

2. Самки сингиля имеют в яичниках генерацию мелких клеток, выраженную в разной степени. Чем больше мелких клеток, тем ниже ГСИ при одинаковом диаметре крупных.

3. Гонадо-соматический индекс прямо и тесно связан с величиной относительной плодовитости. Величина плодовитости и ГСИ у самок в IV стадии зрелости изменяются по годам.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Апекин В. С., Куликова Н. И., Вальтер Г. А. Цитоморфологические изменения яичников сингиля (*Mugil auratus* Risso) в период размножения. — Труды ВНИРО, 1976, т. 115, с. 24—34.

Апекин В. С., Куликова Н. И., Вальтер Г. А. Размножение черноморской кефали-сингиля (*Mugil auratus* Risso). Состояние воспроизводительной системы в популяции в преднерестовый период. — Гидробиологический журнал, 1978, т. 14; № 6, с.

Дрягин П. А. Половые циклы и нерест рыб. — Известия ВНИОРХ, 1949, т. 28, с. 3—114.

Правдин И. Ф. Руководство по изучению рыб. — М.: Пищевая промышленность, 1966.—376 с.

*On factors affecting the gonado-somatic index in pre-spawning females of long-finned mullet (*Mugil auratus* Risso)*

Valter G. A.

SUMMARY

Factors affecting the gonado-somatic index in females of long-finned mullet migrating to the spawning grounds in the Black Sea through the Strait of Kerch are investigated. It is shown that fluctuations in the index are associated with the presence of specimens in schools in which the growth of sexual cells is not completed. It is ascertained that the values of indices depend on the degree of the development of the younger generation of cells and relative fecundity determined by large-sized cells.

УДК 597.593.4:597—116:597—154.343

ПОПУЛЯЦИОННАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ООЦИТОВ ЧЕРНОМОРСКОГО ЛОБАНА (*Mugil cephalus* L.) К ГИПОФИЗАРНЫМ ГОНАДОТРОПИНАМ НА ПРОТЯЖЕНИИ НЕРЕСТОВОГО СЕЗОНА

Л. Г. Гнатченко (АзЧерНИРО)

Ранее нами было показано, что чувствительность желтковых ооцитов к гонадотропинам у преднерестовых самок лобана зависит от степени развития гонад, размера клеток, а также от времени вылова рыб в течение сезона (Гнатченко, 1976). В период нерестового хода, который у лобана продолжается около трех месяцев, все эти характеристики существенно меняются (Апекин, Виленская, 1978). Представляло интерес более подробно исследовать чувствительность желтковых ооцитов к гонадотропинам на протяжении ряда сезонов, так как, с одной стороны, она отражает особенности биологии размножения всей популяции и позволяет определить оптимальные сроки работы с производителями при искусственном разведении лобана, а, с другой,—рассмотреть дифференцировку самок внутри одного косяка и выбрать наиболее подготовленных к нересту. В настоящей работе рассмотрена реактивность

ооцитов лобана к гипофизарным гонадотропинам *in vitro* на протяжении нерестовых сезонов в 1975—1977 гг.

Работа выполнена на экспериментальной базе в пос. Заветное (в районе Керченского пролива) в период с июня по август на самках лобана с гонадами в IV стадии зрелости. Рыб отлавливали малым подъемным кефалевым заводом, доставляли в садке на базу и помещали в бассейны с проточной и аэрируемой водой. Через 10—12 ч после доставки от самок брали кусочки яичников или щуповые пробы ооцитов, помещали их в раствор Рингера для морских рыб и разделяли на фрагменты до 10 клеток в каждом. В качестве гипофизарного препарата использовали порошок ацетонированных гипофизов сазана одной партии, заготовленных Главрыбводом. Из порошка гипофизов готовили вытяжку с исходной концентрацией по сухому веществу 10 мг/мл. Яйцеклетки в количестве 50 ± 10 штук инкубировали с определенным количеством экстракта в концентрации 0,2 мг/мл по методике, описанной ранее (Апекин, Гнатченко, 1976). Для оценки реакции ооцитов на гормоны в качестве критериев использовали последовательные состояния — фазы выделенные нами ранее: 1 — желтковые ооциты (Ж); 2 — жировых капель более 10 (более 10 ЖК); 3 — жировых капель 5—10 (5—10 ЖК); 4 — жировых капель 2—4 (2—4 ЖК); 5 — одна жировая капля (1 ЖК); 6 — гомогенный ооцит (ГОМ). Степень действия гормонов оценивали по процентному соотношению клеток разных состояний после 36—38 ч инкубации. Реактивность ооцитов у отдельной особи определяли по состоянию большей их части (не менее 50%, ответивших сходным образом); в косяке или выборке — по преобладающей группе или по проценту рыб, ооциты которых ответили на гипофизин *in vitro* от почти полного слияния жировых капель до овуляции яиц. Параллельно сравнивали другие биологические характеристики, определенные по ранее описанной методике (Апекин, Виленская, 1978).

Чувствительность ооцитов к гонадотропинам у лобана на протяжении нерестового сезона. На рис. 1 представлены данные по реактивности

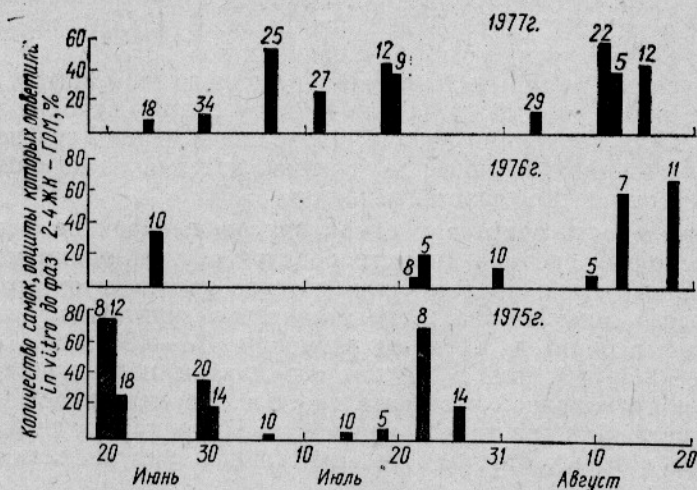


Рис. 1. Чувствительность ооцитов лобана к гонадотропинам *in vitro* на протяжении нерестового сезона.

ооцитов лобана в косяках, выловленных на пути их нерестовых миграций через Керченский пролив в Черное море в 1975—1977 гг. При рассмотрении данных прежде всего обращает на себя внимание то, что выборки существенно различаются по чувствительности яйцеклеток к гор-

монам гипофиза. Количество высокореагирующих рыб в выборках варьировало от 0 до 75%. Однако, если проследить за реактивностью самок в выборках в течение каждого сезона, то картина изменения чувствительности выглядит более упорядоченной. Так, в 1975 г. косяки рыб с высокой чувствительностью к гонадотропинам встречены нами 19 и 20 июня, т. е. в начале хода рыбы. Затем количество реагирующих рыб в выборках постепенно уменьшается, и в первой и второй декадах июля снижается до минимума. В выборке 7 июля ооциты ни одной из самок не реагировали на действие гипофиза. В конце июля вновь появляются самки с относительно высокой чувствительностью клеток.

В 1976 г. тенденция в изменении рассматриваемой чувствительности в общем повторилась, хотя на протяжении нерестового сезона была несколько смещена. Уровень реакций клеток *in vitro* в конце июня был еще достаточно высок, а самую низкую реактивность имели самки, выловленные в конце июля и в начале августа. Во второй декаде августа реактивность клеток резко возросла.

В 1977 г. в косяках лобана, идущих на нерест, наибольшая чувствительность зарегистрирована в начале июля и во второй декаде августа, наименьшая — во второй половине июня и в начале августа. Во второй декаде августа реактивность ооцитов к гонадотропинам вновь увеличилась.

Таким образом, анализ и сопоставление трехлетних данных позволили разделить каждый нерестовый сезон на периоды с относительно высокой (пик) и низкой (спад) реактивностью ооцитов к гипофизарным гормонам. Выделенные периоды не всегда совпадают во времени по годам, меняется количество наблюдаемых пиков — два или три, что связано, возможно, с колебаниями по времени начала нерестового хода. Из-за неблагоприятной промысловой обстановки нам не всегда удавалось исследовать весь период нерестовых миграций. Так, в 1975 г. активный ход рыбы наблюдался уже в первой декаде июня, а данные представлены лишь с 19 июня. В 1976 г. не представилось возможности получить данные о чувствительности самок в косяках, проходящих через пролив в первой и второй декадах июля. В 1977 г., по-видимому, пропущены первые косяки рыб, начинающих ход.

Направленный характер изменения реактивности ооцитов в выборках лобана, наблюдаемый от начала к концу сезона, наводит на мысль о гетерогенности популяции лобана, проходящей через Керченский пролив и существовании не менее двух ходов, каждый из которых характеризуется своим пиком чувствительности.

Чувствительность ооцитов у самок внутри выборок на протяжении сезона. Поскольку средний диаметр ооцитов служит одним из показателей производителей, представляло интерес проанализировать периоды нерестового хода. На рис. 2 представлены результаты культивирования желтковых ооцитов средним размером 461—480 мкм, 481—500, 501—520 и 521—540 мкм. В группы объединены подекадные выборки с близкой популяционной чувствительностью. Рассматривали не только активно ответивших на гипофизарную инъекцию группу рыб, но и самок, ооциты которых ответили незначительным укрупнением жировых капель.

Как видно, в первой половине хода, в период относительно высокой чувствительности самок, внутри выборок отчетливо выражена положительная связь между чувствительностью клеток и их размером. Наибольшая чувствительность к гонадотропинам была у самок с более крупными клетками — от 500 до 540 мкм. В ооцитах этих особей полностью завершились процессы гомогенизации желточных гранул и гидратации, наблюдалась овуляция яиц. В то же время в клетках размером до

500 мкм происходит только укрупнение жировых капель, выраженное в разной степени. В периоды, когда уровень популяционной чувствительности становился крайне низким, реактивность клеток *in vitro* резко снижалась у всех размерных групп и на этом уровне практически не дифференцировалась. Например, в третьей декаде июля 1976 г. максимальная реакция ооцитов диаметром от 461 до 540 мкм выражалась

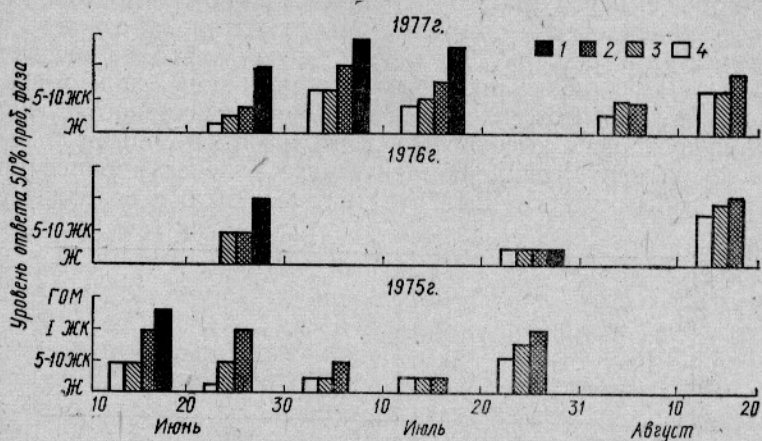
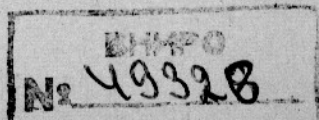


Рис. 2. Чувствительность ооцитов лобана к гонадотропинам *in vitro* в зависимости от их размера:
1 — 521—540 мкм; 2 — 501—520; 3 — 481—500; 4 — 461—480 мкм.

только в незначительном укрупнении жировых капель. У некоторых рыб визуальных изменений в клетках вообще не наблюдалось. К концу сезона чувствительность ооцитов на гонадотропины снова изменялась: как и в начале хода общий уровень популяционной чувствительности возрастал, однако четкой положительной связи между размером клеток и реакцией не прослеживалось. Пределы ответов были чрезвычайно узки — клетки независимо от их размеров дружно отвечали на действие одной и той же дозы гипофиза. По-видимому, в этот период все самки в косяках одинаково быстро приобретают чувствительность к гонадотропинам и по реакции ооцитов *in vitro* почти не различаются. Самки с ооцитами крупнее 520 мкм встречаются крайне редко. Интересно, что, несмотря на относительно высокую общую реактивность, овуляции яйцеклеток *in vitro* в конце сезона мы почти не наблюдали.

Таким образом, высокая популяционная чувствительность в начале сезона обеспечивается в основном за счет большей реактивности самок с ооцитами, достигшими размера более 500 мкм, в то время как в конце сезона высокую чувствительность к гонадотропинам приобретают все самки в косяке независимо от размера яйцеклеток.

Обнаруженные «пики» и «спады» популяционной чувствительности половых клеток, по-видимому, могут быть связаны и с ответом самок на гипофизарные препараты при получении от них зрелой икры. Экспериментальные работы по искусственному разведению лобана проводят в настоящее время начиная со второй половины июля. Между тем относительно высокая реактивность ооцитов в самом начале хода, установленная нами по данным 1975 и 1976 г., указывает на подготовленность самок к нересту уже в начале сезона и на целесообразность проведения работ именно в эти сроки. В 1977 г. такой эксперимент был проведен. И хотя соответствие между реактивностью яйцеклеток *in vitro* и ответом самок *in vivo* наблюдается в течение сезона не всегда, лучшие результаты по индуцированию созревания лобана получены в начале и



конце сезона. В эти периоды после двух инъекций гипофиза по принятой методике созрело от 83 до 100% рыб, в то время как во второй половине июля — начале августа при стимуляции самок по такой же схеме количество созревших рыб снизилось до 22—37%.

Интересно рассмотреть возможную связь между некоторыми функциональными показателями самок, соотношением самок и самцов в косяках, а также температурными условиями хода, с одной стороны, и реактивностью яйцеклеток — с другой. Мы попытались сделать это на примере нерестовых сезонов 1975 и 1977 гг. как наиболее обеспеченных материалом. Как видно из рис. 3, от начала к концу хода все показатели заметно изменяются. В начале и конце нерестового сезона самки, характеризующиеся высокой чувствительностью ооцитов, имеют более высокие значения гонадо-соматического индекса и более крупные клетки, чем рыбы с пониженной чувствительностью в середине сезона.

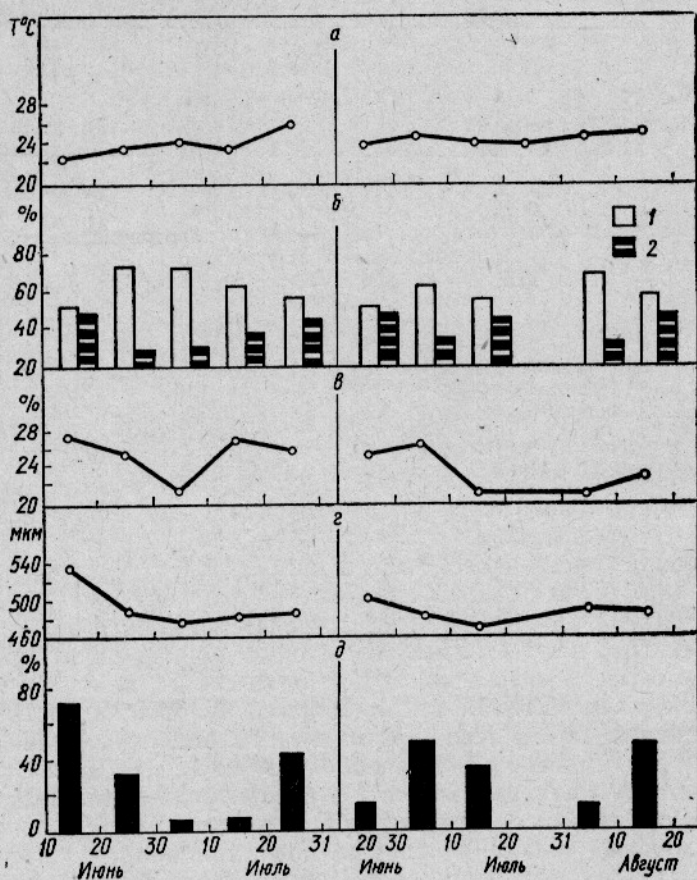


Рис. 3. Изменение чувствительности ооцитов к гонадотропинам *in vitro*, степени развития половых желез (ГСИ), среднего диаметра ооцитов, соотношения полов в косяках, а также температуры воды во время нерестового хода:

1 — количество самок; 2 — количество самцов; а — температура воды в Керченском проливе; б — соотношение полов в косяках; в — гонадо-соматический индекс; г — диаметр ооцитов; д — число рыб, ооциты которых ответили *in vitro* до фаз 2—4 — ГОМ.

В косяках с примерно равным соотношением самок и самцов в большинстве случаев реактивность выше, чем в косяках с преобладанием самок. Температура в период с середины июня по середину августа в Керченском проливе в 1975 и 1977 г. колебалась от 23 до 26°C с тен-

денцией к повышению к концу сезона. Заметного влияния ее на реактивность клеток *in vitro* не прослеживается.

Необходимо отметить, что соответствие исследованных показателей и чувствительности клеток прослеживается в течение сезона не всегда, особенно во второй его половине. При сравнении данных двух лет видно, что в 1975 г. синхронность изменений выражена ярче, чем в 1977 г. Так, в последнем сезоне средний диаметр ооцитов колебался незначительно, тем не менее реактивность клеток существенно варьировала. По-видимому, чувствительность ооцитов к гипофизарным гонадотропинам определяется комплексом факторов.

Как известно, реактивность ооцитов на гонадотропины *in vitro* возрастает по мере приближения самок к нерестовому состоянию (Wright, 1945; Гончаров, 1971). Подобное наблюдалось и у черноморского лобана. Об этом свидетельствуют как положительная связь между размером ооцитов и силой их ответа на гормон, так и значительное повышение реактивности клеток после сенсбилизации самок гипофизом. В последнем случае созревание клеток почти всегда проходит до конца и завершается овуляцией. При воздействии на самок неблагоприятных факторов реактивность клеток *in vivo* и *in vitro* снижается. Все это убеждает в том, что реактивность ооцитов на гипофизарные гормоны *in vitro* может быть показателем подготовленности к нересту как отдельной особи, так и производителей в косяке; позволяет исследовать особенности размножения всей популяции.

Выводы

1. Чувствительность ооцитов лобана к гипофизарным гонадотропинам *in vitro* заметно изменяется на протяжении нерестового сезона. В начале и конце хода мигрируют рыбы с более высокой реактивностью половых клеток, чем в середине, что, по-видимому, связано с гетерогенностью популяции.

2. Высокая чувствительность ооцитов к гонадотропинам в первой половине нерестового хода, свидетельствующая соответственно о высокой подготовленности самок к нересту, позволяет ориентировать проведение рыбоводных работ именно в этот период.

3. В начале сезона наибольшую реактивность имеют самки с крупными ооцитами — более 500 мкм. В конце сезона связь между средним диаметром и реактивностью клеток выражена слабее. Чувствительность повышена у всех самок.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Апекин В. С., Гнатченко Л. Г. О реакции ооцитов кефалей на гормональные препараты *in vitro*. — Труды ВНИРО, 1976, т. СХV, с. 34—40.

Апекин В. С., Виленская Н. И. Характеристика полового цикла и состояние гонад во время нерестовой миграции черноморской кефали-лобана (*Mugil cephalus* L.). — Вопросы ихтиологии, 1978, т. 18, вып. 2 (110), с. 494—506.

Гнатченко Л. Г. Оценка подготовленности кефалей к нересту по реакции их ооцитов *in vitro*. — В кн.: Экологическая физиология рыб. Киев, 1976, с. 142.

Гончаров Б. Ф. Изучение закономерностей перехода ооцитов амфибий и осетровых рыб от роста к созреванию. — Автореферат диссертации на соискание ученой степени канд. биол. наук. М., 1971, 27 с.

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

Gnutchenko L. G.

SUMMARY

Responses of oocytes of grey mullet to the same dose of the pituitary of carp in vitro were investigated in the migration period of females through the Strait of Kerch from the Azov Sea to the Black Sea. It is shown that the sensitivity of sexual cells to gonadotropins is not the same within the spawning season. Specimens with distinctly displayed responses migrate at the beginning and end of the spawning run which seems to be associated with the heterogeneous composition of the population. Responses of cells to gonadotropins in vitro are also investigated with regard to their mean size. A positive relation between the magnitude of a response of oocytes and their mean diameter is ascertained in the first half of the migration run. The relation is less distinctly seen in the second part of the run because all females become highly sensitive to gonadotropins regardless the size of cells.

УДК 597.593.4:597—114.7

**О ЗООЛОГИЧЕСКОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ
ГИПОФИЗАРНЫХ ГОНАДОТРОПИНОВ
ЧЕРНОМОРСКОЙ КЕФАЛИ-ЛОБАНА (*Mugil cephalus* L.)**

Н. А. Белая (ВНИРО)

В связи с разработкой методов устойчивого получения зрелых половых продуктов рыб путем гипофизарных инъекций необходимо знать не только состояние половых желез, но и гипофиза, регулирующего их деятельность. Лобан в этом отношении представляет особый интерес, так как для стимуляции его созревания и нереста используются гипофизы рыб этого же вида (Апекин, 1976).

Для определения гонадотропной активности гипофизов рыб наиболее широко используются методы тестирования in vivo: реакция спермиации амфибий (Алпатов и др., 1950), овуляции у вьюна (Казанский, Нусенбаум, 1947) и др. В последние годы для этой цели предложено применять также систему созревания ооцитов in vitro (Гончаров, 1971). Этот метод более чувствителен, чем выполненные на уровне организма.

При сравнении гонадотропинов представляет также интерес исследование степени их антигенного родства для суждения о биохимической специфичности гормонов разных видов (Breton et al., 1973).

В настоящей работе выясняется возможность оценки гонадотропной активности гипофиза лобана принятыми методами тестирования, а также проводится сравнение антигенных свойств гипофизарных гонадотропинов лобана и рыб других видов.

Работа выполнена на гипофизах самок лобана *Mugil cephalus* L. с гонадами в IV стадии зрелости. Рыб отлавливали в Керченском проливе во время хода на нерест в июне — августе 1974—1976 гг. Гипофизы консервировали в ацетоне (Фалеева, 1968). В работе использовали очищенные в лаборатории физиологии Музея естественной истории (Париж, Франция) гонадотропины карпов (Bg 2.276 1) и севриги (Bg 4—195 асг GTH и B 4.38A), ацетонированные гипофизы самок с гонадами в IV стадии зрелости следующих видов рыб: сазана, карпа, осетра, севриги, ската, камбалы-калкана, окуня, бычка-кругляка, сай-