных озер дарвинского заповедника // Вопросы ихтиологии. 1996. Т. 36. № 3. С. 400-406.
397. Таликина М.Г., Комов В.Т., Зеленецкий Н.М. Гистофизиологическая характеристика гонад окуня *Perca fluviatilis* из кислотных озер Дарвинского заповедника // Вопросы ихтиологии. 1996. Т. 36. № 3. С. 400-406.
398. Таликина М.Г. Некоторые данные о пластичности ранних этапов развития гонад и реакции сеголеток плотвы *Rutilus rutilus* на температурные шоки // Вопросы ихтиологии. 1998. Т. 38. № 1. С. 100-105.
399. Таликина М.Г., Изюмов Ю.Г., Чеботарева Ю.В., Касьянов А.Н., Папченкова Г.А. Анализ изменчивости морфологических показателей, раннего гаметогенеза и мутагенного эффекта у молоди плотвы *Rutilus rutilus* после воздействия токсикантов на свободные эмбрионы // Вопросы ихтиологии. 2000. Т. 40. № 6. С. 816-825.
400. Тамарин А.Е. Морфобиологические показатели кумжи *Salmo trutta caspius Kessler* реки Терек // Морфология и систематика лососевидных рыб. Л.: Наука. 1985. С. 26-36.
401. Тамарина Ю.А. Гаметогенез кумжи реки Терек *Salmo trutta caspius Kessler* при заводском выращивании // Морфология и систематика лососевидных рыб. Л.: Наука. 1985. С. 62-70.

402. Тарасюк Е.В., Тарасюк С.Н. Оценка влияния подращивания молоди горбуши на ее возврат // Динамика численности тихоокеанских лососей и прогнозирование их подходов. Межд. науч конф, Южно-Сахалинск, 3-5 окт., 2007. С. 35-36.
403. Титарев Е.Ф. Ускорение полового созревания радужной форели (*Salmo gairdneri Rich.*) под влиянием повышенной температуры воды // Вопросы ихтиологии. 1975. Т. 15. Вып. 3. С. 565-566.
404. Титарев Е.Ф. Форелеводство. М. Пищевая промышленность. 1980. 168 с.
405. Толстяк Т.И. Состояние воспроизводительной системы молоди тихоокеанских лососей, выращиваемой при повышенной температуре // Тез. докл. межд. совещ. по современным проблемам марикультуры. 1989. С. 85-86.
406. Точилина Т.Г., Смирнов Б.П. Половозрелые сеголетки горбуши *Oncorhynchus gorbuscha (Walbaum)* в прибрежных водах о.Итуруп (Южные Курильские острова) // Труды ВНИРО. 2015. Т. 158. С. 136-142.
407. Тьонг Фам Мань Исследование плодовитости и роста *Tilapia mossambica Peters* после воздействия лучами Рентгена в малых дозах // Автореф. дисс. канд. биол. наук. Л. ЛГУ. 1970. 28 с.
408. Фалеева Т.И. Сравнительный и экспериментальный анализ атрезии овариальных фолликулов при нарушениях размножения у рыб. СПб. Изд-во СПбГУ. 2008. 128 с.
409. ФАО. Состояние мирового рыболовства и аквакультуры – Достижение целей устойчивого развития. Рим. Лицензия: CC BY-NC-SA 3 IGO. 2018 226 с.
410. Федоров К.Е., Зубова С.Э., Семенов В.В., Бурлаков А.Б. Стероидсекреторные клетки в гонадах молоди стерляди *Acipenser ruthenus L.* в период дифференцировки пола // Вопросы ихтиологии. 1990. Т. 30. Вып. 1. С. 65-75.
411. Федоров К.Е., Кузнецов Ю.К. Сравнение методов количественной оценки структуры и объема резервного фонда ооцитов у рыб // Вестник СПбГУ. 2014. Сер. 3. Вып. 2. С. 20-29.
412. Федоров К.Е., Городилов Ю.Н., Зеленников О.В., Чмилевский Д.А. Явление естественной инверсии пола: Эндокринные, онтогенетические и цитологические механизмы Отчет о НИР № 96-04-48964 // Информационный бюллетень РФФИ. Биология, Медицинская наука. 1996. № 4

413. Федоров К.Е., Зеленников О.В. Дифференцировка пола у горбуши *Oncorhynchus gorbuscha Walbaum*. Роль онтогенетических факторов и влияние экзогенного тестостерона // Вестник СПбГУ. 2009. Сер. 3. Вып. 3. С. 111-121.

414. Филина Е.А. Гистологические исследования гонад трески и пикши Баренцева моря в связи с пропуском нереста // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Петрозаводск. 6-9 сент. 2004. С. 139.

415. Филипова О.П., Зуевский С.Е., Сафронов А.С., Ежкин М.А. Зависимость дифференцировки пола у гибридов осетровых рыб от температуры инкубации икры // «Аквакультура: мировой опыт и российские разработки». Ростов-на-Дону. 2017. С. 446-450.

416. Френкель С.Э., Смирнов Б.П. Питание молоди кеты и горбуши в Курильском заливе (о Итуруп) в июне 2010 г. // Труды ВНИРО. 2015. Т. 158. С. 61-63.

417. Фулга Н.И. Морфофункциональная характеристика оогенеза и преоптико-гипофизарной нейросекреторной системы самок белого толстолобика *Hypophthalmichthys molitrix* (val.) в разных условиях обитания // Автореф. канд. биол. наук. Кишинев. 1995. 25с.

418. Хлевная А.С., Карачун М.И. Состояние гонад молоди горбуши, содержащейся в бассейнах с проточной морской водой // Тез. докл VI все совещании эмбриологов. 1981. с.191.

419. Хованский И.Е. Эколого-физиологические и биотехнологические факторы эффективности лососеводства: На примере искусственного разведения тихоокеанских лососей на Северном побережье Охотского моря. // Автореф. дисс. докт. биол. наук. Хабаровск. 2005. 48 с.

420. Ходоревская Р.П., Некрасова С. О. Современное состояние и перспективы воспроизводства водных биологических ресурсов для промышленной аквакультуры в Астраханской области // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. 2019. № 3. С. 107–116.

421. Ходоревская Р.П., Калмыков В.А. Формирование популяций осетровых (Acipenseridae) Волго-каспийского бассейна // Вопросы ихтиологии. 2014. Т. 54. № 5. С. 584-590.

422. Хоревин Л.Д. Изменение плодовитости кеты Юго-Западного Сахалина в результате ее искусственного разведения // Биология моря. 1990. Т. 17. № 1. С. 60-66.

423. Христофоров О.Л. Состояние гонад в осенний период у кижуча - объекта заводского воспроизводства в бассейне реки Тымь (Сев. Сахалин) // Труды ЗИН РАН. 1986. Т. 154. С. 99-107.
424. Христофоров О.Л., Мурза И.Г. Рост и смолтификация у атлантического лосося *Salmo salar* L. при современных условиях выращивания на Невском рыбоводном заводе // «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов». Петрозаводск. 2005. С. 187–196.
425. Христофоров О.Л., Мурза И.Г. Репродуктивная функция и ее контроль у атлантического лосося // В кн. Атлантический лосось. СПб. Наука. 1998. С. 75-127.
426. Хрусталева Е.И., Новоженин Н.П. Влияние голодания производителей на качество потомства // Рыбное хозяйство. 1991. № 2. С. 40-42.
427. Хрусталева А.М., Леман В.Н. Межгодовая изменчивость линейно-весовых показателей, возрастной структуры и темпа роста кеты *Oncorhynchus keta* и факторы, на нее влияющие (бассейн реки Большая, Западная Камчатка) // Вопросы ихтиологии. 2007. Т. 47. № 3. С. 380-388.
428. Царев Ю.И., Рогатных А.А., Горшков В.А., Максимов В.А., Медников Б.М. родственные связи тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus* // ДАН СССР. 1984. Т. 279. № 6. С. 1515-1516.
429. Цыгир В.В., Иванков В.Н. Жилая сима *Oncorhynchus masou* из бассейна Артемовского водохранилища (Приморский край) // Вопросы ихтиологии. 1987. Т. 27. Вып. 4. С. 576-583
430. Цыгир В.В., Романов Н.С. Случай поимки гибрида симы *Oncorhynchus masou* и гобруши *O.gorbuscha* в реке Самарга (Приморский край) // Вопросы ихтиологии. 1993. Т. 33. № 2. С. 302-304.
431. Чаплыгин В.М. О результатах инкубации икры полученной от разновозрастных самок радужной форели // Труды ГосНИИОРХ. 1976. Т. 113. С. 42-46.
432. Чаплыгин В.М., Исаков А.А., Феклов Ю.А., Семушин Д.А. Исследование завершающих фаз гаметогенеза стальноголового лосося (*Salmo gairdneri* Rich.) // Труды ГосНИИОРХ. 1985. Вып. 219. С. 58-72.
433. Чаплыгин В.М., Феклов Ю.А., Черноусова М.В. Общая динамика роста и развития ооцитов стальноголового лосося и радужной форели в тепловодном и холодноводном хозяйствах // Труды ГосНИИОРХ. 1986. Вып. 254. С. 95-99.

434. Чебанов Н.А. О возможности прогнозирования соотношения полов в популяциях горбуши // Тез. докл. Межд. симп. по тихоокеанским лососям. Владивосток. 1990. С. 107-108.
435. Чебанова В.В., Френкель С.Э., Зеленихина Г.С. Питание и пищевые отношения молоди кеты *Oncorhynchus keta* и горбуши *O. gorbuscha* в прибрежье залива Простор (о-в Итуруп) // Вопросы ихтиологии. 2015. Т. 55. № 5. С. 533-540.
436. Чернов В.М., Борксениус С.Н. Определение филогенетических отношений между видами тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus* методом молекулярной гибридизации ДНК // Биология моря. 1989. Т. 16. № 2. С. 23-29.
437. Чистякова А.И., Бугаев А.В. Оценка происхождения и пути миграций заводской молоди горбуши и кеты в бассейне Охотского моря в осенний период 2011-2014 гг // Исслед. водн. биол. рес. Камчатки и сев.-зап. части Тих. океана. 2016. № 40. С. 5-23.
438. Чмилевский Д.А. Влияние лучей Рентгена на оогенез тилапии. 1. Облучение личинок в возрасте 6 суток // Труды БиНИИ ЛГУ. 1978. С. 21-36.
439. Чмилевский Д.А. Влияние рентгеновых лучей на оогенез тилапии (*Oreochromis mossambicus Peters*). 2. Облучение личинок в возрасте 15 суток // Онтогенез. 1982. Т. 13. № 4. С. 441-445.
440. Чмилевский Д.А. Влияние рентгеновских лучей на оогенез тилапии *Tilapia mossambica Peters*. 3. Облучение личинок в возрасте 20 суток // Онтогенез. 1985. Т. 16. № 4. С. 416-420.
441. Чмилевский Д.А. Оогенез рыб в норме и при экстремальных воздействиях. СПб. Изд-во С-Петербур. ун-та. 2017. 156 с.
442. Чмилевский Д.А., Лаврова Т.В. Влияние пониженной температуры на оогенез тилапии *Oreochromis mossambicus* // Вопросы ихтиологии. 1990. Т. 30. Вып. 1. С. 76-84.
443. Чмилевский Д.А. Влияние пониженной температуры на оогенез тилапии *Oreochromis mossambicus Peters*. 2. Воздействие на рыб в возрасте 22 суток после вылупления // Вопросы ихтиологии. 1994. Т. 34. № 5. С. 675-680.
444. Чмилевский Д.А., Васьков А.А. Влияние различных доз рентгеновского облучения на рост и развитие половых желез тилапии *Oreochromis mossambicus Peters* // Вестник СПбГУ. 1994. Вып. 4(24). С. 41-49.

445. Чмилевский Д.А. Влияние пониженной температуры на оогенез тилапии *Oreochromis mossambicus* Peters. 3. Воздействие на рыб в возрасте 30 и 60 суток после вылупления // Вопросы ихтиологии. 1995. Т. 35. № 2. С. 266-272.
446. Чмилевский Д.А. Влияние экстремальных воздействий на оогенез рыб (итоги и перспективы исследований) // Труды БиНИИ СПбГУ. 1997. № 44. С. 49-64.
447. Чмилевский Д.А. Влияние повышенной температуры на различные периоды и фазы оогенеза тилапии *Oreochromis mossambicus* // Вопросы ихтиологии. 1998. Т. 38. № 5. С. 676-683.
448. Чмилевский Д.А. К вопросу о периодизации оогенеза костистых рыб (обзор) // Вопросы ихтиологии. 2003. Т. 43. № 3. С. 375-387.
449. Чмилевский Д.А. Оогенез рыб в норме и при экстремальных воздействиях. СПб.: Изд-во С.-Петербур. ун-та. 2017. 156 с.
450. Шарова Ю.Н. Особенности функционирования репродуктивной системы сига (*Coregonus lavaretus* L.) из субарктических водоемов // Биологические основы изучения освоения и охраны животного и растительного мира, почвенного покрова Восточной Фенноскандии. 6-10 сент. Петрозаводск. 1999. С. 173.
451. Шарова Ю.Н., Кауфман З.С. Лукин А.А. Оогенез рыб Европейского Севера России при технологическом загрязнении. Петрозаводск. КарНЦ РАН. 2003. 130 с.
452. Шатуновский М.И., Акимова Н.В., Рубан Г.И. Реакция воспроизводительной системы рыб на антропогенное воздействие // Вопросы ихтиологии. 1996. Т. 36. № 2. С. 229-238.
453. Шильдяев А.А., Мосягина М.В., Зеленников О.В. К вопросу об экологическом параллелизме миног и лососевых рыб // «Экологические проблемы Севера». Архангельск. 2008. С. 219-221.
454. Широков Д.А., Пукова Н.В., Микодина Е.В., Сторожук Н.Г. Состояние гонад и микроэлементный состав тела молоди кеты юго-восточного шельфа Сахалина // Проблемы репродукции и раннего онтогенеза морских гидробионтов. Мурманск. 2004. С. 137-140.
455. Широкова М.Я. Особенности раннего онтогенеза балтийской трески // Труды АтлантНИРО. 1971. Вып. 35. С. 114-123.
456. Шубин А.О. Особенности раннего морского периода жизни горбуши и кеты различных районов воспроизводства и его роль в становлении численности поколений на

Юго-Востоке Сахалина // Тез 5 совещ по биологии лососевых рыб. Санкт-Петербург. 1994. С. 225-227.

457. Шуман Л.А. Гистопатологические изменения и репродуктивный потенциал у рыб в водоёмах Обь-Иртышского бассейна с различной антропогенной нагрузкой // Автореф. дисс. канд. биол. наук. М.: ВНИРО. 2015. 20 с.

458. Шунтов В.П., Васильков В.П. Долгопериодные флюктуации численности северотихоокеанских сардин. Сообщение 1. Динамика численности дальневосточной *Sardinops sagax melanosticta* (Schlegel) и калифорнийской *Sardinops sagax caerulea* (Girard) сардин в XX веке // Вопросы ихтиологии. 1981. Т. 21. Вып. 6. С. 963-975.

459. Шунтов В.П., Темных О.С. Превышена ли экологическая емкость Северной Пацифики в связи с высокой численностью лососей: мифы и реальность // Известия ТИНРО. 2004. Т. 138. С. 19-36.

460. Шунтов В.П., Темных О.С. Тихоокеанские лососи в морских и океанических экосистемах. Владивосток. ТИНРО-центр. 2011. Т. 2. 474 с.

461. Шунтов В.П., Темных О.С., Шевляков В.А. Лососевая путина-2015: Успехи и неудачи, контрасты «север-юг» // Бюллетень №10 изучения тихоокеанских лососей на Дальнем Востоке. Владивосток. 2015. С. 3-15.

462. Шурухин А.С. Влияние температуры на темп дифференцировки гонад у молоди стерляди // Труды ГосНИОРХ. 1985. Вып. 219. С. 73-81.

463. Якимов А.В. Экология и биология ручьевого форели (*Salmo trutta morpha fario* L., 1758) в условиях Центрального Кавказа (в пределах Кабардино-Балкарии) // Автореф. дисс. канд. биол. наук. Ростов-на-Дону. АзНИИРХ. 2002. 24 с.

464. Янковская В.А. Рыбоводно-биологическая оценка отечественной породы радужной форели Адлер и направление ее использования // Автореф. канд. с-хоз. наук. Краснодар. 1999. 23 с.

465. Abbasi A.R, Shackley S.E., King P.E. An ultrastructural study of egg development in an estuarine teleost, thick-lipped, grey mullet, *Chelon labrosus* Risso // Pakistan of Journal Zoology. 2000. V. 32. № 3. P. 207-222.

466. Agler B.A., Hagen P.T., Scott J.R. et al. Wandering pink salmon: 1999 and 2000 thermal mark recoveries in Southeast Alaska // NPAFC Tech. Rep. 2001. № 3. P. 47-49.

467. Afonso L.O.B., Smith J.L., Ikonomu M.G., Devlin R.H. Y-Chromosomal DNA markers for discrimination of chemical substance and effluent effects on sexual differentiation in salmon // Environ. Health. Perspect. 2002. V. 110. № 9. P. 881-887.

468. Afonso L.O.B., Lebouté E.M. Sex reversal in Nile tilapia: Is it possible to produce all male stocks through immersion in androgens? // World Aquacult. Inc. Aquacult. Eur. 2003. V. 34. № 3. P. 16-19.
469. Alam M.A., Komuro H., Bhandari R.K., Nakamura Sh., Soyano K., Nakamura M. Immunohistochemical evidence identifying the site of androgen production in the ovary of the protogynous grouper *Epinephelus merra* // Cell and tissue research. 2005. V. 320(2). P. 323–329.
470. Allen G.H. Fecundity of rainbow trout from actual count of eggs // Copeia. 1960. V. 3 P. 260-261.
471. Almer B., Dickson W., Ekström C., Hormström E., Miller U. Effects of Acidification on Swedish Lakes // Ambio. 1974. V. 3. P. 30-36.
472. Amano M., Oka Y., Kitamura S., Ikuta K., Aida K. Ontogenic development of salmon GnRH and chicken GnRH-II systems in the brain of masu salmon (*Oncorhynchus masou*) // Cell and Tissue Research. 1998. V. 293. № 3. P. 427-434.
473. Amano M., Ikuta K., Kitamura S., Aida K. Effects of photoperiod on pituitary gonadotropin levels in masu salmon // Journal of Experimental Zoology. 2001. V. 289. № 7. P. 449-455.
474. Anas, R.E. Three-year-old pink salmon // Journal of Fisheries Research Board of Canada. 1959. V. 16. P. 91-94.
475. Anward K. Comparisons of annual gonad cycle and fecundity between nominate and deepwater forms of vendace (*Coregonus albula* L.) in lake stechlin (state of Brandenburg, Germany) // Journal of Applied Ichthyology. 1998. V. 14. № 1-2. P. 97-100.
476. Applegate V.C. Natural history of the sea lamprey (*Petromyzon marinus*) in Michigan. U.S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service Special Scientific Report: Fisheries 55. 1950. 237 pp.
477. Arslan T., Phelps R.P., Osborne J.A. Effects of oestradiol-17 $\beta$  or 17 $\alpha$ -metgyltestosterone administration on gonadal differentiation of largemouth bass *micropterus salmoides* (Lacepede) // Aquaculture Research. 2009. V. 40. № 16. P. 1813-1822.
478. Arukwe A. Cellular and molecular responses to endocrine-modulators and the impact on fish reproduction // Marine Pollution Bulletin. 2001. V. 42. № 8. P. 643-655.
479. Asoh K. Gonadal development and diandric protogyny in two populations of *Dascyllus reticulatus* from Magang, Papua New Guinea // Journal of Fish Biology. 2005. V. 66. № 4. P. 1127-1148.

480. Audet C., Munger R.S., Wood C.M. Long-term sublethal acid exposure in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in soft water: effects on ion exchanges and blood chemistry // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science. 1988. V. 45. № 8. P.1387-1398.
481. Audet C., Wood C.M. Do rainbow trout (*Salmo gairdneri*) acclimate to low pH // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science. 1988. V. 45. № 8. P. 1387-1398.
482. Babiak J., Babiak I., van Nes S., Harboe T., Haugen T., Norberg B. Induced sex reversal using an aromatase inhibitor, fadrosol, in atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) // Aquaculture. 2012. V. 324-325. P. 276-280.
483. Baldigo B.P., Roy K.M., Driscoll C.T. Response of fish assemblages to declining acidic deposition in Adirondack Mountain lakes // Atmospheric Environment. 2016. V. 146. P. 223-235.
484. Baroiller J.F., Clota F. Interactions between temperature effects and genotype on *Oreochromis niloticus* sex determination. Par. 1<sup>st</sup> Int. Symp. Vertebrate sex determin. Honolulu. Haw., Apr. 7-11, 1997 // Journal of Experimental Zoology. 1998. V. 281. № 5. P. 507.
485. Baroiller J.F. Guiguen Y. Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in gonochoristic fish // Genes and Mechanisms in Vertebrate Sex Determination. Basel etc. 2001. P. 177-201.
486. Baroiller J.F., Guiguen Y., Fostier, A. Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in fish // Cellular and Molecular Life Sciences. 1999. V. 55. P. 910-931.
487. Baroiller J.F., Guiguen Y. Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in gonochoristic fish // Genes and Mechanisms in Vertebrate Sex Determination. Basel ets., 2001. P.177-201.
488. Baynes S.M., Scott A.P., Dawson A.P. Rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, spermatozoa: effects of cations and pH on motility // Journal of Fish Biology. 1981. V. 19. № 3. P. 259-267.
489. Beacham, T.D. Fecundity of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and chum salmon (*O. keta*) in the northeast Pacific Ocean. Canadian of Journal Zoology. 1982. V. 60. P. 1463-1469.
490. Beamish F.W.H. Biology of the southern brook lamprey, *Ichthyomyzon gagei*. Environmental Biology of Fishes. 1982. V. 7. № 4. P. 305-320.
491. Beamish F.W.H., Thomas E.J. Potential and actual fecundity of the 'paired' lampreys, *Ichthyomyzon gagei* and *I. castaneus* // Copeia. 1983. № 2. P. 367-374.

492. Beamish F.W.H., Ott P.K., Roe S.L. Interpopulational variation in fecundity and egg size in Southern Brook Lamprey, *Ichthyomyzon gagei* // *Copeia*. 1994. № 3. P. 718-725.
493. Bengeri K.V., Patil H.S. Lead induced histological changes in the liver of *Puntius arulius* // *The Journal of Animal Morphology and Physiology*. 1987. V. 33. № 1-2. P. 147-150.
494. Behera S., Kumar S., Gogoi R., Nagesh T.S. The effect of syntetic hormones (17 $\beta$ -estradiol and 17 $\alpha$ -methyltestosterone) on the phenotypic, and gonadal changes of male dwarf gourami, *Trichogaster lalius* // *Uttar Pradesh*. 2014. V. 34. № 3. P. 167-172.
495. Behnke R.J. Genus *Oncorhynchus*. Trout and Salmon of North America. Tomelleri, Joseph R. (illustrator). New York: The Free Press. 2002. P. 10–21.
496. Berg, L.S. A review of the lampreys of the northern hemisphere // *Annales Musée Zoologique de l'Acad. des. Sciences de l'URSS* 1931. V. 32(1). P. 87-116.
497. Bhaskar M., Govindappa S. Physiological and metabolic patterns in muscle of fish, *Tilapia mossambica* on acclimation to altered pH // *Ambio*. 1985. V. 14. № 6. P. 349-351.
498. Bhaskar M., Govindappa S. Acclimation to sublethal acidic and alkaline media of *Tilapia mossambica* (Peters): changes in glycogen metabolism of red muscle // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 1986. V. 37. № 1. P.113-119.
499. Billard R., Richard M., Breton B. Stimulation of gonadotropin secretion after castration in rainbow trout // *General Comparative Endocrinology*. 1977. V. 33. P. 163-165.
500. Blanco-Vivas B., Vera L.M., Ramos J., Bayarri M.J., Mananos E., Sanches-Vazquez F.J. Exposure of larvae to daily thermocycles affects gonad development, sex ratio, and sexual steroids in *Solea senegalensis* // *Journal of Experimental Zoology*. 2011. V. 315. № 3. P. 162-169.
501. Blazquez M., Felip A., Zanuy S., Carrillo M., Piferrer F. Critical period of androgen-inducible sex differentiation in a teleost fish, the European sea bass // *Journal of Fish Biology*. 2001. V. 58. № 2. P. 342-358.
502. Bleil M., Oeberst R. Laichen von Dorschen in Gefangenschaft. Teil 1. Verlauf der Laichaktivitaten // *Info Fischwirt*. 1998. V. 45. № 4. P. 164-170.
503. Bogdanova V.A. Ontogenesis of gonads in *Coregonus peled* (Gmelin) x *Coregonus nasus* (Pallas) hybrids. // *Advances in Limnology*. 2002. № 57. P. 243-252.
504. Borchard B. Studies on the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.). Correlation between gonadal development and serum protein pattern // *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* 1978. V. 18. № 4. P. 1027-1034.

505. Bregnballe F. Величина икринок у радужной форели (перевод с датского, библиотека ГосНИОРХ) // Ferskvands Fisheriladef. 1967. V. 65. № 8. P. 114-117.

506. Breton B., Billard R. Effects of photoperiod and temperature on plasma gonadotropin and spermatogenesis in rainbow trout *Salmo gairdnerii* Richardson // Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys. 1977. V. 17. № 3A. P. 331-340.

507. Bromage N.R., Whitehead C., Breton B. Relationships between serum levels of gonadotropin, oestradiol-17 $\beta$ , and vitellogenin in the control of ovarian development in the rainbow trout. The effects of alterations in environmental photoperiod // General Comparative Endocrinology. 1982. V. 47. P. 366-376.

508. Brown D.J.A., Lynam S. The effect of sodium and calcium concentrations on the hatching of eggs and the survival of the yolk sac fry of brown trout, *Salmo trutta* L. at low pH // Journal of Fish Biology. 1981. V. 19. № 2. P. 205-211.

509. Brown J.A., Edwards D., Whitehead C. Cortisol and thyroid hormone responses to acid stress in the brown trout, *Salmo trutta* L. // Journal of Fish Biology. 1989. V. 35. № 1. P. 73-84.

510. Busson-Mabillot S. Structure ovarienne chez la lamproie de Planer *Lampetra planeri* (Bloch) // Archives de Zoologie expérimentale et général. 1967. V. 108. № 3. P. 413-446.

511. Campbell B., Dickey J., Beckman B., Young G., Pierce A., Swanson P. Endocrine changes associated with the growth of pre-vitellogenic oocytes in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* // Fish Physiology and Biochemistry. 2004. V. 28. P. 287-289.

512. Cano J., Pretel A., Melendez S., Garcia F., Caputo V., Fenocchio A.S., Bertollo L.A.C. Determination of early stages of sex chromosome differentiation in the sea bass *dicentrarchus labrax* L. (Pisces: Perciformes) // Cytobios. 1996. V. 87. № 348. P. 45-59.

513. Carrasco L.A.P., Doroshovo S., Penman D.J., Bromage N. Sexual differentiation and gametogenesis in triploid trout: The same story as in triploid chickens? // Pap. 1<sup>st</sup>. Int. Symp. Vertebrate Sex Determin., Honolulu, Haw., Apr. 7-11, 1997. Journal of experimental zoology. 1998. V. 281. № 5. P. 508.

514. Carter J.C.H., Taylor W.D., Chengalath R., Scruton D.A. Limnetic zooplankton assemblages in Atlantic Canada with special reference to acidification // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science. 1986. V. 43. P. 444-456.

515. Chang C.F., Hung C.Y., Chiang M.C., Lan S.C. The concentrations of plasma sex steroids and gonadal aromatase during controlled sex differentiation in grey mullet, *Mugil cephalus* // Aquaculture. 1999. V. 173. № 1-4. P. 37-45.
516. Cher W., Ge W. Gonadal differentiation and puberty onset in the zebrafish: Evidence for the dependence and puberty onset on body growth but not age in females // Molecular Reproduction and Development. 2013. V. 80. № 5. P. 384-392.
517. Cochran P.A., Ross M.A., Walker T.S., Biederman T. Early spawning by the American brook lamprey (*Lethenteron appendix*) in southeastern Minnesota // The Canadian Field-Naturalist. 2012. V. 126. № 3. P. 204-209.
518. Collins L.A., Johnson A.C., Koenig C.C., Baker M.S. Reproductive patterns, sex ratio, and fecundity in gag, *Mycteroperca microlepis* (Serranidae), a protogynous grouper from the northeastern Gulf of Mexico // Fishery Bulletin. 1998 V. 96. № 3. P. 415-427.
519. Cornish D.A., Smit G.L., Campbell I.M. The effect of pH and selected chemical variables on the reproductive cycle of *Oreochromis mossambicus* // Water of South Africa. 1996. V. 22. № 1. P. 57-66.
520. Chiasson M., Benfey T.J., Martin-Robichaud D. Gonadal differentiation in atlantic cod, *Gadus morhua* L., and haddock, *Melanogrammus aeglefinus* (L.) // Acta ichthyologica et Piscatoria. 2008. V. № 2. P. 127-133.
521. Christensen A.K., Gillim S.W. The correlation of fine structure and function in steroid-secreting cells, with emphasis on those of the gonads. In: The gonads. 1969. McKerns K. W. (ed.) Noth-Holland Publ. Co., Amsterdam. P. 415-488.
522. Coward K., Bromage N.R. Influence of conspecific contact upon blood sex steroid levels and the dynamics of ovarian development in female red-bellied tilapia, *Tilapia zillii* // Journal of Applied Aquaculture. 1999. V. 9. № 1. P. 23-34.
523. Cun C.L., Yen S.Z., Chang Y.J., Chang H.Y. Reproductive biology of female bigeye tuna *Thunnus obesus* in the western Pacific Ocean // Journal of Fish Biology. 2013. V. 83. № 2. P. 250-271.
524. Dalziel T.R.K., Morris R., Brown D.J.A. The effects of low pH, low calcium concentrations and elevated aluminium fluxes in brown trout, *Salmo trutta* L. // Water, Air and Soil Pollution. 1986. V. 30. №3-4. P. 569-577.
525. Davies B., Swanson P., Bromage N. The effects of photoperiod and temperature on serum GTHI and GTHII and the timing of maturation in the female rainbow trout //

Proceedings of the Fifth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish. F. Goetz, P. Thomas (Ed.). Austin, TX: The University of Texas at Austin. 1995. P. 185.

526. Daye P.G., Garside E.T. Development and survival of embryos and alevins of the Atlantic Salmon, *Salmo salar L.*, continuously exposed to acidic levels of pH, from fertilization // Canadian Journal of Zoology. 1979. V. 57. № 9. P. 1713-1718.

527. Daye P.G., Garside E.T. Structural alterations in embryos and alevins of the Atlantic Salmon, *Salmo salar L.*, induced by continuous of short-term exposure to acidic levels of pH // Canadian Journal of Zoology. 1980. V. 58. № 1. P. 27-43.

528. D'Cotta H., Fostier A., Guiguen Y., Govoroun M., Baroiller J-F. Search for genes involved in the temperature-induced gonadal sex differentiation in the tilapia, *Oreochromis niloticus* // Journal of Experimental Zoology. 2001. V. 290. № 6. P. 574-585.

529. de Carvalho C.V.A., Passini G., de Melo C.W., Nunes V.B. Effect of estradiol-17 $\beta$  on the sex ratio, growth and survival of juvenile common snook (*Centropomus undecimalis*) // Acta. Sci. Anim. 2014. V. 36. № 3. P. 239-245.

530. Deligeorges S. Rencontre avec le quatrième sexe // Recherche. 1998. № 309. P. 34-35.

531. De Metrio G., Corriero A., Desantis S., Zubani D., Cirillo F., Deflorio M., Bridges C.R., Eicker J., de la Sema J.M., Megalofonou P., Kime D.E. Evidence of a high percentage of intersex in the Mediterranean swordfish (*Xiphias gladius L.*) // Marine Pollution Bulletin. 2003. V. 46. № 3. P. 358-361.

532. Demska-Zakes K., Martyniak A., Mamacarz A., Hliwa P., Rabalska M. The reserve of oocytes of peled (*C. Peled*) and whitefish (*C. Lavaretus*) hybrids from two masurian lakes // Int. Conf. Anim. Genet., Ceske Budejovice, Sept. 8-10. Zivoc. vyroba. 1998. V. 43. № 9. P. 440.

533. Demska-Zakes K., Zakes Z. Effect of 17 $\alpha$ -methyltestosterone on gonadal differentiation in pikeperch, *Stizostedion lucioperca* // Aquaculture Research. 1997. V. 28. № 1. P. 59-63.

534. Dendy J.S., Scott D.C. Distribution, life history and morphological variations of the Southern Brook Lamprey (*Ichthyomyzon gagei*, Hubbs and Trautman 1937) // Copeia. 1953. № 3. P. 152-162.

535. Devlin R.H., Nagahama Y. Sex determination and sex differentiation in fish: An overview of genetic physiological, and environmental influences // Aquaculture. 2002. V. 208. № 3-4. P. 191-364.

536. Dickey J.T., Swanson P. Effects of sex steroids on gonadotropin (FSH and LH) regulation in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) // Journal of Molecule Endocrinology. 1998. V. 21. № 3. P. 291-306.
537. Dietrich D., Schlatter C. Aluminium toxicity to rainbow trout at low pH // Aquatic Toxicology. 1989. V. 15. № 3. P. 197-212.
538. Donato D.M., Hiramatsu N., Arey K.M., Hiramatsu K., Kennedy A.M., Morton C.L., Hara A., Sullivan C.V. Atresia in temperate basses: cloning of hatching enzyme (choriolytin) homologues from atretic ovaries // Fish Physiology and Biochemistry. 2003. V. 28. № 1. P. 329-330.
539. Elofssen U., Winberg S., Francis R.C. Sex differences in brain preoptic Gn RH-ir cell number in a protandrously hermaphroditic fish, the anemonefish (*Amphiprion melanopus*) // 7<sup>th</sup> Int. Symp. Fish Physiol., Aug 3-6, 1996. Oslo. 1996. C. 57.
540. Edwards D., Hjeldnes S. Growth and Survival of salmonids in water of different pH // SNSF-project. Norway. FR 10/77. 1977. 12 pp.
541. Estay F., Diaz N.F., Valladares L. Ovarian morphological changes and plasma sex steroid profiles in two cultures salmon (*Oncorhynchus kisutch* and *Salmo salar*) broodstock populations in Chile // Proc. 5<sup>th</sup> Int. Symp. Reprod. Physiol. Fish, Austin, Tex., 2-8 July, 1995. Austin. 1995. P. 115.
542. Estay F., Neira R., Diaz N.F., Valladares L., Torres A. Gametogenesis and sex steroid profiles in cultured coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*, Walbaum) // Journal of Experimental Zoology. 1998. V. 280. № 6. P.429-438.
543. Esther L., Graham Y., Julien B., Joan C. Oogenesis in teleosts: How fish eggs are formed // General and Comparative Endocrinology. 2010. V. 165. P. 367-389.
544. Overall N.C., Macfarlane N.A.A., Sedgwick R.W. The interactions of water hardness and pH with the acute toxicity of zinc to the brown trout, *Salmo trutta L.* // Journal of Fish Biology. 1989. V. 35. № 1. P. 27-36.
545. Feist G., Schreck C.B., Fitzpatrick M.S., Redding J.M. Sex steroid profiles of coho salmon // General Comparative Endocrinology. 1990. V. 80. P. 299-313.
546. Fitzpatrick M.S., Redding J.M., Ratti F.D., Schreck C.B. Plasma testosterone concentration predicts the ovulatory response of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) to gonadotropin-releasing hormone analog // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science. 1987. V. 44. P. 1351-1357.

547. Fostier A., Weil C., Tergui M., Breton B., Jalabert B. Plasma estradiol-17 $\beta$  and gonadotropin during ovulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R) // Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys. 1978. V. 18. № 4. P. 929-936.
548. Fostier A., Billard R., Breton B., Legendre M., Marlot S. Plasma 11-oxotestosterone and gonadotropin during the beginning of spermiation in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R) // General Comparative Endocrinology. 1982. V. 46. P. 428-434.
549. Freeman H.C., Sangalang G.B., Burns G., McMenemy M. The blood sex hormone levels in sexually mature male atlantic salmon (*Salmo salar*) in the Westfield river (pH 4,7) and the Medway river (pH 5,6), Nova scotia // Science of the Total Environment. 1983. V. 32. P. 87-91.
550. Freeman H.C., Sangalang G.B. The effects of an acidic riwer, caused by acidic rain, on weight gain, steroidogenesis, and reproduction in the atlantic salmon (*Salmo salar*) // Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Eighth Symposium, ASTM STP 891, R.C.Bahner and D.J.Hansen, Eds., American Society for Testing and Materials, Philadelphia. 1985. P. 339-349.
551. Freeman H.C., Sangalang G.B., Studies on ameliorating the effects of an acidic riwer on the atlantic salmon (*Salmo salar*) // Aquatic Toxicology and Environmental Fate: Eleventh Volume ASTM STP 1007, G.W.Suter II and M.A.Lewis, Eds., American Society for Testing and Materials, Philadelphia. 1989. P. 251-259.
552. Falahatkar B. Endocrine changes during the previtellogenic stage of the great sturgeon, *Huso huso* (Linnaeus, 1758) // Journal of Applied Ichthyology. 2015. V. 31. № 3. P. 830-838.
553. Fukada H., Dickey P., Pierce A.L., Hodges N., Hara A., Swanson P., Dikhoff W.W. Gene expression levels of growth hormone receptor and insulin-like growth factor-I in gonads of maturing coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) // Fish Physiology and Biochemistry 2003. V. 28. № 1. P. 335-336.
554. Fujiwara A. Abe S., Yamaha E., Yamazaki F., Yoshida M.C. Uniparental chromosome elimination in the early embryogenesis of the inviable salmonid hibrids between masu salmon female and rainbow trout male // Chromosoma. 1997. V. 106. № 1. P. 44-52.
555. Gambicki S., Steinhart G.B. Changes in sea lamprey size fecundity through time in the Great Lakes // Journal of Great Lakes Research. 2017. V. 43. № 3. P. 209-214.

556. Gardner C., Coghlan S.M., Zydlewski J. Distribution and abundance of anadromous sea lamprey spawners in a fragmented stream: Current status and potential range expansion following barrier removal // *Northeastern Naturalist*. 2012. V. 19. № 1. P. 99-110.
557. Geffroy B., Bardonnnet A. Sex differentiation and sex determination in eels: consequences for management // *Fish and Fisheries*. 2016. V. 17. 2. P. 375-398.
558. Gerking S.D., Lee R.M. Survival and Reproduction of the Desert Pupfish (*Cyprinodon n. nevadensis*) After Acclimation to Acid Water // *Journal of Experimental Zoology*. 1982. V. 220. P. 269-275.
559. Gjedrem T. Genetic variation in tolerance of brown trout to acid water // SNSF-project. Norway. FR5/76. 1976. 11 pp.
560. Goetz F.W., Donaldson E.M., Hunter G.A. Effects of estradiol-17 $\beta$  and 17 $\alpha$ -methyltestosterone on gonadal differentiation in the coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* // *Aquaculture*. 1979. V. 17. P. 267-278.
561. Gonzales R.J., Mason C.H., Dunson W.A. Anomalous tolerance to low pH in the Estuarine Killifish *Fundulus holeroclitus* // *Comparative Biochemistry Physiology*. 1989. V. 94C. № 1. P. 169-172.
562. Gorshkov S., Gorshkova G., Knibb W., Gordin H. Sex ratios and growth performance of European sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*) reared in mariculture in Eilat (Red Sea) // *The Israel Journal of Aquaculture*. 1999. V. 51. № 3. P. 91-105.
563. Grandi G., Marchetti M.G., Lanzoni M., China M. Immunocytochemical and ultrastructural identification of adenohypophyseal cells in *Ctenopharingodon idella* (Cypriniformes: Cyprinidae) during gonadal differentiation // *Fish Physiology and Biochemistry* 2014. V. 40. № 4. P. 1115-1139.
564. Grant F. Sex steroid profiles of coho salmon // *General of Comparative Endocrinology*. 1990. V. 80. P. 299-313.
565. Guerrero-Estevez S., Moreno-Mendoza N. Gonadal morphogenesis and sex differentiation in the viviparous fish *Chapalichthys encaustus* (Teleostei, Cyprinodontiformes, Goodeidae) // *Journal of Fish Biology*. 2012. V. 80. № 3. P. 572-594.
566. Guimares A.C.D., Guaggio-Grassiotto I. Ultrastructural aspects of oogenesis and oocyte primary growth in *Serrasalmus spilopleura* (Teleostei, Characiformes, Characidae) // *Tissue and Cell*. 2001. V. 33. № 3. P. 241-248.

567. Goss G.G., Wood C.M. The effects of acid and acid/aluminum exposure on circulating plasma cortisol levels and other blood parameters in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* // Journal of Fish Biology. 1988. V. 32. P. 63-76.
568. Gray M.A., Teather K.L., Metcalfe C.D. Reproductive success and behavior of Japanese medaka (*Orizias latipes*) exposed to 4-tert-octylphenol // Environmental Toxicology and Chemistry. 1999. V. 18. № 11. P. 2587-2594.
569. Gunn J.M., Keller W. Effects of acidic melt water on chemical condition at nearshore spawning sites // Water, Air and Soil Pollution. 1986. V. 30. № 3-4. P. 545-552.
570. Guiguen Y., Baroiller J.F., Ricordel M.J., Iseki K., McMeel O.M., Martin S.A.M., Fostier A. Involvement of estrogens in the process of sex differentiation in two fish species: The rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and a tilapia (*Oreochromis niloticus*) // Molecular Reproduction and Development. 1999. V. 54. № 2. P. 154-162.
571. Haines T.A. Acidic precipitation and its consequences for aquatic ecosystems: A Review // Transactions of the American Fisheries Society. 1981. V. 110. P. 669-707.
572. Haines T.A., Baker J.P. Evidence of fish population responses to acidification in the eastern united states // Water, Air and Soil Pollution. 1986. V. 31. № 3-4. P. 605-629.
573. Han Y., Liu M., Lan Zang L., Simpson B., Xue Zhang G. Comparison of reproductive development in triploid and diploid female rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* // Journal of Fish Biology. 2010. V. 76. № 7. P. 1742-1750.
574. Hardisty M.W. Fecundity and speciation in lampreys // Evolution. 1963. V. 17. № 1. P. 17-22.
575. Hardisty M.W. The fecundity of lampreys // Archiv für Hydrobiologie. 1964. V. 60. № 3. P. 340-357.
576. Harvey H.H., Jackson D.A. Acid stress and extinction of a spring-spawning fish population // Water, Air and Soil Pollution. 1995. V. 85. № 2. P. 383-388.
577. Haya K., Waiwood B.A., Van Eeckhaute L. Disruption of energy metabolism and smoltification during exposure of juvenile atlantic salmon (*Salmo salar*) to low pH // Comparative Biochemistry Physiology. 1985. V. 82C. № 2. P. 323-329.
578. Hamaguchi S. Differential radiosensitivity of germ cells according to their developmental stages in the teleost *Oryzias latipes* // Radiation effects on aquatic organisms. Baltimore; Tokyo. Univ. Park Press; Jap. Sci. Soc. Press. 1980. P. 119-128.

579. Hardisty M.W. Sex differentiation and gonadogenesis in lampreys. 1. The ammocoete gonads of the brook lamprey, *Lampetra planeri* // Journal of Zoology. 1965. V. 146. № 3. P. 305-345.
580. Hardisty M.W., Potter I.C. The behavior ecology and growth of larval lampreys. The Biology of Lampreys. Vol. 1 N.Y. Academic Press, 1971. P. 85-125.
581. Haugen T., Andersson E., Norberg B., Taranger G.L. The production of hermaphrodites of atlantic cod (*Gadus morhua*) by masculinization with orally administered 17 $\alpha$ -metgyltestosterone, and subsequent production of all-female populations // Aquaculture. 2011. V. 311. № 1-4. P. 148-154.
582. Heard, W.R. Life history of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*). C. Groot and L. Margolis, eds. Pacific salmon life histories. UBC Press, Vancouver, British Columbia. 1991. P. 121-230.
583. Hesthagen T., Fiske P., Saksgard R. Recovery of young brown trout (*Salmo trutta*) in acidified streams: What are the critical values for acid-neutralizing capacity? // Atmospheric Environment. 2016. V. 146. P. 236-244.
584. Hikita T., Yokohira Y. Biological study on hybrids of the salmonid fishes: a note of hybrids between chum (*Oncorhynchus keta*) and pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) // Scientific Reports of the Hokkaido Salmon Hatchery. 1964. V. 18. P. 57-64.
585. Hitron J.W., Bonham Kelshaw. Hermaphroditism in a chum salmon, *Oncorhynchus keta* // Copeia. 1977. № 3. P. 591-592.
586. Hoar W.S., Nagahama Y. The cellular sources of sex steroids in teleost gonads // Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys. 1978. V. 18. P. 893-898.
587. Holmgren K., Buffam I. Critical values of different acidity indices – as shown by fish communities in Swedish lakes. // Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie. 2005. V. 29. № 2. P. 654-660.
588. Honma Y., Chiba A. Another case of synchronous (Balanced) hermaphroditism found in a chum salmon, *Oncorhynchus keta* (Walbaum), from the sea of Japan // Report Sado Marine Biological Station Niigata university. 1985. № 15. P. 27-30.
589. Howe E.A., Marsden J.E., Bouffard W.J. Movement of sea lamprey in the lake Champlain basin // Journal of Great Lakes Research. 2006. V. 32. № 4. P. 775-787.
590. Hughes R.L., Potter I.C. Studies on gametogenesis and fecundity in the lampreys *Mordacia praecox* and *Mordacia mordax* (*Petromyzonidae*) // Australian Journal of Zoology. 1969. V. 17(3). P. 447-464.

591. Hunn J.B., Cleveland L., Little E.E. Influence of pH and aluminium on developing brook trout in a low calcium water // *Environmental Pollution*. 1987. V. 43. № 1. P. 63-73.
592. Ikuta K., Kitamura S. Effects of low pH exposure of adult salmonids on gametogenesis and embryo development // *Water, Air and Soil Pollution*. 1995. V. 85. № 2. P. 327-332.
593. Imada K., Ito T., Izawa T. // *Scientific Reports of the Hokkaido Salmon Hatchery*. 1989. № 3. P. 65-75 (яп., рез. англ).
594. Ingersoll C.G., Mount D.R., Cully D.D. La Point T.W., Bergman H.L. Effects of pH, aluminium, and calcium on survival and growth of eggs and fry of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) // *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 1990. V. 47. № 8. P. 1580-1592.
595. Ishii S., Yoshiura Y., Kajimura S., Mochioka N., Aida K. Gonadal development and expression profiles of gonadotropin genes in wild sea conger, *Ariosoma meeki* // *Fish Physiology and Biochemistry*. 2003. V. 28. № 1. P. 95-96.
596. Ito L.S., Yamashita M., Takashima F., Strussmann C.A. Dynamics and histological characteristics of gonadal sex differentiation in pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) at feminizing and masculinizing temperatures // *Journal of Experimental Zoology*. 2005. V. 303. № 6. P. 504-514.
597. Jagoe C.H., Haines T.A., Buchler D.R. Abnormal gill development in atlantic salmon (*Salmo salar*) fry exposed to aluminium at low pH // *Ann. Soc. roy. zool. Belg.* 1987. V. 117. № 1. P. 375-386.
598. Jagoe C.H., Haines T.A. Morphometric effects of low pH and limed water on the gills of Atlantic salmon (*Salmo salar*) // *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 1990. V. 47. P. 2451-2460.
599. Jalabert B., Baroiller J.F., Breton B., Fostier A., Le Gac F., Guiguen Y., Monod G. Main Neuro-Endocrine, Endocrine and Paracrine Regulations of Fish Reproduction, and Vulnerability to Xenobiotics. // *Ecotoxicology*, 2000. V. 9. P. 25-40.
600. Jalabert B. Particularities of reproduction and oogenesis in teleost fish compared to mammals // *Reproduction Nutrition Development*. 2005. V. 45. P. 261-279.
601. Johnson A.K., Thomas P. Seasonal changes in gonadal histology and sex steroid hormone levels in the protogynous hermaphrodite, *Epinephelus morio* // *Proc. 5<sup>th</sup> Int. Symp. Reprod. Physiol. Fish*, Austin, Tex., 2-8 July, 1995. – Austin (Tex.), 1995. P. 234.

602. Janicki A., Greening H.S. The effects of stream liming on water chemistry and anadromous gallow perch spawning success in two Maryland coastal plain streams // *Water, Air and Soil Pollution*. 1986. V. 41. № 1-4. P. 359-383.
603. Jensen K.W., Snekvik E. Low pH levels wipe out salmon and trout populations in southern Norway // *Ambio*. 1972. V. 1. P. 223-225.
604. Johnson D.W., Webster D.A. Avoidance of low pH in selection of spawning sites by brook trout (*Salvelinus fontinalis*) // *Journal of Fisheries Research Board of Canada*. 1977. V. 34. № 11. P. 2215-2218.
605. Jones M.L., Brenden T.O., Irwin B.J. Re-examination of sea lamprey control policies for the St. Marys river: Completion of an adaptive management cycle // *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 2015. V. 72. № 10. P. 1538-1551.
606. Joy K.P., Singh M.S., Senthikumar B., Goos H.J.T. Pituitary-gonadal relationship in the Catfish *Clarias batrachus* (L.). A study correlating gonadotropin-II and sex steroid dynamics // *Zoological Science*. 2000. V. 17. № 3. P. 395-404.
607. Joyce T.L., Evans D.G. Using thermally-marked otoliths to aid the management of Prince-William Sound pink salmon // *NPAFC*. 2001. № 3. P. 35-36.
608. Kaeriyama M., Life history strategy and migration pattern of juvenile sockeye and chum salmon // *Mem. Fac. Fish.* 1997. V. 44. № 1. P. 25-30.
609. Kagawa H., Takano K., Nagahama Y. Correlation of plasma estradiol-17 $\beta$  and progesterone levels with ultrastructure and histochemistry of ovarian follicles in the white-spotted char, *Salvelinus leucomaenis* // *Cell and Tissue Research*. 1981. V. 218. P. 315-329.
610. Kanamori A. Gene expression during sex differentiation in madaka, *Orizias latipes*. Par 68<sup>th</sup> Annu. Meet. Zool. Soc. Jap., Nara, Oct. 2-4, 1997. *Zoological Science*. 1997. V. 14. Suppl. P. 73.
611. Karlou-Riga C., Economidis P.S. Ovarian atretic rates and sexual maturity of European horse mackerel, *Trachurus trachurus* (L.) in the Saronikos Gulf (Greece) // *Fisheries Bulletin*. 1996. V. 94. № 1. P. 66-76.
612. Katsu Y., Lange A., Urushitani H., Ichikawa R., Paull G.C., Cahill L.L., Jobing S., Tyler C.R., Iguchi T. Functional associations between two estrogen receptors, environmental estrogens, and sexual disruption in the roach (*Rutilus rutilus*) // *Environmental Science and Technology*. 2007. V. 41. № 9. P. 3368-3374.
613. Kawahara T., Yamashita I. Estrogen-independent ovary formation in the medaka fish, *Oryzias latipes* // *Zoological Science*. 2000. V. 17, № 1. P. 65-68.

614. Kawana M., Urava S., Hagen P., Munk K.M. High-seas ocean distribution of Alaskan hatchery pink salmon estimated by otolith marks // NPAFC. 2001. № 3, P. 27-30.
615. Kibrby M.F., Allen Y.T., Dyer R.A., Feist S.W., Katsiadaki I., Matthiessen P., Scott A.P., Smith A., Stentiford G.D., Thain J.E., Thomas K.V., Tolhurst L., Waldock M.J. Surveys of plasma vitellogenin and intersex in male flounder (*Plathichthys flesus*) as measures of endocrine disruption by estrogenic contamination in United Kingdom estuaries: Temporal trends, 1996 to 2001 // Environmental Toxicology and Chemistry. 2004. V. 23. № 3. P. 748-758.
616. Kobayashi H., Iwamatsu T. Ultrastrukture and development of the yolk nucleus of previtellogenic oocytes in the medaka *Oryzias latipes*. Abstr 70<sup>th</sup> Annu. Meet. Zool. Soc. Jap., Yamagata, Sept. 27-29, 1999. Zoological Science. 1999. V. 16. Suppl. P. 73.
617. Kobayashi S., Mogami M. Effects of x-irradiation upon rainbow trout (*Salmo irideus*). 3. Ovary growth in the stages of fry and fingerling // Bulletin of the Faculty of Fisheries Hokkaido, University. 1958. V. 9. № 2. P. 89-94.
618. Kobayashi H., Iwamatsu T. Development and fine structure of the yolk nucleus of previtellogenic oocytes in the medaka *Oryzias latipes* // Development, Growth & Differentiation. 2000. V. 42. 6. P. 623-631.
619. Kobayashi H. Iwamatsu T., Shibata Y., Ishihara M., Kobayashi Y. Effects of co-administration of estrogen and androgen on induction of sex reversal in the medaka *Oryzias latipes* // Zoological Science. 2011. V. 28. № 5. P. 355-359.
620. Koc N.D., Aytakin Y., Yuce R. Ovary maturation stages and histological investigation of ovary of the zebrafish (*Danio rerio*) // Brazilian Archives of Biology and Technology. 2008. V. 51. № 3. P. 513-522.
621. Kokokiris L., Mourot B., LeMenn F., Kentouri M., Fostier A. Endocrine changes during the annual reproductive cycle of the red porgy, *Pagrus pagrus* (Teleostei, Sparidae) // Fish Physiology and Biochemistry. 2000. V. 23. № 1. P. 1-11.
622. Konno K. Effects of irradiation on the gonads of the rainbow trout, *Salmo gairdneri irideus*, during embryonic stages // Radiation effects on aquatic organisms (N.Egami Ed.). Japan Sci. Soc. Press, Tokyo/Univ. Park Press, Baltimore 1980. P. 129-133.
623. Konno K., Tashiro F. The sterility of rainbow trout, *Salmo gairdneri*, irradiated with Cobalt-60 gamma rays // J. Tokyo Un. Fish. 1982. V. 68. № 1-2. P. 75-80.
624. Kopp C.R. An historical comparison of lake superior sea lamprey fecundity and egg size. Senior Capstone in Natural Resources Northland College April. 2017. C. 1-15.

625. Kopiejewska W., Szcserbowski A. Ovarian structure and development in juvenile perch, *Perca fluviatilis* (L.) under intensive breeding // Acta sci. Pol. Pisc. 2005. V. 4. № 1-2. P. 71-82.
626. Korwin-Kossakowski M. Wpływ zakwaszenia wod na ryby // Wiadomości Ekologiczne. 1989. V. 35. № 1. P. 61-72.
627. Krisfalusi M., Wheeler P.A., Thorgaard G.H., Cloud J.G. Gonadal morphology of female diploid gynogenetic and triploid rainbow trout // Journal of Experimental Zoology. 2000. V. 286. № 5. P. 505-512.
628. Krueger W.H., Oliveira K. Sex, size, and gonad morphology of silver American eels *Anguilla rostrata* // Copeia. 1997. № 2. P. 415-420.
629. Kujawa R., Fopp-Bayat D., Cejko B.I., Kucharczyk D., Glińska-Lewczuk K., Obolewski K., Biegaj M. Rearing river lamprey *Lampetra fluviatilis* (L.) larvae under controlled conditions as a tool for restitution of endangered populations // Aquaculture International. 2018. V. 26. № 1. P. 27-36.
630. Kuznetsov Yu., Mosyagina M., Zeleznikov O. The formation of fecundity in ontogeny of lampreys // Jawless Fishes of the World: Volume 1. Eds: by Alexei Orlov and Richard Beamish. Cambridge Scholars Publishing. 2016. P. 323-345.
631. Kwain W., Rose G.A. Growth of Brook Trout *Salvelinus fontinalis* Subject to Sudden Reduction of pH during Their Early Life History // Transactions of the American fisheries society. 1985. V. 114. P. 564-570.
632. Lacroix G.L., Gordon D.J., Johnston D. Effects of low environmental pH on the Survival, Growth, and Ionic Composition of Postmergent Atlantic Salmon (*Salmo salar*) // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science. 1985. V. 42. P. 768-775.
633. Lacroix G.L., Korman J. Timing of episodic acidification in atlantic salmon rivers influences evaluation of mitigative measures and recovery forecasts // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science. 1996. V. 53. № 3. P. 589-599.
634. Linares-Casenave J., Van Eenennaam J.P., Doroshov S.I. Ultrastructural and histological observations on temperature-induced follicular ovarian atresia in the white sturgeon // Journal of Applied Ichthyology. 2002. V. 18. № 4-6. P. 382-390.
635. Lambert J.G.D., Bosman G.J.G.M., Hurk R. van Den, Van Oort P.G.W.J. Annual cycle of plasma oestradiol-17 in the female trout *Salmo gairdneri* // Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys. 1978. V. 18. № 4. P. 923-927.

636. Lambert J.G.D., Van Bohemen Ch.G. Oestradiol synthesis in the female frou, *Salmo gairdneri* // General Comparative Endocrinology. 1980. V. 40. № 3. P. 323.
637. Lambert J.G., Janssen P.A.H. A long term study of the effects of polluted sediment on the annual reproductive cycle of the female flounder, *Platichthys flesus* // Proc. 5<sup>th</sup> Int. Symp. Reprod. Physiol. Fish, Austin, Tex., 2-8 July, 1995. Austin. 1995. P. 176-178.
638. Lange A., Paull G.C., Hamilton P.B., Iguchi T., Tyler C.R. Implications of persistent exposure to treated wastewater effluent for breeding in wild roach (*Rutilus rutilus*) // Environ Sci and Technol. 2011. V. 45. № 4. P. 1673-1679.
639. Lanzing W.J.R. Studies on the river lamprey *Lampetra fluviatilis*, during its anadromous migration – Uitgeversmaat-schaptij Neederlandie. Utrecht. 1959. P. 1-82.
640. Lauren D.S., McDonald D.G. Influence of water hardness, pH and alkalinity on the mechanisms of copper toxicity on juvenile rainbow frou, *Salmo gairdneri* // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science. 1986. V. 43. № 8. P. 1488-1496.
641. Laurent P., Perry S.F. Effects of cortisol on gill chloride cell morphology and ionic uptake in the freshwater trout *salmo gairdneri* // Cell and Tissue Research. 1990. V. 259. № 3. P. 429-442.
642. Lebrun C., Billard R., Jalabert B. Changes in the number of germ cells in the gonads of the rainbow frou (*Salmo gairdneri*) during the first 10 post-hatching weeks // Reproducton Nutrition Development. 1982. V. 22. № 2. P. 405-412.
643. Lukšienė D., Sandström O., Lounasheimo L. Andersson J. The effects of thermal effluent exposure on the gametogenesis of female fish // Journal of Fish Biology. 2000. V. 56. P. 37–50.
644. Lee K.H., Yamaguchi A., Rashid H., Kadomura K., Yasumoto S., Matsuyama M. Estradiol-17 $\beta$  treatment induces intersexual gonadal development in the pufferfish, *Takifugu rubripes* // Zoological Science. 2009. V. 26. № 9. P. 639-645.
645. Lee R.M., Gerking S.D. Sensitivity of fish eggs to asid stress // Water Research. 1980. V. 14. № 12. P. 1679-1681.
646. Lee R.M., Gerking S.D. Jerierska B. Electrolyte balance and energy mobilization in acid-stressed rainbow frou, *Salmo gairdneri*, and their relation to reproductive success // Environmental Biology of Fishes. 1983. V. 8. № 2. P. 115-123.
647. Lemly A.D., Smith R.J.F. Effects of acute exposure to acidified water on the behavioral response of fathead minnows // Aquatic Toxicology. 1985. V. 6. № 1. P. 25-36.

648. Leuven R.S.E., Wendelaar Bonga S.E., Oyen F.G.F., Hagemeyer W. Effects of acid stress on the distribution and reproductive success of freshwater fish in Dutch soft waters // Ann. Soc. roy. zool. Belg. 1987. V. 117. № 1. P. 231-242.
649. Lewis Z.R. McClellan M.C., Postlethwait J.H. Female-Specific Increase in Primordial Germ Cells Marks Sex Differentiation in Threespine Stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) // Journal of Morphology. 2008. V. 269. № 8. P. 909-921.
650. Li Z., Villeneuve D.L., Jensen K.M., Ankley G.T., Watanabe K.H. A computational model for asynchronous oocyte growth dynamics in a batch-spawning fish // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science. 2011. V. 68. № 9. P. 1528-1538.
651. Lim B.S., Kagawa H., Gen K., Okuzawa K. Effects of water temperature enzymes in the gonad of juvenile red seabream, *Pargus major* // Fish Physiology and Biochemistry. 2003. V. 28. № 1. P. 161-162.
652. Linlokken A. Vertical distribution of brown trout (*Salmo trutta*) and perch (*Perca fluviatilis*) in an acidified lake // Water, Air and Soil Pollution. 1988. V. 40. № 1-2. P. 203-213.
653. Lofts B., Bern H.B. The functional morphology of steroidogenic tissue. In: Steroids in Nonmammalian Vertebrates. Idler D.R. (ed.) Academic Press. 1972. New York. P. 37-125.
654. Lokman P.M., George K.A.N., Divers S.L., Algie M., Young G. 11-Ketotestosterone and IGF-1 increase the size of previtellogenic oocytes from shortfinned eel, *Anguilla australis*, in vitro // Reproduction. 2007. V. 133. № 5. P. 955-967.
655. Lou S.W., Aida K., Hanyu I., Sakai K., Nomura M., Tanaka M., Tazaki S. Endocrine profiles in the males of a twice-annually spawning strain of rainbow trout, *Salmo gairdneri* // General Comparative Endocrinology. 1986. V. 64. № 2. P. 212-219.
656. Lower N., Scott A.P., Moore A. Release of steroids into the water by roach // Journal of Fish Biology. 2004. V. 64. № 1. P. 16-33.
657. Luchenbach J.A., Godwin J. Daniels H.V. Borski R.J. Gonadal differentiation and effects of temperature on sex determination in southern flounder (*Paralichthys lethostigma*) // Aquaculture. 2003. V. 216. № 1-4. C. 315-327.
658. Majewski H.S., Brown S.B., Evans R.E., Freeman H.C., Klaverkomp J.F. Responses of kidney, liver, muscle, and bone in Atlantic salmon (*Salmo salar*) to diet and liming in acidic Nova Scotia rivers // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science. 1990. V. 47. P. 2441-2450.

659. Malmquist B. Population structure and biometry of *Lampetra planeri* (Bloch) from three different watersheds in South Sweden // Archiv für Hydrobiologie. 1978. V. 84. P. 65–86.
660. Malte H.E Effects of aluminium in hard, acid waters on metabolic rate, blood gas tensions and ionic status in the rainbow trout // Journal of Fish Biology. 1986. V. 29. № 2. P. 187-198.
661. Manion P.J. Fecundity of the sea lamprey *Petromyzon marinus* in Lake Superior // Transactions of the American Fisheries Society. 1972. V. 101. № 4. P. 718-720.
662. Marthaler R., Gebhardt H., Lennenbach M. Gewässerversauerung Gefahr für den Lebensraum der Bachtorelle // Biologie in Unserer Zeit. 1989. V. 19. № 1. P. 22-24.
663. McCormick J.H., Jensen K.M., Leino R.L., Stohes G.N. Fish blood osmolality, gill histology and oocyte atresia as early warning acid stress indicators // Ann. Soc. Roy. Zool. Belg. 1987. V. 117. № 1. P. 309-319.
664. Menendez R. Chronic effects of reduced pH on brook trout (*Salvelinus fontinalis*) // Journal of Fisheries Research Board of Canada. 1976. V. 33. P. 118-123.
665. Mills K.H., Clalanchuk S.M., Mohr L.C., Davies I.J. Responses of fish populations in lake 223 to 8 years of experimental acidification // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science. 1987. V. 44. № 1. P. 114-125.
666. Milner N.J., Varallo P.V. Effects of acidification on fish and fisheries in Wales // Acid Waters in Wales. 1990. P. 121-143.
667. Miranda A.C.L., Bazzoli N., Rizzo E., Sato Y. Ovarian follicular atresia in two teleost species: a histological and ultrastructural study // Tissue & Cell. 1999. V. 31. № 5. P. 480–488.
668. Morimoto H. Age and growth of Japanese sardine *Sardinops melanostictus* in Tosa Bay, south-western Japan during a period of declining stock size // Fisheries Science. 2003. V. 69. P. 745–754.
669. Mount D.J. Chronic effect of low pH on fathead minnow survival, growth and reproduction // Water Research. 1973. V. 7. P. 987-993.
670. Morrey C.E., Nakamura M., Kobayashi T., Gau E.G., Nagahama Y. P450SCC-like immunoreactivity throughout gonadal restructure in the protogynous hermaphrodite *Thalassoma duperrey* // The International Journal of Developmental Biology. 1998. V. 42. P. 811-816.

671. Munakata A., Amano M., Ikuta K., Kitamura S., Aida K. Inhibitory effects of testosterone on downstream migratory behavior in masu salmon, *Oncorhynchus masou* // Zoological Science. 2000. V. 17. № 7. P. 863-870.
672. Nagahama Y., Clarke W.C., Hoar W.S. Ultrastructure of putative steroid-producing cells in the gonads of coho (*Oncorhynchus kisutch*) and pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) // Canadian Journal of Zoology. 1978. V. 56. P. 2508-2519.
673. Nagahama Y. Gonadal steroid hormones: major regulators of gonadal sex differentiation and gametogenesis in fish. // Proc. Sixth Int. Symp. Reprod. Physiol. Fish. Univ. Bergen, 2000. P. 211-222.
674. Nagahama Y., Yamashita M. Regulation of oocyte maturation in fish // Development, Growth & Differentiation. 2008. V. 50. P. 5195-5219.
675. Nagasawa K. Fish and seabird predation on juvenile chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in Japanese coastal waters, and an evaluation of the impact // North Pacific Anadromous Fish Commission Bulletin. 1998. № 1. P. 480-495.
676. Nakamura M., Takahashi H., Hiroi O. Sex differentiation of the gonad in the masu salmon, *Oncorhynchus masou* // Scientific Reports of the Hokkaido Salmon Hatchery. 1974. № 28. P. 1-6.
677. Nakamura M. Feminization of masou salmon *Oncorhynchus masou* by administration of estradiol-17 $\beta$  // Nippon Suisan Gakkaishi. (Bull. Jap. Soc. Sci. Fish). 1981. V. 47. № 11. P. 1529.
678. Nakamura M., Kobayashi T., Chang X.-T., Nagahama Y. Gonadal sex differentiation in teleost fish // Journal of Experimental Biology. 1998. V. 281. P. 362-372.
679. Nakamura M., Nagahama Y. Steroid producing cells during ovarian differentiation of tilapia, *Sarotherodon niloticus* // Development, Growth & Differentiation. 1985. V. 25. № 6. P. 701-708.
680. Nakamura M., Nagahama Y. Ultrastructural study on the differentiation and development of steroid-producing cells during ovarian differentiation in the amago salmon *Oncorhynchus rhodurus* // Aquaculture. 1993. V. 112. P. 237-251.
681. Nakamura M., Kobayashi Y., Miura S., Alam M.A., Bhandari R.K. Sex change in coral reef fish // Fish Physiology and Biochemistry. 2005. V. 31. № 2-3. P. 117-122.
682. Nakari T., Soivio A., Pesonen S. Effects of an advanced photoperiod cycle on the gonadal development and spawning time of 2 year-old salmo gairdneri R. reared in earth ponds under extreme annual water temperatures// Aquaculture. 1987. V. 67. P. 369-384.

683. Nakari T., Soivio A., Pesonen S. The ovarian development and spawning time of *salmo gairdneri* R. naturally fluctuating water temperature in Finland // *Annales Zoology Fennici*. 1988. V. 25. P. 335-340.
684. Nakatsukasa Y. An example of the hermaphroditic gonad found in *Oncorhynchus keta* (Walbaum) // *Japan Journal of Ichthyol.* 1965. V. 13. № 1/3. P. 59-63.
685. Matsubara M., Lokman P.M., Senaha A., Kazeto Y., Ijiri S., Kambegawa A., Hirai T., Young G., Todo T., Adachi S., Yamauchi K. Synthesis and possible function of 11-ketotestosterone during oogenesis in eel (*Anguilla* spp.) // *Fish Physiology and Biochemistry*. 2003. V. 28. № 1. P. 353-354.
686. Nelson J.A., Magnusson J.J., Chulakasem W. Blood oxygen capacity differences in yellow perch (*Perca flavessens*) from northern Wisconsin lakes differing in pH // *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 1988. V. 45. № 10. P. 1699-1704.
687. Nelson J.A. Critical swimming speeds of yellow perch *Perca flavessens*: Comparison of populations from a naturally acidic lake and circumneutral lake in acid and neutral water // *Journal of Experimental Biology*. 1989. V. 145. P. 239-254.
688. Navara K.J. Choosing sexes. Mechanisms and adaptive patterns of sex allocation in vertebrates. Springer International Publishing AG. 2018. 240 pp.
689. Neville C.M. Ventilatory response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to increased H<sup>+</sup> ion concentration in blood and water // *Comparative Biochemistry Physiology*. 1979. V. 63A. № 3. P. 373-376.
690. Nomura M. Studies on reproduction of rainbow trout, *Salmo gairdneri*, with special reference to egg taking. 3. Acceleration of spawning by control of light // *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*. 1970. V. 28. № 11. P. 1070-1076.
691. O'Connor J.M. Pituitary gonadotropin release patterns in pre-spawning brook trout, *Salvelinus fontinalis*, rainbow trout, *Salmo gairdneri* and leopard frogs, *Rana pipiens* // *Comparative Biochemistry Physiology*. 1972. V. 43A. P. 739-746.
692. Ohta K., Sakai M., Sundaray J.K., Kitano T., Takeda T., Yamaguchi A., Matsuyama M. Bidirectional sex change induced by sex steroid implantation in the hermaphrodite fish, *Pseudolabrus steboldi* // *Journal of Experimental Zoology*. 2012. V. 317. № 9. P. 552-560.
693. Okuzawa K., Kumakura N., Gen K., Yamaguchi S., Lim B.S., Kagawa H. Effect of high water temperature on brain-pituitary-gonad axis of the red seabream during its spawning season // *Fish Physiology and Biochemistry*. 2003. V. 28. № 1. P. 439-440.

694. Olsen K.H., Bjerselius R., Mayer I., Kindahl H. Both ovarian fluid and female urine increase sex steroid hormone levels in mature Atlantic salmon (*Salmo salar*) // Journal of Chemistry Ecology. 2001. V. 27. № 11. P. 2337-2349.
695. Oota I., Yamamoto K. Interstitial cells in the immature testes of the rainbow trout // Annotationes Zoologicae Japonenses. 1966. V. 39. P. 142-148.
696. Onitake K., Iwamatsu T. Immunocytochemical demonstration of steroid hormones in the granulosa cells of the medaka, *Oryzias latipes* // The Journal of Experimental Zoology. 1986. V. 239. P. 97-103.
697. Orn S., Holbech H., Madsen T.H., Norrgren L., Petersen G.I. Gonad development and vitellogenin production in zebrafish (*Danio rerio*) exposed to ethinylestradiol and methyltestosterone // Aquatic Toxicology. 2003. V. 65. № 4. P. 397-411.
698. Ota Y., Ueda H., Urano A. Seasonal changes in expression of neurohypophysial hormone genes differ between normal and precocious male masu salmon // Par. 68<sup>th</sup> Annu. Meet. Zool. Soc. Jap., Nara, Oct. 2-4, 1997. Zoological Science. 1997. V. 14. Suppl. P. 11.
699. Ota Y., Hiraoka S., Saito A., Urano A. Changes in expression of neurohypophysial hormone genes and plasma levels of steroid hormones in pre-spawning chum salmon. Abstr 69<sup>th</sup> Annu. Meet. Zool. Soc. Jap., Hiroshima, Sept. 26-28, 1998. Zoological Science. 1998. V. 15. Suppl. P. 3.
700. Oyen F.G.F., Camps L.E.C.M.M., Wendelaar Bonga S.E. Effect of acid stress on the embryonic development of the common carp (*Cyprinus carpio*) // Aquatic Toxicology. 1991. V. 19. № 1. P. 1-12.
701. Pandian T.J., Kirankumar S. Recent advances in hormonal induction of sex-reversal in fish // Journal of Applied Aquaculture. 2003. V. 13. № 3-4. P. 205-230.
702. Pankhurst N.W., Purser G.J., van der Kraak G., Thomas P.M., Forteach G.N.R. Effect of holding temperature on ovulations, egg fertility, plasma levels of reproductive hormones and in vitro ovarian steroidogenesis in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* // Aquaculture. 1996. V. 146. P. 277-290.
703. Papoulias D.M., Wildhaber M.L., Delonay A.J., Annis M.L., Krentz S., Tillitt D.E. Abnormal hermaphroditism in shovelnose sturgeon (*Scaphirhynchus platotynchus*) from the Missouri river // 4 Symposium on Aquatic animal health, New Orleans, Sept. 1-5. 2002. P.165.
704. Potter I.C., Hilliard R.W., Bird D.J. Macey D.J. Quantitative data on morphology and organ weights during the protracted spawning-run period of the Southern Hemisphere lamprey *Geotria australis* // Journal of Zoology. 1983. V. 200. № 1. P. 1-20.

705. Potter I.C., Hilliard R.W. A proposal for the functional and phylogenetic significance of differences in the dentition of lampreys (Agnatha: Petromyzontiformes) // *Journal of Zoology*. 1987. V. 212. № 4. P. 713-737.
706. Powell M.L., Kavanaugh S.L., Sower S.A. Seasonal concentrations of reproductive steroids in the gonads of the atlantic hagfish, *Myxine glutinosa* // *Journal of Experimental Zoology*. A. 2004. V. 301. № 4. P. 352-360.
707. Park C.B., Aoki J., Lee J.S., Nagae M., Lee Y.D., Sakakura Y., Hagiwara A., Soyano K. The effects of 17 $\beta$ -estradiol on various reproductive parameters in the hermaphrodite fish *Kryptolebias marmoratus* // *Aquatic Toxicology*. 2010. V. 96. № 4. P. 273-279.
708. Parker D.B., Mc Keown B.A. The effects of low pH on egg and alvein survival of kokanee and socheye salmon *Oncorhynchus nerka* // *Comparative Biochemistry Physiology*. 1987. V. 87C. P. 259-268.
709. Pawson M.G., Pickett G.D., Witthames P.R. The influence of temperature on the onset of first maturity in sea bass // *Journal of Fish Biology*. 2000. V. 56. P. 319-327.
710. Peterson R.H., Daye P.G., Metcalfe J.L. Inhibition of atlantic salmon (*Salmo salar*) hatching at low pH // *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 1980. V. 37. P. 770-774.
711. Peterson R.H., Metcalfe J.L., Ray S. Uptake of cadmium by eggs and alevins of atlantic salmon (*Salmo salar*) as influenced by acidic conditions // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 1985. V. 34. № 3. P. 359-368.
712. Peute J., Goos H.J.T., De Bruyn Marielle G.A., Van Oordt P.G.W.J. Gonadotropic cells of the rainbow trout pituitary during the annual cycle. Ultrastructure and hormone content // *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* 1978. V. 18. № 4. P. 905-910.
713. Piferrer F. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. // *Aquaculture*. 2001. V. 197. P. 229-281.
714. Pletcher F.T. The life history and distribution of lampreys in the almon and certain' other rivers in British Columbia, Canada. Master of Science Thesis. University of British Columbia, Vancouver B.C. 1963. 195 p.
715. Pongthana N., Penman D.J., Baoprasertkul P., Hussain M.G., Islam M.S., Powell S.F., McAndrew B.J. Monosex female production in the silver barb (*Puntius gonionotus* Bleeker) // *Aquaculture*. 1999. V. 173. № 1-4. P. 247-256.
716. Pornsoping P., Unsrising G., Vearasilp T., Wessels S., Hörstgen-Schwark G. Reproductive performance of female rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) kept under

water temperatures and photoperiods of 13° and 51°N latitude // *Aquaculture Research*. 2007. V. 38. № 12. P. 1265–1273.

717. Privalikhin A.M., Zhukova K.A., Poluektova O.G. Atresia of developing in walleye Pollock *Theragra chalcogramma* // *Journal of Ichthyology*. 2015. V. 55. № 5. P. 664-670.

718. Pyka J. Wplyw odczynu wody na intensywnosc zerowania wylegu szczupaka // *Gosp. ryb*. 1989. V. 41. № 8-9. P. 17-18.

719. Raloff J. Salmon puzzle: Why did males tun female? // *Science News*. 2000. V. 158. № 26-27. P. 404-405.

720. Raloff J. Some river pollution spawns body-altering steroids // *Science News*. 2001. V. 159. № 1. P. 8-10.

721. Ram R.N., Sathyanesan A.G. Effect of Chronic Exposure of Commercial Nitrogenous Fertilizer, Ammonium Sulfate, on Testicular Development of a Teleost *Channa punctatus* (Bloch) // *Indian Journal of Experimental Biology*. 1987. V. 25. № 10. P. 667-670.

722. Rombough P.J. Effects of low pH on eyed embryos and alevins of Pacific salmon // *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 1982. V. 40. № 10. P. 1575–1582.

723. Rask M., Pantaniemi J. The growth of perch, *Perca fluviatilis* L., in acidified lakes // *Journal of Fish Biology*. 1990. V. 36. № 3. P. 317-325.

724. Rask M., Vuorinen P.J., Vuorinen M. Delayed spawning of perch, *Perca fluviatilis* L., in acidified lanes // *Journal of Fish Biology*. 1990. V. 36. № 3. P. 317-325.

725. Rask M., Vuorenmaa J., Nyberg K., Tammi J., Mannio J., Olin M., Kortelainen P., Raitaniemi J., Vesala S. Recovery of acidified lakes in Finland and subsequence responses of perch and roach populations // *Boreal Environment Research*. 2014. V. 19. № 3. P. 222-234/

726. Renaud C.B. Lamprey of the World. An Annotated and Illustrated Catalogue of Lamprey Species Known to Date. Rome: FAO Species Catalogue for Fishery Purposes No. 5. 2011.

727. Randall C.J., Bromage N.R., Duston J. The effects of 2 month periods of continuous light on reproduction of the rainbow trout, (*Salmo gairdneri*) // *Journal of Internationary Cycle Research*. 1988. V. 19. № 3. P. 202-203.

728. Ridelman J.M., Hardy R.W., Rrannon E.L. The effect of short-term starvation on ovarian development and egg viability in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) // *Aquaculture*. 1984. V. 37. P. 133-140.

729. Rideout R.M., Burton M.P.M. Peculiarities in ovarian structure leading to multiple-year delays in oogenesis and possible senescence in Atlantic cod, *Gadus morhua* L. // Canadian Journal of Zoology. 2000. V. 78. № 10. P. 1840-1844.
730. Robertson J.G. Sex differentiation in the pacific salmon *Oncorhynchus keta* (Walb.) // Canadian Journal Zoology. 1953. V. 31. № 3. P. 73-79.
731. Roncarati A., Melotti P., Mordenti O., Gennari L. Influence of stocking density of European eel (*Anguilla Anguilla, L.*) elvers on sex differentiation and zootechnical performances // Journal of Applied Ichthyology. 1997. V. 13. № 3. P. 131-136.
732. Rosseland B.O., Skogheim O.K., Abrahamsen H., Matzow D. Limestone slurry reduces physiological stress and increases survival of atlantic salmon (*Salmo salar*) in an Acidic Norwegian river // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science. 1986. V. 43. № 10. P. 1888-1893.
733. Roy R.L., Ruby S.M., Idler D.R., So Ying. Plasma vitellogenin levels in pre-spawning rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, during acid exposure // Archives Environmental Contamination and Toxicology. 1990. V. 19. P. 803-806.
734. Rubin D.A. Effect of pH on sex ratio in cichlids and a Poeciliid (Teleostei) // Copeia. 1985. № 1. P. 233-235.
735. Ruby S.M., Aczel J., Craig G.R. The effects of depressed pH on spermatogenesis in flagfish *Jordanella floridae* // Water Research. 1978. V. 12. P. 621-626.
736. Runn P., Johansson N., Milbrinn G. Some effects of low pH on the hatchability of eggs of perch, *Perca fluviatilis L.* // Zoon. 1977. V. 5. P. 115-125.
737. Salo E.O. Life history of chum salmon (*Oncorhynchus keta*). C. Groot and L. Margolis, eds. Pacific salmon life histories. UBC Press, Vancouver, British Columbia. 1991. P. 233-309.
738. Sangalang G.B., Freeman H.S., Uthe J.F., Sperry L.S. Effects of diet or liming on steroid hormone metabolism and reproduction in atlantic salmon (*Salmo Salar*) held in an acidic river // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science. 1990. V. 47. P. 2422-2430.
739. Sanchez-Rodriguez M., Escaffre A.M., Marlot S., Reinaud P. The spermiation period in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Plasma gonadotropin and androgen levels, sperm production and biochemical changes in the seminal fluid // Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys. 1978. V. 18. № 4. P. 943-948.

740. Sayer M.D.J., Reader J.P. Morris R. The effect of calcium concentration on the toxicity of copper, lead and zinc to yolk-sac fry of brown trout, *Salmo trutta L.*, in soft, acid water // *Journal of Fish Biology*. 1989. V. 35. № 3. P. 323-332.
741. Schreck C.B., Lachey R.T., Horwood M.L. Evaluation of diel variation in androgen levels of rainbow trout, *Salmo Gairdneri* // *Copeia*. 1972. V. 4. P. 865-868.
742. Schreck C.B., Lachey R.T., Horwood M.L. Plasma oestrogen levels in rainbow trout, *Salmo gairdneri Richardson* // *Journal of Fish Biology*. 1973. V. 5. № 2. P. 227-230.
743. Schreck C.B., Horwood M.L. Seasonal androgen and estrogen patterns in the Goldfish, *Carassius auratus* // *Transactions of the American Fisheries Society*. 1974. V. 103. № 2. P. 375-378.
744. Schulz R. Schlaghecke R., Blum V. Variations in serumproteins of male and female rainbow trout during reproductive cycle // *Zoologische Jahrbücher Physiologie*. 1981. V. 85. P. 343-350.
745. Schulz R. Serum levels of 11-oxotestosterone in male and 17 $\beta$ -estradiol in female rainbow trout (*Salmo gairdneri*) during the first reproductive cycle // *General Comparative Endocrinology*. 1984. V. 56. P. 111-120.
746. Scott A.P., Bye V.J., Baynes S.M., Springate J.R.C. Seasonal variation in plasma concentrations in plasma 11-ketotestosterone and testosterone in male rainbow trout, *Salmo gairdneri Richardson* // *Journal of Fish Biology*. 1980. V. 17. № 5. P. 494-505.
747. Sehgal R., Pandey A. Effects of two different pollutants on the testis of viviparous teleost *Lebistes reticulatus* (Peters) // *Uttar Pradesh Journal of Zoology*. 1984. V. 4. № 1. P. 105-111.
748. Selim K.M., Shinomia A., Otake H., Hamaguchi S., Sakaizumi M. Effects of high temperature on sex differentiation and germ cell population in medaka, *Oryzias latipes* // *Aquaculture*. 2009. V. 289. № 3-4. P. 340-349.
749. Semenkova T., Bayunova L., Kolmakov N., Barannikova I., Dyubin V., Kime D.E., McAllister B.G. Sex steroid profiles in female and male stellate surgeon (*Acipenser stellatus Pallas*) during final maturation induced by hormonal treatment // *Journal of Applied Ichthyology*. 2002. T. 18. № 4-6. P. 375-381.
750. Senior A.M., Nakagawa S. A comparative analysis of chemically induced sex reversal in teleosts: Challenging conventional suppositions // *Fish and Fisheries*. 2013. V. 14. № 1. P. 60-76.

751. Shang E.H.H., Yu R.M.K., Wu R.S.S. Hypoxia affects sex differentiation and development, leading to a maledominated population in zebrafish (*Danio rerio*) // Environmental Science and Technology. 2006. V. 40. № 9. P. 3118-3122.
752. Sheahan D.A., Brighty G.C., Daniel M., Kirby S.J., Hurst M.R., Kennedy J., Morris S., Routledge E.J., Sumpter J.P., Waldock M.J. Estrogenic activity measured in a sewage treatment works treating industrial inputs containing high concentrations of alkylphenolic compounds // Environmental of Toxicology and Chemistry. 2002. V. 21. № 3. P. 507-514.
753. Shelton W.L., Rothbard S. Gonadal differentiation of black carp // Proc. 5<sup>th</sup> Int. Symp. Reprod. Physiol. Fish, Austin, Tex., 2-8 July, 1995. Austin. 1995. P. 143.
754. Shi J., Jiao Z., Zheng S., Li Ming. Long-term effects of Bisphenol AF (BPAF) on hormonal balance and genes of hypothalamus-pituitary-gonad axis and liver of zebrafish (*Danio rerio*) // Chemosphere. 2015. V. 128. P. 252-257.
755. Sinyakov S.A., Ostroumov A.G. On the possibility of using the pink salmon survival measure (R/E) in the forecast of chum salmon returns in north-east Kamchatka // NPAFC Bulletin. 1998. № 1. P.327-333.
756. Skaeraasen J.E., Kennedy J., Thorsen A., Fonn M., Strand B.N., Mayer I., Kjesbu O.S. Mechanisms regulating oocyte recruitment and skipped spawning in northeast arctic cod (*Gadus morhua*) // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science. 2009. V. 66. № 9. P. 1582-1596.
757. Skaeraasen J.E., Nash R.D.M., Korsbrekke K., Fonn M., Nilsen T., Kennedy J., Nedreaas K.H., Thorsen A., Witthames P.R., Geffen A.J., Hoie H. Frequent skipped spawning in the worlds largest cod population // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2012. V. 109. № 23. P. 8995-8999.
758. Skjæraasen J.E., Kennedy J., Thorsen A., Fonn M., Strand B.N., Mayer I., Kjesby O.S. Mechanisms regulating oocyte recruitment Mechanisms regulating oocyte recruitment and skipped spawning in Northeast Arctic cod (*Gadus morhua*) // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science. 2009. V. 66. № 9. P. 1582–1596.
759. Smith G.R., Stearley R.F. The classification and scientific names of rainbow and cutthroat trouts // Fisheries. 1989. V. 14. № 1. P. 4–10.
760. Sopinka N.M., Hinch S.G., Healy S.J., Raby G.D. Effects of experimentally elevated eggs cortisol on offspring traits in two species of wild Pacific salmon // Environmental Biology of Fishes. 2016. V. 99. № 10. P. 717-728.

761. Stephenson M., Machie G.L. Lake acidification as a liming factor in the distribution of the freshwater amphipod *hyalella Azteca* // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science. 1986. V. 43. P. 288-292.
762. Stoss J., Holtz W. Cryopreservation of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) sperm. 2. Effect of pH and presence of a buffer in the diluent // Aquaculture. 1981. V. 25. № 2/3. P. 217-222.
763. St-Pierre M., Moreau G. Resistance et viabilite des gametes d'omble de fontaihe, *Salvelinus fontinalis*, a differens pH // Hydrobiology. 1987. V. 153. № 2. P. 139-148.
764. Strussman C.A., Ito L.S. Where does gonadal sex differentiation begin? Gradient of histological sex differentiation in the gonads of pejerrey, *Odontesthes bonariensis* (Pisces, Atherinidae // Journal of Morphology. 2005. V. 265. № 2. P. 190-196.
765. Sumpter J.P. Endocrine disruption and feminization in fish // Annual Congress of the British Toxicology Society, Kent, 7-10 Apr., 2002. Toxicology. 2002. V. 178. № 1. P. 39-40.
766. Sun P., You F., Liu M., Wu Z., Wen A., Li J., Xu Y., Zhang P. Steroid sex hormone dynamics during estradiol-17 $\beta$  induced gonadal differentiation in *Paralichthys olivaceus* (Teleostei) // Chinese Journal of Oceanology and Limnology. 2010. V. 28. № 2. P. 254-259.
767. Sunobe T., Hagiwara K. Non-functional hermaphroditism in three species of Clupeiformes from Tokyo Bay, Japan // Journal of Applied Ichthyology. 2013. V. 29. № 4. P. 918-921.
768. Takemura A., Takano K., Takahashi H. Reproductive Cycle of a Viviparous Fish, the White-edged Rockfish, *Sebastes taczanowskii* // Bulletin of the Faculty of Fisheries Hokkaido, University. 1987. V. 38. № 2. P. 111-125.
769. Tam W.H., Payson P.D., Roy R.J.J. Retardation and recoveri of growth in brook trout try (*Salvelinus fontinalis*) exposed for various durations to acidified water // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science. 1986a. V. 43. № 10. P. 2048-2050.
770. Tam W.H., Ray R.J.J., Makaran R. Ovarian cycle and plasm concentration of estrogen and vitellogenin in brook trout (*Salvelinus fontinalis*, *Mitchill*) // Canadian Journal of Zoology. 1986b. V. 64. P.744-751.
771. Tam W.H., Payson P.D. Effects of chronic Exposure of Sublethal pH on Growth, Egg Production, and Ovulation in Brook Trout, *Salvelinus fontinalis* // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science. 1986. V. 43. P. 275-280.

772. Tam W.H., Birkett L., Makaran R., Payson P.D., Whitney D.K., Yu C.K.-C. Modification of Carbohydrate Metabolism and Liver Vitellogenic Function in Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*) by Exposure to Low pH // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science. 1987. V. 44. P. 630-635.
773. Tam W.H., Fryer J.N., Ali I., Dallaire M.R., Valentine B. Growth inhibition, gluconeogenesis, and morphometric studies of the pituitary and interrenal cells of acid-stressed brook trout (*Salvelinus fontinalis*) // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science. 1988. V. 45. P. 1197-1211.
774. Tam W.H., Fryer J.N., Valentine B., Roj R.J.J. Reduction oocyte production and gonadotrope activity, and plasma levels of estrogens and vitellogenin, in brook trout exposed to low environmental pH // Canadian Journal of Zoology. 1990. V. 68. P. 2468-2476.
775. Tanaka M. Saito D., Moriga C. Cross Talk between Germ Cells and Gonadal Somatic Cells Is Critical for Sex Differentiation of the Gonads in the Teleost Fish, Medaka (*Oryzias latipes*) // Development, Growth and Differentiation. 2008. V. 50. № 4. P. 273-278.
776. Tsai C.L., Wang L.H., Chang C.F., Kao C.C. Effects of gonadal steroids on brain serotonergic and aromatase activity during the critical period of sexual differentiation in tilapia *Oreochromis mossambicus* // Journal of Neuroendocrinology. 2000. V. 12. № 9. P. 894-898.
777. Tzchori I., Degani G., Elisha R., Eliyahu R., Hurvitz A., Vaya J., Moav B. The influence of phytoestrogens and oestradiol-17 $\beta$  on growth and sex determination in the European eel (*Anguilla anguilla*) // Aquaculture Research. 2004. V. 35. № 13. C. 1213-1219.
778. Tuan P.A., Mair G.C., Little D.C., Beardmore J.A. Sex determination and the feasibility of genetically male tilapia production in the Thai-Chitralada strain of *Oreochromis niloticus* (L) // Aquaculture. 1999. V. 173. № 1-4. P. 257-269.
779. Uchida D., Yamashita M., Kitano T., Iguchi T. Oocyte apoptosis during the transition from ovary-like tissue to testis during sex differentiation of juvenile zebrafish // Journal of Experimental Biology. 2002. V. 205. № 6. P. 711-718
780. Ueda H. Correlations between homing, migration, and reproduction of chum salmon // North Pacific Anadromous Fish Commission Bulletin. 1998. № 1. P. 112-117.
781. Upadhyay S.N., Breton B., Billard R. Ultrastructural studies on experimentally induced vitellogenesis in juvenile rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.) // Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys. 1978. V. 18. № 4. P. 1019-1025.
782. Uribe M.C., Grier H.J. Oogenesis of microlecithal oocytes in the viviparous teleost *Heterandria Formosa* // Journal of Morphology. 2011. V. 272. № 2. P. 241-257.

783. Van Aerle R., Runnalls T.J., Tyler C.R. Ontogeny of gonadal sex development relative to growth in fathead minnow // *Journal of Fish Biology*. 2004. V. 64. № 2. P. 355-369.
784. Van den Hurk R., Slof G.A. A morphological and experimental study of gonadaql sex differentiation in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* // *Cell and Tissue Research*. 1981. V. 218. P. 487-497.
785. Van Bohemen Ch.C., Lambert J.G.D. Induction and annual plasma levels of yolk proteins in *Salmo gairdneri* // *General Comparative Endocrinology*. 1980. V. 40. № 3. P. 319.
786. Van Bohemen Ch.C., Lambert J.G.D. Peute J. Annual changes in plasma and liver in relation to vitellogenesis in the female frou, *Salmo gairdneri* // *General Comparative Endocrinology*. 1981. V. 44. P. 94-107.
787. Van Bohemen Ch.C., Lambert J.G.D. Estrogen synthesis in relation to estrone, estradiol, and vitellogenin plasma levels during the reproductive cycle of the female rainbow frou, *Salmo gairdneri* // *General Comparative Endocrinology*. 1981. V. 45. P. 105-114.
788. Van den Hurk R., Vermeij J.A.J., Stegenga L., Peute J. Cyclic canges in the testis and vas deferens of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) with special reference to sites of steroidogenesis // *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* 1978. V. 18. № 4. P. 899-904.
789. Van den Hurk R., Slof G.A. Schurer F.A. Gonadal sex differentiation in rainbow frou, *Salmo gairdneri*, with special reference to the effects of steroid hormones and N,N-Dimethylformamide // *General Comparative Endocrinology*. 1980. V. 40. P. 323.
790. Van den Hurk R., Slof G.A. A morphological and experimental study of gonadaql sex differentiation in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* // *Cell and Tissue Research*. 1981. V. 218. P. 487-497.
791. Van den Hurk R., Lambert J.G.D., Peute J. Steroidogenesis in the gonads of rainbow trout fry (*Salmo gairdneri*) before and after the onset of gonadal sex differentiation // *Reproducton Nutrition Development*. 1982. V. 22. № 2. P. 413-425.
792. Vinas J., Asensio E., Canavate J.P., Piferrer F. Gonadal sex differentiation in the Senegalese sole (*Solea senegalensis*) and first data on the experimental manipulation of its sex ratios // *Aquaculture*. 2013. V. 384-387. P. 74-81.
793. Vlaming V., Fitzgerald R., Delahunty G., Cech J.J., Selman K., Barkley M. Dynamics of oocyte development and related changes in serum estradiol-17 $\beta$  yolk precursor, and lipid levels in the teleostean fish, *leptocottus armatus* // *Comparative Biochemistry Physiology*. 1984. V. 77A. № 4. P. 599-610.

794. Wagner W.C., Stauffer T.M. Three-year-old pink salmon in Lake Superior tributaries // Transactions of the American Fisheries Society. 1980. V. 109. P. 458-460.
795. Wallace R.A., Selman K. Ultrastructural Aspects of Oogenesis and Oocyte Growth in Fish and Amphibians // Journal of Electron Microscopy Technique. 1990. V.16. P. 175-201.
796. Wang Deming, Li Xinfu, Zhuang Dehui, Liu Baoywan // Acta Ecologica Sinica. 1989. V. 9. № 1. P. 77-86. (кит., рез. англ).
797. Weibel E.R. Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology // International Review of Cytology, 1969. V. 26. P. 235–302.
798. Weil C., Billard R., Breton B., Jalabert B. Pituitary response to LH-RH at different stages of gametogenesis // Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys. 1978. V. 18. № 4. P. 863-869.
799. Weissenberg R. Beitrage zur kenntniss der biologie und morphologie der neuenaugen. 2. Das reifewachstum der gonaden bei *lampetra fluviatilis* und *planeri* // Zeitschrift für mikroskopische-anatomische Forschung. 1927. V. 8. P. 193-249.
800. Welander A.D., Wadley G.W., Dysart D.K. Growth and fecundity of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) exposed to single sublethal doses of x-rays during the eges embryo stage // Journal of Fisheries Research Bboard of Canada. 1971. V. 28. P. 1181-1184.
801. Whitehead C., Bromage N.R., Forster J.R.M., Matty A.J. The effects of alterations in photoperiod on ovarian development and spawning time in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) // Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys. 1978. V. 18. № 4. P. 1035-1043.
802. Whitehead C., Bromage N.R. Seasonal changes in reproductive function of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) // Journal of Fish Biology. 1978. V. 12. P. 601-608.
803. Whitehead C., Bromage N.R., Harbin R., Matty A.J. Oestradiol-17 $\beta$ , calcium and vitellogenin interrelationships during accelerated and biannual spawnings // General Comparative Endocrinology. 1980. V. 40. P. 329-330.
804. Wicks B.J., Barker L.A., Morrisson B.J., Beamish W.H. Gonadal variation in great lakes sea lamprey, *Petromyzon marinus*, larvae // Journal of Great Lakes Research. 1998. V. 24. № 4. P. 962-968.
805. Witters H.E., Van Puymbroeck S., Van den Sande I., Vanderborcht O.L.J. Haematological disturbances and body fluid distribution in rainbow trout, bue to aluminium exposure at low pH // Archives of Physiology and Biochemistry. 1989. V. 97. № 5. p. 53.

806. Wood C.M., McDonald D.G., Ingersoll C.G., Mount D.R., Landsberger S., Bergman H.L. Effects of water acidity, calcium, and aluminum on whole body ions of Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*) continuously exposed from fertilization to swim-up: a study by instrumental neutron activation analysis // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science. 1990. V. 47. № 8. P. 1593-1603.
807. Wunder W., Schmeller H.B. Wirbelsaulenschaden bei einjährigen Bachsaiblingen, verursacht durch aluminium in sauren wasser // Fischer und Teichwirt. 1988. V. 39. № 6. P. 178-179.
808. Yamamoto T. Artificially induced sex-reversal in genotypic males of the medaka (*Orisias latipes*) // Journal of Experimental Zoology. 1953. V. 123. № 3. P. 571-594.
809. Zelennikov O.V., Fedorov K.E. The oogenesis inhibition, steroidogenesis and morphometric studies of the hypothalamo-hypophysal system in the Russian sturgeon exposed to low environmental pH // Symposium Proceedings. Culture and management of sturgeon and paddlefish : San Francisco State Univerkity July 14-18, 1996, p.171-180.
810. Zelennikov O.V. The effect of acidification on the oogenesis of rainbow trout during sex differentiation // Journal of Fish Biology. 1997. V. 50. P. 18-21.
811. Zelennikov O.V., Mosyagina M.V., Fedorov K.E. Oogenesis inhibition, plasma steroid levels, and morphometric changes in the hypophysis in Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedti Brandt*) exposed to low environmental pH // Aquatic Toxicology. 1999. V. 46. № 1. P. 33-42.
812. Zhukova K.A., Maznikova O.A., Orlov A.M. Gonadal maturation of the female smooth lumpsucker (*Aptocyclus ventricosus*) // Fishery Bulletin. 2018. V. 116. № 2. P. 153-160