

УДК 597.556.35–146.5

А.Ю. Дубинина¹, А.О. Золотов^{2*}¹ Сахалинский научно-исследовательский институт
рыбного хозяйства и океанографии,

693023, г. Южно-Сахалинск, ул. Комсомольская, 196;

² Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр,
690091, г. Владивосток, пер. Шевченко, 4

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ГОНАДАХ СЕВЕРНОЙ ДВУХЛИНЕЙНОЙ КАМБАЛЫ *LEPIDOPSETTA POLYXYSTRA* В ХОДЕ ЕЕ ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА

Дано подробное описание гаметогенеза северной двухлинейной камбалы. Показано, что в ходе репродуктивного цикла гонады самцов и самок северной двухлинейной камбалы проходят ряд стадий, характеризующихся определенным качественным и количественным составом, размерами половых клеток и структурой половых желез. Приведено подробное описание этих стадий на анатомическом, микроскопическом и гистологическом уровнях. По результатам гистологического анализа впервые для самок данного вида дополнительно выделяется стадия II–III, которая объединяет половозрелых особей, не принимающих участие в предстоящем сезоне размножения. Каждому из выделенных наборов признаков, как для самцов, так и для самок, соответствует визуально легко диагностируемое внешнее состояние гонад, свидетельствующее о протекающих в них процессах созревания. Указанные внешние признаки, впоследствии могут быть обобщены в шкалу стадий зрелости для северной двухлинейной камбалы.

Ключевые слова: северная двухлинейная камбала, гонады, ооциты, стадии развития, репродуктивный цикл.

DOI: 10.26428/1606-9919-2017-191-34-57.

Dubinina A.Yu., Zolotov A.O. Histological changes in gonads of rock sole *Lepidopsetta polyxystra* during its life cycle // Izv. TINRO. — 2017. — Vol. 191. — P. 34–57.

Gametogenesis of rock sole *Lepidopsetta polyxystra* and its annual cycle of reproduction are described in details. In the reproductive cycle, gonads of its males and females pass a number of stages characterized by certain qualitative and quantitative composition of sexual cells, their sizes, and the size, weight and structure of sexual glands. Detailed description of all these stages is presented on anatomic, microscopic and histological levels. Stage II (immature) — gonads have small size, their anatomic differentiation is completed, sexual accessory is distinct, female gonads have predominantly unyolked oocytes with various degree of development. Stage III (maturing) — gonads are increased in volume and well appreciable, female gonads are basically filled with unyolked oocytes but have a portion of yolked oocytes maturing to forthcoming spawning, spermatogenesis in male gonads becomes more active. Stage IV (prespawning) — active accumulation of yolk in female gonads, spermatogenesis in male gonads is finished. Stage V (spawning) — gonads achieve their maximal sizes, mature

* Дубинина Анна Юрьевна, научный сотрудник, e-mail: Dubinina51@yandex.ru; Золотов Александр Олегович, кандидат биологических наук, начальник отдела, e-mail: Alk-90@yandex.ru.
Dubinina Anna Yu., researcher, e-mail: Dubinina51@yandex.ru; Zolotov Alexander O., Ph.D., head of department, e-mail: Alk-90@yandex.ru.

oocytes after hydration move into ovarian cavity in female gonads, streams of sperm are clearly allocated on histological cuts of male gonads. Stage VI (postspawning) — gonads are flabby with a number of hematomas, female gonads tissue includes unyolked oocytes of following generation, postovulatory follicles and atretic cells, new generation of sexual cells forms in male gonads. On results of the histological analysis, a separate stage II–III is proposed for mature first-spawning females of rock sole, which will not spawn in the next year. Each set of the histological features of gonads corresponds to their certain external condition, easy diagnosed visually. The described signs can be generalized in the maturity scale for rock sole.

Key words: rock sole, gonad, oocyte, development stage, reproductive cycle, maturity scale.

Введение

Оценка репродуктивного потенциала эксплуатируемых ресурсов — один из основных элементов современных рыбохозяйственных исследований. Определение плодовитости и скорости созревания необходимо как для понимания ретроспективной динамики популяций, так и при прогнозировании состояния запасов рыб с некоторой заблаговременностью.

Оценки плодовитости, объединенные с данными по учету развивающейся икры в период нереста, например по данным ихтиопланктонных съемок, предоставляют возможность для прямых расчетов текущей численности и биомассы. Последние, в свою очередь, могут быть использованы в качестве индексов для настройки большинства современных математических моделей динамики популяций. Поэтому исследования особенностей репродуктивного цикла промысловых видов вплоть до настоящего времени не утратили своей актуальности.

Исследование процессов формирования плодовитости и выявление закономерностей полового созревания рыб, как правило, основывается на визуальном (макроскопическом), микроскопическом, гистологическом и цитологическом анализе репродуктивных органов рыб. Системная разработка вопросов биологии размножения включает выяснение особенностей начальных моментов развития половых клеток и гонад, анализа закономерностей гаметогенеза, процессов созревания и оплодотворения яйцеклеток.

Впоследствии эти результаты могут быть рассмотрены уже и в эколого-морфофизиологическом аспекте, с проверкой полученных данных в экспериментальных условиях. Одним из прикладных аспектов таких исследований является разработка видоспецифичных шкал зрелости, пригодных для визуальной оценки состояния гонад рыб в полевых условиях.

Успешным примером такого рода работ на дальневосточном бассейне является опыт специалистов КамчатНИРО, которые на основе многолетнего макро-, микроскопического и гистологического анализа разработали шкалу зрелости гонад минтая *Theragra chalcogramma* и впоследствии реализовали ее в виде методического пособия (Сергеева и др., 2011а, б), удобного для использования в полевых условиях. Аналогичные результаты были получены и для тихоокеанской трески (Сергеева, Варкентин, 2016).

В отношении камбаловых рыб необходимо заметить, что исследования особенностей размножения на основе гистологического анализа гонад рыб распространены у иностранных специалистов. При этом вопросам разработки видоспецифичных шкал зрелости уделяется повышенное внимание.

В качестве примеров можно привести исследования, направленные на определение популяционной плодовитости, длины и возраста достижения первого и 50 %-ного полового созревания американского стрелозубого палтуса *Atheresthes stomias* (Rickey, 1995; Zimmermann, 1997; Stark, 2008), тихоокеанского *Microstomus pacificus* (Hunter et al., 1992) и длинноперого *Glyptocephalus zachirus* малоротов (Abookire, 2006), чешуеглазой камбалы *Dexistes rikuzenius* (Narimatsu et al., 2005).

Имеются работы эколого-фаунистического направления, характеризующие в сравнительном аспекте особенности половых процессов, формирование пло-

витости и нерест черного палтуса *Reinhardtius hippoglossoides* (Bowering, 1983), желтохвостой *Limanda ferruginea* (Howell, Kesler, 1977; Howell, 1983), желтоперой *Limanda aspera* (Nichol, 1997; Nichol, Acuna, 2001) и английской *Pleuronectes vetulus* (Johnson et al., 1997) камбал в разных частях их ареала и в связи с условиями обитания.

Круг публикаций отечественных ученых, занимающихся изучением репродуктивной биологии камбаловых, не настолько обширен, и, кроме того, отечественные исследования в этой области, как правило, не отличаются системностью и последовательностью. Подавляющее большинство исследований воспроизводства камбаловых дальневосточных морей, направленных на выяснение сроков и типа нереста, особенностей созревания и закономерностей функционирования половых желез, за редким случаем основываются на визуальных оценках их состояния.

К упомянутым исключениям можно отнести ряд работ В.Н. Иванкова. Например, в связи с возможной перспективой искусственного разведения им в соавторстве с другими исследователями были описаны результаты обследования гистологических срезов овариальных тканей нескольких видов камбал зал. Петра Великого (Иванков и др., 1972).

На основании этих данных впоследствии была дана характеристика типа и продолжительности икрометания, длительности созревания каждой порции ооцитов, вынесено предположение об адаптационном свойстве порционного нереста. Кроме того, был представлен ряд публикаций морфо-экологического направления, посвященных анализу закономерностей гаметогенеза у рыб различных систематических групп, в том числе и камбаловых (Иванков, Курдяева, 1973; Иванков, 1976; Иванков и др., 1996; Дроздов, Иванков, 2000).

Северная двухлинейная камбала *Lepidopsetta polyxystra* Orr et Matarese (2000) — второй по промысловой значимости вид камбал в дальневосточных морях России. В целом ее ареал простирается от северного побережья Хоккайдо вдоль Курильских островов и восточного побережья Камчатки через шельф Берингова моря до зал. Аляска (Orr, Matarese, 2000). Наибольшей численности достигают ее группировки, воспроизводящиеся у северных Курильских островов и тихоокеанского шельфа Камчатки, а также в зал. Аляска.

Несмотря на то что рыбохозяйственная значимость двухлинейной камбалы, обитающей у северных Курильских островов и тихоокеанского шельфа Камчатки, очевидна и в годы наибольшего развития промысла (1955–1960) ее вылов оценивался на уровне 25 тыс. т (Золотов, Захаров, 2008), сведений об особенностях ее воспроизводства опубликовано немного.

Данные о плодовитости и половом созревании ограничиваются сообщением Ф.Г. Швецова (1979), касающимся особей, обитающих с охотоморской стороны о-вов Парамушир и Шумшу, и работами В.И. ПолUTOва (1975) и А.Ю. Дубининой и А.О. Золотова (2013) по группировке, населяющей тихоокеанский шельф п-ова Камчатка и северных Курильских островов.

Что касается общих вопросов гаметогенеза данного вида, то сведений в отечественной печати не приводится, за исключением публикации, в которой рассмотрены некоторые аспекты, влияющие на формирование конечной плодовитости (Дубинина, Золотов, 2015). Кроме того, отдельные иностранные авторы при сравнительных исследованиях особенностей нереста и созревания двухлинейных камбал *L. polyxystra* и *L. bilineata*, обитающих в зал. Аляска, отдельно использовали гистологические методики — для уверенной дифференциации половозрелых и неполовозрелых самок — и визуальный анализ (анатомическую классификацию) — для уточнения сроков нереста (Stark, Somerton, 2002).

Основной целью наших исследований было проанализировать сезонные изменения, происходящие в гонадах северной двухлинейной камбалы на макро- и микроскопическом уровне, а также предоставить описание процессов оогенеза, происходящих в ходе ее репродуктивного цикла, с гистологических позиций, тем

самым заложив платформу для дальнейшего формирования видоспецифичной шкалы стадий зрелости, пригодной для использования в полевых условиях.

Материалы и методы

Работа основана на данных о биологическом состоянии северной двухлинейной камбалы (иногда далее по тексту — двухлинейная) из снюрреводных и донных траловых уловов в водах тихоокеанского побережья Камчатки и северных Курильских островов в период 2005–2015 гг. Материал отбирали в ходе проведения стандартной процедуры полного биологического анализа. Характеристика гистологических изменений в половых железах двухлинейной камбалы основывается на результатах исследования срезов ткани яичников и семенников.

Поскольку в ходе предыдущих исследований было выяснено, что тип оогенеза у данного вида синхронный, прерывистый, а нерест — единовременный (Stark, Somerton, 2002; Дубинина, Золотов, 2013), при визуальной оценке зрелости половых желез руководствовались универсальной 6-балльной шкалой стадий зрелости гонад для единовременно нерестящихся рыб (Алексеев, Алексеева, 1996), незначительно адаптированной нами с учетом особенностей репродуктивного цикла двухлинейной камбалы.

Для анализа размерной структуры ооцитов двухлинейной камбалы и уточнения визуальной оценки состояния половых желез на «свежем» материале в ходе выполнения процедуры полного биологического анализа из средней части гонады извлекали фрагмент массой 0,2–0,5 г и помещали на предметной стекло. Ооциты просматривали под бинокулярным микроскопом Olympus CH-2 (увеличение 4×) либо бинокулярном Olympus SZH10 (2×–3×), фиксируя наличие клеток, характерных для данного периода оогенеза.

Материал для гистологических препаратов также отбирали в ходе стандартной процедуры полного биологического анализа по материалам, собиравшимся круглогодично в течение 2011 г. и частично в 2012 г. из промысловых снюрреводных уловов у юго-восточного побережья Камчатки. Для гистологического исследования процессов оогенеза двухлинейной камбалы у рыб извлекали фрагмент репродуктивной ткани, который затем фиксировали в жидкости Буэна. Впоследствии пробы после проводки через спирты возрастающей концентрации заливали в парафин (Волкова, Елецкий, 1982). Из полученных парафиновых блоков на санном микротоме MC-2 изготавливали срезы толщиной 5 мкм и окрашивали их гематоксилином по Генденгайну.

Полученные гистологические препараты изучали с применением тринокулярного микроскопа для клинической лабораторной диагностики Микромед 3, оснащенного окулярами 10×, 20×, 40× и 100×. Микрофотографии выполнены посредством видеонасадки DCM-510.

Для облегчения визуального восприятия все иллюстративные материалы, относящиеся к описанию стадий зрелости самцов и самок северной двухлинейной камбалы, организованы нами по единому принципу: каждая стадия включает в себя фотографии общего вида гонад, гистологического среза и микроскопической картины тканей яичников и семенников, а также схему, обозначающую место данной стадии в годовом репродуктивном цикле.

При описании процессов, происходящих в течение жизни в половых железах рыб, руководствовались схемой периодизации гаметогенеза, приведенной в монографии А.Л. Дроздова и В.Н. Иванкова (2000).

I. Период синаптного пути.

II. Период малого роста:

1) ювенильная фаза (фаза В);

2) фаза однослойного фолликула (превителлогенеза — фаза С).

III. Период большого роста:

1) период раннего вителлогенеза (фазы вакуолизации):

а) в ооците 1–2 слоя вакуолей — фаза D₁;

б) ооцит заполнен вакуолями наполовину или несколько более — фаза D₂;

в) полностью вакуолизированный ооцит — фаза D₃;

2) период позднего вителлогенеза (фазы накопления желтка):

а) начало отложения желтка — фаза E₁;

б) ооцит наполовину заполнен желтком — фаза E₂;

в) ооцит, заполненный желтком, — фаза E₃.

IV. Период гомогенизации содержимого ооцита и завершения созревания:

а) гомогенизация содержимого ооцита (подфаза E–F);

б) гидратация содержимого ооцита (подфаза E–F₁);

в) зрелая клетка (фаза F).

Результаты и их обсуждение

Морфологические изменения гонад и созревание половых клеток в онтогенезе северной двухлинейной камбалы

Неполовозрелые особи — стадия II

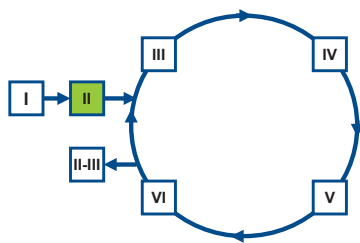
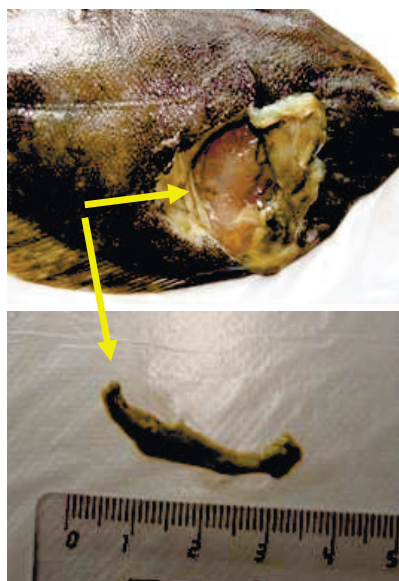
Внешний вид половых желез. Половые железы неполовозрелых особей плотной консистенции, с прозрачной стромой (рис. 1, 2). У самок это небольшие конические тяжи, слабо-розового или серого цвета, лишь самым концом острого угла уходящие вглубь тела. У самцов гонады полулунной формы, грязно-розового или серого цвета и прилегают к клейтруму (cleithrum).

Микроскопическая картина. Основу репродуктивной ткани неполовозрелых самок представляют оптически прозрачные ооциты с дифференцированным ядром, «прижизненный» диаметр наиболее крупных из которых изменяется в пределах 148–272 мкм, в среднем около 171 мкм (рис. 3). Ооциты очень плотно прикреплены к яйценосным пластинам и с трудом отделяются от них. Строма яичника (theca) и яйценосные пластины пронизаны многочисленными мелкими сосудами.

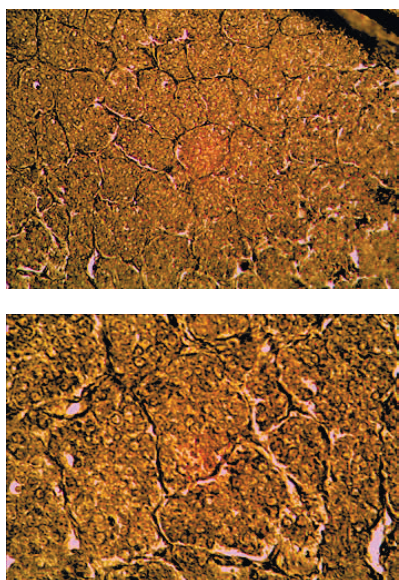
Гистологический срез. Самки. Лопасть яичника четко разделена на доли, компактно заполненные ооцитами. По периферии, прилегая к утолщенным яйценосным пластинам, расположены самые большие клетки, а внутри долей — мелкие. У молодых самок (длиной 14,0–15,5 см и возрастом 3–4 года) кроме клеток синаптенного пути присутствуют молодые ооциты первой ступени малого роста размерами от 38 до 88 мкм, в среднем 52 мкм. Характерная особенность этих клеток — неправильная округлая форма, крупное, занимающее основную часть клетки ядро, охваченное тонким кольцом однородно окрашенной ооплазмы (см. рис. 2). По мере активизации процессов превителлогенеза пока еще мелкие и в большинстве клеток хаотично рассеянные по нуклеоплазме ядрышки мигрируют к периферии ядра, к его оболочке.

В половых железах самок длиной 17–18 см и возрастом 4 года присутствуют ооциты уже всех ступеней малого роста (фазы В и С). Неоднородность окрашивания цитоплазмы клеток свидетельствует о ходе накопления в ней РНК. Этот процесс начинается с появления мелких уплотнений, затем отмечаются отдельные более крупные рыхлые нерегулярной формы — конгломераты РНК, окружающие ядро. Постепенно они соединяются, вокруг ядра образуется перинуклеарное кольцо — ооцит развивается в однослойный фолликул.

Наиболее развитую генерацию клеток (фаза С) отличает однородно окрашенная цитоплазма с базофильным желточным ядром. В этих клетках продолжается протоплазматический рост, выражающийся в увеличении их размеров, происходящем в первую очередь за счет нарастания объема ооплазмы. Теперь средний диаметр ооцитов равен 66 мкм, изменяясь от 44 до 94 мкм. Более правильной круглой формы четко идентифицируемые ядрышки располагаются по периферии ядра, заполненного мелкозернистой нуклеоплазмой.



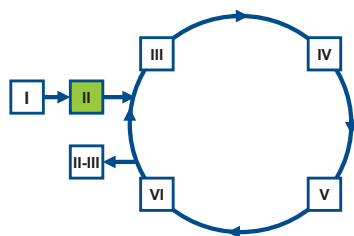
Вверху – внешний вид семенников в теле неполовозрелого самца северной двухлинейной камбалы. Гонады на стадии зрелости II. L = 18 см, возраст – 3+ года. **Внизу** – внешний вид извлеченных гонад



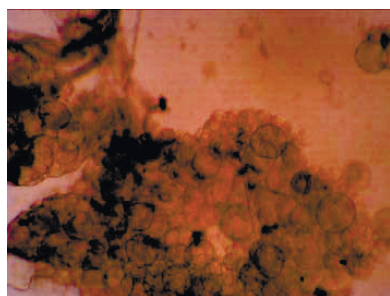
Гистологический срез репродуктивной ткани неполовозрелого самца северной двухлинейной камбалы. L = 17 см, возраст – 4+ года, увеличение $\times 20$ (**вверху**), $\times 40$ (**внизу**)

Рис. 1. Стадия II. Неполовозрелые самцы
Fig. 1. Stage II. Immature males

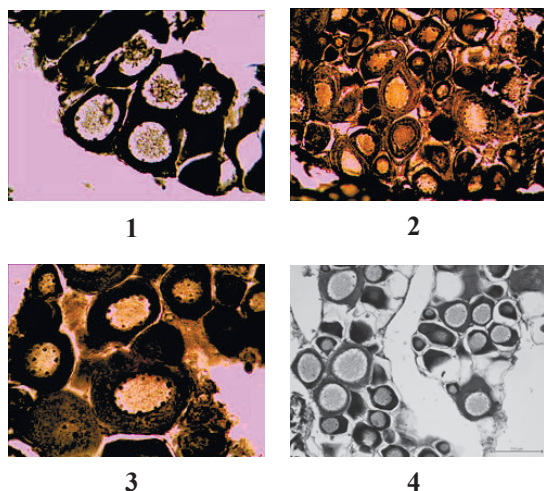
Дальнейшие онтогенетические изменения в превителлогенных ооцитах выражаются главным образом в увеличении их размеров: у самой старшей неполовозрелой самки, возрастом 9 лет с длиной тела 29 см, диаметр ооцитов лидирующей генерации в среднем достигал 117 мкм, варьируя от 93 до 145 мкм. Репродуктивную ткань таких особей кроме клеток синаптного пути составляют четко различающиеся морфологически превителлогенные ооциты первой и последней, четвертой, ступеней. Эти половые клетки и их основные органеллы приобретают правильную округлую форму, и ядро принимает центральное положение. Расположенные по периферии мелкозернистой нуклеоплазмы ядрышки заметно увеличиваются. В целом на гистологических срезах репродуктивной ткани неполовозрелых самок диаметр ооцитов варьирует от 33 до 145 мкм, в среднем составляя 74 мкм (рис. 4).



Вверху – внешний вид яичников в теле неполовозрелой самки северной двухлинейной камбалы. Гонады на стадии зрелости II. L = 19 см, возраст – 3+ года. **Внизу** – внешний вид извлеченных гонад



Микроскопическая картина. Ооциты неполовозрелой самки северной двухлинейной камбалы. L = 28 см, возраст – 6+ лет. Увеличение $\times 10$



Гистологический срез репродуктивной ткани неполовозрелых самок северной двухлинейной камбалы: **1** – молодые ооциты, L = 15,0 см, возраст – 3+ года; **2** – перинуклеарные ооциты, L = 28,5 см, возраст – 6+ лет; **3** – оформленный ооцит с желточным ядром, L = 15,0 см, возраст – 3+ года; **4** – оформленные ооциты, L = 23,5 см, возраст – 5+ лет. Увеличение $\times 20$

Рис. 2. Стадия II. Неполовозрелые самки
Fig. 2. Stage II. Immature females

Самцы. На срезе репродуктивной ткани самого младшего неполовозрелого самца (возрастом 3 года, длиной тела 21,5 см) представлены крупные с нечеткими границами септы. Они заполнены формирующимися ампулами, в которых наблюдается активное деление сперматогоний. У 4-летних самцов ампулы, как правило, уже полностью сформированы, в особенно крупных отмечаются сперматоциты первого и второго порядков (см. рис. 1).

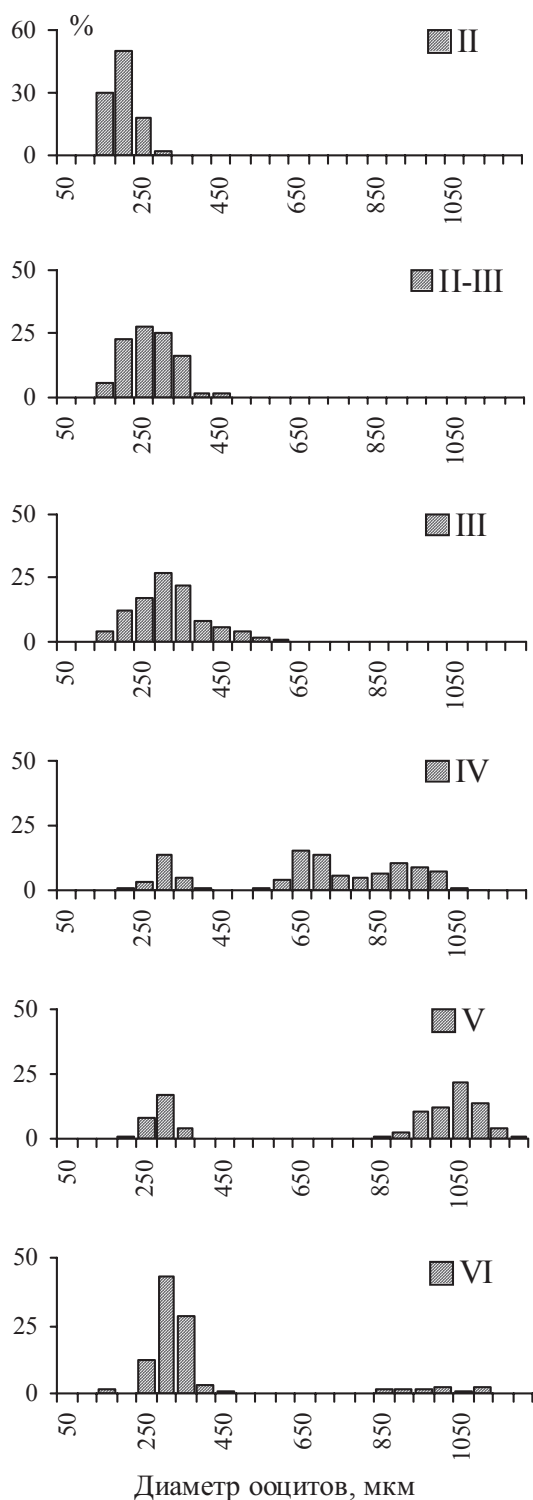


Рис. 3. Размерный состав ооцитов в яичниках самок северной двухлинейной камбалы по результатам микроскопического исследования

Fig. 3. Size composition of oocytes in gonads of rock sole females, by results of microscopic research

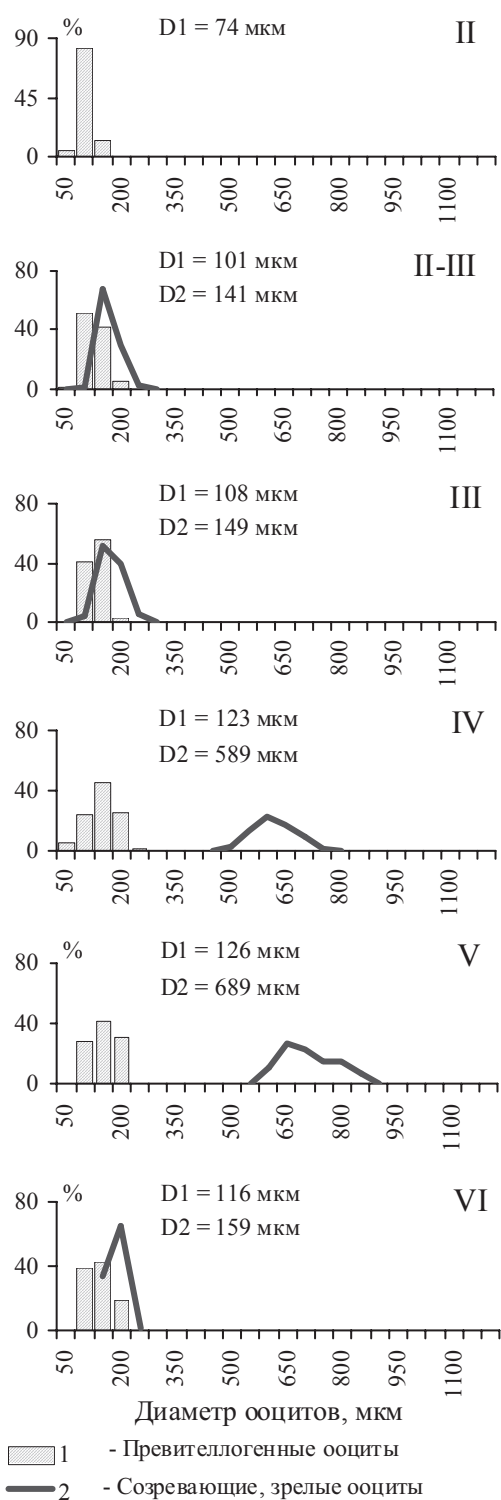


Рис. 4. Размерный состав ооцитов в яичниках самок северной двухлинейной камбалы по данным гистологического анализа. Указаны средние диаметры для двух групп ооцитов

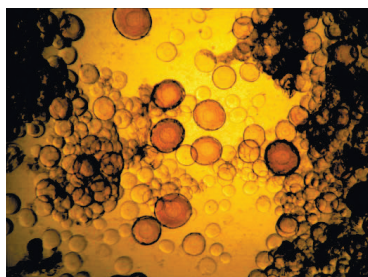
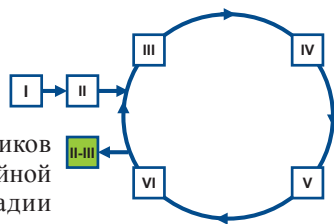
Fig. 4. Size composition of oocytes in gonads of rock sole females, by results of histological analysis. Mean diameters of nonyolked and yolked oocytes are shown

*Половозрелые самки, пропускающие предстоящий нерестовый сезон, —
стадия II–III*

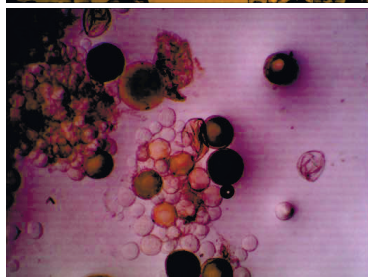
Внешний вид половых желез. Стадия II–III выделена только для самок. К ним отнесены половозрелые особи, принимавшие участие в размножении в текущем сезоне и пропускающие предстоящее икрометание. Яичники у таких рыб ярко-оранжевого цвета, упругие, плотной консистенции, со слегка мутноватой стромой (рис. 5), чем походят на половые железы, характерные для следующей, III, стадии зрелости.



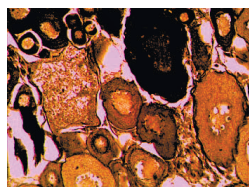
Внешний вид яичников самки северной двухлинейной камбалы. Гонады на стадии зрелости II–III. L = 33 см, возраст – 7+ лет



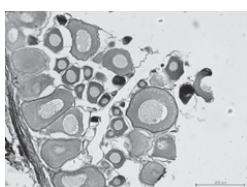
Микроскопическая картина. Ооциты пропускающей предстоящий нерестовый сезон самки северной двухлинейной камбалы. L = 33 см, возраст – 9+ лет. Февраль. Увеличение $\times 4$



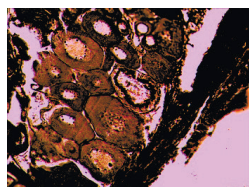
Микроскопическая картина. Ооциты пропускающей предстоящий нерестовый сезон самки северной двухлинейной камбалы. L = 33 см, возраст – 9+ лет. Ноябрь. Увеличение $\times 10$



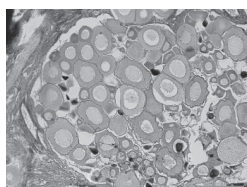
1



2



3



4

Гистологический срез репродуктивной ткани пропускающих предстоящий нерестовый сезон самок северной двухлинейной камбалы: 1 – L = 33 см, возраст – 7+ лет, увеличение $\times 20$; 2 – L = 29 см, возраст – 8+ лет, увеличение $\times 10$; 3 – L = 29 см, возраст – 8+ лет, увеличение $\times 10$; 4 – L = 29 см, возраст – 9+ лет, увеличение $\times 10$

Рис. 5. Стадия II–III. Самки, пропускающие нерест
Fig. 5. Stage II–III – females that will not spawn in next year

Однако основной отличительной особенностью гонад, визуально диагностирующей это состояние, является незначительный размер яичников. Они расположены компактно, в средней доле брюшной полости, оставляя свободными ее переднюю и концевую части, занимая не более 1/5 общего объема. По этому визуальному признаку гонады половозрелых самок, пропускающих предстоящий нерестовый сезон, скорее близки к гонадам неполовозрелых рыб. В полевых условиях неопытными специалистами такие особи, без дополнительной микроскопической или гистологической диагностики, могут быть ошибочно отнесены к неполовозрелым.

Микроскопическая картина. Ткань яичника особей II–III стадии зрелости формируют в первую очередь многочисленные оптически прозрачные, с трудно определяемым ядром, мелкие клетки резервного фонда и единичные сравнительно крупные ооциты грязно-оранжевого или терракотового оттенков с хорошо визуализируемым ядром и неоднородной, грубо структурированной ооплазмой (рис. 5).

В нагульный и зимовальный периоды клетки последней фракции окружены тонкой, едва заметной оболочкой. Средний диаметр таких ооцитов составляет 255 мкм. По мере приближения сезона размножения рассматриваемые клетки увеличиваются в размерах, в среднем достигая 301 мкм, а их оболочка утолщается, приобретая нерегулярную структуру. В целом диаметр ооцитов самок, пропускающих предстоящий нерестовый сезон, изменяется от 119 до 428 мкм (см. рис. 4).

Гистологический срез. Генеративную ткань яичников самок II–III стадии зрелости составляют превителлогенные и вителлогенные половые клетки (рис. 5, 6). Первая группа — наиболее многочисленная — представлена ооцитами всех фаз периода малого роста (фазы В и С). Диаметр наиболее крупных из них изменяется в пределах 40–186 мкм (см. рис. 4). Вторая группа — это половые клетки периода раннего вителлогенеза с 1–2 слоями мелких вакуолей в прикортикальном слое ооплазмы (фаза D₁).

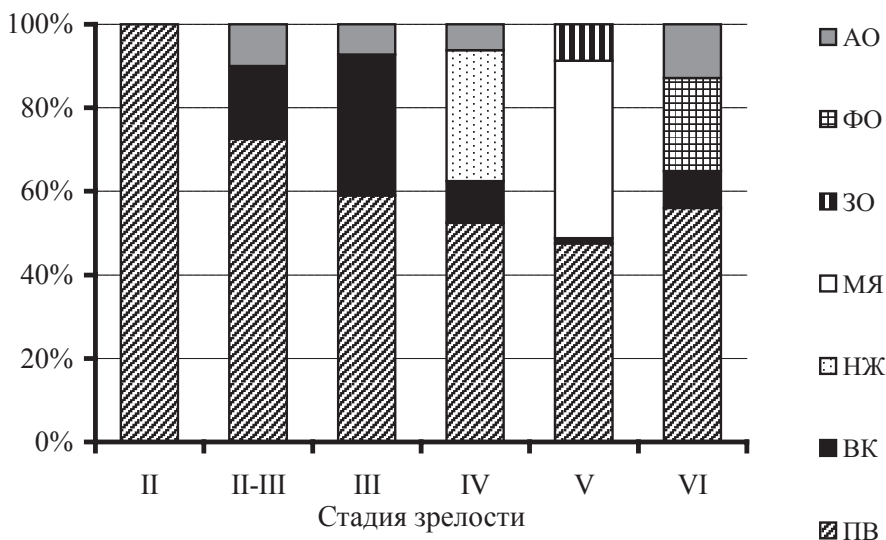


Рис. 6. Изменения морфологического состава ооцитов в яичниках северной двухлинейной камбалы по мере их развития: *ПВ* — превителлогенные ооциты, *БК* — вакуолизированные, *НЖ* — с накоплением желтка, *МЯ* — с мигрирующим ядром, *ЗО* — зрелые ооциты, *ФО* — фолликулярные оболочки, *АО* — атретичные ооциты

Fig. 6. Changes in morphological structure of oocytes in gonads of rock sole females in the process of their development: *ПВ* — previtellogenic oocytes, *БК* — oocytes with vacuoles, *НЖ* — oocytes with yolk accumulation, *МЯ* — oocytes with a migratory-nucleus, *ЗО* — mature oocytes, *ФО* — follicular covers, *АО* — atresia

В вакуолизированных ооцитах ядро занимает строго центральное положение, ядрышки расположены по периферии нуклеоплазмы. С момента появления в ооплазме первых кортикальных вакуолей у ооцитов отмечается начало образования хориона. Диаметр этих половых клеток варьирует от 93 до 214 мкм. Внутри долей яичников

ооциты расположены разреженно, поэтому структура генеративной ткани пропускающих очередной нерест самок довольно рыхлая. Стенки долей утолщены.

Самки стадии II–III являются пассивной частью нерестового стада и в предстоящем воспроизводстве не участвуют. Однако половые процессы в их яичниках не приостанавливаются, более того, на протяжении годового цикла генеративная ткань таких особей претерпевает ряд изменений.

В преднерестовый и нерестовый периоды репродуктивную ткань яичников самок II–III стадии зрелости формируют в первую очередь превителлогенные клетки резервного фонда. Количество вакуолизированных ооцитов в ней минимально (в среднем не более 9 %), а у некоторых рыб они полностью отсутствуют. В это время на гистологических срезах яичников отмечаются ооциты разных стадий дегенерации, атретичные тела и запустевшие фолликулы (рис. 5, 6). Атретизии при этом подвергаются преимущественно вакуолизированные, а в редких случаях и оформленные ооциты (фаза С).

В период нагула и зимовки количество половых клеток с вакуолизацией прикортикального слоя ооплазмы достигает максимума, представляя в среднем около 35 % всех ооцитов. Для гистологических срезов этого периода характерно наличие атретичных тел, появляющихся вследствие резорбции невыметанных овулированных ооцитов («остаточной плодovitости»), т.е. в ходе восстановления половой железы после прошедшего нереста.

Впервые и повторно созревающие особи — стадия III

Внешний вид половых желез. На этой стадии половые железы выходят из состояния покоя, в них активизируются процессы созревания (рис. 7, 8). Внешне это выражается в появлении у яичников сначала слабо-, а затем насыщенно-оранжевого, а у семенников — светло-розового оттенков. У повторно созревающих самок строма гонад вновь приобретает прозрачность, ее поверхность из матовой становится глянцевой. При более внимательном обследовании яичников обнаруживается зернистость их содержимого. Таким образом, на этой стадии созревания невооруженным глазом сквозь строму различимы отдельные наиболее крупные икринки.

В отличие от описанной выше стадии II–III яичники созревающих самок существенно увеличены в размерах, острым углом разрастаясь вглубь брюшной полости, при этом не оставляя в ее дистальной части свободного пространства. Относительно неполовозрелых рыб семенники самцов значительно прибавляют в объеме и становятся хорошо заметными. Пролегая над желудочно-кишечным трактом, они располагаются преимущественно в перитонеальной полости.

Микроскопическая картина. Среди оптически прозрачных мелких ооцитов, составляющих резервный фонд, появляются относительно крупные половые клетки с трудно просматриваемым ядром. Их ооплазма мелкозернистая, светло-оранжевого или желтого цвета (рис. 8), что свидетельствует о начале трофоплазматического роста этих клеток. У наибольших из них уверенно определяется вторичная оболочка.

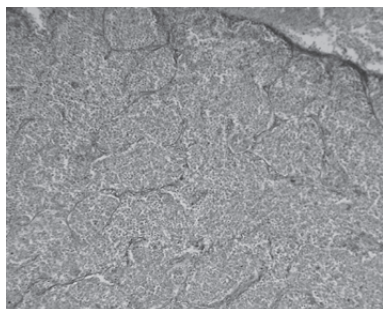
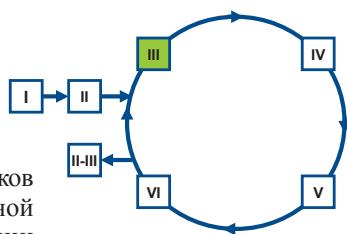
Ооциты следующих поколений по-прежнему плотно прилегают к яйценосным пластинам, тогда как вителлогенные клетки располагаются внутри долей яичников. Диаметр вителлогенных и лидирующих по размерам превителлогенных ооцитов колеблется в пределах 203–567 мкм и в среднем составляет 349 мкм (см. рис. 3).

Гистологический срез. Самки. На срезах репродуктивной ткани созревающих самок среди преобладающих ооцитов резервного фонда отмечаются половые клетки с первыми признаками раннего вителлогенеза: в периферической области их ооплазмы заметны мелкие, в виде визуально пустых точек, вакуоли, расположенные обычно в 1, реже — в 2 слоя (фаза D₁, см. рис. 8).

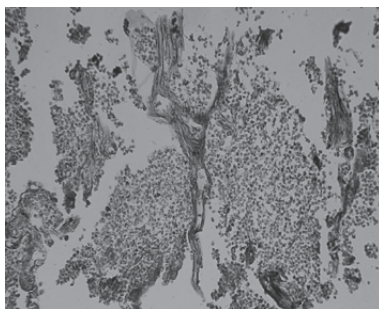
Свободная от вакуолей ооплазма гладкая, однородной структуры. В примембранном пространстве ядра, расположенного строго по центру, находятся многочисленные мелкие ядрышки. В редких случаях в таких ооцитах можно наблюдать «желточное» пятно. В ходе гаметогенеза процесс вакуолизации усиливается: по периферии ооплазмы вителлогенных ооцитов появляются 2–4 слоя вакуолей.



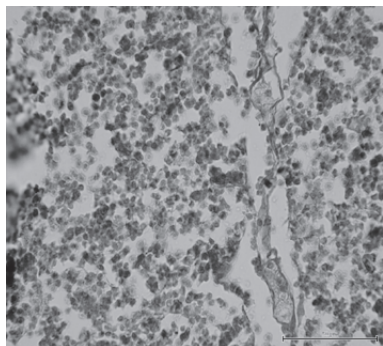
Внешний вид семенников самца северной двухлинейной камбалы. Гонады на стадии зрелости III. L = 27,5 см, возраст – 7+ лет



1



2



3

Гистологический срез репродуктивной ткани самца северной двухлинейной камбалы на стадии зрелости III: 1 – ткань впервые созревающего самца, L = 25 см, возраст – 6+ лет, увеличение $\times 20$; 2 – ткань повторно созревающего самца, L = 30 см, возраст – 13+ лет, увеличение $\times 40$; 3 – сперматиды в семенных канальцах, увеличение $\times 100$

Рис. 7. Стадия III. Впервые и повторно созревающие самцы
Fig. 7. Stage III. The first and second time maturing males

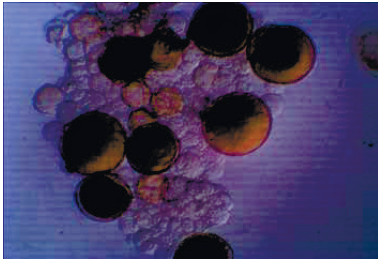
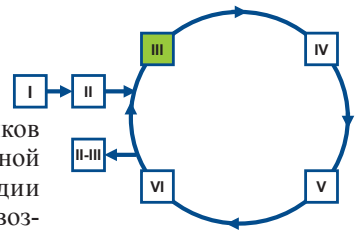
В клетках со сравнительно крупными и более базофильно окрашенными ядрышками начинается формирование вторичных оболочек. В лидирующих по размерам ооцитах, для которых характерно заполнение вакуолями почти наполовину, в центре обнаруживается циркумнуклеарное кольцо невакуолизированной ооплазмы (фаза D_2), заметна *zona radiata*. Постепенно это перинуклеарное кольцо сокращается, вакуоли центростремительно распространяются на основную часть уже зернистой ооплазмы, охватывая ее примерно на $\frac{3}{4}$ (фаза D_3).

С этого момента в прикортикальном слое клеточной мембраны появляются мельчайшие, едва заметные зерна желтка, что свидетельствует о начале желтка накопления в таких ооцитах.

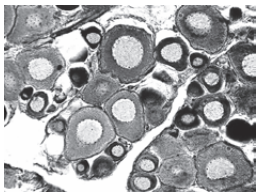
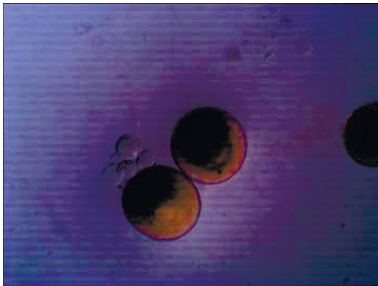
На III стадии полового созревания (фазы D_{1-3}) диаметр ранних вителлогенных ооцитов изменяется в пределах 87–246 мкм, в среднем составляя 149 мкм. Лидирующую генерацию резервного фонда (оформленные ооциты, фаза C) представляют клетки размерами 58–160 мкм. Их средний диаметр равняется 108 мкм (см. рис. 4).



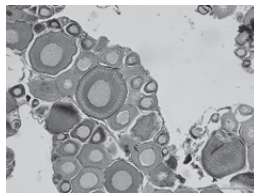
Внешний вид яичников самки северной двухлинейной камбалы. Гонады на стадии зрелости III. L = 32,5 см, возраст – 7+ лет



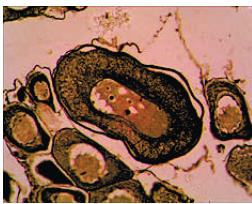
Микроскопическая картина. Ооциты самки северной двухлинейной камбалы с гонадами на стадии зрелости III. L = 31 см, возраст – 9+ лет. Увеличение $\times 10$



1



2



3

Гистологический срез репродуктивной ткани самки северной двухлинейной камбалы на стадии зрелости III: 1 – ткань впервые созревающей самки, L = 27,5 см, возраст – 6+ лет; 2 – ткань повторно созревающей самки, L = 31,0 см, возраст – 8+ лет; 3 – полностью вакуолизированный ооцит. Увеличение $\times 10$

Рис. 8. Стадия III. Впервые и повторно созревающие самки
Fig. 8. Stage III. The first and second time maturing females

Согласно ранее приведенной диаграмме (см. рис. 6), у созревающих и пропускающих предстоящий нерестовый сезон самок морфологический состав ооцитов довольно схож. Однако гистологические срезы их яичников различаются структурно. У особей III стадии сравнительно выше доля вакуолизированных клеток (в среднем около 34 %) и ниже — дегенерирующих ооцитов. Атрофия при этом направлена исключительно на редукцию плодовитости. Принципиальная особенность половых клеток созревающих самок заключается в том, что на фазе D₁ процесс вакуолизации в них не приостанавливается, как у особей стадии II–III, а наоборот, интенсифицируется и

заканчивается появлением в ооплазме желтка. Именно эти признаки, вместе с макроскопическими различиями яичников созревающих и пропускающих нерест самок, о которых упоминалось ранее, и позволяют в шкале зрелости дополнительно выделить для них отдельную стадию созревания II–III.

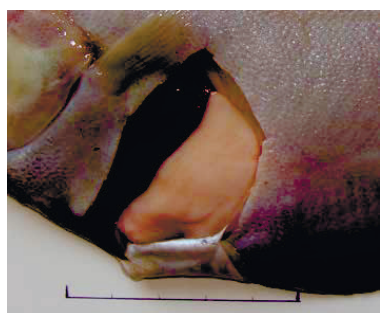
Самцы. Состояние тканей половых желез самцов III стадии зрелости свидетельствует о начале активного спермиогенеза. На раннем этапе этого процесса внутри полностью сформированных ампул наблюдается освобождение отдельных цист от сперматид. Впоследствии появление сперматид приобретает массовый характер (рис. 7). Стенки ампул при этом прорываются, а затем истончаются и разрушаются, и сперматиды, на отдельных участках еще недавно высвободившиеся из цист, оказываются в семенных канальцах.

На заключительном этапе описываемого процесса ткань представляют преимущественно многочисленные сперматиды, стенки ампул исчезают, фолликулярный эпителий канальцев, наоборот, гипертрофируется, и между его клетками наблюдаются сперматоциты второго порядка.

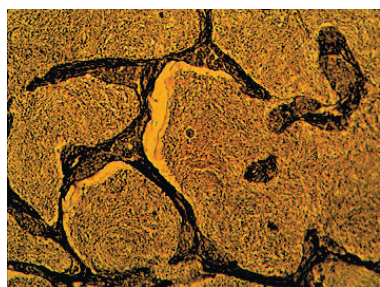
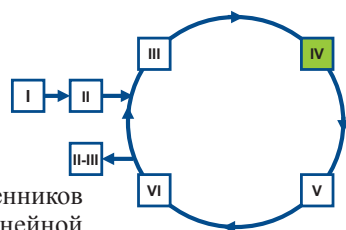
Созревающие преднерестовые производители — стадия IV

Внешний вид половых желез. В репродуктивном цикле северной двухлинейной камбалы стадия IV предвещает зрелое состояние особей. На протяжении этой стадии воспроизводительная система рыб проходит терминальные изменения, подготавливающие их половые железы к акту размножения. Внешне эти преобразования проявляются в первую очередь в значительном увеличении размеров гонад: теперь они занимают большую долю брюшной полости.

Семенники, разрастаясь, на 60–80 % закрывают ЖКТ, яичники впереди плотно примыкают к кишечнику, а острым углом уходят глубоко в дистальную часть брюшной полости. Железы самцов опаловых оттенков нежно-розового или молочного цветов, полулунной формы, к концу IV стадии их свободный край приобретает слабую фестончатость (рис. 9, 10). У самок цвет гонад варьирует от матово-желтого до ярко-оранжевого.



Внешний вид семенников самца северной двухлинейной камбалы. Гонады на стадии зрелости IV. L = 28,0 см, возраст – 7+ лет

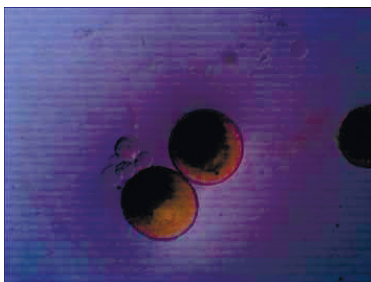
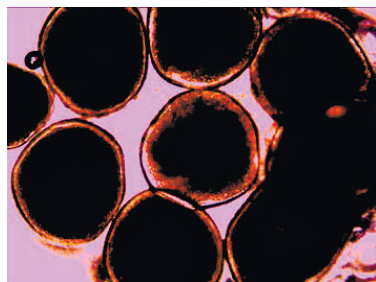
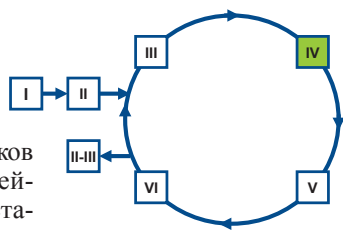


Гистологический срез репродуктивной ткани самца северной двухлинейной камбалы на IV стадии зрелости. На снимке – ткань семенника, сперматозоиды в семенных канальцах. L = 31,5 см, возраст – 9+ лет, увеличение ×20

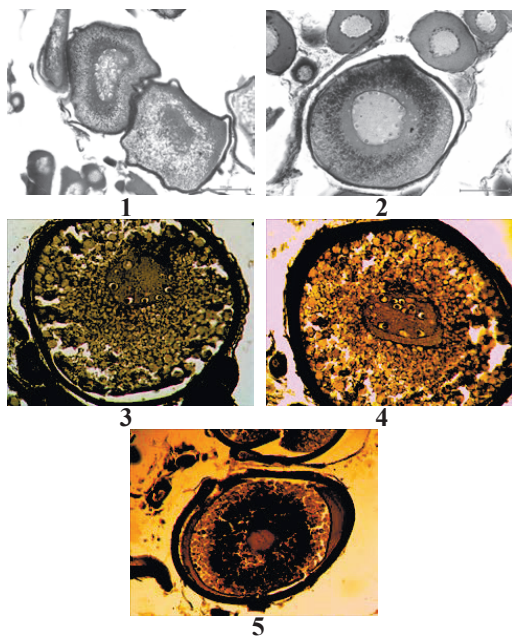
Рис. 9. Стадия IV. Созревающие преднерестовые самцы
Fig. 9. Stage IV. Maturing prespawning males



Внешний вид яичников самки северной двухлинейной камбалы. Гонады на стадии зрелости IV. L = 42,5 см, возраст – 28+ лет



Микроскопическая картина. Ооциты самки северной двухлинейной камбалы с гонадами на IV стадии зрелости. L = 32,5 см, возраст – 9+ лет. Увеличение $\times 20$, зимний период (слева); увеличение $\times 10$, осенний период (справа)



Гистологический срез репродуктивной ткани самки северной двухлинейной камбалы на IV стадии зрелости: 1 – ооциты раннего желткакопления, фаза E₁, L = 31,0 см, возраст – 9+ лет, увеличение $\times 20$; 2 – ооцит фазы активного желткакопления, фаза E₂, L = 35,0 см, возраст – 11+ лет, увеличение $\times 40$; 3 – заполненный желтком ооцит, фаза E₃, L = 34,5 см, возраст – 12+ лет, увеличение $\times 20$; 4 – желтковый ооцит с дифференцированными желточными оболочками, L = 39,5 см, возраст – 14+ лет, увеличение $\times 20$; 5 – желтковый ооцит в преднерестовый период, L = 42,5 см, возраст – 28+ лет, увеличение $\times 20$

Рис. 10. Стадия IV. Созревающие преднерестовые самки
Fig. 10. Stage IV. Maturing prespawning females

С нарастанием массы яичников покрывающая их thesa значительно растягивается и истончается, оставаясь плотной только у выводных протоков. В результате строма становится особенно прозрачной, сквозь нее уверенно определяются отдельные икринки, что является главным диагностическим критерием описываемой стадии. С внутренней стороны желез имеется хорошо развитая система кровеносных сосудов.

В наших пробах среди рыб с гонадами на стадии зрелости IV были отмечены самки длиной от 28 до 48 см и возрастом от 6 до 28+ лет и самцы длиной 24–33 см и возрастом 6–15+ лет.

Микроскопическая картина. Ткань яичника сложена в основном крупными желтковыми ооцитами, в проходящем свете имеющими грязно-оранжевый цвет. У таких клеток не визуализируется ядро, для них характерны прочный хорион, достигающий значительной толщины, и плотная, глобулированная цитоплазма (рис. 10).

Диаметр ооцитов этой группы колеблется в пределах 550–1100 мкм. Столь широкий диапазон изменения связан с разной степенью наполнения ооцитов желтком, т.е. сравнительно крупная фракция, со средним диаметром 900 мкм, — это клетки зимнего, преднерестового периода, в них процесс желтконопления практически закончился.

В ооцитах меньшего диаметра (в среднем около 663 мкм), отмечающихся в гонадах самок, выловленных осенью, после нагула, поздний вителлогенез только начинается (см. рис. 3). Среди желтковых ооцитов присутствуют многочисленные мелкие клетки резервного фонда. Диаметр лидирующей генерации варьирует от 164 до 351 мкм, в среднем составляет около 277 мкм. Их размеры в течение года фактически не меняются.

Гистологический срез. Репродуктивную ткань преднерестовых самок северной двухлинейной камбалы слагают три фракции: преобладающие превителлогенные ооциты, сравнительно менее многочисленные вителлогенные и представляющие меньшинство атретичные ооциты (см. рис. 6, 10).

Как морфологический состав, так и размерная структура половых клеток в течение года нестабильны и подвержены изменениям. Регулярно фиксируемые на срезах клетки лидирующей генерации — превителлогенные ооциты (оформленный ооцит, фаза С) — во второй половине года мельче, чем в первой — соответственно 118 мкм против 129 мкм (см. рис. 4).

Вителлогенные ооциты в осенний период — это клетки разных фаз желтконопления (фазы E_{1-3}) со средним диаметром около 433 мкм, а в зимний — это вакуолизированные (фаза D_1) и желтковые ооциты (фаза E_3), диаметр которых в среднем составляет соответственно 183 и 589 мкм. В преднерестовый период морфология клеток фазы D_1 практически не меняется, они представляют фонд нового репродуктивного цикла, который завершится нерестом следующего года. На IV стадии зрелости ооциты текущей генерации вступают в период позднего вителлогенеза, главной особенностью которого является образование и накопление в ооплазме желтка. На раннем этапе этого процесса в прикортикальном слое вакуолизированных клеток отмечаются желтковые зерна (фаза E_1 , рис. 10). В этот момент начинается дифференциация вторичных оболочек, и студенистый хорион, благодаря которому зрелая икра северной двухлинейной камбалы приобретает клейкость, четко визуализируется.

Его толщина в этот период колеблется в пределах 2,6–4,5 мкм, или около 1 % диаметра ооцита. В дальнейшем желтковые гранулы собираются в мельчайшие едва различимые везикулы, которые в ходе активного накопления в ооплазме желтка заполняют ооцит примерно наполовину (фаза E_2). Параллельно начинается миграция увеличившихся в размерах ядрышек от кариолеммы вглубь нуклеоплазмы.

С заполнением клетки желтком периферические везикулы объединяются в сравнительно более крупные включения сферической формы — глобулы — диаметром от 10 до 17 мкм (фаза E_3). Студенистый слой разрастается: его толщина увеличивается до 7–17 мкм, что составляет от 2 до 5 % диаметра ооцита. Для этого периода также характерно начало дифференциации желточной оболочки. Изначально это образование однослойное, бесструктурное, сравнительно более широкое на одном из полюсов ооцита.

Дальнейшие преобразования клеток фазы полного желтконопления выражаются в увеличении размеров желтковых глобул путем слияния более мелких включений, а также в дифференцировке желточной оболочки и нарастании размеров студенистого хориона. Так, с накоплением в ооците желтка диаметр располагающихся по периферии клетки наиболее крупных глобул изменяется в пределах 12–28 мкм, и в среднем составляет 21 мкм. Перинуклеарное пространство ооцита заполняют мелкие желтковые глобулы и везикулы. Толщина студенистого хориона этих ооцитов варьирует от 11 до 18 мкм.

По мере приближения нерестового сезона процесс желткакопления в вителлогенных ооцитах заканчивается. В этот период такие клетки плотно заполнены желтковыми однородными глобулами диаметром порядка 17–23 мкм. Относительный диаметр ядра, занимающего пока еще центральное положение, сокращается в среднем с 30 до 19 %. В этот период ооциты фазы полного желткакопления заключены в массивный студенистый хорион толщиной до 35–45 мкм, что в среднем составляет примерно 8 % диаметра клетки.

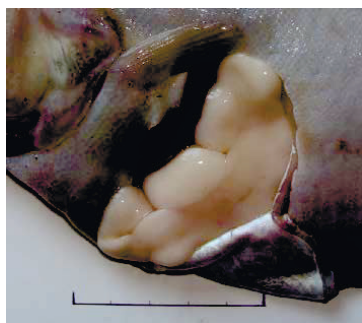
Под студенистым слоем лежит желтковая оболочка, к этому моменту значительно более развитая: на вегетативном полюсе она широкая, в форме полумесяца, на анимальном — сравнительно узкая и на участках между полюсами — совсем тонкая, едва различимая. Между желтковой оболочкой и заполненной глобулированным желтком ооплазмой лежит *zona radiata*.

Самцы. Преднерестовое состояние самцов характеризуется окончанием активного спермиогенеза. На срезах их репродуктивной ткани в просветах семенных канальцев массово представлены свободные зрелые сперматозоиды, среди которых отмечаются единичные сперматиды. Вместе с тем у стенок фолликулярного эпителия имеются сперматоциты с многочисленными сперматидами и сперматогониями разных порядков (см. рис. 9).

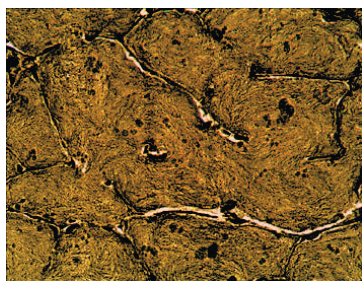
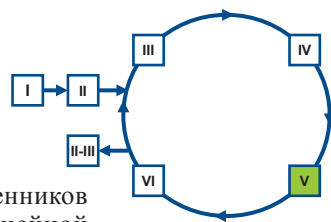
Зрелые нерестовые производители — стадия V

Внешний вид половых желез. В половом цикле двухлинейной камбалы завершение созревания и переход в фертильное состояние характеризуется как V стадия половой зрелости. К этому моменту изменения в репродуктивной системе рыб, связанные с предстоящим размножением, завершаются, и производители приобретают способность к нересту.

Ближе к сезону размножения половые железы увеличиваются до максимальных размеров и занимают в брюшной полости все свободное пространство. Семенники — в виде опавших оттенков молочного цвета с крупными фестонами по свободному краю (рис. 11, 12). Яичники, вследствие гидратации икринок,



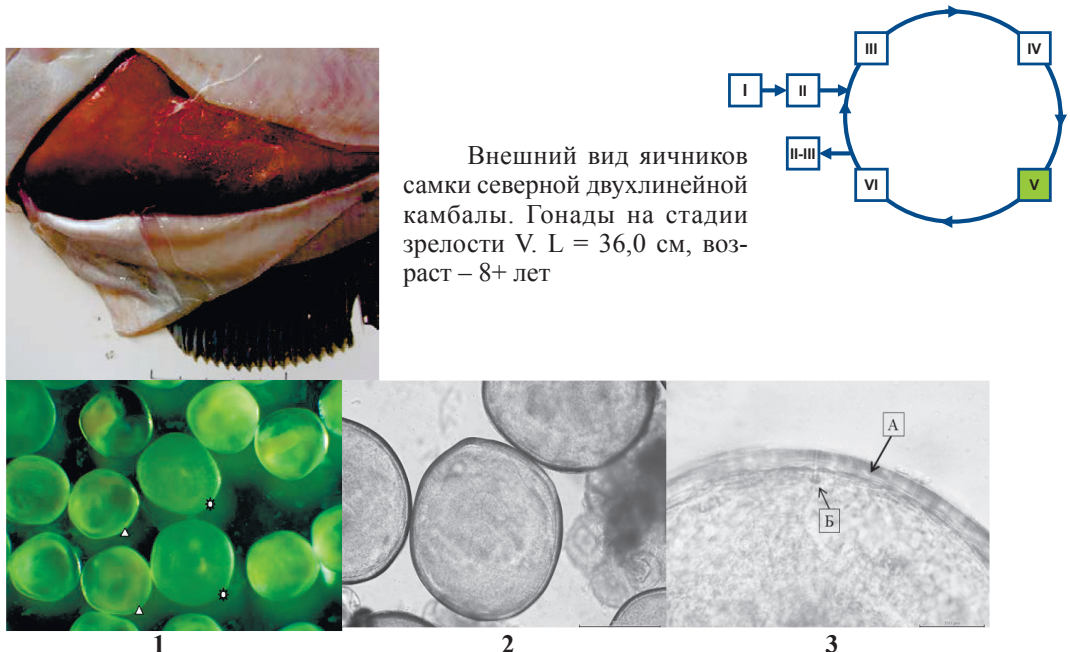
Внешний вид семенников самца северной двухлинейной камбалы. Гонады на стадии зрелости V. L = 31,5 см, возраст — 9+ лет



Гистологический срез репродуктивной ткани самца северной двухлинейной камбалы на стадии зрелости V. На снимке — ткань семенника, каналы заполнены семенной жидкостью со спермиями. L = 25 см, возраст — 6+ лет, увеличение ×10

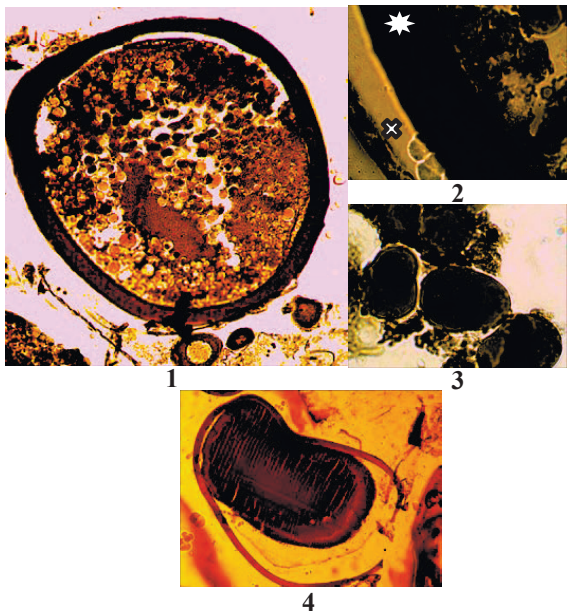
Рис. 11. Стадия V. Зрелые нерестовые самцы
Fig. 11. Stage V. Mature spawning males

становятся глянцево-прозрачными и имеют насыщенно оранжевый цвет. Theca, в связи со значительным приростом массы репродуктивной ткани, в такой степени растянута и, как следствие, истончена, что даже при слабом прикосновении рвется. В целом гонады приобретают крайне нежную структуру и при пальпации легко повреждаются. Железы самцов при этом оплывают, а у самок через разрывы в строме свободно вытекают икринки.



Внешний вид яичников самки северной двухлинейной камбалы. Гонады на стадии зрелости V. L = 36,0 см, возраст – 8+ лет

Микроскопическая картина. Ооциты самок северной двухлинейной камбалы с гонадами на V стадии зрелости: 1 – общий вид, *звездочками* обозначены гидратированные ооциты, *треугольниками* – овулированные, L = 39 см, возраст – 12+ лет, увеличение $\times 2$; 2, 3 – овулированные ооциты, L = 35 см, возраст – 13+ лет, увеличение $\times 10$ (2); A – студенистый хорион, B – микропиле, увеличение $\times 40$ (3)



Гистологический срез репродуктивной ткани самок северной двухлинейной камбалы на стадии зрелости V: 1 – ооцит с мигрирующим ядром в начале гомогенизации, подфаза E–F, L = 36 см, возраст – 8+ лет, увеличение $\times 10$; 2 – фрагмент ооцита с мигрирующим ядром в начале гомогенизации, *крестиком* отмечен фолликулярный эпителий, *звездочкой* – студенистый слой; 3 – слияние желточных глобул, увеличение $\times 100$; 4 – гидратированный ооцит, подфаза E–F₁, L = 36 см, возраст – 7+ лет, увеличение $\times 10$

Рис. 12. Стадия V. Зрелые нерестовые самки
Fig. 12. Stage V. Mature spawning females

Микроскопическая картина. Репродуктивная ткань самок V стадии зрелости сформирована преимущественно гидратированными и овулированными, т.е. зрелыми, ооцитами. Первая группа представлена сравнительно крупными, правильной сферической формы клетками, матово-бесцветными, с однородным содержимым. Овулированные ооциты несколько мельче, неправильной округлой формы и прозрачно-желтоватые, с ооплазматическим сгустком на одном из полюсов (рис. 12). Диаметр зрелых клеток изменяется в пределах 820–1193 мкм, в среднем составляя 1009 мкм (см. рис. 3).

Среди преобладающей массы зрелых ооцитов встречаются и половые клетки резервного фонда. Они расположены очень компактно, как правило, ближе к стромере, на коротких и плотных яйценосных пластинах. Диаметр превителлогенных ооцитов лидирующей генерации колеблется от 154 до 294 мкм и в среднем равен 265 мкм.

Гистологический срез. Самки. К началу V стадии половые железы самок практически готовы к икрометанию. К этому моменту их генеративная ткань претерпевает значительные структурные изменения. Теперь она сформирована двумя основными группами половых клеток — превителлогенными и зрелыми или близкими к этому состоянию ооцитами (см. рис. 6, 12).

В отличие от предыдущих стадий, соотношение лидирующей линии превителлогенных клеток между оформленными ооцитами (фаза C) и последующими стадиями развития смещено в сторону последних. Так, на долю оформленных ооцитов приходится около 47,5 % всех половых клеток, на долю практически зрелых ооцитов — 51,2 %. Такая гистологическая структура является характерной особенностью генеративной ткани яичников именно нерестовых производителей.

На протяжении V стадии наиболее развитые ооциты проходят ряд последовательных преобразований. После полного заполнения вителлогенных ооцитов желтком в этих клетках начинается постепенная миграция ядра к анимальному полюсу с одновременной гомогенизацией нуклеарного и плазматического содержимого (подфаза E–F) (рис. 12). Такие клетки заключены в мощный студенистый хорион толщиной от 30 до 43 мкм, что в среднем составляет 5–6 % диаметра ооцита. Снаружи от студенистого слоя лежит однослойный фолликулярный эпителий, в клетках которого отмечается гипертрофированность ядра. Размеры ооцитов с мигрирующим ядром варьируют в пределах 600–700 мкм.

После гомогенизации клеточного содержимого в ооцитах начинается процесс гидратации — овариальная жидкость через каналы студенистого слоя поступает внутрь клетки. В результате такие ооциты значительно увеличиваются в размерах, а их студенистый хорион вследствие растяжения становится тоньше (подфаза E–F₁). Диаметр гидратированных ооцитов варьирует в пределах 611–820 мкм, в среднем составляя 740 мкм. Толщина студенистого слоя изменяется от 27 до 36 мкм, что в среднем не превышает 4,2 % диаметра половой клетки.

После гидратации такие ооциты овулируют в овариальную полость (фаза F) и могут быть выметаны во внешнюю среду. В этот период репродуктивную ткань самок формируют уже три типа половых клеток — единично появляются ооциты с вакуолизацией прикортикальной зоны (фаза D₁). На их долю приходится около 1 % всех ооцитов. Вакуоли очень мелкие, расположены в один, реже в два ряда. Диаметр этих клеток варьирует в диапазоне 154–203 мкм.

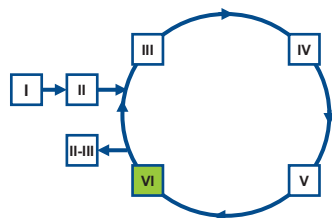
В целом на протяжении нерестового периода диаметр зрелых и близких к этому состоянию ооцитов колеблется от 600 до 850 мкм, среднее его значение равняется 689 мкм (см. рис. 4). Размеры резервных половых клеток лидирующей генерации, фазы однослойного фолликула (фаза C), изменяясь от 70 до 187 мкм, в среднем не превышают 126 мкм.

Самцы. У нерестовых самцов семенные каналы заполнены семенной жидкостью с многочисленными сперматозоидами. На срезах репродуктивной ткани отчетливо заметны потоки спермы (рис. 11).

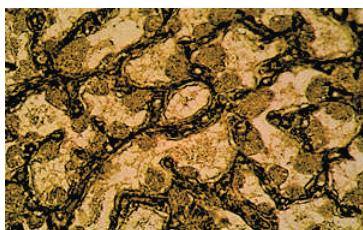
Соединительнотканые перегородки между септами в большинстве разрушены или значительно истончены. У повторно размножающихся производителей в пристеночной части септ отмечаются сперматогонии разных порядков.

Внешний вид половых желез. У северной двухлинейной камбалы стадия VI соответствует окончанию нереста и характеризует постепенное восстановление воспроизводительной системы рыб после акта размножения.

К моменту перехода к рассматриваемой стадии репродуктивные органы производителей значительно уменьшаются в объеме (рис. 13, 14). Яичники отнерестившихся самок плотно прилегают к уроневральным дугам туловищных позвонков. Железы опавшие и дряблые, с множественными гематомами. Внутри большой овариальной полости невооруженным глазом заметны невыметанные зрелые икринки. Цвет гонад варьирует от сизого до бордового. Покрывающая их строма довольно плотная, грубо структурированная, матово-белесого цвета.



Внешний вид восстанавливающихся семенников самца северной двухлинейной камбалы на стадии зрелости VI. L = 27,5 см, возраст – 7+ лет



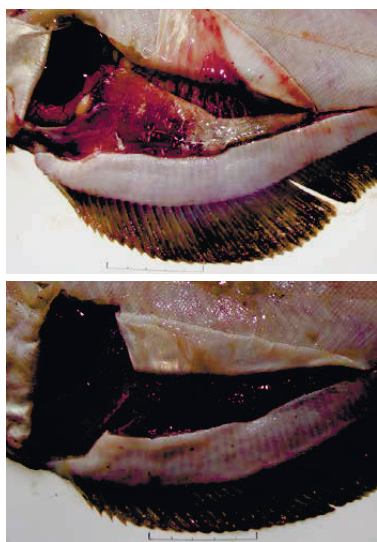
Гистологический срез репродуктивной ткани самца северной двухлинейной камбалы на VI стадии зрелости. На снимке – ткань семенника, в канальцах – остаточные спермии. L = 29 см, возраст – 7+ лет, увеличение ×20

Рис. 13. Стадия VI. Зрелые отнерестившиеся самцы
Fig. 13. Stage VI. Mature postspawning males

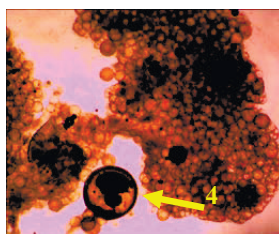
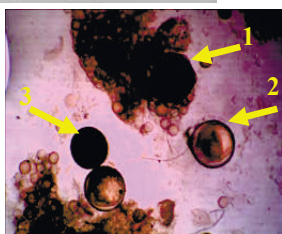
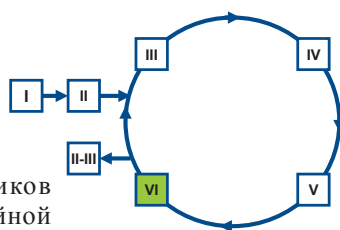
Впоследствии, в процессе регенерации, гонады вновь становятся плотными и упругими, сгустки крови и кровоподтеки исчезают, репродуктивная ткань приобретает прозрачный, слабо-оранжевый цвет. При этом поверхность все еще очень плотной стромы, покрывающей железы, пока остается матовой, что отличает яичники стадии VI от следующей циклической стадии — III.

Семенники отнерестившихся самцов также существенно уменьшены в объеме. Они утрачивают свою нежную структуру, поскольку покрывающая их соединительнотканная строма утолщается и загрубевает. Гонады приобретают грязно-розовый цвет опавших оттенков, на краевых участках они имеют молочно-белые включения — это остатки спермы. Репродуктивная ткань самцов в отличие от ткани самок достаточно быстро восстанавливается после нереста, и в короткое время они переходят в созревающее состояние.

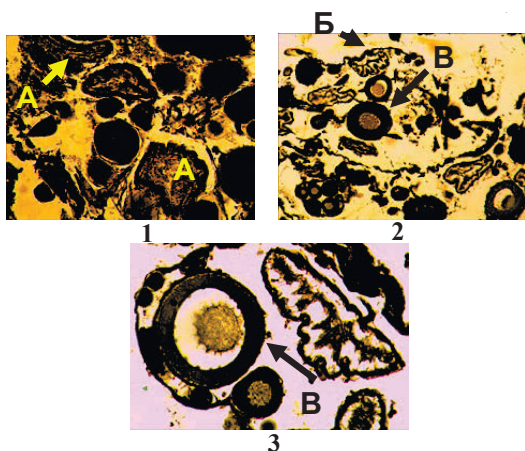
Микроскопическая картина. На VI стадии зрелости репродуктивная ткань яичников сложена в основном резервными клетками и представленными в незначительном количестве зрелыми ооцитами. Редко отмечаются разорванные фолликулярные оболочки или постовуляторные фолликулы.



Внешний вид яичников самок северной двухлинейной камбалы на стадии зрелости VI. Вверху – постнерестовые гонады, L = 40,0 см, возраст – 11+ лет; внизу – восстанавливающиеся гонады, L = 37,0 см, возраст – 7+ лет



Микроскопическая картина. Ооциты самок северной двухлинейной камбалы с гонадами на VI стадии зрелости. Слева – структура ткани яичника посленерестовой самки: 1 – деструкция ПОФ, 2 – гидратированные ооциты, 3 – овулированный ооцит, L = 35 см, возраст – 7+ лет, увеличение $\times 2$. Справа – ткань яичника восстанавливающейся после размножения самки: 4 – резорбирующий невыметанный ооцит, L = 38 см, возраст – 11+ лет, увеличение $\times 4$



Гистологический срез репродуктивной ткани самки северной двухлинейной камбалы на VI стадии зрелости: 1 – ткань яичника посленерестовой самки, A – резорбирующиеся невыметанные ооциты, L = 42 см, возраст – 12+ лет, увеличение $\times 10$; 2, 3 – ткань яичника самки, восстанавливающейся после нереста, L = 35 см, возраст – 7+ лет, B – резорбирующий ПОФ, B – вителлогенный ооцит фазы вакуолизации (фаза D₁), увеличение $\times 10$ (2), $\times 20$ (3)

Рис. 14. Стадия VI. Зрелые отнерестившиеся самки
Fig. 14. Stage VI. Mature postspawning females

Первая группа включает мелкие, без видимого ядра клетки и сравнительно более крупные, с хорошо заметным ядром, прозрачные ооциты грязно-оранжевого или желтого цвета. Диаметр этих клеток изменяется в пределах 122–420 мкм, в среднем составляя 286 мкм (см. рис. 3). Вторая фракция заметно менее многочисленна — это невыметанные в ходе нереста зрелые ооциты. Сразу после икротетания среди множества клеток следующих генераций присутствуют единичные гидратированные и овулированные ооциты.

В этот период гидратированные клетки имеют правильную сферическую форму, прозрачно-бесцветные, с бесструктурным сгустком внутри. Овулированные ооциты к этому моменту уже теряют прозрачность и приобретают темный цвет. Диаметр таких клеток варьирует от 828 до 1079 мкм. По мере восстановления яичников посленерестовых самок невыметанные зрелые ооциты резорбируются.

Гистологический срез. Гистологическая характеристика репродуктивной ткани отнерестившихся самок специфична в значительной степени. Преобладающая часть зрелых ооцитов выметана в ходе размножения, и теперь в яичнике такие клетки встречаются только единично, представляя около 13 % всех ооцитов (см. рис. 6).

К этой стадии гаметогенеза ткань железы сформирована половыми клетками преимущественно следующих генераций, в основном превителлогенными, доля которых составляет не менее 56 % (см. рис. 14). Диаметр клеток лидирующей линии, фазы однослойного фолликула (фаза C), колеблется от 57 до 209 мкм и в среднем равняется 116 мкм (см. рис. 4). Вместе с тем увеличивается количество появившихся еще на V стадии вакуолизированных ооцитов (фаза D₁) — почти до 9 %, средние размеры таких клеток остаются практически неизменными, варьируя в пределах 108–205 мкм.

Среди указанных ооцитов встречаются отдельные структуры, свидетельствующие о нормальном течении недавно прошедшего нереста самок. Это пустые фолликулярные оболочки, относительно всех половых клеток занимающие около 22 %. Как и невыметанные зрелые ооциты (подфаза E–F₁, фаза E), они подвергаются деструкции (атрезии) сразу после икрометания.

Самцы. У посленерестовых самцов основная часть сперматозоидов вместе с семенной жидкостью выметана. На срезах ткани семенников отмечаются лишь остаточные спермии, которые подвергаются постепенной деструкции (см. рис. 13). В этом процессе главное значение, вероятно, имеют клетки соединительной ткани канальцев и септ, для которых в рассматриваемый период характерно значительное увеличение размеров. Вместе с тем семенные канальцы, расположенные в центральной зоне и ближе к выводным протокам, практически полностью свободны от сперматозоидов, тогда как в канальцах краевой и дистальной частей половых желез их сравнительно больше.

В пристеночной части фолликулярного эпителия, значительно утолщенного за счет его разрастания, присутствуют многочисленные сперматиды и сперматогонии.

Заключение

Исследования показали, что в течение репродуктивного цикла гонады самцов и самок северной двухлинейной камбалы проходят ряд последовательных стадий, характеризующихся определенным качественным и количественным составом и размерами половых клеток и структурой половых желез. Каждому из выделенных наборов признаков, как для самцов, так и для самок, соответствует визуально легко диагностируемое внешнее состояние гонад, свидетельствующее о протекающих в них процессах созревания.

Выполненное подробное описание этих стадий на анатомическом, микроскопическом и гистологическом уровнях впоследствии послужит основой для разработки шкалы стадий зрелости для северной двухлинейной камбалы.

По результатам гистологического анализа впервые для самок данного вида дополнительно выделяется стадия II–III, которая объединяет половозрелых особей, не принимающих участие в предстоящем сезоне размножения.

Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории морских исследований лососей КамчатНИРО С.Б. Городовской и А.С. Сушкевич за участие в обучении и неоценимую помощь при подготовке гистологических препаратов и консультации в ходе исследований, а также бывшим и нынешним сотрудникам лаборатории морских промысловых рыб КамчатНИРО за помощь в круглогодичном сборе и обработке первичных материалов в 2011 г.

Список литературы

- Алексеев Ф.Е., Алексеева Е.И.** Определение стадий зрелости гонад и изучение половых циклов, плодовитости, продукции икры и темпа полового созревания у морских промысловых рыб : метод. пособие. — Калининград : АтлантНИРО, 1996. — 75 с.
- Волкова О.В., Елецкий Ю.К.** Основы гистологии с гистологической техникой : учеб. — М. : Медицина, 1982. — 304 с.
- Дроздов А.Л., Иванков В.Н.** Морфология гамет животных. Значение для систематики и филогенетики : моногр. — М. : Круглый год, 2000. — 460 с.
- Дубинина А.Ю., Золотов А.О.** Атрезия ооцитов северной двухлинейной камбалы *Lepidopsetta polyxystra* (Pleuronectiformes, Pleuronectidae) тихоокеанских вод Камчатки // Изв. ТИНРО. — 2015. — Т. 180. — С. 99–106.
- Дубинина А.Ю., Золотов А.О.** Плодовитость и созревание северной двухлинейной камбалы *Lepidopsetta polyxystra* Orr et Matarese (2000) тихоокеанского шельфа Камчатки // Изв. ТИНРО. — 2013. — Т. 172. — С. 119–132.
- Золотов А.О., Захаров Д.В.** Камбалы тихоокеанского побережья Камчатки: запасы и промысел // Рыб. хоз-во. — 2008. — № 3. — С. 44–47.
- Иванков В.Н.** Закономерности формирования конечной плодовитости у рыб с порционным икрометанием на примере южного одноперого терпуга *Pleurogrammos azonus* (Jordan et Metz) и серебряного карася *Carassius auratus gibelio* (Bloch.) // Вопр. ихтиол. — 1976. — Т. 16, вып. 1. — С. 63–69.
- Иванков В.Н., Иванкова З.Г., Волкова Т.Н.** Типы икрометания и сроки нереста камбал залива Петра Великого // Учен. зап. ДВГУ. — 1972. — Т. 60. — С. 49–61.
- Иванков В.Н., Курдяева В.П.** Систематические различия и экологическое значение строения оболочек яйцеклеток рыб // Вопр. ихтиол. — 1973. — Т. 13, вып. 6. — С. 1035–1045.
- Иванков В.Н., Платошина Л.К., Иванкова З.Г.** Определение величины резервного фонда половых клеток и доли желтковых ооцитов в яичниках полициклических рыб в период созревания // Биол. моря. — 1996. — Т. 22, № 5. — С. 315–317.
- Полутов В.И.** О темпе созревания и соотношении полов двухлинейной камбалы Кроноцкого залива // Исслед. по биол. рыб и пром. океанографии. — Владивосток : ТИНРО, 1975. — Вып. 6. — С. 76–81.
- Сергеева Н.П., Варкентин А.И.** Закономерности полового созревания, половой цикл и шкала стадий зрелости гонад тихоокеанской трески (*Gadus macrocephalus*) // Исслед. водн. биол. ресурсов Камчатки и сев.-зап. части Тихого океана : сб. науч. тр. КамчатНИРО. — 2016. — Вып. 42. — С. 5–31. DOI: 10.15853/2072-8212.2016.42.5-31.
- Сергеева Н.П., Варкентин А.И., Буслов А.В.** Закономерности полового созревания, половой цикл и шкала стадий зрелости гонад минтая (*Theragra chalcogramma*) // Исслед. водн. биол. ресурсов Камчатки и сев.-зап. части Тихого океана : сб. науч. тр. КамчатНИРО. — 2011а. — Вып. 23. — С. 33–69.
- Сергеева Н.П., Варкентин А.И., Буслов А.В.** Шкала стадий зрелости гонад минтая. Методическое пособие. — Петропавловск-Камчатский : КамчатНИРО, 2011б. — 92 с.
- Швецов Ф.Г.** Размножение двухлинейной камбалы *Lepidopsetta bilineata bilineata* (Ayres) в районе охотоморского побережья островов Парамушир и Шумшу // Вопр. ихтиол. — 1979. — Т. 19, вып. 5. — С. 261–264.
- Abookire A.A.** Reproductive biology, spawning season, and growth of female rex sole (*Glyptocephalus zachirus*) in the Gulf of Alaska // Fish. Bull. — 2006. — Vol. 104. — P. 350–359.
- Bowering W.R.** Age, growth, and sexual maturity of Greenland halibut, *Reinhardtius hippoglossoides* (Walbaum), in the Canadian Northwest Atlantic // Fish. Bull. — 1983. — Vol. 81, № 3. — P. 599–611.
- Howell H.W.** Seasonal changes in the ovaries of adult yellowtail flounder, *Limanda ferruginea* // Fish. Bull. — 1983. — Vol. 81, № 2. — P. 341–355.
- Howell H.W., Kesler D.H.** Fecundity of the southern New England stock of Yellowtail flounder, *Limanda ferruginea* // Fish. Bull. — 1977. — Vol. 75, № 4. — P. 877–880.
- Hunter J.R., Macewicz B.J., Chyan-huel Lo N., Kimbrell C.A.** Fecundity, spawning, and maturity of female Dover sole *Microstomus pacificus*, with an evaluation of assumptions and precision // Fish. Bull. — 1992. — Vol. 90, № 1. — P. 101–128.
- Johnson L.L., Sol S.Y., Lomax D.P. et al.** Fecundity and egg weight in English sole, *Pleuronectes vetulus*, from Puget Sound, Washington: influence of nutritional status and chemical contaminants // Fish. Bull. — 1997. — Vol. 95, № 2. — P. 231–249.
- Narimatsu Y., Kitagawa D., Hattori T., Onodera H.** Reproductive biology of female Rikuzen sole (*Dexistes rikuzenius*) // Fish. Bull. — 2005. — Vol. 103, № 4. — P. 635–647.

Nichol D.G. Effects of geography and bathymetry on growth and maturity of yellowfin sole, *Pleuronectes asper*, in the eastern Bering Sea // Fish. Bull. — 1997. — Vol. 95, № 3. — P. 494–503.

Nichol D.G., Acuna E.I. Annual and batch fecundities of yellowfin sole, *Limanda aspera*, in the eastern Bering Sea // Fish. Bull. — 2001. — Vol. 99, № 1. — P. 108–122.

Orr J.W., Matarese A.C. Revision of the genus *Lepidopsetta* Gill, 1862 (Teleostei Pleuronectidae) based on larval and adult morphology, with a description of a new species from the North Pacific Ocean and Bering Sea // Fish. Bull. — 2000. — Vol. 98, № 3. — P. 539–582.

Rickey M.H. Maturity, spawning, and seasonal movement of arrowtooth flounder, *Atheresthes stomias*, off Washington // Fish. Bull. — 1995. — Vol. 93, № 1. — P. 127–138.

Stark J.W. Age- and length-at-maturity of female arrowtooth flounder (*Atheresthes stomias*) in the Gulf of Alaska // Fish. Bull. — 2008. — Vol. 106, № 3. — P. 328–333.

Stark J.W., Somerton D.A. Maturation, spawning and growth of rock soles off Kodiak Island in the Gulf of Alaska // J. Fish. Biol. — 2002. — Vol. 61, Iss. 2. — P. 417–431. DOI: 10.1111/j.1095-8649.2002.tb01574.x.

Zimmermann M. Maturity and fecundity of arrowtooth flounder, *Atheresthes stomias*, from the Gulf of Alaska // Fish. Bull. — 1997. — Vol. 95, № 3. — P. 598–611.

Поступила в редакцию 23.10.17 г.

Принята в печать 23.10.17 г.