

## ИНДУЦИРОВАНИЕ СОЗРЕВАНИЯ ЧЕРНОМОРСКОЙ КЕФАЛИ- СИНГИЛЯ (*Mugil auratus* Risso) ГИПОФИЗАМИ СИНГИЛЯ И САЗАНА

В. С. Апекин, Л. Г. Гнатченко, Г. А. Вальтер (ВНИРО, АзЧерНИРО,  
ТИНРО)

Три промысловых вида черноморских кефалей (лобан, остронос и сингиль), несмотря на общую, ограниченную малыми глубинами зону обитания и близкие спектры питания, успешно используют возможности занимаемого ими биотопа. Целесообразно, ориентируясь на поликультурное рыбоводство, освоить искусственное разведение всех трех видов. К настоящему времени разработаны методы стимуляции созревания и нереста лобана (Апекин, Тронина, 1972; Апекин и др., 1976). Работы с сингилем представляют не меньший интерес, так как этот вид является основным объектом отечественного кефалеводства. Зрелую икру лобана получают с помощью инъекций свежего гипофиза своего вида, вызывающего быстрое созревание. Однако этот способ требует постоянного наличия избыточного количества производителей и сохранения желез при низкой температуре, что затрудняет его использование. Поэтому представляет интерес исследование индуцирующего действия на сингиля гипофизов своего вида, а также ацетонированных гипофизов сазана, заготавливаемых Главрыбводом.

Опыты выполнены на самках черноморского сингиля (*Mugil auratus* Risso) в августе — сентябре 1971—1973 гг. Рыбу, мигрирующую через Керченский пролив из Азовского в Черное море на нерест, отлавливали подъемным кефалевым заводом, расположенным в 10 км от экспериментальной базы. Производителей доставляли на автомашине в полиэтиленовых мешках с аэрируемой водой по 5—7 шт. на 30—40 л. На базе в маточном цехе их размещали в бетонных бассейнах емкостью 2,5—3 м<sup>3</sup> по 10—15 шт. в каждом. В первые 12 ч в бассейнах поддерживали постоянную проточность, затем воду меняли по мере необходимости. Температура воды в течение сезона постепенно снижалась с 25 до 17°С, соленость колебалась от 15,5 до 18‰. В течение одного опыта температура и соленость обычно оставались постоянными.

Опыты проводили на четырехлетках длиной 24—38 см, массой 300—650 г. Суспензию как свежих, так и ацетонированных гипофизов готовили на физиологическом растворе (0,8% NaCl) перед опытом и вводили 0,5—1 мл внутримышечно. У каждой самки перед инъекцией и после нее брали шупом через генипору пробы ооцитов и исследовали под биноклем при увеличении 4×8: измеряли диаметр 50 клеток, отмечали степень слияния жировых капель в процессе формирования одной, типичной для сингиля, а также степень гомогенизации желтка и гидратации. Предварительно были выделены последовательные состояния созревающих ооцитов (фазы) такие же, как у лобана (Апекин и др., 1976): желтковый ооцит — фаза Ж; начало укрупнения жировых капель — фаза НЖК; более 10 жировых капель — фаза б. 10 ЖК; начало смещения ядра, 5—10 жировых капель — фаза 5—10 ЖК; 2—4 жировые капли — фаза 2—4 ЖК; завершение образования одной капли — фаза 1 ЖК, гомогенизация желтка, гидратация — фаза ГОМ; зрелое яйцо, овуляция — фаза ЗЯ.

Методика культивирования ооцитов *in vitro* описана ранее (Апекин, Гнатченко, 1976). Часть клеток, взятых шупом, инкубировали в

течение 44—48 ч в суспензии свежего гипофиза сингиля концентрацией 0,1 мг/мл, а часть — без него.

В табл. 1 сведены результаты индуцирования созревания сингиля свежими или ацетонированными гипофизами, собранными от преднерестовых сингилей — самок и самцов. В среднем масса свежей железы составляла 4,2 мг (52 шт.), ацетонированной — 1,0 мг (24 шт.). Однократное введение свежего гипофиза вызвало полное созревание трех из семи рыб; у остальных процесс продвинулся до фаз 2—4 ЖК и ГОМ. Ацетонированный гипофиз только в одном случае вызвал гомогенизацию желтка в ооцитах, а в остальных — лишь незначительное укрупнение жировых капель. У двух самок началась тотальная резорбция ооцитов.

Таблица 1

Действие на преднерестовых самок сингиля трех свежих или ацетонированных гипофизов своего вида (2—12 сентября 1971 г., температура воды 20—22°C, соленость 15,5—16,8‰)

№ самки в опыте	Масса тушки, г	Исходное состояние		Продолжительность наблюдения, ч	Конечное состояние	
		диаметр ооцитов, мкм	фаза		диаметр ооцитов, мкм	фаза
<b>Свежий гипофиз</b>						
28	260	500	Ж	48	760	ЗЯ*
32	320	520	Ж	43	780	ЗЯ*
47	—	530	Ж	44	775	ЗЯ*
46	380	510	Ж	57	520	2—4 ЖК
35	310	510	Ж	67	640	ГОМ
31	330	550	НЖК	68	680	ГОМ
<b>Ацетонированный гипофиз</b>						
13	420	540	НЖК	36	700	ГОМ
12	340	560	НЖК	36	590	НЖК
25	270	510	НЖК	45	510	НЖК
23	305	520	Ж	71	500	Ж**
19	300	500	Ж	95	490	Ж**
20	270	490	Ж	96	510	6.10 ЖК
<b>Физиологический раствор</b>						
27	340	490	Ж	70	490	Ж
42	290	510	Ж	54	510	Ж
17	412	425	Ж	60	440	Ж

\* Овуляция.

\*\* Резорбция.

В контрольной группе рыб, которым ввели физиологический раствор, изменений не обнаружено.

Возникновение тотальной резорбции крупных желтковых и созревающих ооцитов у некоторых рыб связано с исходным размером ооцитов (см. табл. 3), а также с неблагоприятными, не соответствующими нерестовым условиям содержания или с неадекватной состоянию жел-ез стимуляцией. Первые признаки резорбции — отслоение и разрыхление оболочек: извлеченные щупом фолликулы легко повреждаются при попытке отделить их друг от друга. В физиологическом растворе и в морской воде резорбирующие ооциты приобретают положительную плавучесть, нормальные же тонут. На поздних стадиях атрезии тургор яичников вялый, ватообразный, цвет белесый; фолликулярная оболочка утолщена, размер ооцита уменьшен, внутри заметны жировые капли разной степени дисперсности. На мазках давленных клеток

гранулы желтка почти не встречаются. У рыб, ооциты которых резорбируют, заметно улучшается общее состояние: они покрываются обильной слизью; покраснения и ссадины, полученные во время отлова, быстро заживают; подвижность и пугливость снижаются; возрастает устойчивость к неблагоприятным факторам. Самки, перевезенные после экспериментального сезона в аквариальную АзчерНИРО, начали питаться и жили затем более полугода.

В опыте по действию на сингиля гипофиза сазана двум самкам ввели по 5 мг препарата и через 1,5 суток инъекцию повторили. Через 14 ч после второй инъекции у обеих самок заметно увеличилось брюшко и у одной начала выделяться икра. В следующей серии опытов исследовали эффект четырехкратных инъекций того же препарата, по 3 мг через каждые 14—16 ч. Через 48—77 ч после начала инъекцирования 10 из 15 самок с ооцитами крупнее 500 мкм созрели, но у половины из них овуляция была нарушена. Причиной этому могли быть как гиперстимуляция, так и снижение температуры воды с 19 до 17°C через сутки после начала эксперимента. У сингилей с ооцитами мельче 500 мкм наблюдалась ярко выраженная резорбция, наступившая на разных фазах: НЖК, 6. 10 ЖК, 2—4 ЖК. Доза гипофиза в опытах (4 мг на 100 г тушки), по-видимому, была избыточной, так как у трех самок произошла одновременная гидратация всей массы яйцеклеток, в результате объем яичников резко увеличился, что вызвало гибель самок. В следующих опытах суммарная доза была уменьшена. Исследовали эффективность двух инъекций при разных промежутках времени между ними (табл. 2).

Таблица 2

Созревание самок сингиля под действием гипофиза сазана

№ самки в опыте	Исходное состояние ооцитов		После инъекции				После инъекции				Конечное состояние ооцитов				
	Масса тушки, г		Первая инъекция, мг	время, ч	размер, мкм	фаза	Вторая инъекция, мг	время, ч	размер, мкм	фаза	Общее время наблюдений, ч	Доза гипофиза на 100 г тушки	размер, мкм	фаза	
	размер, мкм	фаза													размер, мкм
29 августа — 10 сентября 1972 г., температура воды 21°C, соленость 17,8‰															
56	618	550	НЖК	6	12	550	НЖК	—	24	550	5—10ЖК	49	1,0	560	1ЖК
13	372	500	Ж	6	24	515	НЖК	—	24	510	6. 10ЖК	66	1,6	500	6. 10ЖК
14	310	490	Ж	9	24	517	6. 10ЖК	—	24	525	1ЖК	58	2,9	525	1ЖК
16	398	495	Ж	9	24	511	6. 10ЖК	—	24	526	1ЖК	66	2,3	540	1ЖК
10	325	500	Ж	6	13	510	НЖК	3	35	570	1ЖК	67	2,8	640	ГОМ
11	430	528	Ж	6	13	541	НЖК	3	35	575	2—4ЖК	67	2,1	622	ГОМ
40	356	540	НЖК	6	24	620	1ЖК	3	12			36	2,5	780	ГОМ
41	365	543	НЖК	6	24	620	1ЖК	3	12			36	2,5	800	ГОМ

1—6 и 16—20 сентября 1973 г., температура воды 19—17°C, соленость 18‰

33	385	550	НЖК	2	12	550	НЖК	5	24	600	6. 10ЖК	48	1,6	620	2—4ЖК
34	385	538	Ж	1	12	540	Ж	5	24	640	2—4ЖК	48	1,6	640	2—4ЖК
35	315	525	Ж	1	12	529	НЖК	5	24	633	5—10ЖК	44	1,9	824	3Я, ов
64	445	545	Ж	1	32	546	НЖК	5	25	552	НЖК	79	1,3	582	2—4ЖК
65	290	551	Ж	1	30	560	НЖК	5	26	575	6. 10ЖК	77	2,0	575	2—4ЖК
66	340	575	НЖК	1	30	575	6. 10ЖК	5	26	600	1ЖК	77	1,8	600	1ЖК
40	400	548	НЖК	2	24	566	НЖК	5	25	803	3Я	49	1,7	овуляция	
94	550	555	НЖК	2	24	578	НЖК	5	24	654	2—4ЖК	64	1,3	740	ГОМ
95	360	550	НЖК	2	25	586	НЖК	5	24	798	3Я	60	1,9	овуляция	
96	465	500	Ж	2	22	542	НЖК	5	23	654	ГОМ	64	1,6	700	ГОМ
92	580	590	НЖК	2	26	595	НЖК	5	23	653	2—4ЖК	80	1,2	797	3Я, ов.

Рассмотрим опыт с самкой № 56; сразу после щуповой пробы ей ввели 6 мг препарата. Первоначально диаметр ооцитов, находившихся в фазе НЖК, был равен 550 мкм. В ооцитах второй пробы, взятых через 12 ч после инъекции, никаких изменений не обнаружено. Размер клеток третьей пробы, взятой через 24 ч (или через 36 ч от начала опыта), не изменился, но жировые капли в них укрупнились до фазы 5—10 ЖК. Через 13 ч после последнего анализа опыт прекратили; размер клеток достиг 560 мкм, в них была сформирована одна жировая капля. Таким же образом следили за ходом созревания и остальных рыб.

Как видно из данных табл. 2, однократная инъекция 6 или 9 мг гипофиза, хотя и вызвала заметный сдвиг, не обеспечила полного созревания. Эффективнее вводить препарат в два приема при инъекции по схеме 6 + 3 мг. Всего за 36 ч от начала опыта клетки достигли размера зрелых яиц — 780 и 800 мкм (самки № 40, 41).

В следующей серии опытов дозу снизили. После первой инъекции 1 или 2 мг гипофиза несколько увеличился, правда не во всех случаях, размер ооцитов и жировые капли в них укрупнились до фаз НЖК и 6. 10 ЖК. Через 24—32 ч общая картина была такой же, как и через 12—24 ч. По-видимому, изменения начались между 12 и 22 ч. Вторую инъекцию провели в трех вариантах: через 12, 22—26 ч и 30—32 ч. Через 23—26 ч степень созревания самок оказалась различной (см. табл. 2). Во второй группе (30—32 ч) процесс развивался медленнее, чем в первой (12 ч). Лучшие результаты получены при введении гормонов по схеме 2 + 5 мг через 22—26 ч. Из пяти рыб полностью созрели три, у двух отмечена гидратация ооцитов. Общая эффективная доза гипофиза составила 1,2—1,9 мг на 100 г тушки. Таким образом, конечный результат зависит как от величины первой дозы, так и от промежутка времени между инъекциями.

Продолжительность созревания сингиля до начала овуляции при температуре воды 19—22°C составляла от 37 до 48 ч (в среднем 44 ч), при снижении температуры до 17°C — от 60 до 80 ч. Размер зрелых ненабухших икринок варьировал от 744 до 824 мкм (средний  $770 \pm \pm 8,8$  мкм), диаметр жировой капли 315—350 мкм.

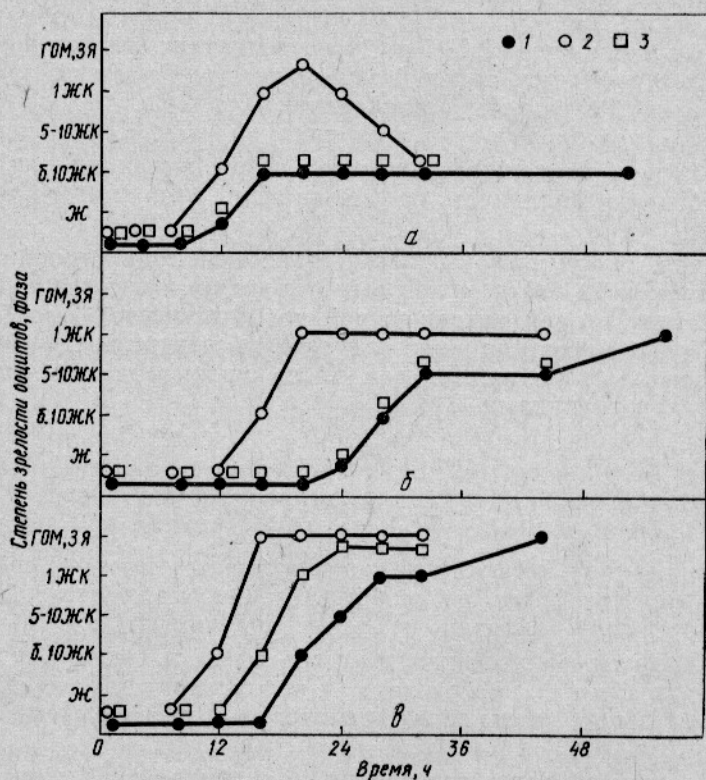
В конце августа и в сентябре в Керченском проливе встречаются самки с гонадами на III и VI стадиях зрелости. По материалам 1971—1973 гг. исследовали связь между средним размером ооцитов и ответом самок на экзогенные гонадотропины (12 мг свежего гипофиза сингиля при однократном введении или 6—12 мг гипофиза сазана при дробном). Когда диаметр ооцитов не достиг 475 мкм, гипофиз (табл. 3) вызывал лишь незначительное укрупнение в ооцитах жировых капель или вообще никак не повлиял. При этом у некоторых самок уже через 48—80 ч отмечена резорбция, в дальнейшем наступившая и у остальных. По мере увеличения размера ооцитов от 475—500 до 525—550 мкм доля особей, достигших предовуляционного состояния или созревших, последовательно возрастала с 35 до 76%. Можно полагать, что у части самок ооциты размерами 475—525 мкм завершили рост, но у части — нет. У самок с ооцитами более 550 мкм реакция на гормон несколько ухудшилась. Как показано Н. И. Куликовой с соавторами (статья в настоящем сборнике), размерно-вариационные ряды таких клеток растянуты. Возможно, для таких рыб нужна другая схема стимулирования.

Из данных табл. 3 следует, что зрелую икру можно получить у сингилей с ооцитами 525—550 мкм и не мельче 475 мкм.

Для исследования чувствительности ооцитов к гонадотропинам *in vitro* в зависимости от продолжительности предшествующего дейст-

Созревание сингиля в зависимости от размера ооцитов (реакция на 12 мг свежего гипофиза сингиля или на 6—12 мг гипофиза сазана)

№ п/п	Состояние ооцитов через 48—80 ч после инъекции	Исходный диаметр ооцитов, мкм											
		325	350	375	400	425	450	475	500	525	550	575	600
1	Без изменений или слабое укрупнение жировых капель	1	1	1	2	4	4	2	2				17
2	Резорбция					2	2	3					7
3	Сформирована жировая капля							6	4	4	4	1	19
4	Завершение гидратации и овуляция							6	5	13	4	1	29
	Всего	1	1	1	2	6	6	17	11	17	8	2	72

Рис. Изменения ооцитов сингиля во времени *in vivo* и *in vitro* после инъекции самкам 10 мг свежего гипофиза:

1 — состояние ооцитов в фазах в пробах, взятых щупом; 2 — их состояние после инкубации с 0,1 мг/мл свежего гипофиза сингиля; 3 — после инкубации без гипофиза; а — самка № 43, ооциты 475 мкм; б — самка № 46, 500 мкм; в — самка № 47, 525 мкм.

вия на них экзогенных гормонов *in vivo* трем самкам однократно ввели по 10 мг свежего гипофиза сингиля и через каждые 4 ч брали пробы ооцитов, часть которых культивировали с гипофизом, а часть — без него (рисунок). У самки № 43 лишь укрупнились жировые капли до фазы б. 10 ЖК, у самки № 46 ооциты достигли фазы 1 ЖК, самка

№ 47 созрела полностью. У всех трех самок чувствительность исходных ооцитов к гонадотропинам была низкой и после 48 ч инкубации с гормоном никаких изменений в ооцитах не произошло. Это состояние сохранялось и через 54 и 68 ч. Далее в промежутке между 8—20 ч чувствительность к гонадотропинам последовательно возрастала и достигла максимума к 16—20 ч; вынесенные в это время *in vitro* ооциты достигли фаз 1 ЖК, ГОМ и ЗЯ. Позже у самки № 43 она заметно снизилась, а у самок № 46 и 47 сохранилась на прежнем уровне (см. рисунок).

При остановке или нарушении процесса созревания морфологическая картина ооцитов (фазы созревания) не отражает их чувствительности к гонадотропинам. Так, ооциты самки № 43, взятые из яичников на фазе б. 10 ЖК через 20 ч после инъекции гипофиза достигли в чашке с гормоном фазы ГОМ, их размер в результате гидратации увеличился до 675 мкм, а взятые на такой же фазе через 32 ч, после культивирования остались без изменений. Клетки самки № 46 не развивались *in vitro* далее фазы 1 ЖК, несмотря на то, что их состояние через 20 и 32 ч заметно различалось (см. рисунок). При благополучном протекании процесса контрольные ооциты обнаруживали некоторую инерционность. После 24 ч экспозиции вынесенные *in vitro* ооциты как с гормоном, так и без него достигли размера зрелых клеток — 750 мкм. Результаты исследования позволяют для всех трех самок выделить два характерных состояния:

1) латентное, продолжительностью после инъекции около 8 ч, в течение которого фолликулы не успели еще, по-видимому, сенсibilizироваться;

2) период максимальной чувствительности к гонадотропинам в промежутке между 12—24 ч, с которым, по-видимому, связана эффективность действия второй разрешающей дозы гипофиза. Таким образом, опыты *in vitro* позволили охарактеризовать некоторые временные закономерности созревания ооцитов после индуцирования самок экзогенными гонадотропинами.

### Выводы

1. Созревание и овуляцию у сингиля удается вызвать свежими гипофизами сингиля (3 шт. на особь). Ацетонированные гипофизы в такой же дозе менее активны и слабее индуцируют созревание.

2. Полное созревание сингиля можно вызвать также ацетонированными гипофизами сазана при двух- и четырехкратных инъекциях. Лучшие результаты получены при инъектировании рыб по схеме 2 + 5 мг через 22—26 ч.

3. Продолжительность созревания при температуре воды 19—22°C и солёности 17—18‰ составляет около 44 ч. Размер ненабухших икринок 744—824 мкм. Диаметр жировой капли 315—350 мкм.

4. Для получения зрелой икры сингиля целесообразно отбирать самок с ооцитами 525—550 мкм и не мельче 475 мкм.

5. На основании анализа реактивности ооцитов к гонадотропинам в системе *in vitro* выделены периоды: латентный — продолжительностью около 8 ч и максимальной чувствительности к гонадотропинам между 12—24 ч после инъекции гипофиза, с которым, по-видимому, связана эффективность действия на самок второй гипофизарной инъекции.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Апекин В. С., Тронина Т. М. Опыты по стимулированию созревания и нереста кефали (предварительные результаты). — Гидробиологический журнал, 1972, т. VIII, № 1, с. 82—89.

Апекин В. С., Вальтер Г. А., Гнатченко Л. Г. Изменение ооцитов при созревании и получении зрелой икры с помощью гомопластических гипофизарных инъекций у лобана (*Mugil cephalus* L.). — Труды ВНИРО, 1976, т. CXV, с. 13—23.

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

### *Induction of maturation of long-finned mullet (*Mugil auratus* Risso) with pituitaries of mullet and carp*

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

#### SUMMARY

The maturation of pre-spawning females of long-finned mullet was induced with three fresh pituitaries or pituitaries treated with acetone which were taken from the same species. Fresh pituitaries induced ovulation in 50% of specimens. Pituitaries treated with acetone brought about an insignificant increase in the oil droplets of oocytes. Pituitaries of carp injected twice (2+5 mg in 22—26 h) induced complete maturation. The maturation lasted about 44 hours at the temperature of 19—22°C. The sizes of unswelled eggs varied from 744 to 824 mkm. To obtain mature eggs it is necessary to select specimens with oocytes measuring 525—550 mkm, the minimum size being 475 mkm. The analysis of responses of oocytes to gonadotropins *in vitro* indicated a latent period and a period of maximum susceptibility to gonadotropins. The latter seems to be associated with the effect of the second pituitary injection.

УДК 639.3.043.2:597.593.4

## ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН И ПИЩЕВЫЕ ПОТРЕБНОСТИ ЛИЧИНОК И МОЛОДИ КЕФАЛИ-ЛОБАНА ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ В ИСКУССТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ

О. Н. Маслова (ВНИРО)

В настоящее время большое внимание уделяется определению пищевых потребностей рыб по количеству утилизированного кислорода (Винберг, 1956; Крохин, 1957; Сказкина, 1970; Сушеня, 1973, и др.).

При выращивании личинок и молоди морских рыб необходимо знать характеристики энергетического и пластического обмена выращиваемых рыб в искусственных условиях. Цель нашего исследования — изучить энергетический обмен личинок и молоди кефали-лобана и определить их пищевые потребности при выращивании в искусственных условиях.

Эксперименты проводились на опорном пункте АзчерНИРО в пос. Заветное. Материалом для опытов служили личинки и мальки кефали-лобана с момента выклева до 30-дневного возраста, массой от 0,15 до 57,2 мг.

Скорость потребления кислорода определяли методом замкнутых сосудов по общепринятой методике (Винберг, 1956; Карпевич, 1960). Респирометры (объем от 10 до 45 мл) с личинками и контрольные помещали в бассейны, где проводилось выращивание. В зависимости от размеров для каждого опыта брали от 5 до 25—30 личинок. Длительность опыта колебалась от 3—4 ч (личинки на выклеве) до 1 ч (30-дневные мальки). Насыщение воды кислородом в конце опытов было не ниже 70% от первоначального. Содержание кислорода в воде определяли по Винклеру. Температура воды была постоянной в течение