

УДК 597.562:597-116:597-18

## ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ РЕЗОРБЦИИ РАЗВИВАЮЩИХСЯ ООЦИТОВ У МИНТАЯ *THERAGRA CHALCOGRAMMA* (PALLAS)

*А.М. Привалихин, О.Г. Полуэктова (ВНИРО)*

Резорбция половых клеток у рыб известна достаточно давно. Это явление связывали с влиянием на нерестовую часть популяций антропогенных воздействий, таких как зарегулирование стоков рек гидросооружениями [Фалева, 1965, 1967 и др.; Чепурнова, 1975], изменение уровня воды и гидротермического режима вновь создаваемых водохранилищ [Володин, 1980], загрязнение нерестилищ [Овен, 1991; Guraya, 1994].

В последние десятилетия массовые атретические явления при формировании плодовитости отмечены для многих популяций морских и океанических рыб, находящихся в условиях естественного воспроизводства и подвергающихся сильному воздействию промысла [Федоров, 1971; Алексеев, Алексеева, 1981; Воронина, 1983; Оганесян, 1993; Foucher, Beamish, 1980; Kjesbu, Holm, 1994 и др.]. Большинство авторов сходятся во мнении, что атрезия развивающихся ооцитов является регуляторным механизмом формирования плодовитости (как индивидуальной, так и популяционной), связанным с изменчивостью воздействия факторов внешней среды [Персов, 1963, 1972; Моисеева, Кухарев, 1992]. Широкая распространенность резорбции ооцитов у рыб приводит некоторых авторов к выводу, что эти процессы при развитии яичников у половозрелых самок — явление обычное и, возможно, даже обязательное для формирования оптимальной конечной плодовитости [Иванков, 1985; Сакун, Свирский, 1992]. В большей степени они характерны для популяций рыб, интенсивно облавливаемых в период воспроизводства. Поэтому их необходимо учитывать при определении воспроизводительной способности видов, расчетах нерестового запаса, пополнения и прогнозах динамики численности промысловых видов рыб, так как они служат своеобразными биоиндикаторами состояния популяций и условий их обитания [Чмилевский, 1991].

Целью настоящей работы было выяснение механизмов и форм резорбции ооцитов периодов трофоплазматического роста и созревания у минтая на макро- и микроскопическом уровне, а также классификация различных проявлений атретических явлений при формировании плодовитости этого вида.

**Материал и методика.** Материалы для работы были собраны в 1987–2000 гг. в Беринговом, Охотском морях и у побережья Восточной Камчатки в разные периоды годового цикла. Прижизненную оценку стадий зрелости и анализ состояния размерно-морфологических групп ооцитов проводили в полевых условиях под бинокулярным микроскопом МБС-9 с увеличением 8×2. Использовали макроскопическую фотосъемку яйценосных пластинок гонад разной стадии зрелости, одновременно фиксируя пробы для последующей гистологической обработки. Под бинокуляром исследовано 2135 яичников минтая, сфотографировано 280 проб. Необходимость просмотра нефиксированных проб яичников обусловлена изменениями, происходящими при их фиксации: обесцвечиванием кровеносных сосудов и сгустков крови, мацерацией тканей, в отдельных случаях — разрывами фолликулярных оболочек гидратированных ооцитов, что

приводит к значительным искажениям в общей картине состояния гонад. Кроме того, при фиксации разрушаются красный и желтый пигменты, изменяются размеры гранул и структура желтка, происходят уменьшение размеров и деформация («усадка») ооцитов, особенно при гидратации в период созревания [Горбунова, 1952; Привалихин, 1998а]. При макроскопическом исследовании (с увеличением обзора) появляется возможность быстро и довольно точно оценить состояние развивающихся ооцитов у минтая, более четко идентифицировать функционально нормальные и патологически развивающиеся яичники, охватить исследованиями большой объем материала. В качестве основных критериев для оценки состояния гонад в работе были использованы общая морфологическая картина яйценосных пластинок, а также размер и состояние ооцитов, лидирующих в развитии. Все размеры ооцитов приведены для нефиксированных клеток, размеры клеточных ультраструктур определены по гистологическим препаратам.

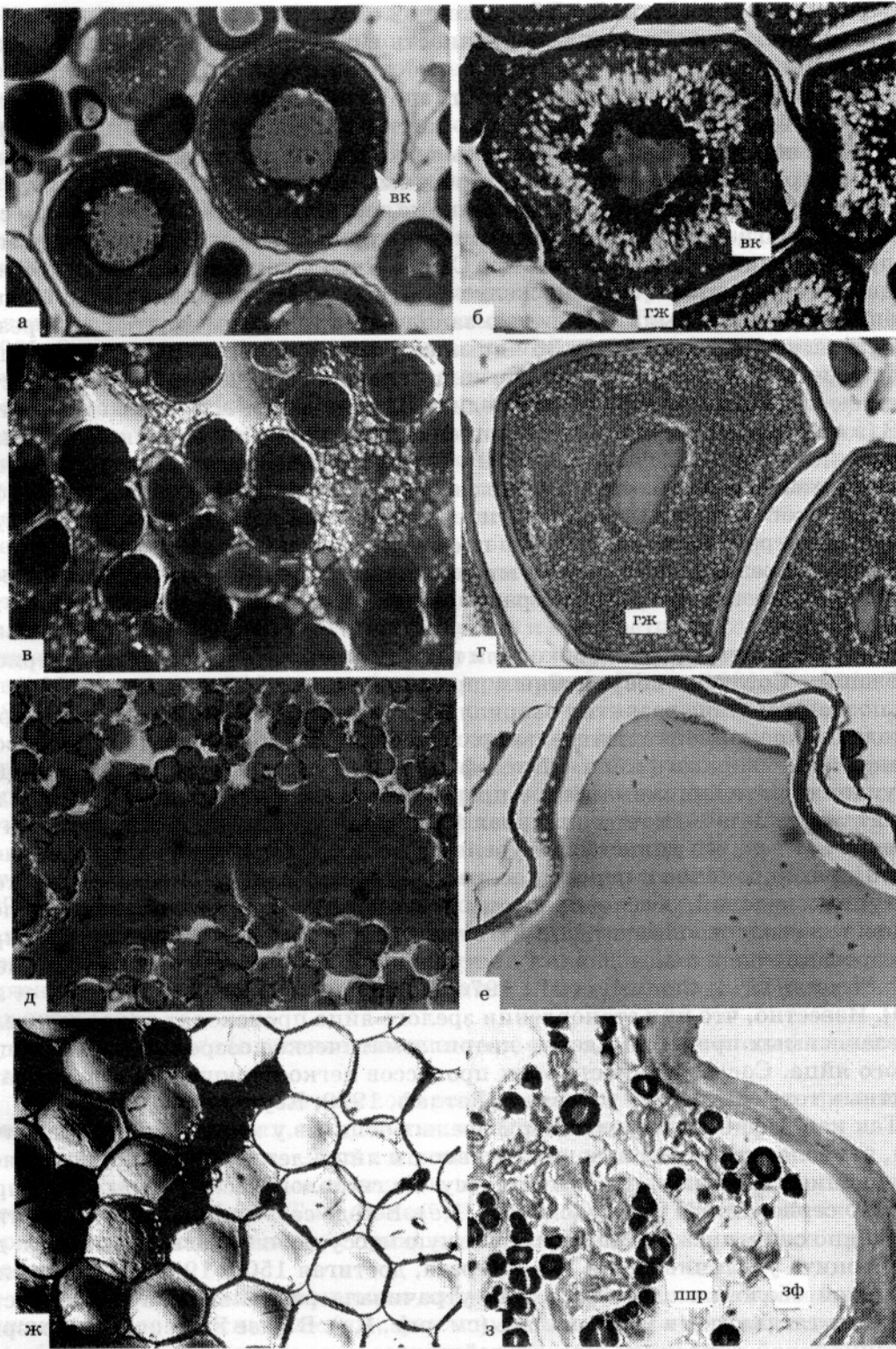
Для микроскопических исследований яичники минтая помещали целиком в 4%-ный раствор формальдегида. Кусочки яичников, вырезанные из центральной части железы, фиксировали в растворах Серра, Карнуа, смеси Буэна или в 4%-ном формалине. Гистологическую обработку собранных проб осуществляли по стандартным методикам — проводили через спирты возрастающей концентрации, пропитывали в смеси целлоидина с касторовым маслом, затем заливали в парафин [Ромейс, 1953]. Срезы толщиной 6–8 мкм окрашивали гематоксилином по Эрлиху с докраской эозином и азаном по Гейденгайну [Роскин, 1951]. Полученные препараты исследовали под микроскопом «LABOVAL-4» с увеличением 10×3,2, 10×10, 10×100 с применением иммерсии. Микрофотографии с гистологических препаратов выполняли на микроскопе с автоматической фотонасадкой «OLYMPUS CH» при увеличении 7×4, 7×10, 7×40 и 7×100 с использованием цветной фотопленки «FUJICOLOR SUPERIA-200». Всего было обработано 95 гистологических проб яичников, изготовлен 101 препарат, сделано 210 микрофотографий. Фотографии ультраструктуры нормальных и патологически развивающихся ооцитов методом сканирующей электронной микроскопии были выполнены в лаборатории электронной микроскопии МГУ.

Периодизация оогенеза приведена по Б.Н. Казанскому [1949].

**Результаты и обсуждение.** Процесс нормального развития ооцитов у минтая описан многими авторами [Горбунова, 1954; Зверькова, 1977; Yoon, 1981; Yoshida, Yoon, 1981; Иванков, 1987; Hinckley, 1987; Sakurai, 1989, 1993; Привалихин, 1998б; Лисовенко, 2000]. Все исследователи сходятся во мнении, что ежегодное отделение группы развивающихся ооцитов от резервного фонда — ооцитов протоплазматического роста (ППР) — происходит практически одновременно, что свидетельствует о синхронном характере вителлогенеза по классификации Б.Н. Казанского [1949].

С началом периода трофоплазматического роста (ТПР) ооциты еще были прозрачными, но приобретали уже желтоватый или оранжевый оттенок и были диффузно распределены в яйценосных пластинках. Под оболочкой ооцитов началась вакуолизация цитоплазмы, при этом они переходили в фазу  $D_1$  (рис. 1,а). Размер ооцитов, по нашим данным, составлял при этом 150–300 мкм. Постепенно вакуолизация охватывала всю цитоплазму в направлении от периферии к центру, одновременно с этим под оболочкой развивающегося ооцита начиналось отложение гранул желтка — фаза  $E_1$  (см. рис. 1,б). В процессе интенсивного накопления желтка, начиная с размера около 400 мкм, формирующиеся гранулы заполняли всю цитоплазму, оттесняя ее вакуолизованную часть к центру (см. рис. 1,б), вплоть до наступления фазы  $E_3$  — заполненного желтком ооцита. Ооциты становились темными, непрозрачными, с оранжевым оттенком (рис. 1,в). Вокруг ооцита наблюдалась развитая сеть кровеносных сосудов, благодаря чему вся яйценосная пластина приобретала розовато-оранжевый оттенок. Одновременно происходило формирование оболочек. Снаружи ооцит был покрыт тонким слоем соединительной ткани. В норме у превителлогенных ооцитов фолликулярная оболочка состояла из одного ряда вытянутых, ромбовидной формы, клеток толщиной 1,5–2,0 мкм. Под ней располагалась однослойная желточная оболочка, радиальная исчерченность еще не была выражена. В фазе  $D_1$  в ооците обычно появляется внутренний (реснитчатый) слой, который, трансформируясь,





**Рис. 1.** Нормально развивающиеся ооциты минтая разных стадий зрелости: *а* — ооциты в фазе вакуолизации (фаза D1), увеличение  $7\times 10$ ; *б* — ооциты в фазе интенсивного отложения желтка (фаза E1), увеличение  $7\times 10$ ; *в* — ооциты дефинитивных размеров в яйценосной пластине самки IV стадии зрелости, МБС-9, увеличение  $8\times 2$ ; *г* — заполненный желтком ооцит, увеличение  $7\times 10$ ; *д* — ядро серповидной формы в ооците периода созревания, увеличение  $7\times 40$ ; гидратированный ооцит, увеличение  $7\times 10$ ; *ж* — овулировавшие ооциты в яичнике самки IV–V стадии зрелости, видны единичные желтковые ооциты, еще не перешедшие к созреванию, МБС-9, увеличение  $8\times 2$ ; *з* — состояние яичника минтая после нереста, увеличение  $7\times 4$ . Гистологические препараты окрашены гематоксилином по Эрлиху с докраской эозином. Условные обозначения на рис. 1–4: Я — ядро; ЦП — цитоплазма; ЖО — желточная оболочка; ФО — фолликулярная оболочка; СТ — соединительнотканная оболочка; ЗФ — запустевшие фолликулы; ППР — ооциты протоплазматического роста; ТПП — ооциты трофоплазматического роста; ГЦ — гистиоциты

превращается во внутренний слой желточной оболочки (*zona radiata interna*), затем утолщается, приобретает исчерченность и становится основным [Иванков, 1987].

Нефиксированные ооциты дефинитивного размера — от 800 до 1150 мкм в диаметре — были телесного или светло-желтого цвета, оптически плотной консистенции, под оболочкой наблюдалось четко выраженное светлое пространство — слой пристенной цитоплазмы, свободный от глыбок желтка (см. рис. 1, в). Такие ооциты дефинитивного размера еще не перешли к созреванию. Об этом свидетельствовало центрально расположенное ядро, которое становилось видимым при просветлении ооцитов жидкостью Серра. Ядро у наиболее крупных достигало в диаметре 400 мкм. Толщина желточной оболочки составляла около 15 мкм. Цитоплазма ооцита была полностью заполнена гранулами желтка, на срезе в ядре отчетливо видно от 20 до 36 ядрышек разного размера, расположенных в толще карิโอплазмы (см. рис. 1, з). По нашим данным, у ооцитов ППР количество ядрышек составляло от 17 до 45 (в среднем 32–35), в фазе вакуолизации — от 15 до 38 (в среднем 30–32), в фазе накопления желтка и у заполненного желтком ооцита — от 9 до 35 (в среднем 28–30). Период ТПР длится в минтая 6–9 мес., варьируя в зависимости от количества нерестовых циклов в жизни особи, ее физиологического состояния, гидрологических условий года, особенностей нагула и масштаба атретических явлений в предыдущий нерестовый период.

Таким образом, в норме для минтая характерны низкая варибельность размеров ооцитов текущего года размножения и синхронное прохождение вителлогенеза.

В дальнейшем ооциты переходили к следующему этапу оогенеза — периоду созревания. Согласно современным представлениям [Айзенштадт, 1984], на этом последнем этапе развития овариальных фолликулов ооциты в гонадах рыб продолжают накопление питательных веществ, пока не достигают способности к становлению «зрелого яйца» [Детлаф, 1977]. После завершения роста ооцита поступление вителлогенина в него прекращается, и в развитии фолликула наступает так называемая терминальная фаза. Ооцит достигает 2/3 своего окончательного объема, его дальнейшее увеличение происходит за счет поступления воды. Переход ооцитов к периоду созревания у рыб требует определенных температурных условий, обеспечивающих этот процесс. При этом происходит подключение в гонадотропную функцию стероидных гормонов, которые индуцируют созревание ооцитов, подавляя поступление в него вителлогенина [Детлаф, 1977; Shuetz, 1974; Cambell et al., 1976; Colombo, Colombo, 1977; Stacey et al., 1979]. Известно, что при становлении зрелого яйца происходят два относительно независимых процесса: ядерно-цитоплазматическое созревание и овуляция зрелого яйца. Согласованность этих процессов легко нарушается при неблагоприятных температурных условиях [Детлаф, 1970; Reynhout et al., 1975].

Так как дефинитивные размеры зрелых ооцитов у минтая сильно различаются, наиболее четким критерием готовности яйцеклеток к созреванию является смещение ядра к анимальному полюсу. На гистологических срезах ядро приобретало серповидную форму (см. рис. 1, д). В ходе созревания гранулы желтка постепенно сливались в единую гомогенную массу, начиналась гидратация, диаметр ооцита увеличивался в 1,5–2,0 раза, достигая 1500–1950 мкм. Два слоя желточной оболочки сливались, она утрачивала радиальную исчерченность, сильно растягивалась и утоньшалась (см. рис. 1, е). В фазе F происходил разрыв фолликулярной оболочки. Под воздействием мышечных сокращений стенок яичника зрелое яйцо выдавливалось в овариальную полость, хорошо выраженную даже у впервые созревающих рыб и заполненную к началу овуляции овариальной жидкостью. Яичники минтая, содержащие до 10% овулировавших икринок, внешне выглядели как гонады IV стадии зрелости, определить начало овуляции было возможно только после вскрытия самой гонады. По мере прохождения процесса овуляции периферийный слой желтковых ооцитов становился все тоньше, сквозь него были видны отдельные гидратированные ооциты. Внешне гонады уже выглядели как IV–V стадии зрелости. Количество овулировавших икринок составляло 50% и более от числа ооцитов текущего года размножения. На завершающем этапе созревания желтковые ооциты в краниаль-



ной части гонады практически отсутствовали. Яичники были заполнены овулировавшими икринками, доля которых составляла не менее 90% (см. рис. 1,ж). При вскрытии гонады икринки свободно вытекали. Овулировавшие яйца были прозрачными, размером от 1,139 до 1,750 мм у впервые созревающих самок (длиной 30 см) и 1,625–2,000 мм — у более старших рыб. Максимальный средний диаметр зрелого ооцита — 1,870 мм — был отмечен у рыб длиной 58 см, т.е. средних размеров. У более крупных особей этот показатель несколько снижался — до 1,810 мм. Вариабельность размера овулировавшего яйца была наименьшей у самок старшего возраста, а наибольшей — у особей средних размерных групп.

По мнению большинства авторов, икрометание осуществляется 4–9-ю порциями в течение нескольких недель [Балыкин, 1988; Лисовенко, 2000; Sakurai, 1993]. Однако значительное количество резорбирующейся остаточной икры в яичниках после нереста (до 50% от индивидуальной абсолютной плодовитости), уход самок из мест нереста сразу после вымета, быстрый прогрев вод на нерестилищах вызывают сомнения в реальности вымета всех порций. При исследовании лишь гистологических препаратов наличие запустевших фолликулов не всегда может быть доказательством прошедшего вымета. Овулировавшая икра, которая иногда еще находится в гонаде, не всегда попадает в пробу и не фиксируется на гистологических препаратах, не говоря уже о потерях икры самками при поимке в трале. Это может привести к неточностям в оценке количества выметанных порций икры. У полностью отнерестившихся особей яичник содержал только ооциты превителлогенного роста и множественные опустевшие фолликулы (см. рис. 1,з). Некоторые авторы отмечали в таких гонадах отдельные невыметанные ооциты, подвергающиеся резорбции [Yoon, 1981; Yoshida, Yoon, 1981].

Таким образом, при нормальном созревании яичников для минтая характерны синхронное прохождение вителлогенеза и асинхронный, постепенный переход ооцитов дефинитивного размера в период созревания с последующим накоплением в овариальной полости зрелых, подготовленных к вымету яиц.

Ранее была определена высокая степень атрезии при созревании ооцитов в яичниках минтая Берингова моря [Воронина, Привалихин, 1988; Voronina et al., 1990]. Количественные оценки этих процессов у минтая различных популяций подробно рассматриваются в статье А.М. Привалихина в настоящем сборнике. При детальном изучении этого явления гистологическими методами удалось выяснить, что резорбция ооцитов у минтая может происходить на разных этапах оогенеза:

в период малого (протоплазматического) роста — у превителлогенных ооцитов;

в период трофоплазматического роста — в фазе вакуолизации, фазе накопления желтка и у зрелых, заполненных желтком ооцитов;

в период созревания — при слиянии желтка и гидратации.

Наиболее характерные признаки и стадии процесса резорбции ооцитов у рыб изложены в работах Т.И. Фалеевой [1965, 1967, 1975]. У минтая в разные периоды развития яйцеклеток прохождение атретических процессов имело свои особенности.

У превителлогенных ооцитов с началом резорбции сильно развивались окружающие кровеносные сосуды, фолликулярная оболочка разрасталась, иногда образуя вокруг ооцита многослойную капсулу, часто наблюдалось расслоение оболочек. Ооциты превителлогенеза часто были вовлечены в масштабные процессы резорбции в посленерестовый период, когда в гонадах отнерестившихся самок в больших количествах встречались остаточные атретические ооциты на разных этапах оогенеза.

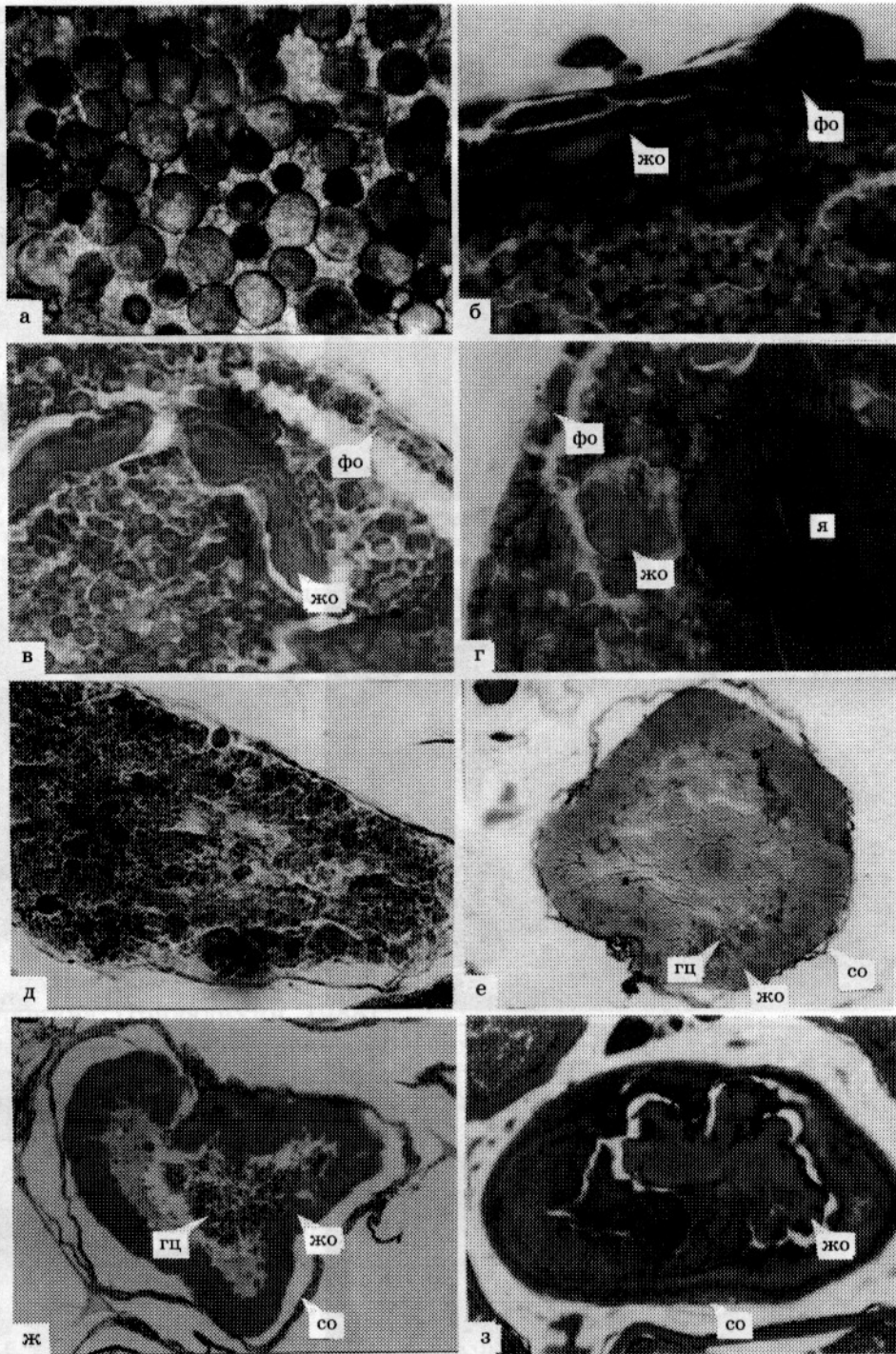
Атрезия ооцитов фазы вакуолизации, начала отложения и накопления желтка на начальных стадиях проявлялась в виде сильного развития кровеносных сосудов вокруг фолликула — гиперемии, придающей яичникам выраженный красноватый оттенок. Дальнейшие процессы резорбции ооцитов ТПР проходили двумя возможными путями. Резорбирующиеся ооциты более ранних фаз — вакуолизации, начала и интенсивного отложения желтка, в нефиксиро-

ванном виде отличались от нормальных по цвету, были слабо заполнены желтком, часто имели неправильную форму, либо были прозрачными, оводненными, т.е. наблюдалась гидратация желтка без увеличения размеров ооцитов. Под оболочкой дегенерирующих ооцитов были заметны светлые зоны, придающие клеткам «пятнистость» и связанные с частичным разрушением оболочки и оводнением желтка (рис. 2,а). Размеры таких клеток варьировали в зависимости от стадии зрелости яичников в пределах от 350 до 900 мкм, что соответствовало диаметрам нормальных вителлогенных ооцитов. На гистологических препаратах клетки, образующие фолликулярную оболочку, утолщались, от 4,4 до 6,0 мкм, в среднем до 5 мкм, что было связано с их возросшей функциональной активностью. Фолликулярные клетки располагались в один слой. Между фолликулярной и желточной оболочками образовывался прозрачный слой, окрашивающийся эозином. Такое же расслоение оболочек отмечено при дегенерации ооцитов дефинитивного размера у ерша [Фалеева, 1975]. В ооцитах минтая в первую очередь начинала разрушаться желточная оболочка, в ней исчезала исчерченность, появлялись просветы (см. рис. 2,б). Постепенно желточная оболочка распадалась на отдельные фрагменты длиной 40–170 мкм, которые погружались вглубь цитоплазмы (см. рис. 2,в, г). На этом этапе фолликулярные клетки приобретали цилиндрическую форму, достигая высоты 5,6–8,0 мкм, в среднем 6,7 мкм. Они были сильно вакуолизированы, в цитоплазме наблюдались многочисленные включения, у клеток появлялись отростки, проникающие в цитоплазму ооцита (см. рис. 2,в, г). Ядро и гранулы желтка резорбировались позже, когда остатки желточной оболочки уже погружались внутрь цитоплазмы (см. рис. 2,г). Атрезия желтка протекала в направлении от периферии к центру. На завершающих стадиях резорбции на месте таких клеток сохранялись атретические тельца неправильной формы, состоящие из соединительнотканной оболочки со слабоструктурированным содержимым внутри (см. рис. 2,д). По-видимому, дегенеративные процессы в незрелых ооцитах, проходящие с участием лишь клеток фолликулярного эпителия, протекают достаточно быстро и существенно не влияют на формирование новой генерации ооцитов.

Таким образом, первый тип атрезии у минтая был характерен для ооцитов раннего вителлогенеза. В процессах резорбции участвовали лишь клетки фолликулярного эпителия. По своему характеру его можно условно назвать фолликулярным. Такой тип резорбции для разных видов подробно описан в работах Т.И. Фалеевой [1965, 1967], В.М. Володина с соавторами [1974], В.А. Беляева и других [2001]. В первую очередь проходила резорбция желточной оболочки ооцита, позже — ядра, в последнюю очередь — желтка. Такой же тип резорбции характерен и для превителлогенных ооцитов [Сакун, Свирский, 1992].

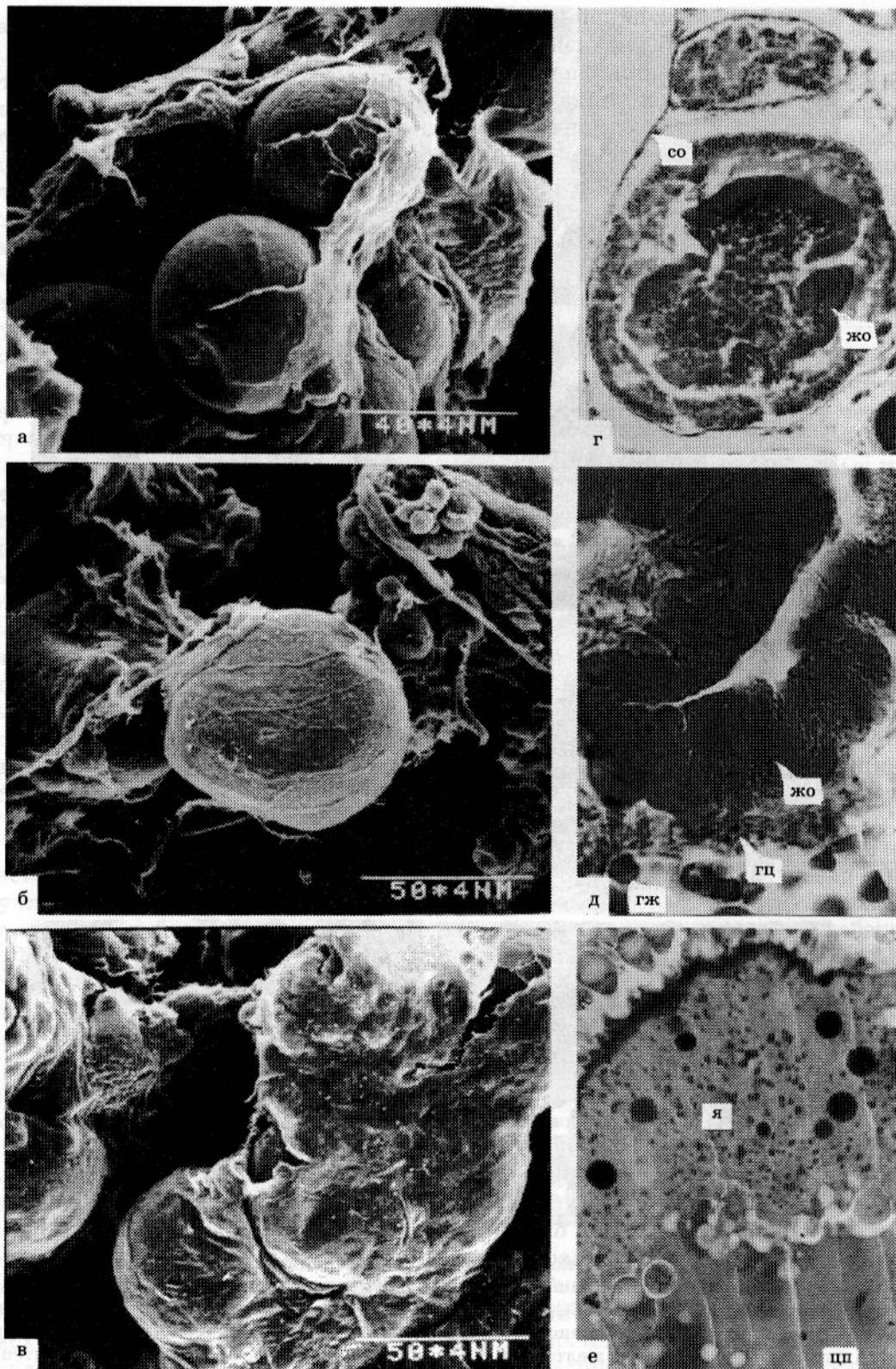
Другой тип развития атретических процессов был характерен для более зрелых вителлогенных ооцитов, заполненных желтком, с уже полностью сформированной плотной оболочкой, а также ооцитов периода созревания. При микроскопическом анализе яйценосных пластин в таких яичниках также отмечалась сильная сосудистая гиперемия, ооциты деформировались, оболочка становилась как бы «изъеденной». На гистологических препаратах клетки фолликулярной оболочки увеличивались в размерах, но в меньшей степени, чем при резорбции первого типа. Их толщина на стадии разрушения ядра колебалась в пределах от 4,8 до 6,4 мкм (в среднем 5,2 мкм). В отдельных случаях, при массовой атрезии группы желтковых ооцитов, помимо утолщения фолликулов, происходило спонтанное развитие стромы яйценосных пластин и образование капсул, в которых были заключены несколько расположенных рядом ооцитов (рис. 3,а — г). Желточная оболочка сильно утолщалась, становилась рыхлой. Она приобретала извилистые очертания, сквозь нее внутрь цитоплазмы проникали многочисленные клетки-макрофаги (см. рис. 3,д). Последние, скорее всего, являются гистиоцитами соединительнотканного либо гематогенного происхождения, осуществляющими фагоцитарные функции [Заварзин, 1939; Сакун, 1959]. Разрушение ими желточных гранул проходило в направлении от периферии к центру, но неравномерно в разных частях цитоплазмы. На начальных стадиях резорбции ядра количество ядрышек уменьшалось до 1-го — 5-ти, в кариоплазме отмечались многочисленные мелкие включения, благодаря чему она





**Рис. 2.** Резорбция желтковых и дефинитивных ооцитов в яичнике минтая:

*a* — дегенерирующие ооциты в фазе интенсивного отложения желтка, с «пятнистой», разрушающейся оболочкой, МБС-9, увеличение  $8 \times 2$ ; *б* — разрушение желточной оболочки ооцита, находящегося в фазе интенсивного отложения желтка, увеличение  $7 \times 40$ ; *в* — погружение в цитоплазму фрагментов желточной оболочки резорбирующегося ооцита в фазе интенсивного отложения желтка, увеличение  $7 \times 40$ ; *г* — разрушение ядра в резорбирующемся ооците в фазе интенсивного отложения желтка, видны фрагменты желточной оболочки, фолликулярные клетки цилиндрической формы заполнены поглощенными из ооцита включениями, увеличение  $7 \times 40$ ; *д* — атретическое тельце, образовавшееся в результате резорбции ооцита в фазе интенсивного отложения желтка, увеличение  $7 \times 40$ ; *е* — гомогенизация цитоплазмы на последних этапах резорбции дефинитивного ооцита, увеличение  $7 \times 10$ ; *ж* — завершение резорбции дефинитивного ооцита, содержимое ооцита интенсивно поглощается гистиоцитами, разбухшая, деформированная желточная оболочка заключена в слоистую соединительнотканую капсулу, увеличение  $7 \times 10$ ; *з* — соединительнотканая капсула с остатками желточной оболочки в яичнике IV стадии зрелости, увеличение  $7 \times 10$ . Гистологические препараты окрашены гематоксилином по Эрлиху с докраской эозином



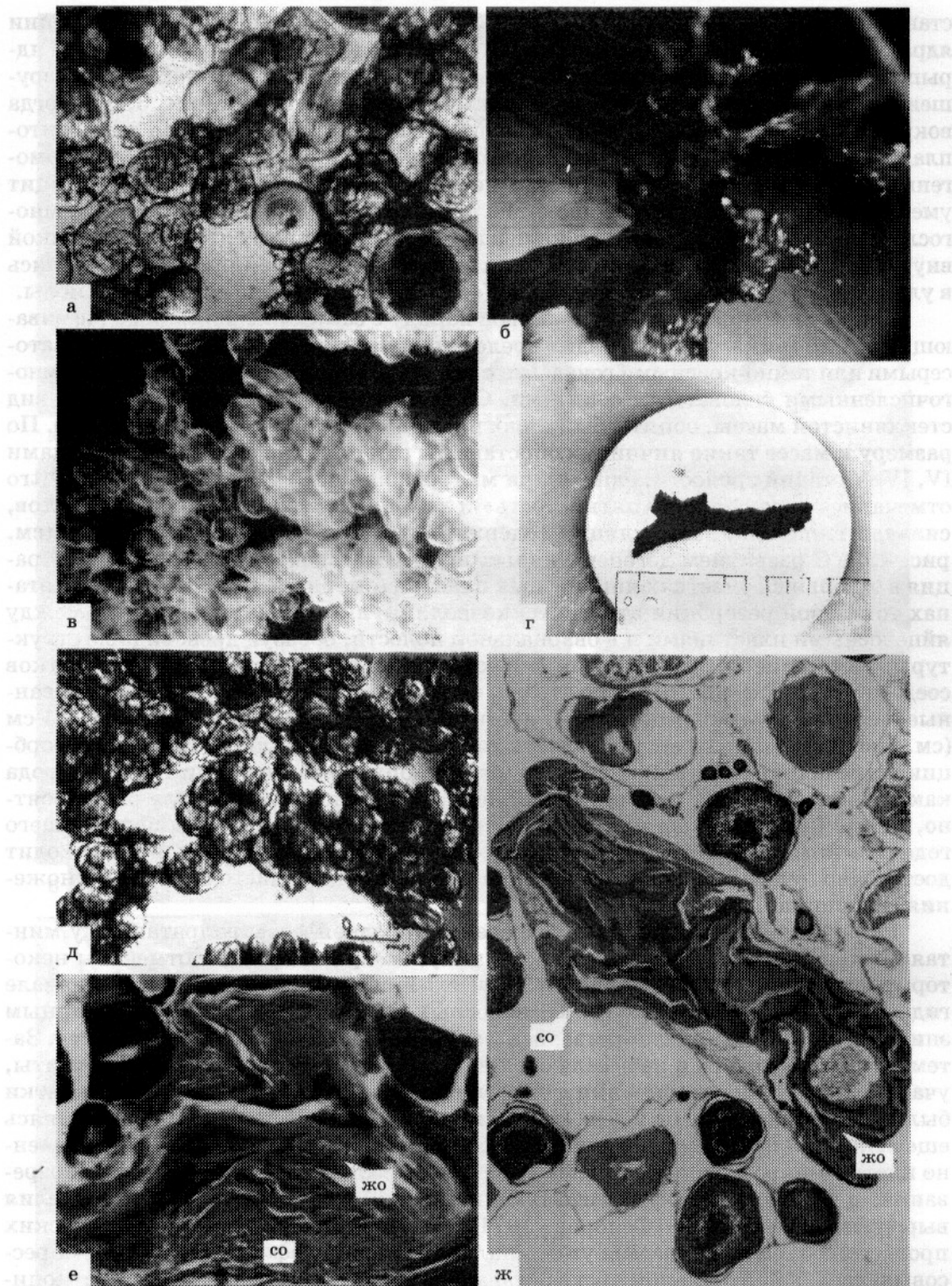
**Рис. 3.** Резорбция заполненных желтком ооцитов: *а* — нормально развивающийся ооцит дефинитивного состояния, в 1 см — 165 мкм; *б* — резорбирующийся дефинитивный ооцит, виден сильно утолщенный фолликулярный эпителий, в 3 см — 500 мкм; *в* — ненормальное развитие яйценосной пластины; группа дегенерирующих ооцитов заключена в капсулу, состоящую из разросшейся стромы яйценосной пластины, в 3 см — 500 мкм; *г* — резорбирующиеся дефинитивные ооциты заключены в соединительнотканную капсулу; увеличение 7×10; *д* — дегенерация желточной оболочки дефинитивного ооцита, видны проникшие под оболочку гистиоциты и разрушающиеся гранулы желтка; увеличение 7×40; *е* — разрушение ядра в процессе резорбции дефинитивного ооцита, изливание содержимого ядра в цитоплазму; увеличение 7×40. Гистологические препараты окрашены гематоксилином по Эрлиху с докраской эозином



становилась гранулированной (см. рис. 3,е). Сходные изменения при резорбции ядра ооцитов чехони были отмечены Т.И. Фалеевой [1965]. В дальнейшем ядрышки исчезали, ядро становилось бесформенным, видимо, происходили разрушение кариолеммы и излияние содержимого в цитоплазму (см. рис. 3,е). Иногда вокруг ядра наблюдали слияние желточных гранул, окружающая ядро цитоплазма приобретала лучистую форму. Постепенно цитоплазма становилась гомогенной (см. рис. 2,е), причем иногда неравномерно в разных участках, ооцит уменьшался в объеме. На завершающих этапах атрезии оставалась плотная многослойная соединительнотканая капсула с сильно смятой желточной оболочкой внутри (см. рис. 2,ж, з). Самки с такими образованиями в яичниках встречались в уловах и в нерестовый и в нагульный (спустя 4–5 мес после нереста) периоды.

При проведении массовых промеров наряду с самками с нормально развивающимися яичниками IV–V стадии зрелости часто отмечали особей с желтовато-серыми или темно-красными гонадами, с частично гидратированной икрой, с многочисленными беловатыми ооцитами. Содержимое таких яичников имело вид стеклянистой массы, ооциты были плотно сцеплены друг с другом (рис. 4,а). По размеру и массе такие яичники сопоставимы с нормально развитыми гонадами IV, IV–V стадий зрелости, однако при макроскопическом исследовании *in vitro* отмечались характерная «пятнистость» и деформация вителлогенных ооцитов, сильная гиперемия, коагуляция содержимого гидратированных ооцитов (см. рис. 4,а). С развитием дегенеративных процессов происходила их концентрация в отдельных участках яйценосных пластин (см. рис. 4,в, д). На поздних этапах тотальной резорбции атретические фолликулы концентрировались между яйценосными пластинами и в овариальной полости, образуя древовидные структуры, состоящие из сморщенных, спрессованных в комки оболочек и остатков соединительной ткани (см. рис. 4,б, в, д). Такие образования, условно названные нами «веточками резорбции», достигали у крупных самок размера 6–11 см (см. рис. 4,з), располагаясь в полости гонады по всей ее длине. Веточки резорбции встречались в яичниках самок наряду с ооцитами генерации текущего года как в нерестовый, так и в нагульный период, являясь в первом случае, вероятно, остаточными явлениями тотальной резорбции ооцитов предшествующего года размножения. Дегенерация оболочек зрелых ооцитов у минтая происходит достаточно медленно, и они могут сохраняться до следующего сезона размножения [Воронина, Привалихин, 1988].

Резорбция ооцитов периода созревания (поздней фазы гидратации) у минтая проходила по второму описанному типу, но при этом были отмечены некоторые специфические особенности. При слиянии желтковых гранул и начале гидратации, помимо развития кровеносных сосудов, между фолликулярным эпителием и оболочкой скапливалась сильно вакуолизованная жидкость. Затем деформировалась и набухла оболочка. Сквозь нее проникали гистиоциты, участвующие в переваривании гомогенизирующегося желтка. Такие клетки были хорошо различимы у всех резорбирующихся зрелых ооцитов, сохраняясь еще некоторое время после полного рассасывания цитоплазмы. Вероятно, именно клетки-макрофаги играют главную роль в резорбции ооцитов периода созревания, в то время как фагоцитирующие функции фолликулярного эпителия выражены очень слабо [Федоров, 1971]. По мере прохождения атретических процессов объем цитоплазмы уменьшался, оболочка деформировалась и спрессовывалась, в центральной части оставалось лишь скопление клеток-гистиоцитов. На поздних стадиях атретический ооцит представлял собой капсулу из многослойной соединительнотканой теки, с компактно свернутой резорбирующейся оболочкой внутри (см. рис. 4,е). Толщина этой оболочки сильно различалась даже у соседних клеток в зависимости от первоначального состояния дегенерирующего ооцита. Резорбирующиеся оболочки желтковых ооцитов были толще — от 33 до 92 мкм (в среднем 58 мкм), тогда как у нормальных ооцитов дефинитивного размера она составляла 17–20 мкм. Оболочки ооцитов на стадии гидратации были значительно тоньше и извилистее — 9–17 мкм (в среднем 12 мкм), при норме около 5 мкм. Массовые скопления таких атретических клеток на поздних этапах созревания постепенно образовывали характерные веточки резорбции разного размера (см. рис. 4,ж).



**Рис. 4.** Образование «веточек резорбции» в результате массовой дегенерации гидратированных ооцитов: *а* — массовая дегенерация созревающих ооцитов в яичнике самки IV–V стадии зрелости, наблюдается коагуляция цитоплазмы овулировавших икринок, МБС-9, увеличение  $8\times 2$ ; *б* — сформированная «веточка резорбции», МБС-9, увеличение  $8\times 1$ ; *в* — массовая дегенерация ооцитов в яичнике самки IV–V стадии зрелости, МБС-9, увеличение  $8\times 2$ ; фото в отраженном свете; *г* — «веточка резорбции» 8 см длиной; *д* — массовая дегенерация ооцитов в яичнике самки IV–V стадии зрелости, МБС-9, увеличение  $8\times 2$ ; фото в проходящем свете; *е* — многослойная соединительнотканная капсула с остатками желточной оболочки, образованная в результате резорбции гидратированного ооцита, увеличение  $7\times 10$ ; *ж* — «веточка резорбции», образованная резорбирующимися желточными оболочками, заключенными в общую соединительнотканную капсулу, увеличение  $7\times 4$ . Гистологические препараты окрашены гематоксилином по Эрлиху с докраской эозином



Резорбция овулировавшей икры встречалась как у преднерестовых самок (IV–V стадии зрелости), так и в яичниках после вымета икры (VI, VI–II стадий). В первом случае, как и при нормальном созревании, икринки концентрировались в центре гонады, в овариальной полости, однако при ее вскрытии зрелая икра не вытекала свободно, а отделялась комками, в виде студенистой массы. У таких икринок отмечалась коагуляция цитоплазмы, оболочка была дряблой, тургор нарушен. Их количество варьировало от 15 до 50% от средней индивидуальной плодовитости особей того же размера и возраста.

Таким образом, второй тип резорбции отмечен у более зрелых ооцитов — дефинитивного размера и периода созревания. Более плотная, окончательно сформированная оболочка защищает выметанную икринку от внешних механических воздействий. Такая структура оболочки и определяет иной характер атретического процесса. В этом случае резорбция осуществлялась с помощью фолликулярных клеток и клеток-гистиоцитов, видимо, происходящих из соединительной ткани или лейкоцитарных элементов крови. Такой тип можно определить как комбинированный, фолликулярно-гистиоцитный. Аналогичные клетки-макрофаги отмечены при резорбции ооцитов сырты [Сакун, 1959], черного палтуса [Федоров, 1971], кеты [Микодина и др., 2001]. При массовом характере дегенеративных процессов в яичниках соединительнотканые капсулы с остатками резорбирующихся ооцитов образовывали древовидные структуры — веточки резорбции, состоящие из плотно спрессованных желточных оболочек и остатков соединительной ткани. В этом случае самка, скорее всего, пропускает нерест. В случае вымета хотя бы одной порции икры возможно, что формирование таких структур в овариальной полости начинается вокруг лопнувших или дегенерирующих оболочек невыметанных овулировавших икринок. Такие последствия тотальной резорбции могут сохраняться в полости яичника до следующего нерестового периода.

**З а к л ю ч е н и е .** Характер резорбции яйцеклеток у рыб, как и тип оогенеза, является видоспецифичным [Фалеева, 1979]. Анализ форм и проявлений резорбции ооцитов у минтая на макро- и микроскопическом уровнях позволил выявить специфические особенности этого процесса, не описанные ранее в литературе для других видов рыб.

При просмотре нефиксированных яичников под биноклем выделены следующие признаки атрезии: сильно развитые кровеносные сосуды (гиперемия), характерная «пятнистость» оболочки, мраморная окраска, деформация и гидратация недоросших вителлогенных ооцитов. Дегенерирующие ооциты периода созревания были дряблыми (нарушался тургор), либо деформированными, неправильной формы, с аномальным утолщением оболочек, в них наблюдалась коагуляция цитоплазмы. На поздних этапах резорбции ооциты представляли собой бесформенные комки ярко-оранжевого или коричневого цвета, заметно отличающиеся от нормально развивающихся клеток. Тотальная резорбция ооцитов определялась визуально по внешнему виду и окраске яичников, гиперемии, повышенной адгезивности ооцитов в яйценосных пластинах, на завершающих этапах — по наличию «веточек резорбции». Все перечисленные признаки возможно выявлять и фиксировать в полевых условиях, что позволяет количественно оценить масштабы атретических явлений в разных популяциях минтая.

Гистологическими методами у минтая выделено два основных типа прохождения процессов резорбции ооцитов в зависимости от стадии их развития.

Первый тип атрезии является «щадящим», он чаще встречается у высокоплодовитых особей и лишь корректирует потенциальную плодовитость, не затрагивая в значительной степени общие метаболические процессы в организме. Это подтверждается достаточно быстрым прохождением резорбции, не влияющей на формирование плодовитости следующего года. В таких яичниках при микроскопическом исследовании фиксировали лишь атретические тельца в виде многочисленных мелких включений ярко-оранжевого или коричневатого оттенка.

Второй тип атрезии в силу своей явной энергетической неэкономичности, видимо, связан с нарушениями нормальных условий нереста (гидрологическим режимом на нерестилищах, ледовой обстановкой, меандрированием течений),

ухудшением условий нагула самок, влиянием антропогенных факторов. В этом случае регуляция происходит уже на уровне популяционной плодовитости, снижающейся за счет пропускающих нерест самок.

Таким образом, явления атрезии в яичниках минтая характерны для всех периодов оогенеза, оказывая влияние на плодовитость и, возможно, на порционность вымета. Дегенерация части или всех ооцитов текущего года размножения является адаптивной функцией регуляции плодовитости как на физиологическом, так и на популяционном уровне и должна рассматриваться скорее как необходимая норма, чем нарушение процессов оогенеза. Наличие массовых атретических явлений при созревании самок может служить своеобразным биоиндикатором состояния популяций, находящихся не только под влиянием факторов внешней среды, но и под сильным воздействием промысла.

## ЛИТЕРАТУРА

- Айзенштадт Т.Б.* 1984. Цитология оогенеза. М.: Наука. 247 с.
- Алексеев Ф.Е., Алексеева Е.И.* 1981. Некоторые аспекты репродуктивной биологии океанических и неритических тунцов (Scombridae) тропической Атлантики // Вопросы ихтиологии. Т.21. Вып.5. С.853–866.
- Балыкин П.А.* 1988. О количестве порций икры, выметываемых минтаем *Theragra chalcogramma* // Вопросы ихтиологии. Т.28. Вып.2. С.331–332.
- Беляев В.А., Федоров К.Е., Сакун О.Ф.* 2001. Особенности функции половых желез японского анчоуса *Engraulis japonicus* (Engraulidae) и дальневосточной сардины *Sardinops melanostictus* (Clupeidae) в связи с проблемой флуктуации их численности // Вопросы ихтиологии. Т.41. №1. С.47–55.
- Володин В.М.* 1980. Влияние температуры на процессы резорбции близкой к зрелости икры и развитие очередной генерации ооцитов у синца — *Abramis ballerus* L. Рыбинского водохранилища // Вопросы ихтиологии. Т.20. Вып.1 (120). С.73–78.
- Володин В.М., Межнин Ф.И., Кузьмина В.В.* 1974. Экспериментальное изучение резорбции икры леца *Abramis brama* (L.) // Вопросы ихтиологии. Т.14. Вып.2 (85). С.249–263.
- Воронина Э.А.* 1983. Форма проявления тотальной резорбции ооцитов у преднерестового лобана *Mugil cephalus* L. // Физиологические основы воспроизводства морских и проходных рыб. Сборник научных трудов ВНИРО. М. С.7–13.
- Воронина Э.А., Привалихин А.М.* 1988. Особенности созревания и формирования плодовитости минтая *Theragra chalcogramma* (Pallas) Берингова моря // IV Всесоюзная конференция по раннему онтогенезу рыб. Тезисы докладов. М. ВНИРО. Ч.1. С.45–47.
- Горбунова Н.Н.* 1952. Влияние фиксации на величину икринок минтая *Theragra chalcogramma* (Pallas) // Доклады АН СССР. Т.82. №1. С.163–164. 1954. Размножение и развитие минтая // Труды Института океанологии АН СССР. Т.11. С.132–195.
- Детлаф Т.А.* 1970. Влияние температуры среды в период созревания ооцитов и овуляции на рыбобудное качество икры осетровых рыб (к вопросу о температурном выдерживании производителей в период получения икры) // Труды ЦНИОРХ. Т.2. С.112–126. 1977. Становление организации зрелого яйца у амфибий и рыб на заключительных стадиях оогенеза в период созревания // Современные проблемы оогенеза. М.: Наука. С.99–144.
- Заварзин А.А.* 1939. Курс гистологии и микроскопической анатомии. Учебник для медвузов. Наркомздрав СССР. Гос. изд-во медицинской литературы. Ленинградское отделение. Л. 528 с.
- Зверьева Л.М.* 1977. Созревание, плодовитость и районы размножения минтая *Theragra chalcogramma* (Pallas) северо-восточной части Японского моря // Вопросы ихтиологии. Т.17. Вып.3 (104). С.462–468.
- Иванков В.Н.* 1985. Плодовитость рыб. Методы определения, изменчивость, закономерности формирования. (Учебное пособие). Владивосток. Изд-во ДВГУ. 87 с.
- Иванков В.Н.* 1987. Строение яйцеклеток и систематика рыб. Владивосток. Изд-во ДВГУ. 159 с.
- Казанский Б.Н.* 1949. Особенности функции яичника и гипофиза у рыб с порционным икрометанием // Труды лаборатории основ рыбоводства. Т.2. С.64–120.
- Лисовенко Л.А.* 2000. Размножение рыб с прерывистым оогенезом и порционным нерестом на примере минтая Западной Камчатки. М.: Изд-во ВНИРО. 111 с.
- Микодина Е.В., Пукова Н.В., Кловач Н.В.* 2001. Некоторые особенности оогенеза кеты *Oncorhynchus keta* в период морского нагула в норме и у рыб с дегенерацией мышц // Сборник научных трудов ВНИРО. Промыслово-биологические исследования рыб в тихоокеанских водах Курильских островов и прилегающих районах Охотского и Берингова морей в 1992–1998 гг. М.: Изд-во ВНИРО. С.231–241.
- Моисеева Е.Б., Кухарев Н.Н.* 1992. Адаптивное значение резорбции женских половых клеток у индийского псенопса *Psenopsis sualea* (Alcock.) // Тезисы докладов 8-й научной конференции по экологии, физиологии и биохимии рыб. 30 сентября – 3 октября 1992 г. Карельский научный центр РАН, Институт биологии. Петрозаводск. С.13–14.
- Оганесян С.А.* 1993. О периодичности размножения баренцевоморской трески. Материалы отчетной сессии по итогам НИР ПИНРО 1992 г. Мурманск: ПИНРО. С.76–89.



Овен Л.С. 1991. Нарушения оогенеза у некоторых черноморских рыб, размножающихся в бухтах // Тезисы докладов V Всесоюзной конференции по раннему онтогенезу рыб. Астрахань, 1-3 октября. 1991 г. М.: ВНИРО. С.153-154.

Персов Г.М. 1963. «Потенциальная» и «конечная» плодовитость рыб на примере горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum), акклиматизированной в бассейнах Белого и Баренцева морей // Вопросы ихтиологии. Т.3. Вып.3 (28). С. 490-496. 1972. Надежность функционирования воспроизводительной системы рыб. Вопросы ихтиологии. Т.12. Вып.2 (73). С.258-272.

Привалихин А.М. 1998а. Некоторые методические подходы к определению индивидуальной плодовитости минтая *Theragra chalcogramma* // Вопросы ихтиологии. Т.38. Вып.3. С.347-352.

Привалихин А.М. 1998б. Воспроизводительная способность минтая. Автореф. дисс. на соиск. уч. ст. канд.биол.наук. М.: ВНИРО. 25 с.

Ромейс Б. 1953. Микроскопическая техника. М.: Иностранная литература. 718 с.

Роскин Г.И. 1951. Микроскопическая техника. М.: Советская наука. 447 с.

Сакун О.Ф. 1959. Половые клетки и функция половых желез у сырты (*Vimba vimba* L.) в норме и при нарушении условий размножения. Автореф. дисс. на соиск. уч. степ. канд.биол. наук. Л.: ЛГУ. 20 с.

Сакун О.Ф., Свирский В.Г. 1992. Дегенерация ооцитов периода превителлогенеза и вителлогенеза в половом цикле дальневосточной сардины *Sardinops sagax melanosticta* // Вопросы ихтиологии. Т.32. №3. С.52-58.

Фалеева Т.И. 1965. Анализ атрезии ооцитов у рыб в связи с адаптивным значением этого явления // Вопросы ихтиологии. Т.5. Вып.3 (36). С.455-470. 1967. Биологическое значение и функциональный механизм атрезии овариальных фолликулов у рыб // Обмен веществ и биохимия рыб. М.: Наука. С.59-65. 1975. Особенности процесса атрезии овариального фолликула у ерша *Acerina sernpa* (L.) при разных температурах // Экологическая пластичность половых циклов и размножения рыб. Л.: Изд-во ЛГУ. С.123-139.

Федоров К.Е. 1971. Состояние половых желез черного палтуса *Reinhardtius hipoglossoides* (Walbaum) Баренцева моря в связи с пропуском нерестового сезона // Вопросы ихтиологии. Т.11. Вып.5 (70). С.785-793.

Чепурнова Л.В. 1975. Размножение днестровских рыб (осетровых, сельдевых, окуневых). Кишиневский ГУ им. Ленина. Кишинев: Штиинца. 52 с.

Чмилевский Д.А. 1991. Оогенез рыб как чувствительная тест-система при воздействии факторов различной природы // V Всесоюзная конференция по раннему онтогенезу рыб. Астрахань, 1-3 октября 1991 г. Тезисы докладов. С.218-219.

Campbell C.M., Walsh J.M., Idler D.R. 1976. Steroids in the plasma of the winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus* Walbaum). A seasonal study and investigation of steroid involvement in oocyte maturation // Gen. and Comp. Endocrinol. V.29. N.1. P.14-20.

Colombo Lorenzo, Colombo Belvedere Paola. 1977. Gonadal steroidogenesis in teleost fishes // Invest. Pesq. V.41. N.1. P.147-164.

Foucher R.P., Beamish R.J. 1980. Production of nonviable oocytes by Pacific hake (*Merluccius productus*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. V.37. P.41-48.

Guraya Sardul S. 1994. Gonadal development and production of gametes in fish // Proc. Indian Nat. Sci. Acad. B. 60. N.1. P.15-32.

Hinckley S. 1987. The reproductive biology of walleye pollock, *Theragra chalcogramma*, in the Bering Sea with reference to spawning stock structure // Fish. Bull. V.85. N.3. P.481-498.

Kjesbu O.S., Holm J.C. 1994. Oocyte recruitment in first-time spawning Atlantic cod (*Gadus morhua*) in relation to feeding regime // Can. J. Fish. And Aquat. Sci. V.51. N.8. P.1893-1898.

Reynhout J.K., Smith L.D., Taddri C., La-Marca M. 1975. Response of large oocytes on *Xenopus laevis* to progesterone *in vitro* in ovulation // Develop. Biol. V.44. P.375-379.

Sakurai Y. 1989. Reproductive characteristics of walleye pollock with special reference to ovarian development, fecundity and spawning behavior // Proc. Int. Symp. Biol. Mgnt. Walleye Pollock. Alaska Sea Grant Rep. V.89. P.97-115.

Sakurai Y. 1993. Reproductive characteristics and spawning strategies of walleye pollock, *Theragra chalcogramma* // Sci. Rep. of Hokk. Fish. Exp. Stat. N.42. P.51-68.

Schuetz A.W. 1974. Role of hormones in oocyte maturation // Biol. Reprod. 10. P.150-178.

Stacey N.E., Cook A.F. and Peter R.E. 1979. Spontaneous and gonadotropin-induced ovulation in the goldfish, *Carassius auratus* L.: Effects of external factors // J.Fish. Biol. V.15, 3. P.349-361.

Voronina E.A., Privalikhin A.M., Suchkova M.G. 1990. Fecundity of walleye pollock, *Theragra chalcogramma* (Pallas), from the Bering Sea // Proc. Intern. Sci. Symp. on Bering Sea Fish. April 2-5, 1990. Khabarovsk, USSR. P.61.

Yoon T.H. 1981. Reproductive cycle of female walleye pollock, *Theragra chalcogramma* (Pallas), in the adjacent waters of Funka, Hokkaido // Bull. Fac. Fish. Hok. Univ. V.32. N.1. P.22-38.

Yoshida H., and T.H. Yoon. 1981. Maturity and identification of the post-spawner of walleye pollock, *Theragra chalcogramma* (Pallas), in the surface layer of the central Bering Sea in summer // Bull. Fac. Fish. Hok. Univ. V.32 (4). P. 329-337.