

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 Тангом (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°С, 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 шуп, 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, приготовленным 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 содержавшихся отдельно в резервном бассейне. В большинстве случаев от них можно было получить некоторое количество молок без инъекций гипофиза.

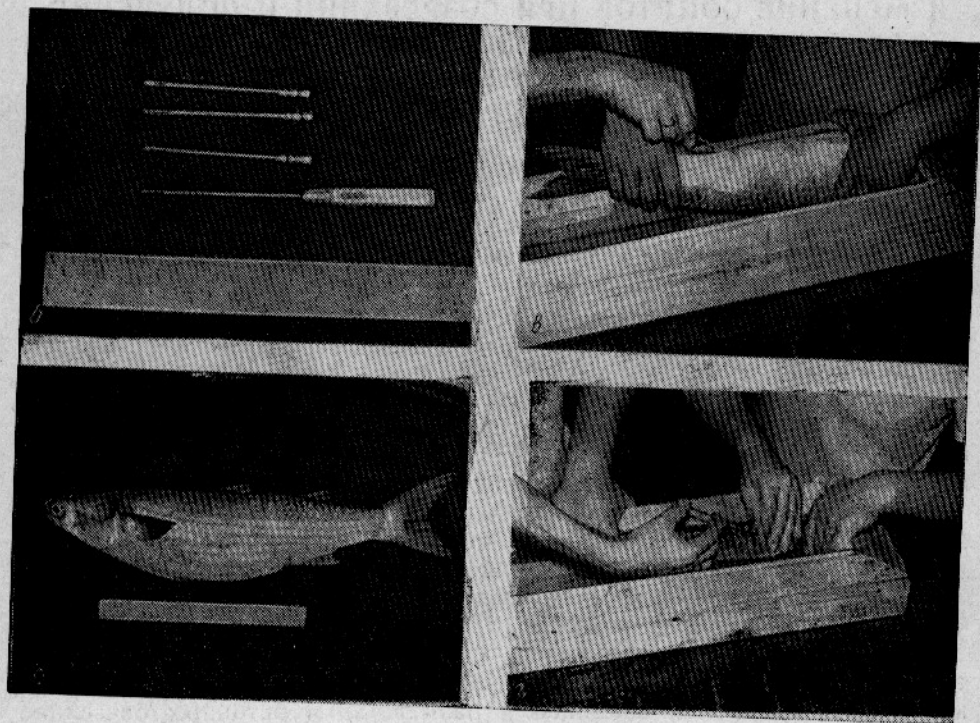


Рис. 1. Самка лобана и некоторые приспособления для работы с ней:

а — самка IV стадии зрелости, длина 52 см; б — металлические щипцы; 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 смещены 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 ацентричное положение.

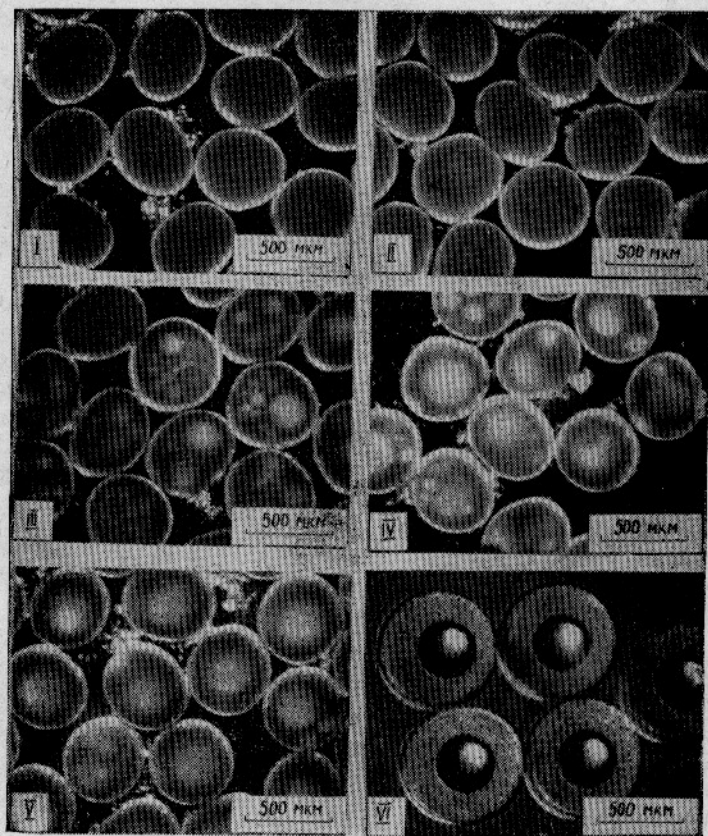


Рис. 2. Последовательные состояния ооцитов лобана при созревании:

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 оболочек 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 смещается 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° C, S — 14‰)

№ пробы	Время после первой инъекции, ч	Доза гипофиза, мг	Фаза	Размерный ряд ооцитов, мкм							Средний диаметр, мкм	Количество ооцитов	
				400—	425—	450—	475—	500—	525—	550		шт.	%
				1	9	14	17	8	1				
1	0	60	Ж	1	9	14	17	8	1	475	50	100	
2	14	—	Ж		6	8	17	11	1	483	43	86	
			НЖК		1	1	2		4		8		
			>10 ЖК всего		7	9	21	12	1		3	6	
3	24	30	Ж			3	6	4		493	13	26	
			НЖК		3	3	13	12	1		32	64	
			>10 ЖК всего		3	6	19	20	2		5	10	
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 овождение. 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 1 ЖК 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 ограничили 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 незревших 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, °С	Исходное состояние		После первой инъекции			
			диаметр ооцитов, мкм	фаза	гипофиз, мг	время, через которое взята проба, 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 отсасывали 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 удастся 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.

действием свежих гипофизов лобана

После второй инъекции				Доза гипофиза, мг на 100 г	Время наблюдений, ч	Конечное состояние
гипофиз, мг	время, через которое взята проба, ч	диаметр ооцитов, мкм	фаза			

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.

—	—	—	—	1,6	67	>10 ЖК
46,6	27	725	3Я	5,9	44	Овуляция
46,6	27	747	3Я	3,8	40	Задержка овуляции
40	17	646	3Я	5,2	63	Овуляция
40	13	506	1 ЖК	5,6	99	1 ЖК
40	8	614	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	—	3Я	5,9	43	Овуляция

На рис. 4 сведены результаты опытов при температуре 23,5—24,5° С. 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 фаз >10 ЖК и 5—10 ЖК достигли фазы 1 ЖК соответственно за 7 и 5 ч. Вероятно, каждая из этих фаз непродолжительна

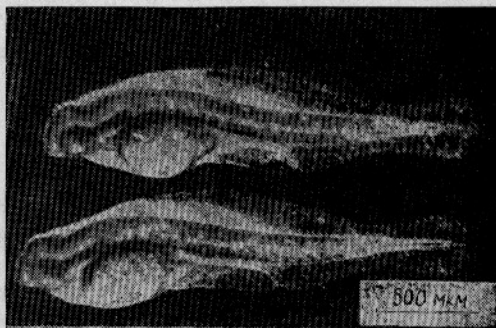


Рис. 3. Личинки лобана, через два часа после выклева (длина 2,2 мм).

(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,

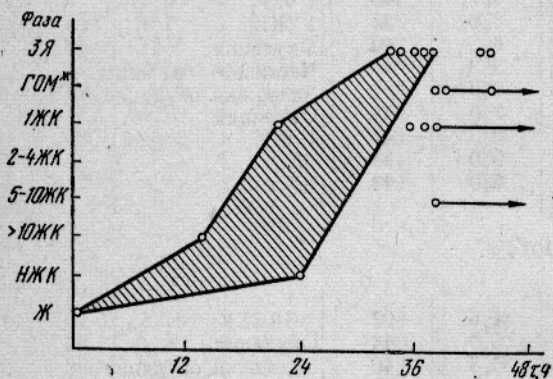


Рис. 4. Продолжительность созревания самок лобана при 23,5—24,5°C (по фазам).

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.

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 шупа (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 желтковых ооцитов из шуповых 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 шуповые пробы, которые берутся из одного участка яичника на глубине 6,5 см от генипоры, точнее отражают степень развития половых желез, чем пробы *in vitro*. Куо 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 (наблюдала только после стимуляции самок гонадотропинами); 5) атрезии.

По их данным быстрое созревание и нерест удается вызвать 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 желтковых ооцитов и зрелых яиц лобана из разных мест обитания. В Черном море в районе Керченского пролива самые крупные желтковые 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 (Kuo 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 (лобан, сингиль) 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) Дехник, Павловская (1950) Водяницкий, Казанова (1954) Наши данные (Алекин и др.)
	0,71—0,78	0,26—0,31	
	0,72—0,78	0,26—0,31	
	0,65—0,75	0,30—0,35	
Средиземное море	0,72	0,28	Sanzo (1936) Kawakami (1917) Hotta (1955) Nair (1957) Nakano (1918)
	0,65—0,75		
	0,65—0,85		
	0,8		
	0,91—1,08		
Тихий океан и Гавайские о-ва	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 I ЖК созревала 24 ч. Другие рыбы с ооцитами в этой же фазе, но развившейся в ходе эксперимента, созрели 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.

Куо с сотрудниками (Куо 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. Повидимому, 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 3Я, которые используются 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 различаются 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., Троицина 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., Калинин 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», 1964, 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 is advisable to collect specimens with large lipid droplets in oocytes to obtain eggs.