

# ГИСТОГЕНЕЗ ГОНАД, КАК ОТВЕТНАЯ РЕАКЦИЯ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ АНДРОГЕНАМИ НА *ONCORHYNCHUS MYKISS* (WALBAUM) И *HUSO HUSO* X *ACIPENSER RUTHENUS* (ГИБРИД БЕСТЕРА (F<sub>2</sub>))

К. В. Метальникова

Федеральное государственное унитарное предприятие Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии. (ФГУП ВНИРО), г. Москва. Россия,  
e-mail: ksenia@vniro.ru

Изучали воздействие андрогенов на реверсию вторичных половых признаков у форели, стальноголового лосося и бестера в разных климатических зонах России с 1978 по 1996 гг. При этом наблюдали высокое содержание гемоглобина в крови и увеличение выживания у рыб, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) and *Huso huso* x *Acipenser ruthenus* (Гибрид F<sub>2</sub>), по сравнению с контролем. У экспериментальных рыб с увеличением уровня процессов метаболизма происходили изменения в гонадах. Показали, что андрогены вызывают общие процессы изменений в гонадах обработанных рыб: а) ускоренное развитие ооцитов у генетических самок по сравнению с контрольными, у *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) and *Huso huso* x *Acipenser ruthenus* (Гибрид F<sub>2</sub>); б) дегенеративные изменения в ооцитах и развитие семенников; в) нормальное развитие семенников, но пронизанных кровеносными сосудами. Процессы реверсии половых признаков у рыб, обработанных аналогами тестостерона, продолжают после окончания обработки их гормонами. Разные реверсанты лососевых в потомстве производят разное количество самок от 60 до 100%. Это зависит от генетических особенностей реверсантов. Зрелых реверсантов скрещивали с обычными самками прижизненно. Для предсказания выхода реверсантов использовали гистологические методы исследования гонад. Некоторых реверсантов использовали в течение нескольких лет. Отбирали реверсантов методом визуальной диагностики при нересте. Потомство *O. mykiss* (преимущественно самки) были получены дважды за два года. Потомство не обрабатывали андрогенами. Искусственное вмешательство в нормальное развитие самок воздействием андрогенами, возможно, провоцирует

ответную реакцию образованием вторичных половых признаков самцов у самок, как наиболее рациональный путь физиологической реализации отдельных самок при неблагоприятных внешних условиях в ответ на воздействие аналогами тестостерона.

## Введение

Общеизвестно, что для самцов большого количества видов рыб методы криоконсервации половых продуктов (спермы) разработаны, а для половых продуктов самок, их еще нет. Получив реверсантов с геномом самок, можно провести криоконсервацию спермы, сохраняя геном самок в криоконсервированной сперме реверсантов (Метальникова, Манохина, Ананьев, 1999; Метальникова, Ананьев, Анохина, 2000). Схема получения преимущественно самок широко известна: на первом этапе получаем небольшое количество реверсантов с использованием аналогов тестостерона из небольшого количества обычной молодежи, отбираем реверсантов из самок и, на втором этапе, полученных реверсантов скрещиваем с обычными самками. В потомстве получаем преимущественно самок за счет гомогаметности самок, которых выращиваем до созревания по обычной, свойственной данному виду рыбы, биотехнологии. При этом никакого вмешательства в геном самок не происходит. Количество реверсантов можно ограничить за счет высокой оплодотворяющей способности спермы реверсантов и высокой жизнестойкости самок – потомства реверсантов (самки XX x самцы (реверсанты) XX > самки XX). (Метальникова, 1989). В России методы получения реверсантов и интерсексов разрабатывались с 1978 года для лососевых видов рыбы и частично

осетровых (бестера и русского осетра) (Метальникова, 1987, 1989; Metalnikova, 2008) и с 1980 г. для карповых (Гомельский, 1985) с использованием андрогенов. Одних и тех же реверсантов стальноголового лосося и форели использовали не менее двух нерестовых сезонов (Метальникова, 1992, 2002; Метальникова, Голубев, 2000). Изучали различные способы: обработки гормонами, изменения в динамике и условиях кормления и содержания, продолжительности выращивания реверсантов до половозрелости, способах идентификации реверсантов. На осетровых рыбах нами проводились поисковые экспериментальные разработки (Метальникова, 1989; Metalnikova, 2008). Основой для подобных разработок послужили предпосылки эволюционного развития эндокринной системы у животных. У рыб имеются следующие железы внутренней секреции: гипоталамус, подбугорная область головного мозга состоит у костистых рыб из преоптического ядра, латерального ядра и комплекса, составляющего паравентрикулярный орган, нервные волокна направляются к гипофизу, у всех костистых рыб они являются парными, отростки клеток латерального ядра также сообщаются со спинномозговой жидкостью (Максимович, 1987). Паравентрикулярный орган был обнаружен: у радужной форели, серебряного карася, угря, плотвы, трех видов бычков, пецилии, лососей, карпа и тиляпии. Он располагается в каудальных отделах гипоталамуса. Нервные тракты, ведущие от паравентрикулярного органа, идут к преоптическому ядру и латеральному ядру, а другие – к гипофизу. Латеральное ядро осуществляет регуляцию гонадотропной функции, многообразный контроль приспособительных реакций костистых рыб к условиям внешней и внутренней среды: катехоламины гипоталамуса участвуют в регуляции синтеза и выведения пролактина, кортикотропина и, у некоторых видов, тиреотропина гипофиза, участвующих в осморегуляции у рыб. Синтез и секреция гормона контролируется тиролиберином.  $\alpha$ -субъединицы тиреотропного гормона и трех других родственных гормонов кодируются одним геном,  $\beta$ -субъединицы – разными. Каждая субъединица вначале синтезируется на отдельной матричной РНК. Синтез углеводных цепей происходит в процессе трансляции или после ее завершения. Явление нейросекреции (выработка гипоталамусом либеринов и статинов) неотделима от существования нервной клетки. Сами гипоталамические гормоны на ранних этапах эволюции играли роль нейромедиаторов и мо-

дуляторов нервных клеток. На более позднем этапе эволюции они приобрели способность регулировать секреторную функцию гипофиза. Гипофиз имеет три доли: переднюю (главную), промежуточную и заднюю (или нервную), а также переходную зону (между передней и промежуточной долями). У костистых рыб пролактин, вырабатываемый в передней доле гипофиза усиливает образование разбавленной мочи, что, например, у *Fundulus* является приспособительной реакцией при резкой смене морской воды на пресную. У ганюидов и костистых – аргинин-вазотоцин и изотоцин. Аргинин-вазотоцин – является примитивным антидиуретическим гормоном. Гонадотропные гормоны гипофиза регулируют процессы созревания рыб и обуславливают сложное половое поведение рыб, гонадотропины действуют на фолликулярные клетки, которые, выполняя эндокринные функции, вырабатывают прогестериноподобное вещество, вызывающее созревание ооцитов. У самцов эндокринные функции выполняют интерстициальные клетки, сходные с клетками Лейдига (Kimberg et al., 1999). Половые гормоны самцов: андрогены и самок: эстрогены и прогестерон, который продуцируется желтым телом. Места синтеза половых гормонов: железистые клетки теки и фолликулярные стромы яичников у самок, интерстициальные клетки у самцов. Гонадотропные гормоны вырабатываются у большинства костистых рыб, промежуточной долей гипофиза, а у осетровых – передней долей гипофиза. Осетровые, в эволюционном плане, в отношении распределения функций в частях гипофиза стоят ближе костистых к амфибиям (Гербильский, 1947). Функциональная пластичность гипофиза осетровых – выработка гонадотропных гормонов осенью и либо выделение его, либо депонирование (в мозговых желудочках) до весны – одна из существенных эволюционных предпосылок пластичности рыб в отношении перехода от осеннего к весеннему икротетанию и от весеннего к осеннему (Баранникова, 1969; Баранникова, Баюнова, Гераскин, Семенова, 2000). Гипофиз выделяет тиреотропный гормон, вырабатываемый в промежуточной доле гипофиза, который влияет на развитие и функцию щитовидной железы. Например, у сельхих, выводится в лимфатические щели и щитовидная железа располагается впереди брюшной аорты (разрастается из уростиля при эмбриогенезе), у костистых рыб она охватывает брюшную аорту в области передних жаберных дуг и секрет её выводится непосредственно в кровь – тироксин:

он стимулирует обмен веществ у рыб, стимулирует метаморфоз у рыб (доказано для угрей, сельдей, осетровых), стимулирует темп роста, влияет на пигментацию у рыб (у лососевых – наиболее ярко), стимулирует темп роста, влияет на липидный обмен, осмотическую регуляцию. Большая функциональная пластичность щитовидной железы является существенной предпосылкой эволюционной пластичности рыб. Сочетание свойств пластичности гипоталамо-гипофизарной системы и щитовидной железы с особенностями годового цикла гонад большинства рыб с весенним нерестом (озимых форм) является основой высокой эволюционной пластичности системы коррелятов, контролирующей и осуществляющей процесс размножения у рыб – основной предпосылкой развития адаптивных особенностей биологии размножения у рыб. Изменчивость функций этой системы коррелятов является исходным материалом для отбора и дивергенции при образовании физиологически изолированных биотопов и рас в пределах вида. Обнаруженные особенности свойств гипофиза, щитовидной железы с особенностями годового цикла гонад являются основой развития адаптивных особенностей биологии размножения у рыб (Гербицкий, 1949). Рядом экспериментальных исследований было установлено у млекопитающих, птиц, земноводных, костистых рыб функционирование щитовидной железы и гипофиза происходит **одновременно** на ранних этапах эмбрионального и постэмбрионального онтогенеза и сводится к «...обеспечению все возрастающей регулируемости формообразования за счет стабилизации метаболизма эмбриона...» (Яковлева, 1949). У колюшки щитовидная железа начинает функционировать к концу 2-й недели постэмбрионального развития, у севрюги с 4 дня постэмбрионального развития, а гипофиз у севрюги функционирует с 10–26 дня развития. У русского осетра щитовидная железа начинает функционировать, начиная с 2-го дня постэмбрионального развития, а с 4–5 дня к 26 дню начинается выведение секрета щитовидной железой в организм, при этом гипофиз в этом возрасте у русского осетра представляет собой эмбриональную, анатомически недифференцированную железу. (Яковлева, 1949). Биологическая суть процесса заключается в том, что андрогены, проникая через пищеварительный тракт в кровь рыб, воздействуя на мозг, гипоталамо-гипофизарную систему, внутренние органы и, как конечный объект воздействия – на гонады, вызывают существенные соматические пере-

стройки всего организма. Переориентируют, в процессе формирования, вторичные половые признаки у генетических самок на вторичные половые признаки самцов, не затрагивая генетические аспекты определения пола (Метальникова, 1990, 1992, 2002а), Что особенно ярко проявилось и подтвердили, впервые, эту гипотезу, результаты, полученные во ВНИИПРХе на личинках и молоди гиногенетической севрюги при обработке их эстрогенами: в результате работы были получены самки, хотя в гиногенетическом контроле превалировали самцы. При обработке молоди русского осетра, стерляди и бестера 17 $\alpha$ -эстрадиолом получили преобладающее количество самок до 85% (Ковалев, Купченко, Дума, Дума, Пономарев, Рекубратский, 2008). Процесс реверсии пола продолжается после окончания обработки рыб гормоном и завершается формированием полноценных функциональных самцов (Метальникова, 1989, 1992, 1995; Метальникова, Голубев, 2000). При оплодотворении спермой реверсантов икры от обычных, не обработанных гормонами самок, получают в потомстве преимущественно самок у лососевых рыб (Donaldson et al., 1991; Choy et al., 1996). То есть, в результате, происходит скрещивание генетических самок. Сперму брали у реверсантов лососей прижизненно, ежегодно в нашей стране (Метальникова, 1992, 2002 а, б; Метальникова, Голубев, 2000). Сроки обработки гормоном в большой степени зависят от вида рыбы, условий внешних факторов и хода генеративного роста у обработанных гормоном рыб.

### Материал и методики

Материалом исследования послужили лососевые. Сеголетки бестера F2, обработанные тестостерон-пропионатом (ТП) в масляном растворе в нескольких дозировках, при скормливании его с комбикормом ОС-1 (Бондаренко, 2003) с перехода личинок на внешнее питание были исследованы на первом этапе, после окончания обработки их ТП. На основании проведенных исследований на разных видах рыб, получавших аналоги тестостерона в корме на ранних этапах онтогенеза, была проведена производственная проверка способов получения реверсантов форели в Заполярье, таблица 1. В Калининградской области также провели производственную проверку метода. Кроме опробованных способов получения реверсантов, обработали метилтестостероном (МТ) гиногенетическую форель,

полученную С. А. Горшковым (Gorshkov S. A. et al., 1990) (используя её, как контрольный вариант), таблица 1. Для лососевых рыб проводили исследования на стальноголового лосося, форели, балтийской форели, ладожской форели в

разные годы, в разных климатических условиях при оптимальном культивировании, обрабатывая молодь рыб метилтестостероном (МТ) и тестостерон-пропионатом (ТП) в спиртовом растворе, таблица 1.

**Таблица 1. Схема проведения работ по получению реверсантов с использованием аналогов андрогенов**

Оncorhynchus mykiss(Walbaum), место работы, год*****	Дозы МТ, мг/кг корма	Дозы ТП, мг/кг корма	Выход рыбы с реверсией гонад, %
оз. Селигер, 1980, радужная форель	не проводили	1	88,2
	не проводили	6	83,3
	не проводили	16	100,0
Донецкая область, 1981, гибрид бестера F2Huso huso x Acipenser ruthenus (F2)	не проводили	1(в масле)	+*
		16(в масле)	-*
		32(в масле)	+*
Краснодарский край, 1985 г., стальноголовый лосось	3	3	81,8/66,8**
	6	6	77,8/77,8***
Калининградская обл., 1990, балтийская гибридная форель	3(после гиногенеза и купания икры в р-ре МТ)	нет****	100,0
	6	нет	92,8
	не проводили	6	83,3
Калининградская обл., 1996, балтийская гибридная форель	5		75,0
Заполярье, 1991, ладожская форель	3 (после купания в р-ре в 437,1 мкг МТ/л Н <sub>2</sub> О)	нет	83,0
	6	нет	85,7

*Примечание:* \* + есть признаки реверсии, – не обнаружено признаков реверсии; \*\* в числителе выход самок с реверсией при обработке молоди метилтестостероном, в знаменателе при обработке молоди стальноголового лосося тестостерон-пропионатом; \*\*\* то же, что и в предыдущем столбце; \*\*\*\*нет, то есть не проводили; \*\*\*\*\* длительность обработки комбикормом с гормонами не менее 800 градусо-дней, начало обработки рыбы гормонами рассчитывали индивидуально по каждому виду рыб, в зависимости от температуры воды, в контроле соотношение полов было 1:1.

В ходе исследований проводили комплексное изучение всех морфометрических показателей, энергетического обмена у рыб на основе метода определения интенсивности потребления кислорода молодь на 1 грамм живой массы в 1 час (Строганов, 1962), гистологического строения внутренних органов рыб (Роскин, Левинсон, 1957), прежде всего, гонад. Проверляли реверсантов по потомству, скрещивая их с обычными, не обработанными гормонами, самками (Метальникова, Бурцев, Слизченко, 1989; Метальникова, 1992, 2002а, б; Метальникова, Голубев, 2000). Принципиальное отличие наших методик, от применяемых за рубежом и у нас в стране (Инрыбпром, 2000; Yue et al., 1986), заключается в отборе реверсантов прижизненно и их использовании в нескольких нерестовых сезонах (Метальникова, Привезенцев, 2009). Количество реверсантов, используемых в товарном рыбоводстве, легко ограничить за счет высокой оплодотворяющей способности спермы реверсантов и высокой жизнестойкости самок – их потомков (Метальникова, Голубев, 2000; Метальникова, Анохина, Ананьев, 2000; Метальникова, 2002а, б).

## Результаты и обсуждение

На рисунках 1, 2 и 3 представлены сагиттальные срезы гонад различных видов лососей из разных климатических областей России, полученные в разные годы, таблица 1, но с одним и тем же принципом формирования вторичных половых признаков самцов у генетических самок лососей в гонадах под воздействием разных аналогов тестостерона, а также срез гонады самки – из потомства реверсантов, полученных в Калининградской области, рисунок 4. Такие же самки были получены в Краснодарском крае от реверсантов стальноголового лосося.

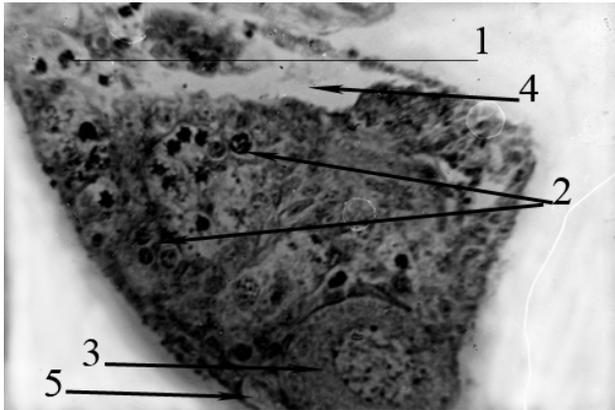
Получены следующие общие закономерности в развитии реверсантов вне зависимости от способов, доз андрогенов, вида обрабатываемой рыбы и места проведения работ, в разных климатических зонах:

1. Более интенсивное потребление кислорода на единицу массы, рисунки 5, 6, 7, 8.

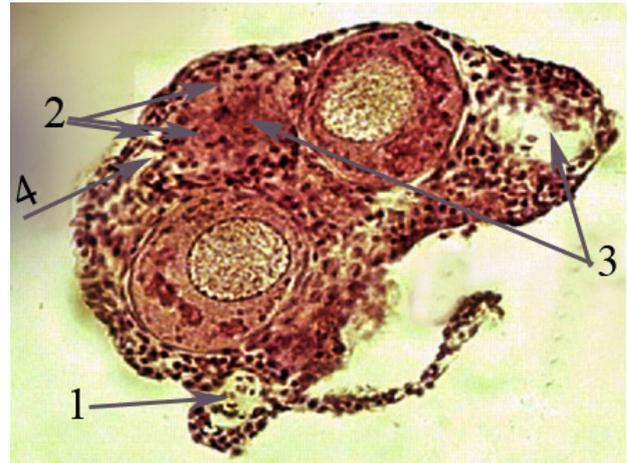
Это способствовало увеличению содержания гемоглобина в крови и повышало уровень выживания по сравнению с контролем, рисунки 9, 10, 11.

Наблюдавшиеся изменения в гонадах экспериментальных самок были результатом более интенсивного обмена веществ, что отразилось не только на строении гонад, но и на всем экстерьере реверсантов. (Шентякова, 1986, Метальникова, 1987, 1989; Метальникова, Привезенцев, 2009). Процессы реверсии пола у обработанных аналогами тестостерона рыб продолжались после окончания скормливания рыбам гормонов, вместо овариальной ткани происходило размножение гониальных клеток: не успевали вступать в фазу протоплазма-

тического роста, предполагающего более медленный энергетический обмен у самок, рисунки 1, 2, 3, и, продолжали делиться митотически. Далее вступали в первое мейотическое деление созревания, образуя сперматогонии в семенных ампулах. Продолжали развитие по типу семенника, и завершалось всё образованием тестикулярной ткани. Причем, чаще наблюдались асинхронные деления гамет в разных лобулах, в межлобулярных пространствах осталось от овариальной ткани множество кровеносных сосудов (рис. 15 и 16).



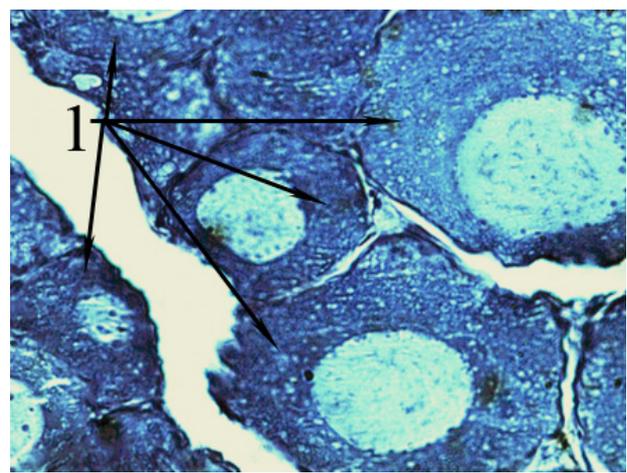
**Рис. 1.** Интерсекс. Ладожская форель Иммерсия МТ и 3 мг МТ /кг в корме. Заполярье. 1 – анафаза митотического деления гоний, 2 – телофаза, 3 – ооцит на 2 ступени фазы протоплазматического роста, 4 – выводной проток, 5 – метафаза. Ув. 100х



**Рис. 2.** Реверсant. Радужная форель. 6 мг ТП /кг в корме. 1 – дорсальный кровеносный сосуд, 2 – митотические деления сперматогоний типа Б, образующих семенную ампулу, 3 – резорбировавшиеся ооциты, 4 – выводной проток. Оз. Селигер. Ув. 200х



**Рис. 3.** Интерсекс. 1 – amitoz oocитов, 2 – кровеносные сосуды с дорсальной стороны гонады, 3 – oocиты на ранней 3 ступени фазы протоплазматического роста, 335 дн. форель, Донрыбкомбинат. Ув. 400х



**Рис. 4.** Потомство реверсантов балтийской форели (*Oncorhynchus mykiss*), самка, 1+, Калининградская обл. 1 – oocиты на 2-й ступени фазы протоплазматического роста oocитов, развитие oocитов синхронное, но форель 2 месяца не кормили, поэтому стенки oocитов не ровные, дегенерирующих oocитов, при этом, нет. Ув. 400х

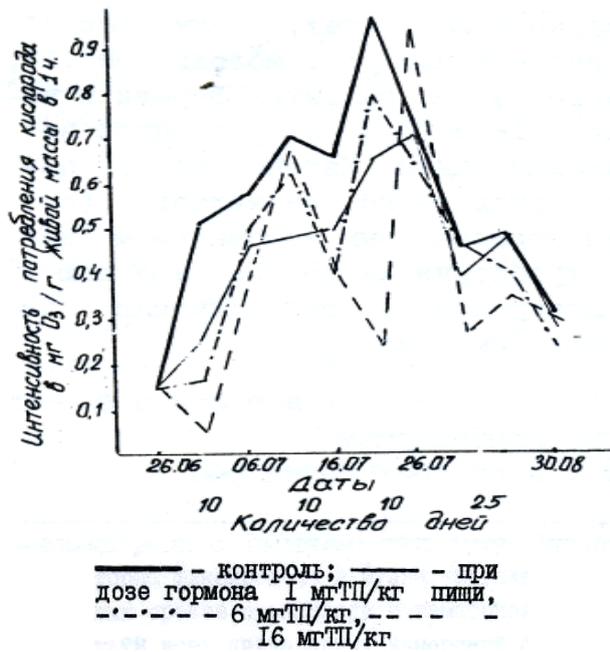


Рис. 5. Интенсивность потребления кислорода в мг  $O_2$ /грамм живой массы в 1 час молодь форели при обработке её тестостерон-пропионатом, оз. Селигер

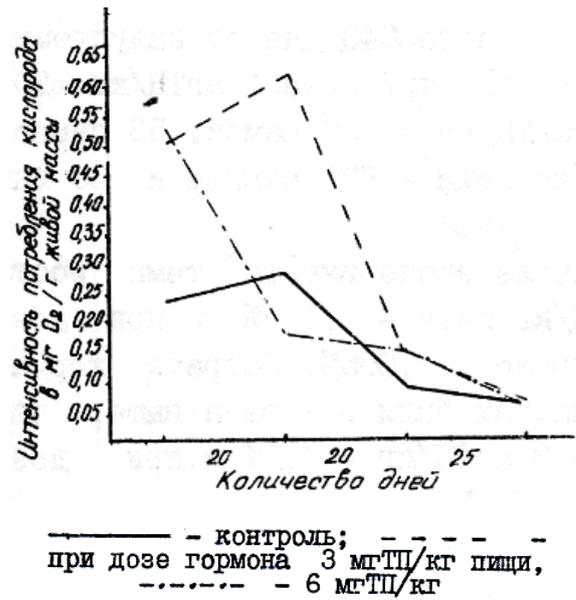


Рис. 6. Интенсивность потребления кислорода в мг  $O_2$ /грамм живой массы в 1 час молодь стальноголового лосося при скармливании корма с аналогами тестостерона, Краснодарский край

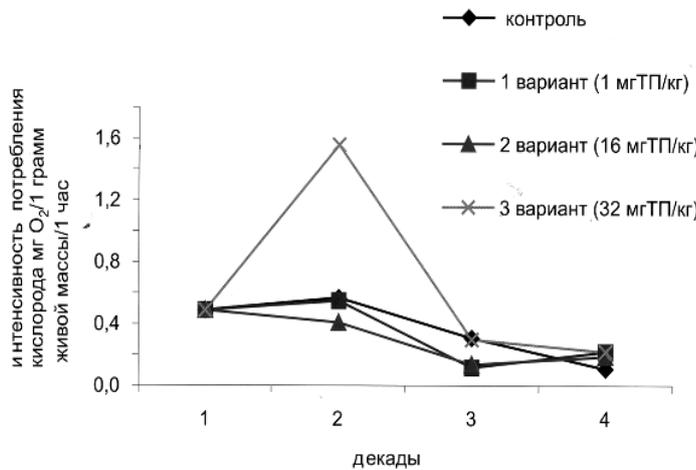


Рис. 7. Интенсивность потребления кислорода в мг  $O_2$ /грамм живой массы в 1 час молодь бестера  $F_2$ , Донецкая область

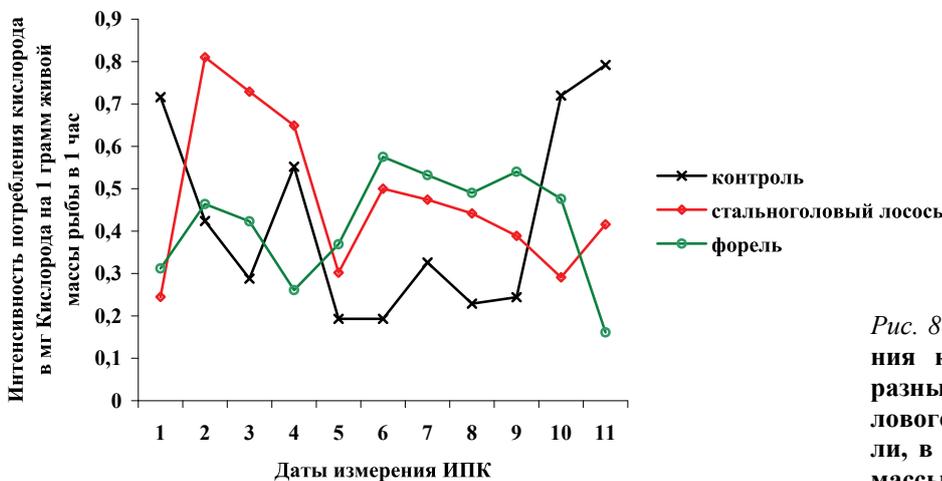


Рис. 8. Интенсивность потребления кислорода, в среднем, по разным регионам у стальноголового лосося и радужной форели, в мг  $O_2$  / на 1 грамм живой массы рыбы в 1 час

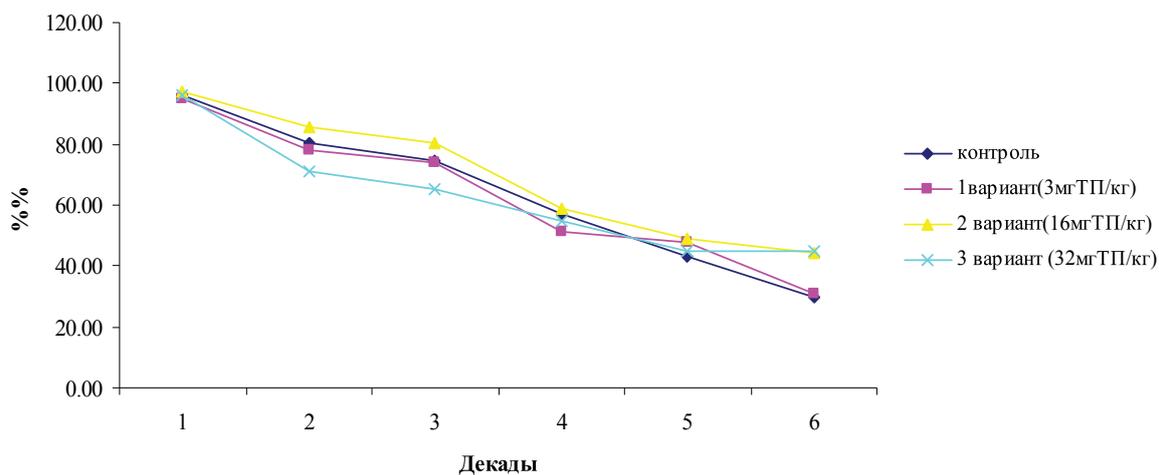


Рис. 9. Выживание молоди бестера в экспериментальный период

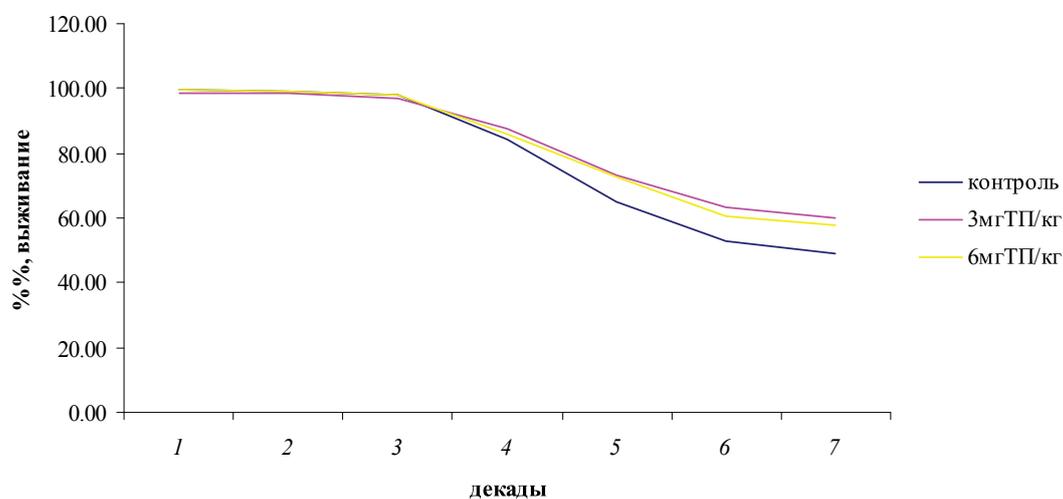


Рис. 10. Выживание стальноголового лосося при скормливания аналогов тестостерона

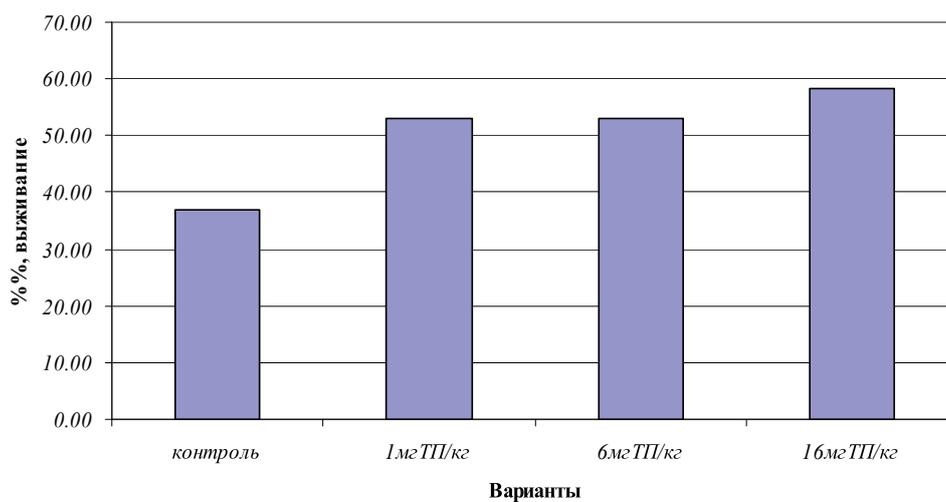
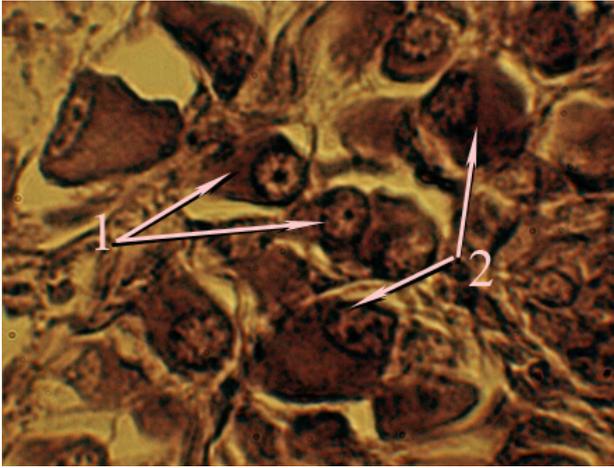
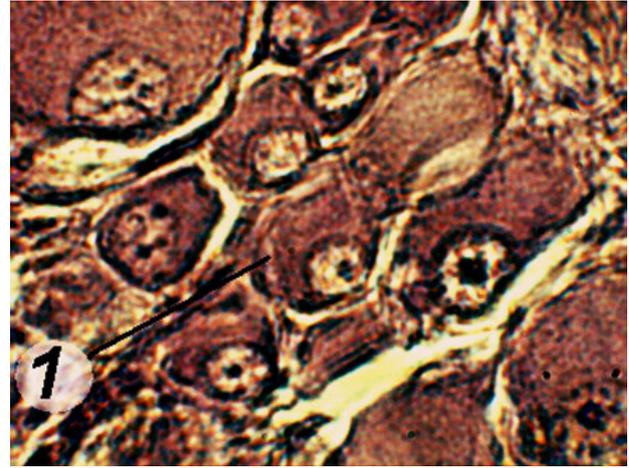


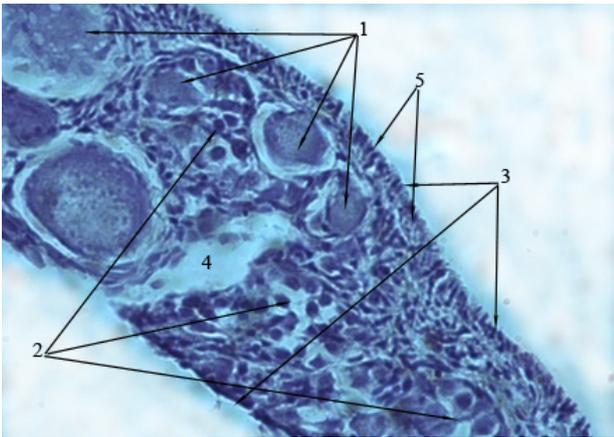
Рис. 11. Выживание радужной форели в результате скормливания аналога тестостерона



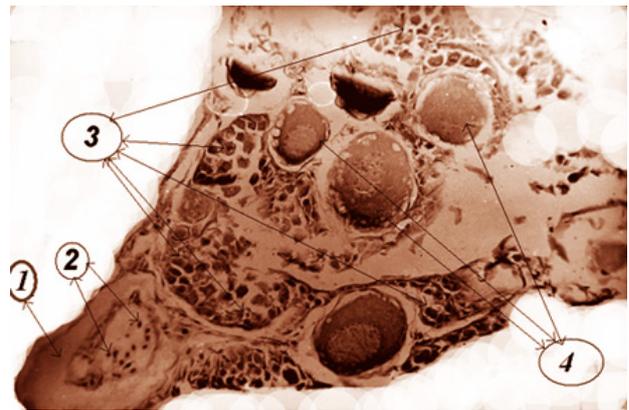
**Рис. 12.** Срез гонады бестера F<sub>2</sub> в возрасте 92 дня от вылупления из II варианта, получавшего 16мг тестостерон-пропионата в масле на 1 кг корма. Донецкая область. 1 – первичные половые клетки перед митотическим делением, 2 – ооциты синаптенного пути. Увеличение 1000х



**Рис. 13.** Срез гонады бестера F<sub>2</sub> в возрасте 92 дня от вылупления из II варианта, получавшего 16 мгТП/кг. Донецкая область. 1 – митоз. Увеличение 1000х



**Рис. 14.** Срез гонады ладожской форели, в возрасте 1+, Заполярье. 1 – резорбции ооцитов разными способами, 2 – формирование гониальных клеток в местах резорбированных ооцитов, 3 – оболочка резорбирующегося яичника, 4 – проток, 5 – интерстициальные клетки. Увеличение 400х

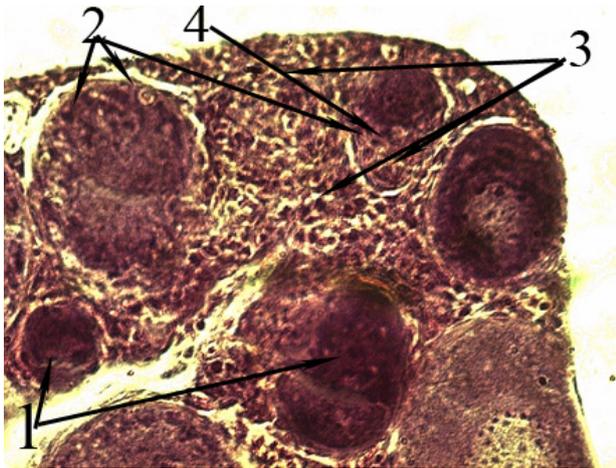


**Рис. 15.** Срез гонады стальноголового лосося в возрасте 285 дней от перехода на внешнее питание, из I варианта, получавшего, 3мгМТ/кг корма. Краснодарский край. 1 – резорбирующийся ооцит за счет фагоцитоза, 2 – лейкоциты, 3 – размножение гониальных клеток на месте резорбированных ооцитов, 4 – резорбирующиеся ооциты на 1 степени фазы протоплазматического роста с пустотами по краю цитоплазмы. Увеличение 140х

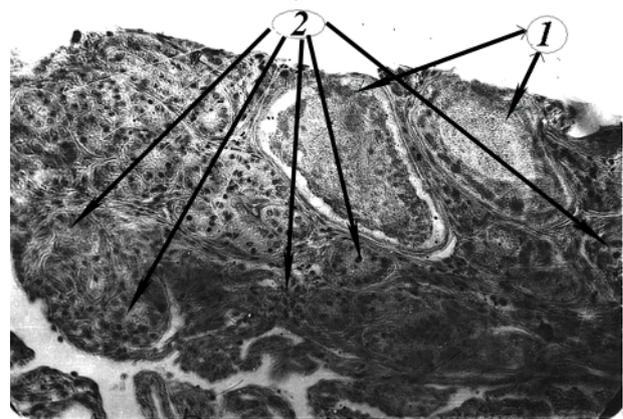
За счет этого, впоследствии, сперматозоиды у реверсантов обладали повышенной двигательной активностью и продолжительностью поступательного движения, но порции спермы, при её сцеживании, у реверсантов, были небольшие. В результате исследований, в динамике формирования гонад реверсантов у лососей и бестера-F<sub>2</sub> выявили общие закономерные изменения через «интерсексуальную стадию развития»:

а) опережающее по сравнению с контролем развитие гонад у самок, рисунки 12, 13;

На рис. 12 первичные половые клетки перед митотическими делениями, они характеризуются (Персов, 1966, 1975) чёткими клеточными границами, со светлым, пузырьчатым ядром, с одним, центрально расположенным, ядрышком – 1; возможно, оогонии – 2; возможно, ооцит синаптической стадии – 3. На рис. 13 митотические деления гониальных клеток – 1.



**Рис. 16.** Срез гонады радужной форели в возрасте 335 дней от перехода на внешнее питание из II варианта, получавшего бмгТП/кг корма, оз. Селигер. 1 – автолиз ооцитов, 2 – лизис цитоплазмы ооцита фагоцитируемыми клетками, размножение гониальных клеток в межовариальных пространствах – 3 и на месте резорбированных ооцитов – 4. Ооциты на 1–2 стадии фазы протоплазматического роста ооцитов. 2 стадия зрелости. Увеличение x200



**Рис. 17.** Срез гонады стальноголового лосося из I варианта, получавшего 3мгМТ/кг корма. Краснодарский край. **Переходная область от овариальной ткани к тестикулярной ткани в гонаде будущего реверсанта:** 1 – резорбирующиеся ооциты на 3 стадии фазы протоплазматического роста ооцитов, 2 – формирование семенных ампул в стромальной ткани с гониями. Увеличение 400x

б) дегенеративные изменения в гонадах самок на стадии протоплазматического роста ооцитов (резорбции – до 100% ооцитов), рисунки 14, 15, 16.

в) на месте дегенерирующих ооцитов и в межовариальных пространствах размножения гониальных клеток, специализация их и развитие по типу сперматогоний, рисунки 16; 17.

г) формирование семенных ампул – рисунок 16;

д) постепенное вытеснение овариальной ткани тестикулярной, рисунок 17;

е) формирование функциональных семенников и окончательное формирование у самок вторичных половых признаков полноценных самцов, продуцирующих сперму, рисунки 18 а, б, в.

На основании вышеизложенного мы делаем вывод, что начавшиеся процессы реверсии пола у бестера(F<sub>2</sub>) при воздействии тестостерон-пропионатом, могут привести к полной реверсии вторичных половых признаков, но с большим разбросом на стерильных особей, интерсексов и реверсантов из самок. В ходе всех проведенных работ и изучения литературных источников выявлен общий механизм переориентации вторичных половых признаков у будущих реверсантов на гистологическом уровне вне зависимости от вида рыб, гормона или климатической области, где проводилась работа (Метальникова, 1989, 1992, 1995; Метальникова, Голубев, 2000). На ос-

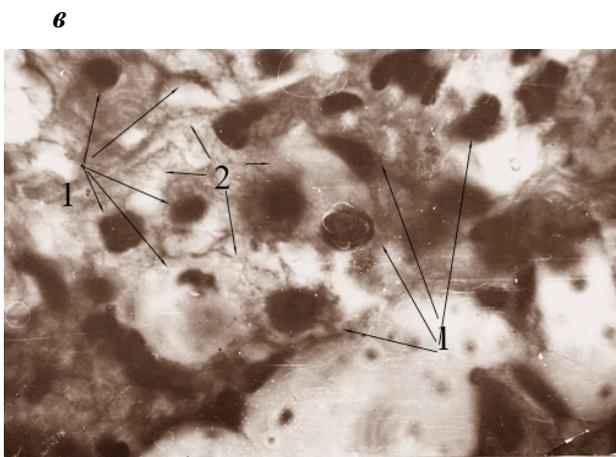
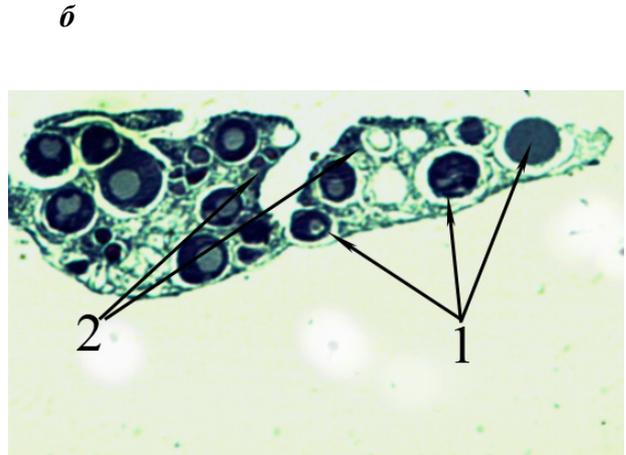
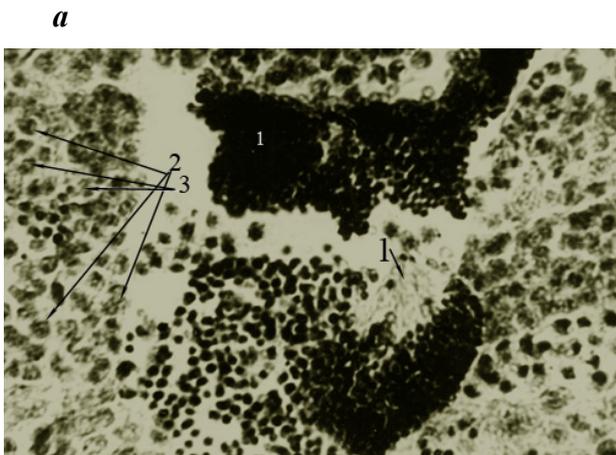
новании этого был предложен способ прогнозирования выхода реверсантов (Метальникова, 1999). От реверсантов стальноголового лосося и балтийской форели получали потомства с преобладанием самок, доля которых варьировала от 60 до 100% у различных реверсантов, рисунок 19, таблица 3. Скрещивали трех реверсантов форели в Калининградской области и одиннадцать реверсантов стальноголового лосося в субтропиках – индивидуально каждого реверсанта с несколькими, одними и теми же, обычными, не обработанными гормонами самками. Часть реверсантов использовали по два нерестовых сезона в обеих климатических областях, рисунок 19, таблица 2.

Форель из контрольных садков имела соотношение полов самок: самцам = 46:54 (%). При этом их прирост зависел от количества самок в потомстве реверсантов, рисунок 20.

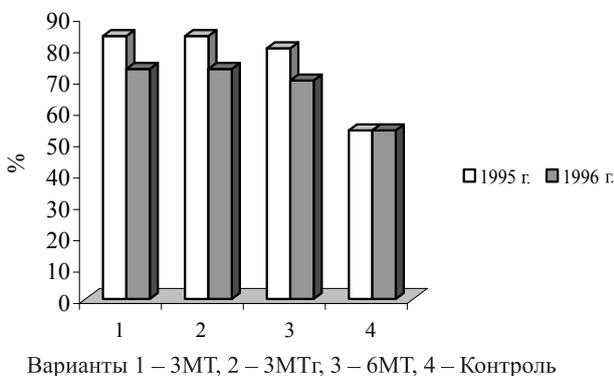
В субтропиках выход самок в потомстве стальноголовых лососей варьировал у разных реверсантов, таблица 2.

**Таблица 2. Выход самок в потомстве у реверсантов стальноголового лосося в субтропическом климате Краснодарского края, 1987–1988 гг.**

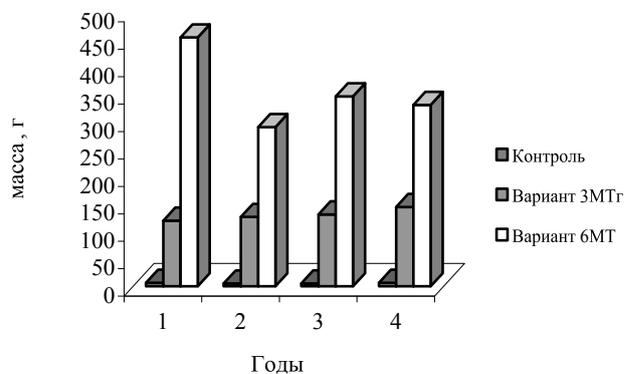
Варианты реверсантов	1а	1б	1в	1г	1д	1е	2а	2б	4а	4б	4в
Выход самок в 1987 г., %	100	83	100	83	0	100	75	100	100	100	0
Выход самок в 1988 г., %	100	93,6	0	0	100	0	0	83	100	100	100



**Рис. 18.** а) тестикулярный участок интерсекса, возраст 2+. III-IV стадии зрелости: 1-сперматозоиды, 2 – метафаза сперматоцитов 1, 2 порядков, 3 – телофаза сперматоцитов 1, 2 порядков, увеличение 400х, б) переходный участок гонады интерсекса, возраст 1+: видны резорбирующиеся ооциты на 1, 2 и 3 ступенях фазы протоплазматического роста ооцитов – 1, размножающиеся сперматогонии и сперматоциты в межовариальных пространствах и в формирующихся цистах в межовариальных пространствах – 2, (иммерсия МТ и 3мгМТ<sub>гипп.</sub>/кг корма), увеличение 100х, в) сперматогенный синцитий между сперматогониями разных порядков и сперматоцитами, возраст 1+, 1 – сперматогонии и сперматоциты разных порядков в процессе деления, 2 – синцитий. Увеличение x1000 с иммерсией



**Рис. 19.** Выход самок в потомстве реверсантов в Калининградской области



**Рис. 20.** Прирост потомства реверсантов у форели в Калининградской области

Количество самок в потомстве зависело, скорее всего, от наследственности производителей, рисунок 9, таблица 2. Возможно, вмешательство в нормальное развитие особи с использованием андрогенов вызывает проявление вторичных половых признаков самцов, как наиболее «экономный» путь физиологической реализации особи в сложных, искусственно созданных условиях при воздействии аналогами тестостерона. Поэ-

тому исследование нормы реакции организмов рыб, под влиянием андрогенов, на цитологическом (Метальникова, Манохина, Ананьев, 1999) и генетическом (Devlin, McNeil, Groves, Donaldson, 1991; Choy, Shao, 1996) уровнях особенно актуально при внедрении методов искусственной реверсии пола в проблему сохранения биоразнообразия объектов аквакультуры существующих и исчезающих видов рыбы.

## Заключение

На основании проведенных экспериментальных и производственных исследований был выявлен общий механизм реверсии вторичных половых признаков у рыб под влиянием андрогенов на

физиологическом и, как результат этого, гистологическом уровнях. Вероятнее всего, механизм, не оказывающий прямого воздействия на генетическое определение пола. Потомство реверсантов имеет хорошее выживание и высокий темп роста за счет того, что в нем преобладают самки.

## Литература

Инрыбпром-2000/ВНИРО-2000.

Баранникова И. А. 1969. Современное состояние метода гормональной стимуляции созревания рыб и его значение для рыбоводства // Современное состояние метода гипофизарных инъекций. Астрахань. С. 5–21.

Баранникова И. А., Баюнова Л. В., Гераскин П. П., Семенова Т. Б. 2000. // Вопросы ихтиологии. Т. 40-2. С. 269–274.

Гербильский Н. Л. 1947 // Тр. лаб. основ рыбоводства. Т. 1. С. 25–95.

Гербильский Н. Л. 1949. Экспериментальные и методические основы развития осетроводства в низовьях Куры // Тр. лаб. основ рыбоводства. Т. II. С. 5–28.

Гомельский Б. И. 1985. Гормональная инверсия пола у карпа *Surginus carpio* L. // Онтогенез-16 № 4. С. 398–405.

Ковалев К. В., Купченко С. А., Дума В. В., Дума Л. Н., Пономарева Е. Н., Рекубратский А. В. 2008. Гормональная регуляция пола у осетровых рыб. // Тез. докл. Межд. конф. памяти В. С. Кирпичникова «Генетика, селекция, гибридизация, племенное дело и воспроизводство рыб», Санкт-Петербург, 10–12 сентября 2008 г. Санкт-Петербург: ГосНИОРХ. С. 98–100.

Максимович А. А. 1987. Нейросекреторная гипоталамо-гипофизарная система костистых рыб. // Вопросы ихтиологии-2703. С. 390–403.

Метальникова К. В. 1987. Результаты воздействия тестостерон-пропионата на молодь радужной форели *Salmo gairdneri* (G) // Генетические исследования морских гидробионтов. М.: ВНИРО. С. 156–164.

Метальникова К. В. 1989а. О влиянии тестостерон-пропионата на некоторые биологические показатели лососевых рода *Salmo* и гибрида бестера *Huso huso* x *Acipenser Ruthenus*. // Современные проблемы рыбохозяйственных исследований – М.: ВНИРО. С. 89–99.

Метальникова К. В. 1989б. Применение метода гормонально-генетической регуляции пола у стальноголового лосося. // Тез. докл. междунар. симп. по совр. пробл. Марикульт. в соц. стр.-х. – М.: ВНИРО. С. 198–200.

Метальникова К. В., Бурцев И. А., Слизченко А. Г. 1989. Методические рекомендации по получению однополого женского потомства у стальноголового лосося. / М.: ВНИРО. 14 с.

Метальникова К. В. 1992. Влияние синтетических аналогов тестостерона на передифференцировку по-

ла у стальноголового лосося (*Oncorhynchus mykiss* (Walb.) / Автореферат на соиск. учен. степ. к. б. н.-М.: ВНИРО. 16 с.

Метальникова К. В. 1995. Влияние синтетических аналогов тестостерона на гаметогенез у *Oncorhynchus mykiss* (Walb.) // Рыбное хозяйство, № 2. С. 40–42.

Метальникова К. В. 1995. Опыт применения метилтестостерона для реверсии пола у лососевых видов рыб в Заполярье. // Матер. Совещ. по товарному форелеводству. Мурманск. – С. 48–51.

Метальникова К. В. 1999. Совершенствование методов идентификации реверсантов по срокам цитологической передифференцировки гонад под влиянием андрогенов. Матер. Междунар. симп. «Ресурсосберегающие технологии в аквакультуре». Адлер. С. 49–51.

Метальникова К. В., Манохина М. С., Ананьев В. И. 1999. Возможности применения методов реверсии пола и криоконсервации спермы для сохранения генетического разнообразия рыб. // Рыбн. хоз. Сер.: Аквакультура. Вып. 1. 30–34 с.

Метальникова К. В., Голубев В. А. 2000. Получение потомства форели от реверсантов в нерестово-вырастном хозяйстве «Прибрежное» (Калининградская обл.) // Рыбное хоз. Сер. «Пресноводная аквакультура» ВНИЭРХ. Вып. 4. С. 19–24.

Метальникова К. В., Анохина В. С., Ананьев В. И. 2000. Криоконсервация спермы реверсантов форели. // Матер. докл. научно-практ. конф. 25–27 октября 2000 г., г. Мурманск «Марикультура северо-запада России». Мурманск. С. 33–34.

Метальникова К. В. 2002. Предварительные результаты исследования форели из 2-го поколения от самца, обработанного метилтестостероном. // Экологическая физиология и биохимия рыб в аспекте продуктивности водоемов. Труды ВНИРО / под ред. д. б. н. Микодиной Е. В. М.: ВНИРО. Т. 141–129–137 с.

Метальникова К. В., Привезенцев Ю. А. 2009. Способ получения многократно использованных реверсантов у рыб. / Патент № 022364, рег. № 2009116285 от 30.04.2009 г.

Роскин Г. И., Левинсон Л. Б., 1957. Микроскопическая техника. / М.: Советская наука. 467 с.

Строганов Н. С. 1962. Методики определения дыхания у рыб. // Руководство по исследованию физиологии рыб. С. 35–81.

Шентякова К. В. 1986. Влияние стероидных гормонов на баланс энергии молоди стальноголового лосося. // Тез. докл. на совещ. 15–17 апреля 1986 г. в г. Суздаль-М. С. 73.

Яковлева И. В. // Тр. лаб. основ рыбоводства. Т. 2–1949. С. 167–182.

Bye V.J.et.al. Commercial methods for the control of sexual maturation in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.) // *Aquaculture*, 1986-57. P. 35–50.

Choy L.Hew, Shao J. Du // United States Patent-Patent Number 5,480,774-Date of Patent Jan.2, 1996. 36 p.

Devlin Robert H, B. Kelly McNeil and T. David D. Groves, Donaldson Edward M. 1991. Isolation of a Y-Chromosomal DNA Probe Capable of Determining Genetic Sex in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytsca*). // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* Vol. 48. P. 1607–1612.

Gorshkov S.A. ET al. // *The Rainbow Trout*. The proceeding of the first aquaculture sponsored

Symposium held at the Institute of Aquaculture. University of Stirling. Scotland 4–7 September 1990 / Ed. by G.A. Gall. USA, Amsterdam-London-New York-Tokyo, 1992. P. 99–100.

Kimberg K., Christiansen T., Bjerregaard P. And Korsgaard. G-glutamyl transpeptidase, as a possible marker of sertoli cells in testes of fish. // *Fish Physiology – materials of simposium in Bergen, 1999. France, 1999.* P. 387.

Metalnikova K.V. 2008. Methods for obtaining sex reversants in *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) and *Huso huso* x *Acipenser ruthenus* (Hybrid F2) and histogenesis in salmon reversants in response to androgens. // *Actual status and active protection of sturgeon fish populations endangered by extinction* / Ed. Ryszard Kolman, Andrzej Kapusta-Olsztyn. P. 113–126.

## **HISTOGENESIS IN RESPONSE TO ANDROGENS IN *ONCORHYNCHUS MYKISS* (WALBAUM) AND *HUSO HUSO* X *ACIPENSER RUTHENUS* (HYBRID F<sub>2</sub>)**

**K.V. Metalnikova**

*Russian Federal Research Institute of Fisheries & Oceanography, Moscow, Russia,*  
e-mail: ksenia@vniro.ru

Histogenesis in salmon reversants in different climatic zones in response to androgens was studied. Reversion of secondary sexual characteristics in trout, steelhead and baster was received in Russia during 1978–1996. It provided a higher content of hemoglobin in blood and an increased survival level in fish, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) and *Huso huso* x *Acipenser ruthenus* (Hybrid F<sub>2</sub>), compared with the control. Observed changes in the gonads of fishes under experiment resulted from intensive metabolism. Androgens were shown to be responsible for the following common changes in the gonads of treated fishes: a) accelerated development of ovaries in the females under experiment compared with the control, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) and *Huso huso* x *Acipenser ruthenus* (Hybrid F<sub>2</sub>); b) degenerated oocytes and development of testis; c) normal development of testis but permeated with blood vessels. Processes of sex reversion in fishes treated with testosterone

analogues were continued after the treatment had been over. Various reversants from salmon females produce variable number of females (in offspring) from 60 to 100%. It may depend on the genetic peculiarities of sex reversants. Mature reversants are used for crossing with ordinary females intravitaly. Histological studies of gonads were used for predicted output of sex reversants. The same reversants are used during several years. Methods of visual diagnostics of external characteristics of sex reversants were used when selecting spawners. Offsprings (mainly females) of *O.mykiss* reversants were received twice during two years. The offspring was not treated with androgens. Artificial interference into the normal development of females by means of androgens is likely to provoke the manifestation of male sexual secondary symptoms as the most rational way of physiological realization of individual females under unfavorable environmental conditions in response to testosterone analogues.