

**Водные биоресурсы и среда обитания**

2020, том 3, номер 4, с. 63–76

<http://journal.azniirkh.ru>, [www.azniirkh.ru](http://www.azniirkh.ru)

doi: 10.47921/2619-1024\_2020\_3\_4\_63

ISSN 2618-8147 print, ISSN 2619-1024 online



**Aquatic Bioresources & Environment**

2020, vol. 3, no. 4, pp. 63–76

<http://journal.azniirkh.ru>, [www.azniirkh.ru](http://www.azniirkh.ru)

doi: 10.47921/2619-1024\_2020\_3\_4\_63

ISSN 2618-8147 print, ISSN 2619-1024 online

УДК 591.524.11.574.47(262.5)

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ООГЕНЕЗА ТИХООКЕАНСКОЙ УСТРИЦЫ (*CRASSOSTREA GIGAS*, THUNBERG), ИНТРОДУЦИРОВАННОЙ В ЧЕРНОЕ МОРЕ

© 2020 А. П. Золотницкий<sup>1</sup>, А. Н. Орленко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ФГБНУ «ВНИРО»),  
Азово-Черноморский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («АзНИИРХ»), Ростов-на-Дону 344002, Россия

<sup>2</sup>Херсонский государственный аграрный университет (ХГАУ), Херсон 73006, Украина  
E-mail: zap6@mail.ru

**Аннотация.** Исследованы морфологические особенности оогенеза тихоокеанской устрицы (*Crassostrea gigas*, Thunberg) в процессе двухгодичного цикла выращивания в лимане Донузлав. Приведены данные по морфофизиологическим показателям этого вида: диаметру и объему ацинусов, ооцитов, ядер, ядрышек, а также ядерно-плазменному индексу — в разные сезоны года. Представлены количественные изменения размеров ооцитов ( $D$ ) в зависимости от температуры воды ( $T$ , °C), которые описываются уравнением логистической функции:  $D = 60,8 / (1 + e^{6,65 - 0,472 \cdot T})$ . Показано, что динамика численности оогоний ( $N_o$ ) связана с температурой воды обратной зависимостью и описывается экспоненциальным уравнением:  $N_o = 14,4 \cdot e^{-0,082 \cdot T}$ . Показана синхронность изменений объема ацинусов, ооцитов и ядер клеток в процессе полового цикла и взаимосвязь между объемами этих компонентов. Обнаружена асинхронность функционирования ядрышек и ядерно-плазменного индекса в процессе размножения, которая связана с синтезом рибосомных соединений. На основе полученных данных представлена 6-балльная шкала стадий зрелости самок тихоокеанской устрицы в течение годичного полового цикла: индифферентного состояния, начала и активного оогенеза, преднерестового состояния, созревания и нереста, а также посленерестовой перестройки. Представлены календарные месяцы, в которые наиболее часто отмечается каждая стадия зрелости.

**Ключевые слова:** *Crassostrea gigas*, оогенез, ацинус, ооциты, ядро, ядрышко, ядерно-плазменный индекс, половой цикл, стадии зрелости

## MORPHOLOGICAL FEATURES OF OOGENESIS OF THE PACIFIC OYSTER (*CRASSOSTREA GIGAS*, THUNBERG) INTRODUCED INTO THE BLACK SEA

A. P. Zolotnitsky<sup>1</sup>, A. N. Orlenko<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (FSBSI “VNIRO”),  
Azov-Black Sea Branch of the FSBSI “VNIRO” (“AzNIIRKH”), Rostov-on-Don 344002, Russia

<sup>2</sup>Kherson State Agrarian University (KSAU), Kherson 73006, Ukraine  
E-mail: zap6@mail.ru

**Abstract.** Morphological features of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*, Thunberg) oogenesis in the course of two-year cultivation cycle in Donuzlav Liman have been studied. The data on morphophysiological characteristics of this species (diameter and volume of acini, oocytes, nuclei, nucleoli, as well as the nucleoplasmic index) are given for different seasons. Quantitative changes in the size of oocytes ( $D$ ) are presented in relation to water temperature ( $T$ , °C), which is described by the logistic function equation:  $D = 60,8 / (1 + e^{6,65 - 0,472 \cdot T})$ . It is shown that the dynamics of oogonia number ( $N_o$ ) is linked to water temperature ( $T$ ) with an inverse relation and is described by an exponential equation:  $N_o = 14,4 \cdot e^{-0,082 \cdot T}$ . The synchronicity of the changes in volumes of acini, oocytes and cell nuclei in the course of the reproductive cycle is shown, as well as the interrelationship between the volumes of these components. There was found to exist an asynchronicity in nuclei functioning and the nucleoplasmic index in the process of reproduction, which is linked with the synthesis of ribosomal proteins. Following the obtained data, 1-to-6 score of the maturity stages for the Pacific oyster females in the course of annual reproductive cycle is presented: passive state; beginning of oogenesis; active oogenesis; pre-spawning state; maturation and spawning; post-spawning transformation. The months, during which each maturity stage was the most prevalent, are given.

**Keywords:** *Crassostrea gigas*, oogenesis, acinus, oocytes, nucleus, nucleolus, nucleoplasmic index, reproductive cycle, maturity stages

## ВВЕДЕНИЕ

Тихоокеанская (японская или гигантская) устрица *Crassostrea gigas* (Thunberg) является одним из широко распространенных и наиболее перспективных объектов мировой аквакультуры [1]. В настоящее время этот вид успешно интродуцирован во многие страны мира и по масштабам выращивания занимает ведущее место в мире не только среди моллюсков, но и многих других гидробионтов. В частности, ежегодные масштабы культивирования этого вида лишь в четырех странах мира (Китай, Япония, Франция, США) составляли около 17,0 млн т [2]. В последние десятилетия тихоокеанская устрица успешно трансплантирована в Черное море, и в настоящее время здесь существует около 20 марихозяйств по выращиванию этого вида [3, 4].

В связи с перспективой акклиматизации тихоокеанской устрицы важное значение приобретает изучение закономерностей размножения этого вида в Черном море. Известно, что разработка любых аква- и марикультурных биотехнологий в первую очередь базируется на изучении репродуктивной стратегии, т. е. совокупности адаптаций, необходимых для успешного воспроизводства того или иного вида. В нее входят такие показатели, как размер и возраст полового созревания, тип гаметогенеза, сроки созревания половых клеток, анализ плодовитости и размер яиц и сперматозоидов, уровень энергетических затрат на размножение и др. [5–8].

Важнейшим из элементов репродуктивной стратегии является характеристика скорости развития половых клеток (гаметогенез) и периодизация стадий зрелости гонад, знание о которых создает

возможности для управления отдельными или всеми стадиями процесса жизненного цикла моллюсков и их регуляции. Кроме того, процессы репродукции являются фундаментальными проблемами эволюционной экологии, которые интегрируют адаптации организменного и популяционного уровней и определяют стратегию и тактику жизненного цикла популяций [7].

Поскольку тихоокеанская устрица наиболее широко используется в марикультуре различных стран мира, ее жизненный и репродуктивный циклы были достаточно широко и подробно описаны многими исследователями в различных районах Мирового океана [9–16]. Что касается отечественных исследований, то процессам гаметогенеза и полового цикла этого вида посвящено довольно ограниченное число работ, хотя он и обитает в дальневосточных морях России [7, 17–19]. Кроме того, ряд работ, связанных с процессами размножения, был опубликован после интродукции тихоокеанской устрицы в Черное море [19–22].

Одной из перспективных акваторий для развития марикультуры является лиман Донузлав (западное побережье Крыма). До начала 60-х гг. прошлого века это был замкнутый гипергалинный водоем с соленостью 90–95 ‰. В 1961 г. через косу, отделяющую его от Черного моря, был прорыт судоходный канал, после чего соленость лимана стала снижаться и в 1971 г. стабилизировалась на уровне 17–18 ‰, т. е. таком же, как и в прилегающей к нему акватории Черного моря.

В настоящее время это полузакрытый залив протяженностью 27 км; ширина его в нижней части (с

выходом в Черное море) достигает 9 км, глубина — от 5 до 28 м. Береговая линия сильно изрезана, образует многочисленные мелководные заливы. Наиболее низкая температура воды в феврале–марте составляет 7–9 °С, наиболее высокая (в июле–августе) — 24–25 °С. Соленость воды в лимане в течение года колеблется незначительно и составляет 17–18 ‰, однако в верховьях в марте–апреле иногда может снижаться до 12–13 ‰ вследствие паводков, таяния снега и интенсивного поступления грунтовых вод. Ветры южных и северных румбов вызывают в лимане нагонные и сгонные течения, соответственно. Скорости течения хотя и невелики, но достаточно заметны (10–30 см/с); иногда отмечаются довольно сильные течения — 50–70 см/с.

Средняя биомасса альгофлоры в лимане Донузлав составляла в среднем за год 433,2 мг/м<sup>3</sup>, максимальная — 1417,7 мг/м<sup>3</sup>, что значительно выше, чем в других районах крымского побережья Черного моря. Сходная картина наблюдалась и с концентрацией взвешенного органического вещества (ВОВ), которая варьировала в пределах 4,0–16 г/м<sup>3</sup>, в отдельные месяцы достигая 18 г/м<sup>3</sup> (август). Таким образом, этот водоем характеризуется благоприятными гидролого- и гидрохимическими условиями, обеспеченностью кормовой базой и, соответственно, высокой продуктивностью.

В связи с вышеизложенным в задачу настоящей работы входило изучение морфологических особенностей оогенеза и полового цикла тихоокеанской устрицы в лимане Донузлав (Черное море).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материал для исследований был собран в 2002–2004 гг. на западном побережье Крыма в лимане Донузлав. Для проведения гистологических работ ежемесячно отбирали пробы гонад тихоокеанской устрицы в количестве 20 экз. из популяций, полученных в искусственных условиях. При индивидуальном анализе измеряли длину, высоту и толщину (выпуклость) раковины, определяли общую массу моллюска ( $W$ ), массу раковины ( $W_r$ ), массу мягких тканей ( $W_m$ ).

Отдельные участки половых желез фиксировали в жидкости Буэна и после 3–4-недельного выдерживания обрабатывали по общепринятым методикам: проводили через спирты возрастающей концентрации и ксилол, после чего заливали в парафин [23]. Всего собрано и обработано 286 проб самок.

Серийные сагиттальные и фронтальные срезы толщиной около 7 мкм окрашивали железным гематоксилином и азаном по Гейденгайну [23, 24]. Для характеристики функционального состояния гонад использовали следующие морфологические показатели: уровень развития соединительной ткани, диаметр ооцитов ( $D_o$ ) и ацинусов ( $D_a$ ), а также объем ацинусов ( $V_a$ ), ооцитов ( $V_o$ ), их ядер ( $V_j$ ), ядрышек-нуклеол ( $V_n$ ). Диаметр клеток и других клеточных элементов измеряли с помощью винтового окуляра-микрометра МОВ-1-15Х. Объемы исследованных переменных определяли по формуле эллипсоида вращения:

$$V = \pi/6 \cdot A \cdot B^2,$$

где  $A$  и  $B$  — соответственно, большой и малый диаметр,  $\pi$  — 3,14. О функциональной активности судили по изменению численности клеток и размеру (объему) изучаемых компонентов [25]. Фотографирование гистологических препаратов осуществлялось посредством микроскопа Olympus BHT с использованием Olympus Photomicrographic System Model PM-10AD и цифровой фотокамеры Olympus C 2020 ZOOM.

Статистическую обработку исследуемых признаков осуществляли по общепринятым методам, изложенным в руководстве Г.Ф. Лакина [26]. Кроме того, математический анализ полученных данных проводили с помощью компьютерных статистических программ Origin-8.5 и Statistica-10 и электронных таблиц Excel-2010. Всего обработано 246 проб половых желез самок устриц.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ хода развития половых клеток тихоокеанской устрицы начнем с ранних фаз оогенеза — оогоний. У неполовозрелых особей на гистологических срезах гонады представлены в основном соединительной тканью, где половые клетки являются своеобразными «вкраплениями» очень мелких, сжатых ацинусов (их называют также ампулами или фолликулами), которые выделяются на сером фоне более интенсивным восприятием гематоксилинового лака. Внутри ампул находились мелкие половые клетки (гонии) размером 6–8 мкм (рис. 1, фаза I). Они характеризуются относительно крупным диаметром ядра, узким слоем цитоплазмы и высоким ядерно-плазменным отношением (индексом). У половозрелых особей гонии чаще всего встречаются в зимний сезон, при температуре воды ниже 10 °С. В это время весьма трудно

определить, по какому типу — женскому или мужскому — пойдет дальнейшее развитие гонад. Отметим, что для тихоокеанской устрицы часто наблюдается ювенильная протандрия, т. е. начальное развитие гонад протекает по мужскому типу [6–8] с последующей инверсией половых клеток гонад в женском направлении.

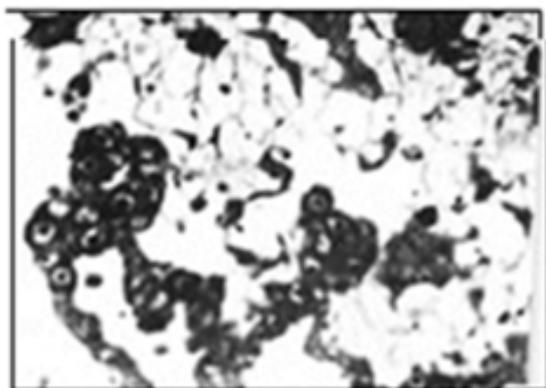
Затем оогонии трансформируются и переходят в генеративную фазу, или фазу протоплазматического роста, которую часто обозначают как фазу превителлогенеза, или «малого роста» (рис. 1, фаза II). В это время в гонадах самок происходят заметные изменения, связанные, с одной стороны, с возрастанием размера половых клеток и ацинусов, с другой — с соответствующим уменьшением площади (объема) соединительной ткани. В этот период в половых клетках гонад тихоокеанской устрицы размеры клеток увеличиваются с 8 до 20 мкм и возрастает объем цитоплазмы. Размеры ядер также увеличиваются, в клетке они занимают центральное положение, иногда смещаясь к базальному полюсу. В это время в них происходят морфологические преобразования хромосом, связанные с их переходом в профазу I мейотического деления [5–7]. Следует отметить, что на гистологических препаратах в данный период наблюдаются не только ооциты протоплазматического роста, но и половые клетки начала трофоплазматического роста, связанные с синтезом и отложением в цитоплазме желтка. Площадь соединительной ткани еще значительна, в фолликулах отмечается значительная асинхронность роста ооцитов, обусловленная разным временем вступления оогоний в генеративную фазу.

Далее следует фаза интенсивного трофоплазматического роста, связанная с синтезом и отложением желтка в ооцитах — вителлогенезом (рис. 1, фаза III), которую часто называют «большим ростом». Это довольно продолжительная фаза, которая длится до 1,5 месяцев, с апреля до середины–конца мая. В этот период происходит наиболее интенсивный дейтоплазматический рост ооцитов, которые прикреплены к ампулам довольно широким основанием, благодаря чему происходит поступление различных веществ в клетку. Резко увеличивается объем половой клетки за счет аккумуляции и депонирования в цитоплазме трофических веществ. Соединительная ткань между ампулами уменьшается, тогда как размеры ампул устойчиво возрастают. Ядро в начале большого роста расположено

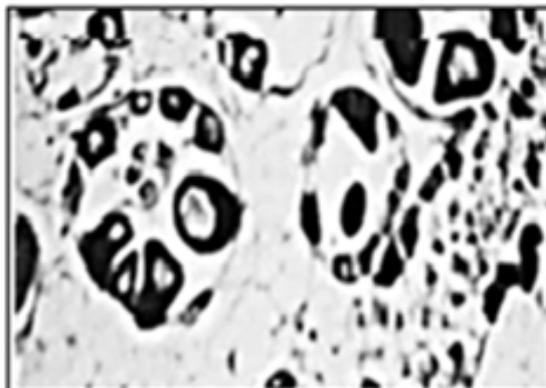
несколько ацентрично, ядрышки находятся вблизи или соприкасаются с базальной мембраной ядра, хроматиновый материал расположен диффузно. Клетки имеют полигональную или грушевидную форму, диаметр ядра (зародышевый пузырек) в это время также резко увеличивается, и некоторые половые клетки достигают размера 35–40 мкм. В них часто появляется второе ядрышко, что свидетельствует об интенсификации синтетических процессов в ядре. В этот период диаметр ядер значительно возрастает, и, соответственно, резко уменьшается ядерно-плазменный индекс (ЯПИ). К концу этой фазы асинхронность роста и размеров ооцитов хотя и сохраняется, но выражена не столь значительно.

Завершающая фаза трофоплазматического роста (рис. 1, фаза IV) характеризуется тем, что гонады ампул достигают своего максимального размера. Они плотные и заполнены ооцитами, завершившими трофоплазматический рост, хотя в отдельных ампулах можно наблюдать и более ранние стадии оогенеза. Оболочки ядер теряют структурированность, хроматиновый материал представлен в виде сетчатой структуры. В то же время на гистологических срезах хорошо видна радиальная исчерченность оболочки клеток (*zona radiata*). В это время скорость роста ооцитов несколько замедляется, и они представляют собой клетки полигональной или округлой формы размером 45–50 мкм и прикреплены к стенке фолликула тонкой «ножкой», через которую, по-видимому, в ооцит поступают вода и трофические соединения. На этом этапе в просвете ампул появляются и свободно лежащие, созревающие ооциты. Уровень развития соединительной ткани в гонаде резко уменьшается, она представлена тонкими тяжами, отделяющими одни ацинусы от других.

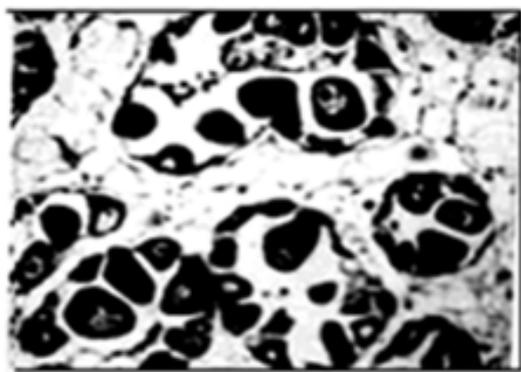
Следующая фаза гаметогенеза сопровождается обводнением гамет и отделением их от стенки ампул (рис. 1, фаза V). Зрелые яйца, размеры которых варьируют в пределах 50–68 мкм, свободно лежат в просвете ампул и имеют округлую форму. Ядро зрелых ооцитов морфологически слабо выражено, тем не менее на некоторых препаратах хорошо видны очертания, образующиеся в результате миграции его к анимальному полюсу. В зависимости от эмиссии зрелых половых клеток, обусловленной экологическими условиями (в первую очередь, температурой воды), объем гонад уменьшается, и они током воды выносятся в окружающую водную среду. По разным литературным источникам, нерест



Фаза I



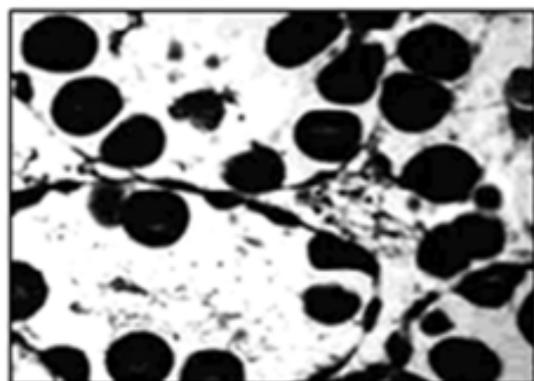
Фаза II



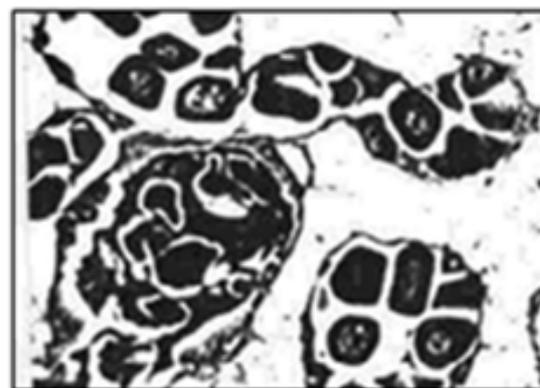
Фаза III



Фаза IV



Фаза V



Фаза VI

**Рис. 1.** Микрофотографии разных фаз развития половых клеток тихоокеанской устрицы, интродуцированной в Черное море: фаза I — индифферентное состояние (увеличение 140×); фаза II — начало оогенеза; фаза III — интенсивный оогенез; фаза IV — преднерестовое состояние (завершение трофоплазматического роста); фаза V — созревание и нерест; фаза VI — посленерестовое состояние (увеличение 70×)

**Fig. 1.** Micrographs of the developmental stages of reproductive cells of the Pacific oyster, introduced into the Black Sea: stage I — passive state (mag. 140×); stage II — beginning of oogenesis; stage III — active oogenesis; stage IV — pre-spawning state (completion of trophoplasmatic growth); stage V — maturation and spawning; stage VI — post-spawning state (mag. 70×)

этого вида начинается при температуре около  $19 \pm 1$  °С и достигает максимума при повышении температуры воды до 20–22 °С [11, 17, 19, 22]. Такое состояние иногда может начаться уже в конце мая и длиться до июля–августа.

Посленерестовое состояние также относится к фазе оогенеза, поскольку в это время осуществляются важные для полового цикла процессы: очистка полости гонады от невыметанных половых клеток, использование их трофического материала для развития новых гамет и использование гормональных соединений для запуска пролиферации гоний. Эта фаза может наступить уже в июле, однако часто ее полное завершение приходится на конец августа (иногда — сентябрь). В это время происходит разрушение (резорбция) невыметанных зрелых половых клеток и желтковых ооцитов, что приводит к уменьшению величины ацинусов и возрастанию объема соединительной ткани (рис. 1, фаза VI). Размеры ампул значительно снижаются и зависят от скорости атрезии зрелых и желтковых яиц, хотя в гонадах самок моллюсков могут находиться ооциты разных фаз трофоплазматического роста.

Такой ход оогенеза в исследуемой акватории характерен для тихоокеанской устрицы уже с весны и заканчивается ранней осенью. Однако в других акваториях Мирового океана могут происходить сдвиги нерестового периода на более ранние или более поздние периоды [12–14], а в южном полушарии Земли пик нереста в норме приходится на зимнее время [27]. На рис. 2 представлена взаимосвязь между диаметром ооцитов разных фаз развития (с I по V) и температурой воды.

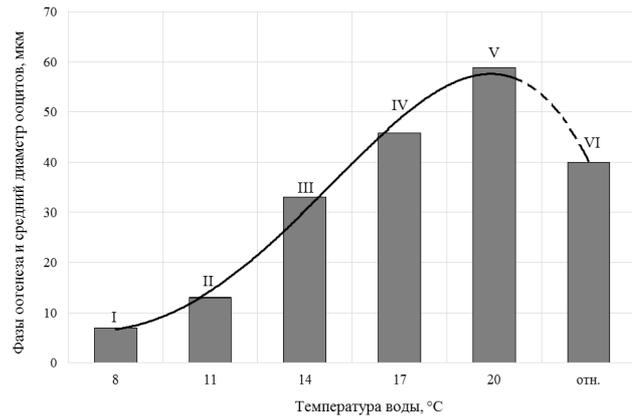
В целом изменение размера ооцитов можно описать логистической функцией Ферхюльста-Пирла [28], имеющей вид:

$$D = a / (1 + e^{b-kx}),$$

где  $a$  — теоретически максимальный диаметр ооцита,  $k$  — удельная скорость роста,  $b$  — параметр, определяемый начальным значением размера половых клеток,  $e$  — экспонента (число Эйлера), равное 2,718. В численной форме это уравнение имеет вид:  $D = (60,8 \pm 5,3) / (1 + e^{6,65 - 0,472T})$ ,

$$n=5, R^2=0,986 \quad (1)$$

В то же время анализ показал, что с фазы II до фазы V наблюдается хорошо выраженный параллелизм развития между размером половых клеток и динамикой температуры воды (коэффициент детерминации равен 0,967) [12, 13].



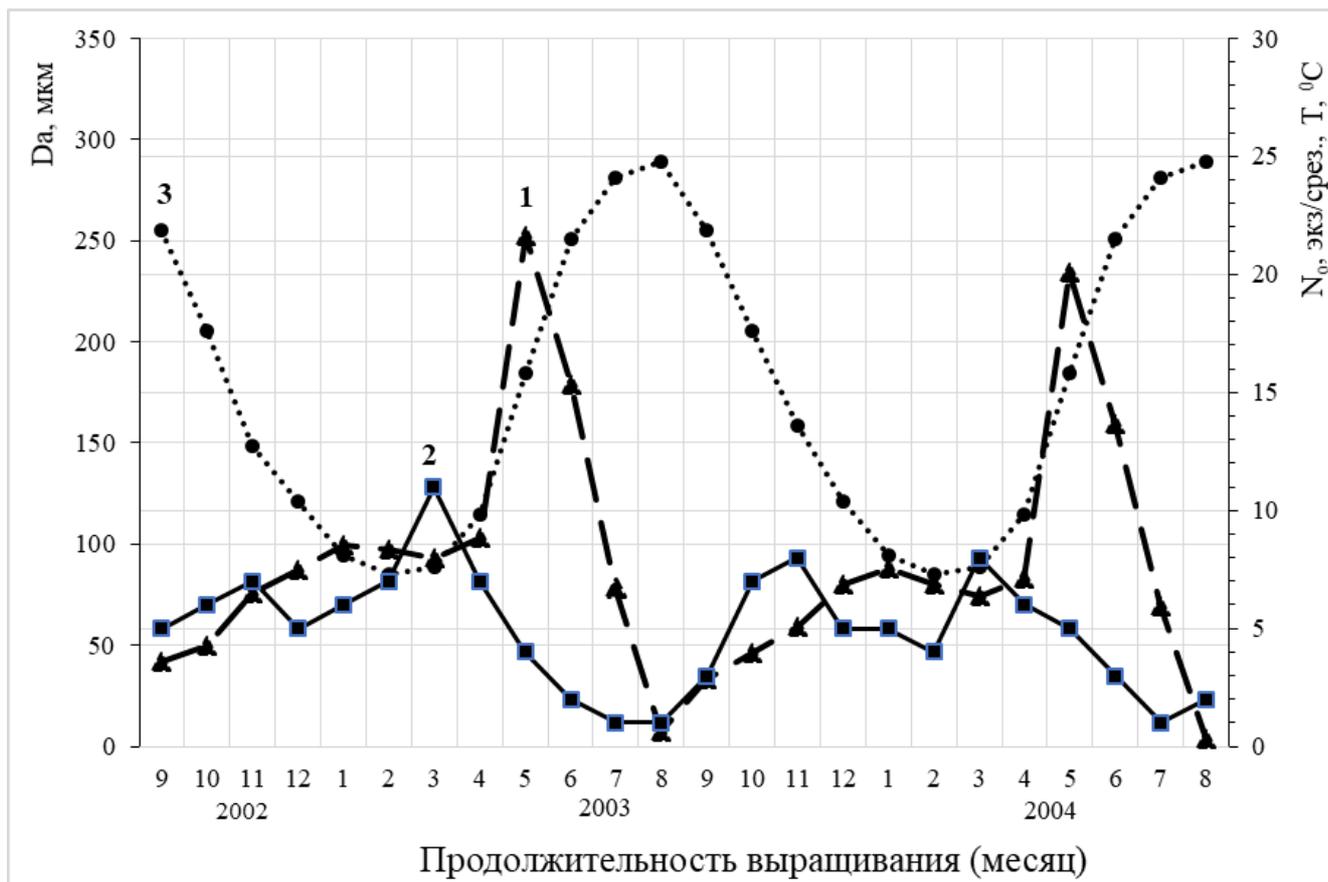
**Рис. 2.** Взаимосвязь среднего диаметра ооцитов с температурой воды в процессе оогенеза тихоокеанской устрицы в Черном море

**Fig. 2.** Relationship between the diameter of oocytes and water temperature in the course of the Pacific oyster oogenesis in the Black Sea

Однако на I и VI фазах развития были отмечены отклонения от этой зависимости. В связи с полученными данными представляло интерес проанализировать активность оогоний, являющихся своеобразным резервным фондом, и влияние на них температуры воды. Было обнаружено, что изменение размера этих клеток не дает объективного представления об их активности, поскольку величина оогоний варьирует в очень незначительных пределах (6–8 мкм); при увеличении их размеров они превращаются в ооциты протоплазматического роста. В то же время изменение их численности может дать представление об уровне функциональной активности этих клеток, тем более что митотические деления оогоний в половых железах моллюсков встречаются довольно редко [5–7]. В связи с этим представляло интерес определить, в какие сезоны и при какой температуре воды наблюдаются максимумы численности оогоний.

На рис. 3 представлены изменения численности оогоний в половых железах устрицы в течение двухгодичного выращивания в лимане Донузлав. На нем видно, что оогонии присутствовали в ацинусах гонад в течение всего года, но их численность в разные сезоны существенно варьировала.

Анализ сезонных изменений гонад показал, что в течение года наблюдалось два пика численности этих клеток: поздней осенью (в ноябре) при температуре около 12 °С и ранней весной (в марте) при температуре воды, близкой к 8–11 °С. Кроме того, из анализа взаимосвязи динамики оогоний и тем-



**Рис. 3.** Сезонные изменения диаметра ацинуса ( $D_a$ , 1) (на левой оси ординат) и численности оогоний ( $N_o$ , 2) (на правой оси ординат) при двухгодичном цикле выращивания (месяцы календарные) тихоокеанской устрицы в лимане Донузлав; 3 — температура воды

**Fig. 3.** Seasonal changes in acinus diameter ( $D_a$ , 1) (on the left y-axis) and number of oögonia ( $N_o$ , 2) (on the right y-axis) in the course of two-year cultivation cycle (calendar months) of the Pacific oyster in Donuzlav Liman; 3 — water temperature

пературы воды, представленного на данном рисунке, видно, что возрастание температуры находится в противофазе с численностью оогоний, т. е. изменение их количества обратно пропорционально температуре воды. Взаимосвязь количества оогоний ( $N_o$ ) и температуры воды ( $T$ , °C) достаточно хорошо описывается экспоненциальной функцией:

$$N_o = 14,4 \cdot e^{-0,082 \cdot T}, n=24, R^2=0,782 \quad (2)$$

Следовательно, инициация процессов размножения этих клеток преимущественно связана с пониженной температурой воды.

Что касается посленерестового состояния (фаза VI), то в зависимости от экологических условий их размеры могут существенно варьировать, а само состояние приходится на июль–август, иногда продолжаясь до сентября. В это время происходило разрушение клеток и ядер, растворение ядрышек, нарушение строения ядерной и клеточной оболоч-

ки, что приводило к уменьшению размера ацинусов и общей массы гонад (на рис. 1 фаза VI представлена лишь ориентировочно). Следует отметить, что в августе–сентябре средняя температура воды была достаточно близка к нерестовой и составляла 20–26 °C. В частности, некоторыми авторами отмечается, что температура выше 25 °C может отрицательно влиять на жизнедеятельность тихоокеанской устрицы [29], что, в свою очередь, блокирует процессы овуляции устриц. Это также может быть обусловлено и изменением фотопериода. На некоторых морских беспозвоночных показано, что изменение длины волны может существенно влиять на скорость развития гонад [30]. Возможно, что окончание нереста обусловлено и ограниченностью резервного фонда половых клеток. В конечном счете дегенеративные изменения, происходящие в половых железах, связаны с уменьшением размера ампул и половых желез.

Кроме этого, нами были изучены другие морфометрические показатели в течение репродуктивного цикла: изменение объема ацинусов, ооцитов, ядер, ядрышек, а также ядерно-плазменного индекса. Они показали, что в течение годового полового цикла происходят сложные морфофизиологические процессы, связанные с изменением этих показателей. В свою очередь, они влияли на уровень метаболических процессов — синтез и отложение в половых клетках ряда биохимических компонентов (белков, липидов и углеводов) (рис. 4).

Сравнительная характеристика данных по изменению объема ацинуса ( $V_a$ , 1), ооцитов ( $V_o$ , 2) и ядер ( $V_n$ , 3) в процессе оогенеза тихоокеанской устрицы в лимане Донузлав показала, что указанные показатели характеризуются сходным трендом и протекают достаточно синхронно.

Изменение объема ооцита ( $V_o$ ) в зависимости от объема ацинуса ( $V_a$ ) в течение исследуемого цикла

хорошо аппроксимируется обычной линейной функцией:

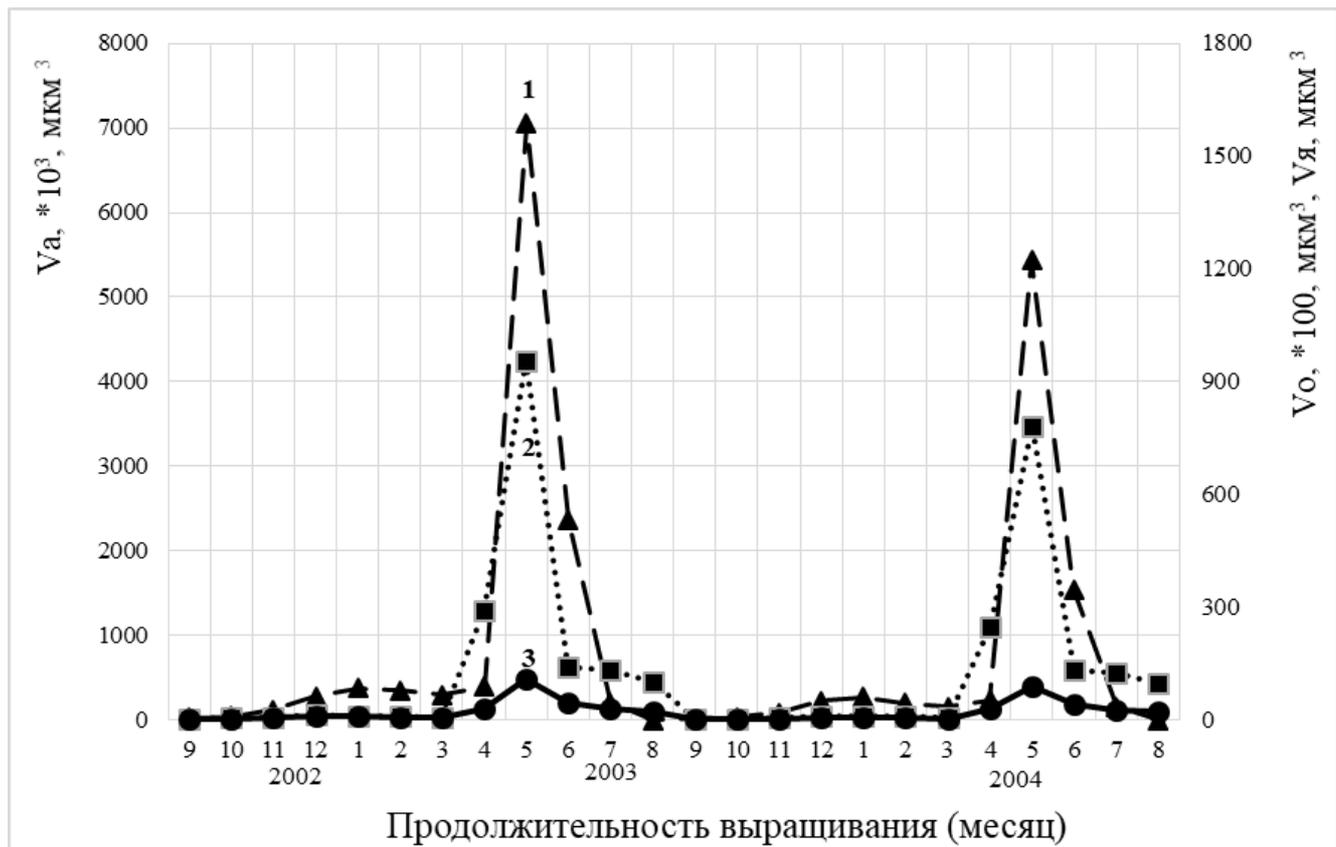
$$V_o = 2353,1 + 0,013 \cdot V_a, n=24, R^2=0,868 \quad (3)$$

Соответственно, объем ядра как функцию объема ооцита также можно описать аналогичным уравнением, но с другими численными значениями этих параметров:

$$V_n = 857,4 + 0,11 \cdot V_o, n=24, R^2=0,960 \quad (4).$$

На основе уравнений (3, 4) можно определить объемы половых клеток и ядер в зависимости от объема ацинуса.

Вместе с тем очевидно, что объем ацинуса определяется не только числом клеток, но и соотношением ооцитов разных фаз оогенеза, т. е. их размером. Например, в один сезон в популяции могут преобладать особи II и III фаз, тогда как в другое время — III и IV фаз оогенеза развития, что отразится как на объеме ацинуса, так и на численности



**Рис. 4.** Соотношение средних объемов ацинусов ( $V_a$ , 1) (левая ось ординат), ооцитов ( $V_o$ , 2) и ядер ( $V_n$ , 3) (правая ось ординат) в гонадах тихоокеанской устрицы при двухгодичном цикле выращивания в лимане Донузлав; по оси абсцисс — продолжительность выращивания, месяцы (календарные)

**Fig. 4.** Relationship between the average volumes of acinus ( $V_a$ , 1) (left y-axis), oocytes ( $V_o$ , 2) and nuclei ( $V_n$ , 3) (right y-axis) in gonads during the two-year cultivation cycle of the Pacific oyster in Donuzlav Liman; x-axis — cultivation period (calendar months)

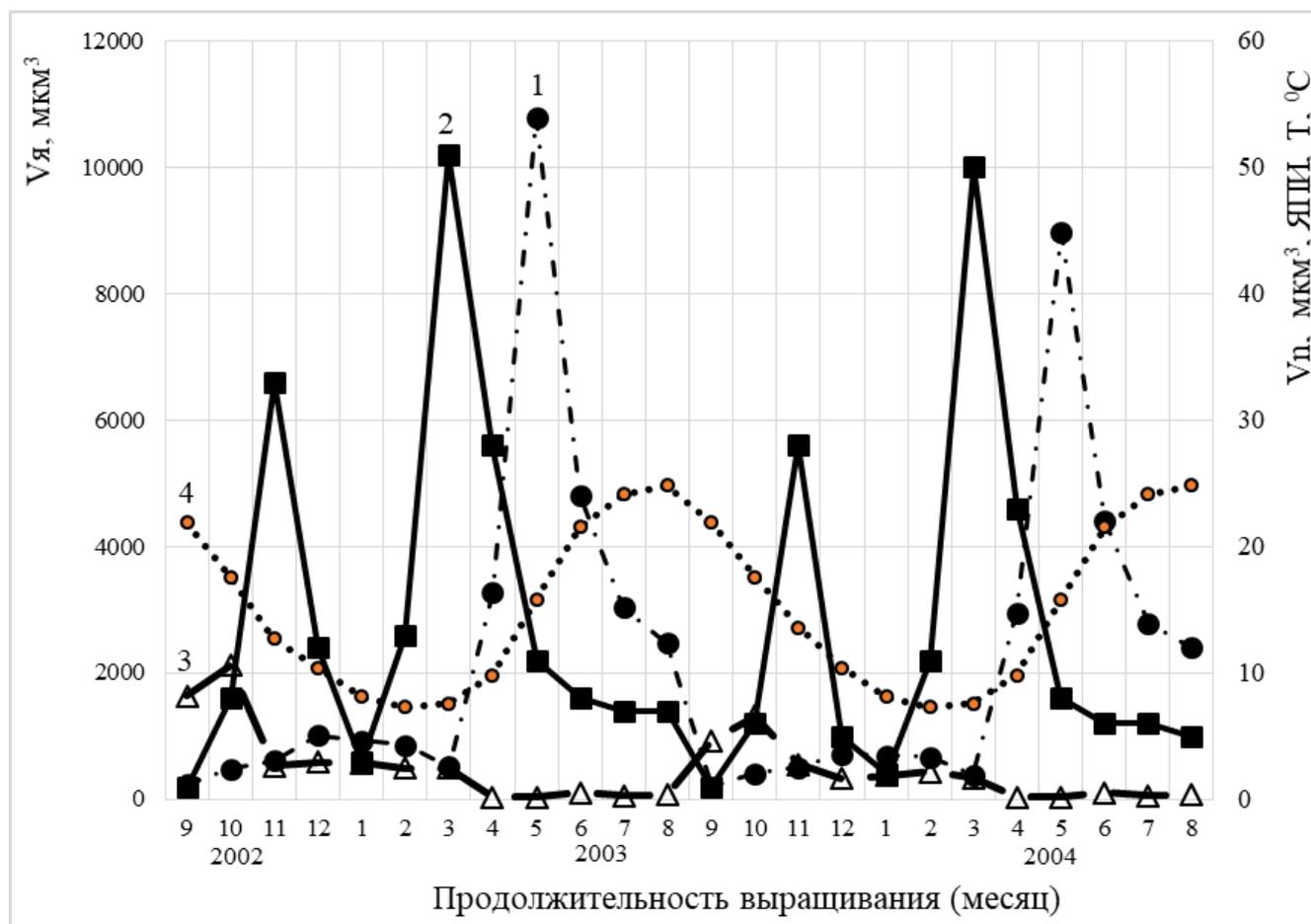
ооцитов и ядер этих клеток. Из представленного рис. 4 также видно, что в 2002–2003 гг. средний объем ацинусов заметно выше по сравнению с 2003–2004 гг. Соответственно, количество ооцитов в них было заметно больше, что косвенно свидетельствует о большей плодовитости популяции первого года по сравнению со вторым. Однако, несмотря на разную величину ацинуса, связь между его объемом и величиной половой клетки (и ядра) остается достаточно высокой.

Однако другие показатели, а именно активность ядрышек и ядерно-плазменный индекс, существенно отличались от указанных выше компонентов половой железы, что позволяет рассмотреть их изменение более подробно. На рис. 5 показаны сезонные изменения объемов ядер, ядрышка и ЯПИ и температуры воды при двухгодичном выращивании устриц в лимане Донузлав. Поскольку объемы ацинуса, ооцитов и ядер показали достаточно

высокую синхронность динамики ( $R^2 = 0,86 - 0,91$ ), на этом рисунке представлены лишь ядра клеток.

Из представленного рис. 5 видно, что с сентября по октябрь значительно увеличились объемы ядра ( $V_n$ ) и ядерно-плазменный индекс. После этого, с небольшой задержкой (примерно 1 месяц), происходит инициация роста активности ядрышек-нуклеол ( $V_{np}$ ), объем которых в ноябре достигал своего максимума, после чего их активность снижалась. Таким образом, генетическая информация ядра реализуется в виде транскрипции с матрицы ДНК в различные типы РНК, в первую очередь, рибосомную РНК, для последующего синтеза специфических белков, который осуществляется в ядрышках [25].

Заметим, что именно в это время происходила новая волна оогенеза в половых железах устрицы, приводящая к увеличению численности оогоний и переходу их в ооциты генеративной фазы и началь-



**Рис. 5.** Динамика объема ядер ( $V_n$ , 1) (левая ось ординат), ядрышка ( $V_{np}$ , 2), ЯПИ (3) и температуры воды (4) (правая ось ординат) при двухгодичном выращивании тихоокеанской устрицы в лимане Донузлав

**Fig. 5.** Dynamics of volume of nuclei ( $V_n$ , 1) (left y-axis), nucleolus ( $V_{np}$ , 2), nucleoplasmic index (NPI) (3) and water temperature (4) (right y-axis) in the course of two-year cultivation cycle of the Pacific oyster in Donuzlav Liman

ных фаз трофоплазматического роста. Однако дальнейшее снижение температуры воды в январе и особенно феврале–марте (7–8 °С) приводит к торможению процессов развития гонад и особенно ооцитов трофоплазматического роста, которые подвергаются атрезии.

Следует отметить, что, несмотря на то, что объемы ядра и ЯПИ в этот период снижались, они оставались на довольно высоком уровне активности, где соотношение объемов ядра к цитоплазме составляло примерно 2:1. В то же время с февраля по март возрастает объем ядрышек, который хотя и снижается в апреле, но индуцирует процессы синтеза и отложения желтка в цитоплазме ооцитов. В апреле, с повышением температуры воды до 10–12 °С и выше, начинается рост ооцитов разных фаз дейтроплазматического роста, который напрямую связан с температурой воды. После этого ооциты переходят в фазу активного оогенеза, и в дальнейшем весь цикл гаметогенеза завершается созреванием и нерестом с последующим переходом в посленерестовое состояние. Таким же образом происходит процесс следующего года, отличаясь от первого лишь количественными значениями.

Представленная картина характеризует некий «средний», или референсный, уровень гаметогенетических процессов тихоокеанской устрицы в Черном море. Температура, соленость, скорость течения и другие экологические факторы акваторий, а также уровень антропогенного воздействия могут существенно изменить скорость прохождения цикла различных фаз оогенеза. Кроме того, следует учитывать и размерно-возрастную структуру популяций, которая может повлиять на соотношение полов и интенсивность прохождения полового цикла [12, 16].

На основе представленных выше материалов [9–22], а также других литературных источников [31–33] нами выделено шесть стадий зрелости гонад, которые хотя и частично перекрываются, но в то же время устойчиво переходят к последующим стадиям полового цикла:

I стадия — индифферентное состояние. Гонады тонкие, прозрачные. На гистологических препаратах гонад видны оогонии и ооциты генеративной фазы, а также остатки фолликулярного эпителия, образовавшиеся в результате резорбции ооцитов; соединительная ткань максимально развита. Эта стадия характерна для февраля–марта и сентября.

II стадия — начало оогенеза. На гистологических препаратах видны оогонии и ооциты протоплазматического и ранних фаз трофоплазматического роста, тесно соприкасающиеся с базальной мембраной ацинуса. Эта стадия обычна для апреля – начала мая, а также ноября–декабря.

III стадия — активный оогенез. В гонадах — ооциты интенсивной фазы трофоплазматического роста, характеризующиеся вытянутой, грушевидной формой, соединенные тонким мостиком с базальной мембраной ацинуса. Эта стадия встречается в ноябре–декабре и частично с мая по август.

IV стадия — преднерестовая. Гонады устриц достигают своего максимального размера и массы, они плотные и заполнены ооцитами, завершившими трофоплазматический рост. Эта стадия в основном отмечается с конца мая – в июне и частично в июле–августе.

V стадия — созревание и нерест. Гонады в состоянии нереста и, в зависимости от экологических условий, с разной степенью освобождения от женских половых клеток. Эта стадия характерна для конца мая и продолжается вплоть до августа (иногда до сентября).

VI стадия — посленерестовая перестройка. Гонады спавшиеся, с небольшими ацинусами, с оставшимися после нереста половыми клетками, в которых происходит их резорбция. У стенок ацинусов видны атретические оогонии, тогда как основная масса большей частью представлена соединительной тканью, а также остатками фолликулярных клеток и амебоцитами.

Сопоставление этапности прохождения полового цикла тихоокеанской устрицы в Черном море с таковым у особей из естественных мест обитания свидетельствует о том, что в целом она очень близка к описанной ранее другими авторами [9–19]. Некоторое отличие заключается лишь в том, что в Черном море процессы развития гонад протекают в несколько более сжатые сроки и укорачиваются примерно на 1–1,5 месяца, по сравнению, например, с северными районами Франции, где период основного, массового нереста сдвигается на более поздние сроки (конец мая – июнь), тогда как в естественном биотопе сроки размножения в основном приурочены к июню–августу [19]. По-видимому, это обусловлено более высоким термическим режимом и, соответственно, ранним прогревом акватории Черного моря, по сравнению с естественным местообитанием.

## ВЫВОДЫ

1. Исследован оогенез тихоокеанской устрицы у западного побережья Черного моря (лиман Донузлав), описаны морфофизиологические особенности разных фаз развития половых желез самок.
2. Представлена количественная связь изменений размера ооцитов ( $D$ ) с сезонным изменением температуры воды ( $T$ , °C), которая описывается уравнением логистической функции:  $D = 60,8 / (1 + e^{6,65 - 0,472 \cdot T})$ .
3. Показано, что динамика численности оогоний ( $N_o$ ) связана обратной зависимостью с температурой воды ( $T$ ) и описывается уравнением:  $N_o = 14,4 \cdot e^{-0,082 \cdot T}$ .
4. Обнаружено, что рост объема ацинусов, ооцитов и ядер в течение года характеризуется сходным трендом ( $R^2 = 0,86 - 0,91$ ), отличаясь между собой лишь численными значениями, тогда как активность ядрышек и ядерно-плазменного индекса при прохождении тех же фаз полового цикла протекает асинхронно.
5. На основе полученных данных представлена 6-балльная шкала стадий зрелости тихоокеанской устрицы в Черном море: I — протоплазматический рост, II — начало оогенеза, III — интенсивный оогенез, IV — преднерестовое состояние, V — созревание и нерест, VI — посленерестовая перестройка.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Орленко А.Н. Гигантская устрица *Crassostrea gigas* (Bivalvia, Mytiliformes, Grassostreidae) как объект акклиматизации и основные этапы ее трансплантации в Черное море // Зоологический журнал. 1994. Т. 73, вып. 1. С. 51–54.
2. Состояние мирового рыболовства и аквакультуры — 2018. Достижение целей устойчивого развития. Рим: Изд-во Продовольственной и сельскохозяйственной организации Объединенных Наций, 2018. 226 с.
3. Вялова О.Ю. Рост и сроки получения товарной триплоидной устрицы в лимане Донузлав (Черное море, Крым) // Морской биологический журнал. 2019. Т. 4, № 1. С. 24–32.
4. Вялова О.Ю., Золотницкий А.П., Жаворонкова А.М. Изменчивость морфологических характеристик раковины тихоокеанской устрицы *Crassostrea gigas* в Черном море // Вопросы сохранения биоразнообразия водных объектов : матер. междунар. науч. конф. (г. Ростов-на-Дону, 27 ноября 2015 г.). Ростов-н/Д.: Изд-во АзНИИРХ, 2015. С. 66–71.
5. Мотавкин П.А., Варакин А.А. Гистофизиология нервной системы и регуляция размножения у двустворчатых моллюсков. М.: Наука, 1983. 208 с.
6. Мотавкин П.А., Хотимченко Ю.С., Деридович И.И. Регуляция размножения и биотехнология получения половых клеток у двустворчатых моллюсков. М.: Наука, 1990. 216 с.
7. Касьянов В.Л. Репродуктивная стратегия морских двустворчатых моллюсков и иглокожих. Л.: Наука, 1989. 182 с.
8. Байчоров В.М. Сравнительный анализ репродуктивной экологии гидробионтов (на примере ракообразных и моллюсков) : автореф. дис. докт. биол. наук. Минск: Изд-во Института зоологии НАН Беларуси, 1995. 35 с.
9. Imai T., Sakai S. Study of breeding of Japanese oyster *Crassostrea gigas* // Tohoku Journal of Agricultural Research. 1961. Vol. 12, no. 2. Pp. 125–171.
10. Dinamani P. Gametogenic patterns in populations of Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in Northland, New Zealand // Aquaculture. 1987. Vol. 64, issue 1. Pp. 65–76. doi: 10.1016/0044-8486(87)90206-7.
11. Lango-Reynoso F., Chávez-Villalba J., Cochard J.-C., Le Pennec M. Oocyte size, a means to evaluate the gametogenic development of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg) // Aquaculture. 2000. Vol. 190, no. 1–2. Pp. 183–199. doi: 10.1016/S0044-8486(00)00392-6.
12. Fabioux C., Huvet A., Le Souchu P., Le Pennec M., Pouvreau S. Temperature and photoperiod drive *Crassostrea gigas* reproductive internal clock // Aquaculture. 2005. Vol. 250, no. 1–2. Pp. 458–470. doi: 10.1016/j.aquaculture.2005.02.038.
13. Dutertre M., Beninger P.G., Barillé L., Papin M., Rosa P., Barillé A.-L., Haure J. Temperature and seston quantity and quality effects on field reproduction of farmed oysters, *Crassostrea gigas*, in Bourgneuf Bay, France // Aquatic Living Resources. 2009. Vol. 22, no. 3. Pp. 319–329. doi: 10.1051/alr/2009042.
14. Dridi S., Romdhane M.S., Elcafs M. Gametogenic cycle of *Crassostrea gigas* in contrasting Mediterranean habitats: marine (Gulf of Tunis) and continental (Bizert lagoon) culture sites // Journal of Biological Research—Thessaloniki. 2014. Vol. 21, no. 1. 13 p. doi: 10.1186/2241-5793-21-13.
15. Kasmini L., Barus T.A., Sarong M.A., Mulya M.B., Batubara A.S. Reproductive biology of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*): a decade after the tsunami disaster in Aceh, Indonesia // Jordan Journal of Biological Sciences. 2019. Vol. 12, no. 5. Pp. 552–560.
16. Ezgeta-Balic D., Radonic I., Bojanic Varezic D., Zorica B., Arapov J., Stagicic N., Jozic S., Peharda M., Briski E., Lin Y., Segvic-Bubic T. Reproductive cycle of

- the non-native Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in the Adriatic Sea // *Mediterranean Marine Science*. 2020. Vol. 21, no. 1. Pp. 146–156. doi: 10.12681/mms.21304.
17. Яковлев Ю.М. Репродуктивный цикл гигантской устрицы в Японском море // *Биология моря*. 1978. № 3. С. 85–87.
  18. Касьянов В.Л., Медведева Л.А., Яковлев С.Н., Яковлев Ю.М. Размножение иглокожих и двустворчатых моллюсков. М.: Наука, 1980. С. 125–134.
  19. Раков В.А. Биологические основы культивирования тихоокеанской устрицы *Crassostrea gigas* (Thunberg) в заливе Петра Великого : дис. ... канд. биол. наук. Владивосток: Изд-во ТИНРО, 1984. 187 с.
  20. Орленко А.Н. Репродуктивный цикл и соотношение полов у гигантских устриц *Crassostrea gigas* в Керченском проливе // Тезисы докл. Всерос. конф. молодых ученых ТИНРО (г. Владивосток, 19–21 мая 1992 г.). Владивосток: Изд-во ТИНРО, 1992. С. 65–76.
  21. Золотницкий А.П., Орленко А.Н. Методы индуцирования созревания и нереста гигантской устрицы (*Crassostrea gigas* Thunberg) в современных условиях Черного моря // *Аквакультура Центральной и Восточной Европы: настоящее и будущее : матер. II съезда НАСЭЕ (Сети Центров по аквакультуре в Центральной и Восточной Европе) (г. Кишинев, 17–19 октября 2011 г.) / Под ред. Г. Куркубет. Кишинев: Pontos, 2011. С. 101–105.*
  22. Холодов В.И., Пиркова А.В., Ладыгина Л.В. Выращивание мидий и устриц в Черном море. Воронеж: Изд-во Института биологии южных морей им. А.О. Ковалевского, Издат-Принт, 2017. 508 с.
  23. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. М.: Мир, 1969. 646 с.
  24. Микодина Е.В., Седова М.А., Чмилевский Д.А., Микулин А.Е., Пьянова С.В., Полуэктова О.Г. Гистология для ихтиологов: опыт и советы. М.: Изд-во ВНИРО, 2009. 112 с.
  25. Ченцов Ю.С. Введение в клеточную биологию. М.: Издательско-книготорговый центр «Академкнига», 2004. 495 с.
  26. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1986. 343 с.
  27. Ren J.S., Marsden I.D., Ross A.H., Schiel D.R. Seasonal variation in the reproductive activity and biochemical composition of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) from the Marlborough Sounds, New Zealand // *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*. 2003. Vol. 37, issue 1. Pp. 171–182. doi: 10.1080/00288330.2003.9517155.
  28. Блюченко И.С., Смагин А.В., Попок Л.Б., Попок Л.Е. Анализ данных и математическое моделирование в экологии и природопользовании : учеб. пособие. Краснодар: Изд-во Кубанского государственного аграрного университета, 2015. 313 с.
  29. Lee Y.-J., Han E., Wilberg M.J., Lee W.C., Choi K.-S., Kang C.-K. Physiological processes and gross energy budget of the submerged longline-cultured Pacific oyster *Crassostrea gigas* in a temperate bay of Korea // *PLoS ONE*. 2018. Vol. 13, no. 7. e0199752. doi: 10.1371/journal.pone.0199752.
  30. Евдокимов В.В., Бирюкова И.В., Евдокимов А.В. Воздействие света с различной длиной волны на гаметогенез черного морского ежа (*Strongylocentrotus nudus*) // *Морфология*. 2001. Т. 120, № 6. С. 75–79.
  31. Mann R. Some biochemical and physiological aspects of growth and gametogenesis in *Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis* grown at sustained elevated temperatures // *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 1979. Vol. 59, issue 1. Pp. 95–110. doi: 10.1017/S0025315400046208.
  32. Barber B.J. Gametogenesis of eastern oysters, *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791), and Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) in disease-endemic lower Chesapeake Bay // *Journal of Shellfish Research*. 1996. Vol. 15, no. 2. Pp. 285–290.
  33. Lango-Reynoso F., Chávez-Villalba J., Le Pennec M. Reproductive patterns of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in France // *Invertebrate Reproduction and Development*. 2006. Vol. 49, no. 1. Pp. 41–50. doi: 10.1080/07924259.2006.9652192.

## REFERENCES

1. Orlenko A.N. Gigantskaya ustritsa *Crassostrea gigas* (Bivalvia, Mytiliformes, Crassostreidae) kak ob"ekt akklimatizatsii i osnovnye etapy ee transplantatsii v Chernoe more [The acclimatization of giant oyster *Crassostrea gigas* (Bivalvia, Mytiliformes, Crassostreidae) and the principal stages of its introduction in the Black Sea]. *Zoologicheskii zhurnal [Russian Journal of Zoology]*, 1994, vol. 73, issue 1, pp. 51–54. (In Russian).
2. The state of world fisheries and aquaculture — 2018. Meeting the sustainable development goals. Rome: FAO Publ., 2018, 227 p.
3. Vyalova O.Yu. Rost i sroki polucheniya tovarnoy triploidnoy ustritsy v limane Donuzlav (Chernoe more, Krym) [Growth and terms of obtaining marketable triploid oysters in Donuzlav Liman (Black Sea, Crimea)]. *Morskoy biologicheskiy zhurnal [Marine Biological Journal]*, 2019, vol. 4, no. 1, pp. 24–32. (In Russian).
4. Vyalova O.Yu., Zolotnitskiy A.P., Zhavoronkova A.M. Izmenchivost' morfologicheskikh kharakteristik rakoviny tikhoookeanskoy ustritsy *Crassostrea gigas* v Chernom more [Fluctuation of morphological characteristics of shell of the Pacific oysters *Crassostrea gigas* in the Black Sea]. In: *Voprosy sokhraneniya bioraznoobraziya vodnykh ob"ektov : materialy mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii (g. Rostov-na-Donu, 27 noyabrya 2015 g.) [Some problems of biodiversity conservation*

- of aquatic biocenoses. Proceedings of the International Research Conference (Rostov-on-Don, 27 November, 2015)*. Rostov-on-Don: AzNIIRKH Publ., 2015, pp. 66–71. (In Russian).
5. Motavkin P.A., Varaksin A.A. Gistofiziologiya nervnoy sistemy i regulyatsiya razmnozheniya u dvustvorchatykh mollyuskov [Histophysiology of the nervous system and the regulation of reproduction of Bivalvia]. Moscow: Nauka [Science], 1983, 208 p. (In Russian).
  6. Motavkin P.A., Khotimchenko Yu.S., Deridovich I.I. Regulyatsiya razmnozheniya i biotekhnologiya polucheniya polovykh kletok u dvustvorchatykh mollyuskov [Regulation of reproduction and biotechnology of obtaining sexual cells from bivalves]. Moscow: Nauka [Science], 1990, 216 p. (In Russian).
  7. Kasyanov V.L. Reproductive strategy of marine bivalves and echinoderms. Enfield: Science Publishers Inc., 2001, 229 p.
  8. Baychorov V.M. Sravnitel'nyy analiz reproduktivnoy ekologii gidrobiontov (na primere rakoobraznykh i mollyuskov): avtoref. dis. dokt. biol. nauk [Comparative analysis of the reproductive ecology of aquatic living organisms. Extended abstract of Doctor's (Biology) Thesis]. Minsk: Institut zoologii Natsional'noy akademii nauk Belarusi [Institute of Zoology, National Academy of Sciences of Belarus] Publ., 1995, 35 p. (In Russian).
  9. Imai T., Sakai S. Study of breeding of Japanese oyster *Crassostrea gigas*. *Tohoku Journal of Agricultural Research*, 1961, vol. 12, no. 2, pp. 125–171.
  10. Dinamani P. Gametogenic patterns in populations of Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in Northland, New Zealand. *Aquaculture*, 1987, vol. 64, issue 1, pp. 65–76. doi: 10.1016/0044-8486(87)90206-7.
  11. Lango-Reynoso F., Chávez-Villalba J., Cochard J.-C., Le Pennec M. Oocyte size, a means to evaluate the gametogenic development of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture*, 2000, vol. 190, no. 1–2, pp. 183–199. doi: 10.1016/S0044-8486(00)00392-6.
  12. Fabioux C., Huvet A., Le Souchu P., Le Pennec M., Pouvreau S. Temperature and photoperiod drive *Crassostrea gigas* reproductive internal clock. *Aquaculture*, 2005, vol. 250, no. 1–2, pp. 458–470. doi: 10.1016/j.aquaculture.2005.02.038.
  13. Dutertre M., Beninger P.G., Barillé L., Papin M., Rosa P., Barillé A.-L., Haure J. Temperature and seston quantity and quality effects on field reproduction of farmed oysters, *Crassostrea gigas*, in Bourgneuf Bay, France. *Aquatic Living Resources*, 2009, vol. 22, no. 3, pp. 319–329. doi: 10.1051/alr/2009042.
  14. Dridi S., Romdhane M.S., Elcafs M. Gametogenic cycle of *Crassostrea gigas* in contrasting Mediterranean habitats: marine (Gulf of Tunis) and continental (Bizert lagoon) culture sites. *Journal of Biological Research–Thessaloniki*, 2014, vol. 21, no. 1, 13 p. doi: 10.1186/2241-5793-21-13.
  15. Kasmini L., Barus T.A., Sarong M.A., Mulya M.B., Batubara A.S. Reproductive biology of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*): a decade after the tsunami disaster in Aceh, Indonesia. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 2019, vol. 12, no. 5, pp. 552–560.
  16. Ezgeta-Balic D., Radonic I., Bojanic Varezic D., Zorica B., Arapov J., Stagicic N., Jozic S., Peharda M., Briski E., Lin Y., Segvic-Bubic T. Reproductive cycle of the non-native Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in the Adriatic Sea. *Mediterranean Marine Science*, 2020, vol. 21, no. 1, pp. 146–156. doi: 10.12681/mms.21304.
  17. Yakovlev Yu.M. Reproktivnyy tsikl gigantskoy ustritsy v Yaponskom more [Reproductive cycle of Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg) in Sea of Japan]. *Biologiya morya [Russian Journal of Marine Biology]*, 1978, no. 3, pp. 85–87. (In Russian).
  18. Kas'yanov V.L., Medvedeva L.A., Yakovlev S.N., Yakovlev Yu.M. Razmnozhenie iglokozhih i dvustvorchatykh mollyuskov [Reproduction in echinoderms and bivalve mollusks]. Moscow: Nauka [Science], 1980, pp. 125–134. (In Russian).
  19. Rakov V.A. Biologicheskie osnovy kul'tivirovaniya tikhookeanskoy ustritsy *Crassostrea gigas* (Thunberg) v zalive Petra Velikogo: dis. ... kand. biol. nauk [Biological basics of rearing of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) in Peter the Great Bay. Candidate's (Biology) Thesis]. Vladivostok: TINRO Publ., 1984, 187 p. (In Russian)
  20. Orlenko A.N. Reproktivnyy tsikl i sootnoshenie polov u gigantskikh ustrits *Crassostrea gigas* v Kerchenskom prolyve [Reproductive cycle and sex ratio in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in the Kerch Strait]. In: *Tezisy dokladov Vserossiyskoy konferentsii molodykh uchenykh TINRO (g. Vladivostok, 19–21 maya 1992 g.) [Abstracts of the All-Russian Conference of Young Scientists of TINRO (Vladivostok, 19–21 May, 1992)]*. Vladivostok: TINRO Publ., 1992, pp. 65–76. (In Russian).
  21. Zolotnitskiy A.P., Orlenko A.N. Metody indutsirovaniya sozrevaniya i neresta gigantskoy ustritsy (*Crassostrea gigas* Thunberg) v sovremennykh usloviyakh Chernogo morya [Methods of inducing the Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg) maturation and spawning in the Black Sea in its present conditions]. In: *Akvakul'tura Tsentral'noy i Vostochnoy Evropy: nastoyashchee i budushchee: materialy II s"ezda NACEE (Seti Tsentrov po akvakul'ture v Tsentral'noy i Vostochnoy Evrope) (g. Kishinev, 17–19 oktyabrya 2011 g.) [Aquaculture in Central and Eastern Europe: present and future. Proceedings of the 2<sup>nd</sup> Assembly NACEE (Network of Aquaculture Centres in Central and Eastern Europe) (Chisinau, 17–19 October, 2011)]*. G. Kurkubet. (Ed.). Chisinau: Pontos, 2011, pp. 101–105. (In Russian).
  22. Kholodov V.I., Pirkova A.V., Ladygina L.V. Vyrashchivanie midiy i ustrits v Chernom more [Cultivation of mussels and oysters in the Black Sea]. Voronezh: Institut biologii yuzhnykh morey

- im. A.O. Kovalevskogo [A.O. Kovalevskiy Institute of Biology of the Southern Seas] Publ., Izdat-Print [Print Publishing House], 2017, 508 p. (In Russian).
23. Lillie R.D. Histopathologic technic and practical histochemistry. New-York: McGraw-Hill, 1965, 715 p.
  24. Mikodina E.B., Sedova M.A., Chmilevskiy D.A., Mikulin A.E., P'yanova S.V., Poluektova O.G. Gistologiya dlya ikhtologov: opyt i sovety [Histology for ichthyologists: experience and advice]. Moscow: VNIRO Publ., 2009, 112 p. (In Russian).
  25. Chentsov Yu.S. Vvedenie v kletochnyu biologiyu [Introduction to cell biology]. Moscow: Izdatel'sko-knigotorgovyy tsentr "Akademkniga" [Publishing and Bookselling Centre "Academic Book"], 2004, 495 p. (In Russian).
  26. Lakin G.F. Biometriya [Biometry]. Moscow: Vysshaya shkola [Higher School], 1986, 343 p. (In Russian).
  27. Ren J.S., Marsden I.D., Ross A.H., Schiel D.R. Seasonal variation in the reproductive activity and biochemical composition of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) from the Marlborough Sounds, New Zealand. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 2003, vol. 37, issue 1, pp. 171–182. doi: 10.1080/00288330.2003.9517155.
  28. Belyuchenko I.S., Smagin A.V., Popok L.B., Popok L.E. Analiz dannykh i matematicheskoe modelirovanie v ekologii i prirodopol'zovanii : uchebnoe posobie [Data analysis and mathematical modeling in ecology and nature management. Study guide]. Krasnodar: Kubanskiy gosudarstvennyy agrarnyy universitet [Kuban State Agrarian University] Publ., 2015, 313 p. (In Russian).
  29. Lee Y.-J., Han E., Wilberg M.J., Lee W.C., Choi K.-S., Kang C.-K. Physiological processes and gross energy budget of the submerged longline-cultured Pacific oyster *Crassostrea gigas* in a temperate bay of Korea. *PLoS ONE*, 2018, vol. 13, no. 7. e0199752. doi: 10.1371/journal.pone.0199752.
  30. Evdokimov V.V., Biryukova I.V., Evdokimov A.V. Vozdeystvie sveta s razlichnoy dlinoy volny na gametogenez chernogo morskogo ezha (*Strongylocentrotus nudus*) [Effect of the light with different wavelengths on the sea urchin *Strongylocentrotus nudus* gametogenesis]. *Morfologiya [Morphology]*, 2001, vol. 120, no. 6, pp. 75–79. (In Russian).
  31. Mann R. Some biochemical and physiological aspects of growth and gametogenesis in *Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis* grown at sustained elevated temperatures. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 1979, vol. 59, issue 1, pp. 95–110. doi: 10.1017/S0025315400046208.
  32. Barber B.J. Gametogenesis of eastern oysters, *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791), and Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) in disease-endemic lower Chesapeake Bay. *Journal of Shellfish Research*, 1996, vol. 15, no. 2, pp. 285–290.
  33. Lango-Reynoso F., Chávez-Villalba J., Le Pennec M. Reproductive patterns of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in France. *Invertebrate Reproduction and Development*, 2006, vol. 49, no. 1, pp. 41–50. doi: 10.1080/07924259.2006.9652192.

Поступила 04.10.2020

Принята к печати 06.11.2020