

**ТРУДЫ
ВНИРО**

тот СХV

**ФИЗИОЛОГИЯ
ВОСПРОИЗВОДСТВА
РЫБ
ЧЕРНОГО МОРЯ**

ALL—UNION RESEARCH INSTITUTE
OF MARINE FISHERIES AND OCEANOGRAPHY
(VNIRO)

PROCEEDINGS

VOLUME CXV

PHYSIOLOGY
OF REPRODUCTION
OF FISHES THE BLACK SEA

MOSCOW
PISHCHEVAYA PROMYSHLENNOST
1976

639.2
ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
МОРСКОГО РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА И ОКЕАНОГРАФИИ
(ВНИРО)

ТРУДЫ

Том СХV

ФИЗИОЛОГИЯ
ВОСПРОИЗВОДСТВА
РЫБ
ЧЕРНОГО МОРЯ

МОСКВА
ПИЩЕВАЯ ПРОМЫШЛЕННОСТЬ
1976

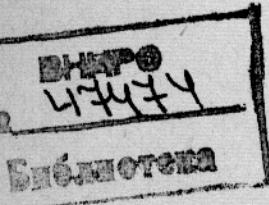
УДК 597—11+597—116+639.3.045 (262.5)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

М. И. ШАТУНОВСКИЙ, В. С. АПЕКИН,
Н. И. КУЛИКОВА, Е. А. КАМЕНСКАЯ

EDITORIAL BOARD:

M. I. SHATUNOVSKY (Chief Editor), V. S. APEKIN,
N. I. KULIKOVA, E. A. KAMENSKAYA



© Всесоюзный научно-исследовательский институт
морского рыбного хозяйства и океанографии
(ВНИРО), 1976 г.

Ф 40800—163 без объявл.
044(01)—76

СОДЕРЖАНИЕ

Апекин В. С. Исследования по физиологии созревания и нереста морских рыб	5
Апекин В. С., Вальтер Г. А., Гнатченко Л. Г. Изменение ооцитов при созревании и получение зрелой икры с помощью гомопластических гипофизарных инъекций у лобана (<i>Mugil cephalus</i> L.)	13
Апекин В. С., Куликова Н. И., Вальтер Г. А. Цитоморфологические изменения яичников сингиля (<i>Mugil auratus</i> Risso) в период размножения	24
Апекин В. С., Гнатченко Л. Г. О реакции ооцитов кефалей на гормональные препараты <i>in vitro</i>	34
Гнатченко Л. Г. О созревании ооцитов кефалей <i>in vitro</i> под действием гипофизов некоторых видов рыб и хорионического гонадотропина человека	41
Аронович Т. М. Об инкубации икры и выращивании личинок кефали-сингиля (<i>Mugil auratus</i> Risso)	46
Воробьева Н. К., Таликина М. Г. Результаты анализа созревания самок черноморской камбалы-калкана	51
Золотницкий А. П., Моисеева Е. Б. Исследование гонадотропной функции гипофиза камбалы-калкана	57
Гнатченко В. Ф. Получение зрелых яиц и личинок глоссы от интактных самок	66
Куликова Н. И., Фандеева В. Н. Анализ формирования разных порций яиц у азовского бычка-кругляка (<i>Gobius melanostomus</i> Pallas)	70
Романенко В. Ф. Выращивание молоди полосатого окуня в условиях Краснодарского края	82
Трушинская М. Б. Некоторые эколого-физиологические особенности ранних стадий развития кутума (<i>Rutilus frisii kutum</i> Kamentsky)	86
Рефераты	91

CONTENTS

V. S. Apekin. Physiology of maturation and spawning of marine fish	5
V. S. Apekin, G. A. Valter, L. G. Gnatchenko, Changes in oocytes at maturation and in mature eggs obtained on account of homoplastic hypophysial injections in mullet (<i>Mugil cephalus</i> L.)	13
V. S. Apekin, N. I. Kulikova, G. A. Valter. Cytomorphological changes in the ovaries of mullet (<i>Mugil auratus</i> Risso) in the reproduction period	24
V. S. Apekin, L. G. Gnatchenko. On response of oocytes of mullet to hormonal drugs in vitro	34
L. G. Gnatchenko. To ripening of oocytes in vitro under the influence of hypophyses of some species of fish and chorionic human gonadotropin	41
T. M. Aronovich. Preliminary data on incubation of eggs and rearing of larvae of mullet (<i>Mugil auratus</i> Risso)	46
N. K. Vorobyeva, M. G. Talikina. Results of the analysis of maturation of females of the Black Sea turbot	51
A. P. Zolotnitsky, E. B. Moiseeva. Investigations of the gonadotropic function of hypophysis in turbot	57
V. F. Gnatchenko. Incubation of mature eggs and rearing of larvae from intact females of <i>Platichthys flesus luscus</i> (Pallas)	66
N. I. Kulikova, V. N. Fandeeva. Analysis of formation of various batches of eggs in Azov round goby (<i>Gobius melanostomus</i> Pallas)	70
V. F. Romanenko. Rearing of young striped bass in the Krasnodar region	82
M. B. Trushinskaya. Some ecological-physiological peculiarities of early stages of development of <i>Rutilus frisii kutum</i> Kamensky	86
Abstracts	91

УДК 597—116:597—154.343

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ФИЗИОЛОГИИ СОЗРЕВАНИЯ И НЕРЕСТА МОРСКИХ РЫБ

Апекин В. С.

В настоящее время установлена общая схема регуляции воспроизведительной функции рыб (Баранникова, 1975; Вагг, 1968; Ноаг, 1969; Fontaine, 1969; Reinboth, 1972; Donaldson, 1973; de Vlaming, 1974 и др.). Размножение регулируется гипоталамусом, в которомрабатываются релизинг-факторы, контролирующие функциональную активность гипофиза. Гонадотропные гормоны гипофиза обеспечивают развитие гонад: рост и созревание половых клеток, а также синтез стероидных половых гормонов. Наряду с этим гормоны гипофиза активизируют деятельность щитовидной железы и интерренальной ткани, которые принимают участие в регуляции функционирования гонад. Половые гормоны в свою очередь вызывают развитие вторичных половых признаков и брачное поведение во время нереста. Путем обратных связей половые гормоны контролируют активность гипоталамуса и гипофиза. Таким образом, гипоталамус — гипофиз — гонады можно рассматривать как осевую систему органов, интегрирующую участие внешних и внутренних факторов в регуляции размножения.

Для морских костистых рыб характерно огромное разнообразие типов оогенеза и нереста. У некоторых видов, в особенности у обитателей умеренных широт, рост и созревание ооцитов происходит синхронно. В этом случае в яичниках выделяется одна группа желтковых ооцитов. Такие рыбы нерестятся один раз в году в течение относительно короткого промежутка времени. У других видов рыб яйцеклетки развиваются асинхронно, и в яичниках присутствуют ооциты, находящиеся на разных стадиях роста и созревания. Для этих рыб характерен продолжительный сезон размножения с многопорционным нерестом: функционирование гипоталамуса — гипофиза — гонад у рыб со сложными типами нереста изучено еще недостаточно (Казанский, 1952; Вагг, 1968).

С 1970 г. в лаборатории физиологии рыб АзЧерНИРО был начат комплекс полевых и экспериментальных исследований размножения и нереста морских рыб; с 1973 г. в этих работах участвует лаборатория физиологии и биохимии рыб ВНИРО. При выборе объектов учитывали их перспективность для искусственного разведения. Такими объектами явились кефали. Их промышляют в море, а также в лиманах Причерноморья, где выращивают в основном сингиля (*Mugil auratus* Risso). Перевод выростных хозяйств на выращивание другого вида кефали — лобана (*Mugil cephalus* L.), темп роста которого выше (Кротов и др., 1969; Зелинский и др., 1969), может дать значительные экономические

выгоды. Перспективно выращивание кефали вместе с карпом в пресноводных прудах (Бабаян, 1963). Основная трудность в ведении кефале-выростных хозяйств — обеспечение их посадочным материалом (Старушенко, 1974). Самки со зрелой икрой в уловах почти не встречаются, а в искусственных условиях без специальной гормональной обработки они не созревают (Shehadeh, 1972). Поэтому первый этап искусственного выращивания молоди кефалей — получение от самок зрелой икры.

Глосса (*Platichthys flesus luscus* Pall.) так же, как и кефали, хорошо растет в лиманах и может стать объектом искусственного разведения.

Камбала-калкан (*Scophthalmus maeoticus* Pall.) образует обособленные локальные стада, привязанные к одному району обитания. Искусственное разведение должно помочь восстановить ее запасы (Попова, 1969).

Бычок-мартовик (*Gobius baetrachocephalus* Pall.) и бычок-кругляк (*Gobius melanostomus* Pall.) — важные промысловые объекты. Они принадлежат к одному роду, но четко отличаются типами нереста: мартовик — единовременно, а кругляк — многопорционннерестящийся. Кругляк прекрасно выживает в аквариальных условиях и удобен как модельный объект.

При исследовании созревания и нереста перечисленных видов рыб были поставлены следующие задачи.

1. Выяснить особенности созревания и нереста рыб в природе.
2. Выяснить возможность управления созреванием и нерестом в искусственных условиях: оценка гонадотропной активности гипофизов; экспресс-оценка состояния половых желез; стимулирование созревания и нереста с помощью гормональных препаратов.

3. Сравнить воспроизводительные системы рыб с разными типами нереста.

Морфо-функциональная характеристика гипоталамуса и гипофиза бычков. Гипоталамическая нейросекреторная система бычков обоих видов хорошо развита и состоит из латерального и преоптического ядер, связанных с гипофизом с помощью гипоталамогипофизарных трактов и хорошо развитого нейрогипофиза (Моисеева, 1973). Нейросекреторные клетки преоптического ядра изменяются в зависимости от состояния гонадотропных элементов гипофиза и половых желез; у отнерестившихся мартовиков, например, часть клеток разрушена, многие нейроны находятся в фазе «опустошения» или «высокой активности», что свидетельствует об активном выведении нейрогормонов. На гистологических срезах преоптического ядра кругляка никогда не наблюдается массовое разрушение тел нейронов.

Высказано предположение, что морфо-функциональные изменения нейросекреторных клеток преоптического ядра связаны с участием этих элементов в созревании и нересте.

Исследована морфология гипофизов бычков, и методами селективного окрашивания идентифицированы гонадотропные, тиреотропные и адренокортикотропные клеточные элементы (Моисеева, 1973). Особенности функционирования гипофиза мартовика и кругляка четко выявляются в посленерестовый период. У мартовика сильно истощаются все области адено-гипофиза, особенно гонадотропные элементы, а также клетки, связанные с выработкой адренокортикотропного и тиреотропного гормонов. Таким образом, в процессах размножения мартовика участвует целая группа гормональных факторов. Клетки адено-гипофиза у мартовика восстанавливаются в течение 5—6 мес после нереста.

У кругляка после вымета первой порции икры (стадия зрелости VI—III) изменения наблюдаются только в зоне гонадотропных клеток. Изменения в клетках про- и метааденогипофиза не замечены. После вымета последней порции икры (VI—II стадия зрелости) истощение гонадотропных элементов становится заметнее. Однако оно выражено значительно слабее, чем у мартовика. У кругляка базофильные клетки первого типа в мезоаденогипофизе в отличие от мартовика восстанавливаются быстро (около месяца).

Оценка гонадотропной активности гипофиза. Для определения гонадотропной активности гипофиза широко используют биологические методы тестирования (Казанский, Нусенбаум, 1947; Аллатов, Строганов, 1950; Fontaine, Chauvel, 1961 и др.). Было обнаружено, что часть традиционных тест-объектов непригодна для оценки активности гипофизов исследуемых видов. Так, гипофизы самок бычка-кругляка IV стадии зрелости даже в дозе 2 мг не вызывали спермиацию у травяной лягушки и овуляцию у вынона (Моисеева, 1973).

А. П. Золотницкому не удалось вызвать спермиацию озерной лягушки гипофизами камбалы-калкана (доза 2 мг), бычка-кругляка (2 мг) и лобана (4 мг). Гипофизы рыб восьми видов, испытанные на ооцитах зеленой жабы *in vitro* распределялись на четыре группы: высокоактивные (осетр), среднеактивные (сазан), низкоактивные (лобан, сингиль, камбала-калкан, глосса, горбуша), неактивные (бычок-кругляк). Очевидно, активность гипофизов связана с зоологической специфичностью гонадотропинов (Казанский, 1940; Pickford, Atz, 1957 и др.). Различия гонадотропинов в связи с систематическим положением рыб подтверждаются при исследовании очищенных препаратов. Так, гонадотропин карпа повышает активность аденилциклазы в яичнике золотой рыбки сильнее, чем гонадотропин чавычи. Карп и золотая рыбка относятся к одному семейству, а чавыча и золотая рыбка — к разным отрядам (Fontaine et. al., 1972).

Поиск объектов, пригодных для тестирования, продолжается. Так, установлено, что гипофизы калкана не вызывают спермиацию у лягушки, но могут быть оттестированы по овуляции вынона (Золотницкий, Моисеева, статья в данном сборнике). Активность гипофизов кефали, сазана и осетра испытана на ооцитах кефали *in vitro* (Гнатченко, статья в данном сборнике), что, по-видимому, наиболее перспективно, так как тестирование проводится на том же объекте, созревание которого будет стимулироваться исследуемыми препаратами.

Исследована связь между массой гипофиза и степенью развития половой железы у кругляка (Моисеева, 1972). Установлено, что средняя масса ацетонированных гипофизов у одноразмерных самок увеличивается в процессе развития гонад и достигает максимума на IV—V стадии зрелости. После нереста масса гипофизов снижается.

Активность гипофиза оценивали также путем его иммунологического анализа (Апекин, Моисеева, 1973). В опытах с иммунной сывороткой к белкам гипофиза половозрелых рыб антигенный спектр желез в процессе созревания заметно усложняется. Иммунная сыворотка, истощенная железами неполовозрелых самцов, продолжает выявлять специфические для созревающих и нерестящихся рыб антигенные факторы. Начиная с III стадии зрелости, они резко усиливаются и достигают максимума на IV и IV—V стадиях, сохраняются на довольно высоком уровне у продолжающих нереститься рыб и не выявляются у полностью отнерестившихся.

Был испытан также вариант оценки активности железы по «антителному отпечатку». Ацетонированные гипофизы кругляка одинаково-

го размера, но разных стадий зрелости погружали в тонкий слой геля, смешанного со специфической иммунной сывороткой. Площадь кольца осадка, образовавшегося вокруг желез, оценивали весовым методом. Сопоставление результатов, полученных весовым и иммунологическим анализом, выявляет последовательное нарастание показателей до IV стадии зрелости, относительно высокий их уровень на стадиях IV—V, V—VI и снижение — после нереста. Истощенная сыворотка (с повышенной специфичностью) обнаруживает и более тонкие изменения — уменьшение в гипофизе антигенных факторов, связанных с гонадотропной функцией уже на V стадии зрелости.

Следовательно, выведение гонадотропина из гипофиза предшествует переходу рыбы в нерестовое состояние (Апекин, Моисеева, 1973). Рассмотренные выше подходы дают возможность выразить активность гипофиза только в относительных величинах. Абсолютное количество гонадотропина как в гипофизе, так и в плазме крови можно определить радиоиммunoлогическим методом (Breton et al., 1972; Critt et al., 1973).

Развитие ооцитов у рыб с разными типами нереста. Наиболее подробно изучен бычок-кругляк. При благоприятных условиях в сезон размножения самки этого вида могут откладывать до шести порций икры. Первая зимняя порция формируется в течение 5,5—6 мес, вторая 28—30 дней и последующие 17—20 дней. С повышением температуры интенсифицируется рост, вителлогенез и созревание ооцитов. У одноразмерных самок от начала к концу нерестового сезона снижается размер и масса зрелых яиц. При формировании третьей и последующих порций ооциты созревают прежде, чем завершается их рост. При этом, судя по гистологическим препаратам, ядро мигрирует в ани-мальную область еще до начала гомогенизации желтка (Куликова, Фандеева, статья в данном сборнике).

Методом диск-электрофореза в ПААГ исследована динамика водно- и солерастворимых белков желтка обоих видов бычков на протяжении репродуктивного периода (Куликова, 1973). В процессе желткообразования уменьшается количество выявляющихся на электрофорограммах компонентов, усиливается интенсивность окрашивания и мощность белковых фракций с относительно низкой электрофоретической подвижностью. С помощью дифференцированного окрашивания фракций на глико- и липопротеины установлено, что «тяжелые» катодные компоненты — это сложные комплексы белков с липидами. Таким образом, в процессе вителлогенеза происходит комплексирование белков. В период же созревания физико-химические свойства белковых комплексов резко меняются и увеличивается их водорастворимость. Электрофоретические спектры зрелых яиц от начала к концу нерестового сезона становятся более гетерогенными. При формировании последних генераций икры созревание наступает до завершения комплексирования белков, т. е. до завершения вителлогенеза. Это подтверждается гистологическими наблюдениями и свидетельствует о лабильной корреляции между ростом и созреванием ооцитов.

Гистологические и биохимические различия между порциями икры в начале и конце нерестового сезона не свидетельствуют о снижении ее биологических качеств, так как в эксперименте показано, что процент оплодотворенных и нормально развивающихся яиц, отложенных в разных порциях, одинаков.

Для камбалы-калканя составлена шкала зрелости (Таликина, 1974) и исследованы особенности созревания отдельных порций икры. У этого вида развивается одна генерация желтковых ооцитов. Вителлогенез интенсифицируется в марте. В апреле встречаются нерестящиеся сам-

ки. Созревание и икрометание прерывистое. В эксперименте удается получить 2—5 порций зрелой икры, что составляет незначительную часть от общего фонда желтковых ооцитов. Новые материалы о созревании калкана публикуются в этом сборнике (статьи Воробьевой и Таликиной).

Камбала-глосса также порционнонерестящаяся рыба. В эксперименте от нее удается получить несколько порций икры. В 1975 г. В. Ф. Гнатченко успешно провел инкубацию икры и подращивание личинок глоссы. Часть из них прошла метаморфоз и достигла стадии «пятачка».

В последнее время исследуются также созревание и нерест кефалей: лобана и сингиля. Проанализированы состав и размеры их ооцитов в свежих яичниках под бинокуляром (Апекин, Куликова, Вальтер, статья в данном сборнике). Для кефалей характерен высокий темп вителлогенеза и созревания. У некоторых самок сингиля развивается две генерации желтковых ооцитов, так что он относится к потенциально-порционнонерестящимся рыбам. Вторая генерация начинает активно расти после того, как первая уже сформирована, и средний размер старших клеток достиг 450—500 мкм. Возможно, что при благоприятных условиях некоторые самки сингиля выметывают две порции икры, что необходимо учитывать при оценке эффективности нереста всей популяции.

Для оценки плодовитости выбирают самок IV стадии зрелости. Но у сингиля размер половых желез значительно варьирует и по визуальным признакам без анализа диаметра клеток точно определить стадию зрелости трудно. В яичниках IV стадии зрелости ооциты достигают размера в среднем 475 мкм и более. Очевидно, в яичниках с клетками меньшего диаметра величина плодовитости будет занижена. С другой стороны, поскольку диаметр мелких клеток может быть 300 мкм, а численность их достигает 40% общего фонда желтковых клеток, то, если их учитывать вместе с крупными, величина плодовитости окажется значительно завышенной.

Оценка степени развития ооцитов и их чувствительности к гонадотропинам. Для получения зрелых половых продуктов путем стимулирования производителей гормональными препаратами необходимо знать степень развития ооцитов до и после инъекций гормона. Это особенно важно по отношению к кефалям, так как вителлогенез у них протекает в сжатые сроки, и в уловах часто встречаются самки с недоросшими яйцеклетками. Прежде всего возникла необходимость выбора критериев, которые могли бы быть использованы для оценки действия гонадотропных препаратов. Для этого проведено гистологическое исследование ооцитов, взятых щупом у подопытных рыб в процессе их созревания.

В результате на ооцитах лобана выделены последовательные состояния, четко отличающиеся одно от другого: дефинитивный ооцит; начало слияния жировых включений; начало смещения ядра; начало гомогенизации желтка; зрелое яйцо (Апекин, Тронина, 1972). Однако гистологическая обработка занимает много времени, и полученные данные не могут быть использованы при планировании эксперимента. Применение техники замораживания хотя и ускоряет приготовление срезов, но не позволяет обработать необходимое количество материала. Поэтому исследовали признаки созревания, которые могут быть выявлены непосредственно на живых клетках (Апекин, 1973). Цитоморфологические изменения при созревании ооцитов лобана описаны в статье В. С. Апекина, Г. А. Вальтера, Л. Г. Гнатченко, помещенной в сборнике.

Последовательное укрупнение жировых капель в ооцитах позволило выделить ряд промежуточных состояний, которые хорошо отличаются одно от другого, и использованы в качестве критериев при оценке действия гипофизарных препаратов. Так, например, после введения самке сингиля IV стадии зрелости 2 мг гипофиза сазана в ооцитах укрупняются жировые капли. Через 12—24 ч наступает фаза «более 10 жировых капель», после чего процесс останавливается. В течение 3—4 суток картина не меняется, а в дальнейшем ооциты начинают резорбироваться. Если через 12—24 ч после первой инъекции самке ввести еще 2—3 мг гипофиза, то созревание завершается овуляцией. Если же вторую инъекцию провести позже — через 48 ч, то укрупнение жировых капель несколько продвигается вперед, но вновь останавливается. Однако увеличение в последнем случае второй дозы до 5 мг может вызвать полное созревание. Как видно, оценка состояния яичника по выделенным фазам в ходе эксперимента позволяет исследовать эффективность различных вариантов гормональной стимуляции. Подобный же подход применен и на камбale-калкане (Воробьев, Таликина, 1974).

Для этих же целей освоен метод культивирования ооцитов кефалей (lobana и сингиля) *in vitro* (Алекин, Гнатченко, статья в данном сборнике). Показано, что ооциты отдельных интактных самок различаются по своей способности отвечать на гипофизарные гормоны укрупнением жировых капель, что, по-видимому, связано со степенью завершенности в них процессов роста и с состоянием рыб. Реакция ооцитов *in vitro* хорошо согласуется с результатами опытов *in vivo*. Процесс созревания ооцитов *in vitro* заметно усиливается после сенсибилизации самок подпороговыми дозами гипофиза и завершается формированием зрелых прозрачных икринок. При этом чувствительность ооцитов после инъекции в начале нарастает, достигает максимума в промежутке между 12 и 24 ч, а затем снижается. Параллельное исследование поведения ооцитов *in vivo* и *in vitro* направлено на обоснование оптимальных схем стимулирования созревания.

Выходы

1. Экспериментальное и цито-морфологическое изучение гипоталамуса—гипофиза—гонад у бычков показало, что функционирование этой системы у единовременно- и порционнонерестящихся рыб заметно различается во всех исследованных звеньях. Для порционнонерестящегося бычка-кругляка характерна лабильная регуляция роста и созревания яйцеклеток, определяющаяся, по-видимому, адаптациями репродуктивной функции этого вида к широкому диапазону нерестовой температуры.

2. Установленные особенности гамотогенеза и нереста бычков (кругляк, мартовик), камбал (калкан и глосса) и кефалей (loban, сингиль) открывают возможности контролировать эффективность их размножения в природе и исследовать причины, которые ее определяют. В то же время созданы предпосылки для активного воздействия на размножение этих видов рыб. Успешное индуцирование созревания и нереста в экспериментальных условиях позволяет приступить к их искусственному воспроизводству. Методы оценки гонадотропной активности гипофизов, выбор гормональных препаратов, экспресс-оценка состояния ооцитов и их чувствительности к гипофизарным гормонам, обоснование оптимальных схем стимулирования — все это — элементы, из которых складывается биотехника искусственного воспроизведения рыб.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Аллатов В. В., Стrogанов Н. С. Новая единица измерения активности гипофиза у рыб. — «ДАН СССР», 1950, т. 74, № 2, с. 405—407.
- Апекин В. С. Регуляция созревания и нереста в связи с проблемой искусственного воспроизводства морских рыб. — В кн.: Экологическая физиология рыб. М., 1973, с. 84—86.
- Апекин В. С., Моисеева Е. Б. Изменения антигенного состава гипофиза бычка-кругляка *Gobius melanostomus* P. в связи с половым циклом. — «Журнал эволюционной биохимии и физиологии», 1973, т. IX, № 1, с. 56—64.
- Апекин В. С., Тропина Т. М. Опыты по стимулированию созревания и нереста кефали (предварительные результаты). — «Гидробиологический журнал», 1972, т. 8, № 1, с. 82—89.
- Бабаян К. Е. Выращивание кефали в пресноводных водоемах. — «Труды ВНИИПРХ», 1963, т. XII, с. 47—63.
- Бараникова И. А. Особенности гормональной регуляции функции половых желез и размножения у рыб. — «Онтогенез», 1975, т. 6, № 1, с. 3—10.
- Воробьев Н. К., Таликина М. Г. Результаты исследования биологии размножения черноморской камбалы-калкана. — В кн.: Биология промысловых рыб и беспозвоночных на разных стадиях развития. (Тезисы докладов Всесоюзной конференции). Мурманск, 1974, с. 43—45.
- Зелинский В. В., Кротов А. В., Старушенко Л. И. Экономические показатели двухлетнего оборота выращивания кефалей. — «Рыбное хозяйство», 1969, № 3, с. 17—18.
- Казанский Б. Н. К вопросу о таксономической специфичности гонадотропного гормона у рыб. — «ДАН СССР», 1940, т. 27, № 2, с. 40—43.
- Казанский Б. Н. Экспериментальный анализ порционного икрометания. — «Зоологический журнал», 1952, т. 31, вып. 6, с. 883—896.
- Казанский Б. Н., Нусенбаум Л. М. Вьюн (*Misgurnus fossilis* L.) как объект для определения гонадотропной активности препаратов гипофизов рыб. — «Труды лаборатории основ рыбоводства», 1947, т. I, с. 111—120.
- Кротов А. В., Старушенко Л. И., Спирин М. Я. О принципах перевода кефальных хозяйств на выращивание остроноса и лобана. — «Труды АзЧерНИРО», 1969, вып. 28, с. 52—61.
- Куликова Н. И. Изменение фракционного состава белков ооцитов азовского бычка-мартошки *Gobius batrachocephalus* Pall. на протяжении репродуктивного периода. — В кн.: «Биохимическая эволюция». Л., «Наука», 1973, с. 110—115.
- Моисеева Е. Б. Изменение веса гипофиза как показателя его функционального состояния на разных этапах полового цикла бычка-кругляка *Gobius melanostomus* Pall. — «Вопросы ихтиологии», 1972, т. 12, вып. 5, с. 875—879.
- Моисеева Е. Б. Морфофункциональная характеристика гипофиза бычков *Gobius batrachocephalus* Pall. и *G. melanostomus* Pall. в связи с особенностями их типов нереста. Автореферат кандидатской диссертации. Л., 1973. 28 с.
- Попова В. П. Об искусственном разведении черноморской камбалы-калакана. — «Рыбное хозяйство», 1969, № 5, с. 16—17.
- Старушенко Л. И. Биологические основы и биотехника товарного выращивания кефалей остроноса и лобана в причерноморских соленых лиманах юга Украины при двухлетнем обороте. Автореферат кандидатской диссертации. Одесса, 1974. 32 с.
- Таликина М. Г. Оogenез и половой цикл черноморской камбалы *Scophthalmus maeoticus* Pall. — «Вопросы ихтиологии», 1974, т. 14, вып. 3, с. 436—444.
- Barr W. A. Pattern of ovarian activity—Perspectives in endocrinology L.—N. Y. 1968, 168—232.
- Bretton B., Billard R., Jalabert B., Kann G. Dosage radioimmunologique des gonadotripes plasmitiques chez *Carassius auratus*, au cours du nycthé-mére et pendant l'ovulation. Gen. and Comp. Endocrinol., 18, N 3, 1972, 368—468.
- Crim L. W., Meyer R. R., Donaldson E. M. Radioimmunoassay estimates of plasma gonadotropin levels in the spawning pink salmon. Gen. and Comp. Endocrinol., 21, N 1, 1973, 69—76.
- Donaldson E. M., Yamazaki F., Dye H. M., Philleo W. W. Preparation of gonadotropin from salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) pituitary glands. Gen. and Comp. Endocrinol., 18, N 3, 1972, 469—481.
- Donaldson E. M. Reproductive endocrinology of fishes—Amer Zool. 13, N 3, 1973, 909—927.
- Fontaine M. Contrôle endocrinien de la reproduction chez les Poissons Téléostéens. Fish and Fisheries Plenary Lecture. Verh. Intern. Verein. Limnol., 17, 1969, 611—624.
- Fontaine M., Chauvel M. Evaluation du pouvoir gonadotrope de l'hypophyse des poissons téléostéens, et en particulier du *Salmo salar* L. à diverses étapes de son développement et de ses migrations. C. R. Acad. Sci. Paris, 252, 6, 1961, 822—825.

Fontaine Y. A., Salmon C., Fontaine-Bertrand E., Burzawa-Gerard E., Donaldson E. M. Comparison of the activities of two purified fish gonadotropins on adenylcyclase activity in the goldfish ovary—Canad. J. Zool., v. 50, N 12, 1972, 1673—1676.

Hoar W. S. Reproduction. In Fish physiology. Ed. W. S. Hoar a. D. J. Randall. A. P. New-York, v. 3, 1969, 1—72.

Pickford G. E., Atz J. W. The physiology of the pituitary gland of fishes. New-York Zool. Soc., 1957.

Reinboth R. Hormonal control of the teleost ovary. Amer. Zool. v. 12, N 2, 1972, 307—324.

Shehadeh Z. H. Controlled breeding of culturable species of fish. A review of progress and current problems. Coast Aquacult. Indo-Pacif. Reg. London, 1972, 180—194.

Vlaming V. Z. Environmental and endocrine control of teleost reproduction. In Control of Sex in Fishes. Ed. C. B. Sehreck, USA, 1974, 13—83.

Physiology of maturation and spawning of marine fish

V. S. Apekin

SUMMARY

The experiments and field investigations of maturation and spawning of mullet, goby and turbot have shown that the functioning of individual links of the system: hypothalamus—hypophysis—gonads differs in single—and multiple—stage spawners (toad goby and round goby). The functional activity of the hypophysis of round goby determined by changes in weight and antigenic composition is increasing till gonad stage IV, then it is still high in the spawning period and starts to lower at stage VI—II. The results of inkestigations of hypophyses of a number of species of marine fish are considered. The electrophoretic mobility of sturgeon is determined. The immune serum of narrow spector to gonadotropin is experimentally prepared. Peculiarities of gametogenesis and spawning in nature are characterized. Changes in oocytes of maturing mullet are investigated. Some intermediate phases are ascertained which can be used as criteria to assess the effect of hormonal drugs on maturation. The sensitivity of oocytes to gonadotropins is evaluated by their response *in vitro*.

УДК 597.593.4:597—116

ИЗМЕНЕНИЕ ООЦИТОВ ПРИ СОЗРЕВАНИИ И ПОЛУЧЕНИЕ ЗРЕЛОЙ ИКРЫ С ПОМОЩЬЮ ГОМОПЛАСТИЧЕСКИХ ГИПОФИЗАРНЫХ ИНЪЕКЦИЙ У ЛОБАНА (*MUGIL CEPHALUS* L.)

Апекин В. С., Вальтер Г. А., Гнатченко Л. Г.

Впервые успешное индуцирование нереста лобана с помощью инъекций гипофизарного экстракта было осуществлено Тантом (Tang, 1964). Положительные результаты по индуцированию нереста черноморских кефалей были получены и в нашей стране (Виноградов и др., 1968; Апекин, Тронина, 1972; Житенев и др., 1974).

Для оценки подготовленности самок к нересту и обоснования оптимальных схем индуцирования созревания необходимо было разработать способ быстрой диагностики состояния ооцитов. Для этой цели мы предложили использовать ряд морфологических признаков, которые могут быть выявлены непосредственно в живой клетке (Апекин, 1973).

В предлагаемой работе продолжено изучение последовательных изменений в ооцитах лобана при созревании, а также индуцирующего действия различных доз гомопластических гипофизов.

Работа выполнена на экспериментальной базе АзЧерНИРО (Керченский пролив) в июне—августе 1972, 1974 гг.

Самок лобана брали из уловов подъемных кефалевых заводов, установленных в 0,3 и 10 км от базы, доставляли в полиэтиленовых мешках с принудительной аэрацией и размещали в бетонных бассейнах объемом 2,5—3 м³ по 4—6 шт. в каждый. В первые 6—12 ч в бассейнах поддерживали постоянную проточность, так как рыба вела себя беспокойно и выделяла много слизи. Затем воду меняли раз в 1—3 дня по мере загрязнения. Температура воды за период исследования изменялась от 19 до 25°C, соленость от 13,3 до 17,7‰. В течение каждого опыта температура и соленость оставались постоянными.

Опыты проводили на 4—7-летних самках длиной 42—65 см и массой 1,0—3,4 кг с гонадами в IV стадии. Часть рыб из каждой партии забивали, проводили полный биологический анализ и извлекали гипофизы (массой от 19 до 56 мг, в среднем 30 мг), из которых сразу же готовили суспензию на физиологическом растворе (0,6% NaCl из расчета 40 или 60 мг/мл) для серии опытов на 5—7 рыбах. Суспензию вводили внутримышечно. В промежутках между инъекциями ее сохраняли в замороженном состоянии.

Перед инъекцией, а затем через 12—24 ч после нее, у самки брали пробу ооцитов. Для этого ее пересаживали в специальный ящик и вводили в генипору на глубину 5—7 см щуп, изготовленный из хирургической иглы со сглаженным наконечником и боковой лункой (рис. 1).

Клетки помещали в физиологический раствор и под бинокулярной лупой с окуляр-микрометром при увеличении 8×4 измеряли у 50-й из них диаметр и оценивали морфологическое состояние: степень слияния жировых капель, их количество, уровень гомогенизации желтка и гидратации. Ядро — зародышевый пузырек — исследовали, освободив его из клетки. О его положении судили по срезам, подготовленным с помощью замораживающего микротома. Ооциты на разных стадиях созревания фотографировали под лупой.

Полученную зрелую икру оплодотворяли и инкубировали в чашках Петри. Для оплодотворения использовали сперму самцов лобана, доставленных на базу вместе с самками и содержащихся отдельно в резервном бассейне. В большинстве случаев от них можно было получить некоторое количество молок без инъекций гипофиза.

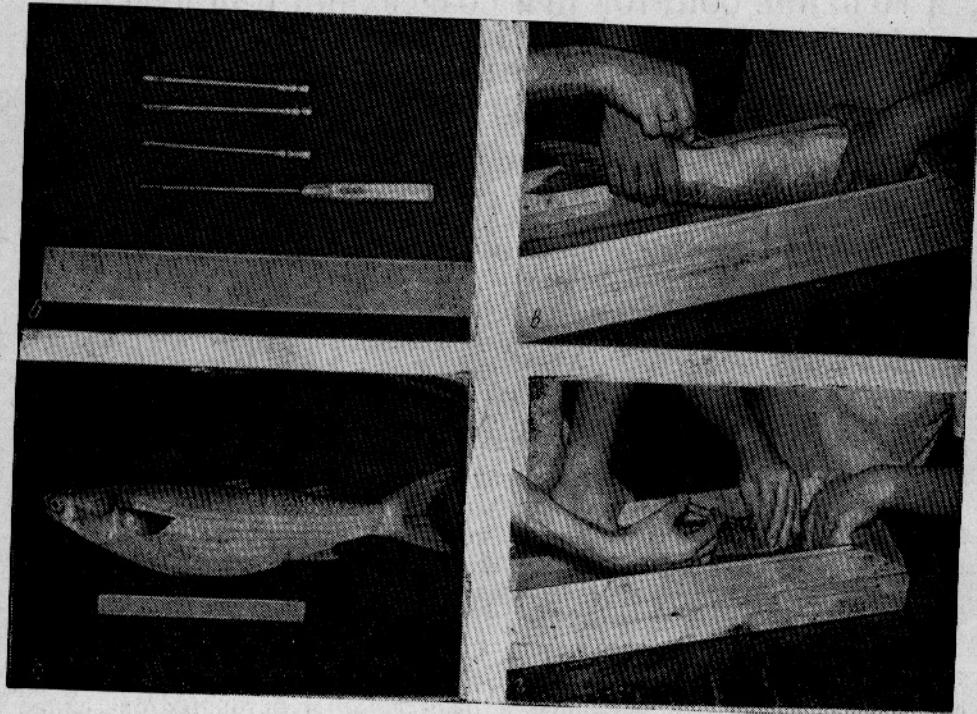


Рис. 1. Самка лобана и некоторые приспособления для работы с ней:
а — самка IV стадии зрелости, длина 52 см; б — металлические щупы; в — взятие пробы ооцитов щупом; г — введение гипофизарного препарата.

Изменения ооцитов при созревании. Крупный желтковый ооцит лобана диаметром 475—500 мкм имеет шарообразную или слегка вытянутую форму (рис. 2). С одной стороны фолликул-ооцит в оболочках несколько уплощен, и в этом месте его опоясывает кровеносный сосуд, от которого вверх по фолликулу разветвляются капилляры. Ооцит светло-желтого цвета, покрыт тонкими, плотно прилегающими оболочками. При проколе оболочек из ранки выходит ядро (зародышевый пузырек) диаметром 170—180 мкм и мелкозернистое содержимое, в котором различимы глобулы желтка и капельки жира менее 25 мкм в диаметре. На срезах ядро находится в центре яйцеклетки, а жировые включения равномерно распределены по всей ооплазме.

Через 12—24 ч после введения самке гормонов гипофиза размер ооцита увеличивается на 10—30 мкм, жировые капли укрупняются до 50 мкм и более. Они равномерно распределены в ооплазме и хорошо

видны в живой клетке (см. рис. 2). Ядро расположено в центре ооцита.

По мере укрупнения жировых капель их количество уменьшается. Когда в живой клетке насчитывается более 10 жировых капель, их размеры примерно одинаковы (см. рис. 2) и они несколько смешены к центру клетки; периферийная зона цитоплазмы начинает освобождаться от них. Ядро по-прежнему занимает центральное положение. С увеличением размера капель и уменьшением их количества до 5—10 выявляется одна или несколько более крупных (см. рис. 2). Продолжается смещение к центру. Ядро при этом занимает уже несколько аденитичное положение.

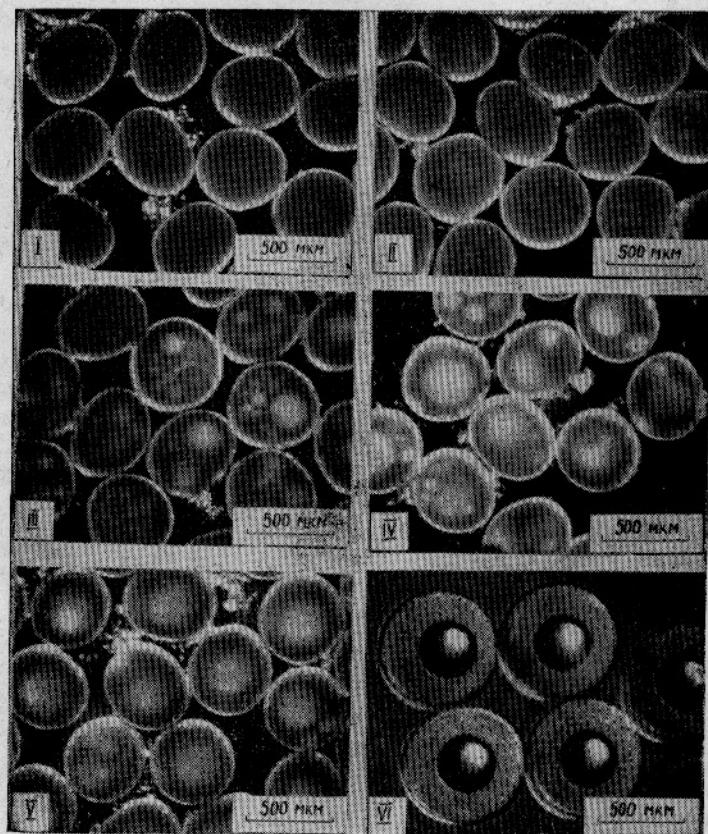


Рис. 2. Последовательные состояния ооцитов лобана при созревании:

I — желтковые ооциты, фаза Ж; II — начало укрупнения жировых капель — НЖК; III — капель более 10—>10 ЖК и 5—10 ЖК; IV — 5—10 ЖК и 2—4 ЖК; V — 1 ЖК; VI — зрелые овулированные яйца — ЗЯ.

После краткого периода, когда в клетке можно наблюдать 2—4 жировых капли, они объединяются в одну, которая занимает центральное положение в ооците (см. рис. 2). При проколе оболочки в одном случае жировая капля, выходя наружу, сразу же распадается на ряд мелких, а в другом — сохраняет свою форму. Зародышевый пузырек расположен в периферийном слое цитоплазмы и виден на фоне капли. При проколе он легко выходит из яйцеклетки.

Следующий этап — гомогенизация желтка. Желточные включения начинают разбухать и затем постепенно растворяются. Последними ис-

чезают глобулы, расположенные возле жировой капли. Оболочка зародышевого пузырька растворяется. Капля смешается к периферии. Параллельно или несколько позже начала гомогенизации происходит оводнение клетки, и размер ее значительно увеличивается.

Зрелое яйцо лобана прозрачно, его диаметр — 650—750 мкм. Диаметр жировой капли 300—350 мкм. Изредка рядом с крупной каплей расположены одна—две мелких.

После овуляции икринка, помещенная в воду, ориентируется зачатком бластодиска вниз. Жировая капля располагается в верхней вегетативной области.

Таким образом, после введения самке гипофиза в ооцитах вначале изменяется агрегатное состояние жировых капель, ядро же продолжает оставаться в центре клетки. Размер яйцеклеток увеличивается. Период «ядерного созревания» начинается с миграции ядра в анимальную область (стадия 5—10 жировых капель) и завершается его мейотическими преобразованиями (стадия зрелого яйца).

В процессе превращения ооцита в зрелое яйцо можно выделить несколько последовательных состояний: желтковые ооциты (Ж); начало укрупнения жировых капель (НЖК); жировых капель более 10 (>10 ЖК); жировых капель 5—10 (5—10 ЖК); жировых капель 2—4 (2—4 ЖК); одна жировая капля (1 ЖК); зрелое яйцо (ЗЯ).

Поскольку эти состояния, характерные для ооцитов самок, от которых получена в дальнейшем нормально развивающаяся икра, наблюдаются также у самок в природе, они действительно отражают процесс созревания. Условно назвав эти состояния фазами, мы в дальнейшем использовали их в качестве критериев подготовленности самок к нересту, а также для оценки степени действия гормональных препаратов на созревание.

Созревание самок под действием гипофизов. Данные о состоянии ооцитов приведены в табл. 1.

Таблица 1
Состояние ооцитов самки лобана № 41 после введения 90 мг гипофиза
($T = 24,3^{\circ}\text{C}$, $S = 14\%$)

№ пробы	Время после первой инъекции, ч	Доза гипофиза, мг	Фаза	Размерный ряд ооцитов, мкм							Средний диаметр, мкм	Количество ооцитов шт.	%
				400—	425—	450—	475—	500—	525—	550			
1	0	60	Ж	1	9	14	17	8	1		475	50	100
2	14	—	Ж НЖК >10 ЖК всего	6 1	8 1	17 2	11 1					43 4 3	86 8 6
3	24	30	Ж НЖК >10 ЖК всего	3 3 3	6 13 19	4 12 20	1 1 2				483	50	100
												13 32 5	26 64 10
											493	50	100
Размерный ряд ооцитов, мкм													
				625—	650—	675—	700—	725					
4	38		ЗЯ		4	15	25	6			679	50	100

Перед инъекцией в пробе находились желтковые ооциты средним диаметром 475 мкм. Через 14 ч после введения препарата ооциты увеличивались до 483 мкм. В 7 из 50 клеток жировые капли укрупнились,

в остальных — морфологических изменений не обнаружено. Через 24 ч уже более половины ооцитов перешло в фазу начала укрупнения жировых капель. Часть отстала в развитии и находилась еще в фазе Ж, а часть (10%) несколько опередила основную массу и имела уже более 10 жировых капель. Через 38 ч почти во всех яйцеклетках завершились гомогенизация и оводнение. Яйцеклетки стали прозрачными. Размер их увеличился до 679 мкм. Часть икринок начала овулировать. Таким образом, щуповые пробы дают представление о динамике процесса созревания. Так же были исследованы яичники и других самок. Результаты экспериментов сведены в табл. 2.

В экспериментах 1972 г. всем самкам вводили по 60 мг свежего гипофиза. Уже через 13—14 ч после инъекции почти у всех рыб ооциты увеличились, а также изменилось их морфологическое состояние. Изменения были выражены в разной степени: у 41-й и 43-й самок ооциты оставались еще желтковыми, и укрупнение жировых капель в них стало заметно только через 24 ч; у 65-й и 67-й — лишь часть клеток перешла в фазу НЖК; у 64-й и 69-й — все клетки достигли этой фазы; а у 42-й продвинулись даже до фазы >10 ЖК.

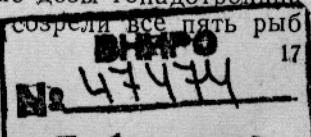
Первым четырем рыбам инъекцию не повторяли, а остальным через 13—14 или 24 ч ввели дополнительно еще по 30 мг суспензии гипофиза. В первой группе, получившей однократно по 60 мг препарата, созрело три самки. При этом лобан № 40, отловленный с ооцитами в фазе 1 ЖК, начал выметывать икру через 24 ч. У 44-й самки овулировала только часть яйцеклеток, а у 93-й овуляции не было.

Из семи рыб, которым гипофиз вводили дважды, созрели четыре. Две выметали почти всю созревшую икру, а у двух овуляция была задержана. Размер неовулировавших икринок через некоторое время увеличился до 760—800 мкм. Объем яичников тоже увеличился. Вероятно, по этой причине неотнерестившиеся рыбы вскоре погибли. У трех оставшихся самок созревание достигло только фазы 1ЖК и на этом остановилось. Состояние яйцеклеток контрольных рыб, которым вводили вместо гипофиза физиологический раствор (№ 45 и 17), не изменилось. Из наблюдений 1972 г. следует, что инъекция 60 мг свежего гипофиза индуцирует созревание ооцитов лобана вплоть до овуляции.

Исходя из этого, в 1974 г. в части опытов ограничились инъекциями 60 мг гипофиза, вводя его дробно, а в части — расширили диапазон доз с тем, чтобы определить их верхний и нижний порог.

У всех самок через 22—26 ч после однократного введения от 16 до 23,3 мг гипофиза жировые капли в ооцитах укрупнились. На этом основании можно полагать, что доза в 20 мг стимулирует начальные этапы созревания, но, по-видимому, недостаточна для завершения процесса. Так, у самки № 102, получившей одну инъекцию, ооциты, достигнув через 22 ч фазы >10 ЖК, в дальнейшем остались без изменений. Несмотря на то, что для экспериментов отбирали рыбу с желтковыми ооцитами диаметром не менее 475 мкм, уровень ответа на 20 мг гипофиза, так же как и на 60 мг в 1972 г., был выражен в разной степени — от НЖК до 1 ЖК, т. е. реактивность отдельных самок на гонадотропины заметно различалась. Вторая инъекция 40 и 46,6 мг препарата привела к образованию в ооцитах одной жировой капли. Вслед за этим у четырех из семи самок прошли гомогенизация и гидратация и в двух случаях (№ 25 и 97) икра овулировала. У трех самок процесс остановился в фазе 1 ЖК. Это состояние наиболее типично для несозревших рыб. Вероятно, с какого-то момента слияние жировых капель в ооците может завершаться образованием одной крупной капли даже в случае нарушения созревания в остальных звеньях.

В 1974 г. испытывали повышающиеся дробные дозы гонадотропина 40+20 мг, 40+40 мг, 60+60 мг. В этой группе созрели все пять рыб



Созревание самок лобана под

№ самки в опыте	Масса порки, г	Температура, °C	Исходное состояние		После первой инъекции			
			диаметр ооцитов, мкм	фаза	гипофиз, мг	время, через которое взята пробы, ч	диаметр ооцитов, мкм	фаза
1972 г.								
40	1031	24,0	495	1 ЖК	60	24	690	—
93	1680	23,5	511	>10 ЖК	60	24	539	1 ЖК
44	1240	24,0	500	НЖК	60	23	507	2—4 ЖК
94	1320	23,5	488	Ж	60	24	490	НЖК
42	1590	24,0	484	Ж	60	14	509	>10 ЖК
64	1510	24,5	495	Ж	60	13	502	НЖК
65	1385	24,5	490	Ж	60	13	490	Ж, НЖК
67	1680	24,5	497	Ж	60	13	507	Ж, НЖК
69	910	24,5	482	Ж	60	13	522	НЖК
41	1290	24,0	475	Ж	60	24	493	НЖК
43	1080	24,0	495	Ж	60	24	510	НЖК
45		24,0	481	Ж	Физиологический раствор	48	488	Ж
17		24,0	499	Ж		37	500	Ж
1974 г.								
102	1270	20,0	508	Ж	20	23	510	>10 ЖК
25	1190	19,5	516	Ж	23,3	13	541	НЖК
26	1840	19,5	512	Ж	23,3	13	547	Ж
97	1160	20,0	507	Ж	20	26	514	1 ЖК
98	1420	20,0	501	Ж	20	26	497	>10 ЖК
100	1725	20,0	504	Ж	20	25	520	5—10 ЖК
101	2150	20,0	485	Ж	20	24	488	>10 ЖК
326	1230	24,0	502	Ж	16	22	510	НЖК
324	1820	24,0	508	Ж	40	22	529	2—4 ЖК
325	1740	24,0	512	Ж	40	22	519	НЖК
310	2130	23,5	508	Ж	60	22	519	>10 ЖК
311	1835	23,5	535	Ж	60	23	553	1 ЖК
312	2040	23,5	521	Ж	60	22	525	1 ЖК

(см. табл. 2). У трех (№ 310, 312, 324) овулировала почти вся икра, у 325-й — часть: отцежено только 5 мл, у 311-й овуляции вообще не было.

Удачнее всего прошел эксперимент с самкой № 324, которой первоначально ввели 40 мг гипофиза, а затем через 22 ч еще 20 мг. Через 12 ч после этого началась овуляция. В течение 3 ч икру дважды отсывали катетером, а в конце собрали из полости яичника. Всего получили $6,2 \cdot 10^6$ икры, из которой после оплодотворения развилось 44%. У самок № 310 и 312 начало овуляции было пропущено, и часть икры активировалась. От них собрано соответственно $7 \cdot 10^6$ и $8,4 \cdot 10^6$ икры, развилось около 20%.

Диаметр икринок лобана в момент овуляции варьировал от 650 до 750 мкм, в среднем (550 клеток от 11 самок) — $684,09 \pm 8,24$ мкм.

На трех партиях икры прослежено эмбриональное развитие лобана. При температуре воды 24—25°C оно продолжалось 52—56 ч (рис. 3).

Таким образом, из опытов 1972 и 1974 гг. следует, что полное созревание у лобана удается вызвать свежими гипофизами этого же вида в дозах от 60 до 120 мг, что в пересчете на 100 г тушки составляет от 3,3 до 7 мг.

Таблица 2

действием свежих гипофизов лобана

После второй инъекции						Конечное состояние
гипофиз, мг	время, через которое взята проба, ч	диаметр ооцитов, мкм	фаза	Доза гипофиза, мг на 100 г	Время наблюдений, ч	
1972 г.						
—	—	—	—	5,8	32	Овуляция
—	15	683	3Я	3,5	39	Задержка овуляции
—	14	668	3Я	4,8	37	Частичная овуляция
—	14	499	5—10 ЖК	4,5	49	5—10 ЖК
30	24	514	1ЖК	5,7	45	1 ЖК
30	22	508	1ЖК	6,0	35	1 ЖК
30	21	677	3Я	6,5	40	Овуляция
30	21	681	3Я	5,3	41	Частичная овуляция
30	31	702	3Я	9,9	52	Задержка овуляции
30	14	679	3Я	7,0	44	Овуляция
30	13	532	1 ЖК	8,3	47	1 ЖК
—	—	—	—	0,0	48	Ж
—	—	—	—	0,0	48	Ж
1974 г.						
46,6	27	725	3Я	1,6	67	>10 ЖК
46,6	27	747	3Я	5,9	44	Овуляция
40	17	646	3Я	3,8	40	Задержка овуляции
40	13	506	1 ЖК	5,2	63	Овуляция
40	8	614	1 ЖК	5,6	99	1 ЖК
40	10	589	1 ЖК	3,5	72	1 ЖК
40	10	589	1 ЖК	2,8	77	1 ЖК
40	14	664	3Я	4,5	36	Задержка овуляции
20	12	698	3Я	3,3	39	Овуляция
40	14	684	3Я	4,6	39	Частичная овуляция
60	22	726	3Я	5,6	44	Овуляция
60	15	730	3Я	6,5	38	Задержка овуляции
60	21	730	3Я	5,9	43	Овуляция

На рис. 4 сведены результаты опытов при температуре 23,5—24,5°C. Контуром выделено время прохождения отдельных фаз в группе созревших самок, имевших исходные желтковые ооциты. Стрелками отмечены случаи остановки процесса. После инъекции гипофиза через 12—24 ч ооциты из фазы Ж перешли в фазу НЖК. Особи заметно различались по чувствительности к гормонам гипофиза. Фазы 1 ЖК ооциты достигли от начала опыта через 22—28 ч. О длительности фаз >10 ЖК, 5—10 ЖК и 2—4 ЖК можно судить по анализам двух рыб, которых обследовали чаще, чем остальных. Их ооциты с фазами >10 ЖК и 5—10 ЖК достигли фазы 1 ЖК соответственно за 7 и 5 ч. Вероятно, каждая из этих фаз непродолжительна

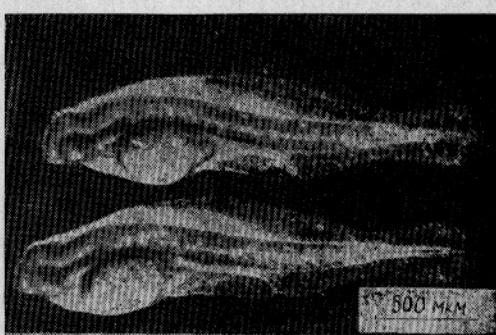


Рис. 3. Личинки лобана, через два часа после выклева (длина 2,2 мм).

(около 2 ч); и по мере укрупнения жировых капель их слияние ускоряется. Завершение созревания от 1 ЖК до овуляции занимает 8—12 ч. Так, самки № 65 и 67 с заметными признаками растворения желточных глобул в ооцитах созрели через 7—8 ч, а самки № 41, 44, 324 и 325, большая часть яйцеклеток которых была еще в фазах НЖК и 2—4 ЖК, — через 12—14 ч, т. е. в этот промежуток времени закончилось также формирование жировой капли.

Общая продолжительность созревания от первой инъекции до овуляции при 23,5—24,5°C — 34—38 ч. Исключение составила самка № 40, которая была выловлена в море с яйцеклетками в фазе 1 ЖК и после стимуляции начала выметывать икру через 24 ч. При этом увеличение диаметра ооцитов стало заметно только через 14 ч, так что по сравнению с другими самками, проходившими фазу 1 ЖК в эксперименте, она созревала дольше. Вероятно, такая приостановка вызвана стрессом при отлове и общим угнетением организма и может происходить в любой из фаз гормонозависимого периода созревания. Судя по единичным опытам 1974 г., при температуре воды 19,5—20°C лобан созревает около 40—44 ч.

Следует иметь в виду, что выше суммированы результаты, полученные при разных дозах гипофиза, так что вопрос о продолжительности созревания лобана нуждается в уточнении.

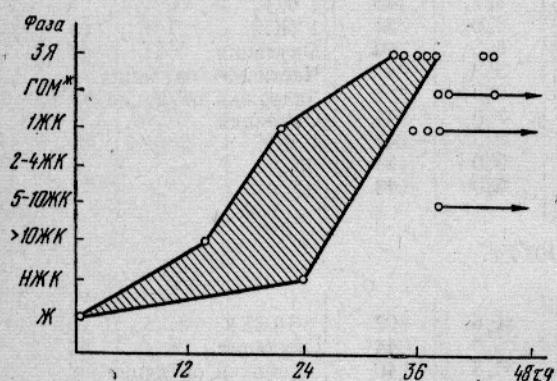


Рис. 4. Продолжительность созревания самок лобана при 23,5—24,5°C (по фазам).

Несозревших самок можно разделить на две группы: у одних созревание протекало, судя по фазам, в те же сроки, что и у рыб, от которых были получены зрелые яйца, но овуляция не происходила (№ 93, 69, 26, 311, 326); у других — процесс нарушался раньше, жировая капля формировалась медленно, и развитие на этом останавливалось (№ 94, 42, 64, 43). Таких рыб через 30 ч уже можно было отличить от нормально созревающих.

Чтобы успешно индуцировать нерест рыб гормональными препаратами, необходимо знать исходное состояние ооцитов и изменения, происходящие в них при созревании. Для этого исследуют пробы ооцитов, периодически отбираемые от подопытной самки с помощью щупа (Казанский, 1954 и др.).

Нужно выявить признаки, характеризующие степень развития ооцитов, непосредственно на живых клетках. Экспрессивный метод оценки состояния яйцеклеток особенно важен для кефалей, так как активный трофоплазматический рост их ооцитов продолжается 1—1,5 мес, и степень развития половых желез у рыб в преднерестовый период значительно варьирует (Abraham et al., 1966).

Мы оценивали состояние яичников лобана по среднему диаметру желтовых ооцитов из щуповых проб (Апекин, Тронина, 1972). На основании гистологического анализа кусочков яичника, которые брали через разные промежутки времени после гипофизарной инъекции, были выделены следующие изменения в ооцитах: начало укрупнения жировых капель, начало миграции ядра, начало гомогенизации желтка.

Подобным образом оценивали состояние производителей лобана американские исследователи (Shehadeh et al., 1973; Kuo et al., 1974). В частности, Шехадех и сотрудники, выполнив статистическое сравнение размера яйцеклеток, взятых *in vivo* и *in vitro* (после забоя рыбы), показали, что щуповые пробы, которые берутся из одного участка яичника на глубине 6,5 см от генитории, точнее отражают степень развития половых желез, чем пробы *in vitro*. Кую и сотрудники выделили пять последовательных стадий в развитии ооцитов лобана: 1) первичных ооцитов (12—170 мкм); 2) желточных пузырьков (170—210 мкм); 3) желточных глобул (200—700 мкм); 4) созревания (наблюдали только после стимуляции самок гонадотропинами); 5) атрезии.

По их данным быстрое созревание и нерест удается вызывать у самок с ооцитами в стадии «третичных желточных глобул» диаметром 600—700 мкм. Можно вызвать нерест и у рыб с ооцитами меньшего размера (от 500 мкм), но в этом случае их необходимо инъектировать возрастающими дозами гипофизарного гонадотропина в течение 6—8 дней.

Интересно сопоставить размеры желтовых ооцитов и зрелых яиц лобана из разных мест обитания. В Черном море в районе Керченского пролива самые крупные желтовые ооциты у лобана из естественных популяций перед нерестовым сезоном достигают 550 мкм (наши данные), в Средиземном море у берегов Израиля—523 мкм (Abraham, 1963), в тропических широтах в районе Гавайских о-ов—700 мкм (Кую et al., 1974). Заметно различаются и размеры зрелой овулировавшей икры (табл. 3).

Из сопоставления наблюдений нескольких авторов следует, что существуют две формы лобана: с крупной (0,91—1,08 мм) и мелкой (0,6—0,85 мм) икрой. По нашим данным, для черноморского лобана средний диаметр зрелой овулировавшей икры равен 684 ± 8 мкм; по данным американских ученых (Shehadeh et al., 1973a) для лобана тропических вод у Гавайских о-ов—930 мкм. Шехадех и Эллис (Shehadeh and Ellis, 1970) отмечали, что у некоторых самок, не достигших еще полной зрелости, под действием гормона может происходить преждевременная овуляция. При этом овулировавшие и хорошо сформированные яйца имеют меньшие размеры. В табл. 3 в основном сведены размеры икры, собранной в естественных условиях, так что наблюдения Шехадеха и Эллиса не противоречат нашему выводу.

В ооцитах кефалей (loban, singilis) при созревании образуется одна жировая капля, желточные глобулы растворяются, и икринка ста-

Таблица 3
Характеристика яиц лобана из разных мест обитания

Район обитания	Диаметр яйца, мм	Диаметр жировой капли, мм	Литературный источник
Черное море	0,60—0,72	0,28	Водяницкий (1936)
	0,71—0,78	0,26—0,31	Дехник, Павловская (1950)
	0,72—0,78	0,26—0,31	Водяницкий, Казанова (1954)
	0,65—0,75	0,30—0,35	Наши данные (Алекин и др.)
Средиземное море	0,72	0,28	Sanzo (1936)
	0,65—0,75		Kawakami (1917)
	0,65—0,85		Hotta (1955)
	0,8		Nair (1957)
Тихий океан и Гавайские о-ва	0,91—1,08		Nakano (1918)
	0,93		Shehadeh et al. (1973)

новится прозрачной. Последовательные изменения хорошо прослеживаются во времени непосредственно по пробам живых клеток, что позволило выделить фазы, представляющие собой промежуточные состояния между желтковым ооцитом и зрелым яйцом (Апекин, 1973). Учет их соотношения наряду с определением среднего диаметра яйцеклеток позволяет проследить за развитием процесса созревания в ходе эксперимента.

Отражая определенный этап созревания, фаза, однако, не всегда отражает соответствующий уровень чувствительности ооцитов к экзогенным гонадотропинам. Неблагоприятные факторы (например, неудачный отлов) снижают чувствительность, морфологическая же картина при этом не изменяется. Так, самка № 40 (см. табл. 2) с яйцеклетками в фазе 1 ЖК созревала 24 ч. Другие рыбы с ооцитами в этой же фазе, но развившейся в ходе эксперимента, созревали 8—12 ч.

Для опытов отбирали самок с ооцитами крупнее 475 мкм. Тем не менее, они различались по реакции на гипофизарную инъекцию. Через 12—14 ч у одних лишь увеличился диаметр яйцеклеток, у других, кроме того, укрупнились жировые капли до фаз НЖК и >10 ЖК. Время появления первых признаков созревания варьировало от 12 до 24 ч. Отсюда следует, что особи, у которых в ооцитах начинается укрупнение жировых включений, в фазе НЖК более сходны по своему состоянию, чем особи с желтковыми ооцитами, и для получения икры целесообразно отбирать именно таких самок.

Кио с сотрудниками (Кио et al., 1974) стимулировали созревание рыб с ооцитами в стадии, которая, судя по фотографии, соответствует выделенной нами фазе более 10 ЖК. В Керченском проливе в уловах подъемных заводов кефаль в таком состоянии встречается редко. По-видимому, в наших опытах участвовали самки с менее развитыми яйцеклетками. Эффективные дозы свежего гипофиза, вызывающие полное созревание и овуляцию, составляют от 3,3 до 7 мг на 100 г тушки. Поскольку от части самок получена нормально развивающаяся икра, целесообразно параллельно с совершенствованием метода стимулирования начать исследование оптимальных условий инкубации икры и подращивания личинок.

Выводы

1. При созревании лобана его ооциты изменяются по фазам: Ж, НЖК, >10 ЖК, 5—10 ЖК, 2—4 ЖК, 1 ЖК и ЗЯ, которые использованы для оценки состояния и степени созревания самок.

2. 60—120 мг свежего гипофиза лобана (доза 3,5—7 мг на 100 г тушки) при двукратном введении вызывают созревание и овуляцию у трети подопытных рыб с желтковыми ооцитами диаметром около 500 мкм.

3. Самки из естественных популяций заметно отличаются по чувствительности к гонадотропинам. Для получения икры целесообразно отбирать рыб с признаками укрупнения жировых капель в ооцитах в фазе НЖК.

4. Продолжительность созревания лобана при 23,5—24,5° С составляет 34—38 ч. Нарушение созревания может быть выявлено через 30 ч от начала опыта, так как образование одной жировой капли в ооцитах таких самок протекает замедленно.

5. Сопоставление наших и литературных данных позволяет заключить, что у черноморского лобана икра мельче (650—750 мкм), чем у лобана из тропических широт (930 мкм).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Апекин В. С. Регуляция созревания и нереста в связи с проблемой искусственного воспроизводства морских рыб.—В кн.: Экологическая физиология рыб. (Тезисы докладов Всесоюзной конференции по экологической физиологии рыб). М., 1973, с. 84—86.

Апекин В. С., Тронина Т. М. Опыты по стимулированию созревания и нереста кефали. Предварительные результаты.—«Гидробиологический журнал», 1972, т. 8, № 1, с. 82—89.

Опыт получения икры кефали. — «Рыбоводство и рыболовство», 1968, № 1, с. 29—30. Авт.: В. Виноградов, Л. Ерохин, Н. Воропаев, А. Данченко.

Житенев А. Н., Калинич Д. С., Абаев Ю. И. Состояние гонад лобана *Mugil cephalus* L. и остроноса *M. saliens* Risso, выходящих из лиманов на нерест, и реакция их на гипофизарную инъекцию.—«Вопросы ихтиологии», 1974, т. 14, № 2, с. 264—272.

Казанский Б. Н. Ядерные изменения в ооцитах осетра при переходе организма в нерестовое состояние после гипофизарной инъекции.—«ДАН СССР», 1954, т. 98, № 6, с. 1045—1048.

Abraham B. A study of the oogenesis and egg resorption in the mullets *Mugil cephalus* and *Mugil capito*) in Israel. Proc. Gen. Coun. Medit., 1963, 7, p. 435—453.

Abraham M., Blanc N., Yashouv A. Oogenesis in five species of grey mullets (Teleostei, Mugilidae) from natural and landlocked habitats. Israel. J. of Zool. 1966, v. 15, p. 155—172.

Kuo, C.—M., Nash C. E., Shehadeh Z. H. A procedural guide to induced spawning in grey mullet (*Mugil cephalus* L.) Aquaculture, 1974, v. 3, N 1, p. 1—14.

Shehadeh Z. H., Ellis J. N. Induced spawning of the striped mullet, *Mugil cephalus* L. J. Fish Biol., 1970, 2, p. 355—360.

Shehadeh Z. H., Kuo C.—M., Millisen K. K. Induced spawning of grey mullet (*Mugil cephalus* L.) with fractionated salmon pituitary extract. J. Fish. Biol., 1973, 5, p. 471—478.

Shehadeh Z. H., Kuo C.—M., Millisen K. K. Validation of an in vivo method for monitoring ovarian development in the grey mullet (*Mugil cephalus* L.). J. Fish. Biol. 1973, 5, p. 489—496.

Tang Y. Induced spawning of striped mullet by hormone injection. Jap. J. Ichthyol., 1964, 12, p. 23—28.

*Changes in oocytes at maturation and in mature eggs obtained on account of homoplastic hypophysial injections in mullet (*Mugil cephalus* L.)*

V. S. Apekin, G. A. Valter, L. G. Gnatchenko

SUMMARY

Changes in oocytes of mullet at maturation can be determined immediately after samples of oocytes are taken from the ovary. The ascertained phases are used for assessing the initial stage and extent of maturation of females after some fresh hypophysis of mullet was injected: a dose of 60—120 mg of hypophysis injected twice induces maturation and ovulation in one-third of all specimens investigated. The diameter yolk oocytes was about 500 mkm.

Sensitivity to gonatropins in females from natural populations varies. So it advisable to collect specimens with large lipid droplets in oocytes to obtain eggs.

УДК 597.593.4 : 597.116

ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЯИЧНИКОВ СИНГИЛЯ (*Mugil auratus* Risso) В ПЕРИОД РАЗМНОЖЕНИЯ

Апекин В. С., Куликова Н. И., Вальтер Г. А.

Сингиль (*Mugil auratus* Risso) — самый многочисленный из промысловых видов кефалей в Черном море, а его молодь составляет основу сырьевой базы кефалевыrostных хозяйств. Однако до настоящего времени полных сведений о биологии размножения этого вида нет.

В исследовании Н. З. Пергат (1960) на основе гистологических данных описаны размеры и состояние ооцитов из яичников с I по IV стадию зрелости сингиля, выловленного в Молочном лимане в августе. Абрахамом с сотрудниками (Abraham et al., 1966) выделено в процессе роста ооцитов (от 30 до 600 мкм) пять стадий, позволяющих оценить степень развития половых желез. Оогенез сингиля отдельно от других видов ими не рассмотрен. Н. Г. Тимошек и А. К. Шилленкова (1974) высказывают мнение о единовременном нересте кефалей, исходя из предположения, что оогенез у трех видов черноморских кефалей (лобан, остронос, сингиль) протекает идентично. К. Е. Бабаяном описаны стадии зрелости у кефалей без указания вида (1965). Однако лобан, остронос и сингиль значительно отличаются друг от друга морфологией, плодовитостью, диаметром яйцеклеток, сроками нереста (Световидов, 1964), поэтому прежде чем объединять их по типу гаметогенеза и нереста, необходимо знать, как они протекают у каждого вида.

В предлагаемой работе исследованы рост и созревание половых клеток, плодовитость, тип вителлогенеза и нереста у сингиля. При выделении фаз роста яйцеклеток и стадий зрелости мы опирались на результаты анализа свежих яичников под бинокуляром.

Работа выполнена в апреле—октябре 1974 г. Материал собран в Керченском проливе в районе Тамани и у мыса Такиль из уловов подъемных заводов. У самок и самцов измеряли длину до развилики хвостового плавника, определяли массу всей рыбы и порки с точностью до 5 г и массу гонад с точностью до 0,1 г. Весь яичник или часть его помещали в чашку с физиологическим раствором (0,65% NaCl) и исследовали под бинокуляром (МБС-2). В яичниках II и II—III стадий зрелости, предварительно определенных по шестибалльной шкале (Сакун, Буцкая, 1963), оценивали присутствие желтковых ооцитов и выборочно измеряли с помощью окуляр-микрометра при увеличении 7×8 диаметр ооцитов протоплазматического роста и ядер в них, а также диаметр вителлогенных ооцитов. В яичниках III и IV стадий зрелости при увеличении 4×8 измеряли диаметр 50—100 желтковых ооцитов и отмечали состояние в них жировых капель и желточных

включений. Для каждой самки строили размерные вариационные ряды яйцеклеток и определяли их средний диаметр. Подсчитывали гонадо-соматический индекс — выраженное в процентах отношение массы яичника к массе порки (ГСИ). Исследовали диаметр и массу ооцитов, а также соотношение крупных и мелких клеток в пробах (каждая 95—100 мг, точность взвешивания 0,1 мг), взятых из головного, хвостового, верхнего и нижнего участков яичника. У трех самок эти показатели различались незначительно. В дальнейшем для определения плодовитости, а также для оценки мощности младшей генерации желтковых ооцитов брали по три навески (90—100 мг) из середины яичника рыб III и IV стадий зрелости. Пробы фиксировали 4%-ным формалином и под бинокуляром просчитывали количество крупных и мелких клеток. Дополнительно у 22 рыб определяли соотношение ооцитов разного диаметра во фрагментах свежих яичников. Всего проанализировали 385 самок и 356 самцов. Возраст рыб определен сотрудником АзЧерНИРО Н. Г. Тимошек, за что выражаем ей глубокую признательность.

Рост ооцитов и стадии зрелости яичников. Рассмотрим ряд последовательных изменений, происходящих в яичниках сингиля с апреля по октябрь, взяв за основу при выделении стадий зрелости шестиградусальную шкалу, предложенную О. Ф. Сакун и Н. А. Бузкой (1963).

I стадия*. У рыб массой 90—240 г (возраст 2+, 3) масса яичников варьирует от 100 до 400 мг, гонадо-соматический индекс (ГСИ) — 0,04—0,25%. По данным Н. З. Пергат (1960), у неполовозрелых рыб массой до 250 г (в возрасте 1+, 2+) в яичниках до 350 мг наряду с оогонями содержатся ооциты протоплазматического роста фаз А и В (по Мейену) диаметром до 75 мкм с ядром до 37 мкм.

II стадия. Округлые ооциты протоплазматического роста из свежих яичников хорошо видны под бинокуляром. Шарообразное ядро в центре ооцита и цитоплазма прозрачны. В ооцитах диаметром 100 мкм диаметр ядра — 40 мкм. Максимальный размер половых клеток — 120 мкм. Яичники, покрытые тонкими оболочками, полупрозрачны, бледно-розового, а к концу стадии, по мере развития кровеносной системы, интенсивно-розового и вишневого цвета. При разрыве яичника видны продольно ориентированные плотно прилегающие друг к другу складчатые яйценосные пластинки, заполненные прозрачными клетками. Яичники на II стадии зрелости обнаружены у рыб массой 130—520 г (возраст 3+, 5+). ГСИ — от 0,2 до 1,8%.

III стадия. Ооциты в яичниках растут постепенно, так что выделяется промежуточное состояние (II—III). В начале трофоплазматического роста вокруг ядра в ооците появляются зернистые включения. Диаметр самых мелких клеток — 110—120 мкм. По мере их роста слой трофических веществ вокруг ядра расширяется, а зона, свободная от включений (прозрачная), становится все уже. В клетках диаметром 210 мкм она уменьшается до 20 мкм, а диаметром более 250 мкм исчезает. Наиболее развитые вителлогенные ооциты лежат в железе отдельно друг от друга. Их немного — от единиц до нескольких десятков. Основная же масса половых клеток, видимых под бинокуляром, еще находится в состоянии протоплазматического роста **. Редкие желтковые ооциты диаметром до 200—250 мкм чаще расположены в глубине яичника, у основания яйценосных пластинок и не видны при внешнем осмотре яичника. Железы в этом состоянии почти не отличимы от стадии II. ГСИ — 0,2—2,6%.

* Микроскопирование яичников I стадии не проведено.

** В случае более дружного перехода ооцитов к вителлогенезу, включения заметны в большинстве клеток, а более крупные ооциты не отличаются от остальных столь контрастно.

В дальнейшем яичники заполняются еще рыхло лежащими желтковыми ооцитами размером от 150 до 400 мкм. По мере их роста размерный ряд сужается, и выделяется модальная группа клеток. Верхний предел III стадии зрелости яичников ограничен состоянием, когда диаметр крупных ооцитов достигает в среднем 475 мкм. ГСИ — 0,8—18,2%.

IV стадия. Округлые крупные желтковые ооциты диаметром 475—500 мкм несколько вытянуты и с одной стороны уплощены, так что у большинства клеток хорошо выражена полярность (рис. 1). Ооцит светло-желтого цвета, покрыт прозрачными, плотно прилегающими оболочками. Фолликул (ооцит в оболочках) в месте уплощения оплетен кольцевым кровеносным сосудом диаметром 350—400 мкм, от которого разветвляются капилляры. При разрыве из ооцита выходит ядро (зародышевый пузырек)—170—190 мкм, быстро набухающее в физиологическом растворе до 250 мкм. В зернистом содержимом, вытекающем из ооцита, заметны жировые капли до 20—30 мкм, а при увеличении 7×40 — также плотные гранулы желтка. Диаметр наиболее крупных желтковых социтов сингиля достигает 600 мкм. Наряду с крупными клетками в яичниках сингиля присутствует различное количество желтковых ооцитов диаметром до 300 мкм.

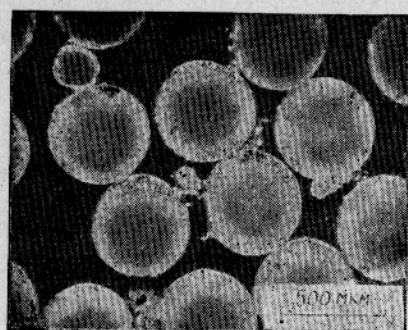


Рис. 1. Ооциты из яичника сингиля IV стадии зрелости.

К IV стадии зрелости ооциты достигают дефинитивного состояния и переходят к созреванию: диаметр жировых капель увеличивается от 20—30 мкм до 50—100 мкм. Если в ооцитах средним диаметром от 451 до 475 мкм укрупненных жировых капель почти не обнаруживали (у 1 из 22 рыб), то в яйцеклетках 476—500 мкм они были у 21,4% особей (у 3 из 14), а при диаметре 501—525 мкм — у 35% (у 20 из 56). Наряду с этим самки с ооцитами более 475 мкм положительно отвечают на гормональную инъекцию. На этом основании мы отнесли железы с ооцитами более 475 мкм к IV стадии. ГСИ варьирует от 7,7 до 20,2%.

V стадия. Зрелые овулировавшие икринки совершенно прозрачны, бледно-желтого цвета, диаметр их 740—810 мкм. Обычно яйцо имеет одну жировую каплю диаметром 310—320 мкм, изредка их две или три.

VI—II стадия. Вскоре после нереста в яичниках остаются резорбирующие невыметанные икринки или отдельные жировые капли, вителлогенные ооциты диаметром от 140 до 300 мкм, ооциты протоплазматического роста диаметром до 100 мкм. Для яичника отнерестившейся самки характерны грубая утолщенная оболочка беловатого цвета, мощная васкуляризация яйценосных пластинок, хорошо выраженная полость яичника. ГСИ — 1,37—2,55%.

Последствия нереста ликвидируются, по-видимому, быстро. Дольше всего от невыметанных икринок сохраняются жировые капли. В конце нерестового сезона резорбируют также оставшиеся в яичнике недоросшие желтковые ооциты.

Наши наблюдения за живыми половыми клетками сингиля хорошо согласуются с описанными Н. З. Пергат (1960). Так, первые признаки вителлогенеза — появление включений вокруг ядра — наблюдаются в ооцитах диаметром от 110—120 мкм, а включения по всей клетке рас-

пределяются при размерах 250 мкм. По данным Н. З. Пергат (1960), фаза Д (начальное накопление желтка) начинается в ооцитах диаметром 120—150 мкм, а заканчивается при диаметре ооцитов 250 мкм.

Созревание и нерест. О скорости развития яичника и времени нереста сингиля в естественных условиях можно судить по изменению соотношения рыб с гонадами в разных стадиях зрелости, а также по динамике средних значений ГСИ на протяжении преднерестового и нерестового сезонов.

В апреле и мае самки сингиля размером 18—25,5 см и массой 90—230 г, выловленные в районе Тамани, имели яичники в I и II стадиях зрелости. Гонадо-соматические индексы не превышали 1%. Размеры рыб, выловленных с июля по октябрь*, были 24—32 см, масса 150—500 г, подавляющая их часть относилась к одновозрастной группе 3+. В первой половине июля (рис. 2) у большинства самок (94%) яичники были еще во II стадии зрелости. Гонадо-соматические индексы не превышали 1,5%. У небольшой части рыб (6%) в яичниках находили редко лежащие ооциты начала трофоплазматического роста — стадия II—III. Во второй половине июля уже более половины самок перешло во II—III стадию зрелости. Их гонадо-соматические индексы были еще почти такими же, как на II стадии — 0,4—1,6%. В ооцитах некоторых самок накапливался желток.

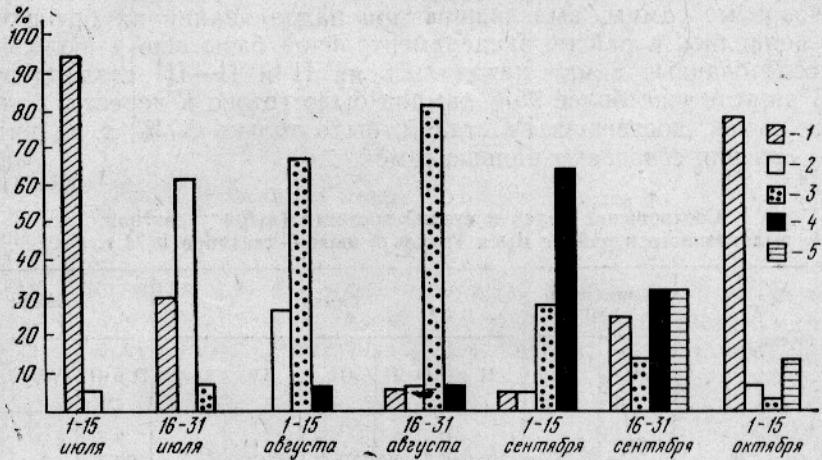


Рис. 2. Процентное соотношение самок сингиля разных стадий зрелости в течение июля—октября 1974 г.:

1 — II стадия зрелости; 2 — II—III; 3 — III; 4 — IV; 5 — VI—II.

В начале августа количество рыб с гонадами на III стадии зрелости резко увеличилось и к концу месяца составило 81,3%. ГСИ возросли в среднем до 3,6% (1,05—8,4%). В августе в уловах появились также рыбы IV стадии зрелости. Максимальное их количество пришлось на середину сентября. ГСИ достигли 13,1% (7,7—20,2%). К концу сентября количество рыб на IV стадии уменьшилось почти вдвое (31,2%), в уловах появились «выбойные» самки со следами недавно прошедшего нереста (кровоточащие яичники с остаточными неовулировавшими яйцеклетками). В октябре самок в преднерестовом состоянии в уловах уже не было, сократилось и количество рыб VI—II стадии, зато резко возрос процент самок на II стадии зрелости. ГСИ их составляли 0,2—1,2%.

* За июнь данных нет.

Как видно, интенсивный рост яйцеклеток у сингиля протекает в течение 1,5—2 мес. У большей части самок он начинается во второй половине июля и заканчивается в середине сентября. В это время сингиль идет на нерестилища в Черное море. В уловах почти не встречен текучих или близких к этому состоянию самок: за 5 лет наблюдений отмечено только два таких случая. В то же время аквалангисты, промышляющие моллюсков, наблюдали нерест кефали в районе мыса Такиль, т. е. в 5—10 км от места установки подъемного завода. Можно предполагать, что созревание самок активизируется с момента образования нерестовых семей и непрерывно во времени.

Преобладание в уловах рыб с одинаково развитыми гонадами свидетельствует о дружном созревании и нересте основной части популяции в сентябре. Некоторая ее часть готова, видимо, к нересту уже в начале августа. В это время особей, в яичниках которых были бы заметны следы нереста, не встречено. Их немного и в конце нерестового сезона — в октябре. Возможно, это связано с быстрой ликвидацией последствий нереста. В уловах в течение всего нерестового сезона присутствовали крупные самки массой до 500 г с гонадами на II стадии зрелости. Количество их резко увеличивается в начале октября — до 77,1%.

За период наблюдений соотношение самцов и самок в уловах изменилось: в августе преобладали самцы, в сентябре — самки (табл. 1). Половозрелые самцы, выделявшие при надавливании на брюшко молоки, появились в районе экспериментальной базы еще в июле, когда все исследованные самки находились на II и II—III стадиях зрелости. В августе уже более 95% самцов было готово к нересту, в то время как самок, достигших IV стадии, было только 5,7%, т. е., видимо, самцы сингиля созревают раньше самок.

Таблица 1

Соотношение полов и стадий зрелости (в %) у сингиля, выловленного в районе мыса Такиль в июле — сентябре 1974 г.

Месяц	Количество рыб		Самки					Самцы		
	шт.	%	II	II—III	III	IV	VI—II	II и III	IV и V	VI—II
Июль	81	69,3								
	36	30,7	63,0	33,3	3,7	—	—	63,9	36,1	—
Август	52	30,8								
	117	69,2	2,0	25,0	67,3	5,7	—	3,4	96,6	—
Сентябрь	191	75,2								
	63	24,8	5,2	4,2	27,2	60,8*	2,6	4,8	92,0	3,2

* Включены самки, участвовавшие в экспериментах.

Примечание. В дробях: числитель — самки; знаменатель — самцы.

Особенности вителлогенеза. У половозрелого сингиля ГСИ значительно варьирует. У рыб с ооцитами диаметром более 475 мкм от 7,4 до 20,2%. При изменении массы тушки от 150 до 500 г масса яичников изменяется только от 31 до 44 г.

Между ГСИ и диаметром яйцеклеток существует параболическая зависимость (рис. 3). Однако у самок на IV стадии зрелости (группа точек, выделенных на рис. 3 справа) между диаметром яйцеклеток и ГСИ связи нет: при среднем диаметре ооцитов от 500 до 510 мкм ГСИ

варьирует от 7,7 до 20,1 %. Для самок на III стадии зрелости характерны близкие величины ГСИ — 0,8—18,2 %. Так что значения ГСИ не могут быть использованы для дифференцировки III и IV стадий зрелости, а также для оценки подготовленности самок к нересту.

На фиксированном материале были проанализированы яичники тридцати рыб. Абсолютная их плодовитость, определенная по крупным

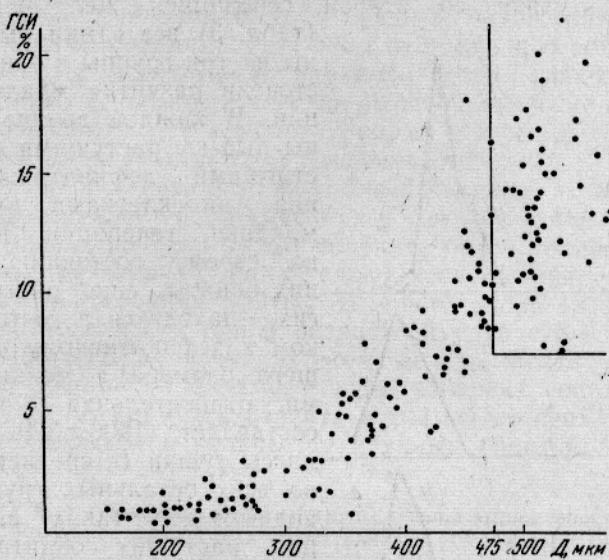


Рис. 3. Зависимость между диаметром ооцитов и гонадо-соматическим индексом.

клеткам, составила 0,4—1,1 млн. икринок (табл. 2). Для самок на III стадии (№ 1—6) — в среднем 0,71 млн., для самок IV стадии (№ 7—13) с клетками диаметром более 475 мкм — несколько выше — 0,88 млн.

Таблица 2
Плодовитость сингиля по данным 1974 г.

Масса порки, г	ГСИ, %	Диаметр крупных ооцитов, мкм	Навеска, мг	Количество клеток						Число ооцитов, на 1 г массы тушки		
				среднее из трех, шт.			в яичнике					
				крупных	мелких	резорбированных	тыс. шт.	%	крупных	мелких	резорбированных	крупных и мелких
350	3,83	358	90,1	3664	—	12	547	99,6	—	0,4	—	1557
370	5,76	361	96,2	4995	—	38	1114	99,3	—	0,7	—	2989
455	3,27	373	101,2	3280	—	29	487	99,1	—	0,9	—	1061
350	4,89	378	97,1	3328	—	20	590	99,4	—	0,6	—	1674
290	6,20	400	98,6	3597	—	31	659	99,1	—	0,9	—	2252
400	9,20	458	91,0	2063	69	13	863	96,1	3,2	0,7	2144	2074
380	17,29	497	88,6	1439	—	22	1084	98,4	—	1,6	—	2808
470	17,55	504	97,6	1321	—	9	1125	99,2	—	0,8	—	2376
310	15,60	527	100,8	1446	32	16	717	96,8	2,1	1,1	2289	2240
355	17,90	542	97,0	1265	88	28	908	91,6	6,4	2,0	2507	2344
230	17,10	543	93,2	1290	51	29	578	94,2	3,7	2,1	2458	2365
280	11,80	555	97,8	1341	88	13	608	93,0	6,1	0,9	1649	1547
420	18,70	600	99,1	1082	235	52	1138	75,7	20,7	3,6	2610	2051

В яичниках некоторых самок (№ 6 и № 9—13) встречены мелкие ооциты, которые составляли обособленную группу клеток. Максимальное их количество у самки № 13 — 20,7%.

На рис. 4 показаны три типичных размерных состава ооцитов из свежих яичников с разной степенью развития мелких клеток. Младшая генерация четко отделена как от ооцитов протоплазматического роста, так и от крупных желтковых ооцитов. При анализе плодовитости сингиля в связи со второй генерацией желтковых ооцитов

(табл. 3) все самки были разделены на три группы в зависимости от степени развития младшей генерации. В каждой группе рассмотрены рыбы с растущими или уже достигшими дефинитивного состояния яйцеклетками. Самки без младшей генерации неоднородны по своему состоянию: у части из них ооциты еще растут, а у других — находятся в состоянии, близком к дефинитивному. У рыб меньшего размера с мелкими клетками относительная плодовитость составляет 1900 ± 329 шт. на 1 г массы тушки (в среднем ниже, чем во всех остальных группах). Повидимому, у таких рыб популяция растущих ооцитов еще не сформирована. У более крупных самок (массой 434 ± 35 г) — в среднем самая высокая относительная плодовитость 2340 ± 197 шт.

Во второй группе со слабо выраженной младшей генерацией (2—9%) также выделяются созревающие рыбы (см. табл. 3), но это более мелкие (масса 313 ± 19 г), чем созревающие в первой группе особи

Таблица 3

Относительная плодовитость самок сингиля в зависимости от степени развития младшей генерации желтковых ооцитов

Дата сбора материала	Число самок	Диаметр крупных ооцитов, мкм	Масса порки, г	ГСИ, %	Число крупных ооцитов на 1 г массы тушки	Св. плодовитости
Мелких ооцитов нет						
13/VIII	5	375 ± 8	362 ± 26	$4,7 \pm 0,6$	1900 ± 321	38
28/VIII	5	513 ± 10	434 ± 35	$17,2^*$	2340 ± 197	19
От 2 до 9% мелких ооцитов						
28/VIII, 8—12/IX	6	440 ± 7	433 ± 40	$9,4 \pm 0,5$	2083 ± 202	24
8—15/IX	7	526 ± 8	310 ± 19	$15,5 \pm 1,0$	2150 ± 124	15
От 15 до 28% мелких ооцитов						
28/VIII, 4—18/IX	8	547 ± 11	430 ± 30	$16,1 \pm 0,7$	2100 ± 50	7

($td=3,04$) (вероятность различий выше 0,98 по t — распределению Стьюдента). У крупных же рыб старшие ооциты еще продолжают расти, их диаметр составляет 440 ± 7 мкм. Средняя плодовитость зрелых рыб во второй группе несколько ниже, чем в первой.

Для самок с большим количеством мелких клеток — 15—28% характерно состояние, близкое к нересту. Хотя по массе они не отличаются от рыб с одной генерацией, старшие ооциты у них крупнее ($td=2,29$, $p>0,95$), а плодовитость в среднем ниже (различия перекрываются ошибками средних). При этом от особи к особи она варьирует незначительно, а коэффициент вариации равен только 7. Таким образом, среди рыб с разной степенью выраженности мелких желтковых ооцитов выделяются две крайние группы, которые дифференцируются по диаметру крупных ооцитов и плодовитости.

Самки с одной генерацией желтковых яйцеклеток встречены только в августе. В сентябре уже в яичниках в том или ином количестве присутствуют мелкие ооциты. Чтобы получить более полное представление о степени их развития, дополнительно исследованы свежие яичники самок близкого состояния, взятых из одного улова 12 сентября 1974 г. Все особи относились к одной возрастной группе 3+ и имели массу от 250 до 450 г. В их яичниках доля мелких желтковых ооцитов составляла от 2 до 44%. Видимо, и у рыб близкого состояния генерация мелких клеток может быть развита в разной степени, численность их может приближаться к количеству крупных ооцитов (табл. 4).

Таблица 4

Характеристика самок сингиля с разной выраженностью генерации мелких желтковых ооцитов (12 сентября 1974 г.)

Число самок	Количество мелких (от общего количества) ооцитов, %	Диаметр крупных ооцитов, мкм	Масса, г		ГСИ, %
			порки	яичника	
5	2—9	497 ± 10	281 ± 5	$32,3 \pm 1,7$	$12,0 \pm 0,7$
9	17—23	519 ± 6	273 ± 14	$30,8 \pm 4,3$	$12,5 \pm 1,0$
8	25—44	530 ± 12	318 ± 27	$41,3 \pm 2,6$	$13,9 \pm 1,0$

В первой и последней строках табл. 4 различия по массе порки недостоверны — $p<0,9$ ($td=1,4$), а диаметр ооцитов и масса яичников различаются с большой вероятностью ($td=6,7$, $p>0,999$ и $td=2,8$, $p>0,98$). Допустив, что удельный вес крупных и мелких ооцитов одинаков, приблизительно оценили возможную их роль в формировании массы яичников. При среднем диаметре 530 и 250 мкм в отношении 70 и 30% они соотносятся по массе как 22 : 1, т. е. мелкие клетки составляют менее 5% массы яичника. Следовательно, масса железы увеличена в основном за счет роста крупных клеток.

Таким образом, вариабильность плодовитости сингиля незначительна и тем меньше, чем ближе состояние сравниваемых самок. Так, для рыб, близких к нересту, она равна $2,1 \pm 0,05$ тыс. шт. на 1 г массы тушки. По наблюдениям Р. М. Павловской (1969), у рыб массой $401 \pm 21,9$ г в возрасте 3+ абсолютная плодовитость равна $1,84 \pm 1,32$ млн. икринок, а относительная — $3,52 \pm 1,53$ тыс. на 1 г массы тела. К сожалению, автор не приводит характеристики яичников, а также ооцитов, которые учитывались при расчетах. По нашему мнению, при определении плодовитости необходимо быть уверенным в том, что генерация растущих ооцитов уже сформирована. Когда анализ проведен на яичниках, отнесенных к IV стадии зрелости только по ви-

зуальным признакам (диаметр ооцитов 300—400 мкм), возможно значительное занижение плодовитости. С другой стороны, число всех желтковых ооцитов, подсчитанных без учета их размера, будет выше фактического на 20—40 %.

Популяция сингиля неоднородна в отношении вителлогенеза. У одних самок развивается только одна генерация яйцеклеток. Они отличаются наибольшей плодовитостью. В яичниках одной из самок было 1,56 млн. икринок диаметром 516 мкм. Относительная плодовитость ее — 3456 шт. на 1 г массы тушки. Мелких ооцитов почти не было. Возможно, такие рыбы созревают и нерестятся несколько раньше основной массы. Однако можно предполагать, что несмотря на быстрое их созревание в опыте, в природных условиях ооциты продолжают расти еще какое-то время. При диаметре крупных ооцитов около 500 мкм в яичниках появляются мелкие желтковые яйцеклетки. Но в этом случае их количество невелико. К такому промежуточному типу можно отнести мелких рыб. У других самок в яичниках развивается две генерации желтковых ооцитов. Можно предположить две возможности образования половых клеток второй генерации:

1. Мелкие желтковые ооциты начинают развиваться после того, как популяция крупных (диаметром около 400 мкм) уже сформирована. Параллельно с ростом старших клеток увеличиваются в количестве и растут младшие.

2. При интенсивном росте ооцитов некоторая часть их отстает в развитии и представляет собой младшую генерацию. При этом относительная плодовитость снижается.

Таким образом, по типу вителлогенеза сингиль может быть отнесен к потенциально порционнонерестящимся рыбам.

Развитие двух генераций ооцитов свидетельствует о возможности двукратного нереста у сингиля в течение одного сезона. В период наших наблюдений основная часть популяции нерестились один раз — во второй половине сентября. В конце сентября и в октябре встречались отнерестившиеся самки с четкими признаками резорбции мелких ооцитов. Но, например, в 1973 г. 6 сентября были пойманы четыре самки в стадии VI—III с растущими ооцитами диаметром от 210 до 340 мкм. Их относительная плодовитость составляла 400—700 клеток на 1 г тушки, что в 2—3 раза ниже плодовитости самок на III стадии зрелости. При высоком темпе вителлогенеза эти яйцеклетки могут дозреть и вполне реален их вымет.

Выводы

1. Выделены фазы трофоплазматического роста ооцитов сингиля: начало отложения желтка (в ооцитах диаметром от 110—120 мкм); интенсивный рост (ооциты диаметром от 250—300 мкм) и дефинитивное состояние (ооциты диаметром от 475 мкм). Описаны шесть стадий зрелости, отражающие функциональное состояние яичника на разных этапах полового цикла. Определены гонадо-соматические индексы для каждой стадии. Они последовательно увеличиваются от 0,04—0,25 % на I стадии до 7,7—20,2 % на IV, а после нереста снижаются до 1,4—2,5 %. В связи со значительной вариабельностью ГСИ этот показатель невозможно использовать для дифференцировки III и IV стадий зрелости гонад, а также для оценки подготовленности самок к нересту.

2. Для сингиля характерен высокий темп вителлогенеза. Судя по изменению соотношения рыб с гонадами в разных стадиях зрелости от июля к октябрю, трофоплазматический рост ооцитов завершается в популяции сингиля за 1,5—2 мес. В 1974 г. в районе мыса Такиль у

большей части самок рост яйцеклеток начался во второй половине июля и завершился в середине сентября. В это время наблюдался массовый ход рыбы на нерест. В конце сентября нерест в основном закончился.

3. У сингиля развиваются две генерации желтковых ооцитов. Количество младших клеток варьирует от 0 до 44% от численности всех желтковых ооцитов. По типу вителлогенеза сингиль может быть отнесен к потенциально порционнонерестяющимся рыбам.

4. Абсолютная плодовитость сингиля в возрасте 3+ составляет от 0,4 до 1,6 млн. икринок. Плодовитость (по крупным ооцитам) зависит от степени развития второй генерации желтковых ооцитов. Относительная плодовитость самок с одной генерацией яйцеклеток составляет $2,34 \pm 0,2$ тыс., а самок с двумя — $2,1 \pm 0,05$ тыс. на 1 г массы тушки.

5. Возможно, часть самок сингиля нерестится дважды в течение нерестового сезона.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Бабаян К. Е. Кефали (Биология, способы лова и выращивания). М., «Пищевая промышленность», 1965. 132 с.

Павловская Р. М. Об особенностях динамики жирности и плодовитости трех видов черноморских кефалей. — «Труды АзЧерНИРО», 1969, вып. 26, с. 62—68.

Пергат Н. З. Стан яечники в кефали (*Mugil auratus Risso*) з Молочного лиману в серпні. 1955 г. — «Труды института гидробиологии АН УССР», 1960, т. 35, с. 159—163.

Сакун О. Ф., Буцкая Н. А. Определение стадий зрелости и изучение половых циклов рыб. М., 1963, 35 с.

Световидов А. Н.— В кн.: Рыбы Черного моря. М.—Л., 1964, с. 206—224.

Тимошек Н. Г., Шиленкова А. К. Характер оогенеза и нереста черноморских кефалей. — «Вопросы ихтиологии», т. 14, вып. 5 (88), 1974, с. 838—845.

Avgaham M., Blanc N., Yashouuv A. Oogenesis in five species of grey mullets (Teleostei, Mugilidae) from natural and landlocked habitats. Israel J. of Zool. v. 15, 1966. 155—172.

*Cytomorphological changes in the ovaries of mullet (*Mugil auratus Risso*) in the reproduction period*

V. S. Apekin, N. I. Kulkova, G. A. Valter

SUMMARY

Changes in the oocytes of mullet were observed in the period of trophoplasmatic growth. Some phases in the development of oocytes are determined. A total of six stages of maturity showing the functional state of the ovary at different stages of the sexual cycle are described. Gonad—somatic indices are determined for each stage. A high rate of vitellogenesis is characteristic for mullet. In 1974 in most females the active growth of oocytes started in the second part of July and ended in late September.

In mullet two generations of yolk oocytes are developed. The number of younger oocytes varies from 0 to 44%. The absolute and relative fecundity of mullet depends on how well the younger generation is developed. Judging from the type of vitellogenesis mullet can be referred to species which may spawn by batches. The females can spawn twice in the reproduction season.

УДК 597.593.4:597—116

О РЕАКЦИИ ООЦИТОВ КЕФАЛЕЙ НА ГОРМОНАЛЬНЫЕ ПРЕПАРАТЫ IN VITRO

Апекин В. С., Гнатченко Л. Г.

Для успешного индуцирования созревания и нереста самок рыб необходимо знать чувствительность ооцитов к гормонам, а также определить дозу гормонального препарата, которая была бы адекватна состоянию реагирующей системы — половой железы. В экспериментах на земноводных и осетровых рыбах показано, что о возникновении чувствительности ооцитов к гормонам можно судить по их созреванию в системе *in vitro* (Гончаров, 1971; Wright, 1945 и др.).

В последние годы освоено культивирование и получены зрелые ооциты некоторых костистых рыб: медаки *Orizias latipes* (Hirose, 1971), радужной форели *Salmo gairdnerii*, карпа *Carassius auratus* (Ialabert, Бгу, Szollossi, Fostier, 1973) и вынона *Misgurnus fossilis* (Скоблина, 1973).

В связи с разработкой биотехники стимулирования созревания и нереста черноморских кефалей (лобан, сингиль) исследовали возможности применения системы созревания ооцитов кефалей *in vitro* при оценке чувствительности самок к гормональным препаратам до и после инъекции.

Опыты проводили на самках кефалей — лобана *Mugil cephalus* и сингиля *Mugil auratus* с половыми железами в IV стадии зрелости. Ооциты брали от забитых самок и от экспериментальных рыб (щупом) до инъекции гипофиза и через разные промежутки времени после инъекции. Кусочек яичника сразу переносили в свежеприготовленный раствор Рингера для морских рыб, содержащий 0,1% кристаллического альбумина (Скоблина, 1968) или 10% бычьей сыворотки (Hirose, 1971). В среду добавляли антибиотики: 1 млн. ед. пенициллина и 250 тыс. ед. стрептомицина на 1 л; pH среды доводили до 7,9—8,2. Ооциты разделяли специальными петлями на кусочки, содержащие 2—10 ооцитов, и помещали в маленькие чашки Петри. Инкубировали клетки в специально изготовленном термоящике при температуре $20 \pm 1^\circ\text{C}$.

В каждом опыте участвовало по 30—50 клеток; контролем служили ооциты, которых культивировали в тех же условиях, но без гормона. Для стимулирования созревания лобана и сингиля *in vivo* применяли свежие гипофизы лобана и заготовленные Главрыбводом, ацетонированные гипофизы сазана с активностью 1 мг — 3,33 л. ед. При исследовании чувствительности ооцитов кефалей в опытах *in vitro* применяли вытяжку ацетонированных гипофизов сазана (одной партии) с исходной концентрацией 10 мг/мл сухого вещества.

Для оценки реакции ооцитов на действие гормонов *in vitro* в качестве критериев использовали следующие последовательные состояния (фазы), выделенные визуально на основании анализа изменений в созревающих ооцитах кефалей (Алекин, 1973): желтковые ооциты (ЖО); начало укрупнения жировых капель (НЖК); жировых капель более 10 (более 10 ЖК); жировых капель 5—10 (5—10 ЖК); жировых капель 2—4 (2—4 ЖК); одна жировая капля (1 ЖК); гомогенный ооцит (ГО)*.

Наиболее трудно отметить начало укрупнения жировых капель. Для дополнительной оценки этого переходного состояния и последующих фаз введен еще один критерий — диаметр жировых капель на препаратах давленых клеток. Для этого 10 или более ооцитов, помещенных в каплю физиологического раствора на предметное стекло, раздавливали покровным стеклом, под бинокуляром (увеличением 7×8) измеряли диаметр одной самой крупной жировой капли в содержимом каждого из ооцитов, а затем вычисляли средние значения.

Степень действия гормона определяли по процентному соотношению клеток разных состояний по сравнению с исходными и контрольными ооцитами.

Чувствительность ооцитов интактных самок. В предварительных экспериментах было установлено, что ооциты сингиля как *in vivo*, так и *in vitro* удовлетворительно отвечают на действие гипофизов сазана. Для определения диапазона концентраций, в которых исходные ооциты могут реагировать на гонадотропины сазана, были выполнены опыты с 22 интактными самками сингиля. Из приведенных в табл. 1 данных видно, что среди интактных самок сингиля присутствуют самки с желтковыми ооцитами, диаметр жировых капель которых составляет менее 14—17 мкм; с ооцитами в фазе «НЖК» диаметр капель 38 мкм и в фазе «более 10 ЖК» с диаметром жировых капель 52 мкм. После 36 ч инкубации таких клеток в растворе Рингера их состояние не изменилось. Это было выявлено как визуально, так и при измерении диаметра жировых капель.

После культивирования с гипофизом состояние самых мелких из испытанных ооцитов (диаметром 477 мкм) не отличалось от контрольных. Во всех остальных случаях под действием гормона в ооцитах произошли закономерные изменения, выраженные в разной степени. У части самок они незначительны: укрупнение жировых капель до фазы «более 10 ЖК» диаметром до 112 мкм. В остальных случаях образовалось до 2—4 и в одном случае — одна жировая капля; диаметр жировых капель увеличился до 210 мкм. В этом состоянии процесс останавливался, и при более длительном культивировании (более 48 ч) ооциты начинали деградировать, что выражалось в отслоении оболочек и образовании каверн. Уровень ответа зависит и от концентрации гонадотропинов. Наибольшие изменения наблюдали в концентрациях гормона 0,2, 0,05 мг/мл. При этом доза в 0,2 мг/мл иногда оказывалась менее эффективной, чем в 0,05 мг/мл, в частности, для самок, у которых жировые капли в ооцитах были более крупными.

Распределение ооцитов 22 самок по уровню их реакций показано на рис. 1. Уровень ответа определяли по наибольшему числу клеток (не менее 50%), отнесенных к данной фазе. Не ответили или ответили слабо ооциты диаметром 477 и 490 мкм. Можно предполагать, что они не достигли еще дефинитивного состояния. У большинства самок про-

* Указанные состояния, как это видно из рисунка статьи В. С. Алекина, Г. А. Вальтер, Л. Г. Гнатченко, опубликованной в данном сборнике, четко отличаются друг от друга. Поскольку осеменение яиц, полученных *in vitro*, не проводили, фаза «ЗЯ» (зрелые яйца) заменена здесь фазой «ГО» (гомогенного ооцита).

Таблица 1

Реакция ооцитов интактных самок сингиля в различных концентрациях гипофиза сазана

Номер самки	Исходное состояние ооцитов			Концентрация гипофиза, мг/мл	Число клеток в опыте	Результаты культивирования, %					Диаметр жировых капель, мкм
	диаметр ооцитов, мкм	фаза	диаметр жировых капель, мкм			ЖО	НЖК	более 10 ЖК	5—10 ЖК	2—4 ЖК	
1	477	ЖО	<14	0,2 0,05 Контроль	36 40 30	100 100 100					14 14 14
640	497	ЖО	14	0,2 0,05 0,01 0,003 Контроль	31 52 36 39	19 13 42 100	81 87 58				95 113 88 31 21
631	500	ЖО	17	0,2 0,05 0,01 0,003 Контроль	31 41 39 38	33 100		68 88 69 21	32 12		186 168 187 84
630	513	НЖК	38	0,2 0,05 0,01 0,003 Контроль	31 42 38 36	56 100	9 10	29 16 74 100	62 95 74 100		157 200 155 115 38
633	510	Более 10 ЖК	52	0,2 0,05 0,01 0,003 Контроль	37 59 46 40 48		7 100	43 5 9 63	57 93 91 30	2	157 218 183 189 53

цесс достиг фаз «более 10 ЖК» и «5—10 ЖК». У двух из трех рыб, ооциты которых отреагировали сильнее (до фазы «2—4 ЖК»), клетки уже исходно находились в фазах «НЖК» и «более 10 ЖК».

Чтобы рассмотреть возможную связь между уровнем ответа и некоторыми характеристиками самок (масса тушки, ГСИ), результаты разделили на две группы: 1 — отсутствие ответа или ответ до фазы «более 10 ЖК» (9 проб); 2 — ответ до фазы «5—10 ЖК» и «2—4 ЖК» (13 проб).

По суммарным вариационным рядам для каждой из групп построены кривые размеров ооцитов (рис. 2). Сравниваемые группы очень близки по всем показателям, что, вероятно, указывает на морфологическую однородность исследуемого материала.

Наибольший интерес представляют крайние состояния ооцитов, отмеченные у интактных самок сингиля: клетки диаметром 477—490 мкм и ооциты с заметными признаками созревания. Для анализа яйцеклеток этих состояний необходимы дополнительные данные. Можно лишь утверждать, что желтковые ооциты сингиля, достигшие дефинитивного состояния, специфически отвечают на действие гипофизарных гонадотропинов укрупнением жировых капель. Это наблюдается и на ранних этапах созревания ооцитов.

Чувствительность ооцитов после инъекции. Интенсивность реакции ооцитов на гонадотропины сазана *in vitro* заметно изменяется, если самку предварительно сенсибилизировать гипофизами сазана. В табл. 2 приведены результаты эксперимента с самкой сингиля № 625, которая

в исходном состоянии имела желтковые ооциты. После 36 ч инкубирования с гормоном в них образовалось 5–10 жировых капель. Через 12 ч после введения самке 2 мг гипофиза ооциты ее *in vivo* несколько увеличились в диаметре и были определены как желтковые. В таких ооцитах, помещенных в раствор Рингера с гормоном, изменения в связи с созреванием были выражены много ярче, чем в ооцитах интактных самок (см. табл. 1 и рис. 1).

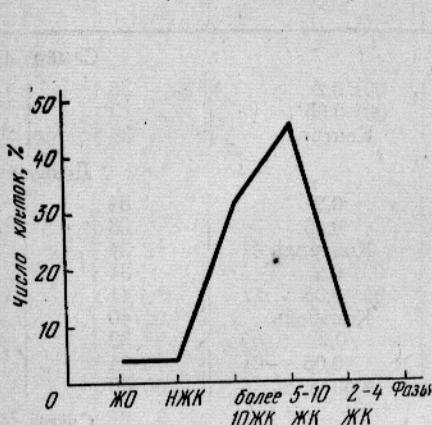


Рис. 1. Реакция ооцитов 22 самок сингиля в суспензии гипофизов сазана (0,05 мг/мл).

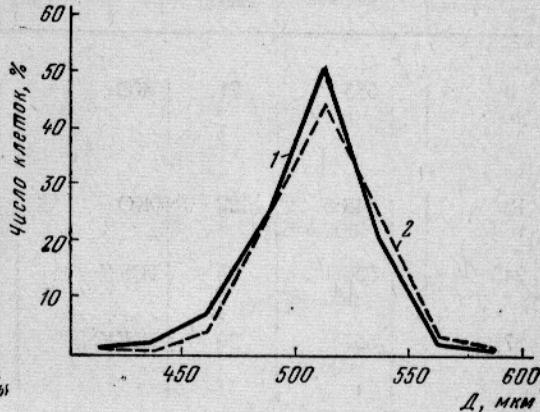


Рис. 2. Сравнение размерных вариационных рядов двух групп ооцитов, ответивших *in vitro* до фазы «более 10 ЖК» (1) и до фазы «5–10 ЖК» и «2–4 ЖК» (2).

Во всех клетках, находившихся в 0,05 мг/мл гипофиза, образовалась одна жировая капля; были хорошо выражены процессы гомогенизации желтка и гидратации, в результате чего диаметр ооцитов увеличился до 625–700 мкм. В контрольной пробе за время инкубации в яйцеклетках жировые капли укрупнились до фазы «НЖК» и «более 10 ЖК». Таким образом, реакция ооцитов *in vitro* отражает их чувствительность к гонадотропинам; морфологическая картина процесса может не соответствовать реактивности яйцеклетки. После введения подпороговой дозы чувствительность клеток нарастает, а затем снижается, при этом, вероятно, можно оценивать ее на разных этапах процесса. Наибольшей чувствительности ооциты достигают через 12 ч, а затем последовательно утрачивают ее.

В следующем эксперименте исследовали поведение ооцитов, взятых от самки сингиля № 664, которую инъектировали гипофизами сазана дважды (табл. 2). Исходные ооциты исследуемой самки были менее чувствительны, чем ооциты самки № 625, и в присутствии гормонов гипофиза *in vitro* жировые капли в них укрупнились до фазы «более 10 ЖК». После одной инъекции (2 мг) реакция ооцитов вне организма, взятых через 8–24 ч, несколько усилилась (до фазы «5–10 ЖК»), однако все еще отражала более низкий уровень чувствительности. Яйцеклетки, вынесенные *in vitro* через 32 ч после инъектирования, уже слабее реагировали на действие гонадотропинов — большая часть клеток (51%) находилась в фазе «НЖК». Таким образом, в первой части эксперимента, так же как и в опыте с ооцитами самки № 625, было заметно некоторое повышение реактивности клеток *in vitro*, а потом ее спад. За этот период в ооцитах началось слияние жира (фаза «НЖК») и диаметр жировых капель увеличился до 35 мкм.

Через 32 ч самке дополнительно ввели 5 мг гипофиза сазана. Эта доза в ряде случаев обеспечивает полное созревание самок. Через 8 ч

Реакция ооцитов сингиля *in vitro* на гипофиз сазана через разные

Продолжительность действия гипофиза, ч	In vivo			Концентрация гипофиза, мг/мл	Число клеток в опыте	
	Состояние ооцитов		Фаза			
	диаметр, мкм	ооцитов	жировых капель			
Самка						
0	535	21	ЖО	0,2 0,05 Контроль	38 39 36	
					Доза	
12	548	22	ЖО	0,2 0,05 Контроль	34 38 34	
24	558	25	НЖК	0,2 0,05 Контроль	34 41 40	
37	557	20	НЖК	0,2 0,05 Контроль	32 54 30	
Самка						
0	512,5	14	ЖО	0,05 Контроль	46 32	
					Доза	
8	508,5	14	ЖО	0,05 Контроль	38 31	
16	504	14	ЖО	0,05 Контроль	33 44	
24	509	20	ЖО	0,05 Контроль	30 33	
Доза						
32	500,5	35	НЖК	0,05 Контроль	35 47	
40(8)*	509,5	63	НЖК	0,05 Контроль	32 30	
48(16)	510		НЖК—5—10 ЖК	0,05 Контроль	33 33	
56(24)	522,5		НЖК—2—4 ЖК	0,05 Контроль	37 37	

* В скобках — время после второй инъекции.

после второй инъекции ооциты в яичнике продолжали оставаться в фазе «НЖК». В клетках, вынесенных в это время из организма, в присутствии гормонов гипофиза жировые капли укрупнились до состояния «2—4 ЖК», а в контрольных ооцитах — до фазы «более 10 ЖК». Через 16 ч часть яйцеклеток в яичниках достигла фазы «5—10 ЖК». В таких ооцитах, помещенных в среды с гормоном, произошло слияние жира до одной капли (фаза «1 ЖК»). Клетки, взятые через 24 ч после инкубации как с гормоном, так и без него, не только достигли фазы «1 ЖК», но и заметно увеличились за счет гомогенизации желтка и гидратации. Часть ооцитов самки созрела и овулировала, а часть отстала в развитии. Группа отстающих клеток хорошо прослеживается и в опытах.

Таблица 2

промежутки времени после инъекции

ЖК	НЖК	более 10 ЖК	In vitro				диаметр, мкм	
			5—10 ЖК	2—4 ЖК	1 ЖК	ооцита		
№ 625								
100			100 100				525—550	
гипофиза 2 мг								
	21	79		37	63 100	625—650 625—700		
100		14	100 56	30		525—550		
87		13					525—550	
81		19						
100								
№ 664								
100			89	11				18
гипофиза 2 мг								
68	5	45	50				126	
	32						22	
9	76		15				134	
80	20						32	
	13	37	50				130	
70	30						56	
гипофиза 5 мг								
14	51	29	6				109	
21	79						31	
9		23	18	50			104	
10	23	53	14				43	
22		17		17		450—550		
9		34	22	22	44 13	450—550		
	65		7		28	575—700		
35		18	12		35	575—700		

Таким образом, реакция ооцитов *in vitro* отражает состояние яичника и изменение его состояния под действием гипофизарных инъекций. Уровень реакции ооцитов *in vitro* может служить показателем чувствительности яйцеклеток к гипофизарным гормонам.

Мы сопоставили результаты опытов *in vivo* и *in vitro* с 32 самками лобана. Самок инъецировали свежими гипофизами лобана в дозах до 60 мг на самку. Щупловые пробы брали дважды, через 12—16 и 23—26 ч после инъекции. В зависимости от уровня реакции всех рыб подразделили на три группы. К первой группе отнесли рыб, созревание которых завершилось полностью и в ряде случаев были получены икра и личинки, ко второй группе — созревание которых остановилось на фазе «1 ЖК», и к третьей группе — не прореагировавших на гормо-

нальный стимул. В опытах *in vivo* и *in vitro* получены близкие результаты. Ооциты созревающих самок (7 шт.), вынесенные *in vitro* через 12—16 ч после инъекции гипофиза, созревали далее в культуре под действием гонадотропинов вплоть до овуляции. В контрольных чашках без гормона процесс останавливался. Если созревание в яичниках самок останавливалось на фазе «1 ЖК» (8 шт.), процесс прерывался и *in vitro*. У самок, не ответивших на гипофизарные инъекции (17 шт.), не отмечено никаких изменений ооцитов и *in vitro*, взятых в опыт как через 12—16 ч, так и через 23—26 ч после инъекции.

Таким образом, по созреванию ооцитов *in vitro* можно судить о подготовленности самок к нересту, о чувствительности яичников к гонадотропинам и заранее отбирать самок, пригодных для эксперимента.

Выводы

1. Ооциты интактных самок сингиля, помещенные *in vitro*, отвечают на действие гормона укрупнением жировых капель от фазы «НЖК» до фазы «2—4 ЖК». Уровень реакции половых клеток зависит от их исходного состояния.

2. Изменения, происходящие в ооцитах самок сингиля после сенсибилизации, завершаются *in vitro* гомогенизацией желтка и гидратацией клеток. Наблюдение за поведением ооцитов позволяет судить о степени и характере изменений в яичниках опытных самок.

3. Соответствие изменений, наблюдаемое в параллельных опытах *in vivo* и *in vitro* на ооцитах лобана под действием гормональных препаратов, позволяет отбирать самок для стимулирования.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Апекин В. С. Регуляция созревания и нереста в связи с проблемой искусственного воспроизведения морских рыб. — «Тезисы докладов Второй конференции по экологической физиологии рыб». М., 1973, с. 84—86.

Гончаров Б. Ф. Зависимость величины гормонозависимого периода созревания фолликулов травяной лягушки от разведения суспензии гипофизов. Новый метод тестирования гипофизов. — «Онтогенез», 1971, т. 2, № 1, с. 64—70.

Скоблина М. Н. Созревание кортекса безъядерных ооцитов лягушки и севрюги под влиянием гонадотропных гормонов гипофиза. — «ДАН СССР», 1968, т. 183, вып. 4, с. 982—984.

Скоблина М. Н. Созревание ооцитов выюнов под влиянием хориогонина. — «Онтогенез», 1973, № 3, с. 309—311.

Jalabert B., Bry C., Szöllösi D., Fostier A. Etude comparée de l'action des hormones hypophysaires et stéroïdes sur la maturation *in vitro* des oocytes de la truite et du carassin (poissons téléostéens). Am. biol. anim. biochim., biophys. 13, 1973, p. 59—72.

Hirose K. Biological study on ovulation *in vitro* of fish. I. Effects of pituitary and chorionic gonadotropins on ovulation *in vitro* of Medaka, *Oryzias latipes*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 37 (7), 1971, p. 585—591.

Wright P. A. Factors affecting *in vitro* ovulation in the frog. J. Exp. Zool. 100, 1945, p. 565—575.

*On response of oocytes of mullet to hormonal drugs *in vitro**

V. S. Apokin, L. G. Gnatchenko

SUMMARY

The oocytes of intact females of mullet respond to gonadotropins of carp by enlarged lipid droplets. The intensity of the process is dependent upon the initial state of females. Knowing the response of oocytes of mullet *in vitro* after the injection is made it is possible to predict maturation of females judging from the extent and character of changes in the ovaries of the fish tested.

УДК 597.593.4:597—116

О СОЗРЕВАНИИ ООЦИТОВ КЕФАЛЕЙ IN VITRO ПОД ДЕЙСТВИЕМ ГИПОФИЗОВ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РЫБ И ХОРИОНИЧЕСКОГО ГОНАДОТРОПИНА ЧЕЛОВЕКА

Гнатченко Л. Г.

При выборе гипофизарного препарата для стимулирования созревания рыб необходимо учитывать зоологическую специфичность гонадотропинов, которая установлена как для грубых экстрактов гипофизов (Pickford, Atz, 1957; Barr, 1968), так и для очищенных препаратов (Fontaine et al., 1972; Burzawa—Gerard, 1974).

В настоящее время созревание кефалей индуцируют гипофизами кефалей (Tang, 1964; Апекин, Тронина, 1972), сазана (Yashouy, 1969), лосося (Shehadeh et al., 1973; Kuo et al., 1974), хорионическим гонадотропином человека (Kuo et al., 1973).

Оценить чувствительность ооцитов кефалей к гормонам можно по их реакции в системе *in vitro* (см. статью В. С. Апекина, Л. Г. Гнатченко в данном сборнике). В предлагаемой работе сравнивали действие различных концентраций гипофизов кефалей, осетра, сазана и хорионического гонадотропина человека на созревание *in vitro* ооцитов сингиля (*Mugil auratus* R.) и лобана (*Mugil cephalus* L.).

Свежие гипофизы кефалей собирали от самок с гонадами на IV стадии зрелости; гипофизы осетра и сазана получали от Главрыбвода. В опытах использовали препарат хориогонина фирмы «Гедеон Рихтер» (Венгрия). Супензию гипофизов готовили на 0,65% NaCl.

Самок сенсибилизовали гипофизарными препаратами и забивали через 24—28 ч после инъекции, когда ооциты сингиля достигали размеров 525—530 мкм, ооциты лобана — 520—525 мкм в фазах «5—10 ЖК»—«1 ЖК». Состояние яйцеклеток определяли на основании анализа щуповых проб согласно выделенным визуальным критериям созревания кефалей *in vivo* (Апекин, 1973).

Ооциты инкубировали в растворе Рингера для морских рыб. В среду добавляли яичный альбумин и антибиотики (Скоблина, 1970); pH раствора доводили до 8,0—8,2. Кусочки яичника помещали в свежеприготовленный раствор и разделяли петлями на фрагменты по 5—15 фолликулов в каждом; 80—100 яйцеклеток переносили в чашку Петри с 5 мл раствора, содержащего определенное количество препарата и инкубировали 24 ч при температуре $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Реакцию ооцитов на действие гормонов оценивали по проценту клеток, в которых завершилось растворение желточных гранул и которые в результате оводнения достигли размера зрелых яиц.

Опыт проводили на ооцитах сингиля, в которых происходило слияние жировых капель, а гомогенизация желтка еще не началась. Сред-
6—265

ний диаметр клеток составлял 525 мкм. За 24 ч инкубации в присутствии гормонов во всех ооцитах жировые капли слились в одну, у части клеток полностью завершились гомогенизация и гидратация и они достигли размеров зрелых яиц — 750—775 мкм. Такие яйцеклетки прозрачны, легко отличаются от клеток других состояний. При культивировании в среде без гормонов была отмечена некоторая инерция созревания — в большинстве ооцитов завершилось образование одной капли,

у 3% — наблюдали частичную гомогенизацию желтка. Однако средний диаметр клеток в контроле не превышал 525 мкм.

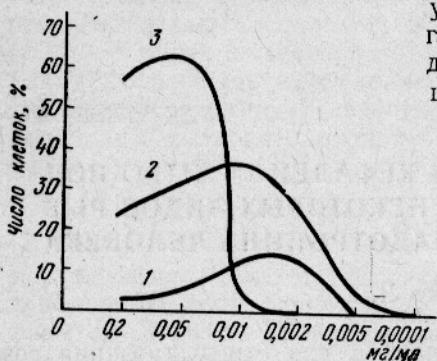


Рис. 1. Созревание ооцитов сингиля под действием различных концентраций гипофизов сингиля, осетра и сазана:

1 — ацетонированный гипофиз сазана; 2 — свежий гипофиз сингиля; 3 — ацетонированный гипофиз осетра.

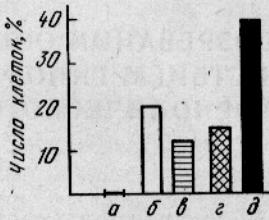


Рис. 2. Созревание ооцитов сингиля в присутствии хориогонина, гипофиза сазана и их смесей:

а и б — 10 и 50 ед./мл хориогонина соответственно; в — 0,003 мг/мл гипофиза сазана; г — 10 ед./мл хориогонина и 0,003 мг/мл гипофиза сазана; д — 50 ед./мл хориогонина и 0,003 мг/мл гипофиза сазана.

Результаты опытов с различными концентрациями суспензии гипофизов сингиля, осетра и сазана представлены на рис. 1. При рассмотрении кривых видно, что реакция четко зависит от концентрации гипофиза. В присутствии гипофиза своего вида максимальный ответ получен при действии 0,01 мг/мл (37%). При уменьшении концентрации количество созревших клеток постепенно снижается. Дозы гипофиза 0,003 мг/мл и ниже стимулировали созревание от 13 до 2% клеток. С увеличением концентрации реакция ооцитов также ослабевает. В гипофизе осетра наиболее сильную реакцию наблюдали при дозе 0,05 мг/мл (65%). С увеличением концентрации количество созревших клеток уменьшилось до 45%. Разведение гипофиза ниже 0,05 мг/мл резко снизило ответную реакцию по сравнению с действием гипофизов сингиля и осетра. Гипофизы сазана даже в оптимальных концентрациях стимулировали созревание только у 16% клеток.

На ооцитах этой же самки исследовали действие хорионического гонадотропина человека в дозах 10 и 50 м. е./мл. Из них только доза 50 м. е./мл вызвала созревание части клеток (22%) (рис 2). Опробована также смесь хориогонина и гипофиза сазана. При действии 10 м. е./мл в сочетании с концентрацией гипофиза 0,003 мг/мл получен ответ, подобный тому, какой получен при соответствующей дозе гипофиза. Смесь 50 м. е./мл хориогонина с 0,003 мг/мл гипофиза оказалась более эффективной, чем каждый из препаратов в отдельности — созрело 40% клеток.

Различные концентрации гипофизов были испытаны также на ооцитах лобана (рис. 3). После сенсибилизации самки средний диаметр клеток, находящихся в фазах «2—4 ЖК»—«1 ЖК», достигал 520 мкм.

In vitro под действием гормонов диаметр ооцитов, так же как и у сингиля, увеличился до 680—720 мкм и они стали прозрачными. В контрольных опытах средний диаметр клеток не изменился (до 520 мкм).

Самую сильную реакцию наблюдали в 0,1 мг/мл гипофиза осетра (95%). В суспензии гипофиза лобана ответ был слабее. Концентрация гипофиза 0,01 мг/мл стимулировала созревание у 51% клеток. Но кривая, отражающая опыт с гипофизом своего вида, более пологая, чем для гипофиза осетра. Гипофиз сазана был наименее эффективен и вызвал созревание только у 16% клеток.

Хориогонин в дозе 10 ед./мл в опыте с ооцитами лобана в отличие от сингиля оказался более действенным—созрело 10% клеток (рис. 4), в дозе 50 ед./мл — несколько выше — 16%. Смесь 10 ед./мл хориогонина с 0,02 мг/мл одного из трех образцов гипофизов лобана, осетра

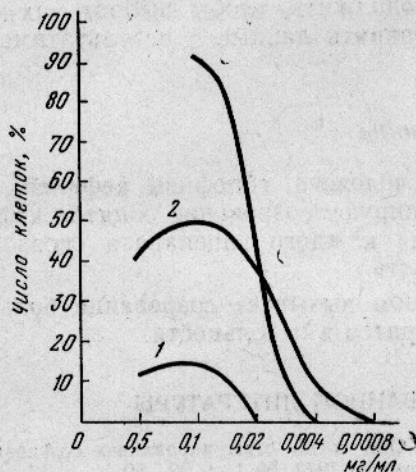


Рис. 3. Созревание ооцитов лобана под действием различных концентраций гипофизов лобана, осетра и сазана:
1 — ацетонированный гипофиз сазана;
2 — свежий гипофиз лобана; 3 — ацетонированный гипофиз осетра.

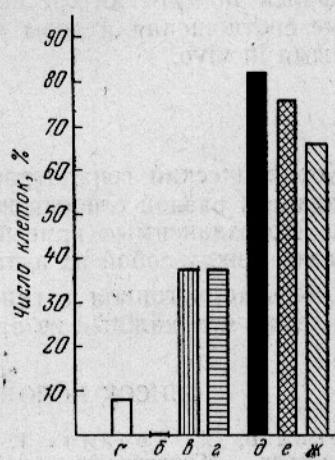


Рис. 4. Созревание ооцитов лобана в присутствии хориогонина, гипофизов лобана, осетра, сазана и их смесей:

а — 10 ед./мл хориогонина; б, в и г — 0,02 мг/мл гипофиза сазана, лобана и осетра соответственно; д, е и ж — 10 ед./мл хориогонина с 0,02 мг/мл гипофиза лобана, осетра и сазана соответственно.

или сазана вызвала созревание у 83, 75 и 66% клеток соответственно. Как видно, реакции на смесь препаратов намного выше, чем на каждый в отдельности.

При сравнении результатов опытов с ооцитами лобана и сингиля видно, что, несмотря на испытание различных разведений, характер кривых сходен. Гипофизы осетра дают самую сильную реакцию, но диапазон эффективных доз относительно узок. Дозовые кривые собственных гипофизов и гипофизов сазана характеризуются более широким диапазоном концентраций, способных вызвать заметную реакцию. Гипофизы сазана наименее активны. Разная активность исследуемых гипофизов, оцениваемая по уровню ответа и диапазону реагирующих доз, по-видимому, объясняется проявлением видовой специфичности гонадотропинов данных видов рыб. Более высокий процент созревания яйцеклеток в гипофизе осетра в сравнении с собственными гипофизами обнаружен Б. Ф. Гончаровым в 1971 г. в опытах *in vitro* на ооцитах лягушки. Снижение реакции с увеличением концентрации гипофиза выше

0,1 мг/мл возможно связано с ухудшением условий инкубации из-за избытка белка в инкубационной среде, или проявлением тормозящего действия больших доз гонадотропинов на процесс созревания половых клеток (Гончаров, 1971).

Как было показано выше, хориогонин стимулирует созревание ооцитов сингиля и лобана *in vitro*. Куо с сотрудниками сообщил об успешном применении этого препарата для индуцирования созревания лобана *in vitro* (Kuo et al., 1973). Сочетание хориогонина с гипофизами стимулировало созревание гораздо большего числа клеток, чем каждый из них в отдельности. Такой эффект, по-видимому, вызывается их синергидным действием. Реакция усиливается только при определенном соотношении гормонов и зависит от состояния ооцитов. Сравнительный анализ гонадотропных препаратов в системе созревания ооцитов кефалей *in vitro* интересно продолжить, чтобы выбрать их оптимальные соотношения и дозы и сравнить данные с результатами, получаемыми *in vivo*.

Выводы

1. Хорионический гонадотропин человека, гипофизы кефалей, осетра и сазана в разной степени индуцируют созревание ооцитов кефалей *in vitro*. Дозозависимые кривые для каждого препарата позволяют сравнивать между собой их активность.

2. Смесь хориогонина с гипофизом вызывает созревание большего числа клеток, чем каждый из препаратов в отдельности.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Апекин В. С., Тронина Т. М. Опыты по стимулированию созревания и нереста кефали. — «Гидробиологический журнал», 1972, № 1, с. 82—89.

Апекин В. С. Регуляция созревания и нереста в связи с проблемой искусственного воспроизводства морских рыб. — «Тезисы докладов Второй конференции по экологической физиологии рыб». М., 1973, с. 84—86.

Гончаров Б. Ф. Изучение закономерностей перехода ооцитов амфибий и осетровых рыб от роста к созреванию. Автореферат диссертации на соискание научной степени кандидата биологических наук. М., 1971.

Скоблина М. Н. Экспериментальное изучение роли ядра в процессе созревания ооцитов амфибий и осетровых рыб. — Автореферат диссертации на соискание научной степени кандидата биологических наук. М., 1970.

Barr W. A. Pattern of ovarian activity. In: Perspectives in Endocrinology, London, and New York. 1968, p. 163—232.

Burzawa—Gerard E. Etude biologique et biochimique de l'hormone gonadotrope d'un poisson téléostéen, la carpe (*Cyprinus carpio L.*). Mem. Mus. nat. hist. natur., A84, 1974, pp. 77.

Comparison of the activities of two purified fish gonadotropins on adenyl cyclase activity in the goldfish ovary. Can. J. Zool., 50, N 12, 1972, p. 1673—1676.

Fontaine Y. A., Salmon C., Fontaine B. E., Burzawa-Gerard E., Donaldson E. M.

Kuo C. M., Shehadeh Z. H., Nash C. E. Induced spawning of captive grey mullet (*M. cephalus L.*) females by injection of human chorionic gonadotropin (HCG). Aquaculture, v. 1, 4, 1973, pp. 429—432.

Kuo C. M., Nash C. E., Shehadeh Z. H. Procedural guide to induced spawning in grey mullet (*M. cephalus L.*). Aquaculture, v. 3, N 1, 1974, pp. 1—14.

Pickford C. E., Atz Y. W. The physiology of the pituitary gland of fishes, New York Zool. Soc. New York. 1957, pp. 610.

Shehadeh Z. H., Kuo C. M., Milisen K. K. Induced spawning of grey mullet (*Mugil cephalus L.*) with fractionated salmon pituitary extract. J. Fish. Biol. Ser. A. 1973, pp. 471—478.

Tang Y. A. Induced spawning of striped mullet by hormone injection. Jap. J. Ichthyol., 12 (1/2), 1964, pp. 23—28.

Yashouv A. Preliminary report on induced spawning of *M. cephalus* (L.) reared in captivity in freshwater ponds. Bamidgah, 21, 1969, pp. 19—24.

On ripening of oocytes in vitro under the influence of hypophyses of some species of fish and chorionic human gonadotropin.

L. G. Gnatchenko

SUMMARY

The effect of fresh homoplastic hypophyses and those stored in acetone, as well as chorionic human gonadotropin and hormonal mixture on maturation of oocytes of mullet (*Mugil auratus* R. and *M. cephalus* L.) in vitro is investigated. The hypophyses of sturgeon induce a strong response of oocytes, but the range of effective doses is relatively narrow. It is much wider in their own hypophyses and those of carp. The activity of carp hypophysis is the lowest. Some oocytes ripened under influence of choriogonin. The mixture of choriogonin and hypophyses is the most effective. The effective response may be obtained, however, at a certain ratio of hormones and depends on the state of oocytes.

УДК 597.593.4:597—116

ОБ ИНКУБАЦИИ ИКРЫ И ВЫРАЩИВАНИИ ЛИЧИНОК КЕФАЛИ-СИНГИЛЯ (*MUGIL AURATUS RISSO*)

Аронович Т. М.

Кефали — один из важных объектов морского рыбоводства во многих странах Юго-Восточной Азии, Средиземноморья, на Гавайских островах и на Тихоокеанском побережье США (Liao et al., 1971; Shehadeh, Ellis, 1970; Tang, 1964). В этих странах кефаль разводят, чтобы снабжать посадочным материалом товарные хозяйства. Для этого широко используют метод стимулирования созревания производителей с помощью гипофизарных инъекций (Shehadeh, 1970, 1973).

Кефали — перспективные объекты морского рыбоводства и в СССР. В настоящее время уже получены обнадеживающие результаты по стимуляции нереста производителей лобана и сингиля с помощью гипофизарных инъекций (Апекин и др., 1972). Однако биотехника искусственного разведения кефали совершенно не разработана.

Цель предлагаемой работы — получить предварительные данные по инкубации икры и возможности выращивания личинок сингиля в лабораторных условиях; изучить развитие эмбрионов и личинок до полной резорбции желтка; определить качество потомства, получаемого при стимуляции нереста самок; изучить развитие икры и личинок в воде разной солености.

Стимуляцию нереста производителей проводили сотрудники лаборатории физиологии и биохимии рыб ВНИРО и АзЧерНИРО. В работе с икрой и личинками сингиля принимала участие сотрудник АзЧерНИРО Л. Н. Пилипович.

Икра была получена от трех самок, созревших после трехкратного введения гипофиза сазана (из расчета 4 мг на 1 кг массы). После инъекций самок выдерживали при температуре 19—21°С в течение 24—36 ч. Оплодотворение проводили «сухим» или «полусухим» способом. Икру инкубировали в аквариумах без смены воды, воду предварительно аэрировали. Часть икры инкубировали в больших бассейнах емкостью 1,5—2,0 м³ и в конусообразных газовых садках. Снизу в садки подавалась свежая вода, а в бассейнах были расположены распылители (рис. 1). После выклева личинок переносили из аквариумов в бассейны, а из садков личинки выплывали сами при небольшом заглублении садка. Личинок держали в бассейнах до полной резорбции желтка.

Всего было получено шесть партий икры. В первых трех партиях икра оказалась перезрелой, много икринок имели неправильную форму, коагулированный белок, normally развивающихся эмбрионов было не более 5—6%. В остальных партиях их было от 25 до 65%, а неоплодотворенных икринок — от 20 до 60%, дефектных — 1—5%.

Специальные опыты по определению плавучести икры в воде разной солености проводили с икрой сразу после оплодотворения в стаканчиках на 100 мл каждый в двух повторностях. Определение толерантности личинок к воде разной солености проводили в чашках Петри (от 15 до 30 личинок на одну чашку) в двух повторностях. Воду ежедневно меняли и подсчитывали процент отхода.

Эмбриональное развитие. Икра сингиля — небольшого размера (диаметр 0,75—0,8 мм) с крупной жировой каплей (диаметр 0,31—0,35 мм). По данным Т. В. Дехник (1973), икринки лобана мельче (диаметр 0,6—0,7 мм) и жировая капля в них меньше (диаметр — 0,26—0,31 мм). У средиземноморского сингиля диаметр икры несколько больше (до 1,14 мм) и жировая капля крупнее (до 0,36 мм).

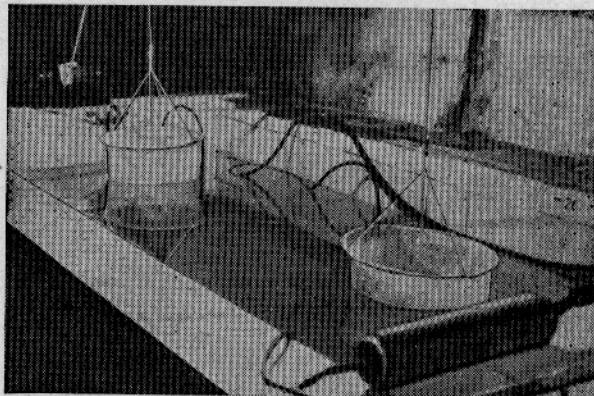


Рис. 1. Садки для инкубации икры сингиля.

Через 15—20 мин после оплодотворения образуется узкое перивителлиновое пространство. При температуре 18—19°C эмбриональное развитие продолжается двое суток. Эмбриогенез сингиля при температуре $18,5 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ приведен ниже.

Этап, стадия	Время от момента оплодотворения, ч
Образование бластодиска (набухание икры, образование перивителлинового пространства, бластодиска)	0,25—0,5
Дробление	
2 бластомера	1
4 бластомера	2
8 бластомеров	3
16—32 бластомера	4
мелкоклеточная морула	6
Эпилобия, начало гаструлации	
начало эпилобии	9
обрастание на $\frac{2}{3}$ и появление зародышевого валика	15
Органогенез	
образование глазных бокалов, долей мозга, 5—6 сомитов	22
закладка осевых органов, 12 сомитов	27
пигментация эмбриона, начало пульсации сердца, около 20 сомитов, хвостовая часть заходит за голову	40
Подвижный эмбрион	44
Выклев	48

Развитие личинок. Сразу после выклева личинки лежат в поверхностной пленке воды, жировой каплей кверху. Средняя длина выклю-

нувшихся личинок — 2,03 мм, площадь желточного мешка — 0,49 мм² (в оптическом разрезе), диаметр жировой капли — 0,3 мм. В момент выклева жировая капля расположена ближе к хвостовой части, тело личинок хорошо пигментировано, глаза не пигментированы.

Через двое суток после выклева длина личинок достигает 2,65 мм, они становятся более активными, а их пигментация более интенсивной. Помимо меланофоров, появляются ксантофоры на желточном мешке и плавниковой кайме, особенно на ее хвостовой части. Желудок еще в виде тонкого шнурка, глаза не пигментированы. Желточный мешок почти полностью резорбирован, а жировая капля не изменяется.

Через 2,5 суток (при температуре воды 18,7°C) у личинок появляются кровеносные сосуды, но эритроцитов еще не видно, пищевод хорошо развит, желудок — в виде узкой трубки, пигментные клетки расположаются только до начала хвостового стебля. Так же как и у черноморского калкана, у сингиля жировая капля начинает рассасываться только после полной резорбции желточного мешка, являясь, очевидно, дополнительным резервом питательных веществ личинки в период перехода на активное питание (рис. 2).

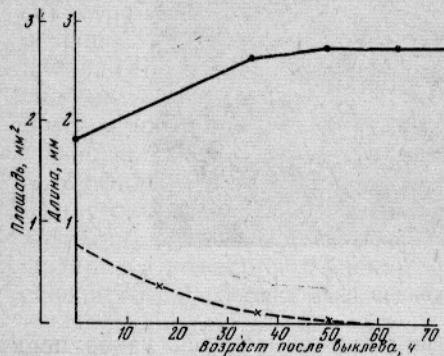


Рис. 2. Рост личинок сингиля и резорбции желтка.

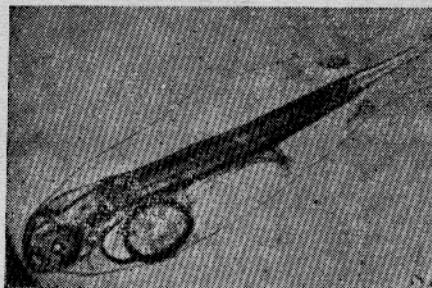


Рис. 3. Личинка в возрасте 4 суток.

Через 4 суток после выклева у личинок развивается перистальтика желудочно-кишечного тракта, желудок — в виде мешочка, нижняя челюсть хорошо развита, подвижна. Появляются эритроциты. Длина личинок — 2,66 мм (температура 19,0°C) (рис. 3).

Через 6 суток у личинок хорошо развит желудочно-кишечный тракт, появляются первые пилорические придатки. В это время у всех личинок был раскрыт рот, пигментные клетки сжаты; у многих личинок в наших опытах наблюдалась водянка, расширение плавниковой каймы и искривления позвоночника, что, очевидно, явилось основной причиной гибели личинок. При содержании личинок в бассейне без корма все они погибли на 7—8-е сутки после выклева.

Плавучесть икры в воде разной солености. В воде пониженной солености — 12—17‰ плавучесть икры значительно ниже, чем в воде соленостью 19 и 21‰ (табл. 1).

В воде пониженной солености икра сингиля опускается на дно и, хотя развитие эмбрионов продолжается на дне аквариума (при наличии хороших кислородных условий), ухаживать за живой икрой, лежащей на дне аквариума, трудно.

Отношение личинок к воде различной солености. Наибольшая выживаемость выклонувшихся личинок — в воде соленостью от 15 до 19‰. В воде пониженной солености (12‰) отход больше, размеры

Таблица 1

**Плавучесть икры в воде разной солености
(количество икры в разных горизонтах, %)**

Слой	Соленость, ‰				
	12	15	17	19	21
Поверхность	—	5,2	16	100	100
Толща	—	1,5	5	—	—
Дно	100	93,3	79	—	—

личинок меньше, а плавниковая кайма шире, чем у личинок, выдерживаемых в воде соленостью 15—19‰ (табл. 2). У личинок в воде повышенной солености (21‰) отход также высокий, а плавниковая кайма уже (всего 0,7 мм), чем у личинок в воде низкой солености 12‰.

Таблица 2

Отношение личинок к воде различной солености

Среднее число личинок в опыте, шт.	Соленость, ‰	Показатели, средние по двум повторностям						Характер дефектов	
		отход, %	количество личинок, %			средняя длина, мм	высота плавниковой каймы, мм		
			нормальных	подвижных	дефектных				
15	12	13,3	27	13	60	2,58	0,77	Водянка, расширение плавниковой каймы, сжатие меланофоров	
13,5	15	7,5	38	56	53	2,61	0,73	Водянка, расширение плавниковой каймы	
15	17	6,6	47	100	45	2,60	0,71	Водянка	
21,5	19	8,6	53	100	38	2,56	0,64	Водянка, расширение плавниковой каймы	
14,5	21	17,1	44,5	69,3	51,7	2,61	0,7	Водянка, шок, сжатие меланофор, расширение плавниковой каймы	

Результаты исследований совпадают с данными Т. В. Дехник и Р. М. Павловской (1950) о том, что икра сингиля в Черном море встречается при солености 15—18‰ и, по-видимому, диапазон солеустойчивости сингиля уже, чем у лобана.

Выходы

1. Учитывая зарубежный опыт по выращиванию кефали, можно прийти к выводу, что в настоящее время из всех разводимых в искусственных условиях рыб кефаль наиболее перспективна. У нее высокая выживаемость, короткий личиночный период, высокий темп роста, а метаморфоз не такой сложный, как у камбаловых рыб.

2. Икра и личинки кефали-сингиля сравнительно устойчивы к колебаниям температуры и солености. Оптимальной для инкубации икры сингиля ориентировочно можно считать воду соленостью 9—21‰, а для выращивания личинок — 15—19‰. В воде пониженной солености (12‰) отход личинок больше, размеры меньше, а плавниковая кайма шире, чем в воде соленостью 15—19‰.

3. Целесообразно совместно выращивать в бассейнах личинок кефали, коловраток и одноклеточных морских водорослей, которые не только служат кормом для коловраток, но и очищают воду от метаболитов животного происхождения.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Алекин В. С., Тронина Т. М. Опыты по стимулированию созревания и нереста кефали. Предварительные результаты. — «Гидробиологический журнал», 1972, т. 8, № 1, с. 82—89.
- Дехник Т. В. Ихтиопланктон Черного моря. Киев, «Наукова думка», 1973. 234 с.
- Дехник Т. В., Павловская Р. М. Распределение икры и личинок рыб Черного моря. — «Труды АзЧерНИРО», 1950, вып. 14, с. 151—176.
- Перцева-Остроумова Т. А. О размножении и развитии кефалей, вселенных в Каспийское море. — «Труды ВНИРО», 1951, вып. 18, с. 123—134.
- Alderson R., Bromley A. A method for rearing larvae of the turbot, *Scophthalmus maximus* L. to metamorphosis. Fish. Impr. Committee, 1973/E:20, p. 12.
- Howell B. R. The effect of unicellular algae on the growth of early larvae of the turbot (*Scophthalmus maximus* L.). Fish. mpr. Committee, 1973/E:21, 1973, p. 6.
- Liao I., Lu Y., Huang T., Lin M. Experiments on induced breeding of the grey mullet (*Mugil cephalus* Linnaeus). Aquaculture, 1, 1971, 15—34.
- Shehadeh Z., Ellis J. Induced spawning of the striped mullet (*Mugil cephalus* L.). J. Fish. Biol., 2, 1970, 293—303.
- Shehadeh Z., Kuo C. M., Miiisen K. Validation of an in vivo method for monitoring ovarian development in the grey mullet (*Mugil cephalus* L.). J. Fish. Biol., 5, 489—496.
- Tang Y. Induced spawning of striped mullet by hormone injection. Jap. J. Ichthyol., 12/1/2/. 1964, 23—28.
- Yashouv A., Berner-Samsonov E. Contribution to the knowledge of eggs and early larval stages of mullets (Mugilidae) along the Israeli coast. Bamidgeh, 22/3/ 1970, 72—89.
- Preliminary data on incubation of eggs and rearing of
larvae of mullet (*Mugil auratus* Risso)*
- T. M. Aronovich
- SUMMARY
- In 1974 eggs of mullet (*Mugil auratus* Risso) were incubated and larvae reared. Eggs were obtained from females matured after hypophysial injections of pike—perch were made. The embryonal development lasted two days at the temperature of $18.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$. The size of larvae hatched was 2.03 mm. Larvae were maintained in tanks with the capacity of 2 m³. The optimum values of salinity for eggs and larvae were 19—21% and 15—19%, respectively. When kept in tanks without food the total mortality of larvae was observed on the 7—8 th day after hatching.

УДК 597.587.9:597—116

РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА СОЗРЕВАНИЯ САМОК ЧЕРНОМОРСКОЙ КАМБАЛЫ-КАЛКАНА

Воробьева Н. К., Таликина М. Г.

От интактных самок (не стимулированных гонадотропными препаратами) черноморской камбалы-калкана IV—V стадии зрелости в экспериментальных условиях можно получить несколько порций яиц, время созревания первой порции которых варьирует в значительных пределах — от 12 до 120 ч. (Воробьева, Таликина, 1974). В связи с этим возникла необходимость разработать методику более точной оценки исходного состояния рыб, применение которой позволяло бы определять время овуляции созревших яиц и избегать их передерживания в яичниках самки.

Работа выполнена в апреле—мае 1973 и 1974 гг. на 52 самках калкана на IV—V стадии зрелости. Рыб отлавливали донным тралом в районе Анапы и в брезентовых ванночках доставляли на экспериментальную базу в пос. Заветное. Размер выловленных рыб 45—50 см, масса 3—5 кг, возраст 6—9 лет.

На базе рыб метили мальковыми метками, прикрепляя их капровой нитью к жаберной крышке, затем в бассейны емкостью 2,5—3 м³

Таблица 1

Скорость созревания первой порции яиц у самок
камбалы-калкана, имеющих в момент доставки ооциты V фазы

Месяц	Температура, °C	Число рыб	Скорость созревания первой порции (среднее значение), ч	Число порций, выделенных одной самкой	Среднее количество яиц, полученных от одной самки, тыс. шт.
1973 г.					
Апрель	9—11	6	67	5 1—9	880 360—2000
Май	11—15	15	31	3 1—4	380 250—630
1974 г.					
Апрель	8—9	6	60	3 1—5	600 215—800
Май	9—13	6	32	2 1—4	540 200—900

Примечание. В числителе — среднее значение, в знаменателе — размах колебаний.

Количество порций, яиц в порциях и скорость созревания самок

Год	Температура воды, °C	Количество яиц в порциях, тыс. шт.						Среднее число полученных яиц, тыс. шт.
		I	II	III	IV	V	VI	
Апрель								
1973	10—11	50—700 240	80—470 230	50—210 110	60—200 110	40—390 180	70—300 185	560—2000 970
1974	8—9	246—400 300	15—280 180	330—26 100	182	75		215—800 600
Май								
1973	11—15	65—300 175	40—270 120	65—330 150	50—120 —	—	—	260—630 410
1974	9—13	10—400 245	10—450 150	42—400 170	80	—	—	210—630 540

П р и м е ч а н и е. Числитель — пределы колебаний; знаменатель — среднее по шести

помещали по три самки и два самца в каждый. В течение опыта рыб не кормили. Воду в бассейнах постоянно аэрировали и меняли один—три раза в неделю в зависимости от температуры. Температуру воды в бассейнах специально не регулировали, она изменялась в зависимости от температуры воздуха. В апреле она была довольно стабильна, только к концу месяца увеличивалась на 0,5—1°C, в мае на 3—4°C выше по сравнению с апрелем. Это различие дало возможность сравнить скорость созревания самок примерно одного исходного состояния при разной температуре воды.

Для определения исходного состояния гонад щупом брали пробу яиц из яичника и просматривали ее под бинокуляром. В щуповой пробе, состоявшей обычно из 100—150 клеток, отмечали количество ооцитов отдельных фаз (Воробьев, Таликина, Золотницкий, 1975). Таким же образом определяли состояние ооцитов в дальнейшем по мере их созревания.

Напомним, что на первых двух фазах желтковые ооциты находятся на различных этапах вителлогенеза (диаметр их 350—630 мкм). На третьей фазе ооциты размером 630—700 мкм с 15—20 мелкими жировыми каплями достигают дефинитивного состояния; на четвертой — ооциты размером 700—800 мкм включают одну—четыре жировые капли. На пятой фазе диаметр полупрозрачных ооцитов с одной жировой каплей равен 800—1000 мкм. На шестой фазе размер яйцеклеток 1000—1100 мкм, на седьмой — диаметр зрелых овулировавших яиц равен 1100—1300 мкм.

Щуповые пробы отбирали через каждые 12 ч. Самок в предовуляционном состоянии просматривали каждый час, поглаживая их в области вздувшегося брюшка. Количество отцеженных яиц подсчитывали весовым методом, осеменение проводили полусухим способом. Икру инкубировали в кристаллизаторах емкостью 2 л, процент оплодотворения подсчитывали на стадии 2—4 бластомеров, в некоторых опытах определяли количество выклевавшихся личинок.

В табл. 1 приведены результаты двухлетних наблюдений за скоростью созревания при разной температуре воды самок калканы, имеющих в момент доставки в яичнике, помимо ооцитов первых трех фаз,

Таблица 2

камбалы-калкана в 1974 г.

Скорость созревания каждой порции, ч						Оплодотворяемость яиц, %			
I	II	III	IV	V	VI	I	II	III	IV
Апрель									
20—98 69	4—40 16	40—48 20	20—71 42	9—14 —	13—24 —	10—95 —	6—88 —	0—90 —	36—76 —
42—87 60	24—117 67	24—70 42	24	24	10—35 24	50—80 —		50—57 —	29
Май									
4—86 32	2—33 16	10—35 22	10	—	—	18—94 —	35—81 —	0—73 —	—
10—50 32	14—49 27	14—49 27	25—48 —	—	—	25—90 —	42—80 —	40—70 —	—

самкам. Римскими цифрами обозначены порции яиц.

яйцеклетки V фазы. Из приведенных в таблице данных видно, что в апреле 1973 г. при температуре воды 9—11°C самки созревали в среднем через 67 ч после доставки, в мае при температуре 11—15°C — через 31 ч. Причем, в апреле от самок было получено в среднем по пять порций (от отдельных особей до 7—9), или по 880 тыс. яиц от каждой (колебания яиц от 300 тыс. до 2 млн. шт.). Оплодотворяемость яйцеклеток варьировала в широких пределах — от 6 до 95% и была, как правило, более высокой в первых двух-трех порциях. С повышением температуры воды в мае 1973 г. среднее количество порций, выделенных одной самкой, снизилось до трех, уменьшилось до 380 тыс. и среднее число яиц. Оплодотворяемость яйцеклеток сохранилась на прежнем уровне (табл. 2).

Скорость созревания самок камбалы-калкана, содержащих в яичнике ооциты на V фазе, в апреле и мае 1974 г. (см. табл. 1) была примерно такой же, как и в 1973 г.—60 ч и 32 ч соответственно, хотя температура воды и в апреле и в мае 1974 г. была на 1—2°C ниже, чем в тот же период 1973 г. Вероятно, из-за более низкой температуры воды различия в количестве и величине полученных порций яиц в апреле и мае 1974 г. были меньшими, однако общая тенденция сохранилась: при более низкой температуре получено в среднем большее количество порций и яиц в порциях. В оплодотворяемости яйцеклеток между 1973 и 1974 г. различий не обнаружено. В пробах осемененных яиц с высоким процентом оплодотворения процент выклева личинок также был высоким.

Анализ данных, приведенных в табл. 2, показывает, что даже при значительной вариабельности величин при более низкой температуре воды в аквариальной самки калкана, содержащие при доставке в яичнике ооциты V фазы, созревают дольше, но выделяют большее количество яиц и в течение более длительного времени. В первых двух порциях яиц значительно больше и их биологическое качество лучше.

Более низкой температурой воды в аквариальной, по-видимому, можно объяснить и длительность созревания второй и третьей порций яиц в апреле 1974 г. по сравнению с апрелем 1973 г. (табл. 2).

Таблица 3

Соотношение ооцитов различных фаз в щуповых пробах созревающих самок калкана при температуре 10—12° С

№ пробы	Количество ооцитов разных фаз в щуповой пробе, %					№ пробы	Количество ооцитов разных фаз в щуповой пробе, %				
	I и II	III	IV	V	VI		I и II	III	IV	V	VI
1	57,8	8,3	7,0	10,3	16,7	8	72,6	14,4	13,0	0	0
2	55,4	15,0	16,1	8,5	15,0	9	64,2	16,5	16,5	0,9	1,9
3	57,7	15,2	14,5	11,4	1,3*	10	71,0	12,9	14,7	0,8	0,6
4	69,5	10,2	8,8	6,5	5,0*	11	68,1	12,2	18,9	0	0,8
5	65,9	15,9	11,0	6,2	1,0*	12	73,5	10,2	14,2	1,4	0,7
6	69,4	13,7	13,3	1,9	1,7	13	72,9	8,6	14,1	2,1	2,3
7	61,1	15,0	20,5	0,9	2,5	14	74,7	4,1	9,5	3,5	1,2

* Щуповая проба взята сразу же после отцеживания зрелых яиц.

Кроме того, в 1974 г. выполнены наблюдения за скоростью созревания самок калкана различного исходного состояния (в их яичниках наряду с ооцитами первых трех фаз были либо ооциты только V, либо только VI фазы) при одной и той же температуре воды.

Время созревания самок разного исходного состояния гонад при одной и той же температуре воды (8—9° С) значительно различается. От самок, имеющих в яичнике ооциты V фазы, зрелую икру можно получить через 63 ч (при размахе колебаний 57—70 ч), а от самок, содержащих ооциты VI фазы — через 15 ч (при размахе колебаний 10—26 ч).

Для того чтобы выяснить, созревают ли в экспериментальных условиях у самок калкана ооциты дефинитивного состояния (III фаза), мы проследили, как изменяется соотношение ооцитов различных фаз в щуповых пробах из яичников самок в период созревания и выведения нескольких порций яиц. Из представленных в табл. 3 данных наблюдений за тремя самками в течение семи суток видно, что после выведения трех порций яиц созревание останавливается и, несмотря на увеличение до определенного момента (пробы № 7—9) количества ооцитов III и IV фаз, дальнейшего развития их не происходит. В шестой щуповой пробе ооциты V и VI фаз присутствуют только единично. В аквариальной у самок, по-видимому, реализуется только та порция яиц, которая начала созревать в естественных условиях и выведение которой осуществляется отдельными частями.

В экспериментальных условиях от самок камбалы-калкана на IV—V стадии зрелости можно получить значительное количество добропрочных яиц. При температуре 10—12° С желтковые ооциты в яичниках подопытных рыб могут дорастать до дефинитивного состояния (фаза III) и даже начинают созревать, переходя в фазу IV. Однако на этой фазе созревание яйцеклеток останавливается, и они подвергаются резорбции. Вымет же нескольких порций, вероятно, осуществляется за счет тех яйцеклеток, которые начали созревать у самок еще в естественных условиях. При более низкой температуре воды созреть в экспериментальных условиях может и часть ооцитов, находящихся в дефинитивном состоянии, так как при температуре 8—10° С, как было показано выше, самки калкана выделяют значительно большее количество яиц.

Порцию яиц, которую выделяют самки через некоторый промежуток времени после доставки условно называли первой. Чаще всего подопытные рыбы уже принимали участие в нересте в естественных

условиях, что подтверждалось наличием постовуляторных фолликулов на гистологических препаратах щуповых проб самок в исходном состоянии.

В экспериментальных условиях от самок камбалы-калкана можно получить от 300 тыс. до 2 млн. яиц, что составляет лишь 10—15% того количества, которое выметывает самка калкана за сезон размножения в море. Плодовитость особей данного вида колеблется от 3 млн. до 14 млн. яиц в зависимости от массы и возраста (Кротов, 1941; Таликина, Воробьева, 1975). В яичнике погибших в конце опыта самок обнаруживается 2—5 млн. желтковых ооцитов, которые, вероятно, могли бы созреть и быть выведены при более благоприятных условиях содержания. Эксперименты с черноморской камбалой-глоссой показали, что она нормально созревает и нерестится только в бассейнах большого объема при температуре, близкой к нерестовой (см. статью В. Ф. Гнатченко в настоящем сборнике). Для камбалы-калкана близкими к нерестовым, по-видимому, являются температуры около 8—10° С. По данным В. П. Поповой (1969), на нерестилищах калкана в районе Анапы температура воды у дна равна 9,5° С. Мы наблюдали текущих самок, выловленных с глубины 60 м при температуре у дна 7,9—8,1° С. Этим, вероятно, объясняется и более благоприятное воздействие на созревание самок калкана более низких температур.

Использование выделенных ранее критериев и фаз созревания позволило более точно оценивать исходное состояние ооцитов и определять примерное время овуляции яиц. Это дало возможность получать от многих самок значительное количество доброкачественных яйцеклеток с высоким процентом оплодотворения и выклева.

Выводы

1. От самок камбалы-калкана, имеющих в момент доставки созревающие ооциты V фазы, можно получить первую порцию яиц через 60—70 ч при температуре воды 8—11° С и через 32 ч при температуре 11—14° С. Более зрелые особи, содержащие в гонадах ооциты VI фазы, созревают в среднем через 15 ч при температуре содержания 8—9° С.

2. В экспериментальных условиях самки калкана выделяют в среднем от двух до пяти (отдельные до девяти) порций зрелых половых клеток. Общее количество яиц, получаемых от одной особи, колеблется от 300 тыс. до 2 млн., количество яиц в одной порции — от 50 тыс. до 700 тыс. Процент оплодотворения варьирует в широких пределах — от 6 до 98.

3. При более низкой температуре воды самки калкана выделяют больше порций и большее количество яиц в порциях.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Воробьева Н. К., Таликина М. Г. Результаты исследования биологии размножения черноморской камбалы-калкана. — В сб.: Биология промысловых рыб и беспозвоночных на ранних стадиях развития. (Тезисы докладов Всесоюзной конференции). Мурманск, 1974, с. 43—45.

Воробьева Н. К., Таликина М. Г., Золотницкий А. П. Исследование созревания черноморской камбалы-калкана в экспериментальных условиях. — «Биологические основы аквакультуры», вып. 1. Киев. «Наукова думка», 1975.

Кротов Л. В. Плодовитость некоторых промысловых рыб северо-западной части Черного моря. — «ДАН СССР», 1941, т. 13, № 2, с. 162—163.

Попова В. П. Об искусственном разведении черноморской камбалы-калкана. — «Рыбное хозяйство», 1969, № 5, с. 16—17.

Таликина М. Г., Воробьева Н. К. Особенности созревания и характер икрометания черноморской камбалы-калкана (*Scophthalmus maeoticus* Pallas) в связи с проблемой ее искусственного воспроизводства. — «Труды ВНИРО», 1975.

Results of the analysis of maturation of females of the Black Sea turbot

N. K. Vorobyeva, M. G. Talikina

SUMMARY

The experiments were made to show a possibility of obtaining some portions of eggs from females which had maturing oocytes at the moment of delivery.

The maturation rate depends on the initial state of oocytes and temperature at which spawners were maintained. When the temperature is very close to the spawning temperature the number of batches and the number of eggs in each batch is bigger than at higher temperatures.

УДК 597.587.9:597—116

**ИССЛЕДОВАНИЕ ГОНАДОТРОПНОЙ ФУНКЦИИ ГИПОФИЗА
КАМБАЛЫ-КАЛКАНА****Золотницкий А. П., Моисеева Е. Б.**

Для характеристики гонадотропной функции гипофиза рыб может быть использован анализ изменений массы гипофиза в течение репродуктивного цикла (Моисеева, 1972; Woodhead, 1971).

Задача предлагаемого исследования — изучить динамику массы гипофиза самцов и самок камбалы-калкана в течение полового цикла и оценить гонадотропную активность желез путем их тестирования на амфибиях и выюнах.

Материал собирали ежемесячно в течение 1973—1974 гг. в районе Анапы в рейсах экспедиционных судов АзЧерНИРО. Рыб, выловленных донным тралом, подвергали полному биологическому анализу. Стадии зрелости половых желез оценивали визуально, используя указания М. Г. Таликиной (1974). Кроме того, вычисляли значения гоносоматического индекса (процентное отношение массы гонад к массе туши). Возраст неполовозрелых рыб (определенный по отолитам*) был равен 2—6, половозрелых — 5—10 годам.

Гипофиз камбалы извлекали вместе с мозгом после забоя рыбы и выдерживали в двух порциях охлажденного ацетона. В передней части мозга удаляли зрительные нервы и обонятельные тракты (до уровня *bulbus olfactorius*), в задней — отсекали там, где продолговатый мозг переходит в спинной. Пробы помещали в эксикатор на 24 ч при комнатной температуре. Затем гипофиз отделяли от мозга и взвешивали на аналитических весах с точностью до 0,1 мг. Вычисляли процентное отношение массы гипофиза к массе мозга, которое обозначали как гипофизарно-мозговой индекс (ГМИ) и обрабатывали статистически. Исследовали изменения средних значений ГМИ у неполовозрелых самок и самцов камбалы-калкана, а также у рыб с гонадами на II, III, IV, V, VI—II стадиях зрелости, определяли ошибки средних и критерий достоверности разницы двух средних величин (Плохинский, 1961).

Гонадотропную активность гипофизов камбалы определяли в марте 1973 г. и в феврале—марте 1974 г. в аквариальной АзЧерНИРО. В качестве тест-объектов были взяты самцы травяной *Rana temporaria* и озерной *Rana ridibunda* лягушек, а также зимующие самки выюна *Misgurnus fossilis*. Действие гонадотропных гормонов гипофиза на половые железы тест-животных оценивали по реакции спермиации у амфибий и овуляции зрелых яиц у выюнов.

* Возраст рыб определен сотрудницей лаборатории промысловой ихтиологии АзЧерНИРО Т. В. Винарик.

Самцам амфибий за 5—6 дней до опыта с гипофизами камбалы вводили хорионический гонадотропин человека (ХГ) в дозе 25 м. е. на особь. Наличие спермиев в клоаке проверяли в течение 3 ч (через каждый час) после введения препарата. Лягушек, не ответивших на указанную дозу ХГ, выбраковывали, ответивших — брали в опыт. Подобным образом оценивали действие различных доз гипофизарных препаратов камбалы. В опытах с гипофизами камбалы каждую амфибию использовали только один раз. Температура воздуха в помещении была равна 13—14° С.

Самок вьюна взвешивали и разделяли на группы с классовым промежутком в 10 г. Каждой рыбке внутримышечно вводили по 0,2 мл гипофизарной суспензии, приготовленной следующим образом. Перед началом каждого опыта 2—7 ацетонированных гипофизов, взятых от рыб на одинаковой стадии зрелости, растирали в порошок, необходимую дозу которого разводили в физиологическом растворе и сразу использовали. Контрольным вьюнам вводили по 0,2 мл физиологического раствора. Температура воды в аквариумах в течение опытов была 13—14° С. Действие гипофизарного материала на тест-животных проверяли через 48—72 ч после инъекции. Об активности гипофиза судили по минимальной дозе вводимого препарата, которая через 72 ч после введения вызывала овуляцию зрелых яиц у 100% опытных рыб. Качество икры оценивали по результатам осеменения. Во всех случаях независимо от дозы и вида гипофизарного препарата зрелые яйца развивались нормально; выклев личинок был дружным.

Клетки гипофиза костистых, связанные с гонадотропной функцией, у неполовозрелых рыб развиты весьма слабо или совсем не развиты (Rickford & Atz, 1957; Van Oordt, 1968; Моисеева, 1973). Средняя масса гипофиза у неполовозрелых рыб, например у бычка-кругляка, в течение года практически не изменяется (Моисеева, 1972). С учетом этого за начальную точку сравнительного анализа принято значение гипофизарно-мозгового индекса у неполовозрелых рыб.

ГМИ у неполовозрелых рыб обоего пола значительно ниже, чем у половозрелых (табл. 1).

По мере роста и развития половых желез одновременно с увеличением ГСИ возрастает величина гипофизарно-мозгового индекса. Максимальной массы гипофиз достигает у рыб на V стадии зрелости, причем у самок увеличивается как ГМИ, так и масса половых желез, у самцов же на V стадии зрелости гипофизарно-мозговой индекс продолжает возрастать, тогда как ГСИ снижается по сравнению с рыбами на IV стадии. По-видимому, этот факт связан с частичным выведением спермы у самцов на V стадии зрелости. Уменьшение массы семенников в V стадии зрелости отмечено у многих видов рыб (Турдаев, 1972; Стим и др., 1973).

У отнерестившихся самок и самцов с гонадами на VI—II стадии значения ГМИ ниже, чем у рыб в преднерестовом состоянии. Масса половых желез у этих рыб существенно уменьшается.

После завершения резорбции фолликулов и невыметанных яиц половые железы самок переходят во II стадию зрелости, масса гипофиза и гонад у рыб на этой стадии продолжает снижаться (см. табл. 1).

Таким образом, как у самок, так и у самцов камбалы-калкана в течение годичного полового цикла масса гипофиза изменяется, что тесно коррелирует со степенью развития половых желез. Поскольку в течение репродуктивного цикла зона гонадотропных клеток гипофиза изменяется наиболее существенно (Моисеева, 1973; Вагг, 1968), мы предположили, что изменения ГМИ отражают главным образом изменения гонадотропной функции гипофиза и могут служить показателем

Таблица 1

Изменение гипофизарно-мозгового (ГМИ) и гоносоматического (ГСИ) индексов камбалы-калкан в течение полового цикла *

Стадии зрелости половых желез	Встречаемость стадий зрелости по месяцам	Число проанализированных рыб	ГМИ ($M \pm m$), %	ГСИ ($M \pm m$), %
Неполовозрелые рыбы	Круглогодично	23	$8,03 \pm 0,29$	$0,39 \pm 0,05$
		28	$5,91 \pm 0,28$	$1,39 \pm 0,15$
II—III, III	Сентябрь — февраль	21	$15,23 \pm 0,49$	$0,70 \pm 0,06$
	Декабрь — март	23	$9,44 \pm 0,35$	$3,87 \pm 0,29$
III—IV, IV	Декабрь — апрель	23	$24,61 \pm 0,76$	$1,16 \pm 0,16$
	Февраль — апрель	31	$11,07 \pm 0,29$	$13,11 \pm 0,73$
IV—V, V	Март — июнь	25	$37,21 \pm 1,60$	$0,76 \pm 0,06$
		17	$13,80 \pm 0,52$	$23,71 \pm 0,95$
VI—II	Апрель — август	34	$25,69 \pm 1,70$	$0,39 \pm 0,01$
	Май — сентябрь	41	$11,79 \pm 0,29$	$3,80 \pm 0,15$
II	—	—	—	—
	Октябрь — ноябрь	32	$8,02 \pm 0,22$	$2,29 \pm 0,21$

* Во всех случаях достоверность разницы между исследованными показателями, взятыми на предыдущей и последующей станциях, $P < 0,01$.

Примечание. Здесь и в табл. 3 и 4 в числителе — самцы, в знаменателе — самки.

функционального состояния железы на разных стадиях полового созревания и нереста. Для проверки этого была оценена активность гипофиза камбалы на самцах травяной и озерной лягушек. В качестве контрольных препаратов для проверки чувствительности амфибий к гонадотропным препаратам служили хорионический гонадотропин человека (ХГ) и гипофиз сазана IV стадии зрелости. Для контроля присутствия гонадотропного фактора в гипофизах камбалы использовали выюнов.

Из табл. 2, в которой приведены результаты опытов, видно, что гипофизный материал камбалы ни в одном опыте не вызывал реакции спермиации у самцов амфибий обоих видов, в то время как препараты гипофиза сазана, взятые даже в более низких дозах, чем препараты гипофиза камбалы, во всех случаях приводили к положительному результату. ХГ также индуцировал спермиальную реакцию у озерной лягушки. Положительный эффект в опытах с ХГ и гипофизами сазана свидетельствует о нормальной способности использованных тест-объектов реагировать на гонадотропные препараты. Несспособность гипофизарного материала камбалы вызывать спермиальную реакцию у амфибий, по-видимому, вызвана специфичностью гонадотропного фактора данного вида рыб.

Введение суспензии гипофизов камбалы выюнам показало, что отрицательные результаты, полученные на амфибиях, не связаны с отсутствием в гипофизе камбалы гонадотропной потенции. Во всех случаях инъектирования гипофизарных препаратов камбалы выюнам была получена овуляция зрелых яиц. При этом, как видно из таблицы, в большинстве опытов дозы гипофиза камбалы, введенные выюнам, были гораздо ниже, чем дозы, полученные лягушками.

Таблица 2

**Влияние инъекций гипофизарных препаратов камбалы
на самцов амфибий и самок вынона**

Гонадотропный препарат	Доза на особь, мг	Число особей в опыте	Результат введения гонадотропного препарата*
Травяная лягушка			
Гипофизы самцов камбалы на V стадии зрелости	0,5 1,0	4 2	—
Гипофизы самок камбалы на III стадии зрелости	1,0 1,4	4 2	—
Гипофизы самок камбалы на IV стадии зрелости	0,7 0,9	2 3	—
Гипофизы сазана на IV стадии зрелости	0,5 0,7 1,0	2 2 5	++
Озерная лягушка			
Гипофизы самцов камбалы на III стадии зрелости	0,5 1,0 2,0 4,0 8,0	3 3 3 3 3	—
Гипофизы самцов камбалы на IV стадии зрелости	2,0 4,0 8,0	2 2 2	—
Гипофизы самцов камбалы на V стадии зрелости	1,0 2,0 4,0 12,2	3 3 2 2	—
Гипофизы самок камбалы на IV стадии зрелости	0,5 2,0 4,0 8,0	3 3 3 3	—
Озерная лягушка			
Гипофизы сазана на IV стадии зрелости	0,8 1,5	3 3	+
Хорионический гонадотропин человека	20 м. е. 25 м. е. 30 м. е.	3 2 2	++
Вынон			
Гипофизы самцов камбалы на стадии зрелости			
III	0,5	4	+
IV	0,5	4	+
V	0,75	4	+
Гипофизы самок камбалы на IV стадии зрелости	2,0	4	+

* Здесь и в табл. 3 «+» — положительная реакция; «—» — отсутствие реакции

Таким образом, существует не только видовая специфичность гонадотропных гормонов камбалы, но также и различия в чувствительности тест-животных, принадлежащих к разным классам позвоночных, к этим гормонам.

При оценке гонадотропной активности гипофиза камбалы использовали выюнов. Из приведенных в табл. 3 данных видно, что активность гипофизов рыб с гонадами в разных стадиях зрелости различна. Характер изменений гонадотропной активности при развитии половых желез у самцов и самок сходен. Наиболее низка активность гипофиза неполовозрелых рыб. Минимальная доза гипофиза неполовозрелых самцов, вызывающая овуляцию зрелых яиц у 100% тест-животных, была наиболее высокой (50 мкг/г массы тела) из всех испытанных доз гипофизарных препаратов. Доза же гипофиза для неполовозрелых самок, в два раза превышающая дозу для неполовозрелых самцов, вообще не вызывала никакой реакции у выюнов. Минимальная эффективная доза гипофизов самок в данной работе не была определена.

Развитие половых желез сопровождается увеличением активности гонадотропинов в гипофизе. Для индукции созревания и овуляции яиц у выюнов требуется в три раза меньшая доза гипофиза для самцов на III стадии зрелости, чем для неполовозрелых самцов. У самок и самцов на IV стадии зрелости уровень гонадотропной активности гипофиза достигает своего максимума. Камбалы, приступившие к нересту

Таблица 3

Результаты оценки гонадотропной активности гипофиза
камбалы-калкана на самках выюна

Гипофизы рыб	Доза тестируемого препарата к массе тела, мкг/г	Число рыб в опыте (в скобках) и результат введения гипофизарного препарата	Гипофизы рыб	Доза тестируемого препарата к массе тела, мкг/г	Число рыб в опыте (в скобках) и результат введения гипофизарного препарата
Неполовозрелых	33	(1) + (1) —	IV стадия	25	(4) +
	33	(2) —		80	(4) +
	50	(2) +		—	—
	50	(2) —		100	(4) +
	66	(2) +			
	100	(2) —			
III стадия	12	(4) + (4) —	V стадия	6	(4) —
	75	(4) —		100	(1) + (2) —
	17	(6) +		13	(4) —
	100	(4) —		150	(2) + (1) —
	25	(6) +		15	(4) +
	120	(2) +		21	(4) +
	—	—		—	—
	150	(2) +			
IV стадия	5	(2) + (1) —	VI-II стадия	—	—
	50	(4) —		100	(3) +
	12	(4) +		15	(2) +
	75	(1) + (3) —		—	—
				20	(4) +
				—	—

(V стадия), по-видимому, часть гонадотропных гормонов утрачивают. Гипофизы менее активны, чем у рыб на IV стадии. Гонадотропная активность гипофизов отнерестившихся камбал равна (или даже превышает) активность гипофизов нерестящихся рыб. Доза гипофизарного препарата для самцов на VI-II стадии зрелости, вызывающая овуляцию у выюнов, оказалась такой же, как и для рыб на V стадии, а доза гипофизов для самок того же состояния — более низкой, чем для самок на V стадии. Однако минимальные дозы гипофизов для самок на V и VI-II стадиях зрелости (табл. 3), индуцирующие положительный ответ, требуют дальнейшего уточнения.

Гипофизарно-мозговой индекс самцов и самок камбалы изменяется в течение полового цикла. Заметные вариации массы гипофиза, коррелирующие с состоянием половых желез, были отмечены и для других видов рыб (Woodhead, 1971; Моисеева, 1972). Изменения массы гипофиза лучше выражены у самцов, чем у самок. Значения ГМИ у самцов на всех проанализированных стадиях зрелости выше, чем у самок, что особенно четко выявляется при сравнении абсолютных значений массы гипофиза у одноразмерных и одновозрастных рыб (табл. 4).

Таблица 4

Сравнение абсолютных и относительных значений массы гипофиза у семилетних одноразмерных самцов (знаменатель) и самок (числитель) камбалы-калканы, взятых в преднерестовый и посленерестовый периоды репродуктивного цикла

Стадии зрелости половых желез	Число проанализированных рыб	Длина тела $M \pm m$, см	Масса тела $M \pm m$, кг	ГМИ $M \pm m$, %*	Масса гипофиза, $M \pm m$, мг*
IV	7	46,1 ± 0,88	3,7 ± 0,24	11,49 ± 0,93	5,3 ± 0,63
	6	44,8 ± 0,48	3,2 ± 0,18	23,42 ± 1,02	12,0 ± 0,94
V	7	42,2 ± 1,14	4,4 ± 0,49	13,83 ± 0,81	6,3 ± 0,59
	7	45,2 ± 1,06	3,2 ± 0,18	33,75 ± 2,18	17,1 ± 1,36
VI-II	6	45,3 ± 0,68	2,9 ± 0,20	11,52 ± 0,42	4,8 ± 0,31
	6	44,2 ± 0,48	2,5 ± 0,11	25,26 ± 0,38	12,8 ± 1,17

* Во всех случаях $P < 0,01$.

Несмотря на значительную разницу в величинах гипофизарно-мозгового индекса, динамика массы гипофиза на разных этапах полового созревания и нереста у камбал обоего пола сходна и аналогична динамике массы половых желез. Следовательно, изменения массы гипофиза в течение полового цикла в определенной степени связаны с гонадотропной функцией гипофиза. Результаты тестирования гонадотропной активности гипофиза камбалы на выюнах подтверждают это предположение.

У неполовозрелых рыб гонадотропная активность гипофиза, а также ГМИ и ГСИ имеют самые низкие значения (см. табл. 1, 3). В преднерестовый период репродуктивного цикла гонадотропная активность и масса гипофиза и гонад возрастают, при этом максимальные значения ГМИ и ГСИ наблюдаются у рыб на IV—V, V стадиях зрелости, а гонадотропной активности — у рыб на IV стадии. Эти данные, хорошо согласующиеся с результатами Синга (Singh, 1970) и Баранниковой (1949), позволяют предположить, что переходу рыб в состояние нереста предшествует выведение гонадотропина из гипофиза. Доказательство этому было недавно получено Кримом и другими исследователями (Crim et al., 1973), а также Бретоном и др. (Breton et al., 1972).

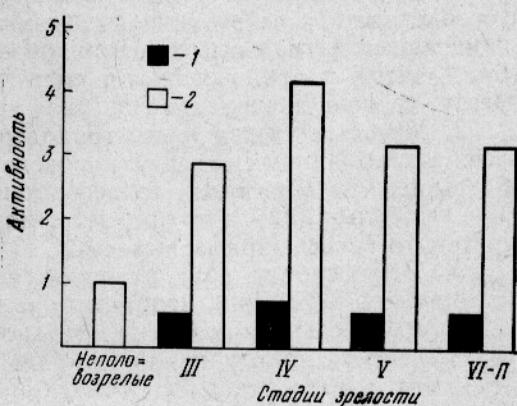
Однако до сих пор не установлено, каким образом гонадотропин влияет на наступление овуляции и переход рыб в нерестовое состояние. В литературе есть данные о влиянии других гипофизарных гормонов (помимо гонадотропных), а также и гормонов не гипофизарного происхождения на овуляцию и нерест у рыб (Pickford & Atz, 1957; Sage & Berg, 1971). Возможно, увеличение массы гипофиза у камбалы-калкана на IV—V, V стадиях зрелости (см. табл. 1), когда уровень гонадотропной активности железы снижается (см. табл. 3), связано с продолжающейся выработкой других гормонов гипофиза, необходимых для осуществления нереста. У единовременно нерестящегося бычка-мартовика в посленерестовый период мы наблюдали морфологические признаки истощения не только гонадотропных элементов, но также ряда железистых клеток, выполняющих различные функции: пролактиноподобную, адренокортиктропную, тиреотропную, меланофоротропную (Моисеева, 1973).

У отнерестившихся камбал с гонадами на VI—II стадии зрелости гонадотропная активность гипофизов оказалась равной (у самцов) или даже превышающая (у самок) активность нерестующих рыб. Масса гипофизов и гонад у этих рыб снизилась (см. табл. 1).

В литературе есть сведения как о снижении гонадотропной активности гипофиза сразу после нереста рыб (Гербильский, 1940; Баранникова, 1968; Barr & Hobson, 1964; Singh, 1970), так и о ее постепенном снижении (Гербильский, 1940). Кроме того, есть указания (Sundaragaj, 1959) на максимальный уровень гонадотропной активности во время нереста и в течение раннего посленерестового периода, а также о том (de Vlaming, 1972), что гипофизы бычка *Gillichthys mirabilis* с истощенными и развивающимися гонадами обладали равной потенцией в восстановлении сперматогенеза у гипофизэктомированных особей этого же вида.

Таким образом, высокие значения гонадотропной активности гипофиза, обнаруженные нами у отнерестившихся камбал, могут быть связаны с неоднородностью гипофизарного материала, взятого для тестирования. Выяснение уровня гонадотропной активности в отдельные месяцы посленерестового периода, вероятно, позволит уточнить полученные данные.

Гонадотропная активность гипофиза самцов камбалы на разных этапах репродуктивного цикла в несколько раз превышает активность самок (рисунок). Существование половых различий в гонадотропной активности гипофиза были отмечены многими исследователями рыб различных видов. Одни из них обнаружили большую гонадотропную активность в железах самок (Баранникова, 1949; Чистова, 1971; Ball, 1960; Ramaswami, 1962; Mester & Cristian, 1965; Blanc & Abraham, 1969), другие (Fontaine & Chauvel, 1961)—в гипофизах самцов, а третьи (Barr & Hobson, 1964) указали на отсутствие половых различий в ак-



Сравнение гонадотропной активности гипофиза самцов и самок камбалы-калкана на разных этапах полового цикла (активность гипофиза выражена в относительных единицах. За относительную единицу гонадотропной активности принята активность минимальной дозы гипофиза неполовозрелых самцов, вызывающая 100% ответ у тест-животных):

1 — самки; 2 — самцы.

тивности желез. Вероятно различия в гонадотропной потенции гипофизов самцов и самок камбалы-калкана связаны с различиями в массе гипофиза и отражают функциональные особенности репродуктивной системы мужских и женских особей данного вида рыб.

Выводы

1. Масса и гонадотропная активность гипофиза камбалы-калкана в течение роста и созревания половых желез, а также в период нереста изменяются. Самая высокая гонадотропная активность гипофиза у камбал, взятых в преднерестовом состоянии. У рыб, приступивших к нересту, уровень активности гипофиза снижается.

2. Масса гипофиза и его гонадотропная активность у самцов на всех исследованных стадиях полового созревания и нереста значительно выше, чем у самок. Это необходимо учитывать при сборе гипофизов камбалы-калкана и при стимуляции созревания и нереста рыб с помощью гипофизарных инъекций.

3. Тестирование гонадотропной активности гипофиза камбалы на самцах амфибий (*Rana temporaria* и *Rana ridibunda*) и самках вьюна (*Misgurnus fossilis*) позволило установить существование видовой специфичности гонадотропинов камбалы-калкана, а также различий в чувствительности тест-животных, принадлежащих к разным классам позвоночных (амфибиям и рыбам), к гонадотропным гормонам камбалы.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Баракникова И. А. Концентрация гонадотропного гормона в гипофизах самцов и самок севрюги на разных этапах полового цикла. — «ДАН СССР», 1949, т. 68, № 6, с. 1147—1150.

Воробьева Н. К. и Таликина М. Г. Результаты исследования биологии размножения черноморской камбалы-калкана. — В кн.: Биология промысловых рыб и беспозвоночных на разных стадиях развития. (Тезисы докладов Всесоюзной конференции). Мурманск, 1974, с. 43—45.

Гербильский Н. Л. Сезонные изменения гонадотропной активности гипофиза у рыб. — «ДАН СССР», 1940, т. 28, № 6, с. 571—573.

Моисеева Е. Б. Изменение веса гипофиза как показатель его функционального состояния на разных этапах полового цикла бычка-кругляка (*Gobius melanostomus* Pallas). — «Вопросы ихтиологии», 1972, т. 12, № 5, с. 875—879.

Моисеева Е. Б. Морффункциональная характеристика гипофиза бычков *Gobius batrachocephalus* Pall. и *G. melanostomus* Pall. в связи с особенностями их типов. Автореферат кандидатской диссертации. Л., 1973, 28 с.

Плохинский Н. А. Биометрия. Новосибирск. Изд-во Сибирского отделения АН СССР, 1961. 362 с.

Таликина М. Г. Овогенез и половой цикл черноморской камбалы *Scophthalmus maeoticus maeoticus* (Pallas). — «Вопросы ихтиологии», 1974, т. 14, вып. 3 (86), с. 436—444.

Турдаков А. Ф. Воспроизводительная система самцов рыб. М., «Илим», 1972.

Чистова М. Н. Гормональное действие на темп вителлогенеза и плодовитость тилапии (*Tilapia mossambica* Peter). — «ДАН СССР», 1971, т. 200, № 6, с. 1479—1482.

Ball J. N. Reproduction in female bony fishes. Symp. Soc. London, 1, 1960, p. 106—135.

Barr W. A. Patterns of Ovarian Activity. In Perspectives in Endocrinology, New York, London, 1968, p. 164—237.

Barr W. A., Hobson B. M. Endocrine control of the sexual cycle in the plaice (*Pleuronectes platessa*) IV. Conadotrophic activity of the pituitary gland. Gen. and Compar. Endocrinol., 4, 1964, p. 608—613.

Blanc-Livni N., Abramam M. Aspects endocriniens de la reproduction chez *Mugil* (Teleostei) en relation avec l'habitat d'eau de mer. Verh. Internat. verein. Limnol., 17, 1969, p. 625—629.

Breton B., Billard R., Jalabert B., Kann G. Dosage radioimmuno-logique des gonadotropines plasmatiques chez *Carassius auratus* au cours du nycthémère et pendant l'ovulation. *Gen. and Compar. Endocrinol.*, 1972, 18, p. 463—468.

Crim L. W., Meyer R. K., Donaldson E. M. Radioimmunoassay estimates of plasma gonadotropin levels in the spawning pink salmon. *Gen. and Compar. Endocrinol.*, 1973, 21, 1, p. 69—76.

Fontaine M., Chauvel M. Evaluation du pouvoir gonadotrope de l'hypophyse des poissons téléostéens, et en particulier du *Salmo salar* L. à diverses étapes de son développement et de ses migrations. *C. R. Acad. Sci., Paris*, 252, 1961, p. 822—825.

Mester R., Cristian A. Variatia continului in hormon gonadotrop al hipofizei de crap (*Cyprinus carpio* L.). *Bull. inat. de cerc. si proiect piscicol.* 24, 1965, 3—4, p. 85—93.

Pickford G. E., Atz J. W. The physiology of the pituitary gland of fishes. *New York Zool. Soc.*, 1957, 607 p.

Reinboth R. Hormonal control of the teleost ovary. *Am. Zool.*, 12, 1972, p. 307—324.

Ramaswami L. S. Endocrinology of the reproduction in fish and frog. *Gen. and Compar. Endocrinol.*, 1, 1962, p. 286—299.

Sage M., Bern H. A. Cytophysiology of the teleost pituitary. *Intern. Rev. Cytol.*, 31, 1971, p. 339—376.

Singh T. P. Seasonal variations in the cyanophils and gonadotropic potency of the pituitary in relation to gonadal activity in the catfish, *Mystus vittatus* (Bloch.). *Endocrinology*, 56, 1970, p. 292—303.

Sundararaj B. I. A study on the correlation between the structure of the pituitary gland of the Indian catfish (*Heteropneustes*) and the seasonal changes in the ovary. *Acta Anat.*, 1953, 37, p. 47—80.

Van Cordt, P. G. W. J. The hormone producing cells in the pituitary gland of lower vertebrates. In *Perspectives in Endocrinology 1968*, New York, London, Acad. Press, p. 405—460.

Vlaming V. L. The role of the endocrine system in temperature-controlled reproductive cycling in the estuarine Gobid fish (*Gillichthys mirabilis*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 1972, 41 A, p. 697—713.

Woodhead P. M. J. Relationship of a pituitary size to body weight in cod (*Gadus morhua*). *Gen. and Compar. Endocrinol.*, 1971, 16, 1, pp. 160—161.

Investigations of the gonadotropic function of hypophysis in turbot

A. P. Zolotnitsky, E. B. Moiseeva

SUMMARY

The investigations of the gonadotropic activity of hypophyses in turbot (*Scophthalmus maeoticus* Pallas) within the reproductive cycle using the method of weight analysis and biological tests with amphibians and loach indicate a correlation relationship between the weight of the hypophysis and stage of development of gonads. The weight and activity of hypophyses in immature specimens differ very much from those in mature specimens. The maximum activity is observed in specimens at stage IV collected in the pre-spawning period. The heaviest weight of the hypophysis is found in specimens at stage IV—V and V. The weight and gonadotropic activity are always higher in males at all stages of maturity.

УДК 597.587.9:597—116

ПОЛУЧЕНИЕ ЗРЕЛЫХ ЯИЦ И ЛИЧИНОК ГЛОССЫ ОТ ИНТАКТНЫХ САМОК

Гнатченко В. Ф.

Одним из объектов искусственного разведения (для лиманных хозяйств) может быть глосса — *Platichthys flesus luscas* (Pallas). В Азо-во-Черноморском бассейне глосса — южный подвид речной камбалы — заселяет шельфовую зону до глубины 160 м, северный — Сиваш и другие лиманы как связанные с морем, так и изолированные. Широкое распространение глоссы обусловлено ее биологическими особенностями. Этот вид легко приспособливается как к водам с высокой соленостью (до 60%), так и к опресненным водам (Пузанов, 1954; Зайцев, 1955), приспособлен к жизни на илистых грунтах, а также на грунтах с высоким содержанием сероводорода (Пузанов, 1954).

Глосса плодовита — от 82 тыс. до 2751 тыс. икринок (Хоросанова, 1949; Зайцев, 1952; Замбриорщ, 1956; Назаров и Чепурнова, 1969). Черноморская глосса впервые нерестится на третьем—четвертом году жизни, а лиманная — даже на втором. По характеру созревания она относится к рыбам с прерывистым типом роста ооцитов и многопорционным выметом икры (Овен, 1967). Нереститься глосса может в воде соленостью от 10—12 до 50—60% при температуре от 0 до 15°С. В эксперименте лучшие результаты оплодотворения получены в воде соленостью 31—32% (Зайцев, 1955). На ранней стадии эмбриогенеза икра лиманной глоссы требует для своего развития температуру не выше 12—13°С (Зайцев, 1956). Нормально развиваться черноморская глосса может при температуре до 20°С (Водяницкий, 1936). Следовательно, глосса может оказаться подходящим объектом для зарыбления лиманов повышенной солености, в прудах с соленой водой, а также в хозяйствах, специализирующихся на выращивании кефалей.

Согласно литературным данным (Дрягин, 1949; Овен, 1967, 1970) и нашим наблюдениям, самки глоссы могут созревать в экспериментальных условиях, однако, естественного нереста при этом не происходит, и если от созревших особей не отцеживать икру, они, как правило, погибают.

Задачи исследований были следующими: выяснить, является ли объем аквариумов одним из определяющих факторов для осуществления естественного нереста самок глоссы при длительном выдерживании; получить несколько порций зрелой икры и личинок от самок с половыми железами на IV—V стадии зрелости.

Работа выполнена на 98 самках и самцах камбалы-глоссы в декабре—январе 1972—1973 гг., доставляемых с Анапской банки на судах типа СРТ в брезентовых ванночках размером 50×50×25 см, в кото-

рых периодически меняли воду. Рыб с гонадами на незавершенной IV стадии зрелости содержали при температуре 7—11°С и солености 13,8—16,3‰ в аквариумах емкостью 0,06 м³ по три самца и три самки, емкостью 0,15 м³ — по четыре самки и три самца, емкостью 1,5 м³ — по девять самок и семь самцов. При длительном выдерживании рыб кормили мясом мидий.

Самок с гонадами на IV—V и V стадии зрелости содержали в аквариумах емкостью 0,3 м³ при температуре 9—12°С и солености 13,8—16,3‰. Самцов содержали отдельно в аквариумах емкостью 0,15 м³. В течение опыта рыб не кормили.

Исходное состояние рыб оценивали на основе анализа щуповых проб (под бинокуляром), измеряя размерный ряд 50 ооцитов. Икру и сперму созревших производителей периодически отцеживали. Количество икры определяли объемным методом, качество — визуально по всплываемости ее в воде соленостью 19‰.

Осеменяли икру «полусухим» способом через несколько минут после получения половых продуктов. Проведено 86 опытов по оплодотворению икры, полученной от 16 интактных самок глоссы. Икру инкубировали в трехлитровых емкостях в воде соленостью 19‰ при температуре 13 и 15°С. Количество выклонувшихся личинок подсчитывали после фиксации 2%-ным формалином в камере Богорова.

Созревание самок глоссы в емкостях разных объемов. От самок, выдерживаемых в аквариумах емкостью 0,06 м³, через 30 дней были взяты щуповые пробы. Ооциты увеличились на 100—140 мкм. Через 10 дней после этого в гонадах началась массовая резорбция. Опыт был прекращен.

У самок, которых содержали в аквариумах емкостью 0,15 и 1,5 м³, к 15-му дню сильно вздулись гонады. К 25-му дню все самки из аквариума емкостью 0,15 м³ созрели, однако ни одна из рыб не выметала икру. К 29-му дню большинство самок погибло, и опыт был прекращен.

В пробе воды из аквариума емкостью 1,5 м³ через 25 дней выдерживания производителей была обнаружена зрелая икра. Нерест самок продолжался в аквариуме ежедневно в течение 7 дней. В утренних пробах воды живая икра всегда была активирована. После смены воды в течение дня икру в пробах не наблюдали. Видимо, нерестилась глосса ночью. Самцы, вероятно, участия в нересте не принимали, так как ни в одной из просмотренных проб оплодотворенной икры отмечено не было.

Таким образом, нормальное созревание и икрометание самок глоссы в эксперименте возможны только при содержании рыб в больших емкостях (не менее 1,5 м³ при плотности посадки не больше одной особи на 100 л воды).

Получение нескольких порций икры и спермы от созревающих рыб. В опыте участвовали 16 самок и 27 самцов глоссы с гонадами на IV—V стадии зрелости у самок и V стадии зрелости у самцов.

Из результатов наблюдений над самками в течение 47 дней, представленных в таблице, видно, что от большинства самок получено по 4—6 порций икры, а от первой самки отцежено 17 порций. У большинства самок очередная порция икры созревала через 18—24 ч, у остальных — через 42—48 ч. У разных особей число икринок в одной порции варьировало от 25 тыс. до 38 тыс. Сперму отцеживали регулярно через 2—3 дня. В течение месяца от одного самца получали от 5 до 15 порций спермы.

Качество зрелой икры определяли по проценту выклева нормальных личинок. Личинки выклевывались на четвертые (при температуре 15°С) и пятые (при температуре 13°С) сутки. Средний процент

**Созревание интактных самок глоссы в экспериментальных условиях
(доставлены 12 декабря и 6 января 1972—1973 гг.)**

Дата выделения первой порции	Число выделенных порций	Частота выделения порций, ч	Общее количество выделенной икры, тыс. шт.	Выклев нормальных личинок, %	Дата выделения первой порции	Число выделенных порций	Частота выделения порций, ч	Общее количество выделенной икры, тыс. шт.	Выклев нормальных личинок, %
Декабрь					Январь				
13	17	18—42	193,0	33	8	6	18—24	41,8	34
13	7	18—24	46,0	49	8	4	18—48	32,7	40
13	6	18—24	39,0	32	8	5	18—48	52,5	24
14	4	18—48	12,0	55	8	6	18—48	48,6	15
14	2	18—24	37,9	—*	8	4	48	46,0	25
15	4	48	17,4	38	8	5	18—24	29,3	56
13	5	18—24	48,0	—	8	4	48	34,1	20
18	5	18—24	45,9	—	8	3	48	43,0	59

* Выклева нормальных личинок не получено.

выклева личинок от икры интактных самок составил 37, максимальный выклев — 59 %.

Таким образом, от интактных производителей глоссы, доставляемых в декабре — январе на IV—V, V стадии зрелости, можно получать в эксперименте несколько порций качественных половых продуктов и нормальных личинок.

Выводы

1. Самки глоссы, имеющие половые железы на незавершенной IV стадии зрелости, после длительного выдерживания и кормления нормально созревают и нерестятся только при содержании рыб в аквариумах больших объемов.

2. Самки глоссы с гонадами на IV—V стадии зрелости, доставляемые в нерестовый период, созревают в эксперименте на 2—3 сутки при температуре 8—13°C, и от них можно получать несколько порций зрелой икры. Общее число яиц в порциях — от 2,5 до 38 тыс.

3. От самцов глоссы, доставляемых на IV—V, V стадиях зрелости, можно получать несколько порций спермы хорошего качества.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Водянищий В. А. Наблюдения над пелагическими яйцами рыб Черного моря. — «Труды Севастопольской биологической станции», 1936, т. 5, с. 3—40.
- Воробьев В. П. Гидробиологический очерк восточного Сиваша и возможность рыбохозяйственного использования. — «Труды АзЧерНИРО», 1940, вып. 12, ч. 1, с. 69—164.
- Дрягин П. А. Половые циклы и нерест рыб. — «Известия ВНИОРХ», 1949, т. 28, с. 3—14.
- Зайцев Ю. П. Наблюдение за развитием икры камбалы-глоссы (*Platichthys flesus luscus* Pallas) в Хаджибейском лимане. — «ДАН СССР», 1952, т. LXXXVII, № 1, с. 151—154.
- Зайцев Ю. П. Влияние солености воды на развитие икры камбалы-глоссы. — «ДАН СССР», 1955, т. 105, № 6, с. 1364—1367.
- Зайцев Ю. П. К изучению развития пелагической икры в воде разной солености. — «Вопросы экологии», 1957, № 1, с. 219—224.
- Замбриборщ Ф. С. Влияние условий жизни на возраст, рост и размножение камбалы-глоссы (*Platichthys flesus luscus* Pall.) Хаджибейского лимана. — «ДАН СССР», 1956, т. 109, № 5, с. 1041—1045.
- Назаров В. М., Чепурнова Л. В. Приспособительные особенности экологии размножения и полового цикла глоссы северо-западной части Черного моря и прилегающих лиманов. — «Вопросы ихтиологии», 1969, т. 9, № 6, с. 1133—1135.

Овен Л. С. О размножении черноморской глоссы *Platichthys flesus luscus* (Pallas). — «Вопросы ихтиологии», 1967, т. 7, № 1, с. 94—100.

Овен Л. С. Половые циклы и характер икрометания черноморских рыб. — В кн.: Размножение и экология массовых рыб Черного моря на ранних стадиях онтогенеза. Киев, «Наукова думка», 1970, с. 35—58.

Пузанов И. И. О некоторых изменениях морских организмов, попавших в соленые лиманы. — «Бюллетень Московского общества испытателей природы», 1954, т. 59, вып. 4, с. 23—31.

Хоросанова А. К. Биология глоссы Хаджибейского лимана. — «Зоологический журнал», 1949, т. 28, вып. 4, с. 351—354.

Incubation of mature eggs and rearing of larvae from intact females of Platichthys flesus luscus (Pallas)

V. F. Gnatchenko

SUMMARY

The investigations of possibilities of obtaining some portions of mature sexual cells from females at stage IV—V and from males at stage V of maturity indicate that a total of 5—17 portions of mature eggs can be obtained from a female and 5—15 portions of sperm of good quality from males.

Females with gonads on stage IV can mature and spawn after long-term conditioning and feeding only in large aquaria.

УДК 597.585.1:597—116

АНАЛИЗ ФОРМИРОВАНИЯ РАЗНЫХ ПОРЦИЙ ЯИЦ У АЗОВСКОГО БЫЧКА-КРУГЛЯКА (*GOBIUS MELANOSTOMUS PALLAS*)

Куликова Н. И., Фандеева В. Н.

Ранее установлено, что самки бычка-кругляка выметывают за нерестовый сезон до шести порций икры.

Цель настоящего исследования — сравнить особенности роста и созревания яйцеклеток кругляка при формировании отдельных порций яиц; скорость прохождения ооцитами последовательных фаз в периоде трофоплазматического роста и скорость созревания при разных температурах.

В середине апреля 1973 г. в аквариальную АзЧерНИРО были доставлены из Казантипской бухты самки (2+) длиной 45—90 см и самцы кругляка в преднерестовом состоянии. При температуре 16°С 18—20 апреля прошел массовый нерест рыб. Каждую отнерестившуюся самку метили, отмечали дату и продолжительность нереста. Около 60 отнерестившихся рыб рассадили в аквариумы из оргстекла емкостью 60—90 л по 10 самок и 2—3 самца. Методика содержания, кормления и ухода за рыбами была аналогична описанной ранее (Куликова, Фандеева, 1975).

Для получения данных об особенностях формирования порций яиц при разных температурах анализировали яичники рыб, забиваемых каждые три дня (от момента вымета порции до следующего икрометания). Анализ формирования второй и третьей порций проводили на рыбах, содержащихся при температуре 15—17°С, четвертой — при 18—21°С. Сравнивали особенности роста и созревания ооцитов второй и четвертой порций.

В течение всего опыта дважды в день измеряли температуру воды в аквариумах с точностью до 0,1°С. Время формирования обеих порций яиц выражали в градусо-днях.

Проводили полный биологический анализ забиваемых самок (по три рыбы на каждую точку), определяли гоносоматический индекс (ГСИ). Кусочки яичников фиксировали в жидкости Буэна. Гистологическую обработку материала проводили по общепринятой методике (Ромейс, 1953). Срезы толщиной 5—7 мкм окрашивали железным гематоксилином по Гейденгайну. На серийных срезах измеряли диаметры клеток и ядер всех фаз периода трофоплазматического роста (по 5—10 клеток). Средние значения диаметров ядер и ооцитов каждого определенного состояния находили из суммарных вариационных рядов, используя методы вариационной статистики (Плохинский, 1961). Каждый вариационный ряд строили на основании 150—200 промеров.

В яичниках отнерестившегося кругляка на разных этапах созревания очередной порции яиц присутствуют резорбирующие постовуляторные фолликулы, ооциты разных фаз периода протоплазматического и трофоплазматического роста.

При описании материала мы использовали выделенные ранее совместно с В. С. Апекиным фазы развития ооцитов: 1) начала вакуолизации цитоплазмы; 2) интенсивной вакуолизации цитоплазмы; 3) завершенной вакуолизации и начала отложения желтка; 4) интенсивного желткообразования; 5) наполненного желтком ооцита.

Состояние ооцитов кругляка в процессе роста и созревания второй порции яиц. ГСИ рыб, выметавших первую порцию яиц, составляет в среднем 4,48. Оболочка яичника сильно утолщена. Клетки лежат рыхло, видно большое количество пустых фолликулов и ооцитов разных фаз периода малого роста. Ооциты периода трофоплазматического роста представлены в основном клетками фазы завершенной вакуолизации и начала накопления желтка и ооцитами фазы интенсивного желткообразования.

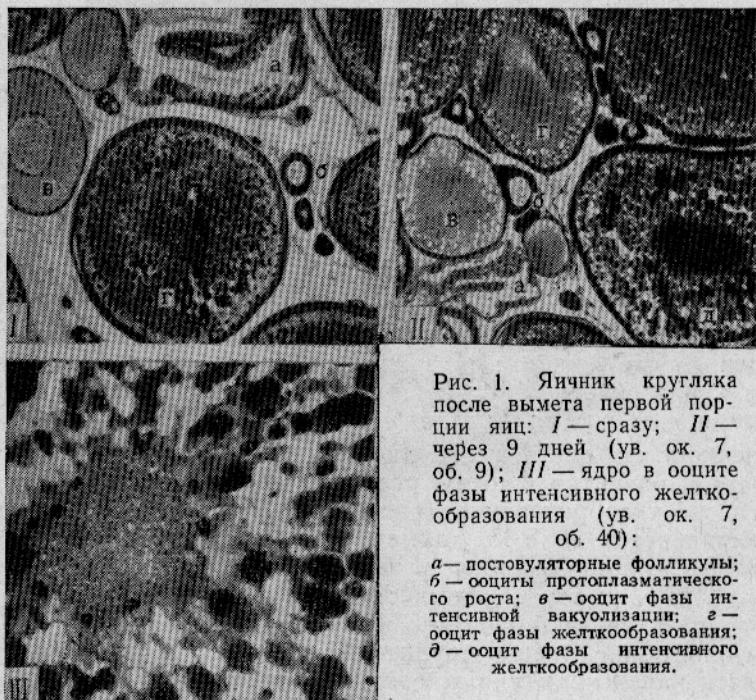


Рис. 1. Яичник кругляка после вымета первой порции яиц: I — сразу; II — через 9 дней (ув. ок. 7, об. 9); III — ядро в ооците фазы интенсивного желткообразования (ув. ок. 7, об. 40):

a — постовуляторные фолликулы; *b* — ооциты протоплазматического роста; *c* — ооцит фазы интенсивной вакуолизации; *d* — ооцит фазы желткообразования; *e* — ооцит фазы интенсивного желткообразования.

кообразования (рис. 1). Диаметры клеток — 607—690 мкм, их ядер — 145—150 мкм. Желток ооцитов фазы начала желткообразования имеет вид темноокрашенных пылевидных гранул, появляющихся по всей площади цитоплазмы. В ооцитах фазы интенсивного вителлогенеза гранулы желтка двух типов — светло- и темноокрашенные, имеют четкую морфологическую структуру. В большинстве случаев эти гранулы овальные, порой радиально вытянутые, реже — округлые.

В ооцитах рыб, забитых сразу после нереста, светлые гранулы преобладают. В них хорошо прослеживаются темноокрашенные участки, что, возможно, связано с разным химическим составом содержимого гранул желтка. Ядра расположены в центре клетки. В них насчитывается до 12 ядрышек, разных по форме и размеру, расположенных по периферии кариоплазмы; 2—3 ядрышка обычно расположены в

центре ядра. Ядро окружено зоной темноокрашенной цитоплазмы, свободной от включений. Хорошо видна радиальная исчерченность оболочки ооцита. Над ней лежит слой кубических по форме клеток фолликулярного эпителия.

В течение девяти дней (134,9 градусо-дней) после нереста постепенно резорбируются фолликулы, растут ооциты формирующейся порции и в них накапливаются трофические элементы. ГСИ самок увеличивается до 5,12. Ооциты старшей генерации развиваются асинхронно. К концу периода преобладают половые клетки в стадии интенсивного желткообразования диаметром 1115 ± 20 мкм (диаметр их ядер 134 ± 5 мкм), но много и ооцитов меньших размеров ($626-757$ мкм) с различной степенью интенсивности вителлогенеза (см. рис. 1, II). В наиболее развитых ооцитах цитоплазма заполнена в основном темноокрашенными гранулами желтка, различными по величине и форме. В этот период, возможно, изменяется химическая природа белков желтка. В светлых гранулах увеличивается количество темноокрашенных участков; сами гранулы уплотняются. Наиболее крупные гранулы желтка расположены по периферии ооцита.

Увеличивается извилистость ядерной мембранны, кариоплазма становится более гомогенной, чем в ооцитах более ранних стадий развития. Количество ядрышек резко возрастает (в среднем до 37). Они тесно прилегают к ядерной оболочке, располагаясь в ее выступах. Некоторые ядрышки вакуолизированы; периферический участок в них плотный и темноокрашенный. Некоторые ядрышки выходят в цитоплазму (см. рис. 1, III). Эти изменения ядра и ядрышек, видимо, свидетельствуют об усилении активности ядерного аппарата в этот период вителлогенеза (Arndt, 1954; Yamamoto, 1956; Чмилевский, 1971).

В течение описываемого периода усиливается развитие клеточных оболочек: *zona radiata*, студенистой (появление которой отмечено на третий день после нереста) и фолликулярной. Клетки фолликулярной оболочки кубические, с крупным округлым, реже овальным ядром, с одним-двумя ядрышками.

В течение следующих шести дней (за 86 градусо-дней) асинхронность роста и развития ооцитов старшей генерации сглаживается. Завершается желткообразование (рис. 2). К 15-му дню после нереста ГСИ увеличивается до 8,35, диаметр крупных ооцитов возрастает до $1220-1524$ мкм. Диаметр ядер в таких яйцеклетках составляет $135-139$ мкм. Желток имеет вид темноокрашенных крупных глыбок и гранул, часто пластинчатой формы. По периферии ооцита желточные глыбки и пластинки гораздо крупнее. Там же, а иногда и вокруг ядра, наблюдается начало слияния желтка. Появление участков гомогенного желтка свидетельствует о завершении вителлогенеза и о достижении ооцитами дефинитивного состояния.

В таких ооцитах содержится максимум общего белка.

Ядра (как правило, фестончатой формы) расположены в центре, а иногда слегка смешены. Максимальное число ядрышек (41) отмечается на 12-й день после нереста (рис. 2, III). К 15-му дню их становится меньше почти вдвое, они укрупняются и несколько отходят от ядерной мембранны (см. рис. 2, II).

На 9-й день после нереста появляется выпячивание на анистомальном полюсе, в центральной зоне которого к 15-му дню уже формируется микропиле. Цитоплазма в области выпячивания анистомальной части ооцита содержит гранулы желтка разной величины: у периферии — более мелкие и светлоокрашенные, к центру — крупные, светло- и темноокрашенные.

Толщина оболочек ооцита увеличивается. Удлиненные темноокрашенные апикальные концы фолликулярных клеток располагаются между отростками студенистой оболочки. Ядра фолликулярных клеток, большей частью овальные, располагаются перпендикулярно к поверхности ооцита (см. рис. 2, V).

Созревание ооцитов, начинающееся с 15-го дня после нереста, завершается к 21-му дню (за 97,1 градусо-дней). ГСИ рыб достигает максимума (18,59). В течение этого периода наблюдаются постепенная

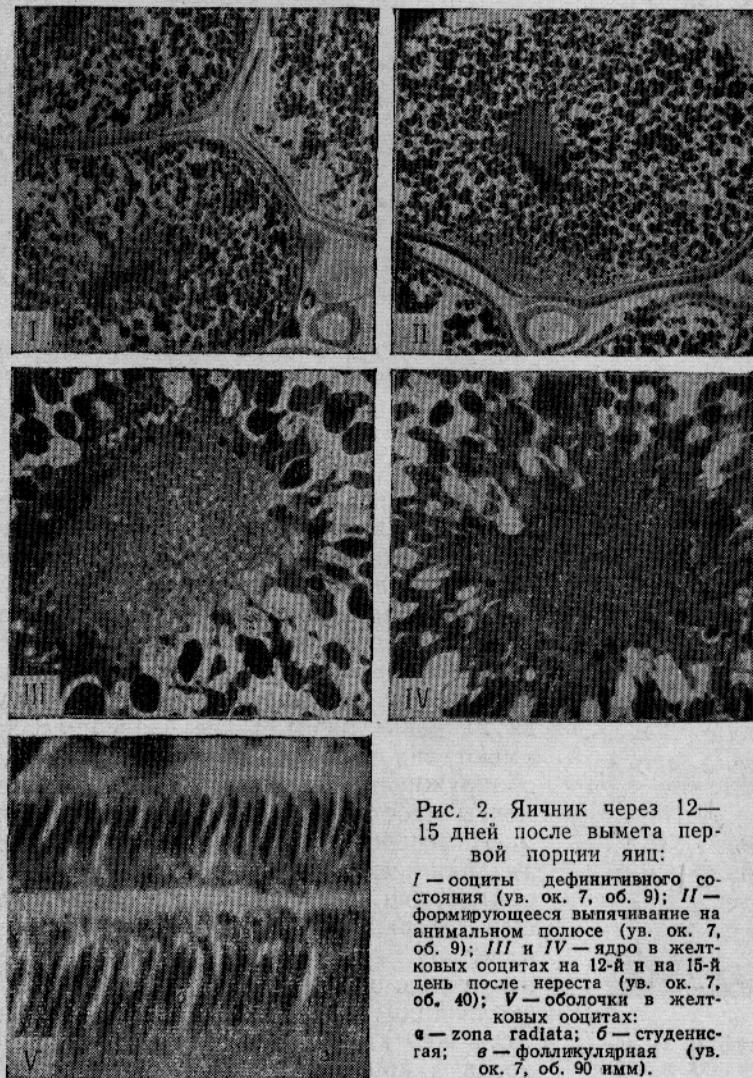


Рис. 2. Яичник через 12—15 дней после вымета первой порции яиц:

I — ооциты дефинитивного состояния (ув. ок. 7, об. 9); II — формирующееся выпячивание на анимальном полюсе (ув. ок. 7, об. 9); III и IV — ядро в желтковых ооцитах на 12-й и на 15-й день после нереста (ув. ок. 7, об. 40); V — оболочки в желтковых ооцитах:
а — zona radiata; б — студенистая; в — фолликулярная (ув. ок. 7, об. 90 нмм).

гомогенизация желтка, миграция ядра к анимальному полюсу и морфологические преобразования ядерного аппарата; эти процессы происходят параллельно (рис. 3).

Во время миграции ядра оболочка его становится менее четкой, количество ядрышек уменьшается. Мелкие ядрышки остаются на периферии, а крупные — перемещаются в центр ядра и сливаются. Кариоплазма становится грубозернистой.

К 21-му дню (в общей сложности за 318 градусо-дней) формирование зрелого ооцита завершается (рис. 4, a). Желток в такой яйце-

клетке слит в гомогенную массу. В ней присутствуют многочисленные округлые полости разной величины, заполненные каплями жира (Травкина, 1967). Цитоплазма узким слоем расположена на амниальном полюсе. Ядро как морфологическая структура уже не обнаруживается. В свободной от включений цитоплазме еще не овулировавших яйцеклеток видны фигуры I мейотического деления. Яйца овулируют на

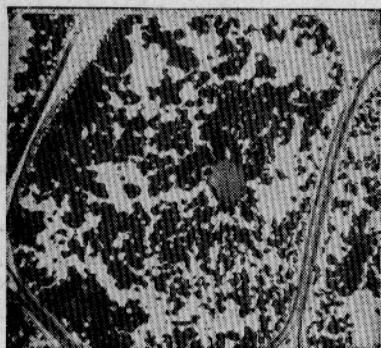


Рис. 3. Созревающие ооциты кругляка на 15—18-й день после вымета первой порции яиц (ув. ок. 7, об. 9).

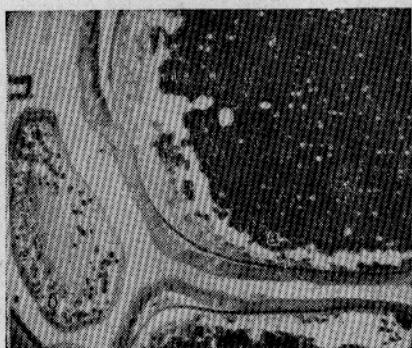


Рис. 4. Яичник кругляка на 21-й день после вымета первой порции яиц (ув. ок. 7, об. 9):
а — зрелое неовулировавшее яйцо; б — ооцит фазы начала желткообразования.

метафазе II деления созревания (рис. 5) на 21-й день после нереста. Нити прикрепления студенистой оболочки перемещаются с вегетативного полюса на амниальный, образуя султанчик прикрепления яйца к субстрату. Диаметр зрелого овулировавшего яйца равен 2120 ± 13 мкм.

Второй нерест бычков наблюдали на 21—23-й день после первого икрометания.

Резорбция постовуляторных фолликулов после первого нереста в яичниках кругляка за 21 день развития не завершается. Они имеют вид рыхлых образований, в которых обнаруживаются соединительнотканые элементы и остатки фолликулярных клеток.

Изменения в ооцитах разных фаз вакуолизации цитоплазмы при формировании второй порции яиц составляют основу следующей генерации половых клеток. Диаметр их в период роста ооцитов старшей генерации постепенно увеличивается (см. таблицу), вакуолизация интенсифицируется. Первые гранулы желтка в них появляются в тот период, когда в крупных клетках начинается слияние желтка, т. е. с 15-го дня после нереста. В яичниках с овулировавшими яйцами эти клетки находятся в фазе интенсивного желткообразования.



Рис. 5. Метафаза II деления созревания в зрелом овулировавшем яйце кругляка (ув. ок. 7, об. 90 имм).

Диаметр их составляет 674—743 мкм, ядер — 126—142 мкм (рис. 4, б).

Таким образом, при температуре 15—17° С вторая порция яиц у кругляка формируется за 21 день (считая с момента первого икрометания), при этом отмечается некоторая асинхронность в росте ооцитов старшей генерации и накоплении в них трофических элементов. К концу периода вителлогенеза эта асинхронность сглаживается. Дефини-

тивного состояния, которое определяли на основе данных гистологического и биохимического анализов, половые клетки достигают к 15-му дню после нереста (за 220,9 градусо-дня). Период времени от наступления дефинитивного состояния до овуляции зрелого яйца для всех исследованных рыб одинаков (97,1 градусо-дня). Гомогенизация желтка и миграция ядра к анистотому полюсу протекают параллельно.

После второго нереста часть самок была отсажена для наблюдений за формированием третьей порции яиц, которое проходило при той же температуре ($15-17^{\circ}\text{C}$), что и у второй порции. Третья порция яиц формируется за тот же промежуток времени, т. е. на 21—23-й день после второго икрометания.

Состояние ооцитов кругляка в процессе роста и созревания четвертой порции яиц. Сразу после третьего нереста ГСИ самок составляет в среднем 2,79. Состав половых клеток яичников этих рыб такой же, как и после вымета первой порции яиц. Ооциты формирующейся четвертой генерации большей частью состоят из клеток фазы завершенной вакуолизации и начала отложения желтка; в фазе интенсивного желткообразования находятся лишь одиночные ооциты (рис. 6, I). Средний диаметр вителлогенных клеток — 610 мкм (557—641 мкм), их ядер — 119 мкм (113—124 мкм).

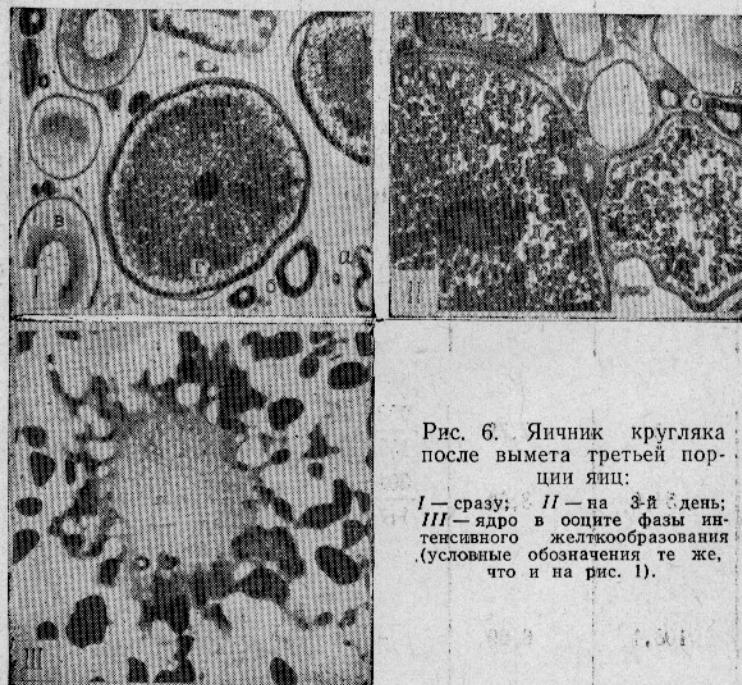


Рис. 6. Яичник кругляка после вымета третьей порции яиц:

I — сразу; II — на 3-й день;
III — ядро в ооците фазы интенсивного желткообразования
(условные обозначения те же,
что и на рис. 1).

В течение последующих дней происходит быстрый синхронный рост ооцитов старшей генерации. Наблюдаются такие же изменения цитоплазматических включений, ядерного аппарата, оболочек, как и в клетках второй порции (рис. 6, III). К девятому дню после третьего нереста (за 169,9 градусо-дня) у большинства рыб яйцеклетки достигают дефинитивного состояния (рис. 7, а, б). ГСИ увеличивается до 10,92. Диаметр ооцитов составляет 1424 ± 1 мкм, их ядер — 120 ± 4 мкм. Яйцеклетки находятся в фазе наполненного желтком ооцита. Ядра в таких половых клетках либо фестончатой формы (тогда в период миграции в них видны те же морфологические преобразования, что и в период

Изменение диаметров (в мкм) ооцитов (числитель) и их ядер (знаменатель) в порций яиц у бычка-кругляка

День развития	Время, градусо-дни	ГСИ	Фазы		
			вакуолизация	интенсивной вакуолизации	завершенной вакуолизации начала желткообразования
Вторая					
0	0	4,48	<u>278±2</u> 115±2	<u>374±3</u> 135±3	<u>607±4</u> 150±3
3	45,3	3,85	<u>285±3</u> 120±5	<u>422±6</u> 146±3	<u>516±9</u> 153±4
9	143,9	5,12	—	<u>401±5</u> 143±2	<u>629±13</u> 148±9
12	175,9	8,06	<u>371±3</u> 140±2	<u>479±7</u> 163±4	<u>578±6</u> 157±5
15	220,9	8,35	<u>298±8</u> 142±5	<u>469±6</u> 158±6	<u>553±11</u> 124±5
18	269,1	13,94	<u>397</u> 163	<u>478±5</u> 156±4	<u>564±11</u> 139±9
21	318,0	18,59	—	<u>430±18</u> 135±9	<u>583±17</u> 125±5
Четвертая					
0	0	2,79	<u>283±4</u> 132±2	<u>396±6</u> 145±2	<u>557±5</u> 124±3
3	54,0	3,83	<u>304±3</u> 117±7	<u>370±6</u> 118±3	—
6	108,1	6,69	—	<u>380±8</u> 135±3	—
9	169,3	10,92	—	<u>454±8</u> 147±3	—
12	231,3	10,31	<u>254±12</u> 101±6	<u>417±14</u> 132±5	—
15	292,3	15,60	<u>244±15</u> 109±6	<u>318±17</u> 130±5	—

процессе формирования второй и четвертой
(период трофоплазматического роста)

интенсивного желтообразования	наполненного желтком ооцита	зрелого яйца	Диаметр, мкм	
			средний желткового ооцита	ядра желткового ооцита
порция				
<u>690±5</u>	—	—	644±4	149±2
<u>145±3</u>	—	—		
<u>769±16</u>	—	—	778±9	135±2
<u>146±3</u>	—	—		
<u>844±6</u>	—	—		
<u>120±3</u>	—	—		
<u>757±6</u>	—	—	899±11	154±6
<u>159±8</u>	—	—		
<u>1115±20</u>	—	—		
<u>134±5</u>	—	—		
<u>1131±17</u>	—	—	1131±17	135±10
<u>135±10</u>	—	—		
—	<u>1220±17</u>	—	1220±17	139±8
	<u>139±8</u>	—		
—	<u>1524±22</u>	—	1524±22	126±6
	<u>126±6</u>	—		
<u>674±17</u>	—	2120±13	652±14	135±4
<u>148±6</u>	—			
<u>743±60</u>	—			
<u>140±13</u>	—			
порция				
<u>641±5</u>	—	—	610±4	118±2
<u>113±2</u>	—	—		
<u>1027±14</u>	—	—	1027±14	117±3
<u>117±3</u>	—	—		
<u>588±14</u>	—	—		
<u>150±4</u>	—	—		
<u>1063±12</u>	—	—	1166±29	128±5
<u>129±4</u>	—	—		
<u>1519±23</u>	—	—		
<u>122±5</u>	—	—		
—	<u>1414±12</u>	—	1424±12	120±4
	<u>120±4</u>	—		
<u>645±22</u>	<u>1424±58</u>	2025±21	1424±58	197±14
<u>121±6</u>	<u>197±14</u>			
<u>563±16</u>	—	2025±21	690±21	143±5
<u>178±14</u>	—			
<u>723±13</u>	—			
<u>135±5</u>	—			

созревания второй порции яиц), либо правильной окружной или овальной формы с грубозернистой кариоплазмой и многочисленными пристенно расположеными ядрышками. В таком виде ядра подходят к поверхности ооцита (см. рис. 7, б и в).

Созревание ооцитов длится с 9-го дня после нереста до 12—15-го дня (за 62—123 градусо-дня). У некоторых рыб в этот период гомогенизация желтка и миграция ядра разобщаются. У одних рыб к 12-му дню после нереста завершаются гомогенизация и гидратация желтка и в цитоплазме, свободной от включений, на амнимальном полюсе обнаружаются метафазные пластинки I и II делений созревания

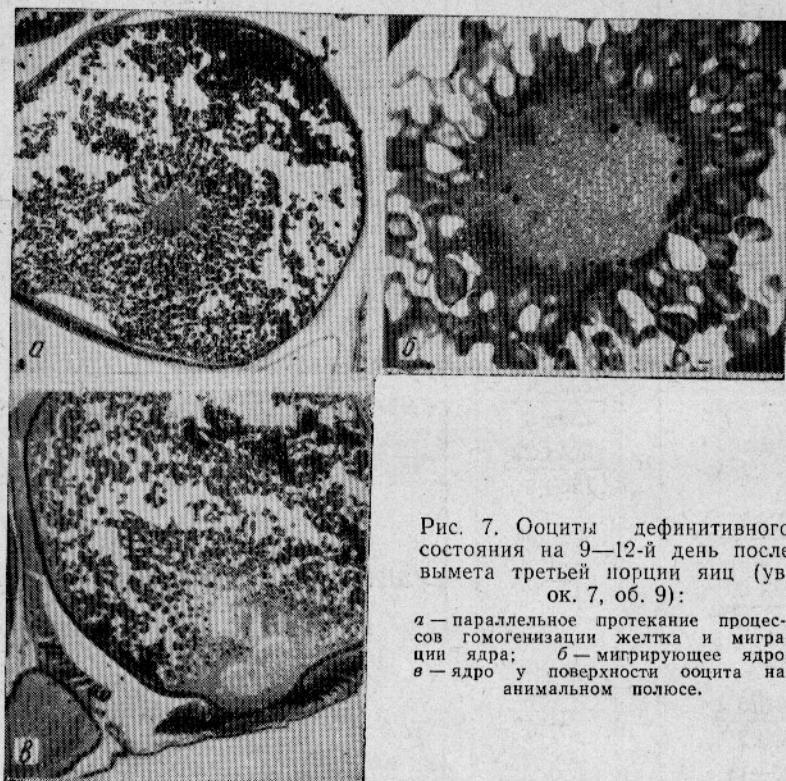


Рис. 7. Ооциты дефинитивного состояния на 9—12-й день после вымета третьей порции яиц (ув. ок. 7, об. 9):

а — параллельное протекание процессов гомогенизации желтка и миграции ядра; *б* — мигрирующее ядро; *в* — ядро у поверхности ооцита на амнимальном полюсе.

(рис. 8); у других к этому же сроку в ооцитах с желтком, распределенным в виде гранул и глыбок, видны ядра под самой оболочкой ооцита (см. рис. 7, в); у третьих только к 15-му дню после нереста в клетках с гомогенным желтком обнаруживаются ядра в премейотическом состоянии (рис. 9).

Овуляция зрелых яиц наступает на 13—16-й день после нереста. Диаметр их составляет 2025 ± 20 мкм. ГСИ созревших самок возрастает до 15,60. На 15—17-й день наблюдается четвертый нерест бычков. Резорбция постовуляторных фолликулов, появившихся в яичнике после третьего нереста, за 15 дней не завершается. Так же как и в период формирования второй порции яиц, появление первых гранул желтка в ооцитах фазы интенсивной вакуолизации, которые составляют основу следующей, пятой порции, наблюдается лишь в начале слияния желтка в яйцеклетках старшей генерации — между 6-м и 9-м днями после нереста. Вителлогенез в таких ооцитах идет интенсивнее, и к моменту вымета четвертой порции яиц большинство их находится в фазе интенсивного желткообразования.

Таким образом, при более высокой температуре (18—21°C) в ооцитах старшей генерации ускоряется вителлогенез и они достигают дефинитивного состояния к 9-му дню после нереста (за 169,3 градусо-дня). Период времени от наступления дефинитивного состояния ооцита до овуляции зрелых яиц варьирует от 63 до 123 градусо-дня. Для некоторых рыб гомогенизация желтка и миграция ядра к анимально-му полюсу разобщены: ядро подходит к поверхности в яйцеклетке, где слияния желтка еще не происходит.

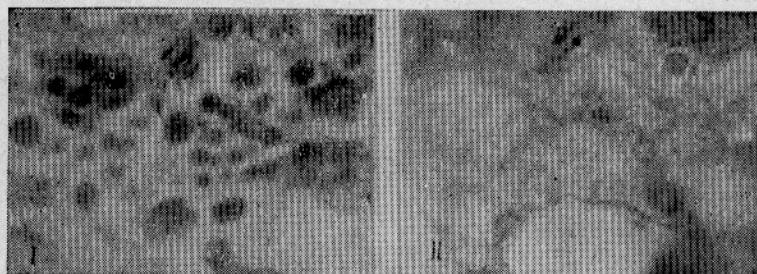
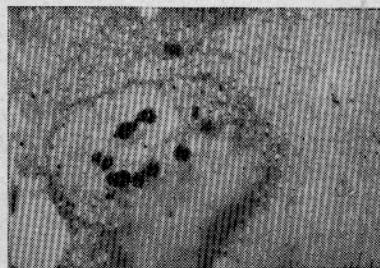


Рис. 8. Метафазы I и II делений созревания в зрелых ооцитах кругляка на 12-й день после вымета третьей порции яиц (ув. ок. 7, об. 90 имм).

Сравнение темпа формирования второй и четвертой порций яиц у бычка-кругляка при температуре 15—17 и 18—21°C (по изменению значений гоносоматического индекса и среднего диаметра ооцитов старшей генерации) свидетельствуют о том, что повышение темпера-

Рис. 9. Ядро в премейотическом состоянии в зрелом ооците кругляка на 15-й день после вымета третьей порции яиц (ув. ок. 7, об. 90 имм).



туры на 3—4°C убывает рост яйцеклеток и интенсифицирует желтообразование (рис. 10). Время прохождения ооцитами фаз в период интенсивного роста сокращается настолько, что уже на третий день после нереста растущие ооциты имеют очень близкие размеры и сходные морфологические признаки. При более низких температурах (при формировании второй порции яиц) выравнивание размеров ооцитов старшей генерации и переход их в fazu интенсивного желтообразования наблюдаются лишь к 12—15-му дню после нереста (см. таблицу).

Ускорение темпа вителлогенеза иногда приводит к поляризации яйцеклеток при незавершенном желтообразовании. К концу вителлогенеза в половой клетке завершаются накопление трофических веществ, и те биохимические преобразования, которые обусловливают переход к созреванию. Используя метод диск-электрофореза в поликариламидном геле, мы установили, что в ооцитах бычков, близких к дефинитивному состоянию, завершается образование сложных липопротеиновых

комплексов желтка. При созревании физико-химические свойства их изменяются — резко нарастает их воднорастворимость (Куликова, 1973). У одноразмерных самок бычка-кругляка к концу нерестового сезона уменьшаются средняя масса и средний диаметр зрелых овариальных яиц, содержание в них воднорастворимых белков, нарастает гетерогенность белковых спектров (Куликова, 1975).

Биохимические процессы при трансформации белков желтка в ооцитах в период роста и созревания первых порций при быстром росте половых клеток следующих генераций, видимо, не завершаются. В таких ооцитах миграция ядра наступает прежде, чем появляются участки слившегося желтка, т. е. до завершения желтообразования. Эти яйце-

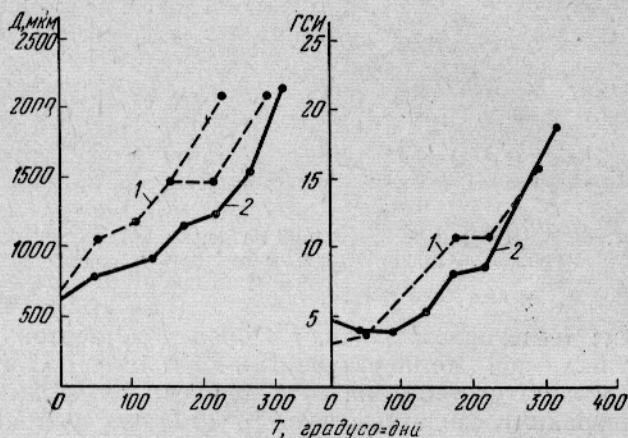


Рис. 10. Изменение гоносоматического индекса и среднего диаметра ооцитов старшей генерации в яичниках кругляка в процессе формирования второй (1) и четвертой (2) порций яиц.

клетки нормально созревают, овулируют и дают жизнеспособную молодь. В данном случае несомненно влияет повышенная температура (в пределах нерестовых температур для этого вида), так как при температуре 15—17°C время формирования порции яиц составляет всегда 21—23 дня (считая с момента предшествующего нереста), а в созревающих ооцитах гомогенизация желтка и миграция ядра протекают параллельно.

Ооциты некоторых видов лососевых начинают созревать задолго до завершения вителлогенеза в результате длительной гормональной стимуляции; для половых клеток, в значительной степени загруженных желтком (как у лососей), характерна лабильная корреляция между мейозом и вителлогенезом (Сакун, 1967, 1972). Такая особенность, видимо, характерная и для половых клеток бычка-кругляка, является адаптивной, позволяющей этому виду в значительной степени реализовать возможности многопорционного нереста.

В эксперименте возможна задержка (до суток) в яичниках кругляка овулировавших яиц. Оплодотворяемость их, по нашим наблюдениям, не снижается. Такие рыбы в массе встречаются в уловах в разгар нереста (в июне—июле). Нерестовое поведение кругляка сложно, и для нормального нереста необходим целый комплекс благоприятных условий (Москалькова, 1967; Костюченко, 1964; Протасов и др., 1965). Возможность задержки овулировавших яиц в яичнике, по-видимому, одна из адаптивных особенностей репродуктивной системы кругляка, способствующей наряду с другими (устройством гнезда, охраной кладок икры и выклонувшейся молоди самцом и др.) выживанию вида.

Выводы

1. У порционно нерестящегося вида бычка-кругляка темп формирования очередных порций яиц при повышенных температурах (в пределах нерестовых для этого вида) ускоряется за счет быстрого синхронного роста ооцитов старшей генерации и интенсификации в них процессов желткообразования.

2. В период созревания половых клеток иногда отмечается разобщение гомогенизации желтка и миграции ядра к анимальному полюсу: наблюдается поляризация клеток, в которых желток распределен в виде гранул и крупных глыбок. Эта особенность, свидетельствует о лабильной корреляции процессов вителлогенеза и мейоза, характерна для ооцитов кругляка и способствует возможности многопорционного нереста у этого вида.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Куликова Н. И. Изменение фракционного состава белков ооцитов азовского бычка-мартовика *Gobius batrachoccephalus* Pallas на протяжении репродуктивного периода. — В кн.: Биохимическая эволюция. Л., «Наука», 1973, с. 110—115.

Куликова Н. И. Воднорасторвимые белки ооцитов и зрелых яиц бычка-кругляка (*Gobius melanostomus* Pallas) в период оогенеза и нереста. — «Журнал эволюционной биохимии и физиологии», 1975.

Москалькова К. И. Морфо-экологические особенности развития бычка-кругляка (*Neogobius melanostomus* Pallas). — В кн.: Морфо-экологический анализ развития рыб, 1967, с. 48—75.

Плохинский Н. А. Биометрия. Новосибирск. Изд-во Сибирского отделения АН СССР, 1961, 362 с.

Протасов В. Р., Цветков В. И., Ращеперин В. К. Акустическая сигнализация у азовского бычка-кругляка (*Neogobius melanostomus* Pallas). — «Журнал общей биологии», 1966, т. 26, № 2, с. 151—160.

Ромейс С. Микроскопическая техника. М., «Иностранная литература», 1953. 718 с.

Сакун О. Ф. К вопросу о функциональной основе эволюции процесса оогенеза. — В кн.: Морфологические исследования адаптации. Материалы к III Всесоюзному совещанию по экологической физиологии, биохимии и морфологии. Новосибирск, 1967.

Сакун О. Ф. Участие гормонов в регуляции некоторых фаз мейотического процесса при оогенезе у рыб. — «Труды Петергофского биологического института ЛГУ», 1972, № 21, с. 147—157.

Чмилевский Д. А. Синтез РНК и развитие ядрышкового аппарата в оогенезе ерша. — «Цитология», 1971, т. 13, № 10, с. 1233—1241.

Arndt E. A. Histologische und histochemische Untersuchungen über die Oogenese und Bipolare Differenzierung von Suswasser—Teleosteen. *Protoplasma*, v. 47, 1/2, 1956, pp. 1—36.

Yamamoto K. Studies on the formation in fish eggs. I. Annual cycle in the development of ovarian egg in the flounder (*Liopsetta obscura*). *J. Fac. Sci. Hokkaido Univ.* 1956, Ser. 9 (2), pp. 362—373.

*Analysis of formation of various batches of eggs in Azov round goby
(*Gobius melanostomus* Pallas)*

N. I. Kulikova, V. N. Fandeeva

SUMMARY

In females of round goby of the same size (85—90 mm) the second batch of eggs is made up within 21 days at the temperature of 15—17°C. The oocytes reach the definitive state by the 15th day of development, i. e. for 220.9 degree-days. The period started from the commencement of the definitive state to ovulation of mature eggs is the same (97.1 degree-days) in all specimens investigated. The homogenization of the yolk and migration of the nucleus to the animal pole occur at the same time.

The fourth batch of eggs is made up within 12—15 days. The growth rate of oocytes from older generation is high, vitellogenesis is intensified and they reach the definitive state on the 9th day after spawning (169.3 degree-days). The maturation period varies from 63 to 123 degree-days. In some specimens the nucleus comes to the surface of the oocyte where no confluence of yolk granules occur.

УДК 639.371.6:639.3.07(470.62)

ВЫРАЩИВАНИЕ МОЛОДИ ПОЛОСАТОГО ОКУНЯ В УСЛОВИЯХ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

Романенко В. Ф.

В 1968 г. ВНИРО совместно с АзЧерНИРО была начата акклиматизация в Азово-Черноморском бассейне представителя Атлантического и Тихоокеанского побережий Северной Америки — американского полосатого окуня *Motone saxatilis* (Mitchill).

В 1968—1969 гг. были исследованы особенности развития личинок и молоди окуня, их зависимость от различных факторов среды, показаны важнейшие диагностические признаки, характеризующие момент перехода личинок на активное питание (Дорошев, 1970).

С 1970 г. была начата разработка биотехники выращивания сеголетков окуня до возраста 4—5 мес, пригодных для выпуска в моря и водохранилища. Результаты работ были изложены в инструкции ВНИРО (1972 г.).

Для уточнения рыбоводных показателей при производственном выращивании окуня для других районов страны с 1973 г. сеголетки и старшие возрастные группы окуня выращиваются на базе полносистемного карпового рыбхоза «Темрюкский», принадлежащего рыбколхозу «Труженик моря» Краснодарского края.

Задача исследований в 1973 г. — совершенствование биотехники выращивания сеголетков окуня, изучение его линейного и весового роста, пищевых рационов, изменения химического состава тела, состояния естественной кормовой базы, гидрохимического режима прудов.

Выращивание сеголетков полосатого окуня проводили в двух зимнематочных прудах площадью 0,13 га каждый, с максимальными глубинами 1,9 м. Водоснабжение прудов осуществляли из р. Кубань через отстойник площадью 0,7 га и распределительный канал.

25 июня 1973 г. из Азовской экспериментальной базы Ростовской области было доставлено 1730 сеголетков окуня средней массой 0,95 г. В каждом пруду были установлены делевые садки размером 1,7×2×1 м из ячеи 3 мм, в которых рыбу выдерживали в течение двух суток (корм давали шесть раз из расчета 200 г фарша на один садок), после чего рыбу выпустили в пруды. Плотность посадки сеголетков в пруду № 1 составила 1055 шт., в пруду № 8 — 512 шт.

Свежую тульку, уклею и свежезамороженные хек, ставриду перемалывали на мясорубке и разбрасывали по воде в одном постоянном месте. Активность питания оценивали по пятибалльной системе, принятой для окуня во ВНИРО (0 — рыба не выходит на корм; 1 — очень слабая активность; 2 — слабая; 3 — хорошая; 4 — очень хорошая). Кормление проводили в 7, 13 и 19 ч.

Для определения роста акклиматизантов один раз в месяц проводили контрольные обловы прудов, при которых анализировали линейные и весовые характеристики рыб (по методике И. Ф. Правдина, 1966), а также химический состав тела сеголетков (по методике А. П. Иванова, 1963).

Для характеристики гидрохимического режима прудов определяли содержание кислорода, pH, окисляемость воды один раз в 5 дней (по методике Г. Д. Полякова, 1950), а также содержание биогенных элементов, степень загрязненности воды нефтью и фенолами один раз в 15 дней (по методике О. А. Алекина, 1954).

Пробы зоопланктона и зообентоса собирали один раз в 10 дней. Зоопланктон брали в пяти точках каждого пруда. 100 л воды проходили через планктонную сетку (мельничный газ № 61). Пробы обрабатывали по общепринятой методике: объем доводили до 100 мл, затем просматривали в камере Богорова. Биомассу вычисляли, используя данные по размерно-весовой характеристике руководящих форм прудового зоопланктона (Л. П. Брагинский, 1957) и свои данные. Зообентос собирали при помощи драги конструкции Н. А. Липина (1950).

Общая минерализация воды прудов за исследуемый период изменилась от 287 (летом) до 466 мг/л (осенью). Величина pH воды лежит в нейтральнощелочной области (7,7—8,04). Содержание органических веществ, которое оценивалось по величине бихроматной окисляемости, изменялось от 5,3 мг O₂/л (летом) до 12,3 (осенью). Отмечено содержание таких компонентов, как хлориды (до 107,6 мг/л), сульфаты (до 123 мг/л), нитриты (до 0,018 мг/л). Нефти, фенолов, экстрагируемых веществ не обнаружено. Содержание кислорода варьировало от 3 в июле до 8,5 мг/л в ноябре. Температура воды в прудах изменялась от 25°C в июле до плюс 4°C в III декаде ноября. Максимальная температура (29°C) отмечена во II декаде августа.

Качественный и количественный состав зоопланктона в прудах был в течение вегетационного периода неодинаков. Высокое содержание биомассы зоопланктона отмечено: в пруду № 1 — в июле (вскоре после наполнения) (3,9 г/м³) и в III декаде августа (4,73); в пруду № 2 — во II декаде июля (3,99 г/м³) и во II декаде августа (3,94 г/м³). Вспышки зоопланктона чередовались с резким снижением его количества в прудах.

Минимальная биомасса зоопланктона (в пруду № 1 — 0,64 г/м³ и в пруду № 2 — 0,26 г/м³) отмечена в сентябре. Из кладоцер определяющими формами были *Moina rectirostris*, *Bosmina longirostris*, *Daphnia longispina*, *D. magna*, *D. pulex*, из копепод *Cyclops strenuus*, *Cyclops vicinus* и *Calanipeda aquae dulcis*; из коловраток — *Euehlonis dilatata* и *Brachionus plicatilis*.

Биомасса зообентоса была достаточно стабильной — от 8,3 до 11,6 г/м², видовой состав — однообразным. Из моллюсков доминировали *Pesidium*, из ракообразных — *Corophium volutator*. Широко были представлены олигохеты и хирономиды. Потребность в сыром рыбном фарше определяли по поедаемости. Разовые дозы корма для рыб в пруду № 2 составляли от 220 и 400 г, в пруду № 2 — от 50 до 200 г.

Интенсивность питания сеголетков зависела от ряда условий, главными из которых были следующие.

1. Качество и способ приготовления корма. Корм, приготовленный из свежей рыбы, поедался охотнее, чем из мороженой. Сеголетки массой до 7—10 г питались в основном фаршем, а по мере роста стали предпочитать корм в виде мелких кусочков массой 0,6—1 г.

2. Температура и прозрачность воды. При температуре воды 19—23°C отмечено максимальное поедание окунем искусственного корма.

По мере снижения температуры воды снижалась активность питания сеголетков. При температуре воды 1—3°С окунь корм не брал, и с 19 сентября кормление было прекращено. При прозрачности воды 70—80 см сеголетки питаются активно, при прозрачности 20—35 см молодь к месту кормления собирается медленнее. Часть корма, не замеченная рыбами, опускается на дно.

3. Состояние естественной кормовой базы. Вследствие постоянного притока воды из отстойника и водоподающего канала в пруды проходила молодь уклей, красноперки, бычка и рыб других видов (в течение суток от 12 до 235 шт. молоди общей биомассой до 340 г). Их наличие обогащало естественную кормовую базу прудов и снижало долю потребления сеголетками искусственного корма. Это подтверждается сравнением кормовых рационов для молоди полосатого окуня (табл. 1).

Таблица 1

**Кормовые рационы для молоди полосатого окуня
по десятидневкам при кормлении сырым рыбным фаршем**

Период выращивания по десятидневкам	Средняя масса сеголетков, г	Суточный кормовой рацион к массе рыбы, %	Количество корма на 1 рыбью за сутки, г	Период выращивания по десятидневкам	Средняя масса сеголетков, г	Суточный кормовой рацион к массе рыбы, %	Количество корма на 1 рыбью за сутки, г
Азов (Ростовская область), 1970—1972 гг.				Темрюк (Краснодарский край), 1973 г.			
I	1,4	50	0,7	I	0,95	47	0,4
V	10,2	30	3,1	IV	10,3	10	1,1
IX	35,7	17	6	VII	35,2	2	1,6

В начальный период выращивания для составления рационов использовали сведения о пищевых потребностях сеголетков окуня, рассчитанные на Азовской садковой базе в 1970—1972 гг. на основании данных по энергетическому обмену и среднемесячным приростам при различных нормах кормления (Горелов и др., 1974). В дальнейшем при обилии естественной кормовой базы прудов суточные рационы бы-

Таблица 2

Питание и рост сеголетков полосатого окуня

Даты контрольных обловов прудов и измерений рыб	Длина рыб, см	Масса рыб, г	Температура воды, °С	Продолжительность кормления*, дни	Среднесуточный расход корма*			Среднесуточный прирост сеголеток, мм
					на пруд, г	на одну рыбью	% к массе тела	
Пруд № 1 (1055 шт.)								
28. VI	4,1—5	0,7—1,7	24±2	33	480	0,45	47	272
1. VIII	8,4—10,4	6,7—14,8	22±2	30	1200	1,1	10	790
3. IX	9,9—16,7	12,0—62,8	17±4	36	1600	1,5	4	935
10. X	11,8—21,0	18,5—118						
Кормовой коэффициент ** — 1,3.								

Пруд № 2 (512 шт.)								
28. VI	3,4—4,8	0,3—1,4						
1. VIII	8,3—12,6	6,4—29	25±2	33	50	0,1	10	404
3. IX	11,7—18,3	17,8—75	23±2	30	630	1,27	9	621
10. X	13,1—18,9	22,6—82	17±4	36	800	1,6	5	886
Кормовой коэффициент ** — 1,1.								

* За срок между контрольными обловами.

** За весь срок выращивания.

ли уменьшены в три раза. Темп роста акклиматизантов не изменился, поскольку они компенсировали недостаток искусственного корма выеданием молоди сорных рыб.

Рост сеголетков окуня в обоих прудах был одинаковым. Различная плотность посадки не отразилась на результатах выращивания, так как в обоих случаях она была низкой. Данные о линейно-весовом росте и питании сеголетков окуня приведены в табл. 2.

Анализ химического состава тела сеголетков окуня показывает, что, по мере их роста (начальная масса 9,7 г, конечная 75 г), содержание влаги в мышцах снижается от 76,5 до 69,9%, содержание жира и белка увеличивается — от 6,1 до 10,3% и от 14,2 до 16,4% соответственно. Количество минеральных веществ находилось в пределах 1,4—2%.

Выводы

1. С июля по ноябрь сеголетки американского полосатого окуня были выращены до средней массы 70 г, масса некоторых экземпляров достигла 128 г. Выход молоди в пруду № 1 составил — 746 шт. (73,8%), в пруду № 2 — 382 шт. (81%).

2. Хорошие приrostы массы и выживаемость сеголетков полосатого окуня, приспособленность к типичным для прудовых хозяйств гидробиологическим и гидрохимическим условиям говорят о перспективности выращивания сеголетков, а также особей старших возрастных групп в условиях полносистемного карпового хозяйства Краснодарского края.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Алекин О. А. Химический анализ вод суши. Л., Гидрометеоиздат, 1954. 199 с.
Брагинский Л. П. Размерно-весовая характеристика руководящих форм прудового зоопланктона. — «Вопросы ихтиологии», 1957, т. 9, с. 188—191.
Горелов В. К., Дерголева Ж. Т., Сказнина Е. П. Инструкция по выращиванию сеголетков полосатого окуня. М., ВНИРО, 1974. 27 с.
Дорошев С. И. Биологические особенности икры, личинок и молоди полосатого окуня *Morone saxatilis* (Mitschil) в связи с проблемой его акклиматизации в СССР. — «Вопросы ихтиологии», 1970, т. 10, с. 341—359.
Иванов А. П. Химический анализ рыб и их кормов. М., «Рыбное хозяйство», 1963. 38 с.
Липин Н. А. Пресные воды и их жизнь. М., Учпедгиз, 1950. 347 с.
Поляков Г. Д. Пособие по гидрохимии для рыбоводов. М., Пищепромиздат, 1950. 87 с.
Правдин И. Ф. Руководство по изучению рыб. М., «Пищевая промышленность», 1966. 376 с.

Rearing of young striped bass in the Krasnodar region

V. F. Romanenko

SUMMARY

One-summer-olds were reared in wintering and brood-stock ponds with the area of 0.13 ha each. The maximum depth of the ponds was 1.9 m. The total mineral content of the ponds ranged from 287 to 466 mg/l, pH varied from 7.7 to 8.04. The content of organic matter ranged from 5.3 to 12.3 mg O/l.

The feeding intensity depended on the quality of food, temperature, transparency of water and natural food resources.

УДК 597.553.2+597—153

НЕКОТОРЫЕ ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАННИХ СТАДИЙ РАЗВИТИЯ КУТУМА (*RUTILUS FRISHI KUTUM KAMENSKY*)

Трушинская М. Б.

Выращивание кутума в Каспийском море и особенно акклиматизация в Азовском море вызвали необходимость изучения некоторых эколого-физиологических особенностей ранних стадий его развития.

Нерестится кутум ранней весной при широком диапазоне температуры воды (от 6 до 22°C). Максимум нереста приходится на март—апрель при температуре 10—16°C. Нерест кутума единовременный и икринки, содержащиеся в гонадах, к моменту захода производителей в реки проходят почти все стадии оогенеза и созревают синхронно. На побережье Каспия кутум выметывает икру в приустьевых участках на растительный субстрат, каменистый грунт неглубоких перекатов и корневища прибрежных деревьев. Икра кутума клейкая.

Я. И. Гинзбург (1939) отмечает, что на Каспии кутум нерестится при прозрачности воды 0,2—0,45 м, солености 0,28—0,22‰, насыщении воды кислородом — 32,18%, окисляемости — 7,86 и следующем соотношении солей, мг/л: хлоридов — 100, сульфатов — 81, кальция 50 и магния — 16,2. Нерест и развитие икры наиболее активны при скоростях течения воды от 0,04—0,5 м/с.

В Азовском море нерест кутума наблюдался в гирлах кубанских лиманов на отмытых корневищах при температуре воды от 5 до 15°C, насыщении воды кислородом 26,2%, солености 0,3—3,8‰, скорости течения в местах нереста — от 0,07—0,5 м/с. Кладки икры кутума на стеблях и ветках растений представляют собой достаточно большие гроздья икринок.

Эмбрион при температуре воды 8—12°C развивается от 12 до 15 суток, а при температуре воды около 20°C — 5—6 суток. Для кутума характерно длительное развитие в оболочке и вылупление на поздних стадиях. Величина вылупившегося эмбриона — от 9,5 до 10,8 мм. Органы дыхания и кровообращения эмбриона в момент выклева из оболочки хорошо развиты. Кроме обычных для карловых эмбриональных органов дыхания, уже начинает функционировать и жаберный аппарат. Сердце и кювьёровы протоки интенсивно работают еще задолго до выклева эмбриона из оболочки. Несколько позже их, но еще до выклева, начинает активно функционировать широко развитая сеть кровеносных сосудов, расположенных как вдоль всего тела (аорта и кардиальная вена), так и между сегментами.

После вылупления эмбрионы кутума приклеиваются к растениям в тиховодных заросших участках реки и в таком состоянии при температуре воды 16—18°C находятся от 6 до 12 ч, а при температуре

воды 12—14,5° С — от 1 до 2 суток. Эмбрионы начинают всплывать по мере наполнения передней камеры плавательного пузыря воздухом.

Примерно через одно-две суток после выклева личинки начинают питаться, и в их кишечниках можно обнаружить мелкие растительные формы и инфузории. Наблюдается переход на «смешанное» питание, хотя имеется еще небольшой запас желтка.

В рыбоводных хозяйствах перед посадкой в пруды после выклева личинок 5 суток выдерживают в ваннах при температуре 10—14° С, а при температуре 14—20° С — 3—4 суток. К этому времени все личинки полностью переходят на «смешанное питание». Выпущеные в водоем личинки быстро образуют крупные стайки в прибрежной части.

Через 7—9 суток со дня выклева личинки полностью переходят на активное питание водорослями и коловратками. Желточный мешок рассасывается. В дальнейшем личинки в основном питаются ветвистоусыми и веслоногими раками, личинками насекомых, а мальки — мелкими моллюсками.

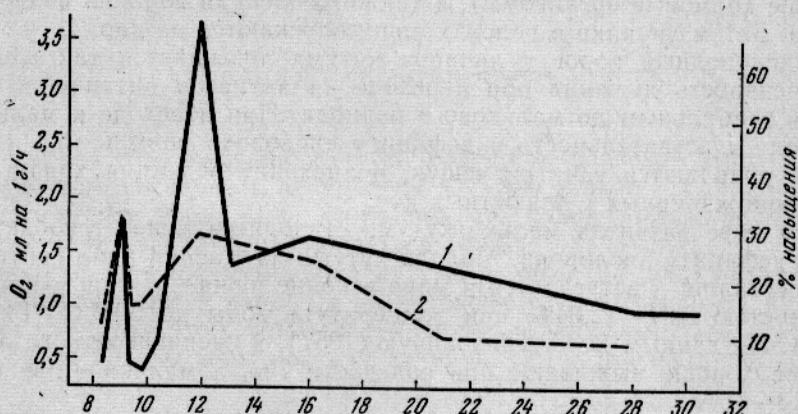


Рис. 1. Интенсивность дыхания (1) и кислородный порог (2) личинок и мальков кутума. Цифры под графиками указывают длину личинок и мальков в мм.

Потребление растворенного в воде кислорода эмбрионом на стадии пигментированного глаза составляет 0,26—0,3 мл на 1 г/ч, в момент выклева резко возрастает до 1,55 мл на 1 г/ч, а для свободного эмбриона (через 2—4 ч после выклева) — 0,174—0,2 мл кислорода на 1 г/ч; в дальнейшем оно стабилизируется (0,13—0,22 мл на 1 г/ч). Такая же картина наблюдается у эмбриона кутума в отношении к дефициту кислорода (кислородный порог). На стадии пигментированного глаза кислородный порог наступает при 13,6—14,0% насыщения воды кислородом, в момент выклева кислородный порог возрастает до 29,3% и у свободного эмбриона — 14,3—16,2%.

Норма потребления кислорода меняется скачкообразно в зависимости от развития (рис. 1). На этапе «смешанного питания» у личинок кутума повышается энергетический обмен, связанный с началом переваривания пищи. Потребление кислорода личинками по сравнению со стадией покоя у выклонившегося эмбриона возрастает вдвое (с 0,13—0,22 до 0,44—0,54 мл O_2 на 1 г/ч).

При переходе личинок полностью на внешнее питание резко повышается интенсивность дыхания (3,3—3,4 мл O_2 на 1 г/ч). Желточный мешок полностью резорбирован. Пищеварительный тракт в виде трубки забит пищей. В кишечнике личинок этой группы находились водоросли (диатомовые, зеленые одноклеточные: эвдорина, космарийум), колов-

ратки, науплии копепод. Личинки активно двигаются, затраты энергии на переваривание пищи повышаются. В этот период личинки полностью переходят на жаберное дыхание, спинной и анальный плавники перестают быть органами дыхания.

Интенсивность дыхания у личинок в возрасте 9—15 суток после выклева (длина личинки 11—13 мм) снижается до 0,99—1,04 мл О₂ на 1 г/ч. В пищеварительном тракте начинает образовываться петля и ассортимент пищи значительно расширяется: помимо водорослей, коловраток и науплий копепод, встречаются ветвистоусые и веслоногие раки. В дальнейшем интенсивность дыхания повышается незначительно. Личинки переходят к мальковому периоду развития и держатся у дна; объектами их питания в основном становятся зообентосные формы. В период малькового развития интенсивность дыхания у кутума выравнивается.

На первых этапах развития личинки держатся в прибрежной части у поверхности воды, куда их привлекает обилие пищи (растения и мелкие кормовые организмы), а также усиленная аэрация воды за счет ветра. Затем личинки в поисках пищи опускаются на дно.

Кислородный порог у личинок кутума повышается так же, как и интенсивность дыхания при переходе на активное питание, и бывает почти стабильным до малькового периода. При переходе к мальковому периоду чувствительность к дефициту кислорода повышается. На этом этапе появляются зачатки чешуи, происходит редукция хряща и окостенение жаберных и челюстных дуг.

По мере развития мальки кутума становятся менее требовательными к дефициту кислорода. Молодь кутума на Каспии рано скатывается с нерестилищ и встречается в море в конце июня—начале июля в воде соленостью 9,91—12,64‰ при температуре воды до 30,2°C (Гинзбург, 1939). По данным В. С. Танасийчук (1957), в каспийской воде личинки кутума хорошо выживают при солености 7‰, а мальки — при солености 13—15‰.

Таблица 1

Выживание и весовой рост личинок кутума в азовской воде различной солености

Соленость воды, ‰	Выживание личинок за время опыта, %	Средняя масса личинок, мг		Среднесуточный прирост, мг
		в начале опыта	в конце опыта	
0,0	100	14	114	2,6
2,5	100	14	128	3,0
5,0	100	14	166	4,0
7,5	100	14	204	5,0
10,0	90	14	154	3,8
10,8	80	14	135	3,2
12,5	70	14	101	2,3

Примечание. Длительность опытов 38 суток.

По нашим материалам, для личинок кутума длиной 12—14 мм (12 суток после выклева) соленость азовской воды, близкая к 11‰ (10,8‰), сублетальна при условии резкого перевода их из пресной воды в соленую. Однако солевой диапазон их расширяется при постепенном приспособлении к более соленым водам и сублетальной зоной становится вода 12,5‰, но темп их роста ниже, чем в воде соленостью 5,0 и 7,5‰ (табл. 1) и наблюдается отход личинок.

Наибольший прирост покатные мальки кутума дают в азовской воде соленостью 7,5—11,0‰. Нижняя граница благоприятной зоны для

мальков кутума примерно с 6%, а верхняя — 12,5—13,0%; в воде этих соленостей мальки интенсивно растут (табл. 2). Эти границы сохраняются и для Каспийского моря.

Таблица 2
Выживание и весовой рост мальков кутума в азовской воде различной солености

Соленость воды, %	Выживание личинок за время опыта, %	Средняя масса личинок, мг		Среднесуточный прирост, мг
		в начале опыта	в конце опыта	
0,0	100	1300	1900	19,6
2,5	100	1100	1740	20,3
5,0	100	1100	1786	21,8
7,5	100	1310	2196	28,6
10,0	100	1200	2108	29,3
10,8	100	1147	2030	28,8
12,5	90	1270	2085	26,3
15,0	70	1147	1767	20,0

Примечание. Длительность опытов 31 сутки.

Сублетальная для мальков кутума соленость азовской воды 15%. Летальную зону установить не удалось. Однако можно предположить, что она наступает после 15%, учитывая, что отход мальков в воде соленостью 15% начинает увеличиваться (30%).

Выживание личинок и мальков кутума в азовской воде различной солености согласуется с данными по интенсивности дыхания их в этой воде (рис. 2). При этом четко обозначились оптимальные, благоприятные и сублетальные зоны как для личинок, так и для мальков.

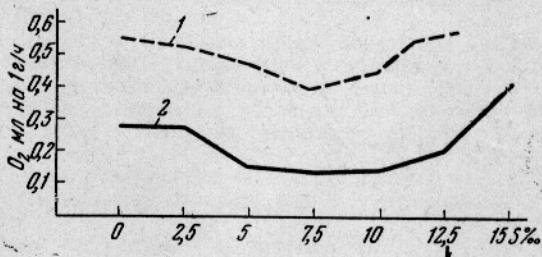


Рис. 2. Интенсивность дыхания личинок (1) и мальков (2) в азовской воде различной солености.

Интенсивность дыхания у личинок в соленой воде значительно выше, чем у мальков. Кроме того, мальки потребляют кислорода больше в пресной воде, чем в солоноватоводной. Такое же явление А. Ф. Карпович (1958) наблюдала у молоди некоторых черноморских рыб.

Выводы

1. Данные по выживанию и росту кутума на ранних стадиях в азовской воде различной солености говорят о его большой солеустойчивости. Особенно это важно в условиях изменения солевого режима Азо-во-Черноморского бассейна.

2. При рациональном ведении хозяйства кутум может быть объектом вселения не только в Азовское море, но и в другие солоноватоводные водоемы, в частности, в северо-западную часть Черного моря и эстuarные участки рек.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Гинзбург Я. И. К биологии молоди промысловых рыб залива им. Кирова (по материалам 1934 г.). — «Труды ЗИН АзФ АН СССР», 1939, т. X, с. 59—107.
- Карпевич А. Ф. Изменение дыхания черноморских рыб в зависимости от накормленности. — «Вопросы ихтиологии», 1958, № 10, с. 169—174.
- Танасийчук В. С. Закономерности формирования численности некоторых каспийских рыб. — «Труды КаспНИРО», 1957, т. XIII, с. 78—87.

*Some ecological—physiological peculiarities of early stages of development of *Rutilus trisii kutum* Kamensky*

M. B. Trushinskaya

SUMMARY

The embryos of kutum are hatched with well developed organs of respiration and blood circulation. While hatching they are very sensitive to the oxygen content (their respiration intensity is 1.55 ml/g/hour and 29%-saturation of water with oxygen), but their sensitivity becomes lower in 2—5 hours (respiration intensity is 0.174 ml/g/hour and 14%-saturation). When they start feed from the environment the respiration intensity increases to 3.3 ml/g/ hour and the saturation of water with oxygen comes up to 24%. Further the ratio is stabilized and does not exceed 10% of saturation.

Saline resistance increases in larvae and fry. In the Azov Sea the salinities of 7.5‰ and 7.5—10.0‰ are favourable for larvae and fry, [respectively, whereas the salinities of over 10‰ and 15‰ are sublethal.

Kutum spawn in water with the salinity of 0.3—3.8‰ under natural conditions. Rearing of kutum in Kuban lagoons' (5—7.5‰) resulted in a higher rate of growth as compared to fresh-water rearing farms.

РЕФЕРАТЫ

УДК 597—1:16:597—154.343

Исследования по физиологии созревания и нереста морских рыб. Апекин В. С., Труды ВНИРО, т. CXV, «Физиология воспроизводства рыб Черного моря», 1976, с. 5—12.

Экспериментами и полевыми исследованиями созревания и нереста бычков, кефалей и камбал установлено, что функционирование гипоталамуса—гипофиза—гонад у единовременно- и порционненерестящихся рыб (бычки: мартовик и кругляк) различаются во всех звеньях. Функциональная активность гипофиза кругляка, определенная на основании изменений массы и антигенного состава, нарастает до IV стадии зрелости гонад, сохраняется на высоком уровне в период нереста и снижается на стадии VI—II. Рассмотрены результаты тестирования гипофизов некоторых видов морских рыб. Определена электрофоретическая подвижность гонадотропных фракций гипофиза осетра и проведен опыт приготовления к гонадотропину иммунной сыворотки узкой специфичности. Охарактеризованы особенности гаметогенеза и нереста в природе. Исследованы изменения в ооцитах кефалей при созревании. Выделен ряд промежуточных состояний—фаз, которые использованы в качестве критериев при оценке степени действия гормональных препаратов на созревание. Чувствительность ооцитов к гонадотропинам оценивали также по их реакции *in vitro*.

Список литературы — 31 название.

УДК 597.593.4:597—116

Изменение ооцитов при созревании и получение зрелой икры с помощью гомопластических гипофизарных инъекций у лобана (Mugil cephalus L.). Апекин В. С., Вальтер Г. А., Гнатченко Л. Г. Труды ВНИРО, т. CXV. «Физиология воспроизводства рыб Черного моря», 1976, с. 13—23.

Изменения при созревании в ооцитах лобана могут быть определены сразу после взятия пробы яйцеклеток из яичника. Выделенные фазы использованы для оценки исходного состояния и степени созревания самок после инъекции свежего гипофиза лобана: 60—120 мг гипофиза при двухкратном введении вызывают созревание и овуляцию у трети подопытных рыб с желтковыми ооцитами диаметром около 500 мкм.

Самки из естественных популяций различаются по чувствительности к гонадотропинам. Для получения икры целесообразно отбирать рыб с укрупненными жироносными каплями в ооцитах.

Таблица 3. Иллюстраций 4. Список литературы — 12 названий.

УДК 597.593.4:597.116

Цитоморфологические изменения яичников сингиля (Mugil auratus Risso) в период размножения. Апекин В. С., Кулакова Н. И., Вальтер Г. А. Труды ВНИРО, т. CXV, «Физиология воспроизводства рыб Черного моря», 1976, с. 24—33.

Прослежены последовательные изменения ооцитов сингиля в период трофоплазматического роста. Выделен ряд фаз в развитии яйцеклеток. Описано шесть стадий зрелости, отражающих функциональное состояние яичника на разных этапах полового цикла. Определены гонадо-соматические индексы для каждой стадии развития половой железы. Для сингиля характерен высокий темп вителлогенеза. У большей части самок в 1974 г. активный рост яйцеклеток начался во второй половине июля и завершился во второй половине сентября.

У сингиля развивается две генерации желтковых ооцитов. Количество младших клеток варьирует от 0 до 44% от численности всех желтковых ооцитов. Абсолютная и относительная плодовитость сингиля зависит от степени развития младшей генерации желтковых ооцитов. По типу вителлогенеза сингиль может быть отнесен к потенциально порционненерестящимся видам рыб. Возможен двухкратный нерест самок в сезон размножения.

Таблица 4. Иллюстраций 4. Список литературы — 7 названий.

УДК 597.593.4:597—116

О реакции ооцитов кефалей на гормональные препараты *in vitro*. Апекин В. С., Гнатченко Л. Г. Труды ВНИРО, т. CXV, «Физиология воспроизводства рыб Черного моря», 1976, с. 34—40.

Ооциты интактных самок сингиля, помещенные *in vitro*, отвечают на гонадотропины укрупнением жировых капель. Интенсивность процесса зависит от исходного состояния самок. По реакции *in vitro* ооцитов кефалей после инъекций можно судить о степени и характере изменений в яичниках опытных рыб, т. е. прогнозировать ход созревания самок.

Таблица 2. Иллюстраций 2. Список литературы — 7 названий.

УДК 597.593.4:597—116

О созревании ооцитов кефалей *in vitro* под действием гипофизов некоторых видов рыб и хорионического гонадотропина человека. Гнатченко Л. Г. Труды ВНИРО, т. CXV, «Физиология воспроизводства рыб Черного моря», 1976, с. 41—45.

Исследовано действие свежих гомопластических и ацетонированных гипофизов осетра и сазана; хорионического гонадотропина человека и смеси гормонов на процесс созревания ооцитов сингиля (*M. australis* R.) и лобана (*M. cephalus* L.) *in vitro*. Гипофизы осетра вызывают сильную ответную реакцию яйцеклеток, но диапазон эффективных доз относительно узок. Он значительно шире у собственных гипофизов и гипофизов сазана. Гипофизы сазана наименее активны. Получено созревание части ооцитов под влиянием хориогонина. Смесь хориогонина с гипофизами действует более эффективно. Усиление реакции, однако, может быть достигнуто только при определенном соотношении гормонов и зависит от состояния ооцитов.

Иллюстраций 4. Список литературы — 13 названий.

УДК 597.593.4:597—116

Об инкубации икры и выращивании личинок кефали-сингиля (*Mugil australis* Risso). Аронович Т. М., Труды ВНИРО, т. CXV, «Физиология воспроизводства рыб Черного моря», 1976, с. 46—50.

В 1974 г. были проведены инкубация икры и выращивание личинок сингиля *Mugil australis*. Икру получали от самок, созревших после введения гипофиза сазана. Длительность эмбрионального развития при температуре $18,5 \pm 1,0^\circ\text{C}$ двое суток. Размер выклевавшихся личинок — 2,03 мм. Личинки содержали в бассейнах емкостью по 2 м³. Оптимальная соленость для икры — 19—21%, а для личинок — 15—19%. При содержании личинок в бассейнах без корма все личинки погибли на 7—8-е сутки после выклева.

Таблица 2. Иллюстраций 3. Список литературы — 11 названий.

УДК 597.587.9:597—116

Результаты анализа созревания самок черноморской камбалы-калкана. Воробьева Н. К., Таликина М. Г. Труды ВНИРО, т. CXV, «Физиология воспроизводства рыб Черного моря», 1976, с. 51—56.

Показана возможность получения в экспериментальных условиях нескольких порций зрелой икры от самок, имеющих в момент доставки созревающие яйцеклетки.

Скорость созревания зависит от исходного состояния ооцитов и от температуры содержания производителей. При температуре, близкой к нерестовой, количество порций и яиц в них гораздо больше, чем при более высоких температурах.

Таблица 3. Список литературы — 5 названий.

УДК 597.587.9:597—116

Исследование гонадотропной функции гипофиза камбалы-калкана. Золотницкий А. П., Моисеева Е. Б. Труды ВНИРО, т. CXV, «Физиология воспроизводства рыб Черного моря», 1976, с. 57—65.

Исследованиями гонадотропной активности гипофизов камбалы-калкана (*Scophthalmus maeoticus* Pallas) в течение репродуктивного цикла методами весового анализа и биологического тестирования на амфибиях и вынонах выявлена коррелятивная зависимость между массой гипофиза и степенью развития половых желез. Различия в массе и активности гипофизов у неполовозрелых и половозрелых рыб существенны. Максимальная активность обнаружена у рыб, взятых в преднерестовый период на IV стадии зрелости. Наибольшая масса гипофиза — у рыб на IV—V, V стадиях зрелости. Масса и величина гонадотропной активности гипофизов на всех проанализированных стадиях зрелости выше у самцов, чем у самок.

Таблица 4. Иллюстраций 1. Список литературы — 26 названий.

УДК 597.587.9:597—116

Получение зрелых яиц и личинок глоссы от интактных самок. Гнатченко В. Ф. Труды ВНИРО, т. CXV, «Физиология воспроизводства рыб Черного моря», 1976, с. 66—69.

Исследования возможности получения нескольких порций зрелых половых клеток от самок глоссы с гонадами на IV—V и самцов на V стадии зрелости показали, что от самок глоссы можно получить до 17 порций зрелой икры, а от самцов — до 15 порций спермы хорошего качества.

У самок глоссы, имеющих половые железы на незавершенной IV стадии зрелости, после длительного выдерживания и кормления происходит созревание и нерест только при содержании рыб в аквариумах больших объемов.

Таблица 1. Список литературы — 12 названий.

УДК 597.585.1:597—116

Анализ формирования разных порций яиц у азовского бычка-кругляка (*Gobius melanostomus* Pallas). Кулкова Н. И., Фандеева В. Н. Труды ВНИРО, т. CXV, «Физиология воспроизводства рыб Черного моря» 1976, с. 70—81.

При исследовании особенностей формирования второй и четвертой порций яиц у одноразмерных самок бычка-кругляка (длиной 85—90 мм) установлено, что при температуре 15—17°C вторая порция яиц формируется за 21 день (считая с момента первого икрометания). Некоторая асинхронность в росте ооцитов старшей генерации и накопление в них трофических веществ к концу вителлогенеза сглаживается. Дефинитивного состояния половые клетки достигают к 15-му дню развития (за 220,9 градусо-дня). Период от наступления дефинитивного состояния до овуляции зрелого яйца всех исследованных рыб одинаков (97,1 градусо-дня). Гомогенизация желтка и миграция ядра к амимальному полюсу протекает параллельно.

Четвертая порция яиц кругляка при температуре 18—21°C формируется за 12—15 дней. Характерны быстрый синхронный рост ооцитов старшей генерации, интенсификация вителлогенеза и достижение дефинитивного состояния к 9-му дню после нереста (за 169,3 градусо-дня). Время созревания ооцитов варьирует от 63 до 123 градусо-дней. У некоторых рыб ядро подходит к поверхности в яйцеклетках, где слияния желтка еще не происходит.

Таблица 1. Иллюстраций 10. Список литературы — 11 названий.

УДК 639.371.6:639.3.07(470.62)

Выращивание молоди полосатого окуня в условиях Краснодарского края. Романенко В. Ф. Труды ВНИРО, т. CXV, «Физиология воспроизводства рыб Черного моря», 1976, с. 82—85.

Сеголетков выращивали в двух зимне-маточных прудах площадью 0,13 га каждый, с максимальными глубинами 1,9 м. Общая минерализация прудов изменялась от 287 до 466 мг/л; pH 7,7—8,04, содержание органических веществ — от 5,3 до 12,3 мгО/л.

Интенсивность питания зависела от качества корма, температуры и прозрачности воды и состояния естественной кормовой базы.

Таблица 2. Список литературы — 8 названий.

УДК 597.553.2+597—153

Некоторые эколого-физиологические особенности ранних стадий развития кутума (*Rutilus frisii kutum* Kaspensky). Трушинская М. Б. Труды ВНИРО, т. CXV, «Физиология воспроизводства рыб Черного моря», 1976, с. 86—90.

Эмбрион кутума выклевывается сформированным с развитыми органами дыхания и кровообращения. В период выклева чувствительность к содержанию кислорода в воде повышена (1,55 мл на 1 г/ч — интенсивность дыхания и 29% насыщения воды кислородом), а через 2—5 ч снижается (соответственно до 0,174—0,2 мл на 1 г/ч и 14% насыщения). При переходе на активное питание интенсивность дыхания повышается до 3,3 мл на 1 г/ч и насыщение воды кислородом достигает 24%.

По мере развития личинок и мальков кутума возрастает их солеустойчивость. Для личинок кутума азовская вода соленостью 7,5‰ благоприятна, а соленость выше 10‰ сублетальна.

В естественных условиях нерест кутума наблюдался в гирлах кубанских лиманов при солености 0,3—3,8‰, а при выращивании в солоноватоводных лиманах Кубани (Шапаревский лиман — соленость до 5‰ и Ахтырский — до 7,5‰) темп роста молоди кутума был выше, чем в пресноводных хозяйствах.

Таблица 2. Иллюстраций 2. Список литературы — 3 названия.

Труды ВНИРО том СХV

**ФИЗИОЛОГИЯ ВОСПРОИЗВОДСТВА
РЫБ ЧЕРНОГО МОРЯ**

Редактор В. С. Слепнева

Художественный редактор В. В. Водзинский

Технический редактор Л. И. Кувыркина

Корректор Н. П. Багма

T-15482 Сдано в набор 24/III 1976 г. Подписано в печать 20/IX 1976 г.
Формат 70×108¹/₁₆ Бумага типографская № 2 Объем 6,0 печ. л.=8,40 усл. печ. л.
Уч.-изд. л. 8,25 Тираж 600 экз. Зак. 265 Цена 83 коп.

Издательство «Пищевая промышленность»,
113035, Москва, М-35, 1-й Кадашевский пер., д. 12.

Московская типография № 19 Союзполиграфпрома
при Государственном комитете Совета Министров СССР
по делам издательств, полиграфии и книжной торговли,
Москва, Б-78, Каланчевский туп., д. 3/5

Цена 83 коп.



Труды ВНИРО, 1976, т. CXV, 1—96