

Е. Д. ВАЯКИНА

**ДЕЙСТВИЕ МЕТИЛ-ТЕСТОСТЕРОНА НА ПРОЦЕСС ПОЛОВОЙ
ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ У МАКРОПОДА (*MACROPODUS*
OPERCULARIS L.) И ГУПНИ (*LEBISTES RETICULATUS* R.)**

(Представлено академиком Б. Л. Астауровым 4 V 1971)

Большое внимание в последние годы уделялось вопросам искусственной гормональной регуляции пола у низших позвоночных — амфибий и рыб. Ряд авторов (^{1, 12}) показали, что при воздействиях половыми стероидами на мальков в период становления и дифференцировки пола можно получить искусственные инверсии пола или другие, соответствующие полу гетерологического гормона, изменения в гонадах этих животных. Т. Ямамото при скормливании андрогенов молодым медаки получил искусственную инверсию пола (²). Дзилло (³) при воздействии спиртового раствора метил-тестостерона на четырех беременных самок гуппи в одном случае получил инверсию пола малька. При скормливании и инъекции андрогенов молодым меченосца на ранних стадиях развития в яичниках самок отмечали появление отдельных клеточных элементов сперматогенеза (⁴). Было отмечено, что под действием (даже высоких доз) андрогенов на гонады молодых особей пецилии эффекта инверсии пола получить не удалось (⁵).

Ниже излагаются опыты по выяснению влияния мужского полового гормона метил-тестостерона (отечественного производства) в процессе половой дифференцировки у макропода и гуппи. На гистологических препаратах (⁶) можно наблюдать, что дифференцировка пола у макропода происходит между 2 и 30 днями развития. Поэтому воздействия половым гормоном у этого вида производили в период между вылуплением мальков (2—3 день) и 35—40 днями развития. У гуппи (живородка) обработку производили между рождением и 30 днями развития.

Предварительно было выяснено, что взятый нами препарат гормона обладает химической активностью в растворе в течение 5—7 дней. Этот же препарат метил-тестостерона обладает и биологической активностью, что выявлено при испытании его действия на вторичные половые признаки у гуппи (он вызывает рост гоноподия и цветную окраску хвостовой части тела, что характерно для самцов гуппи). Было проведено 3 серии опытов по изучению воздействия этого гормона на ювенильные гонады макропода.

Во всех опытах в аквариумах было по 5 л воды и поддерживалась температура 25—28°С. В I и II сериях опытов в каждый аквариум помещали по 100 мальков макропода из смеси кладок от трех пар производителей, в III серии — по 150 мальков из потомства от двух пар производителей. Метил-тестостерон добавляли в среду аквариума 6 раз через каждые 6 дней методом тонкодиспергированной пленки, т. е. в аквариум вносили часовое стекло с осадком, остающимся после высушивания спиртового раствора гормона. Однократные дозы добавляемого гормона в I и II сериях опытов были 0, 5, 20, 80, 320 и 1280 мкг/л, соответственно суммарные дозы гормона составили 0, 30, 120, 480, 1920 и 7680 мкг/л. В III серии опытов с этим же гормоном однократные дозы гормона были 0, 20, 50, 80, 110 мкг/л, а суммарные дозы 0, 120, 300, 480, 660 мкг/л.

По окончании опытов мальков макропода фиксировали в возрасте 60 дней и пол определяли по морфологическим различиям в строении гонад при вскрытии рыб под бинокулярной лупой (⁷). Необходимо отметить, что данный гормон на вторичные половые признаки макропода не влияет.

Поскольку условия проведения трех повторяющихся серий эксперимен-

Таблица 1

Действие высушенной пленки метил-тестостерона на ювенильные гонады макропода I, II, III серии

Дозы воздействия, мг/л	Самки	Самцы	Без гонад	В том числе	
				с водянойкой	с аномалиями выделитель- ной системы
Контроль	56	49	—	—	—
30	24 *	26	—	—	—
120	34 *	33	6	1	4
300	2 *	7	32	15	8
480	6	33 *	50	27	62
660	—	2 *	34	31	31
1920	—	—	43	42	39
7680	—	—	30	28	28

* Редуцированные гонады.

та были сходными, мы сочли возможным их объединить и представить в виде табл. 1. Из этой таблицы видно, что: 1) соотношение полов в контрольных партиях близко 1:1; 2) при действии суммарных доз 30 и 120 мг/л не наблюдается отклонения от нормального соотношения полов, однако при действии суммарной дозы 120 мг/л гонады самок сильно уменьшены в объеме и появляются отдельные рыбы без гонад; 3) при воздействии дозы 480 мг/л наблюдается заметно преобладание самцов (причем гонады самцов меньше по объему, чем в контроле, — редуцированные гонады) и появляется очень большое количество рыб вовсе без гонад; 4) при влиянии доз 1920 мг/л и выше практически все рыбы лишены гонад.

Метил-тестостерон обладает также побочным токсическим действием, выражающимся в появлении аномалий выделительной системы и водянки, начиная с дозы 120 мг/л. Особенно сильно оно выражено в интервале доз 660—7680 мг/л. Однако уменьшения размера мальков макропода нет.

Для сравнения действия этого же гормона было проведено 9 серий экспериментов по изучению влияния его на ювенильные гонады гуппи. Были использованы 2 метода: метод тонкодиспергированной пленки (как и с макроподом) и метод скормливания гормона вместе с сухим кормом. Для приготовления корма с гормоном навеску сухого корма обливали спиртовым раствором гормона соответствующей концентрации и высушивали приготовленную смесь на воздухе. Доза гормонального воздействия при скормливании гормонизированной пищи была такой же, как и в (8). 80 мг/л корма.

При изучении действия метил-тестостерона, добавленного в воду в виде высушенной пленки, на гонады молоди гуппи мы взяли целый ряд последовательных возрастающих доз воздействия, чтобы среди них подобрать оптимальную. Гормон в виде пленки также добавляли через каждые 6 дней. В I серии при трехкратном добавлении гормона в дозе 400 мг/л последовала сильная гибель мальков. Во II и III серии опытов при добавлении гормона 2 раза по 400 мг/л и еще один раз в дозе 200 мг/л результаты были более успешными. Наиболее оптимальная доза воздействия была взята в IV и V сериях опытов: 200 мг/л 5 раз через каждые 6 дней (см. табл. 2).

По окончании опытов мальков гуппи фиксировали в возрасте 30 дней. Необходимо отметить, что при введении гормона любым методом во всех опытных партиях все мальки гуппи имеют вторичные половые признаки самца (яркая окраска каудальной части тела и гоноподий). Поэтому пол определяли по типу гонад при вскрытии мальков гуппи под биноклем — гонады самок имеют крупные ооциты (их немного и в них видно большое ядро). Гонады же самца мелкозернистые от находящихся в них цист со сперматозитами. Данный критерий подтвержден гистологически.

Действие высушенной пленки метил-тестостерона на ювенильные гонады гуппи

Серии	Дозы воздействи- я, $\mu\text{г/л}$	Контроль		Опыт *					
		самки	самцы	самки	самцы	гипертро- фирован- ные самцы	герма- фродиты	самки с водян- кой	самцы с водян- кой
I	400×3	10	12	—	7	3	—	3	—
II и III	400×2	33	29	17	17	7	—	8	2
	200×1								
IV и V	200×5	25	29	9	22	10	2	13	—

* По вторичным половым признакам все рыбы — самцы.

Поскольку условия проведения опытов были идентичными, то результаты 4 серий опытов по скормливанию гормона вместе с сухим кормом малькам гуппи можно было объединить. Данные показали, что в контрольных партиях число самок составляло 58, а самцов 46, в то время как в опытных партиях самок было 63, самцов 44, при этом рыб с гипертрофированными гонадами было 20, гермафродитов 1 и самок с водянкой 2. Таким образом действие метил-тестостерона при скормливании малькам гуппи гормонизированной пищи проявляется в том, что появляются самцы с гипертрофированными гонадами (стимуляция сперматогенеза) и гермафродитными гонадами (один случай). Имеет место также токсическое действие метил-тестостерона (появление небольшого количества самок с водянкой).

Из табл. 2 видно, что в I серии опытов была взята доза, близкая к летальной. При рассмотрении данных II + III и IV + V серий видно, что, как и в случае с гормонизированной пищей, наблюдается большое количество рыб с гипертрофией семенника и в отдельных случаях появляются рыбы со смешанной гонадой. Наблюдалось также токсическое действие метил-тестостерона, выражающееся в появлении водянки живота у самок и самцов.

Сравнительный анализ показывает, что результаты, полученные обоими методами при действии метил-тестостерона на гонады гуппи, почти идентичны. Подобные же результаты были получены при действии андрогенов на ювенильные гонады гуппи в (⁸, ⁹). При сравнении действия высушенной пленки препарата метил-тестостерона на гонады макропода и гуппи необходимо отметить, что данный гормон более специфично действует на гонады гуппи, вызывая гипертрофию семенников и появление в редких случаях смешанной гонады. В гонадах же макропода можно наблюдать лишь регрессию гонад женского пола при соответствующих дозах и регрессию гонад обоих полов при более сильных дозах воздействия. Редукция гонад гетерологичного пола под действием андрогенов была получена также у тилании (*Tilapia aurea* L.) (¹⁰) и *Salmo trutta* (¹¹).

В заключение принешу искреннюю благодарность лаборатории синтеза гормонов Всесоюзного научно-исследовательского химико-фармацевтического института за предоставленный препарат гормонов, а также Б. Л. Астаурову за помощь при подготовке работы к печати.

Институт биологии развития
Академии наук СССР
Москва

Поступило
21 IV 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Е. Д. Ванякина, Генетика, селекция и гибридизация рыб, «Наука», 1969.
² T. Yamamoto, J. Exp. Zool., 123, № 3 (1958). ³ M. Dzwillio, Biol. Zbl., 81, № 5 (1962). ⁴ F. M. Baldwin, H. S. Goldin, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 42 (1939). ⁵ W. Laskowsky, Wilhelm Roux Arch. Entwickl. Org., 146 (1953).
⁶ Е. Д. Ванякина, Арх. анат., гистол. и эмбриол., 57, № 12 (1969). ⁷ Е. Д. Ванякина, ДАН, 181, № 6 (1968). ⁸ H. Miyamori, Zool. Mag., Tokyo, 70 (1961).
⁹ W. Eversole, J. Endocrinology, 25 (1939). ¹⁰ B. Eskstein, M. Spira, Biol. Bull., 129, № 3 (1965). ¹¹ K. R. Ashby, J. Embriol. and Exp. Morphol., 5, № 3 (1957). ¹² Н. Н. Ротт, Бюлл. МОИП, отд. биол., № 4 (1963).