ОНТОГЕНЕЗ, 2018, том 49, № 2, с. 124–132

МОРФОГЕНЕЗ

УДК 597.553.2.591.16

СОСТОЯНИЕ ПОЛОВЫХ ЖЕЛЁЗ У СЕГОЛЕТОК РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ ПРИ ИНЪЕКЦИИ СУРФАГОНА

© 2018 г. Е.Д. Павлов[1], Е.В. Ганжа[1], Во Тхи Ха[2], Нгуен Ан Тиен[3], Д.С. Павлов[1]

[1]Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, 119071 Москва, Ленинский пр-т, д. 33

[2]Приморское отделение Российско-Вьетнамского Тропического научно-исследовательского и технологического центра, Нячанг, Вьетнам

[3]Научно-исследовательский институт аквакультуры № 3, Нячанг, Вьетнам

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

Поступила в редакцию 03.12.2015 г.
Окончательный вариант получен 15.02.2017 г.

Исследовано состояние половых желёз и определён уровень тиреоидных и половых стероидных гормонов в крови у сеголеток радужной форели, выращенных в климатических условиях высокогорья южного Вьетнама, при инъекции синтетического препарата сурфагон. Показано, что в условиях вьетнамского форелевого хозяйства гонады сеголеток имеют значительные аномалии в строении, что выражается в формировании, помимо самок и самцов, гермафро2дитов и стерильных особей. Однократная инъекция сурфагона молоди форели через месяц после её вылупления стабилизирует развитие половых желёз, снижая долю стерильных особей с 41 до 22%. Работа представляет первую попытку оценить влияние инъекции аналога гонадотропин-рилизинг-гормона на формирование половых желёз в раннем онтогенезе рыб.

Ключевые слова: радужная форель *Parasalmo mykiss*, Вьетнам, сурфагон, половые железы, тестостерон, эстрадиол, трийодтиронин, тироксин

DOI: 10.7868/S0475145018020052

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время за счёт интенсивного развития мировой аквакультуры происходит вселение объектов разведения в новые для них климатические условия. Ярким примером такого распространения может служить радужная форель *Parasalmo mykiss (=Oncorhynchus mykiss)*. Этот вид был интродуцирован в водоёмы многих государств, расположенных за пределами его естественного ареала. Популяции радужной форели могут быть найдены в водах всех континентов, за исключением Антарктиды. Диапазон современного распространения вида простирается от Полярного круга (Россия, Аляска, Норвегия, Швеция) к экватору (Вьетнам, Эквадор, Кения, Уганда) в Северном полушарии, и от экватора до 55 градуса южной широты (Аргентина) в Южном полушарии (fishbase.org).

Радужная форель – холодноводный вид, что существенно ограничивает её культивирование в близлежащих к экватору районах. С начала 2000-х годов на рыбоводном хозяйстве Клонг-Кланх (провинция Лам-Донг, южный Вьетнам) разводят радужную форель. Хозяйство расположено в горном районе провинции на плато высотой 1485 м над уровнем моря. Такое расположение хозяйства частично нивелирует различия по абиотическим факторам, прежде всего по температуре, между районом разведения и естественной средой обитания радужной форели. Ранее (Павлов и др., 2010б; Павлов и др., 2013) было показано, что сложившиеся климатические условия района, где расположено хозяйство, по ряду основных показателей, в частности температуре, не удовлетворяют нормальным условиям содержания радужной форели. Это приводит к значительным нарушениям в формировании её репродуктивной системы на ранних этапах онтогенеза. В условиях вьетнамского форелевого хозяйства (по нашим неопубликованным данным) у сеголеток форели в возрасте 3 мес. наблюдается до 35% стерильных особей и до 10% гермафродитов. При этом доля самцов превалирует над долей самок – 40 и 15% соответственно. На основании имеющихся результатов можно заключить, что из всего выростного стада радужной форели, репродуктивный потенциал имеет только половина особей, а малое число готовых к нересту самок не позволяет получать достаточное количество потомства.

Имеющаяся инфраструктура хозяйства Клонг-Кланх не позволяет снизить температуру воды в выростных водоёмах. Поэтому в данной работе предпринята попытка стабилизировать физиологическое состояние радужной форели, в частности формирование её репродуктивной системы, посредством гормонального воздействия на организм.

Сурфагон является синтетическим аналогом гонадотропин-рилизинг-гормона (люлиберина, ГнРГ), стимулирующего выделение из передней доли гипофиза в кровь гонадотропных гормонов – лютеинизирующего (ЛГ) и фолликулостимулирующего (ФСГ). Эти гормоны необходимы для нормальной работы репродуктивной системы. Изменение их концентрации в крови может приводить к значительным перестройкам гормональной регуляции организма, в том числе является сигналом к началу дифференцировки пола у рыб (Devlin, Nagahama, 2002; Budd et al., 2015) и к изменению уровня тиреоидных гормонов – регуляторов энергетических процессов в организме (Cyr, Eales, 1996; Hulbert, 2000). Поэтому введение ГнРГ и его аналогов молоди до начала дифференцировки пола может оказать влияние как на саму дифференцировку, так и на последующее формирование половых желёз.

Удельная активность сурфагона примерно в 50 раз выше, чем у естественного люлиберина, что обеспечивает его более сильное биологическое действие на гонадотропную функцию гипофиза. Сурфагон и его аналоги часто применяют в аквакультуре для стимуляции созревания половых продуктов у различных видов рыб. Аналоги ГнРГ применяют для синхронизации нереста у производителей лососевых (Crim, Glebe, 1984; Mylonas et al., 1992; Powell et al., 1998). Не изучено влияние сурфагона на формирование репродуктивной системы радужной форели на ранних этапах её онтогенеза. Нами не обнаружено данных в литературе по влиянию сурфагона на изменение уровня тиреоидных и половых стероидных гормонов, принимающих участие в формировании и развитии репродуктивной системы. При этом остаётся открытым вопрос обладает ли сурфагон отсроченным действием на уровень указанных гормонов в крови.

Цель данной работы – оценить отсроченное действие сурфагона на цитологическое состояние половых желёз и уровень тиреоидных и половых стероидных гормонов у молоди радужной форели, культивируемой в горном районе южного Вьетнама.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материал собран в марте–апреле 2014 г. на экспериментальном рыбоводном хозяйстве Клонг-Кланх (Klong-Klanch) Научно-исследовательского института аквакультуры № 3 (Research Institute of Aquaculture № 3), расположенном в 50 км на северо-восток от г. Далат. Объект исследования – второе поколение сеголеток радужной форели, полученных от производителей, выращенных на хозяйстве Клонг-Кланх из икры, поставленной из Финляндии.

Молодь радужной форели до и во время эксперимента содержали в бассейнах размером 1.9×0.4 м, при уровне воды 10–20 см и средней плотности посадки 2000 экз. на 1 м^3 воды. При начале эксперимента контрольных и подопытных рыб помещали раздельно в два бассейна, условия их содержания, в том числе плотность посадки, не меняли. Поступление воды в бассейн (0.39 л/с) обеспечивало 9-кратный водообмен за час, скорость течения была в среднем 0.6 см/с. Температура воды составляла 16–18 °С, уровень растворённого кислорода – 6–9 мг/л. Молодь кормили гранулированным кормом Scretting T-3P Stella.

Сурфагон однократно инъецировали рыбам через 30 сут. (8.03.2014) после вылупления, предположительно до осуществления цитологической дифференцировки пола, которая при температуре 17–19 °С у радужной форели начинается через 27–35 сут. после вылупления (Макеева, 1992). Предварительно до инъекции рыб выдерживали 1–2 мин в растворе анальгетика (этиленгликоль) концентрацией 1:3 000. Показателем действия анальгетика было снижение двигательной активности особей. Для осуществления инъекции исходный раствор препарата (раствор с концентрацией 5 мкг действующего вещества в 1 мл) дополнительно разбавляли водным раствором хлорида натрия из расчёта 1:51. Инъекцию проводили инсулиновым шприцом из расчёта 15 мкг на 1 кг рыбы (при средней массе особи 1.3 г) под грудной плавник. Препарат был взят в дозировке, которая находится в диапазонах стимуляции созревания у рыб (Чебанов и др., 2004). Через 40 сут. после инъекции (17.04.2014) отбирали кровь для ИФА и фрагменты гонад для гистологического анализа у подопытных и контрольных рыб. Продолжительность эксперимента (40 дней) была выбрана таким образом, чтобы в течение этого периода у рыб произошла дифференцировка пола, так как предполагалось, что к этому времени проявится эффект от инъекции препарата.

Для оценки возможного эффекта от инъекции сурфагона на уровень в крови тиреоидных и половых стероидных гормонов у рыб отбирали пробы крови. Отбор проб крови осуществляли автоматическим дозатором после надрезания хвостового стебля. Из отобранной крови стандартным способом получали плазму. Методом иммуноферментного анализа с использованием тест-наборов производства DRG (Германия) на приборе Mindray

MR 96A (KHP) определяли концентрацию тироксина (T_4) и трийодтиронина (T_3), а также тестостерона (Tes) и эстрадиола-17β (E) в объединённой пробе плазмы крови (от 7 до 12 особей, имеющих сходные длину и массу). Каждая проба была исследована на содержание этих гормонов в трёх повторностях.

Для оценки цитологического состояния половых желёз у сеголеток радужной форели проведена фиксация их гонад в жидкости Буэна. Гистологические препараты изготавливали по стандартным методикам (Ромейс, 1953) с использованием полуавтоматического специализированного гистологического оборудования фирмы Medite (ФРГ): гистопроцессор TPC-15, заливочная станция TES-99, микротом Meditome M530. Срезы толщиной 5 мкм последовательно окрашивали гематоксилином Эрлиха и эозином. Фотографии срезов половых желёз получены при помощи моторизованного микроскопа Keyence Biorevo BZ-9000 (Япония). Отбор проб проведён от 154 экз. сеголеток радужной форели в возрасте 2.5 мес – 71 экз. подопытных рыб и 83 экз. контрольных.

С целью выявления цитологических изменений в генеративной ткани половых желёз через 40 дней после инъекции препарата применяли расчётные показатели – ядерно-цитоплазматическое отношение ооцитов (ЯЦО) и число сперматогониев типа Б на единицу площади (10 000 мкм^2) на гистологических срезах семенников (Павлов и др., 2014). ЯЦО рассчитывали как отношение площади ядра к площади цитоплазматического материала ооцита на срезе, прошедшем непосредственно вблизи от центральной части клетки. На этапе пре- и вителлогенеза значительно увеличиваются размеры ооцитов, что в основном происходит за счёт цитоплазмы, а не ядра (Мурза, Христофоров, 1991; Макеева, 1992). Поэтому на этих этапах по мере развития клеток значение ЯЦО снижается. Подсчёт числа клеток в семеннике и измерения для определения ЯЦО проводили при помощи программного обеспечения Image J ver. 1.46r. Всего промерено 713 ооцитов у подопытных особей и 548 у контрольных.

Обработка материала выполнена с использованием дисперсионного анализа и t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Особенности роста сеголеток радужной форели. Средняя масса молоди радужной форели в возрасте 1 мес. составляла 1.3 г. Спустя 40 дней после инъекции масса контрольных сеголеток составляла 2.0±0.06 г, а длина – 6.3±0.06 см. Масса подопытных сеголеток при отборе проб была 2.6±0.07 г, а длина – 6.9±0.07 см. Длина и масса подопытных сеголеток достоверно выше ($p<0.001$), чем у контрольных. С учётом стандартного содержания и кормления различия, вероятно, обусловлены анаболическим эффектом от инъекции сурфагона. По всей видимости, под воздействием сурфагона молодь лучше растёт.

Цитологическое состояние половых желёз. Как в контрольной, так и в экспериментальной группах помимо самок и самцов обнаружены гермафродиты и стерильные особи (рис. 1).

Под воздействием сурфагона достоверно ($p=0.013$) снижается доля стерильных рыб с 41% до 22%, т.е. практически в два раза. Доля самцов в экспериментальной группе также достоверно ($p=0.042$) возрастает с 21% до 35%, а доля самок имеет тенденцию к увеличению с 17% до 25% ($p=0.20$). Доля гермафродитов в опыте и контроле примерно одинакова и составляет около 17%.

В гонадах подопытных и контрольных самок ЯЦО ооцитов не различается – соответственно составляло 0.53±0.006 (0.19–1.20)[1] и 0.52±0.007 (0.19–1.32). Число сперматогониев типа Б на единицу площади (10 000 мкм^2) в семенниках подопытных особей несколько выше, чем у контрольных – соответственно – 107±8.3 (57–171) и 92±9.5 (54–128).

Таким образом, цитология половых желёз и выявленные цитологические аномалии их строения в контроле и эксперименте различаются количественно, но, судя по применённым расчётным показателям, стадии зрелости половых желёз и интенсивность протекания гаметогенеза в этих группах сходны.

Половые железы самок находятся на II стадии зрелости. Они полупрозрачны, имеют светло-жёлтый цвет, ооциты невооружённым глазом не видны. Вдоль яичников проходит крупный кровеносный сосуд – arteria ovarica, с мелкими ответвлениями. Основное количество половых клеток на этой стадии зрелости представлено ооцитами периода цитоплазматического роста (рис. 2а). Их размеры варьируют от 40 до 100 мкм, преобладают ооциты диаметром около 60 мкм. Для таких ооцитов характерно крупное ядро с ядрышками в среднем 5–15 на срез, расположенными по его периферии, и обычно однородно окрашенная цитоплазма. Как в гонадах опытных, так и контрольных рыб в некоторых ооцитах видны участки более интенсивно окрашенной цитоплазмы (рис. 2б), что обусловлено скоплением РНК клетки. Зачастую эти зоны располагаются хаотично, что может являться следствием аномального состояния клетки.

Многие ооциты имеют и другие отклонения в строении. Это выражается в изменениях строения ядра, цитоплазмы и тканевых структур. Во многих ооцитах отмечено неравномерное распределение

[1] Перед скобками – среднее значение показателя и его ошибка, в скобках – пределы варьирования показателя.

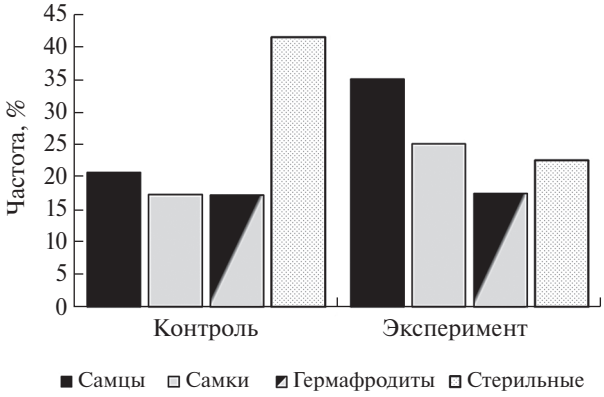

Рис. 1. Распределение контрольных и экспериментальных сеголеток радужной форели в зависимости от клеточного состава их гонад.

ядрышек по периферии ядра. В ооцитах периода цитоплазматического роста наблюдается уменьшение числа ядрышек до 3–5 на срез и значительная вариабельность их размеров. В ряде случаев выявлена деструкция ядерной оболочки, впоследствии приводящая к смешиванию нуклео- и цитоплазмы (рис. 2в). В некоторых ооцитах ядро локализовано не в центре клетки, а смещено к её периферии, тогда как в центральных участках в цитоплазме имеется скопление структурировано расположенных вакуолей. Выявлена массовая деструкция половых клеток краниальной части яичника у одной особи. На месте разрушенных половых клеток разрастается соединительная ткань (рис. 2г).

На II стадии зрелости гонады самцов имеют вид тонких прозрачных тяжей. Половые клетки у всех особей представлены крупными сперматогониями типа А, диаметром 10–13 мкм и многочисленными мелкими активными сперматогониями типа Б, диаметром около 7 мкм (рис. 3а). В более развитых гонадах сперматогонии типа А встречаются единично, а количество сперматогониев типа Б возрастает. Цисты у молоди на этой стадии зрелости ещё не сформированы. Но в одной гонаде помимо сперматогониев, находящихся в цистах, обнаружены более зрелые клетки – сперматоциты I порядка (рис. 3б). Такие клетки примерно в два раза меньше, чем

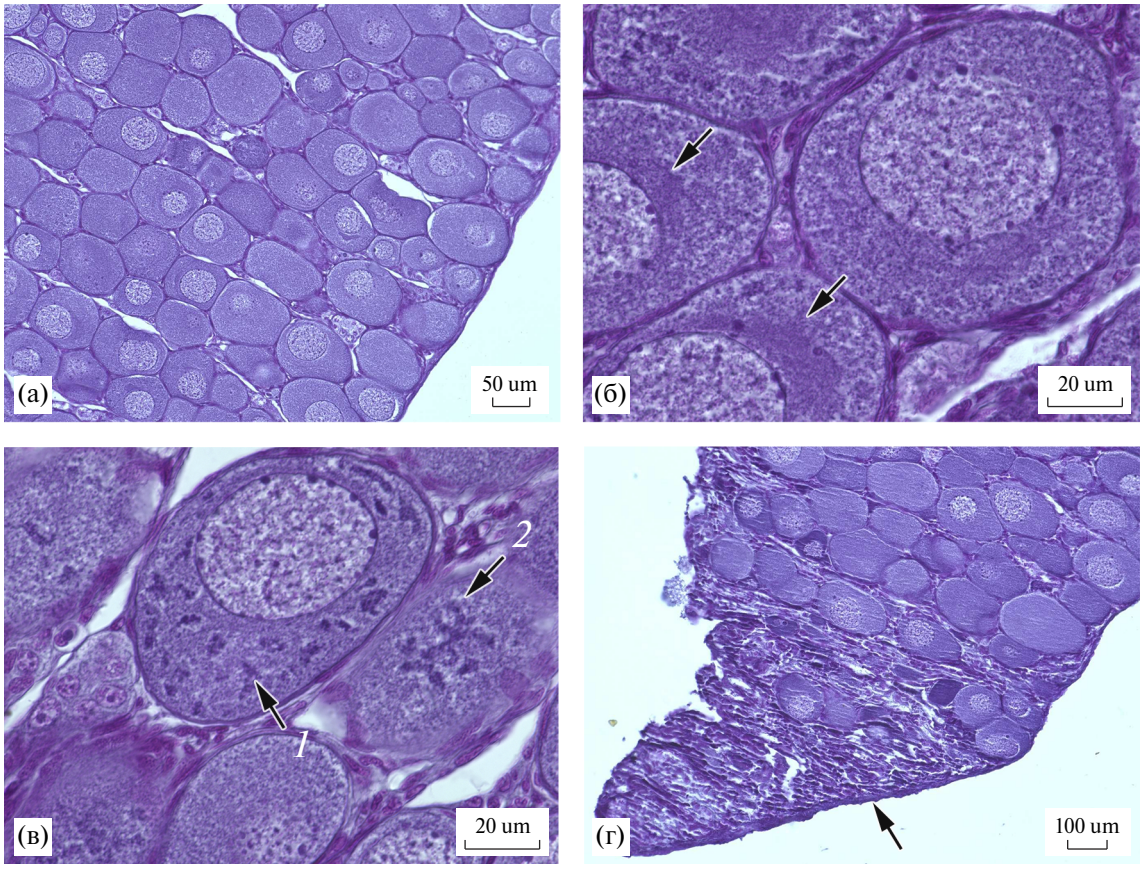

Рис. 2. Цитологическое строение яичников сеголеток радужной форели: (а) – ооциты периода цитоплазматического роста; (б) – участки интенсивно окрашенной цитоплазмы (стрелки); (в) – деструкция ядерной оболочки, смешивание ядерного и цитоплазматического материалов (стрелки); (г) – краниальный участок яичника с тотальной деструкцией генеративной ткани, гипертрофия соединительной ткани (стрелка).

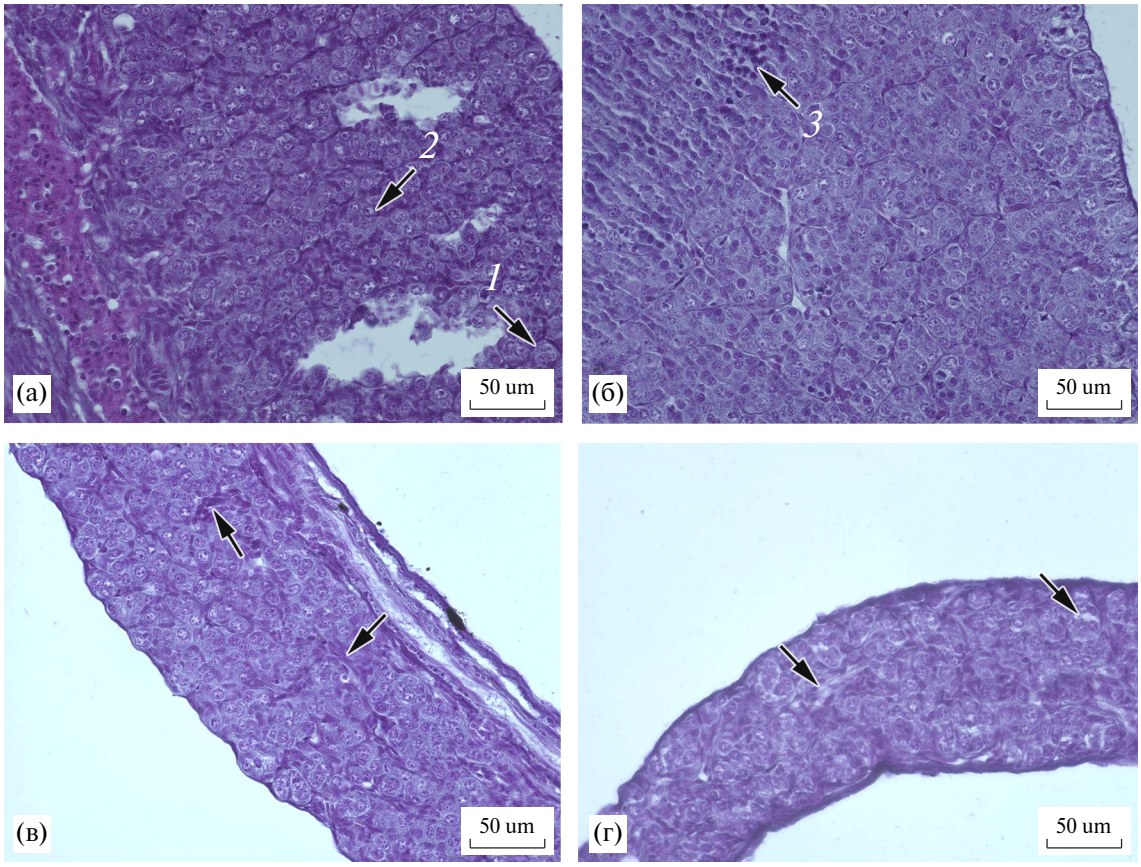

Рис. 3. Цитологическое строение семенников сеголеток радужной форели: (а) – сперматогонии типа А (1) и Б (2) в гонаде; (б) – участок гонады со сперматоцитами I порядка (3); (в) – гипертрофия соединительной ткани (стрелки); (г) – участки гонады с частичной деструкцией сперматогониев (стрелка).

сперматогонии и более плотные по своей структуре, при окраске гематоксилиновым лаком они выглядят темнее сперматогониев. Наличие в гонаде сперматоцитов свидетельствует о более интенсивном развитии данной гонады по сравнению с остальными. Особь с такими половыми железами относилась к подопытной группе, что может свидетельствовать об ускорении сперматогенеза за счёт сурфагона.

В некоторых гонадах наблюдается гипертрофия соединительной ткани (рис. 3в). У небольшой части особей между сперматогониями отмечены вакуолеподобные структуры, по-видимому, формирующиеся на месте разрушенных гониев (рис. 3г).

У сеголеток радужной форели, выращенных на хозяйстве Клонг-Кланх, часто наблюдается гермафродитизм. Половые железы таких рыб одновременно представлены сперматогониями типов А и Б и ооцитами периода цитоплазматического роста (рис. 4). В гонадах гермафродитов сперматогонии, как правило, располагаются в цистах (рис. 4а). Помимо сперматогониев и превителлогенных ооцитов различного размера встречаются единичные оогонии. По сравнению с ооцитами они имеют заметно меньшие размеры и малое количество цитоплазматического материала (рис. 4б).

В количественном плане соотношение ооцитов и сперматогониев по занимаемой в гонаде площади, неоднородно. В половых железах контрольных гермафродитов по занимаемой площади продольного среза над сперматогониями превалируют превителлогенные ооциты (рис. 4в). У подопытных рыб помимо гонад овотеститов присутствуют тестовариумы, в которых превалируют сперматогонии над ооцитами (рис. 4г). Доля гонад овотеститов в подопытной группе несколько выше, чем тестовариумов – 3:2 соответственно. Гонады гермафродитов, содержащие преимущественно ооциты, характеризуются выраженной деструкцией имеющихся немногочисленных сперматогониев (рис. 4в). В свою очередь, в гонадах, содержащих преимущественно сперматогонии, зачастую идёт резорбция единичных ооцитов (рис. 4г). Продолжение этих процессов в дальнейшем может привести к образованию нормальных яичников или семенников из гермафродитных гонад.

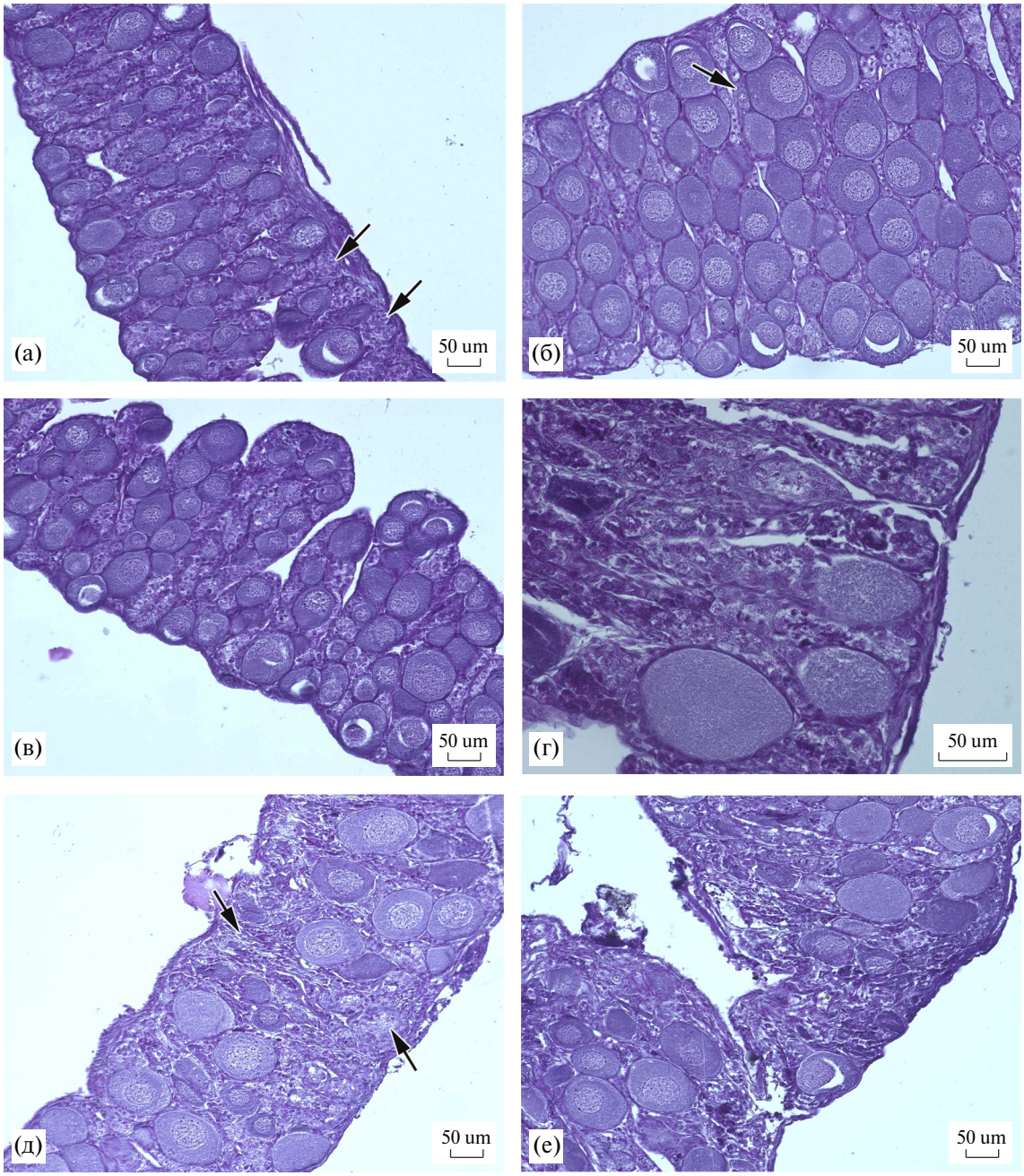

Рис. 4. Гермафродитизм в гонадах сеголеток радужной форели: (а) – цисты со сперматогониями (стрелки) между ооцитами; (б) – оогоний среди превителлогенных ооцитов и сперматогониев (стрелка); (в) – гонада, содержащая преимущественно ооциты; (г) – половая железа с многочисленными сперматогониями и единичными ооцитами; (д) – участки с деструкцией сперматогониев (стрелки); (е) – поперечная перетяжка с разрушенным генеративным материалом, на месте которого разрастается соединительная ткань.

Деструкция ооцитов выражается в расположении клеток крови рядом с периферией ооцита, извилистой структурой его оболочки и ядерной мембраны. Как и в яичниках, разрушение ооцита, как правило, начинается с ядерного материала, о чем свидетельствует первоначальная деструкция оболочки ядра и отсутствие гипертрофированных фолликулярных клеток по периферии оболочки ооцита. Деструкция сперматогониев характеризуется имеющимся свободным бесклеточным пространством в цистах, пикнозе клеточных ядер (рис. 4д) и изменении тинкториальных свойств цитоплазмы.

В некоторых половых железах гермафродитов в районах прошедшей массовой деструкции половых клеток формируются поперечные перетяжки.

Таблица 1. Уровень тиреоидных и половых стероидных гормонов в крови сеголеток радужной форели.

	T_3, нг/мл	T_4, нг/мл	Tes нг/мл	E, пкг/мл
Контроль	2.2±0.18 0.2–3.9	55.6±4.51 11.5–122.1	2.0±0.28 0.5–8.4	105.5±9.00 38.7–191.0
Эксперимент	2.6±0.54 0.5–10.7	52.4±8.33 17.9–174.7	1.8±0.35 0.3–7.0	123.6±19.63 41.9–414.2

Участок перетяжки состоит в основном из волокон соединительной ткани и разрушенных половых клеток (рис. 4е).

Стерильные гонады у сеголеток радужной форели многочисленны как в эксперименте, так и в контроле, но в разном процентном соотношении. Такие гонады, как правило, имеют небольшой размер и в основном состоят из разросшейся соединительной и жировой тканей (рис. 5). Их оболочка за счёт гипертрофированной соединительной ткани толстая и плотная. Во многих стерильных половых железах расположены многочисленные полости неправильной формы.

Концентрация тиреоидных и половых стероидных гормонов. На основании дисперсионного анализа и критерия Стьюдента ($p>0.05$) показано, что уровни тиреоидных и половых стероидных гормонов в крови не зависят от влияния сурфагона.

Средние уровни T_3 и E были несколько выше в крови экспериментальных рыб, а концентрация T_4 и Tes у них наоборот, ниже (табл. 1). Минимальные значения уровня T_3, T_4 и E отмечены у контрольных особей, а Tes – у экспериментальных рыб. Максимальные значения концентрации T_3, T_4 и E выявлены преимущественно у молоди из экспериментальной группы, а Tes – у рыб из контрольной группы. Максимальные значения в эксперименте превышают таковые в контроле в 1.4 раза по T_4 и более чем в 2 раза по T_3 и E.

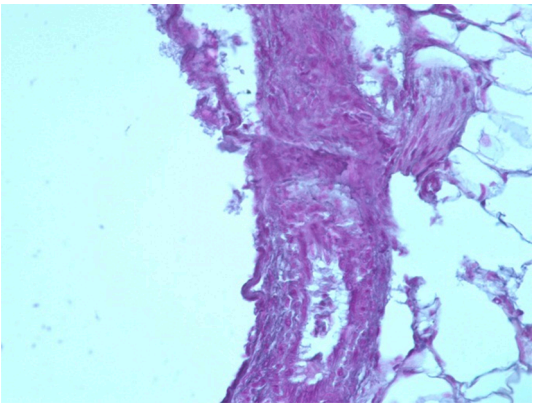

Рис. 5. Стерильная гонада сеголеток радужной форели.

ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание радужной форели в условиях рыбоводного хозяйства Клонг-Кланх не отвечает принятым нормам культивирования вида по основным абиотическим показателям – температуре воды, уровню растворённого в ней кислорода и фотопериоду (Pornsoping, 2007; Павлов и др., 2010б, 2013). Несоблюдение технологии выращивания форели в хозяйстве отражается на её физиологии, в том числе и на состоянии её репродуктивной системы. Помимо самцов и самок в стаде присутствует большое количество гермафродитов и стерильных рыб. Доля таких особей с каждым годом растёт – если в 2013 г., как было отмечено ранее, доля гермафродитов и стерильных особей у молоди форели составляла соответственно 10 и 35%, то в 2014 она выросла до 17 и 41% соответственно. Репродуктивная система наиболее чувствительна к неблагоприятным условиям содержания (Микодина, Пукова, 2002; Белова, 2008; Павлов и др., 2010а, б, 2013; Емельянова и др., 2014). Поэтому увеличивающаяся год от года доля гермафродитов и стерильных особей является свидетельством того, что с каждым годом снижаются адаптационные возможности производителей в новых условиях культивирования, а, следовательно, и ухудшается качество их потомства. Проведённая ранее работа по влиянию сурфагона на реореакцию радужной форели (Павлов и др., 2016) показала, что препарат кардинально меняет предпочтение особей к течению как в обычном, так и в миграционном состоянии – особи в меньшей степени проявляют потребность в миграции. Такое поведение рыб под действием препарата, в свою очередь, указывает на повышение их адаптационных возможностей в сложившихся условиях обитания (Павлов Е. и др., 2016).

В соответствии с полученными результатами не вызывает сомнений тот факт, что однократное воздействие синтетического аналога ГнРГ (сурфагона) положительно влияет на темпы роста и функционирование репродуктивной системы сеголеток радужной форели, выращиваемых в неблагоприятных условиях хозяйства Клонг-Кланх. Длина и масса экспериментальных особей выше, чем контрольных. Действие сурфагона на формирование гонад выражается в снижении доли стерильных рыб в стаде и, в свою очередь, в повышении числа

особей с нормальным развитием половых желёз. Доля самцов и самок в эксперименте повышается более чем в 1.5 раза по сравнению с контролем. Число же гермафродитов не изменяется. Полученные результаты свидетельствуют о корректном подборе концентрации сурфагона, так как высокие дозы введённых гормонов часто вызывают повышение количества гермафродитов и стерильных особей в стаде из-за возникающего гормонального дисбаланса (Павлов и др., 2013).

Сохранение доли гермафродитов в экспериментальной группе по сравнению с контрольной на уровне 17% не означает, что инъекция сурфагона не оказывает влияния на таких рыб. Так, в отличие от гермафродитов контрольной группы, у подопытных гермафродитов помимо овотестисов были обнаружены и тестовариумы. Возможно, что инъекция сурфагона приводит не только к модификации дифференцировки пола, но и к переопределению гонад в сторону яичников. В частности, на такой эффект указывает и рост числа самок в подопытной группе по сравнению с контрольной. В будущем в гермафродитных гонадах деструкция малочисленных клеток, относящихся к противоположному полу, может привести к формированию полноценных яичников или семенников. Сходная доля гермафродитов в подопытной и контрольной группе, а также присутствие стерильных подопытных особей указывают на то, что инъекция сурфагона могла совпасть с дифференцировкой пола у таких рыб, что и обуславливает отсутствие выраженного эффекта от инъекции препарата.

Не обнаружено достоверных различий по уровню тиреоидных и половых стероидных гормонов в крови экспериментальной и контрольной групп молоди радужной форели. Одной из вероятных причин отсутствия таковых различий является используемый метод объединения нескольких проб сыворотки в одну на основании сходных биологических характеристик особей перед проведением ИФА без учёта их половой принадлежности. В связи с малым объёмом полученной сыворотки методически нам не удалось оценивать индивидуальный уровень гормонов. Индивидуальные различия между особями «сглажены» объединением проб от нескольких рыб в одну пробу. Поэтому, по полученным данным можно судить лишь о тенденциях изменения уровня гормонов при введении сурфагона. Средние уровни T_3 и E выше в крови экспериментальных рыб. Максимальные и минимальные значения концентрации гормонов за исключением Tes, в крови экспериментальных рыб, превышают таковые у контрольных особей в среднем в 1.9 раза (1.1–2.7 раза). Эти данные указывают на повышение уровня тиреоидных гормонов и E через 40 дней после инъекции сурфагона и снижение концентрации Tes.

Стоит обратить внимание на то, что выявленный эффект от инъекции сурфагона это не прямое участие препарата в модификации дифференцировки пола и последующего формирования гонад, а явление гормонального импринтинга (запечатления) (Розен, 1994; Csaba, 2000). Сурфагон в течение примерно 5 часов распадается на аминокислоты и выводится из организма. Однако эффект от короткого воздействия гормона на ранних этапах развития, проявляется по прошествии длительного времени, в нашем случае через 40 дней после инъекции, когда дифференцировка пола уже завершена.

Таким образом, однократная инъекция сурфагона оказывает влияние на репродуктивную систему – нормализует гаметогенез в половых железах молоди. Препарат несколько повышает темпы роста сеголеток радужной форели, что может свидетельствовать о повышении их сопротивляемости неблагоприятным условиям содержания, в том числе повышенной температуре воды. Эффективность апробированной методики введения сурфагона в организм рыб и полученные положительные результаты действия препарата являются основой для его использования в экспериментах по гормональному управлению внутрипопуляционным формообразованием лососевых рыб на ранних этапах их онтогенеза.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают глубокую благодарность сотрудникам рыбоводного хозяйства Клонг-Кланх за содействие в проведении исследований; сотрудникам Российско-Вьетнамского тропического научно-исследовательского и технологического центра за всестороннюю помощь; с.н.с. ИПЭЭ РАН В.В. Костину за ценные замечания по тексту рукописи, вед. инженеру. ИПЭЭ РАН М.М. Хлюстовой за помощь в обработке материала.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 14–14–01171).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Белова Н.В. 2008. Радиационное воздействие на воспроизводительную систему костистых рыб – последствия Чернобыльской катастрофы. Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М.: МГУ, 48 с.

Емельянова Н.Г., Павлов Д.А., Павлов Е.Д., Лыонг Тхи Бик Тхуан, Во Тхи Ха. 2014. Аномалии в состоянии яичников полосатой зубатой барабули Parupeneus multifasciatus (Mullidae) из прибрежной зоны южной части центрального Вьетнама // Вопр. ихтиол. Т. 54, № 1. С 78–86.

Макеева А.П. 1992. Эмбриология рыб. М.: изд-во МГУ. 216 с.

Микодина Е.В., Пукова Н.В. 2002. Методические рекомендации по изучению фенодевиантов семенников у дальневосточных лососей. М.: Экономика и информатика, 93 с.

Мурза И.Г., Христофоров О.Л. 1991. Определение степени зрелости гонад и прогнозирование возраста достижения половой зрелости у атлантического лосося и кумжи. Л.: Изд-во ГосНИОРХ, 102 с.

Павлов Д.С., Павлов Е.Д., Ганжа Е.В., Костин В.В., Пономарева В.Ю. 2014. Цитологическое состояние гонад и уровень тиреоидных и половых стероидных гормонов у двух фенотипических форм молоди черноморской кумжи Salmo trutta labrax // Вопр. ихтиол. Т. 54. № 4. С. 470–478.

Павлов Д.С., Павлов Е.Д., Костин В.В., Ганжа Е.В. 2016. Реореакция молоди радужной форели при воздействии сурфагона // Онтогенез. Т. 47, № 2. С 110–116.

Павлов Е.Д., Ганжа Е.В., Нгуен Вьет Туи, Нгуен Ти Хуан Ту. 2013. Состояние половых желёз годовиков триплоидной радужной форели в высокогорных условиях Южного Вьетнама при воздействии андрогенного гормона // Вопр. ихтиол. Т. 53. № 6. С. 726–740.

Павлов Е.Д., Микодина Е.В., Седова М.А., Емельянова Н.Г., Маркевич Г.Н. 2010а. Состояние гонад жилой нерки Onchorhynchus nerka из Толмачёвского водохранилища // Вопр. ихтиол. Т. 50. № 3. С. 356–364.

Павлов Е.Д., Нгуен Вьет Туи, Нгуен Ти Хуан Ту. 2010б. Состояние половых желёз молоди триплоидной форели *Oncorhynchus mykiss* в условиях южного Вьетнама после искусственной инверсии пола // Вопр. ихтиол. Т. 50. № 5. С. 675–684.

Павлов Е.Д., Ганжа Е.В., Пономарева В.Ю., Костин В.В., Павлов Д.С., Во Тхи Ха 2016. Влияние метилтестостерона на физиологическое состояние и реореакцию радужной форели Parasalmo mykiss (=Oncorhynchus mykiss) при неблагоприятных условиях содержания // Вопр. ихтиол. Т. 56, № 6. С. 740–752.

Розен В.Б. 1994. Основы эндокринологии. М.: Изд-во МГУ, 384 с.

Ромейс Б. 1953. Микроскопическая техника. М.: Изд-во иностр. лит-ры, 719 с.

Чебанов М.С., Галич Е.В., Чмырь Ю.Н. 2004. Руководство по разведению и выращиванию осетровых рыб. М.: ФГНУ «Росинформагротех», 148 с.

Budd A.M., Banh Q.Q., Domingos J.A., Jerry D.R. 2015. Sex control in fish: approaches, challenges and opportunities for aquaculture \\ J. Mar. Sci. Eng. V. 3, P. 329–355.

Crim L.W., Glebe B.D. 1984. Advancement and Synchrony of Ovulation in Atlantic Salmon with Pelleted LHRH Analog // Aquaculture. V. 43 (1–3). P. 47–56.

Csaba G. 2000. Hormonal imprinting: its role during the evolution and development of hormones and receptors \\ Cell Biol. Intern. V. 24 (7). P. 407–414.

Cyr D.G., Eales J.G. 1996. Interrelationships between thyroidal and reproductive endocrine systems in fish // Rev. Fish Biol. and Fish. V. 6. P. 165–200.

Devlin R.H., Nagahama Y. 2002. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences // Aqua_ culture. V. 208. P. 191–364.

http://www.fishbase.org/Summary/speciesSummary.php?ID=239&AT=rainbow+trout

Hulbert A.J. 2000. Thyroid hormones and their effects a new perspective // Biol. Rev. V. 75. P. 519–631.

Mylonas C.C., Hinshaw J.M., Sullivan C.V. 1992. GnRHa-induced ovulation of brown trout (Salmo trutta) and its effects on egg quality // Aquacult. V. 106. P. 379–392.

Pornsoping P., Unsrisong G., Vearasilp T. et al. 2007. Reproductive performance of female rainbow trout Oncorhynchus mykiss (Walbaum) kept under water temperatures and photoperiods of 13°and 51°N latitude // Aquacult. Res. V. 38. P. 1265–1273.

Powell J.F.F., Brackett J., Battaglia J.A. 1998. Induced and synchronized spawning of captive broodstock using Ovaplant and Ovaprim // Bulletin of the Aquaculture Association of Canada. V. 3. P. 14–18.

State Of The Gonads Of Juvenile Rainbow Trout Under Surfagon Treatment

Pavlov E.D.[1], Ganzha E.V.[1], Vo Thi Ha[2], Nguen An Tien[3], Pavlov D.S.[1]

[1]*Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Leninskiy pr. 33, Moscow, 119071 Russia*

[2]*Coastal Department, Russian–Vietnamese Tropical Research and Technological Center, Nha Trang, Vietnam*

[3]*Institute of aquaculture№ 3, Nha Trang, Vietnam*

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

Received Desember 3, 2015

Juveniles of rainbow trout were hatched in climatic conditions of the highlands of South Vietnam. The state of the rainbow trout gonads was investigated and the level of thyroid and sex steroid hormones in the blood was determined under surfagon treatment. The structure of gonads has significant anomalies, which is expressed in the formation hermaphrodites and sterile fishes. In a month after single injection of the surfagon of trout juveniles, the development of gonads was stabilized – the proportion of sterile fishes reduced from 41 to 22%. The work presents the first attempt to evaluate the influence of the synthetic gonadotropin-releasing hormone injection on the formation of the gonads in the early fish ontogenesis.

Keywords: rainbow trout *Parasalmo mykiss*, Vietnam, surfagon, gonads, testosterone,estradiol, triiodothyronine, thyroxine