

К. Е. Федоров, Ю. К. Кузнецов

ОЦЕНКА СТРУКТУРЫ И ОБЪЕМА РЕЗЕРВНОГО ФОНДА ООЦИТОВ У РЫБ

Впервые на одном и том же материале тремя различными способами была проведена оценка структуры запасного фонда ооцитов в гонадах молоди радужной форели. Для этого на серийных гистологических срезах подсчитывали все превителлогенные ооциты по трем методикам, описание которых содержится в тексте. Сопоставление полученных данных позволило рекомендовать для широкого использования сравнительно простой, малотрудоемкий и обеспечивающий достаточную точность анализа способ определения абсолютной и относительной численности ооцитов разных генераций в яичниках рыб. Это даст возможность получать массовый материал, доступный для статистического анализа и сравнения с данными других исследователей. Данные об относительной численности ооцитов разных групп и числе ооцитов старшей генерации в навеске яичника позволяют определить структуру и объем резервного фонда ооцитов во всем объеме гонад. Библиогр. 30 назв. Ил. 2. Табл. 1.

Ключевые слова: рыбы, ооциты, резервный фонд, способы оценки.

ESTIMATION OF STRUCTURE AND VOLUME OF THE RESERVE FUND OF OOCYTES IN FISH

K. E. Fedorov, Yu. K. Kuznetsov

St. Petersburg State University, Oranienbaumskoe chaussee, 2, Petergof, 198504, Russian Federation; fedorov-1939@mail.ru; alevtina.1938@mail.ru

Three different methods of determining the structure of the reserve fund of oocytes in ovaries of juvenile rainbow trout have been used for the first time. For this purpose the calculation of all previtellogenic oocytes was accomplished on series of microscopic sections using three methods described in the text. The results obtained are comparable. We recommended the more simple and less time-consuming of the two for calculation of absolute and relative quantity of oocytes of different generations in fish ovaries. The proposed method produces adequately accurate data applicable for statistical analysis and comparable with the results of other researchers. The data concerning relative quantity of different groups of oocytes and quantity of oldest oocyte generations in the ovary batch permit to determine the structure and the total volume of oocyte reserve fund in both gonads. Refs 30. Figs 2. Tables 1.

Keywords: fishes, oocytes, reserve fund, methods of calculation.

Введение

Основные особенности функционирования воспроизводительной системы и динамики численности рыб закладываются в ходе гонадо- и гаметогенеза. Исключительно важную роль при этом играют ранние превителлогенные этапы оогенеза. Именно в этот период детерминируются пол особей, моно- или полициклический тип их размножения, прерывистый или непрерывный способ формирования фонда ооцитов для предстоящего нереста и темп полового созревания. Об исключительно важной роли превителлогенных этапов оогенеза в достижении половой зрелости рыб свидетельствует тот факт, что общая продолжительность этих этапов может составлять у разных видов рыб от 20 до 90% от времени достижения самками половозрелости.

К. Е. Федоров (fedorov-1939@mail.ru), Ю. К. Кузнецов (alevtina.1938@mail.ru): Санкт-Петербургский государственный университет, Российская Федерация, 198504, Петергоф, Ораниенбаумское шоссе, 2.

Совокупность превителогенных ооцитов представляет собой резервный (запасный) фонд, который реализуется лишь частично в ходе очередного нереста. У полициклических рыб он значительно превышает расходный фонд, т.е. фонд вителлогенных ооцитов, что считается важной адаптацией, обеспечивающей надежность и стабильность их воспроизводительной функции [1]. Соотношение процессов ускорения и замедления развития превителогенных ооцитов определяет два важнейших параметра резервного фонда — его структуру и объем. Ход процессов его формирования, расходования и пополнения является ключевой и малоизученной проблемой репродуктивной физиологии рыб. Сложность ее решения обусловлена, в частности, отсутствием общепринятой методики оценки объема и структуры резервного фонда превителогенных ооцитов.

Наиболее простым методом оценки структуры резервного фонда является подсчет ооцитов разных размерных групп на одном или нескольких срезах яичника (способ 1). Этот способ может быть с успехом использован для сравнения состояния яичников у близких по возрасту рыб, различающихся по тем или иным характеристикам или условиям обитания (содержания). Однако такой подсчет приводит к ошибке, в результате которой искусственно завышается число ооцитов старшей группы и занижается число клеток более ранних стадий развития [2]. Это, в свою очередь, приводит к искажению в оценке структуры и объема резервного фонда ооцитов в яичниках.

Чтобы избежать подобных искажений, ряд исследователей-ихтиологов приняли на вооружение точный, но очень трудоемкий способ, который был использован для подсчета соматических клеток [3, 4]. Подсчет превителогенных ооцитов производят либо на всех серийных срезах целого яичника у молоди рыб [5, 6], либо на серийных срезах кусочка (навески) гонады [7–9]. И в том, и в другом случаях анализируют сотни серийных срезов яичника.

С. Б. Подушка [10], а также О. Ф. Сакун и Е. В. Гуреева-Преображенская [11] предложили иную, более простую методику анализа структуры резервного фонда и числа ооцитов, исходя из предположения, что истинное число ооцитов разных размерных групп или фаз развития в *объеме* гонады во столько раз больше наблюдаемого на ее *срезах*, во сколько раз их диаметр меньше диаметра самого крупного ооцита. Этот подход был использован С. Б. Подушкой [10] при подсчете *вителлогенных* ооцитов. О. Ф. Сакун и Е. В. Гуреева-Преображенская [11] применили эту методику (способ 2) при анализе структуры резервного фонда и численности именно *превителлогенных* ооцитов. Поскольку авторы не сравнивали результаты собственных подсчетов с данными других исследователей резервного фонда ооцитов у рыб, вопрос о точности полученных ими оценок оставался открытым.

Среди способов количественных морфологических исследований важное место занимают методы, основанные на принципах стереологии. Один из основополагающих принципов стереологии был сформулирован М. Делисс (Delesse, 1897, цит. по [12]): отношение площадей, занимаемых отдельными минералами в каком-либо сечении образца горной породы, пропорционально объемам этих минералов в породе. Методический подход на этой основе (например, использование окулярных решеток с регулярным или случайным шагом) был с успехом использован в различных цитологических и гистофизиологических и электронно-микроскопических исследованиях [13–18].

В последние годы этот подход с применением современных средств был использован для автоматического измерения и подсчета *вителлогенных* ооцитов на гистологических срезах яичников и оценки индивидуальной плодовитости рыб с различной

стратегией воспроизводства. Полученные таким образом данные были близки к оценкам плодовитости, рассчитанным стандартными (весовым и объемным) методами [19–21]. Однако такие варианты использования стереологического подхода (способ 3) оказываются весьма трудоемкими при исследовании структуры резервного фонда — совокупности *превителлогенных* ооцитов разных генераций. Это связано со сложностью идентификации ооцитов различных размерных групп на их латеральных сечениях. Соответствующую идентификацию может осуществить только сам исследователь, просматривая серийные срезы каждой клетки.

Таким образом, как видно из обзора применяемых исследователями подходов, все они основываются на некоторых допущениях о структуре ткани гонад и имеют как достоинства, так и недостатки. Задачей настоящей работы было сопоставление трех различных вариантов оценки структуры резервного фонда на одном и том же материале с тем, чтобы по результатам такого сравнения предложить наиболее простой, не требующий больших затрат времени и достаточно точный способ для того, чтобы использовать его в ходе дальнейших исследований.

Материал и методика

Были исследованы яичники девяти неполовозрелых годовиков радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*), выращенных в садках Федерального селекционно-генетического центра рыбоводства в пос. Ропша Ленинградской обл. Половые железы были зафиксированы в жидкости Буэна, обезвожены и заключены в парафин-воск. Серийные срезы гонад толщиной 7 мкм окрашивали железным гематоксилином по Гейденгайну. Предварительный просмотр препаратов показал, что основная масса половых клеток у изученных рыб представлена ооцитами периода превителлогенеза.

Подсчет превителлогенных ооцитов на гистологических срезах затруднен в связи с тем, что их фонд состоит из нескольких контингентов клеток, различающихся только по размерам, но не имеющих отличий по морфологии цитологических структур у большинства рыб. Подсчет клеток проводили тремя различными способами.

Способ 1. На гистологическом срезе подсчитывали только те ооциты, в которых представлено ядро клетки, а ядрышки располагаются в основном вдоль кариолеммы, что является надежным признаком того, что срез близок к центральному и ооцит условно попадает в определенную размерную группу. В случае затруднения с отнесением клетки в ту или иную размерную группу определяли наибольший ее размер на соседних срезах. Размер ооцитов вычисляли как полусумму длинного и короткого диаметров сечения клетки, которое чаще всего имело форму эллипса. Подсчет продолжали до тех пор, пока общее число измеренных ооцитов было не менее 150–200. Для выполнения этого условия приходилось иногда просматривать несколько срезов. В этом случае, чтобы избежать повторного подсчета одних и тех же ооцитов, пропускали необходимое число срезов. После идентификации и подсчета всех клеток определяли процентное соотношение ооцитов каждой из размерных групп.

Способ 2. Используя полученные способом 1 данные, проводили перерасчет числа ооцитов, подсчитанных на плоскости одного или нескольких срезов, на их число уже в объеме среза яичника толщиной, равной среднему диаметру ооцитов старшей генерации, т. е. самых крупных. Для перерасчета использовали формулу (1), предложенную О. Ф. Сакун и Е. В. Гуреевой-Преображенской [11]:

$$N_i = n_i \times \frac{D_{\max}}{D_i}, \quad (1)$$

где N_i — истинное число ооцитов i -й группы в объеме среза яичника толщиной, равной среднему диаметру ооцитов старшей генерации; n_i — число ооцитов i -й группы, учтенных на поверхности исследованных срезов; D_i — средний диаметр ооцитов i -й размерной группы; D_{\max} — средний диаметр ооцитов старшей генерации.

С помощью данной формулы вычисляли общее число клеток и относительное количество ооцитов каждой размерной группы (в %). Затем полученные данные использовались для расчета объема запасного фонда в яичниках.

Способ 3. Реализуемый в этом случае подход основывался на приведенном выше фундаментальном положении стереологии о пропорциональности площади структур, выявляемых на срезе, объему этих же структур в объекте исследования. Поэтому в данном случае на гистологическом срезе определяли не число ооцитов, а площади как центральных, так и всех других встречающихся сечений ооцитов разных размерных групп. Площадь их сечения находили по формуле площади эллипса. На выбранных срезах учитывали все без исключения ооциты. В необходимых случаях для установления того, к какой размерной группе должен быть отнесен ооцит с данным сечением, просматривали определенное число предыдущих или последующих серийных срезов. По результатам измерений определяли суммарную площадь всех сечений клеток каждой группы и вычисляли их процентное соотношение. Таким же, исходя из принципов стереологии, должно быть соотношение объемов ооцитов этих групп в яичнике и, в частности, в объеме среза яичника толщиной, равной среднему диаметру ооцитов старшей генерации.

Чтобы перейти от соотношения объемов разных групп ооцитов к числу половых клеток, составляющих эти объемы, пользовались формулой (2), которая была выведена из соотношения суммарных объемов и средних диаметров ооцитов i -й группы и ооцитов старшей генерации:

$$N_i = \frac{D_n^3}{D_i^3} \times \frac{F_i}{F_n}, \quad (2)$$

где N_i — число, D_i — средний диаметр ооцитов i -й группы; D_n — средний диаметр ооцитов старшей генерации (n -й группы); F_i , F_n — относительная величина суммарных объемов ооцитов i -й и n -й групп в процентах от суммы объемов ооцитов всех размерных групп. С помощью этой формулы рассчитывали численность ооцитов каждой размерной группы в объеме среза яичника толщиной, равной среднему диаметру ооцитов старшей генерации (D_n).

Получив суммарное количество ооцитов всех размерных групп, вычисляли их относительную численность (в %) в данном ограниченном объеме гонады. Предполагалось, что такой же будет относительная численность ооцитов разных размерных групп в яичниках в целом.

Для оценки объема резервного фонда использовали несколько измененную нами методику О. Ф. Сакун и Е. В. Гуреевой-Преображенской [11]. Извлеченную из жидкости Буэна гонаду промывали в дистиллированной воде, слегка подсушивали на фильтровальной бумаге и под бинокулярным микроскопом вырезали из ее средней части небольшой

кусочек ткани так, чтобы разрезы прошли параллельно яйценосным пластинкам. Отпрепарированный таким образом кусочек взвешивали на аналитических весах с точностью до 0,1 мг. Чтобы снизить прочность соединительнотканной теки овариальных фолликулов и стромальной ткани гонад, навески на 5–7 суток помещали в 0,1%-ный раствор пепсина в 0,2%-ном растворе соляной кислоты и ставили в термостат на 37°C. Смену среды инкубации и контроль за разрушением покровной оболочки яичника проводили ежедневно. После окончания обработки остатки оболочек удаляли, навеску обезвоживали в спиртах, заключали в каплю касторового масла на предметном стекле и препарировали так, чтобы яйценосные пластинки и половые клетки располагались в один слой.

Измерив по 20 самых крупных ооцитов с помощью стереоскопического микроскопа на тотальном препарате и обычного микроскопа на гистологическом срезе той же гонады, вычисляли их средние диаметры в делениях окуляр-микрометра. Сопоставляя средние величины диаметров крупных ооцитов, измеренных под тем и другим микроскопом, и зная цену деления окуляр-микрометра обычного микроскопа, устанавливали цену деления окуляр-микрометра стереоскопического микроскопа в микрометрах и в соответствии с ней уточняли диапазон размеров ооцитов самой старшей размерной группы. С учетом этого диапазона подсчитывали все ооциты старшей генерации в навеске. Зная относительную (в %) численность ооцитов старшей генерации, подсчитанную на срезах способом 2, определяли общее число превителлогенных ооцитов и число ооцитов разных размерных групп в навеске, после чего производили пересчет на общий вес гонад, определив таким образом и объем всего резервного фонда, и число ооцитов в отдельных размерных группах.

Результаты и обсуждение

Предварительный просмотр препаратов показал, что гонады изученных рыб находились на II стадии зрелости, а фонд превителлогенных ооцитов составляли клетки четырех размерных групп (диаметром от 20 до 160 мкм). Используя каждый из трех описанных выше способов, находили процентные соотношения ооцитов всех размерных групп. Сравнение полученных результатов (рис. 1) показывает близкое сходство оценок процентного соотношения ооцитов разных размерных групп, полученных вторым и третьим способами, и значительное отклонение от результатов каждого из них при использовании первого способа. В последнем случае, как видно из приведенных данных, существенно занижалась доля самых молодых ооцитов (I группы) и, наоборот, завывшалась относительная численность ооцитов III–IV групп по сравнению с двумя другими способами оценки.

Для статистической оценки данных, полученных тремя описанными выше способами, был проведен их анализ с использованием метода непараметрического многомерного шкалирования (nonparametric multidimensional scaling, nMDS) по матрице Эвклидовых расстояний [22]. Достоверность выявленных таким образом дистанций между данными разных способов подсчета определялась при помощи дополнительной процедуры анализа сходства ANOSIM (analysis of similarities) [23]. По результатам теста ANOSIM, приведенным на рис. 2, данные об относительной численности превителлогенных ооцитов, полученные способами 2 и 3, достоверно не отличались ($p = 1$), тогда как эти же данные с высокой степенью достоверности ($p = 0,0108$) отличались от результатов подсчета непосредственно на срезе гонад (способ 1).

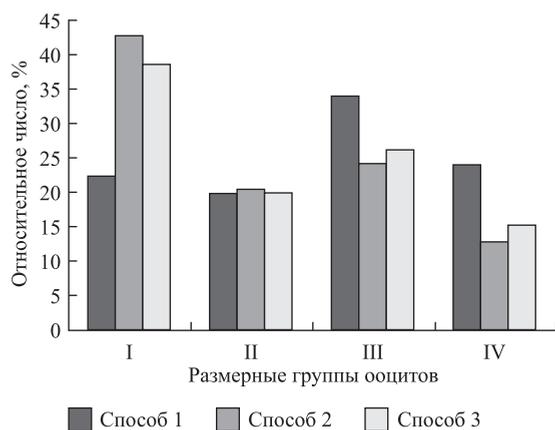


Рис. 1. Процентные соотношения ооцитов различных размерных групп в гонаде годовика радужной форели (№ 06–99), определенные по гистологическим препаратам тремя различными способами

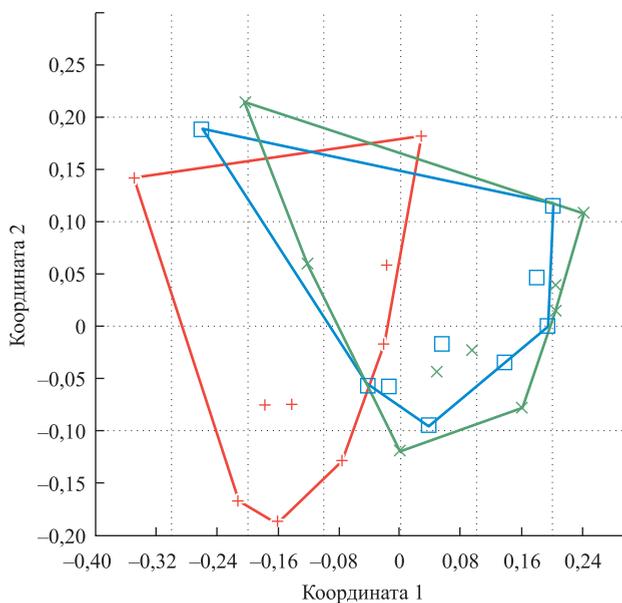


Рис. 2. Ординация данных по относительной численности ооцитов у годовиков радужной форели методом непараметрического многомерного шкалирования (nMDS)

По осям абсцисс и ординат — условные координаты 1 и 2 соответственно.

+ — способ 1; x — способ 2; □ — способ 3.

Результат такого сравнительного анализа свидетельствует о том, что один только подсчет ооцитов на плоскости одного или нескольких срезов не позволяет получить достоверных данных об их соотношении в объеме гонады. Это заключение согласуется с мнениями других исследователей [2, 24]. Корректировка данных подсчета на срезе (или нескольких срезах) гонады ранее описанным способом [11] позволяет получить

гораздо более точные оценки относительной численности ооцитов, совпадающие с результатами, которые дает использование третьего, значительно более трудоемкого способа, основанного на положениях стереологии. Такая согласованность подтверждает предположение авторов второго способа об обратной связи между диаметром и численностью превителлогенных ооцитов в гонадах молоди рыб [11]. Учитывая относительно малую трудоемкость, простоту, хорошо разработанную технологию и достаточно высокую точность полученных результатов, можно рекомендовать второй способ для широкого использования при оценке структуры и объема запасного фонда ооцитов. Это позволило бы проводить исследование массового, т.е. доступного для статистического анализа, материала на разных видах рыб, в том числе отличающихся биологией размножения.

С использованием данных о процентном соотношении ооцитов в объеме гонады и результатов подсчета ооцитов старшей генерации в навеске фиксированного яичника были рассчитаны величины абсолютной и относительной численности ооцитов резервного фонда у восьми годовиков форели (таблица).

Отбрасывая крайние значения, можно считать, что объем резервного фонда у годовиков радужной форели варьировал от 23 до 66 тыс. ооцитов. В пересчете на 1 мм длины тела это составляет от 0,12 до 0,43 тыс.

Близкие данные по объему резервного фонда превителлогенных ооцитов у годовиков радужной форели, полученные с использованием второго способа, приводит Ю. К. Кузнецов и соавторы [7]. Так, у самок размером 131–182 мм абсолютная численность ооцитов варьировала в среднем от 30 до 51 тыс., а относительная — от 0,16 до 0,39 тыс./мм длины рыбы. При этом следует отметить некоторые различия в методике. Авторы подразделили запасный фонд на пять групп, выделяя эти группы не по размерам клеток, а по морфологии особого цитоплазматического образования — циркум-нуклеарной зоны. К сожалению, это образование выявляется только у немногих видов рыб или носит сезонный характер [25–28].

Для сравнения приведем аналогичные данные по абсолютной и относительной численности ооцитов на единицу длины у других видов рыб. У молоди тихоокеанской сардины — иваси, *Sardinops melanostictus* (I–II стадия зрелости яичников), объем всего резервного фонда превителлогенных ооцитов варьировал от 158 до 526 тыс., а их относительное число — от 0,78 до 2,0 тыс./мм. У близкой по состоянию гонад молоди сайры, *Cololabis saira*, абсолютная численность ооцитов резервного фонда варьировала от 55 до 200 тыс., а относительная в сравнимых пределах — от 0,23 до 0,63 тыс./мм [29]. Значительно выше эти показатели были у годовиков трески [9]. Так, у балтийской трески, *Gadus morhua callarias*, объем резервного фонда у особи длиной 11,5 см был 1188 тыс., а у рыбы длиной 30 см — 17 090 тыс. Относительная численность превителлогенных ооцитов составляла от 13,5 до 32,3 тыс./мм.

Интересно отметить, что высокой относительной численности ооцитов резервного фонда балтийской трески соответствует чрезвычайно высокая абсолютная индивидуальная плодовитость ее половозрелых самок, средняя величина которой свыше 12 млн икринок [30]. Между тем у половозрелых самок радужной форели средняя плодовитость около 4 тыс., у сайры — 14,5 тыс., а у тихоокеанской сардины — 58 тыс. икринок. Таким образом, сравнительно небольшой относительной численности превителлогенных ооцитов на единицу длины этих рыб соответствует и небольшая абсолютная плодовитость.

Основные морфобиологические показатели исследованных самок радужной форели и абсолютная и относительная численность превителлогенных ооцитов

Номер рыбы	Длина рыбы, мм	Масса рыбы, г	Масса гонады, мг	Масса навески, мг	Кол-во ОСГ* в навеске		Общее количество всех ооцитов в яичнике				
					всего, шт.	в % от числа всех ооцитов	в навеске, шт.	абсолют. кол-во, тыс. шт.	относительное кол-во		
								тыс. шт./г массы тела	тыс. шт./мм длины тела		
06-100	180	55	29,0	3,4	98	5,9	661	14,17	0,258	0,095	
06-102	175	56	29,0	2,7	42	0,71	5915	63,53	1,134	0,363	
06-104	178	61	34,0	3,7	174	7,0	2486	22,84	0,091	0,126	
06-135	177	57	26,0	3,3	127	1,5	8467	66,71	1,170	0,377	
09-13	185	66,7	70,5	3,9	13	0,5	2600	47,00	0,705	0,254	
09-18	166	52,7	39,1	1,7	150	12,9	1163	26,75	0,508	0,161	
09-19	177	58,1	59,1	3,2	54	1,3	4154	26,72	1,320	0,433	
09-22	153	38,5	39,0	1,7	29	4,7	617	14,15	0,367	0,095	

* Ооциты старшей генерации (группы II).

Заключение

Для определения объема и динамики резервного фонда ооцитов очень важное значение имеет точность оценки его структуры — процентного соотношения ооцитов различных размерных групп или фаз (ступеней) развития.

Наименее трудозатратный и эффективный способ оценки этого показателя — сочетание прямого подсчета половых клеток по центральным или близким к ним сечениям на срезе или нескольких далеко отстоящих друг от друга срезах яичника и последующей корректировки полученной численности клеток по методу О. Ф. Сакун и Е. В. Гуреевой-Преображенской [11]. Полученные таким образом данные оказываются очень близки к тем, которые можно получить точным, но значительно более трудоемким методом анализа, основанным на стереологической закономерности о взаимосвязи распределения структур на поверхности среза и в объеме ткани.

Подсчет ооцитов старшей генерации (размерной группы) на тотальном препарате, приготовленном из точно взвешенной и определенным образом обработанной пепсином навески гонады, при последующем пересчете полученных данных позволяет установить абсолютную численность ооцитов различных размерных групп и объем всего резервного фонда.

* * *

Авторы выражают особую признательность профессору Н. В. Максимовичу и младшему научному сотруднику кафедры ихтиологии и гидробиологии СПбГУ Е. А. Генельт-Яновскому за помощь в проведении соответствующих расчетов и интерпретации их результатов.

Литература

1. Персов Г. М. Надежность функционирования воспроизводительной системы рыб // *Вопр. ихтиол.* 1972. Т. 12, вып. 2 (73). С. 258–272.
2. Травкина Г. Л. Влияние гормонов гипофиза и повышенной температуры на пополнение фонда ооцитов у ерша, *Acerina cernua* L. (*Teleostei*) // *Докл. АН СССР.* 1971. Т. 201, № 4. С. 1006–1008.
3. Abercrombie M. Estimation of nuclear population from microtome sections // *Anat. Rec.* 1946. Vol. 94. P. 239–247.
4. Marrable A. W. The counting of cells and nuclei in microtome sections // *Quart. J. Microsc. Sci.* 1962. Vol. 103, N 3. P. 331–347.
5. Персов Г. М. Дифференцировка пола и становление индивидуальной плодовитости у рыб: дис. ... д-ра биол. наук. Л.: Ленингр. ун-т, 1969. 412 с.
6. Персов Г. М. Дифференцировка пола у рыб. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1975. 148 с.
7. Кузнецов Ю. К., Мосягина М. В., Насека А. М. О формировании фонда ооцитов у моно- и полициклических лососевых рыб // *Вестн. С.-Петерб. ун-та. Сер. 3: Биология.* 1997. Вып. 3 (№ 17). С. 8–30.
8. Травкина Г. Л. Влияние гонадотропных и половых гормонов на динамику развития половых клеток при переходе самок ерша, *Acerina cernua* L., в нерестовое состояние: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л.: Ленингр. ун-т, 1974. 23 с.
9. Широкова М. Я. Особенности полового созревания самок балтийской трески *Gadus morhua callarias* L. // *Вопр. ихтиол.* 1977. Т. 17, вып. 4. С. 650–658.
10. Подушка С. Б. Экспериментальный анализ сезонности размножения плотвы и трехиглой колюшки в связи с эколого-физиологической периодизацией овогенеза костистых рыб: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л.: Ленингр. ун-т, 1976. 20 с.
11. Сакун О. Ф., Гуреева-Преображенская Е. В. Количественный анализ функции яичников у рыб: методические указания. СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 1992. 14 с.
12. Глаголев А. А. О геометрическом методе количественного минералогического анализа горных пород // *Тр. Ин-та прикладной минералогии.* М.; Л., 1933. № 59. С. 47–62.

13. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: руководство. М.: Медицина, 1990. 383 с.
14. Аветисова Л.В., Стефанов С.Б. Применение морфометрии в исследовании биологических объектов // Биологические науки. 1979. № 4. С. 103–111.
15. Стефанов С.Б. Морфометрическая сетка случайного шага как средство ускоренного измерения элементов морфогенеза // Цитология. 1974а. Т. 16, № 6. С. 785–787.
16. Стефанов С.Б. Окулярная вставка для полных стереологических измерений микроскопических объектов // Цитология. 1974б. Т. 16, № 11. С. 1439–1440.
17. Шахламов В.А. Количественный электронно-микроскопический анализ в современной цитологии // Архив анат., гистол. и эмбриол. 1968. Т. 54, № 6. С. 89–95.
18. Weibel E. R. Practical stereological methods for morphometric cytology // J. Cell. Biol. 1966. Vol. 3, N 1. P. 23–38.
19. Emerson L. C., Walker M. G., Witthames P. R. A stereological method for estimating fish fecundity // J. Fish. Biol. 1990. Vol. 36. P. 721–730.
20. Procedures to estimate fecundity of marine fish species in relation to their reproductive strategy / Murua G., Kraus G., Saborido-Rey F., Witthames P. R., Thorsen A., Junquera S. // J. Northw. Atl. Fish. Sci. 2003. Vol. 33. P. 33–54.
21. Thorsen A., Kjesbu O. S. A rapid method for estimation of oocytes size and potential fecundity in Atlantic cod using a computer-aided particle analysis system // J. Sea Res. 2001. Vol. 46. P. 295–308.
22. Hammer W., Harper D. A. T., Ryan P. D. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis // Palaeontologia Electronica. 2001. N 4 (1). 9 p.
23. Clarke K. R. Non-parametric multivariate analysis of changes in community structure // Aust. J. Ecol. 1993. Vol. 18. P. 117–143.
24. Селюков А. Г. Оогенез и овариальные циклы озерной пеляди *Coregonus peled* (Gmelin) в естественном ареале и в условиях Ленинградской области: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л.: Ленингр. ун-т, 1987. 17 с.
25. Гербильский Н. Л. Возрастные и сезонные изменения в ооцитах зеркального карпа // Архив анат., гистол. и эмбриол. 1939. Т. 21, № 2. С. 241–276.
26. Кондратьев А. К. Функциональная морфология овоцитов периода превителлогенеза у сибирской стерляди *Acipenser ruthenus marsiglii* Brandt в разные периоды ее годового биологического цикла // Вопр. ихтиол. 1977. Т. 17, вып. 5. С. 912–921.
27. Персов Г. М. Ранний период гаметогенеза у проходных лососей // Тр. Мурманск. морск. биол. ин-та (ММБИ). 1966. Вып. 12 (16). С. 7–44.
28. Чмилевский Д. А. К вопросу о периодизации оогенеза костистых рыб (обзор) // Вопр. ихтиол. 2003. Т. 43, вып. 3. С. 375–387.
29. Беляев В. А., Федоров К. Е., Сакун О. Ф. Оогенез и особенности функции половых желез у рыб эпинеретического комплекса течения Куроиси. СПб.: Изд-во С.-Петербург. ун-та, 2004. 120 с.
30. Широкова М. Я. Особенности раннего оогенеза балтийской трески // Труды АтлантНИРО. 1971. Т. 35. С. 114–123.

Статья поступила в редакцию 17 января 2014 г.

Сведения об авторах

Федоров Константин Евгеньевич — кандидат биологических наук
Кузнецов Юрий Константинович — кандидат биологических наук

Fedorov Konstantin E. — Ph.D.
Kuznetsov Yuri K. — Ph.D.