

УДК 597—11

**О ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ХОРИОНИЧЕСКОГО  
ГОНАДОТРОПИНА ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ СОЗРЕВАНИЯ РЫБ**

И. А. БАРАННИКОВА, А. А. БОЕВ, И. И. САЕНКО, Б. Г. ТРАВКИН.

Гормональная стимуляция процесса созревания рыб на основе метода гипофизарных инъекций, разработанного профессором Н. Л. Гербильским (1941, 1947), лежит в основе заводского воспроизводства ряда видов рыб. За прошедшие годы этот метод был широко апробирован практикой, доказавшей его большое производственное значение. Вместе с тем в настоящее время в связи с расширяющимися масштабами рыбоводных мероприятий все актуальнее становится совершенствование и дальнейшая разработка методов гормональной стимуляции созревания рыб. Сложность заготовки больших количеств гипофизов рыб и затруднения с точной дозировкой этого препарата ставят вопрос о возможности замены гипофиза рыб другими, более доступными препаратами.

В попытках найти замену гипофиза рыб для стимуляции созревания были использованы различные гормоны. Кроме практического значения эти работы весьма интересны для обсуждения вопроса о таксономической специфичности гонадотропных гормонов и о состоянии органов-мишеней (яичников и семенников) у реципиентов в связи с их различной реакцией на вводимый гормон.

В числе первых препаратов, с помощью которых пытались получить созревание рыб, были гонадотропные гормоны, вырабатываемые плацентой. Применялась моча беременных женщин и изготовленные из нее препараты, очищенные в разной степени, — пролан, гравидан. С помощью этих веществ получали зрелую икру у окуня (Морозова, 1936; Скадовский и Парфенова, 1937) и у вьюна (Гербильский и Киршенблат, 1947; Киршенблат, 1961).

Одним из испытанных в этом плане в нашей лаборатории гормональным препаратом был хориальный гонадотропин — хориогонин. Этот гормон образуется в плаценте человека и некоторых обезьян (Wislocki, Bennett, 1943; Jones et al., 1943) и в значительных количествах выделяется с мочой в течение беременности. В настоящее время хорионидный гонадотропин получен в очищенном состоянии и представляет собой глюкопротеид, который оказывает сильное лютеотропное действие. Этот гормональный препарат выпускается фармацевтической промышленностью, что облегчает его использование по сравнению с гипофизами рыб. Кроме того, активность хориогонина выражается в биологических единицах, поэтому при его использовании возможно точное дозирование.

В нашей лаборатории хориогонин введен в практику работы с 1964 г., когда в опытах, проведенных под руководством профессора Н. Л. Гер-

бильского, были получены четкие положительные результаты по созреванию рыб при введении хориогонина ершам и выюнам (Гербильский, 1964, 1966). В дальнейшем подобные опыты были продолжены и этот препарат был испытан на различных видах рыб.

Другим испытанным гормональным препаратом явилась сыворотка жеребой кобылы (СЖК), содержащая гонадотропины, вырабатываемые эндометрием матки беременных лошадей (Cole, Goss, 1943). Гонадотропин СЖК несколько отличается по своим химическим и биологическим свойствам от хориогонина и гонадотропных гормонов гипофиза (Киршенблат, 1973). Этот гормон содержится в крови лошадей в определенных сроки беременности, и благодаря крупным размерам его молекул не переходит в мочу. Гонадотропин СЖК представляет собой глюкопротеид с молекулярной массой около 80 000 и изоэлектрической точкой при рН 2,6 (Mogris, 1964). Физиологическое значение этого гормона состоит в стимулировании овуляции и образования послеовуляционных и безовуляционных желтых тел у беременной лошади (Киршенблат, 1971).

Препарат СЖК в настоящее время с успехом используется в практике отечественного животноводства для управления процессами размножения животных, причем теоретические основы его применения были разработаны Б. М. Завадовским и М. М. Завадовским (Завадовский, 1963). В рыбоводстве СЖК применяли болгарские специалисты (Братанов, Диков, Денчев, 1963; Загорски, 1965; Братанов, Диков, Дишков, 1970) для увеличения выхода личинок карпа в прудовых хозяйствах.

Рассматривая экспериментальные данные, полученные в этом плане в нашей лаборатории, в сочетании со сведениями из литературных источников, можно прийти к заключению, что среди довольно большого числа изученных видов рыб по реакции на введение хорионического гонадотропина (и СЖК) можно выделить рыб трех основных групп.

К первой группе относятся виды, у которых введение хорионического гонадотропина и СЖК вызывает созревание и овуляцию и вымет зрелой спермы. Положительная реакция самцов и самок на введение хориогонина была получена у всех изученных представителей семейства окуневых (Percidae): у окуня, ерша, судака. Как показали опыты, самки ерша, находящиеся в IV стадии зрелости, созревают при однократной внутримышечной инъекции хориогонина в широком диапазоне доз от 10 до 150 М. Е. без заметного ухудшения качества получаемой при этом икры, о чем можно судить по проценту оплодотворения икры (90—97%). При этом было установлено, что время реакции не зависит от применяемой дозы препарата и изменяется в связи с температурой воды, составляя для данного вида 90—100 ч при температуре 15—16°C. Подобное явление наблюдается и при гипофизарных инъекциях и, очевидно, является общей закономерностью. О времени созревания самок ерша при различных дозах вводимого гормонального препарата и разных температурах воды можно судить по приведенной ниже таблице. В опытах для инъекций использовали препарат из ацетснированных гипофизов сазана, обладающий активностью 1 Л. Е. в 0,5 мг порошка. Из таблицы видно, что для созревания самок ерша во всех вариантах независимо от дозы вводимого препарата (0,25—0,75 мг) при температуре воды 17—18°C необходимо одно и то же время—48—51 ч, а при температуре 10—12°C при тех же дозах необходимо значительно большее время—110—134 ч.

Опыты, поставленные на другом объекте—окуне, также показали, что однократное введение хориогонина в дозах 50 и 100 М. Е. вызывает у них овуляцию через 60 ч при температуре воды 16°C. Положительные результаты применения хориогонина на лабораторных объектах побудили провести опыты по проверке возможности использования

этого гормонального препарата для стимуляции созревания различных видов промысловых рыб. Эти работы были выполнены весной 1964 и 1965 гг. на Дону и Волге на разных объектах рыбоводства (осетр, севрюга, рыбец, лещ, сазан, судак), но четкие положительные результаты были получены только при введении хориогонина производителям судака (Гарлов, Саенко, Боев, 1966; Баранникова, Боев, Гарлов, Саенко, 1969).

Опыты по созреванию самок ерша при различных дозах вводимого препарата и разных температурах воды

Доза препарата гипофиза		Количество созревших самок, %	Время созревания, ч	Температура воды, °С
мг	Л. Е.			
0,25	0,5	70	48—51	17—18
0,5	1	70	48—51	17—18
0,75	1,5	100	48—51	17—18
Контроль		0	0	17—18
0,25	0,5	10	134	10—12
0,5	1	90	110—150	10—12
0,75	1,5	100	110—134	10—12
Контроль		0	0	10—12

Опыты показали, что хориогонин является надежной заменой ацетонированных гипофизов и вполне пригоден для перевода самок судака из IV в V стадию зрелости и получения от них зрелой икры. Эффективными дозами являются 1000, 500, 300, 250 и 200 М. Е. При температуре воды 10—14°С нижний порог эффективной дозировки расположен около 150 М. Е., а при более низких температурах (7—9°С) нижний порог эффективной дозировки приближается к 500 М. Е. Полученные результаты позволили рекомендовать применение хориогонина в дозе 200—250 М. Е. при температуре 12—16°С и строгом соблюдении основных рыбоводных правил для стимуляции созревания судака — этого ценного рыбохозяйственного объекта. Замена ацетонированных гипофизов готовым фармакологическим препаратом значительно снизит трудоемкость работ при заводском воспроизводстве судака.

Аналогичные результаты получены в опытах на вьюнах, которые хорошо созревают при инъекции, 50, 150, 250 М. Е. хориогонина.

Положительные результаты были получены также в опытах на индийском сомике *Heteropneustes fossilis*, у которого инъекция хориогонина и СЖК вызывает овуляцию и икрометание (Sundararaj, Goswami, 1966). На самках *Plecoglossus altivelis* получена овуляция у интактных рыб при воздействии хорионическим гонадотропином (Ishida et al., 1972).

Хориогонин оказывает влияние также на созревание самцов разных видов рыб. Так, у *Mugil cephalus* было получено выделение спермы у интактных самцов при длительном воздействии хориогонином в течение 42 дней (Shehadeh, Kuo, 1972). В то же время, по данным других авторов, у кефали не удалось вызвать процесса созревания овоцитов и овуляцию при введении хориогонина в дозе 1000 М. Е. (Алекин, Тронина, 1972). Возможно, что отрицательные результаты зависят от исходного состояния гонад рыб-реципиентов.

Овуляция и икрометание можно также получить у слепой пещерной рыбки *Anoptichthys jordani* при инъекции хориогонина в дозе 50 М. Е. (Zeitlin, 1973) и у черного морского окуня *Centropristes steriatus*

melanus при инъекции 1000—4000 М. Е. хориогонина, причем созревание у последнего наступает через 54 ч при температуре воды 16° С (Hoff, 1970). У тилапии получено увеличение семенников, активация интерстициальных клеток и увеличение продукции тестостерона в результате воздействия хориогонина (Hyder, Shah, Kirschner, 1970).

Для понимания механизма действия хорионического гонадотропина большой интерес представляют данные о действии этого препарата на гипофизэктомированных рыб. Опыты на индийском сомике *Heteropneustes fossilis* показали, что после долгосрочной гипофизэктомии (через 136 и 337 дней) введение хориогонина по 1—5 М. Е. ежедневно в течение 30 дней приводит к восстановлению сперматогенеза в семенниках и секреторной активности в семенных пузырьках, причем отмечается синергизм при введении хориогонина совместно с ФСГ (Sundararaj, Nayyar, 1967).

Аналогичным образом у золотой рыбки *Carassius auratus* была получена спермация после долгосрочной гипофизэктомии при введении хорионического гонадотропина (Yamazaki, Donaldson, 1968). В противоположность этому надо отметить, что у самцов крыс хориогонин способствует сохранению сперматогенеза только в том случае, если его вводить сразу после удаления гипофиза; при введении в более поздние сроки после гипофизэктомии он вызывает лишь восстановление интерстициальной ткани семенников. У гипофизэктомированных самок крыс хориогонин вызывает в яичниках только гипертрофию интерстициальных клеток, но не стимулирует роста и созревания фолликулов (Simpson, Li, Evans, 1951). Эти опыты показали, что хориогонин по своему действию на млекопитающих резко отличается от гонадотропных гормонов гипофиза (Киршенблат, 1973). Однако на рыбах этой группы пока не было показано различий в действии хориогонина и гипофизарных гонадотропинов.

Ко второй группе по реакции на хориогонин относятся виды рыб, у которых введение хорионического гонадотропина вызывает частичное созревание (по-видимому, в зависимости от близости к зрелости половых желез) самок и которым необходимы повторные инъекции для получения овуляции. К этой группе относится толстолобик. От самок белого и пестрого толстолобика при введении 1000, 1500, 2000 и 2500 М. Е. на 1 кг массы путем двух инъекций (первоначальной и разрешающей) удается получить зрелые половые клетки, а затем личинок и молодь (Веригин, Макеева, 1971; Виноградов, Ерохина, 1971). Авторы отмечают, что созревание самок при воздействии хориогонином наступает на 4—6 ч позже, чем при обычной гипофизарной инъекции в тех же опытах, и считают, что хориогонин действует медленнее гипофизарных гонадотропинов.

К третьей группе относятся рыбы, у которых при применении хорионического гонадотропина в различных вариантах гормонального воздействия не происходит созревания половых желез. К этой группе можно отнести многих представителей семейства карповых (Cyprinidae) — плотву, сазана, леща, рыбца. Не удается получить созревания самок плотвы при введении им одноразовой дозы в 50, 100, 150, 250, 1000 или 1500 М. Е. хориогонина. К такому же результату приводят и многократные повторные инъекции этого препарата: 100 М. Е. × 4 раза; 250 М. Е. × 5 раз. Комбинация инъекции хориогонина и гормона щитовидной железы также не привела к положительному результату (50 М. Е. хориогонина + 1 мг порошка ацетонированной щитовидной железы; 5 М. Е. препарата щитовидной железы + 250 М. Е. хориогонина). Многократные воздействия хориогонином не вызвали появления у самок плотвы брачного наряда, что является обычной реакцией на введение гипофиза карповых. Применение СЖК в дозе 40, 60 и 80 М. Е. также не вызывает созревания плотвы.

Отрицательные результаты получены и при работе с самками сазана, которым вводили одновременно по 500 и 750 М. Е. хориогонина, а также повторно по 750 М. Е.

Безрезультатными были и попытки вызвать овуляцию у самок леща инъекциями хориогонина в дозе 125, 150, 250, 750, 1000 и 1500 М. Е., а также повторными инъекциями  $125 \times 2 + 250$  М. Е. Подобным же образом не прореагировали на введение 150, 250 и  $250 \times 2$  М. Е. хориогонина и самки рыба.

Отрицательные результаты получены также при применении хориогонина на осетровых. Не удалось получить созревания половых клеток у русского осетра при одноразовой инъекции 3000, 4500 и 6000 М. Е. хориогонина, а также при общих дозах в 8000, 15000 и 30000 М. Е., вводимых многократно (7—9 раз). Гистологический контроль за состоянием яичников, проводимый в течение опытов (икру регулярно брали щупом), показал, что никаких признаков созревания не наблюдается и в овоцитах старшей генерации не отмечается сдвига ядра к оболочке клетки. Комбинированные инъекции 24000 М. Е. хориогонина и малых доз гипофиза (1 мг порошка из ацетонированных гипофизов осетра, в то время как пороговая доза равна 10 мг) либо 21000 М. Е. хориогонина и препарата щитовидной железы (280 мг порошка ацетонированной железы) также не дали положительной реакции. На севрюге отрицательная реакция получена при введении 3000 и 12000 М. Е. хориогонина одновременно. В связи с этими данными можно вспомнить и работу Т. Е. Морозовой (1937); ей не удалось вызвать созревание икры у осетра и севрюги при применении гравидана.

Из других видов рыб, относящихся к этой группе, надо отметить белого амура, который также не созревает при инъекциях хориогонина, причем максимальные испытанные дозы составили 2—2,5 тыс. М. Е./кг для самок и 700—1000 М. Е./кг для самцов (Виноградов, Ерохина, 1971; Веригин, Макеева, 1971).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итог изложенным выше данным, можно заключить, что хориогонин в качестве заменителя гипофизов при стимуляции созревания применим только для отдельных видов рыб. Из объектов рыбохозяйственного разведения лишь при воспроизводстве судака можно рекомендовать полную замену гипофизов хориогонином. Для других ценных видов рыб вопрос о заменителе гипофизов пока не решен. Существование видовой специфичности действия гонадотропных гормонов рыб делает необходимыми дальнейшие поиски в этом направлении для совершенствования методов гормональной стимуляции созревания рыб.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Апекин В. С., Тронина Т. М. Опыты по стимулированию созревания и нереста кефали. — «Гидробиологический журнал», 1972, т. VIII, № 1, с. 82—89.
- Братанов К., Диков В., Денчев В. Приложение на якюи нови методи за поощряване на спермо- и овогенез при рибите. София, «Проблеми на нашето сладководно рибарство», 1963.
- Братанов К., Диков В., Дишков А. Результаты применения СЖК в некоторых карповых хозяйствах. — «Ветеринарномед. науки», 1970, т. 7, № 6, с. 3—7.
- Веригин Б., Макеева А. Хориогонин — новый гормональный препарат. — «Рыбоводство и рыболовство», 1971, № 1, с. 9—10.
- Виноградов В., Ерохина Л. Можно ли заменить гипофизы сазана? — «Рыбоводство и рыболовство», 1971, № 2, с. 13—14.
- Гарлов П. Е., Саенко И. И., Боев А. А. Применение хорионидного гонадотропина при массовом разведении судака. Тезисы совещания по проблеме искусственного воспроизводства полупроходных рыб. Астрахань, 1966, с. 11—12.

- Гербильский Н. Л. Метод гипофизарных инъекций и его роль в рыбоводстве.— В кн.: Метод гипофизарных инъекций и его роль в воспроизводстве рыбных запасов. Л., 1941, с. 5—35.
- Гербильский Н. Л. Современное состояние и перспективы метода гипофизарных инъекций в рыбоводстве.— «Труды лаборатории основ рыбоводства», 1947, т. 1, с. 5—25.
- Гербильский Н. Л. Возможна ли в рыбоводстве замена ацетонированных гипофизов другим препаратом.— «Вестник ЛГУ», 1964, № 15, с. 136—137.
- Гербильский Н. Л. Современное состояние вопроса о нейрогормональной регуляции полового цикла у рыб и биотехника гормональных воздействий в рыбоводстве применительно к растительноядным рыбам. Материалы VII сессии смешанной комиссии по применению соглашения о рыболовстве в водах Дуная. Киев, «Наукова думка», 1966, с. 88—98.
- Гербильский Н. Л., Киршенблат Я. Д. Новый тест-объект для диагностики ранней беременности.— «Сборник научных трудов центрального института акушерства и гинекологии», 1947, т. 10, с. 59—69.
- Завадовский М. М. Теория и практика гормонального метода стимуляции многоплодия сельскохозяйственных животных. М., Сельхозиздат, 1963. 671 с.
- Загорски Н. СЖЖ—эффектен стимулятор в развѣждансто. Едно завоевание на науката чака път.— «Рибно стопанство», 1965, т. 12, № 3, с. 20—21.
- Киршенблат Я. Д. Физиологический механизм регуляции процесса созревания ооцитов и овуляции у выюна *Misgurnus fossilis* Z.— «Вопросы ихтиологии», 1961, т. 1, вып. 1 (18), с. 166—193.
- Киршенблат Я. Д. Общая эндокринология. М., «Высшая школа», 1971. 382 с.
- Киршенблат Я. Д. Сравнительная эндокринология яичников. М., «Наука», 1973, 175 с.
- Морозова Т. Е. Действие пролана и нестерилизованной мочи беременной женщины на созревание половых продуктов окуня.— «Зоологический журнал», 1936, т. 15, вып. 1, с. 15—20.
- Морозова Т. Е. Действие гравидана (стерилизованной мочи беременных) на созревание половых продуктов осетровых рыб.— «Ученые записки МГУ», 1937, вып. 9, с. 156—161.
- О возможности применения хоригонина для стимуляции созревания судака.— В кн.: Современное состояние метода гипофизарных инъекций. Астрахань, 1969, с. 24—34. Авт.: И. А. Баранникова, А. А. Боев, П. Е. Гарлов, И. И. Саенко.
- Скадовский С. Н., Парфенова О. И. Влияние гравидана на созревание яиц и икротетание у окуня.— «Ученые записки МГУ», 1937, вып. 9, с. 139.
- Травкин Б. Г., Боев А. А. Опыт определения гонадотропной активности гипофизов различных видов рыб с помощью тест-объектов.— В кн.: Современное состояние метода гипофизарных инъекций. Астрахань, 1969, с. 71—77.
- Cole H., Goss H. The source of equine gonadotrophin. In: *Essays in Biology*. Univ. California Press. 1943, 105—119.
- Hoff F. On Artificial spawning of black sea bass, *Centropristes striatus melanus* Ginsburg, aided by chorionic gonadotropic hormones. *Spec. Sci. Rept. Fla. Dep. Natur. Pesour.* 1970, N 25, p. 17.
- Hyder M., Shah A. V., Kirschner M. A. Effect of chorionic gonadotrophin on testicular histology and testosterone production in *Tilapia leucosticta*. (Teleostei: Cichlidae). *Endocrinology* 1970, 87, N 5, 819—822.
- Ishida R., Hirose K., Donaldson E. Induction of ovulation in Ayu, *Plecoglossus altivelis*, with salmon pituitary gonadotrophin. *Bull. Jap. Soc. Sc. Fish.* 38, 1972, 1007—1012.
- Jones G., Gey G., Gey M. Hormone production by placental cells maintained in continuous culture. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 72, 1943, 26—38.
- Lammond D., Emmens C. The effect of hypophysectomy on the mouse uterine response of gonadotropins. *J. Endocrinol.* 1959, 18, 251—261.
- Lammond D., Emmens C. Nature of urinary gonadotrophins. In: «Human Pituitary Gonadotropins». Thomas, Springfield. 1961, 121—122.
- Morris C. On the molecular weight of pregnant mare's serum gonadotrophin. *Acta endocrinol. Suppl.* 90, 1964, 163—171.
- Ramaswami L. Endocrinology of reproduction in fish and frog. *Gen. Congr. Endocrinol. Suppl.* 1, 1962, 286—289.
- Shehadeh Z., Kuo C. Induced spawning of grey mullet (*Mugil cephalus* L.) with fractionated salmon pituitary extract. *Oceanic Institute. Report* N 01-72-76-1. Waimanalo, Hawaii. 1972, p. 99—122.
- Simpson M., Li C., Evans A. Synergism between pituitary folliclestimulating hormone (FSH) and human chorionic gonadotropin (H.C.G.). *Endocrinology*. 1951, 48, 370—383.
- Sundararaj B., Goswami S. Effects of mammalian hypophysial hormones, placental gonadotrophins, gonadal hormones and adrenal corticosteroids on ovulation

- and spawning in hypophysectomized catfish *Heteropneustes fossilis* (Bloch.). J. Exp. Zool. 1966, N 2, 166, 287—295.
- Sundararaj B., Nayyar S. Effects of Exogenous Gonadotrophins and Gonadal Hormones on the testes and seminal vesicles of Hypophysectomized catfish, *Heteropneustes fossilis*. (Bloch.). Gen. Comp. Endocrinol. 1967, 8, N 3, 403—413.
- Wislocky G., Bennett H. The histology and cytology of the human and monkey placenta, with special reference to the trophoblast. Amer. J. Anat. 1943, 73, 335—345.
- Yamazaki F., Donaldson. The spermiation of goldfish (*Carassius auratus*) as a bioassay for salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) gonadotrophin. Gen. Comp. Endocrinol. 1968, 110, 135—143.
- Zeitlin S. Hormonal induction of ovulation and spawning in the blind cave fish *Anoptichthys jordani* with the use of human chorionic gonadotrophin. Experientia. 1973, 29, N 4, 461—462.

**The possibility of the chorionic gonadotropin treatment for the stimulation of maturation in fishes.**

I. A. Barannikova, A. A. Boev, I. I. Saenko, B. G. Travkin

**SUMMARY**

Stimulating effect of human chorionic gonadotropin on maturing and ovulation of oocytes was investigated in different species fish. There are three groups of fish which differs on their reaction on choriogonin. The possibility of choriogonin using in pisciculture is discussed.