

TARTU RIIKLIKU ÜLIKOOLI  
TOIMETISED

---

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ

ТАРТУСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА  
ACTA ET COMMENTATIONES UNIVERSITATIS TARTUENSIS

---

718

СОЗРЕВАНИЕ ООЦИТОВ,  
ОПЛОДОТВОРЕНИЕ  
И ЭМБРИОНАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ  
КОСТИСТЫХ РЫБ

Труды по зоологии

TARTU RIIKLIKU ÜLIKOOLI TOIMETISED  
УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ  
ТАРТУСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА  
ACTA ET COMMENTATIONES UNIVERSITATIS TARTUENSIS  
ALUSTATUD 1893.a. VIINIK 718 ВЫПУСК ОСНОВАН В 1893.g.

СОЗРЕВАНИЕ ООЦИТОВ,  
ОПЛОДОТВОРЕНИЕ  
И ЭМБРИОНАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ  
КОСТИСТЫХ РЫБ

Труды по зоологии

ТАРТУ 1985

Редакционная коллегия:

Х.Н. Лмиг (председатель), Х.Я. Ремм, К.Й. Пылдвере.

Ответственный редактор Д. Рюткок

Режиме заложки Тартуского государственного университета.

Выпуск 778.

СОБРАНИЕ СООБЩЕНИЙ, ОБЪЕДИНЕНИЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ  
РАЗВИТИЕ КОСТИСТЫХ РЫБ.

Труды по зоологии.

На русском языке.

Режиме на английском языке.

Тартуский государственный университет.

СССР, 202400, г. Тарту, ух. Вайксооли, 18.

Ответственный редактор Д. Рюткок.

Корректоры Л. Оноповенко, Н. Пауска, Л. Яго, М. Парк.

Подписано к печати 5.12.1985.

№ 10546.

Формат 60x90/16.

Бумага вклейка.

Машиннопись. Ротационн.

Учтно-издательских листов 4,95. Печатных листов 5,5.

Тираж 350.

Выпуск № 1104.

Цена 75 коп.

Типография ТГУ, СССР, 202400, г. Тарту, ух. Вайксооли, 14.

2 - 8

## СОЗРЕВАНИЕ И ОВУЛЯЦИЯ ООЦИТОВ КОСТИСТЫХ РЫБ *in vitro*

Т.В. Саат

Изучение закономерностей созревания ооцитов занимает важное место в современных исследованиях по биологии развития.

В период созревания ооцита у позвоночных (а также у большинства беспозвоночных) животных осуществляются мейотические деления и существенно изменяется строение и свойства цитоплазмы; в результате ооцит превращается в яйцо, способное к оплодотворению и дальнейшему развитию /см. Детлаф, 1977/.

Систематическое исследование становления организации зрелого яйца в процессе созревания началось около 15 лет тому назад. Важную роль в разработке этой проблемы сыграли исследования, которые показали, что созревание ооцитов может осуществляться вне тела самки в солевом растворе. Созревание ооцитов *in vitro* открыло перспективы не только для детального изучения изменений ооцитов в процессе созревания, гормональной регуляции созревания и овуляции ооцитов, влияния внешних условий на эти процессы, но и для применения микрохирургических и молекулярно-биологических методов исследования /см. Детлаф, 1977; Masui, Clarke, 1979/. Основными объектами исследования являются ооциты амфибий и осетровых рыб, а также млекопитающих и иглокожих. В последние годы в таких исследованиях все чаще используют и ооциты костистых рыб.

Возможность индукции созревания ооцитов костистых рыб *in vitro* была установлена еще Я.Д. Киршенблатом /1959, 1961/ на выкне; за последние годы число видов рыб, у которых удалось получить созревание ооцитов *in vitro*, значительно увеличилось (табл. I). В таблице приведены только те работы, в которых предложена новая методика проведения опытов или существенно модифицирована существующая. Из работ одного и того же автора на данном объекте указана, как правило, последняя модификация. Не приведены работы, в которых ооциты брали в опыт на такой поздней стадии созревания, что процесс этот мог идти до конца в среде, не содержащей гормона /Kawashima,

Таблица I

Методика проведения опытов по созреванию осетров костистых рыб

Вид	Время проведения опыта	Среда, pH	Температура и продолжительность (часы)	Число осетров	Анти-обонятки	Критерий созревания	До какой стадиишло созревание	Созревание		Оуляция зрелых икц	Автор
								9	10		
I	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Радужная форель <i>Salmo gairdneri</i>	CP	Коргуланд pH 8	13-14° I20	8шт 2-5 2 шт/мл	не доб.	p3П, СК	-	+	++	++	Сакуи, Гуреева-Преображенская, 1975
	CP	тp33 pH 8	10 или 15° 72-120	8шт 25 13 шт/мл	П, С	p3П, СК	P	++	++	(+)	Jalabert, 1976, 1978
	CP	Коргуланд pH 8	14-15°	8шт 15-20 4-9 шт/мл	не доб.	p3П, СК, СК	-	++	++	+	Гуреева-Преображенская, 1978
Ручьевая форель <i>Salvelinus fontinalis</i>	CP	Коргуланд	15±0,5° 48	8шт 15 I-2	-	p3П	-	-	++	0	Goets, Bergman, 1978b
Нижн. Мекс lucius	CP	тp33 pH 8	12° 40-60	8шт 40-50 20-25 шт/мл	П, С	p3П, СК	-	++	++	0	Jalabert, 1976
Зеленая рыба <i>Salvelinus namaycush</i>	-	сp33 pH 8	25° 24	8шт 50-100 50-100 шт/мл	П, С	p3П, СК	-	++	++	0	Jalabert, 1976
Серебряный карась <i>Carassius auratus</i>	CP	М199С	20-22° 20-30	8шт 5-10 16-24 шт/мл	не доб.	p3П, СК	3	++	++	+	Саар, 1983, 1986
Киж. Сургулим <i>Coregonus nasus</i>	CP	Коргуланд pH 8	18-10° 48	8шт 20 9 шт/мл	не доб.	p3П	M II	0	+	0	Сакуи, Гуреева-Преображенская, 1975
	CP	Коргуланд pH 8	18-20° 24-36	8шт 10-15 100 шт/мл	-	p3П	P	++	++	0	Krler, 1981a, b, d
	CP	192X + Коргуланд 1:1	23° 48-60	8шт 130-160 78-92	П, С	p3П, СК	-	+	-	+	Бурданов, Раша, 1981
Нижн. Мекс <i>Cobitis taenia</i>	CP	М199С, 195С	20-23° 20-30	8шт 5 16-24 шт/мл	не доб.	p3П, СК	P	++	++	++	Саар (не оубд.)
	CP	М199С, 195С	18-19° 12	8шт 10 10-30 шт/мл	не доб.	p3П, СК	ПН1	-	++	+	Саар (не оубд.)
Амурский хан <i>Hiodon tergisus</i>	ЮР, CP	1998	25±1° 18	8шт 60-80	П, С	p3П, СК, P, P	M II, P	++	++	+	Dramaten, Katch, 1978



Motonaga, 1950; Yamauchi, Yamamoto, 1973 и др./ Включены работы, в которых было получено разрушение зародышевого пузырька (ЗП) ооцитов; те случаи, когда под влиянием гормонов происходили лишь самые начальные изменения созревания (слияние желтка или жировых капель, миграция ЗП) без последующего исчезновения ЗП, не учтены /напр., Федоров, 1977/.

#### Методика проведения опытов

Время проведения опытов. Опыты проводили, как правило, в период естественного нереста или незадолго до него (табл. 1). В более ранние сроки ооциты плохо реагируют на гормоны; их чувствительность можно повысить, предварительно инъецируя самкам гонадотропин /Goetz, Theofan, 1979/.

При работе с медакой - рыбой небольшого размера, хорошо переносящей содержание в аквариуме, искусственно создают такую продолжительность фотопериода и температуру воды, какие нужны для размножения. Благодаря этому, опыты можно проводить и вне сезона естественного нереста (табл. 1).

Удобным объектом является выхь *Misgurnis fossilis*. У этого вида ооциты достигают IV стадии зрелости уже к осени и в течение зимы способны созревать *in vivo* /Казанский, Нусенбаум, 1947; Казанский, 1949; Киршенблат, 1961/. Опыты *in vitro* также можно проводить задолго до наступления нерестового сезона (табл. 1); при этом нет необходимости содержать выхь в течение длительного времени в нерестовых условиях, как это делает при работе с амурским выхьом /Iwamatsu, Katoh, 1978/.

Среда культивирования ооцитов. При работе с ооцитами костястых рыб используют различные среды (табл. 1 и 2). По солевому составу растворы, используемые для культивирования ооцитов (или лежащие в основе более комплексных сред), можно разделить на 4 группы.

1) Раствор Рингера для амфибий /Киршенблат, 1961/ и близкие по составу растворы для ооцитов выхьа (увеличено содержание бикарбоната натрия) /Скоблина, 1973/, для медаки /Iwamatsu, 1973/ и фундульца /Wallace, Selman, 1978/. Однако лучшие результаты в случае ооцитов медаки дает среда 199, а фундульца - более сложный раствор. Для ооцитов мешкожаберного сема также можно использовать раствор Рингера и его модификации, но ооциты созревают в более высоком проценте случаев в солевом растворе, являющемся основой среды Вольфа и

Таблица 2

Состав сред, используемых для инкубации ооцитов костистых рыб<sup>1</sup>

Компонент	Концентрация, мг/л							
	Рингер для амфибий	Корт- ланда	Вольфа и Квинтон	TBSS	CBSS	Хенкса	Эрла	PO <sup>2</sup> )
NaCl	6500	7250	3740	7510	7300	8000	6800	113
KCl	250	380	320	230	180	400	400	5
CaCl <sub>2</sub>	300	0	160	500	0	0	0	2
CaCl <sub>2</sub> ·xH <sub>2</sub> O	0	230	0	0	350	190	270	0
NaHCO <sub>3</sub>	200	1000	1760	2055	980	350	2200	1
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·xH <sub>2</sub> O	0	410	100	0	80	0	140	0
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·xH <sub>2</sub> O	0	0	0	0	0	45	0	1
MgCl <sub>2</sub> ·x6H <sub>2</sub> O	0	0	0	200	180	100	0	0
MgSO <sub>4</sub> ·x7H <sub>2</sub> O	0	230	160	70	70	100	200	1
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0	0	0	0	0	60	0	0
Глюкоза	0	1000	800	1000	1000	1000	1000	5

<sup>1</sup> Состав Рингера для амфибий - по Ромейо, 1953; TBSS - по Jalabert, 1978; PC - по Wallace, Selman, 1978; остальных сред - по Epler, Bieniars, 1978b.

<sup>2</sup> Состав в миллимолах.

Квимби /Goswami, Sundararaj, 1971b/. Для ооцитов вына, серебряного карася и карпа также желательно использовать более комплексные среды, чем раствор Рингера /Саат, 1980, 1983, 1985 и неопубл. данные Т.В. Саата/.

2) Солевые растворы, по ионному составу соответствующие сыворотке крови рыб: TBSS, CBSS, солевой раствор Кортланда, солевой раствор для ооцитов камбалы-калкана (табл. I и 2).

Однако применение растворов этой группы может и не дать положительного результата: ооциты фундуляса в солевом растворе, соответствующем по составу сыворотке крови того же вида, не созревают /Wallace, Selman, 1978/.

3) Солевой раствор с глюкозой, лежащий в основе среды Волфа и Квимби, выработанной для инкубации *in vitro* тканей костистых рыб, оказался наиболее подходящим для созревания ооцитов мешкожаберного сома /Goswami, Sundararaj, 1971b /. Однако ооциты фундуляса в этом растворе не созревают /Wallace, Selman, 1978/.

4) Солевые растворы для культивирования тканей млекопитающих и среда I99 на основе этих растворов (раствор Хенкса, среда I99 на растворе Хенкса или Эрла); в среду I99 иногда добавляют 10-20% сыворотки крови теленка или крупного рогатого скота (табл. I).

Установлено, что ооциты вына, серебряного карася и карпа созревают в разных солевых растворах и средах, принадлежащих ко всем перечисленным группам, но по ряду показателей (процент созревших и овулировавших ооцитов, приобретение созревающими ооцитами способности к эмбриональному развитию и др.) наиболее благоприятными являются среды последней группы - I99C (среда I99 на основе раствора Хенкса с добавлением 20% сыворотки крови крупного рогатого скота) и MI99C (модифицированная среда I99C: к среде I99 добавляют 20% дистиллированной воды и затем бикарбоната натрия до концентрации 2 г/л и сыворотку) /Саат, 1980, 1983, 1985 и неопубл. данные/.

Существенным является также осмотическая концентрация /Wallace, Selman, 1978/ и ионная сила среды /Гончаров, 1978, Саат, 1983, 1985/. Так, ооциты фундуляса созревают только в гипотоничной среде /Wallace, Selman, 1978/. В опытах с ооцитами осетровых рыб было установлено, что ооциты некоторых самок созревают под действием гонадотропина лишь при условии повышения ионной силы среды (что достигается путем увеличения концентрации бикарбоната натрия). При этом снижается ми-

ниимальная концентрация гонадотропина, вызывающая созревание ооцитов. При высокой концентрации бикарбоната натрия (2-3 г/л) ооциты иногда созревают в среде, не содержащей гормонов. В то же время, под действием прогестерона ооциты созревают и в растворе Рингера со стандартным содержанием бикарбоната натрия /Гончаров, 1978/. Аналогичные данные были нами получены для костистых рыб /Саат, 1983, 1985/.

В некоторых случаях в раствор Рингера добавляли яичный альбумин (осетровые рыбы - Скоблина, 1970; выси - Скоблина, 1973). Было показано, что альбумин снижает эффективную концентрацию гонадотропина /Гончаров, 1978/, однако он не является необходимым для созревания ооцитов (осетровые рыбы - Гончаров, 1978; костистые рыбы - Iwamatsu, 1973; Саат, 1980).

Для инкубации ооцитов используют растворы с pH от 7,2 до 8,3 (табл. I); это достигается добавлением в среду  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{Neres-NaOH}$  буфера или фосфатного буфера, а также инкубацией под атмосферой с увеличенным содержанием  $\text{CO}_2$  /Jalabert, 1976, 1978; Wallace, Selman, 1978; Hirose, 1980/.

При повышении pH среды концентрация суспензии гипофиза, вызывающая созревание ооцитов, уменьшается в 2-3 раза /Jalabert, 1976/.

Антибиотики. В ряде случаев в среду инкубации добавляли антибиотики, обычно пенициллин и стрептомицин (табл. I). При проведении опытов в стерильных условиях добавление антибиотиков, по-видимому, излишне.

Температура и продолжительность инкубации. Температуру, при которой проводят опыты *in vitro*, выбирают в соответствии с температурой воды во время естественного нереста; обычно опыт проводят при постоянной температуре (табл. I).

При проведении опытов необходимо учитывать, что продолжительность созревания ооцитов зависит не только от температуры, но и от исходного состояния ооцитов /Таликина, 1978; Саат, 1983; Epler, 1981 a, b, c и др./ и от используемого гормона, его концентрации и активности /Киршенблат, 1961; Бурлаков, 1976; Бурлаков, Рышка, 1981; Goswami, Sundararaj, 1971a; Sundararaj, Goswami, 1971 и др.).

Объем раствора и число ооцитов. Число фолликулов определенного размера на 1 мл среды инкубации в опытах разных исследователей сильно варьирует (табл. I), например, у выси - от 10-20 /Скоблина, 1973/ до 78-96 /Бурлаков, Рышка, 1981/, у радужной форели - от 2 /Сакун, Гуреева-Преображенская, 1975/ до 13 /Jalabert, 1976/. Эти различия несомненно должны

оказывать влияние на результаты опыта, поскольку они будут отражаться на концентрации кислорода и продуктов жизнедеятельности в среде, а также на доступности гормона. Так, установлено, что созревание ооцитов зависит не от концентрации прогестерона в среде, а от его концентрации на ооцит (Belle et al., 1976; Marot et al., 1977/).

Инкубация in vitro фрагментов яичника и изолированных фолликулов. Обычно in vitro инкубируют фрагменты яичника, содержащие от нескольких до >100 ооцитов дефинитивного размера (табл. I). Имеются данные, что величина инкубируемого фрагмента имеет существенное значение для результатов опыта. У вына процент созревших ооцитов был наибольшим при культивировании фрагментов, содержащих по 5-10 ооцитов /Саат, 1980/, у карпа - при культивировании фрагментов, содержащих около 5 ооцитов дефинитивного размера (наши неопубл. данные); в обоих случаях доля созревших ооцитов по мере увеличения числа ооцитов в фрагменте существенно снижалась; в среде 199С это снижение было менее существенным, чем в солевых растворах (в ТВSS у вына и в растворе Кортланда у карпа). У этих видов изолированные фолликулы созревали в относительно невысоком проценте случаев, что может быть обусловлено их более частым механическим повреждением при изоляции.

В тех случаях, когда нерест носит порционный характер и порции ооцитов созревают с интервалом в сутки (медака) или в несколько суток (колюшки), для инкубации in vitro отбирают фолликулы строго определенного диаметра. Фолликулы с несколько меньшим диаметром (не завершившие вителлогенез) либо еще неспособны созреть /Wallace, Selman, 1978, 1979/, либо созревают атипично /Iwamatsu, 1978b/, наоборот, фолликулы с большим диаметром уже стимулированы к созреванию в теле самки.

Сравнение созревания ооцитов во фрагментах яичника и в изолированных фолликулах проведено на амурском выне. У этого вида ооциты в изолированных фолликулах под влиянием понадотропинов вообще не созревают; под влиянием стероидных гормонов они созревают, но значительно реже, чем во фрагментах яичника /Iwamatsu, Kato, 1978/.

#### Критерии созревания и овуляции

Наиболее часто критерием созревания in vitro является разрушение зародышевого пузырька (ЗП). У многих видов костистых рыб разрушение ЗП может быть установлено просто - пу-

тем просмотра живых ооцитов под бинокулярной лупой. Нередко используют также растворы, содержащие уксусную кислоту; в них желток становится прозрачным, а карноплазма белеет, и ЗП (если он имеется) оказывается четко различимым (Сакуи, Гуреева-Преображенская, 1975; Бурлаков, Рышка, 1981; Дуварова, 1982; Goetz, Bergman, 1978b/.

Необходимо отметить, что разрушение ЗП еще не свидетельствует о том, что процесс созревания ооцита протекает нормально.

У медаки ооциты диаметром  $> 750$  мкм под влиянием стероидных гормонов созревают нормально по целому ряду показателей. У более мелких ооцитов (диаметром 700-749 мкм) ЗП разрушается, однако, такие ооциты не гидратируются, не становятся прозрачными и не приобретают способности к осуществлению кортикальной реакции /Iwamatsu, 1978b/. У мешкожаберного сома разрушение ЗП свидетельствует также лишь о начале созревания, но не является гарантией его завершения /Goswami, Sundararaj, 1971a, b/. При созревании *in vitro* ооцитов черноморской камбалы-калкана мейоз идет только до стадии анафазы I /Таликина, 1978/. В некоторых созревающих *in vitro* ооцитах выкна и однополой формы серебряного карася мейотические преобразования останавливаются вскоре после разрушения ЗП на стадии сформированной карносферы /Саат, 1982, 1983/. В созревающих *in vitro* ооцитах двуполой формы серебряного карася мейоз блокировался на стадии метафазы I; такие ооциты приобретали способность к осуществлению кортикальной реакции и к цитотомии /Саат, 1983/.

Достижение созревающими *in vitro* ооцитами стадии мейоза, характерной для зрелого яйца (у двуполых видов костистых рыб - стадии метафазы II), установлено лишь для нескольких видов: медаки /Iwamatsu et al., 1976/, амурского выкна /Iwamatsu, Katoh, 1978/, выкна /Саат, 1982/, однополой /гипогенетической/ формы серебряного карася /Саат, 1983/, карпа /Сакуи, Гуреева-Преображенская, 1975/ и мешкожаберного сома /Goswami, Sundararaj, 1971a/. Однако, поскольку цитоплазматические и ядерные преобразования в процессе созревания не связаны между собой причинно /см. Детлаф, 1977/, достижение ооцитами метафазы II также еще не свидетельствует о полноценности созревания. Действительно, зародыши, развивающиеся из созревших *in vitro* ооцитов амурского выкна, достигают только стадии морулы /Iwamatsu, Katoh, 1978/.

Из сказанного очевидно, что разрушение ЗП не может ску-

жить единственным критерием созревания ооцитов, и этот критерий должен быть дополнен другими. В качестве таких дополнительных критериев разными авторами были использованы: созревание кортекса ооцита (ооциты в процессе созревания становятся полупрозрачными, и кароплазма, отличающаяся по цвету от цитоплазмы, равномерно распределяется в анимальной области), слияние желточных включений и жировых каплей, гидратация ооцитов (табл. I). Кроме морфологических, необходимо использовать и другие критерии, в первую очередь, приобретенные ооцитами способности к нормальному развитию.

Лишь в некоторых случаях - для медаки /Iwamatsu, 1974; Iwamatsu et al., 1976/, вышна /Саат, 1980, 1982/ и карпа /Epler, 1981d и наши неопубл. данные/ показано, что созревший *in vitro* ооцит имеет строение зрелого яйца, способен активироваться и при осеменении нормально развиваться до стадии вылупления.

Критерием овуляции служит освобождение ооцита от фолликулярной оболочки; однако ооцит может освободиться от фолликулярной оболочки и в результате ее механического повреждения. Чтобы разграничить эти явления, Гуреева-Преображенская (1978) считала овулировавшими лишь те ооциты, оболочки которых после выхода из них ооцитов стягивались и становились более компактными. Случаи, когда фолликулярная оболочка оставалась растянутой, не учитывали.

#### Созревание ооцитов костистых рыб *in vitro* при разных гормональных воздействиях

Стероидные гормоны. Ооциты большинства изученных видов костистых рыб способны созревать *in vitro* под влиянием широкого спектра стероидов, принадлежащих к 3 группам: прогестерон и его аналоги, кортикостероиды и андрогены (желтый окунь - Goetz, Bergman, 1978b, Goetz, Theofan, 1979; ручьевая форель - Goetz, Bergman, 1978b; вышн - Гуреева-Преображенская, 1978; Саат, 1980; амурский вышн - Iwamatsu, Katch, 1978; медака - Iwamatsu, 1978a; карп - Epler, 1978b). В то же время ооциты мешкожаберного сома созревают в высоком проценте случаев лишь под влиянием некоторых кортикостероидов; прогестерон и его аналоги вызывают созревание меньшего числа ооцитов, а андрогены практически неэффективны /Goswami, Sundararaj, 1971b, 1974; Sundararaj et al., 1979/.

Наиболее эффективными в опытах с ооцитами разных видов

костистых рыб оказались одни и те же гормоны (табл. 3). Самым эффективным (вызывающим созревание в наименьшей концентрации) во всех случаях оказался  $17\alpha$ -окси- $20\beta$ -дигидропрогестерон (табл. 3).

Гонадотропные гормоны. Ооциты костистых рыб при инкубации с добавлением суспензии гипофизов рыб и очищенных гонадотропинов рыб и млекопитающих созревают *in vitro*, как правило, значительно реже, чем под влиянием стероидов /Goswami, Sundararaj, 1971b; Jalabert, Breton, 1973; Jalabert et al., 1973; Goetz, Bergman, 1978a, b; Iwamatsu, Katoh, 1978; Гуреева-Преображенская, 1978; Саат, 1980, 1983, 1985/; лишь в опытах Таликиной /1978/ на камбале-калконе получен противоположный результат. Гормоны, эффективные *in vivo*, *in vitro* могут быть неэффективными /Карменблат, 1961; Sundararaj, Goswami, 1977/.

Гормоны, эффективные и неэффективные при индукции созревания ооцитов некоторых видов костистых рыб, приведены в табл. 4.

Эффективность суспензии гипофизов зависит от среды инкубации: в средах с увеличенным содержанием бикарбоната натрия процент созревших ооцитов у серебряного караса /Саат, 1985/, вышна и карпа /Саат, не опубли./ значительно увеличивался.

Комбинированное воздействие гонадотропным и стероидным гормоном. Кортикостероиды в концентрациях, неэффективных или малоэффективных при индукции созревания ооцитов, значительно повышают эффективность гонадотропного гормона, т.е. наблюдается синергизм в действии гормонов этих двух групп /Jalabert, 1976; Sundararaj et al., 1979; Wallace, Selman, 1980; Саат, 1983, 1985/. Установлено также синергидное действие суспензии гипофизов сазана и  $17\alpha$ -оксипрогестерона при индукции созревания ооцитов серебряного караса /Саат, 1985/.

В отличие от кортикостероидов эстрогены снижают эффективность гонадотропина /Jalabert, 1976; Sundararaj et al., 1979/.

Тестостерон у радужной форели увеличивает, а у меккокаберного сома снижает эффективность гонадотропина /Jalabert, 1976; Sundararaj et al., 1979/.

#### Овуляция

Стероидные гормоны. Ооциты многих видов рыб под влиянием стероидов созревают (см. выше), но не овулируют, либо овулируют единичные из них /Mackay, 1975; Jalabert, 1976, 1978/;

Таблица 3

Наиболее эффективные стероиды при индукции созревания ооцитов *in vitro*  
у разных видов костистых рыб

В и д	Наиболее эффективные стероиды <sup>§</sup>	А в т о р
Радужная форель	I7, 20-П (5-90), 20-П (> 15), П (150-500)	Jalabert, 1976
Ручьевая форель	I7, 20-П; менее эффективны П, I7-П, II-ДОК, II-ДК	Goetz, Bergman, 1978b
Щука	I7, 20-П (~30), 20-П, II-ДОК, П, I7-П	Jalabert, Breton, 1973; Jalabert, 1976
Золотая рыбка	I7, 20-П (~30), II-ДК, II-ДОК, П	Jalabert, 1976
Карп	I7, 20-П; менее эффективны - ДОКА, кортизол, II-ДОК	Epler, 1981b
Мешкожаберный сом	II-ДК (> 100), II-ДОК, 2I-ДК	Goswami, Sundararaj, 1974
Медака	I7, 20-П ( I), 20-П, прегненолон	Iwamatsu, 1978a
Фундулис	П (10-20), II-ДОК (10-20)	Wallace, Selman, 1978
Желтый окунь	I7, 20-П (0,1), 20-П (0,7), II-ДК (6,3), II-ДОК, П	Goetz, Bergman, 1978b Goetz, Theofan, 1979

<sup>§</sup> В скобках - концентрации в нг/мл, вызывающие разрушение ЗП у 50% ооцитов. I7, 20-П не испытан в опытах с ооцитами мешкожаберного сома и фундулиса.

II-ДК - II-дезоксикортизол, 2I-ДК - 2I-дезоксикортизол, II-ДОК - II-дезоксикортикостерон, ДОКА - деоксикортикостерон-ацетат, П - прогестерон, I7-П - I7 $\alpha$ -оксипрогестерон, 20-П - 20 $\beta$  дигидропрогестерон, I7, 20-П - I7 $\alpha$ -окси-20 $\beta$  дигидропрогестерон.

Таблица 4

Созревание *in vitro* ооцитов костистых рыб под влиянием гормонов  
гипофиза, хормогонина и СМК

В и д	Гормоны <sup>1</sup>		А в т о р
	эффективные <sup>2</sup>	неэффективные <sup>3</sup>	
Радужная форель	Г, СГ, ЛГ	Х, ФСГ, СМК	Jalabert et al., 1972, 1974
	-	ЛГ, Х, СМК	Nagahama et al., 1980
Щука	Г, СГ	ЛГ, Х, ФСГ	Jalabert, Breton, 1973
Золотая рыбка	Г, СГ	ЛГ, Х, ФСГ	Jalabert et al., 1973; Jalabert, 1976
Серебряный карась	СГ	Х	Саат, 1985
Карп	ЛГ	-	Бурлаков, Рышка, 1981
	Г, СГ	ЛГ, ФСГ, Х	Epler, 1981a
Вьель	-	СГ, ЛГ, ФСГ	Киршемблат, 1961
	Х, СГ, ЛГ, Г	-	Скоблина, 1973; Саат, 1980, 1983; Бурлаков, Рышка, 1981; Бурлаков, Хайчаева, 1982
Амурский вьель	Х, СМК	АКТГ	Iwamatsu, Katoh, 1978
Мешкожаберный сом	ЛГ	Г, СГ, ФСГ, АКТГ, ТСГ, Ш	Goswami, Sundararaj, 1971b; Sundararaj et al., 1972; Sundararaj, Goswami, 1974
Фундулис	СГ, ЛГ, Х, ФСГ	-	Wallace, Selman, 1980

Продолжение табл. 4

В и д	Гормоны <sup>1</sup>		А в т о р
	эффективные <sup>2</sup>	неэффективные <sup>3</sup>	
Медака	ЛГ, ФСГ, СМЖ, ТСГ	X, АКТГ	Iwamatsu, 1978b
	Г, СГ, ЛГ, ФСГ	АКТГ, ТСГ, ПЛ	Nirowe, 1980
Светлоперый судак	Г, СГ, X, ФСГ, СМЖ	-	Goetz, Bergman, 1978a
Малый окунь	Г, ЛГ, ФСГ	X, СМЖ	Goetz, Bergman, 1978a

<sup>1</sup> АКТГ - адренкортикотропный гормон, Г - очищенный гонадотропин рыб, ЛГ - лютеинизирующий гормон, ПЛ - пролактин, СГ - суспензия гипофизов рыб, СМЖ - сыворотка жеревой кобблы, X - хормогонины, ФСГ - фолликулостимулирующий гормон.

<sup>2</sup> Вызывали созревание > 10% ооцитов

<sup>3</sup> Вызывали созревание 0-10% ооцитов.

Epler, Bieniarz, 1978a; Goetz, Bergman, 1978b; Iwamatsu, Kato, 1978; Ree, 1977; Wallace, Selman, 1978, 1979; Nagahama et al., 1980; Саат, 1985/.

У желтого окуня ооциты хорошо овулируют *in vitro* под влиянием некоторых стероидных гормонов; среди них наиболее эффективен  $17\alpha$ -окси- $20\beta$ -дигидропрогестерон. Кортикостероиды и метилтестостерон значительно менее эффективны, чем прогестерон и его производные. Многие овулировавшие ооциты этого вида были незрелыми /Goetz, Bergman, 1978b; Goetz, 1979; Goetz, Theofan, 1979/.

При работе с ооцитами вына также выяснилось, что прогестерон и его производные более эффективно вызывают овуляцию, чем кортикостероиды и андрогены /Гуреева-Преображенская, 1978; Саат, 1980/. У вына овуляция ооцитов под влиянием прогестерона в разных средах происходила с разной частотой; наиболее благоприятной для овуляции ооцитов оказалась среда 199С /Саат, 1980, 1983/.

Данные для медаки противоречивы. В одних случаях ооциты хорошо овулировали, причем наиболее эффективными среди стероидов были гидрокортизон /Hirose, 1972/ и кортизон /Hirose, 1976/. В других случаях ооциты не овулировали /Iwamatsu, 1974, 1978a; Hirose, 1980/. Разные результаты опытов обусловлены, по-видимому, различиями в исходном состоянии ооцитов.

Гонадотропные гормоны. Ооциты некоторых видов рыб, созревшие *in vitro* под влиянием гонадотропинов, овулируют. Эффективными индукторами овуляции оказались хориогонин и СЖК для амурского вына /Iwamatsu, Kato, 1978/, ЛГ - для карпа и вына /Бурлаков и Рышка, 1981/, суспензия гипофизов сазана и хориогонин - для вына /Саат, 1980, 1983/, очищенный гонадотропин лосося. ЛГ, ФСГ, хориогонин и СЖК - для медаки /Hirose, 1971, 1976; Hirose, Donaldson, 1972; Hirose, Hirose, 1972; Iwamatsu, 1978b), суспензия гипофизов своего вида - для *Nurseleotris galii* /Maskau, 1975/, одновременное воздействие суспензией гипофизов карпа и хориогонином - для европейского угря /Epler, Bieniarz, 1978a/.

Овуляцию *in vitro* не удалось получить у лососевых рыб /Jalabert, 1976; Nagahama et al., 1980/ и у желтоперого судака /Goetz, Bergman, 1978a/. У желтого окуня некоторые гонадотропины вызвали овуляцию, но овулировали только незрелые ооциты /Goetz, Bergman, 1978a/. Гонадотропины оказались малоэффективными при индукции овуляции и в случае серебряного карася /Саат, 1985/.

Таблица 5

Влияние простагландинов и ингибитора их синтеза - индометацина,  
на овуляцию ооцитов костистых рыб

В и д	Условия овуляции	Влияние индометацина на овуляцию	Вызывает ли простагландины овуляцию в присутствии индометацина	Эффективные простагландины	А в т о р
Радужная форель	in vitro <sup>1)</sup>	- <sup>4</sup>	-	F <sub>2α</sub>	Jalabert, Szöllösi, 1975; Jalabert, 1976; Jalabert et al., 1978a
Ручьевая форель	in vitro <sup>2)</sup>	-	-	F <sub>2α</sub>	Goetz, Smith, 1980
Щука	in vitro <sup>2)</sup>	-	-	F <sub>2α</sub>	Jalabert, 1976
Карп	in vivo	подавляет	-	-	Kapur, 1979
	in vitro	-	-	F <sub>2α</sub> , E <sub>2</sub>	Сага Т.В. (не опубли.)
Золотая рыбка	in vivo	подавляет	да	F <sub>2α</sub> , E <sub>1</sub> , E <sub>2</sub>	Stacey, Pandey, 1975
	in vitro <sup>2)</sup>	-	-	F <sub>2α</sub>	Jalabert, 1976
Амурский выхл	in vivo	подавляет	-	F <sub>2α</sub>	Ogata et al., 1979
Данио	in vitro <sup>2)</sup>	-	-	F <sub>2α</sub>	Ree, 1977
Мешкожаберный сом	in vivo	-	-	F <sub>2α</sub> , E <sub>1</sub>	Singh, Singh, 1976
Европейский угорь	in vitro <sup>3)</sup>	-	-	F <sub>2α</sub>	Epler, Bieniarz, 1978a
Желтый окунь	in vitro <sup>2)</sup>	подавляет	да	F <sub>2α</sub> , E <sub>1</sub> , E <sub>2</sub>	Goetz, 1979

1 Созревание ооцитов протекало вначале in vivo, затем - in vitro

2 Ооциты созревали и овулировали in vitro

3 Ооциты созревали in vivo, овулировали in vitro

4 Прочерк означает отсутствие данных.

Гонадотропины были более эффективными при индукции овуляции, чем стероиды. В частности, они вызывали овуляцию в тех случаях, когда стероиды были полностью неэффективными (Макаев, 1975; Epler, Bieniarz, 1978a; Iwamatsu, 1978b; Iwamatsu, Katoh, 1978/. В наших опытах хориогонин и гипофиз сазана вызывали овуляцию значительно большего числа ооцитов вына, чем прогестерон /Саат, 1980, 1983/.

Комбинированное воздействие гонадотропным и стероидным гормоном оказалось наиболее эффективным при индукции овуляции ооцитов вына и серебряного караса /Саат, 1980, 1983, 1985/. Так, при комбинированном воздействии прогестероном и хориогонином или суспензией гипофизов сазана в среде 199С, М199С и в растворе Эрла с сывороткой закономерно овулировало около 90% ооцитов вына.

Простагландины. В последние годы появилось немало данных о том, что у рыб, так же как у млекопитающих /см. LeMaire et al., 1979/, сокращение фолликула при овуляции вызывается простагландинами (табл. 5). Было показано, что простагландины (в частности, простагландин  $E_2$ ) вызывают у костистых рыб овуляцию как *in vivo*, так и *in vitro*. Ингибитор их синтеза - индометацин - подавляет овуляцию; это подавление обратимо и может быть снято добавлением экзогенного простагландина.

Стероидные и гонадотропные гормоны эффективны лишь в определенном диапазоне концентраций. Слишком большие концентрации могут частично или полностью подавлять созревание или овуляцию ооцитов (созревание под влиянием стероидов - Goetz, Bergman, 1978b; Iwamatsu, 1978a; созревание под влиянием гонадотропинов - Бурлаков, Рышка, 1981; Бурлаков, Халчаева, 1982; Саат, 1985; овуляцию под влиянием стероидов - Hirose, 1976; Goetz, Bergman, 1978b; Саат, 1980, 1983; овуляцию под влиянием гонадотропинов - Hirose, 1971, 1976; Бурлаков, Рышка, 1981; Бурлаков, Халчаева, 1982). Механизм такого подавления не изучен.

## Л и т е р а т у р а

Бурлаков А.Б. Некоторые вопросы гормональной стимуляции созревания карповых рыб при искусственном разведении: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. - М.: МГУ, 1976. - 22 с.

Бурлаков А.Б., Рышка Ф.Д. Влияние литропинов на созревание и овуляцию ооцитов некоторых карповидных рыб *in vitro* и *in vivo*. - Пробл. эндокрин., 1981, т. 27, № 3, с. 72-77.

- Бурлаков А.Б., Халчаева Е.В. Изучение половой специфичности гипофизарных гонадотропинов русского осетра *Acipenser gueldenstaedti Brandti* (Acipenseridae) I. Биологическое действие гонадотропинов, обладающих малой электрофоретической подвижностью, на созревание и овуляцию ооцитов выюна *Misgurnus fossilis* (Cobitidae). - *Вопр. ихтиол.*, 1982, т. 22, вып. 4, с. 656-664.
- Гончаров Б.Ф. Влияние состава среды культивирования на способность фолликулов осетровых рыб реагировать созреванием на действие гонадотропных гормонов. - В кн.: *Вопросы раннего онтогенеза рыб: Тез. докл. II Всесоюзной конференции.* Киев: Наукова думка, 1978, с. 77-78.
- Гуреева-Преображенская Е.В. Экспериментальное изучение овариального фолликула рыб и его радиочувствительности в связи с анализом корреляции между созреванием и овуляцией. - В кн.: *Радиация и проблемы размножения и роста рыб.* Труды Биол. н.-и. ин-та ЛГУ, 1978, № 28, с. 112-125.
- Детлаф Т.А. Становление организации зрелого яйца у амфибий и рыб на заключительных стадиях оогенеза, в период созревания ооцита. - В кн.: *Современные проблемы оогенеза.* М.: Наука, 1977, с. 99-144.
- Дуваров А.С. Созревание ооцитов толстолобика *Hypophthalmichthys molitrix* (Val.) (Cyprinidae) после гормональных воздействий. - *Вопр. ихтиол.*, 1982, т. 22, № 5, с. 804-812.
- Казанский Б.Н. Выюновая единица (ВЕ) для изучения гонадотропной активности препаратов гипофиза рыб. - *Труды /Лаборатория основ рыбоводства.* Л., 1949, т. 2, с. 29-36.
- Казанский Б.Н., Нусенбаум Л.М. Выюн (*Misgurnus fossilis* L.) как объект для определения гонадотропной активности гипофиза рыб. - *Труды /Лаборатория основ рыбоводства.* Л., 1947, т. I, с. III-120.
- Киршенблат Я.Д. Действие кортизола на яичники выюна. - *Бюлл. exper. биол. и медицины*, 1959, т. 47, № 4, с. 108-112.
- Киршенблат Я.Д. Физиологический механизм регуляции процессов созревания ооцитов и овуляции у выюна *Misgurnus fossilis*. - *Вопр. ихтиол.*, 1961, т. I, № I, с. 166-193.
- Ромейс Б. *Микроскопическая техника: Пер. с нем.* - М.: Изд-во иностр. лит., 1953. - 718 с.
- Саат Т.В. Созревание и овуляция ооцитов выюна *in vitro* в разных средах и при разных гормональных воздействиях. - *Онтогенез*, 1980, т. II, № 5, с. 545-554.

- Саат Т.В. Хронология созревания ооцитов вына и становление у них способности к развитию. - *Онтогенез*, 1982, т. 13, № 3, с. 257-265.
- Саат Т.В. Закономерности созревания ооцитов у костистых рыб (на примере вына и серебряного карася): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. - М.: Изд-во ин-та биологии развития, 1983. - 21 с.
- Саат Т.В. Созревание и овуляция ооцитов серебряного карася *in vitro* в разных средах и при разных гормональных воздействиях. - *Онтогенез*, 1985, т. 16, № 3, с. 254-259.
- Сакуи О.Ф., Гуреева-Преображенская Е.В. Изучение созревания ооцитов костистых рыб: Методика инкубации и пути анализа результатов. - *Вестн. Ленингр. ун-та*, 1975, № 15, с. 15-22.
- Скобляна М.Н. Экспериментальное изучение роли ядра в процессе созревания ооцитов амфибий и осетровых рыб: Автореф. дис. ... канд. биол. наук - М.: Изд-во ин-та биологии развития, 1970. - 23 с.
- Скобляна М.Н. Созревание ооцитов вына *in vitro* под влиянием хормогонина. - *Онтогенез*, 1973, т. 4, № 3, с. 309-311.
- Таликина М.Г. Исследование генеративной функции яичников черноморской камбалы-калкана *Scorpthalmus maeoticus* (Pallas) в связи с вопросом ее разведения: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. - Л.: Изд-во ЛГУ, 1978. - 16 с.
- Федоров К.Е. Реакция стимуляции созревания ооцитов ерша *Adeginia cernua* (L.) вне тела самок как тест для испытания гонадотропинов рыб. - *Вопр. иктиол.*, 1977, т. 17, № 2, с. 312-319.
- Bellef R., Marot, J., Ozon R. Recherches sur la maturation de l'occyte de *Xenopus laevis*. L'entrée de la progestérone est nécessaire pour la maturation. - *C.R. Acad. Sc. Paris*, 1976, v. 283, p. 175-178.
- Epler P. Effect of steroid and gonadotropic hormones on the maturation of carp ovaries. Part II. Effect of fish and mammalian gonadotropins on the maturation of carp oocytes *in vitro*. - *Pol. Arch. Hydrobiol.*, 1981a, v. 28, № 1, p. 95-102.
- Epler P. Effect of steroid and gonadotropic hormones on the maturation of carp ovaries. Part III. Effect of steroid hormones on the carp oocyte maturation *in vitro*. - *Pol. Arch. Hydrobiol.*, 1981b, v. 28, № 1, p. 103-110.

- Epler P. Effect of steroid and gonadotropic hormones on the maturation of carp ovaries. Part IV. A combined action of steroid hormones and HCG or fish hypophysial homogenate on carp maturation in vitro. - Pol. Arch. Hydrobiol., 1981c, v. 28, N 1, p. 111-117.
- Epler P. Effect of steroid and gonadotropic hormones on the maturation of carp ovaries. Part V. Ovulation, fertilization and embryonal development of carp oocytes in vitro. - Pol. Arch. Hydrobiol., 1981d, v. 28, N 1, p. 119-125.
- Epler P., Bieniarz K. In vitro ovulation of european eel (*Anguilla anguilla* L.) oocytes following in vivo stimulation of sexual maturation. - Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 1978a, v. 18, N 4, p. 991-995.
- Epler P., Bieniarz K. Hodowla oocytów ryb in vitro jako metoda badań nad hormonalnym mechanizmem ich rozrodu. Przegląd literatury światowej. - Roczniki nauk rolniczych, ser. H, 1978b, t. 98, z. 4, 175-193.
- Goetz F.W. The role of steroids in the control of oocyte final maturation and ovulation in yellow perch (*Perca flavescens*). - Proc. Indian Nat. Sci. Acad., 1979, v. B45, N 5, p. 497-504.
- Goetz F.W., Bergman H.L. The in vitro effects of mammalian and piscine gonadotropins and pituitary preparations on final maturation in yellow perch (*Perca flavescens*) and walleye (*Stizostedion vitreum*). - Canad. J. Zool., 1978a, v. 56, N 2, p. 348-350.
- Goetz F.W., Bergman H.L. The effects of steroids on final maturation and ovulation of oocytes from brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and yellow perch (*Perca flavescens*). - Biol. Reprod., 1978b, v. 18, N 2, p. 293-298.
- Goetz F.W., Smith D.G. In vitro effects of theophylline and dibutyryl adenosine 3':5'-cyclic monophosphoric acid on spontaneous and prostaglandin  $F_{2\alpha}$ -induced ovulation of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) oocytes. - Biol. Reprod., 1980, v. 22, Suppl. 1, p. A114.
- Goetz F.W., Theofan G. In vitro stimulation of germinal vesicle breakdown and ovulation of yellow perch (*Perca flavescens*) oocytes. Effects of  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogesterone. - Gen. Compar. Endocr., 1979, v. 37, N 3, p. 273-285.

- Goswami S.V., Sundararaj B.I. Temporal effects of ovine luteinizing hormone and desoxycorticosterone acetate on maturation and ovulation of oocytes of the catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch): An in vivo and in vitro study. - J. Exp. Zool., 1971a, v. 178, N 4, p. 457-466.
- Goswami S.V., Sundararaj B.I. In vitro maturation and ovulation of oocytes of the catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch); Effects of mammalian hypophyseal hormones, catfish pituitary homogenate, steroid precursors and metabolites, and gonadal and adrenocortical steroids. - J. Exp., Zool., 1971b, v. 178, N 4, p. 467-478.
- Goswami S.V., Sundararaj B.I. Effects of C<sub>18</sub>, C<sub>19</sub> and C<sub>21</sub> steroids on in vitro maturation of oocytes of the catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). - Gen. Compar. Endocr. 1974, v. 23, p. 282-285.
- 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. Japan. Soc. Sci. Fish., 1971, v. 37, N 7, p. 585-592.
- Hirose K. Biological study on ovulation in vitro of fish. IV. Induction of in vitro ovulation in *Oryzias latipes* using steroids. - Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 1972, v. 38, N 5, p. 457-461.
- Hirose K. Endocrine control of ovulation in medaka (*Oryzias latipes*) and ayu (*Plecoglossus altivelis*). - J. Fish. Res. Bd. Canada, 1976, v. 33, N 4 (Pt 2), p. 989-994.
- Hirose K. A bioassay for teleost gonadotropin using the germinal vesicle breakdown (GVBD) of *Oryzias latipes* oocytes in vitro. - Gen. Compar. Endocr., 1980, v. 41, N 1, p. 108-114.
- Hirose K., Donaldson E.M. Biological study of ovulation in vitro of fish. III. The induction of in vitro ovulation of *Oryzias latipes* oocytes using salmon pituitary gonadotropin. - Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 1972, v. 38, N 2, p. 97-100.
- Hirose K., Hirose H. Biological study on ovulation in vitro of fish. II. Differences of ovulation rates in *Oryzias latipes* at the various starting hours of incubation. - Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 1972, v. 38, N 1, p. 33-42.
- Iwamatsu T. Studies on oocyte maturation in the medaka, *Oryzias latipes*. Improvement of culture medium for oocytes in vitro. - Japan. J. Ichthyol., 1973, v. 20, N 4, p. 218-224.

- Iwamatsu T. Studies on oocyte maturation of the medaka, *Oryzias latipes*. II Effect of several steroids and calcium ions and the role of follicle cells on in vitro maturation. - Annot. Zool. Japon., 1974, v. 47, N 1, p.30-42.
- Iwamatsu T. Studies on oocyte maturation of the medaka, *Oryzias latipes*. V. On the structure of steroids that induce maturation in vitro. - J. Exp. Zool., 1978a, v.204, N 3, p. 401-408.
- Iwamatsu T. Studies on oocyte maturation of the medaka, *Oryzias latipes*. VI. Relationship between the circadian cycle of oocyte maturation and activity of the pituitary gland. - J. Exp. Zool., 1978b, v. 206, N 3, p. 355-364.
- Iwamatsu T. Studies on oocyte maturation of the medaka, *Oryzias latipes*. VIII. Role of follicular constituents in gonadotropin- and steroid-induced maturation of oocytes in vitro. - J. Exp. Zool., 1980, v. 211, N 2, p.231-239.
- Iwamatsu T., Kato H. Maturation in vitro of oocytes of the loach, *Misgurnus anguillicaudatus* by steroid hormones and gonadotropins. - Annot. Zool. Japon., 1978, v. 51, N 2, p. 79-89.
- Iwamatsu T., Ohta T., Nakayama N., Shoji H. Studies of oocyte maturation of the medaka, *Oryzias latipes*. III. Cytoplasmic and nuclear changes of oocyte during in vitro maturation. - Annot. Zool. Japon., 1976, v. 49, N 1, p. 28-37.
- Jalabert B. In vitro oocyte maturation and ovulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*), northern pike (*Esox lucius*), and goldfish (*Carassius auratus*). - J. Fish. Res. Bd. Canada, 1976, v. 33, N 4 (Pt 2), p. 974-988.
- Jalabert B. Production of fertilizable oocytes from follicles of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) following in vitro maturation and ovulation. - Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 1978, v. 18, N 2B, p. 461-470.
- Jalabert B., Breton B. In vitro maturation of pike oocytes. - Gen. Compar. Endocr., 1973, v. 22, p. 391.
- Jalabert B., Breton B., Billard R. Dosage biologique des hormones gonadotropes de poissons par le test de maturation in vitro des ovocytes de truite. - Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 1974, v. 14, N 2, p. 217-228.

- Jalabert B., Breton B., Bry C. Maturation et ovulation in vitro des ovocytes de la Truite arc-en-ciel, *Salmo gairdnerii*. - C. R. Acad. Sci. Paris, 1972, v. D 275, N 11, p. 1139-1142.
- Jalabert B., Breton B., Fostier A. Precocious induction of oocyte maturation and ovulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*): problems when using  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogesterone. - Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 1978, v. 18, N 4, p. 977-984.
- Jalabert B., Bry C., Szöllösi D., Fostier A. Etude comparée de l'action des hormones hypophysaires et stéroïdes sur la maturation in vitro des ovocytes de la truite et du carassin (poissons téléostéens). - Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 1973, v. 13, hors-série, p. 59-72.
- Jalabert B., Szöllösi D. In vitro ovulation of trout oocytes: effects of prostaglandins on smooth-muscle-like cells of the theca. - Prostaglandins, 1975, v. 9, N 5, p. 765-778.
- Kapur K. Effects of indomethacin on ovulation and spawning in exotic fish *Cyprinus carpio*. - Indian J. Exp. Zool., 1979, v. 17, N 5, p. 517-519.
- Kawamura T., Motonaga T. On artificial ovulation in the spinous loach. - Japan. J. Ichthyol., 1950, v. 1, N 1, p. 1-7.
- LeMaire W.J., Clark M.R., Marsh J.M. Biochemical mechanism of ovulation. - In: Human ovulation /Ed. E.S.E. Hafez. - Amsterdam e.a.: Elsevier/North-Holland biomed. Press, 1979, p. 159-175.
- Mackay N.J. The reproductive cycle of the firetail gudgeon, *Hypseleotris galii*. IV. Hormonal control of ovulation. - Austr. J. Zool., 1975, v. 23, N 1, p. 43-47.
- Marot J., Belle R., Ozon R. In vitro facilitation of *Xenopus* oocyte maturation by subthreshold doses of progesterone. - Develop. Biol., 1977, v. 59, N 1, p. 91-95.
- Masui Y., Clarke H.J. Oocyte maturation. - Int. Rev. Cytol., 1979, v. 57, p. 185-282.
- Nagahama Y., Kagawa H., Tashiro F. The in vitro effect of various gonadotropins and steroid hormones on oocyte maturation in amago salmon *Oncorhynchus rhodurus* and rainbow trout *Salmo gairdneri*. - Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 1980, v. 46, N 9, p. 1097-1102.

- Ogata H., Nomura T., Hata M. Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  changes induced by ovulatory stimuli in the pond loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. - Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 1979, v. 45, N 7, p. 929-931.
- Ree G.E. van. In vivo and in vitro studies of the pituitary-ovary axis in the zebrafish (*Brachydanio rerio* Ham. Buch.). Thesis, State Univ. Utrecht, 1977. - 140 p.
- Singh A.K., Singh T.P. Effect of clomid, sexovid and prostaglandins on induction of ovulation and gonadotropin secretion of a fresh water cat fish, *Heteropneustes fossilis*. - Endocr., 1976, Bd. 68, H. 2, S. 129-136.
- Stacey N.E., Pandey S. Effects of indomethacin and prostaglandins on ovulation of goldfish. - Prostaglandins, 1975, v. 9, p. 597-608.
- Sundararaj B.I., Goswami S.V. In vivo and in vitro induction of maturation and ovulation in oocytes of the catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch), with protein and steroid hormones. - In: Hormonal Steroids (Proc. 3rd Int. Congr., Hamburg, 1970). Amsterdam, 1971, p. 967-975.
- Sundararaj B.I., Goswami S.V. Effects of ovine luteinizing hormone and porcine adrenocorticotropin on maturation of oocytes of the catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch), in ovary-interrenal coculture. - Gen. Compar. Endocr., 1974, v. 23, p. 276-281.
- Sundararaj B.I., Goswami S.V. Hormonal regulation of in vivo and in vitro oocyte maturation in the catfish, *Heteropneustes fossilis*. - Gen. Compar. Endocr., 1977, v. 32, N 1, p. 17-29.
- Sundararaj B.I., Goswami S.V., Donaldson E.M. Effect of salmon gonadotropin on in vitro maturation of oocytes of a catfish, *Heteropneustes fossilis*. - J. Fish. Res. Bd. Canada, 1972, v. 29, N 4, p. 435-437.
- Sundararaj B.I., Goswami S.V., Lamba V. Some aspects of oocyte maturation in catfish. - J. Steroid. Bioch., 1979, v. 11, N 10, p. 701-707.
- Wallace R.A., Selman K. Oogenesis in *Fundulus heteroclitus*. I. Preliminary observations on oocyte maturation in vivo and in vitro. - Develop. Biol., 1978, v. 62, N 2, p. 354-369.

Wallace R.A., Selman K. Physiological aspects of oogenesis in two species of sticklebacks, *Casterosteus aculeatus* L. and *Apeltes quadracus* (Mitchill). - J. Fish Biol., 1979, v. 14, N 6, p. 551-564.

Wallace R.A., Selman K. Oogenesis in *Fundulus heteroclitus*. II. The transition from vitellogenesis into maturation. - Gen. Compr. Endocr., 1980, v. 42, p. 308-321.

Yamauchi K., Yamamoto K. In vitro maturation of the oocytes in the medaka, *Oryzias latipes*. - Annot. Zool. Japon., 1973, v. 46, N 3, p. 144-153.

## IN VITRO OOCYTE MATURATION AND OVULATION IN BONY FISHES

T. Saat

### Summary

A review of methods used to attain fish oocyte maturation and ovulation in vitro. Composition of culture medium, concentration of oocytes, size of incubated gonadal fragments, duration of incubation, temperature, nature of the hormonal influence and other factors which have effect on the results of oocyte incubation are discussed. Criteria of oocyte maturation used by different investigators are also critically reviewed.

ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ  
ОПЛОДОТВОРЕНИЯ У ДВУПОЛОЙ И ОДНОПОЛОЙ  
ФОРМ СЕРЕБРЯНОГО КАРАСЯ

Э.И. Дронен, Т.В. Саат

Среди костистых рыб обнаружено несколько полиплоидных форм, размножающихся путем естественного гиногенеза; к ним относится и однополая (триплоидная) форма серебряного карася /см. Черфас, 1979/. Процессом мейоза и оплодотворения у этой формы сильно изменены по сравнению с двуполой формой этого же вида и другими бисексуальными видами рыб /Головинская, 1954; Черфас, 1966, 1969; Саат, 1983/. Оплодотворение осуществляется спермием другого (близкого) вида, однако преобразования головки спермия в мужской пронуклеус не происходит. Причины этого явления неизвестны.

Для выяснения механизма, который у гиногенетической формы приводит к исключению из развития сперматического ядра, нами проведено сравнительное морфологическое и экспериментальное исследование процесса оплодотворения у двух форм серебряного карася. В данной работе приведены результаты электронно-микроскопического исследования оплодотворения у двух форм серебряного карася.

Материал и методика

Материал собран во Всесоюзном научно-исследовательском институте прудового рыбного хозяйства в мае-июне 1981 г. В опытах использовали созревшие после гипофизарной инъекции яйца 2 самок однополой и 2 двуполой формы, причем в обоих случаях яйца одной из двух самок осеменяли спермой серебряного карася, второй - спермой карпа.

Для облегчения электронно-микроскопического исследования яйца оплодотворяли полиспермно. Для этого у яиц удаляли *zona radiata*, обрабатывая их проназой (0,1%) или трипсином (0,5%) в 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,0, температура - 23-24°). Для удаления оболочки требовалось 6-7-минутное воздействие ферментом. Затем яйца многократно промывали в 10%-ном

растворе Ленкса; в том же растворе их осеменяли и в нем же проходило развитие зародышей (при 23-24°).

Осемененные яйца через разные сроки после осеменения (15 сек, 1, 8, 12 и 24 мин у двулопной формы, 4, 8 и 32 мин у однолопной) фиксировали в течение 1 часа 2,5%-ным глутаровым альдегидом на 0,1 М какодилатном буфере (рН 7,3) при 4°, промывали в том же буфере с сахарозой и дофиксировали 1% OsO<sub>4</sub> (1 час при 22°). Материал заливали в Эпон-812. Ультратонкие срезы контрастировали уранилacetатом и по Рейнольдсу и изучали под электронным микроскопом ЭМВ-100ЛМ.

Параллельно с фиксациями для электронной микроскопии часть яиц фиксировали для изучения в световом микроскопе (у однолопной формы - спустя 8, 16, 24 и 32 мин, у двулопной - 1, 2, 4, 8, 16 и 24 мин после осеменения). Материал фиксировали жидкостью Санфеличе и заливали (через хлороформ и смеси хлороформа и парафина) в парафин. Серийные срезы толщиной 6 или 10 мкм окрашивали железным гематоксилином по Гейденгайну или по Фельгену.

## Результаты

### Образование мужского прокляеуса у двулопной формы.

15 сек после осеменения. Сперматические ядра располагаются на расстоянии в 2-5 мкм от поверхности яйца. Они имеют гетерогенную структуру, видны участки с разной электронной плотностью (рис. 1). Ядерная оболочка интактная (рис. 1), в некоторых случаях сразу в нескольких местах начинается ее дезинтеграция. Митохондрии средней части спермия в это время расположены в непосредственной близости от ядра (рис. 1).

На поверхности яйца имеется много коротких микроворсинок; в месте проникновения спермия в яйцо микроворсинки значительно более крупные, в них иногда даже проникают митохондрии (рис. 1).

1 мин после осеменения. Происходит дезинтеграция оболочки сперматического ядра: она распадается на мелкие пузырьки, которые рассеиваются в цитоплазме яйца. Электронная плотность сперматического ядра уменьшилась; в ней различимы многочисленные гранулы; их особенно много в центральной части ядра (рис. 2).

В этот срок, а также в сроки 2 и 4 мин после осеменения, в цитоплазме яиц обнаруживается большое число сперматических ядер (рис. 3).



Рис. 1. Сперматическое ядро в цитоплазме яйца двуполой формы серебряного карася через 15 сек после осеменения. Mc - митохондрия спермия. Ув. 42000.

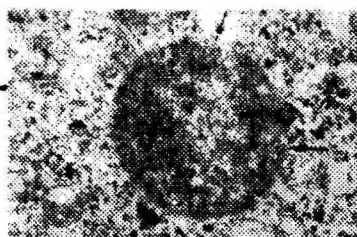


Рис. 2. Дезинтеграция ядерной оболочки спермия (стрелки) в яйце двуполой формы серебряного карася. Ув. 42000.

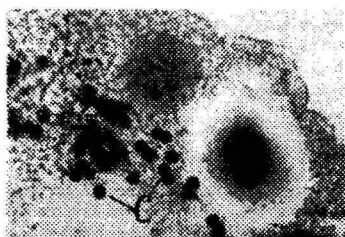


Рис. 3. Сперматические ядра (C) в цитоплазме двуполой формы серебряного карася - 2 мин после осеменения. Ув. 950.

8 мин после осеменения. В световом микроскопе можно увидеть семенную звезду. Сперматические ядра в большинстве случаев находятся на стадии деконденсации хроматина; в других случаях мужской пронуклеус уже сформирован.

Ультраструктура деконденсированного хроматина представлена на рис. 4. Его электронная плотность меньше, чем окружающей цитоплазмы. Ядерная оболочка еще не образовалась.

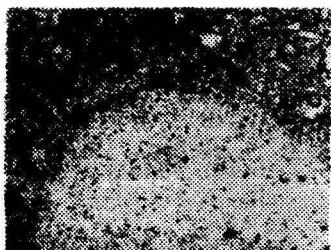


Рис. 4. Деконденсированный хроматин в яйце двуполой формы серебряного караса - 8 мин после осеменения. УВ. 16000.

12 мин после осеменения. Происходит (путем объединения небольших пузырьков эндоплазматического ретикулума) образование ядерной оболочки, которая сформирована не по всей поверхности мужского пронуклеуса. Одновременно увеличивается от периферии к центру электронная плотность кариоплазмы пронуклеуса (рис. 5).

Митохондрии вокруг пронуклеуса утратили кристы и часто имеют неправильную форму. В цитоплазме, окружающей пронуклеус, пузырьки располагаются параллельными рядами (рис. 6).



Рис. 5. Мужской пронуклеус (II) в яйце двуполой формы серебряного караса - 12 мин после осеменения. Ув. 40000.

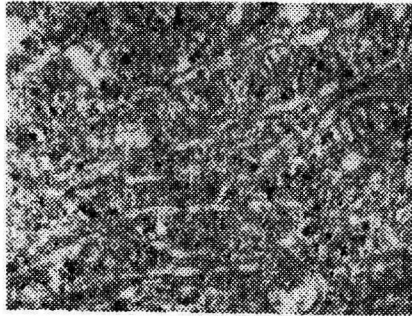


Рис. 6. Ультраструктура цитоплазмы вблизи пронуклеуса - 12 мин после осеменения.  
Ув. 40000.

16 мин после осеменения. Эту стадию изучали только в световом микроскопе. Мужские пронуклеусы полностью сформировались. Образовался и женский пронуклеус; он значительно крупнее мужских.

24 мин после осеменения. Мужской пронуклеус окружен двойной ядерной оболочкой. Мелкогранулярный матрикс пронуклеуса имеет значительную электронную плотность. Рядом с пронуклеусом обнаруживаются небольшие скопления материала такой же структуры, не окруженные ядерной оболочкой (рис. 7).

Рис. 7. Мужской пронуклеус в яйце двуполой формы серебряного карася спустя 24 мин после осеменения. Стрелками показана часть ядерного материала вне пронуклеуса.  
Ув. 30000.



Вокруг пронуклеуса имеется много цистерн и цистерн, которые иногда содержат мембранные структуры; митохондрии в этой области не встречаются. В остальных участках яйца имеются митохондрии с хорошо развитыми кристами.

Судьба головки спермия в цитоплазме яйца однополой формы серебряного караса. В световом микроскопе яйца однополой формы изучали спустя 8, 16, 24 и 32 мин после осеменения. Во все эти сроки в цитоплазме яиц обнаруживалось небольшое число (по 1-3) сперматических ядер, которые не преобразовались в мужской пронуклеус. В яйцах и на их поверхности были отмечены мелкие (диаметром до 1 мкм) беловато-похожие гранулы; данные электронной микроскопии дают основание предположить, что эти гранулы представляют собой остатки разрушенных головок спермиев.

Первую фиксацию для электронной микроскопии проводили спустя 4 мин после осеменения. В этот срок в цитоплазме яиц в ряде случаев были обнаружены вакуоли диаметром 4-6 мкм, содержащие одно крупное электроплотное тельце, по форме и размерам соответствующее головке спермия, ряд мелких электроплотных гранул и мембранные структуры (рис. 8). Вакуоли были окружены отдельными электроплотными округлыми тельцами, представляющими собой, по-видимому, лизосомы. По всей вероятности, в таких вакуолях происходит разрушение головок спермиев. Спустя 8 мин после осеменения были обнаружены картины, которые можно интерпретировать как более поздние стадии разрушения головки спермия: в вакуолях диаметром 2-3 мкм имелось скопление электроплотного материала диаметром до 1 мкм (рис. 9).



Рис. 8. Спермий в вакуоле в яйце однополой формы серебряного караса - 4 мин после осеменения. Ув. 32000.

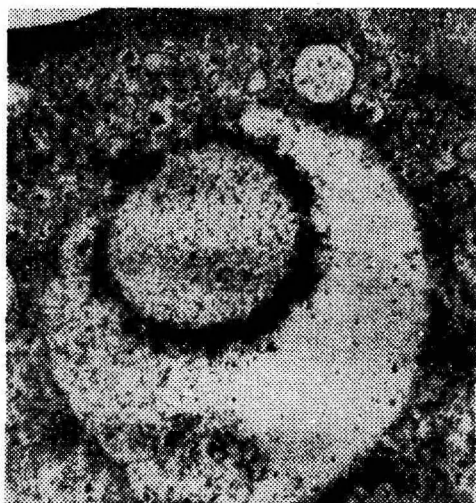


Рис. 9. Вакуоля с электроплотным материалом вблизи поверхности яйца однополой формы серебряного карася - 8 мин после осеменения. Ув. 50000.

Подобные картины в яйцах двуполой формы серебряного карася отмечены не были.

При осеменении яиц, окруженных *zona radiata*, в цитоплазму яйца однополой формы серебряного карася проникает один сперматозоид; его головка никаких видимых в световом микроскопе изменений не претерпевает (см. Черфас, 1979). Как уже сказано выше, такие сперматические ядра были нами обнаружены и в яйцах, осемененных после растворения *zona radiata*. По данным электронной микроскопии, такое сперматическое ядро сохраняло первоначальную структуру и было окружено ядерной оболочкой. Ядро вместе с митохондриями средней части было окружено несколькими слоями мембран и полностью изолировано от цитоплазмы; хвост спермия не обнаружен (рис. 10).

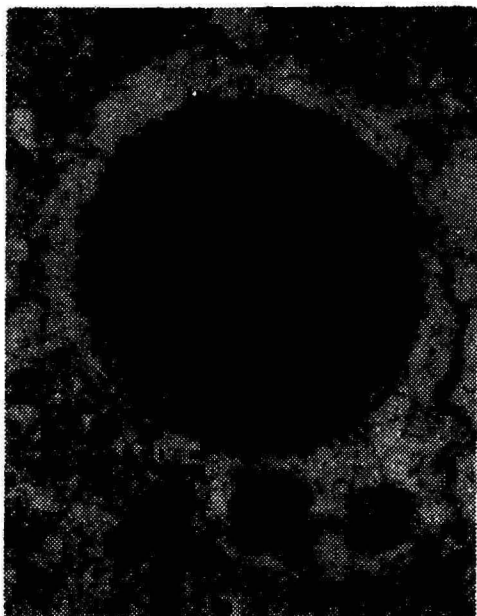


Рис. 10. Головка спермии с митохондриями средней части, окруженные мембранными структурами, в цитоплазме яйца однополрой формы серебряного карася - 32 мин после осеменения. Ув. 54000.

#### Обсуждение

Проникновение головки спермии в яйцо у двуполой формы серебряного карася, так же как и у других костистых рыб /Brummett, Dumont, 1979; Kudo, 1980; Kobayashi, Yamamoto, 1981/, осуществляется быстро: уже спустя 15 сек после осеменения сперматические ядра располагаются на расстоянии в 2-5 мкм от поверхности яйца. Лишь у медаки этот процесс протекает значительно медленнее и занимает при 22-23° около 1 мин /Iwamatsu, Ohta, 1978, 1981/. Сперматические ядра, обнаруженные в цитоплазме яйца, были окружены только ядерной оболочкой; поэтому можно предполагать, что у двуполой формы серебряного карася, как и у других животных, проникновение спермии в яйцо происходит путем слияния плазматических мембран спермии и яйца.

Вскоре после проникновения головки спермия в яйцо начинается дезинтеграция оболочки сперматического ядра и после завершения этого процесса — деконденсация хроматина. Как и у других животных /см. Longo, 1973/, при этом увеличивается объем хроматина и уменьшается его электронная плотность.

Образование ядерной оболочки пронуклеуса у двуполной формы серебряного караса происходит, как и у других животных /мадака — Iwamatsu, Ohta, 1978; морские ежи — Longo, Anderson, 1968; Longo, 1976; Kunkle, 1979; птицы — Okamura, Nishiyama, 1978/, путем объединения небольших пузырьков эндоплазматического ретикулаума.

Электронная плотность хроматина уменьшалась вплоть до момента завершения его деконденсации; в дальнейшем наблюдался обратный процесс — постепенное увеличение электронной плотности хроматина. Можно думать, что эти изменения обусловлены изменениями в белках хроматина. На морских ежах показано, что сперматические ядра в цитоплазме яйца терпят гистоны отцовского происхождения, которые заменяются полипептидами материнского происхождения /Kunkle et al., 1978; Longo, Kunkle, 1978; Poccia et al., 1981/. Не-видимому, гистоны сперматических ядер серебряного караса и карпа при образовании пронуклеуса также заменяются белками материнского происхождения.

При светооптическом изучении оплодотворения у двуполной формы серебряного караса установлено, что хромосомы мужского пронуклеуса участвуют в развитии /Черфас, 1969, 1979/. Таким образом, процесс оплодотворения у двуполной формы серебряного караса сходен с таковым у других бисексуальных видов.

В цитоплазме яйца однополной формы серебряного караса головка спермия не претерпевает никаких видимых в световом микроскопе изменений; мужской пронуклеус не образуется и отцовские хромосомы в развитии не участвуют. Но проникновение спермия в яйцо является необходимым для инициации зародышевого развития: искусственно активированные яйца образуют перивителлиновое пространство и бластодиск, но неспособны дробиться. Можно думать, что основная роль спермия у гиногенетической формы серебряного караса заключается во внесении в яйцо центриолей /Головинская, 1954; Черфас, 1969, 1979; Lieber, 1955, 1959/. Центриоли в зрелых яйцах костистых рыб отсутствуют /см. Гинзбург, 1968/; дробление оплодотворенного яйца осуществляется при участии центриолей, внесенных спермием /Iwamatsu, Ohta, 1974; Ohta, Iwamatsu, 1980, 1981/.

По всей вероятности, исключение из развития отцовских хромосом происходит на ранней стадии формирования пронуклеуса и достигается изоляцией ядра спермия мембранными структурами, препятствующими воздействию факторов, вызывающих дезинтеграцию ядерной оболочки спермия и его превращение в мужской пронуклеус. Такая изоляция может быть достигнута двумя способами.

I. Проникновение спермия в яйцо является результатом фагоцитоза. В таком случае отцовский хроматин окружен, кроме ядерной оболочки и плазматической мембраны спермия, еще и плазматической мембраной яйца. Такая "защита" должна быть высокоэффективной, т.к. фактор, вызывающий дезинтеграцию оболочки сперматического ядра, не действует на плазматическую мембрану спермия и яйца /см. Детлаф, 1977/. Однако, если допустить, что спермий проникает в яйцо путем фагоцитоза, то непонятно, каким образом выходят из фagosомы центриоли.

Опираясь на литературные данные (см. ниже), можно предположить, что у серебряного карася часть спермиев, проникающих в яйцеклетку, лишенную *zona radiata*, проникает путем фагоцитоза, но эти спермии впоследствии разрушаются и, по-видимому, выделяются из яйца.

Опыты на млекопитающих показали, что при инкубации фибробластов с суспензией некапацитированных спермиев спермии входят в них путем фагоцитоза и впоследствии дегенерируют /Phillips et al., 1976; Meel et al., 1981/. Около 80% спермиев человека, проникающих в фибробласты мышц в присутствии вируса Сендай, входят путем фагоцитоза (остальные 20% - путем слияния мембран). Спермий окружается многочисленными микроворсинками яйца, заключаются в фagosому и погружается в цитоплазму. Затем происходит лизис частей спермия; по окончании этого процесса в цитоплазме яйца обнаруживаются многочисленные цитоплазматические вакуоли небольших размеров, содержащие фрагменты мембран, ядра и хвоста спермия /Meel et al., 1981/.

На яйцах мышей показано также, что в полиспермных яйцах сверхчисленные спермии заключаются в вакуоли и в этих вакуолях выделяются из яйца. При этом спермии, по-видимому, не разрушаются /Yu, Wolf, 1981/.

У курицы некоторые спермии входят в яйцо путем фагоцитоза; их дальнейшая судьба не изучена /Okamura, Nishiyama, 1978/. Оплодотворение у птиц физиологически полиспермное /см. Гинзбург, 1968/.

Во всех приведенных случаях (включая наши опыты) мы имеем дело с полиспермными яйцами. Можно предположить, что когда спермии проникают в яйцо вне определенной области поверхности яйца (у костистых рыб — вне области под микропиле), то это происходит путем фагоцитоза. В яйцах двуполой формы серебряного карася вакуоли с дегенерирующими головками спермиев нами не были обнаружены, но это может быть связано с неполнотой наших данных: в срок 4 мин после осеменения (именно в этот срок в яйцах однополой формы были обнаружены вакуоли, содержащие сперматические ядра) яйца двуполой формы в электронном микроскопе не были изучены.

2. Спермий проникает в яйцо, так же как и у других животных, путем слияния его плазматической мембраны с плазматической мембраной яйца, и затем уже в цитоплазме окружается мембранными структурами.

Происхождение и природа мембранных структур, окружающих головку спермия в цитоплазме яйца однополой формы серебряного карася, неясны. Не исключено, что это не настоящие мембраны, а миелоноподобные структуры, образующиеся в результате распада липопротеидов митохондрий /Sjöstrand et al., 1964/. Дезинтеграция митохондрий вблизи от головки спермия была нами действительно обнаружена.

Чтобы понять механизм исключения из развития отцовского ядерного материала у однополой формы серебряного карася, необходимы дополнительные электронно-микроскопические исследования (в первую очередь, выяснение механизма проникновения спермия в яйцо).

#### Л и т е р а т у р а

- Гинзбург А.С. Оплодотворение у рыб и проблема полиспермии. — М.: Наука, 1968. — 358 с.
- Головинская К.А. Размножение и наследственность у серебряного карася. — Труды ВНИИПРХ. М., 1954, т. 7, с. 34–57.
- Детлаф Т.А. Становление организации зрелого яйца у амфибий и рыб на заключительных стадиях оогенеза, в период созревания. — В кн.: Современные проблемы оогенеза. М.: Наука, 1977, с. 99–144.
- Саат Т.В. Закономерности созревания ооцитов у костистых рыб (на примере вышна и серебряного карася): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — М.: Изд-во ин-та биологии развития, 1983. — 21 с.

- Черкас Н.Б. Анализ мейоза у однополюх и диплолюх форм серебряного карася. - Труды ВНИИПРХ, М., 1966, т. 14, с. 63-82.
- Черкас Н.Б. Основные итоги цитогенетического анализа однополюх и диплолюх форм серебряного карася. - В кн.: Генетика, селекция и гибридизация рыб. М.: Наука, 1969, с. 85-98.
- Черкас Н.Б. Гиногенез у рыб. - В кн.: Кирпичников В.С. Генетические основы селекции рыб. М.: Наука, 1979, с. 245-264.
- Brummett A.R., Dumont J.N. Initial stages of sperm penetration into the egg of *Fundulus heteroclitus*. - J. Exp. Zool., 1979, v. 210, N 3, p. 417-434.
- Iwamatsu T., Ohta T. Cleavage initiating activities of sperm fractions injected into the egg of the medaka, *Oryzias latipes*. - J. Exp. Zool., 1974, v. 187, N 1, p. 3-12.
- Iwamatsu T., Ohta T. Electron microscopic observation of sperm penetration and pronuclear formation in the fish egg. - J. Exp. Zool., 1978, v. 205, N 2, p. 157-179.
- Iwamatsu T., Ohta T. Scanning electron microscopic observations on sperm penetration in teleostean fish. - J. Exp. Zool., 1981, v. 218, N 2, p. 261-277.
- Kobayashi W., Yamamoto T.S. Fine structure of the micropylar apparatus of the chum salmon egg, with a discussion of the mechanism for blocking polyspermy. - J. Exp. Zool., 1981, v. 217, N 2, p. 265-275.
- Kudo S. Sperm penetration and the formation of a fertilization cone in the common carp egg. - Develop., Growth and Differ., 1980, v. 22, N 3, p. 403-414.
- Kunkle M. Male pronucleus formation in the sea urchin, *Strongylocentrotus purpuratus*. - J. Cell Biol., 1979, v. 83, N 2, p. 205a.
- Kunkle M., Longo F.J., Magun B.E. Nuclear protein changes in the maternally and paternally derived chromatin at fertilization. - J. Exp. Zool., 1978, v. 203, N 2, p. 317-380.
- Lieder U. Männchenmangel und natürliche Parthenogenese bei Silberkarausche *Carassius auratus gibelio* (Vertebrata, Pisces). - Naturwiss., 1955, Bd. 42, H. 21, S. 590-594.
- Lieder U. Über die Eientwicklung bei Männchenlosen Stämmen bei Silberkarausche *Carassius auratus gibelio* (Bloch) (Vertebrata, Pisces). - Biol. Zbl., 1959, Bd. 78, H. 2, S. 284-291.

- Longo F.J. Fertilization. A comparative ultrastructural review. - Biol. Reprod., 1973, v. 9, N 2, p. 149-215.
- Longo F.J. Derivation of membrane comprising the male pronuclear envelope in inseminated sea urchin egg. - Develop. Biol., 1976, v. 49, p. 347-368.
- Longo F.J., Anderson E. The fine structure of pronuclear development and fusion in the sea urchin, *Arbacia punctulata*. - J. Cell. Biol., 1968, v. 39, N 2, p. 339-368.
- Longo F.J., Kunkle M. Transformations of sperm nuclei upon insemination. - In: Current Topics in Developmental Biology, v. 12. Fertilization /Ed. A.A. Moscona and A. Monroy. - N.Y. - London, Academic Press, 1978, p. 149-184.
- Meel F.C.M., Beverstock G.C., Pearson P.L., Daems W.T. Electron microscopic studies on the incorporation of human spermatozoa into mouse fibroblasts following Sendai virus fusion. - J. Ultrastr. Res., 1981, v. 75, N 2, p. 142-150.
- Ohta T., Iwamatsu T. Initiation of cleavage in *Oryzias latipes* eggs injected with centrioles from sea urchin spermatozoa. - J. Exp. Zool., 1980, v. 214, N 1, p. 93-99.
- Ohta T., Iwamatsu T. Morphological observations on cleavage of the egg of the medaka, *Oryzias latipes*, following injection with flagellar microtubules of sea urchin spermatozoa. - J. Exp. Zool., 1981, v. 218, N 2, p. 293 - 299.
- Okamura F., Nishiyama H. Penetration of spermatozoon into the ovum and transformation of the sperm nucleus into the male pronucleus in the domestic fowl, *Gallus gallus*. - Cell Tiss. Res., 1978, v. 190, p. 89-98.
- Phillips S.G., Phillips D.M., Dev V.G., Miller D.A., Miller O.J. Spontaneous cell hybridization of somatic cells present in the sperm suspensions. - Exp. Cell Res., 1976, v. 98, p. 429-443.
- Poccia D., Salik J., Krystal G. Transitions of histone variants of the male pronucleus following fertilization and evidence for a maternal store of cleavage-stage histones in the sea urchin egg. - Develop. Biol., 1981, v. 82, N 2, p. 287-296.

Sjöstrand F. S., Anderson C. E., Karlsson U. Myelin-like figures formed from mitochondrial material. -Nature, 1964, v. 202, N 4937, p. 1075-1078.

Yu S. -F., Wolf D. P. Polyspermic mouse eggs can dispose of supernumerary sperm. -Develop. Biol., 1981, v. 82, N 2, p. 203-210.

#### ELECTRON MICROSCOPIC OBSERVATION ON FERTILIZATION IN THE BISEXUAL AND UNISEXUAL FORMS OF *CARASSIUS AURATUS* GIBELIO

E. Juronen, T. Saat

##### Summary

In the bisexual form, the process of fertilization resembles that of other animals investigated so far. Fusion of sperm and egg plasma membranes results in the incorporation of sperm nucleus into the egg cytoplasm. At 15 sec and 1 min postinsemination (22-23°C) the sperm nuclear envelope vesiculation and desintegration occurred. Up to 8 min postinsemination, the electron density of sperm chromatin continuously decreased. At 12 min, young male pronuclei were detected; the formation of the pronuclear envelope was in progress. At 24 min, the fully formed male pronuclei were detected.

In the unisexual form, the sperm fate was entirely different of that described above. At 32 min postinsemination, unchanged sperm nucleus (with the intact nuclear envelope) was found in the egg cytoplasm. The sperm nucleus and its mitochondria were packed into several layers of membranous structures; the origin of these structures remains unknown.

## ВРЕМЕННЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ПРОЦЕССА ОПОЛОДОТВОРЕНИЯ У КАРПА И СЕРЕБРЯНОГО КАРАСЯ

А.А. Алатсей

Процесс оплодотворения у костястых рыб уже давно привлекал внимание исследователей и его морфология на светооптическом уровне достаточно хорошо изучена /Гинзбург, 1968/. В то же время данные о хронологии этого процесса отрывочны и мало сопоставимы между собой. Выяснение временных закономерностей процесса оплодотворения (сроков завершения мейоза в яйце, времени формирования и миграции пронуклеусов и др.) у рыб - объектов разведения представляет не только теоретический, но и практический интерес. Получение таких данных открывает путь для различных экспериментальных воздействий на яйца на строго определенных стадиях процесса оплодотворения. Такая возможность может быть успешно использована в работах по управлению генетическими особенностями рыб - объектов селекции /Васецкий, 1977; Черфас, Цой, 1984/.

Широкие перспективы для сравнительного изучения хронологии оплодотворения у пойкилотермных животных открывает введенный Т.А. Детлаф метод относительной (безразмерной) характеристики продолжительности развития. Единицей измерения при этом служит продолжительность одного митотического цикла в период синхронных делений дробления -  $T_0$ . Такая единица включает в себя одновременно как видовую специфику скорости развития, так и зависимость этой скорости от температуры /Детлаф, Детлаф, 1960, 1982/. Этот метод использован и в настоящем исследовании.

### Материал и методика

В опытах использовали созревшие после гипофизарной инъекции яйца 2 самок карпа *Cyprinus carpio* L. и одной самки двуполой формы серебряного карася *Carassius auratus gibelio* (Bloch).

Зародыши развивались в чашках Петри при постоянной температуре ( $16,5 \pm 0,1^\circ$  и  $17,5 \pm 0,1^\circ$  у карпа и  $19,0 \pm 0,1^\circ$  у се-

ребрыного карася). Величина  $\tau_0$  при указанных температурах составляет 49 и 41,5 мин у карпа /Игнатьева, 1979/ и 30 мин у серебряного карася /Саат, 1983/.

Зародыши фиксировали жидкостью Санфеличе (серебряный карась) или Буэна (карп), начиная с 0,6  $\tau_0$  после осеменения с интервалом в 0,1-0,2  $\tau_0$  (табл. I) и заливали в парафин. Серийные срезы толщиной 7 или 10 мкм окрашивали железным гематоксилином по Гейденгайну или азокармином по Гейденгайну /Ромейс, 1953/. Измерения на срезах проводили с помощью окуляр-микрометра МОВ-1 (при увеличении 15x40).

На серийных срезах изучали 411 яиц.

Таблица I

Распределение яиц карпа и двулопной формы серебряного карася по стадиям оплодотворения на разных сроках фиксации

Номер фиксации	Срок фиксации, $\tau_0$	Число яиц	Стадии I			
			1	2	3	4
<b>Карп</b>						
3	0,6	23	23	-	-	-
4	0,8	27	15	12	-	-
4а	0,9	24	-	24	-	-
5	1,0	33	-	33	-	-
6	1,2	66	-	66	-	-
7	1,4	36	-	36	-	-
8	1,6	39	-	4	35	-
8а	1,7	25	-	-	25	-
9	1,8	26	-	-	18	8
10	2,0	28	-	-	1	27
<b>Серебряный карась</b>						
3	0,6	3	3	-	-	-
4	0,8	1	1	-	-	-
5	1,0	4	1	3	-	-
6	1,2	5	-	5	-	-
7	1,4	2	-	2	-	-
8	1,6	6	-	-	6	-
9	1,8	6	-	-	5	1

I Описание стадий см. в тексте.

## Результаты и обсуждение

Изученный нами период (0,6–2,0  $\tau_0$  после осеменения у карпа и 0,6–1,8  $\tau_0$  - у серебряного карася) можно разделить на 4 стадии: 1) миграция пронуклеусов, 2) контакт пронуклеусов, 3) дезинтеграция оболочки пронуклеусов и метафаза I деления дробления и 4) анафаза I деления дробления и формирование борозды дробления (табл. I).

На сроке 0,6  $\tau_0$  после осеменения в яйцах карпа и серебряного карася уже имелись как мужские, так и женские пронуклеусы (табл. I). Мужской пронуклеус в яйцах серебряного карася формируется около 0,4  $\tau_0$  после осеменения (Дронен, Саат, 1985/, т.е. примерно в то же время, что и у вьина и белуги (табл. 2).

В яйцах изученных видов костистых рыб пронуклеусы встречаются спустя ~ 1  $\tau_0$  после осеменения, дезинтеграция оболочки пронуклеусов имеет место спустя 1,5–1,6  $\tau_0$  после осеменения; метафаза первого деления дробления была обнаружена в интервале 1,6–2,0  $\tau_0$  после осеменения (табл. 2). Результаты, полученные по другим показателям у изученных видов костистых рыб, также хорошо совпадают (табл. 2). Не исключено, что между костистыми и осетровыми рыбами в хронологии процесса оплодотворения имеются некоторые различия (табл. 2, см. сроки деконденсации хроматина спермия, появления семенной звезды и дезинтеграции ядерной оболочки пронуклеусов).

**Размеры пронуклеусов.** У карпа на сроке 0,6  $\tau_0$  после осеменения мужской пронуклеус был крупнее женского ( $7,6 \pm 1,0$  х  $5,2 \pm 0,7$  и  $4,3 \pm 0,8$  х  $2,6 \pm 0,6$  мкм, соответственно). В дальнейшем размеры пронуклеусов постоянно увеличивались, причем у женского пронуклеуса быстрее чем у мужского; в результате этого начиная со срока 1,0  $\tau_0$  после осеменения женский пронуклеус стал крупнее мужского (рис. I, А, Б). Параллельно с ростом изменялась форма пронуклеусов: у карпа они становились более удлинёнными. На сроке 0,6  $\tau_0$  после осеменения соотношение большего и меньшего диаметров составляло для мужского пронуклеуса 1,6 и для женского пронуклеуса 1,5, на сроке 1,6  $\tau_0$  - 2,0 и 2,4 соответственно (см. рис. I).

У серебряного карася, в отличие от карпа, приросты большего и меньшего диаметров пронуклеусов существенно не различались (рис. I, В, Г); в результате у этого вида пронуклеусы

Таблица 2

Хронология оплодотворения (в числе  $\tau_0$ ) у рыб\*

С т а д и я	Вьш		Карп	Серебряный карась	Велуга (Глинзбург, 1959)
	Белаява, Черкас, 1965	Дабеган и др., 1981			
Деконденсация хроматина спермия	0,29	0,29	-	0,2-0,4**	0,13
Появление семенной звезды	0,29	0,14	-	0,2-0,4**	0,56
Мужской пронуклеус сформирован	0,72	0,43	$\leq 0,6$	0,4**	0,37
Миграция мужского пронуклеуса	0,72	0,58	$\leq 0,6-1,0$	$\leq 0,6-1,0$	0,37-0,75
Анафаза II	0,14	0,14	-	-	0,16-0,28
Телофаза II	0,30	0,30	-	-	0,37
Отделение II полярного тельца	-	0,43	-	-	0,56
Женский пронуклеус сформирован	0,72	-	$\leq 0,6$	$\leq 0,6$	0,56-0,75
Миграция женского пронуклеуса	0,72	0,58	$\leq 0,6-1,0$	$\leq 0,6-1,0$	0,75
Встреча пронуклеусов	1,0	0,9-1,2	0,8-0,8	0,8-1,0	1,0 (первые) 1,5 (все)
Дезинтеграция оболочки пронуклеусов	1,5	-	1,6	1,6	1,9
Метафаза первого деления дробления	2,0	2,0	1,6	1,6	2,1

\* Литературные данные пересчитаны нами в числе  $\tau_0$ ; величины  $\tau_0$  для этих видов см. Игуменова, 1975; Костомарова, 1975; Игнатъева, 1979; Саат, 1983.

\*\* По Бронен, Саат, 1985; пересчитано нами в числе  $\tau_0$ .

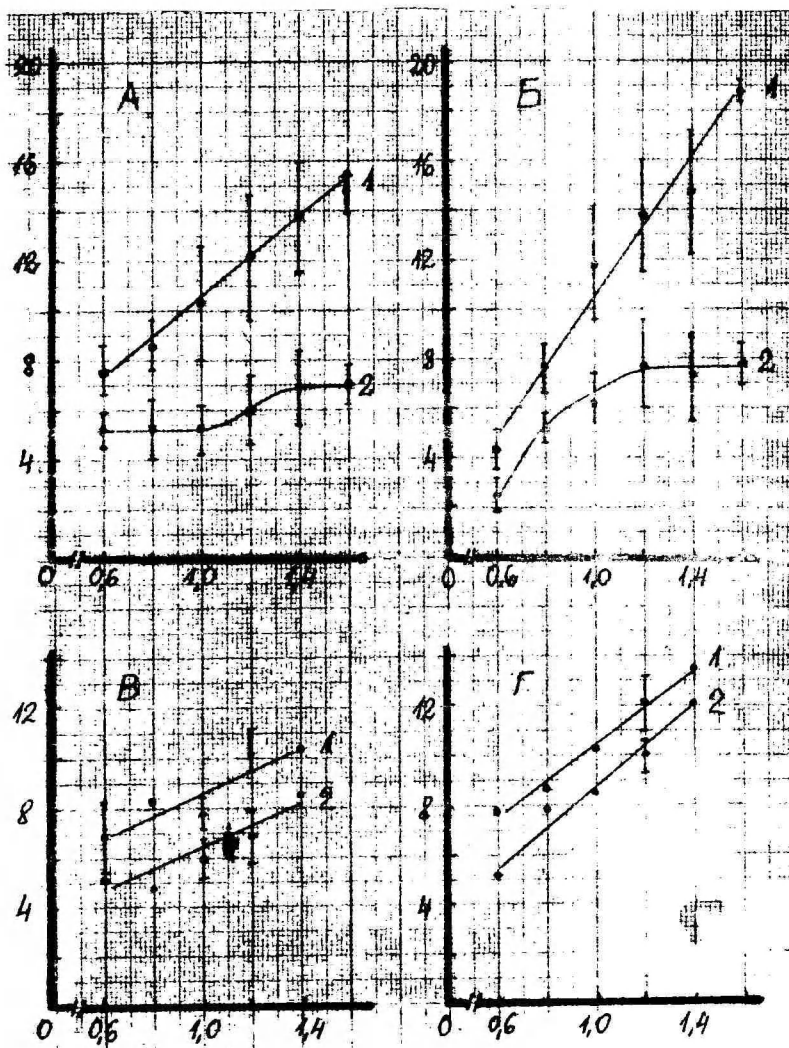


Рис. 1. Размеры пронуклеусов (мкм) в яйцах карпа (А - мужской, Б - женский пронуклеус) и серебряного карася (В - мужской, Г - женский пронуклеус) в разные сроки после осеменения ( $T_0$ ). 1 - длинный и 2 - короткий диаметр пронуклеусов.

становились в процессе роста более округлыми. Однако выявленные различия могут быть обусловлены и разными способами фиксации яиц у этих видов /Гинзбург, 1959/.

Погружение пронуклеусов. У карпа и серебряного карася (рис. 2), так же как у белуги /Гинзбург, 1959/, женский пронуклеус все время располагался ближе к плазматической мембране яйца, чем мужской.

Скорость погружения пронуклеусов была рассчитана на основе данных о среднем расстоянии между пронуклеусами и плазматической мембраной яйца на разных сроках фиксации.

Скорость погружения пронуклеусов была максимальной в начале исследованного нами периода (в интервале  $0,6-0,8 \tau_0$ , рис.2). У карпа скорость погружения в этом интервале составляла для женского пронуклеуса  $104 \text{ мкм}/\tau_0$ , для мужского -  $78 \text{ мкм}/\tau_0$ . Погружение пронуклеусов продолжалось и после встречи пронуклеусов, со средней скоростью около  $25 \text{ мкм}/\tau_0$  (см. рис. 2).

В яйцах белуги скорость миграции пронуклеусов была существенно больше, чем у карпа и составляла около  $400-500 \text{ мкм}/\tau_0$ ; скорость погружения женского пронуклеуса и у этого вида несколько больше, чем у мужского /Гинзбург, 1959, пересчитано нами в числе  $\tau_0$ ). У белуги скорость погружения пронуклеусов в цитоплазму затухает лишь спустя некоторое время (спустя около  $0,2 \tau_0$ ) после встречи пронуклеусов /Гинзбург, 1959/.

Завершившие погружение пронуклеусы располагаются у белуги в  $300-350 \text{ мкм}$  от поверхности яйца /Гинзбург, 1959/, у карпа - в  $\sim 70 \text{ мкм}$  и у серебряного карася - в  $\sim 40 \text{ мкм}$  от поверхности яйца. В яйцах белуги затухание скорости погружения пронуклеусов наступает позднее ( $\sim 1,2 \tau_0$  после осеменения, Гинзбург, 1959), чем у исследованных нами костистых рыб (около  $1 \tau_0$  у карпа и менее  $1 \tau_0$  у серебряного карася, рис. 2).

Таким образом, в яйцах белуги путь миграции пронуклеусов значительно длиннее, чем у карпа и серебряного карася. Эти различия связаны с разным характером дробления у костистых и осетровых рыб. Если бы скорость миграции пронуклеусов в яйцах белуги была такой же, что у карпа, одно их погружение продолжалось бы около  $3-4 \tau_0$ . На самом деле относительная продолжительность периода от осеменения до появления борозды первого деления дробления в яйцах осетровых рыб ( $2,6 \tau_0$  у белуги /Игумнова, 1975/;  $3 \tau_0$  у осетра и севрюги - /Детлаф,

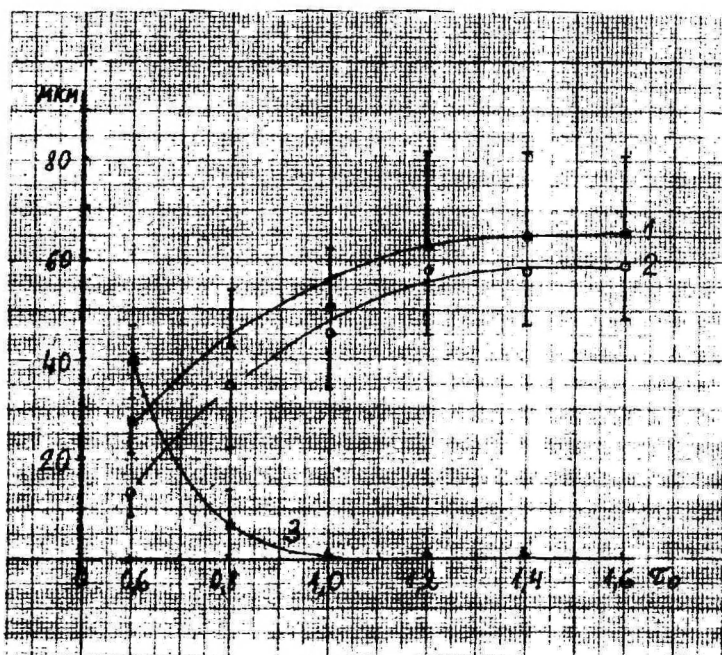


Рис. 2. Расстояние (мм) между поверхностью яйца и пронуклеусами (1 - мужской, 2 - женский) и между мужским и женским пронуклеусом (3) у карпа в разные сроки ( $\tau_0$ ) после осеменения.

1953/ лишь ненамного больше, чем у равных видов костистых рыб /2,0-2,3%. /Игнатьева, 1979/. По-видимому, и сроки дезинтеграции оболочки пронуклеусов и появления метафазы первого деления дробления в яйцах костистых и осетровых рыб сильно не различаются (см. табл. 2). Думается, что это достигается двумя способами - более высокой скоростью миграции и большей продолжительностью периода быстрой миграции пронуклеусов в яйцах осетровых рыб. Аналогичная (основанная на разной скорости миграции пронуклеусов) регуляция срока завершения процесса оплодотворения может иметь место и в яйцах разного размера. Используемые в наших опытах яйца карпа были больше яиц серебряного карася (диаметр на срезах около 1 и 0,8 мм соответственно). Пронуклеусы карпа мигрировали в большую глубину, чем у карася (см. рис. 2), но переход к первому делению дробления осуществлялся в одни и те же сроки после осеменения (табл. 2).

#### Л и т е р а т у р а

- Беляева В.Н., Черфас Н.Б. О процессах созревания и оплодотворения в яйцеклетках вьина (*Misgurnus fossilis* L.) - *Вопр. ихтиол.*, 1965, т. 5, № 1, с. 82-90.
- Васецкий С.Г. Мейотические деления. - В кн.: *Современные проблемы оогенеза*. М.: Наука, 1977, с. 145-172.
- Гинзбург А.С. Оплодотворение у осетровых рыб: I. Соединение гамет. - *Цитология*, 1959, т. 1, № 5, с. 510-526.
- Гинзбург А.С. Оплодотворение у рыб и проблема полиспермии. - М.: Наука, 1968. - 358 с.
- Дабаян Н.В., Слепцова Л.А., Балданова Д.Р., Газарян К.Г. Оплодотворение и раннее дробление яйцеклеток вьина (*Misgurnus fossilis* L.). - *Ж. общ. биол.*, 1981, т. 42, № 3, с. 440-447.
- Детлаф Т.А. Зависимость темпа дробления осетровых рыб от температуры. - *Докл. АН СССР*, 1953, т. 91, № 3, с. 695-698.
- Детлаф Т.А., Детлаф А.А. О безразмерных характеристиках продолжительности развития в эмбриологии. - *Докл. АН СССР*, 1960, т. 134, № 1, с. 199-202.
- Детлаф Т.А., Детлаф А.А. Безразмерный критерий как метод количественной характеристики развития животных. - В кн.: *Математическая биология развития*. М.: Наука, 1982, с. 20-25.

- Игнатъева Г.М. Ранний эмбриогенез рыб и амфибий (Сравнительный анализ временных закономерностей развития) - М.: Наука, 1979. - 175 с.
- Игумнова Л.В. Временные закономерности зародышевого развития белуги. - Онтогенез, 1975, т. 6, № I, с. 47-54.
- Костомарова А.А. Выи *Misgurnus fossilis* L. - В кн.: Объекты биологии развития. М.: Наука, 1975, с. 308-323.
- Ромейс Б. Микроскопическая техника. - М.: ИЛ, 1953. - 719 с.
- Саат Т.В. Закономерности созревания ооцитов у костистых рыб (на примере выи и серебряного карася): Дис. ... канд. биол. наук. - М.: Ин-т биологии развития, 1983. - 248 с.
- Черфас Н.Б., Цой Р.М. Новые генетические методы селекции рыб. - М.: Легкая и пищевая промышленность, 1984. - 104 с.
- Дронен Э.И., Саат Т.В. Электронно-микроскопическое исследование оплодотворения у двуполной и однополной формы серебряного карася. В настоящем сборнике.

#### THE CHRONOLOGY OF FERTILIZATION IN THE CARP AND GOLDFISH

A. Alatsei

##### Summary

The paper deals with temporal aspects of the fertilization in *Cyprinus carpio* and the diploid (bisexual) form of *Carassius auratus gibelio*.

The chronology of the fertilization in these two species appeared to be similar: at 0,6% postinsemination the eggs contained both (male and female) pronuclei already, at 0,8-1,0% the pronuclei became into contact, at 1,6% the pronuclear envelopes broke down and the chromosomes formed the metaphase plate of the first cleavage division, at 1,8% the anaphase of the first cleavage appeared and the formation of the cleavage furrow was in progress.

Data on the growth dynamics and migration pattern of the pronuclei are presented.

## ТАБЛИЦЫ ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ ДИПЛОИДНОЙ И ТРИПЛОИДНОЙ ФОРМ СЕРЕБРЯНОГО КАРАСЯ

М.О. Саволайнен

Серебряный карась *Carassius auratus gibelio* (Bloch) представлен двумя формами - диплоидной и триплоидной, размножающейся путем естественного гиногенеза /Черкас, 1979/. Сравнительное исследование предзародышевого и зародышевого развития этих форм представляет большой интерес /Саат, 1983/. В частности, временная характеристика эмбрионального развития двух форм серебряного карася, различающихся по плоидности, может дать интересные данные о влиянии плоидности на эмбриогенез /Детлаф, 1965/.

В настоящей работе приведены таблицы нормального эмбрионального развития двух форм серебряного карася. Время наступления стадий развития выражено в единицах относительной характеристики продолжительности развития - в числе  $T_0$ . Использование относительной характеристики продолжительности развития дает безразмерные критерии продолжительности развития, сопоставимые у разных животных и при разных температурах /Детлаф, Детлаф, 1960, 1982/.

### Методика

Опыты проводились в июне 1984 г. во Всесоюзном научно-исследовательском институте прудового рыбного хозяйства (Московская обл.). Использовалась икра двух самок диплоидной и двух - триплоидной формы серебряного карася, которую осеменяли спермой серебряного карася.

Зародыши развивались в аппаратах Вейса; температуру воды в них измеряли через каждые 10-20 мин. Опыты с двумя формами проводили одновременно; зародыши развивались в совершенно сходных температурных условиях. В течение опыта температура воды практически не изменялась (22,2±0,1 °C), а начиная с 145  $T_0$  после осеменения постепенно снижалась до 18,4 °C.

Отсчет времени вели в числе  $T_0$  от момента осеменения. Величины  $T_0$  при разных температурах у двух форм серебряного

карася определены Г.М.Игнатъевой и Т.В. Саатом /Саат, 1983/. Продолжительность периода развития (в числе  $\tau_0$ ) постоянно корригировали в соответствии с изменениями температуры воды.

Зародышей просматривали в живом состоянии и фиксировали от момента осеменения до выупления спустя каждые  $2,0 \tau_0$ . Для фиксации зародышей использовали 4%-ый раствор формальдегида. Зародышей зарисовывали на последовательных стадиях развития при помощи рисовального аппарата РА-1 под бинокулярной лупой в фиксированном состоянии.

### Результаты и обсуждение

В процессе эмбрионального развития у обеих форм серебряного карася нами было выделено 40 стадий развития. По морфологии развитие у двух форм не различалось, поэтому описание стадий приведено в одной таблице, а рисунки последовательных стадий развития даны лишь для диплоидной формы (таблица, рисунок).

Таблица

Стадии зародышевого развития диплоидной и триплоидной форм серебряного карася при температуре 22 °С

Номер стадии	Двулолая форма		Однололая форма		Внешние отличительные признаки стадии
	часы, мин- уты		часы, мин- уты		
I	2	3	4	5	6
0	-	0	-	0	Зрелое яйцо в момент осеменения
I/2	0.2I	I	0.2I	I	Образовалось первичительное пространство. Биполярная дифференцировка
I	0.42	2	0.42	2	2 бластомера
I I/2	1.03	3	1.03	3	4 бластомера
2	1.24	4	1.24	4	8 бластомеров
2 I/2	1.45	5	1.45	5	16 бластомеров
3	2.06	6	2.06	6	32 бластомера
4	2.48	8	2.48	8	128 бластомеров
5	3.30	10	3.30	10	Морула
6	4.54	14	4.12	12	Ранняя бластула
7	6.18	18	5.36	16х	Поздняя высокая бластула
8	7.00	20	6.18	18	Поздняя эпителиальная бластула

Продолжение табл.

I	2	3	4	5	6
9	7.42	22	7.00	20	Начало гаструляции. Спустя 2 ч. образование зародышевого кольца
10	9.48	* 28	8.24	24	Властодерма обросла 1/4 поверхности клетка
11	10.30	30	9.06	26	Властодерма обросла 1/3 поверхности клетка
12	11.12	32	9.48	28	Властодерма обросла 1/2 поверхности клетка
13	11.54	34	10.30	30	Властодерма обросла 2/3 поверхности клетка
14	12.36	36	11.12	32	Властодерма обросла 3/4 поверхности клетка
15	13.18	38	11.54	34	Властодерма обросла 5/6 поверхности клетка
16	14.00	40	13.18	38	Властодерма обросла 7/8 поверхности клетка
17	14.42	42	14.00	40	Конец обрастания. Мезодермальные зачатки в головном конце зародка
18	15.24	44	14.42	42	Мезодермальные зачатки уменьшаются
19	16.06	46	15.03	43	Появление I пары туловищных сомитов. Каждая последующая пара сомитов (до около 15 пар) появляется с интервалом 1 ч.
20	17.00	48	15.45	45	Появление 3-й пары туловищных сомитов
21	17.30	50	16.27	47	5 пар туловищных сомитов. Образование плотных зачатков глаз
22	19.36	56	18.54	54	В зачатках глаз возникает мезенхимная полость. Начало формирования хрусталика

## Продолжение табл.

I	2	3	4	5	6
23	21.42	62	21.00	60	Образование слуховых пузырьков
24	22.24	64	21.42	62	Купферов пузырек хорошо виден. Около 20 пар туловищных соматов
25	24.30	70	24.30	70	Хвост начинает обособляться от желтка
26	26.36	76	26.36	76	Желток становится грушевидным
27	27.18	78	27.18	78	Начало сегментации хвостовой мезодермы
28	28.42	82	28.00	80	Начало движения зародыша
29	29.24	84	29.24	84	Начало пульсации сердца. Кровь бесцветная
30	30.06	86	30.06	86	Начало пигментации глаз
31	32.54	94	32.12	92	Пигментация глаз завершается
32	34.18	98	34.18	98	Появление пигмента на теле зародыша (на боках) и на желточном мешке
33	35.42	102	35.00	100	Формирование обонятельных плакод
34	36.24	104	36.24	104	Пигментация достигает уровня слуховых пузырьков, V-образный рисунок пигмента
35	37.06	106	37.06	106	Голова начинает обособляться от желтка
36	39.54	114	39.54	114	Начало пигментации хвоста
37	46.54	134	46.12	132	Пигментация на голове достигает уровня глаза
38	49.42	142	49.00	140	Появление зачатков грудных плавников
39	53.54	154	53.12	152	Пигментация головы спереди глаз
40	61.36	176	59.30	170	Выупление первых предличенок

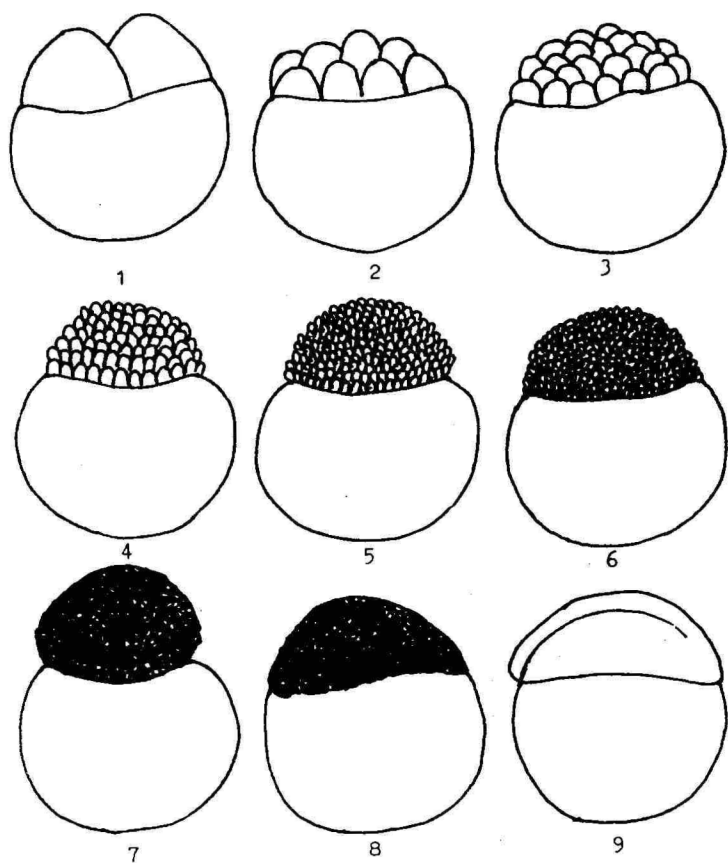
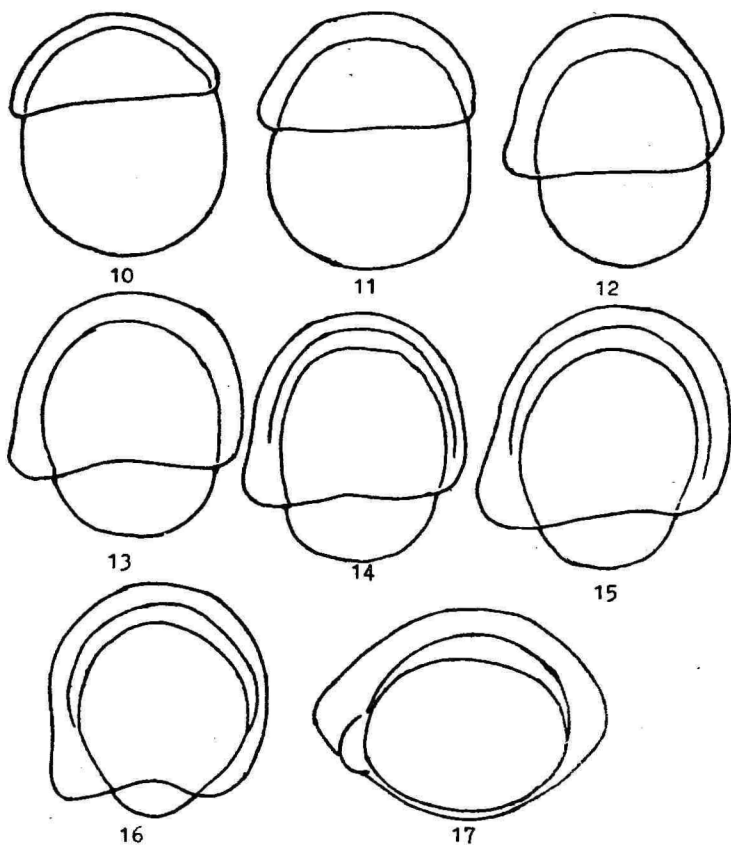
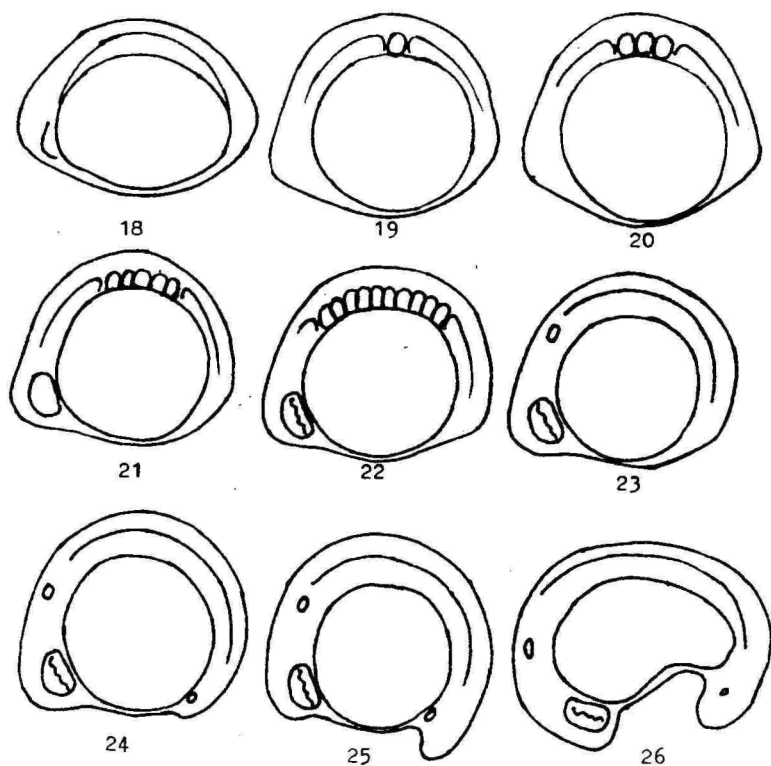


Рис. Стадии нормального эмбрионального развития диплоидной формы серебряного карася. Номера под рисунками соответствуют номерам стадий.



**Рис. Стадии нормального эмбрионального развития диплоидной формы серебряного карася. Номера под рисунками соответствуют номерам стадий.**



**Рис. Стадии нормального эмбрионального развития диплоидной формы серебряного карася. Номера под рисунками соответствуют номерам стадий.**

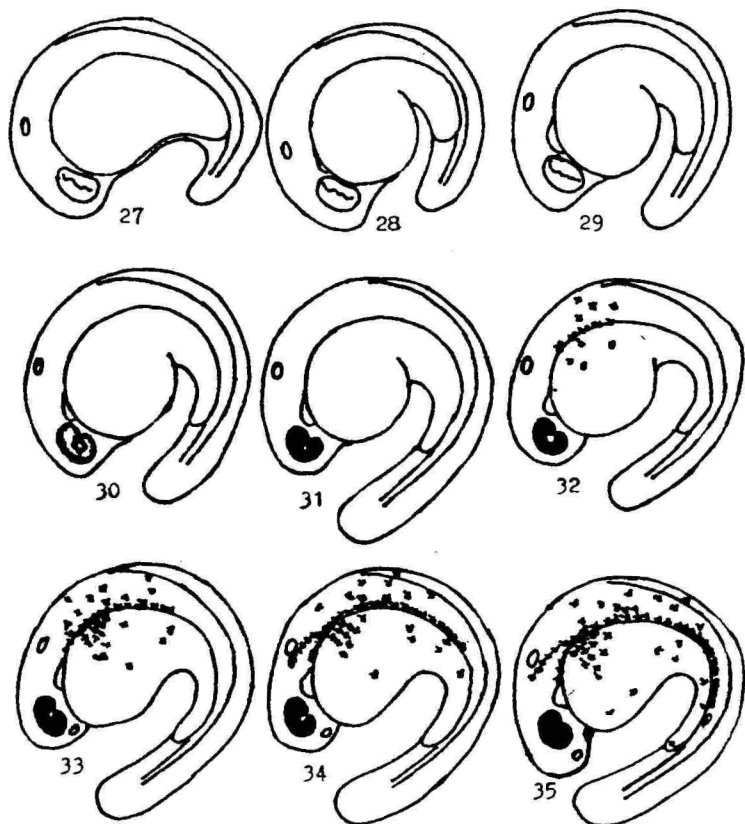


Рис. Стадии нормального эмбрионального развития  
 диплоидной формы серебряного карася.  
 Номера под рисунками соответствуют номерам  
 стадий.

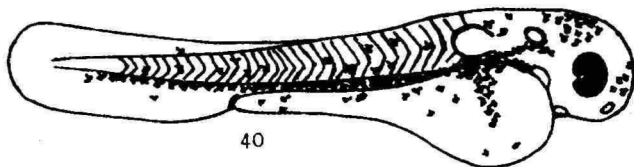
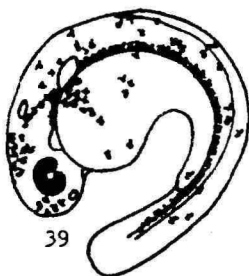
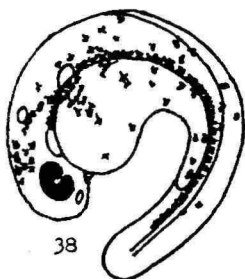
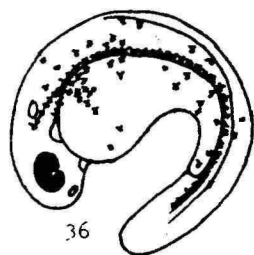


Рис. Стадии нормального эмбрионального развития диплоидной формы серебряного карася. Номера под рисунками соответствуют номерам стадий.

Время наступления одноименных стадий развития у двух форм серебряного карася также существенно не различалось (таблица). Первые 5 стадий развития (до стадии морулы) у двух форм наблюдались в одно и то же время. Последующие стадии (бластуляция, гастрюляция, появление первых пар туловищных сомитов и др.) вплоть до начала обособления хвоста от желтка (стадия 25, спустя 70% после осеменения) у триплоидной формы наступали на 2-4% раньше, чем у диплоидной. Возможно, это связано с более ранним наступлением гастрюляции у триплоидной формы. Наступление гастрюляции у триплоидов на более ранней стадии (при меньшем числе клеток), чем у диплоидов не доказано, но вполне вероятно /Детлаф, 1965/. Для получения ответа на этот вопрос необходимо специальное исследование, при котором серебряный карась может служить подходящим объектом.

Время наступления последующих стадий развития (№ 26-39) у двух форм различалось до 2% (таблица). Вылупление началось у триплоидной формы на 6% раньше, чем у диплоидной (соответственно 170 и 176% после осеменения).

Первоначально эмбрионального развития триплоидной формы серебряного карася приведена в работе Пеняз и соавторов /Peñáz et al., 1979/, там же имеются некоторые данные о времени наступления и продолжительности некоторых интервалов эмбриогенеза серебряного карася. Мы перевели эти данные о хронологии эмбриогенеза в число %. Время наступления некоторых стадий развития практически совпадает с нашими данными, а по некоторым другим стадиям имеется существенные различия /Savolainen, 1985/. Следует отметить, что температура воды во время опытов Пеняз и соавторов колебалась /Peñáz et al., 1979/. Что же касается морфологии эмбриогенеза, то наши данные хорошо согласуются с данными, приведенными в указанной работе.

## Л и т е р а т у р а

- Детлаф Т.А. Продолжительность интеркинетических состояний клеток, клеточные деления и дифференцировка. - В кн.: Клеточная дифференцировка и индукционные механизмы. М.: Наука, 1965, с. 147-159.
- Детлаф Т.А., Детлаф А.А. О безразмерных характеристиках продолжительности развития в эмбриологии. - Докл. АН СССР, 1960, т. 134, № I, с. 199-202.

- Детлаф Т.А., Детлаф А.А. Безразмерные критерии как метод количественной характеристики развития животных. - В кн.: Математическая биология развития. М.: Наука, 1982, с.25-39.
- Саат Т.В. Закономерности созревания ооцитов у костистых рыб (на примере вьина и серебряного караса): Дис. ... канд. биол. наук. - М.: Ин-т биологии развития, 1983. - 248 с.
- Черкас Н.Б. Гиногенез у рыб. - В кн.: В.С. Кирпичников. Генетические основы селекции рыб. М.: Наука, 1979, с. 245-264.
- Peňás M., Ráb P., Prokeš M. Cytological analysis, gynogenesis and early development of *Carassius auratus gibelio*. - Acta Sc. Nat. Brno, 1979, vol. 13, N 7, p. 1-33.
- Savolainen M. Hõbekogre diploidse ja triploidse vormi ning karpkala embrüonaalne areng. - Tartu:TEÜ, 1985. Diplemitõõ TEÜ zooloogia kateedris. - 63 lk.

STAGES OF EMBRYONIC DEVELOPMENT IN BISEXUAL AND  
UNISEXUAL FORMS OF *CARASSIUS AURATUS GIBELIO*

M. Savolainen

Summary

The morphological pattern of the embryonic development in the two forms of *Carassius auratus gibelio* appeared to be identical; 40 stages of development were distinguished. In the unisexual form, the relative speed of embryonic development (measured in number of  $\tau_0$ ;  $\tau_0$  - the duration of one mitotic cycle during the period of synchronous cleavage divisions) was somewhat faster than in the bisexual form; the differences became evident from the beginning of gastrulation.

## ИЗМЕНЕНИЕ МАССЫ ГИПОФИЗА ЛЕЩА В ТЕЧЕНИЕ РЕПРОДУКТИВНОГО ЦИКЛА

Т.К. Нооритс

В связи с тем, что гипофиз является ведущей эндокринной железой, регулирующей процессы созревания и нереста рыб /Гербицкий, 1947; Pickford, Atz, 1957/, изучение его функциональной активности, выражением которой является изменение его массы на разных этапах репродуктивного цикла, представляет большой интерес. Данная работа посвящена изучению изменений массы гипофиза в течение репродуктивного цикла у леща — важного объекта рыболовства во внутренних водоемах СССР.

### Материал и методика

Материалом исследования служили лещи из озера Вытсъярв. Всего было проанализировано 342 (60)<sup>ж</sup> самки и 353 (39) самца леща. Материал собран в течение 3 лет (1978–1980). Все исследования были подвергались полному биологическому анализу по общепринятым методикам /Прудин, 1966; Бризгин, 1969/. Гипофизы извлекали после открытия черепа при помощи инструментов зубного врача и обезвоживали в двух порциях чистого ацетона /Заготовка..., 1977/. Ацетонированные гипофизы взвешивали на аналитических весах "МЕОРТА" АЗ/200 с точностью до 0,1 мг. Корреляционный анализ проводили на ЭВМ "НАИРИ-2" кафедры лесного хозяйства и мелиорации ЭСХА.

### Результаты и обсуждение

Данные анализа массы ацетонированных гипофизов (МАГ) одноразмерных неполовозрелых рыб показали, что значения средней массы желез исследованных рыб различаются по сезонам весьма незначительно. МАГ половозрелых лещей в течение полового цикла изменяется значительно. У половозрелых рыб с одинаковыми размерами или массой тела в разные сезоны МАГ самок

<sup>ж</sup> В скобках указано число проанализированных неполовозрелых особей.

достоверно превышает МАГ самцов. В преднерестовый период средняя МАГ у самок со средней массой порки  $590 \pm 30$  г составляет  $1,98 \pm 0,11$  мг, а у самцов (средняя масса порки  $568 \pm 20$  г) соответственно  $1,51 \pm 0,06$  мг.

Динамика средней массы гипофизов половозрелых лещей с одинаковой массой порки на протяжении полового цикла представлена на рис. 1. Кривые, характеризующие изменения МАГ обоих полов, а также гонадосоматического индекса (ГСИ), имеют в основном одинаковый характер. С развитием гонад по мере накопления в ооцитах трофических включений средняя масса гипофиза заметно увеличивается и достигает максимальных значений в преднерестовый период. (В период активного развития половых желез значения массы гипофиза достоверно больше в сравнении с массой гипофиза незрелых и отнерестившихся рыб). У текущих особей и у самок, выметавших порцию икры, средняя масса желез уменьшается по сравнению с таковой в конце IV и IV-У стадии зрелости. Дальнейшее снижение МАГ отмечается у полностью отнерестившихся рыб. Для самок, не созревающих в данный сезон (пропускавшие по каким-либо причинам нерест), характерны довольно низкие значения массы их гипофиза, не отличающиеся от таковых немолодозрелых самок.

Данные о сезонной динамике массы гипофиза у разных видов рыб в ихтиологической литературе сравнительно малочисленные.

Изменение массы гипофиза при активном функционировании половых желез установлено у атлантической трески /Woodhead, 1971/, у большого индийского карпа *Bithina trigala* /Moitiga, Sarkar, 1976/, у сайды /Стороух, 1977/, а также у черноморских кефалей /Куликова, Вальтер, 1962/ и камбаловых /Моисеева, 1972; Золотницкий, Моисеева, 1976; Моисеева, Золотницкий, 1979/.

С целью установления связей между МАГ и другими биологическими показателями у половозрелых лещей нами проведен корреляционный анализ, результаты которого представлены в таблице. МАГ самок и самцов леща достоверно коррелируется с их длиной тела, массой порки, возрастом и ГСИ. Между МАГ и упитанностью рыб достоверные связи отсутствуют. Анализ результатов проведенного нами корреляционного анализа с помощью  $\eta$ -преобразования /Закс, 1976/ показал, что связь между МАГ леща и размерами тела, возрастом и ГСИ у самок и самцов положительные, выявляется равносильно и достоверно при уровне значимости  $P < 0,01$ . Половые различия отражаются лишь в коэффициентах корреляции, характеризующих связь МАГ с массой

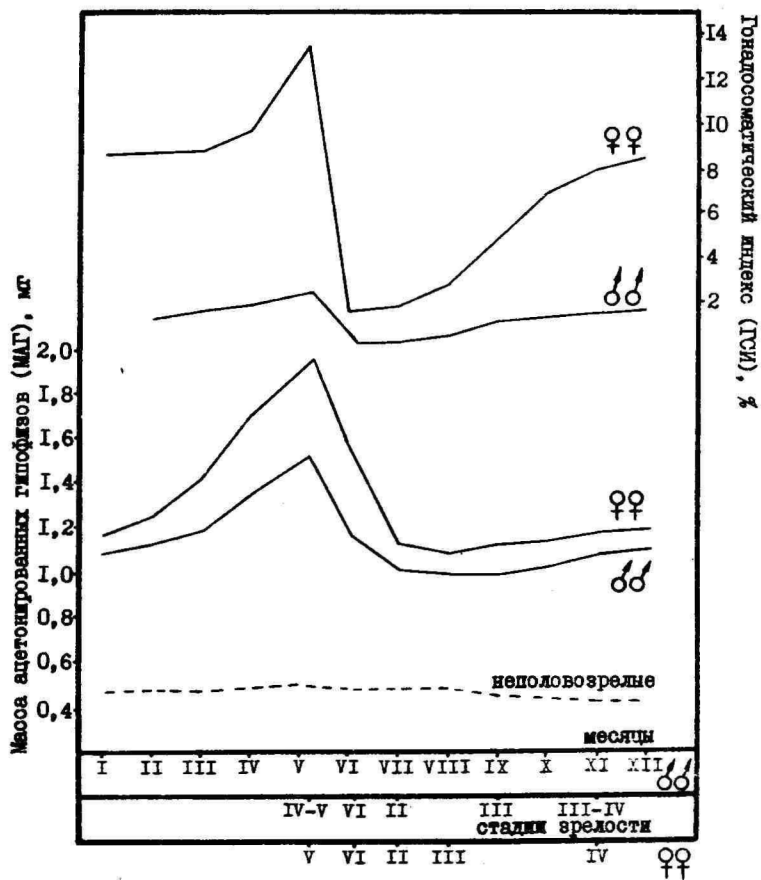


Рис. I. Сезонная динамика массы ацетонированных гипофизов и гонадосоматического индекса леща озера Вуртсъярв.

Таблица

Корреляционные коэффициенты ( $r$ ), характеризующие связь массы ацетонированных гипофизов (МАГ) с другими биологическими показателями половозрелых лещей оз. Вуртсъярв

Показатель	Пол	Длина тела	Масса порки	Возраст	$C^3$	ГСИ <sup>4</sup>	ИАП <sup>5</sup>	ИОП <sup>6</sup>	Диаметр икринок
МАГ	♂ <sup>I</sup> ++	0,59	0,67	0,38	0,21	0,46	0,70	0,26	0,30
	♂ <sup>2</sup>	0,48	0,51	0,41	0,23	0,44			

<sup>1</sup> $r \geq 0,35$   $P < 0,01$ ;  $r \geq 0,27$   $P < 0,05$

<sup>2</sup> $r \geq 0,30$   $P < 0,01$ ;  $r \geq 0,23$   $P < 0,05$

$C^3$  - упитанность по Кларк; ГСИ<sup>4</sup> - гонадосоматический индекс; ИАП<sup>5</sup> - индивидуальная абсолютная плодовитость; ИОП<sup>6</sup> - индивидуальная относительная плодовитость.

порки рыб. У самок леща связь между МАГ и массой порки ( $r = +0,67$ ) выражается сильнее, чем у самцов ( $r = +0,51$ ).

Следовательно, масса гипофиза леща зависит от размеров массы и возраста рыб, и по мере роста их увеличивается и МАГ. Особи, у которых масса гипофиза больше, имеют и более крупные и развитые гонады. У самок и самцов как индивидуальная вариабельность МАГ, так и средние ее значения для особей с одинаковой массой тела одного и того же сезона (одной и той же стадии зрелости) в разные годы изменяются мало. Упитанность рыб не связана с функциональной активностью гипофиза; выражением которого является изменение его массы в течение репродуктивного цикла. Изучение данных корреляционного анализа, проведенного на самках, показало, что связи между МАГ и размерами тела ( $r = +0,59$ ), массой порки ( $r = +0,67$ ) и ГСИ ( $r = +0,46$ ) равносильны и достоверны при уровне значимости  $P < 0,01$ . Относительно большую вариацию массы гипофиза, наблюдаемую у одновозрастных особей по сравнению с вариацией МАГ у рыб с одинаковыми размерами или массой тела, можно объяснить слабее выражающейся связью между МАГ и возрастом ( $r = +0,38$ ).

Значительная положительная корреляция ( $r = +0,70$ ), выявляющаяся между МАГ самок леща и индивидуальной абсолютной плодовитостью (ИАП) на уровне значимости  $P < 0,01$ , свидетельствует о тесной связи сезонных изменений массы гипофиза с процессами развития ооцитов и становления плодовитости у производителей.

Связь массы гипофиза самок с размерами икринок выражается слабо ( $r = +0,30$  при  $P < 0,05$ ), а с массой икринок вообще отсутствует. Следовательно, размеры икринок и их масса зависят не столько от массы гипофиза (от гонадотропной активности), сколько от разнообразных факторов среды, определяющих успешность нагула и вместе с этим обеспеченность генеративного обмена особей энергетическими и пластическими материалами.

Анализ нашего материала в сезонном аспекте свидетельствует о том, что на разных этапах полового цикла, т.е. в разные сезоны года коррелятивные связи между МАГ леща и длиной и массой тела, возрастом, а также ГСИ выявляются в разной степени. Тесная зависимость прослеживается у неполовозрелых и отнерестившихся самок. В течение активной фазы полового цикла, в период роста и развития половых клеток она выражена менее отчетливо, вероятно, вследствие вариабельности физио-

логического состояния созревающих особей. Абсолютная масса гипофиза у особей с одинаковой массой порки на разных стадиях зрелости заметно варьирует. По мере развития гонад вариабельность постоянно усиливается, но в посленерестовый период пределы индивидуальных колебаний сужаются.

Аналогичная динамика вариабельности массы гипофиза у одноразмерных особей на разных фазах полового цикла прослеживалась и у черноморских кефалей /Куликова, Вальтер, 1982/. Поскольку масса гипофиза тесно коррелирует с состоянием гонад, а также с гистологической картиной гонадотропной зоны аденогипофиза (по мере увеличения количества и размеров гонадотропных клеток в ходе активной фазы репродуктивного цикла - вителлогенеза увеличивается и масса гипофиза) /Ноортс, 1984/, то можно предположить, что ее изменения связаны с изменением гонадотропной активности гипофиза. Это мнение подтверждается также данными, полученными при исследовании других видов рыб. На примере индийского карпа *Cirrhinus mrigala* показано /Maitra, Sarkar, 1976/, что нарастание массы гипофиза обусловлено увеличением количества гонадотропных клеток и их размеров. Установлено также, что у бычка-кругляка и камбалы-калкана доля участия гонадотропных клеток в изменениях массы гипофиза гораздо выше, чем доля участия других типов клеток /Моисеева, 1972; Моисеева, Золотницкий, 1979/.

Подытоживая результаты нашего исследования, отмечаем, что масса гипофиза половозрелого леща в течение репродуктивного цикла тесно коррелирует с состоянием гонад и поэтому изменения ее могут служить количественной характеристикой гонадотропной функции на определенных этапах развития гонад.

#### Л и т е р а т у р а

- Брызгин В.Л. Методы изучения роста рыб по чешуе, костям и отолитам. Киев, 1969. - 186 с.
- Гербыльский Н.Л. Гонадотропная функция гипофиза у костистых и осетровых. - Тр. Лаб. основ рыбоводства. Л., 1947, т. I, с. 25-95.
- Заготовка и использование гипофизов серебряного караса для стимуляции созревания промысловых рыб: Методическое указание. Кишинев, 1977. - 12 с.
- Захс Л. Статистическое оценивание. М., 1976. - 597 с.

- Золотницкий А.Г., Моисеева Е.Б. Исследование гонадотропной функции гипофиза камбалы-калкана. - Тр. ВНИРО, 1976, т. II5, с. 57-65.
- Куликова Н.И., Вальтер Г.А. Изменение массы гипофиза в течение репродуктивного цикла у черноморских кефалей (*Mugilidae*, *Mugiliformes*). - Зоол. журн., 1982, т. 61, № 3, с. 377-384.
- Моисеева Е.Б. Изменения веса гипофиза как показателя его функционального состояния на разных этапах полового цикла бычка-кругляка *Gerbius melanostomus* Pall.- Вопр. ихтиол., 1972, т. 12, вып. 5 (76), с. 875-880.
- Моисеева Е.Б., Золотницкий А.П. О возможности оценки гонадотропной функции гипофиза рыб по изменениям его массы в течение полового цикла (на примере *Scorpthalmus maeoticus* Pallas). - Бюл. моря (Владивосток), 1979, № 4, с. 47-52.
- Нооритс Т.К. Сезонные изменения воспроизводительной системы леща: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1984. - 15 с.
- Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных). М., 1966. - 376 с.
- Сторожек А.К. Морфофизиологические и биохимические особенности созревания сайды (*Pollachius virens* L.) Северного моря. - Тр. ВНИРО, 1977, т. 121, с. 58-65.
- Meitra S.K., Sarkar S.K. Seasonal variations in the histology of the pituitary gland of *Cirrhinus mrigala* (Ham.) on Indian freshwater major carp, in relation to gonadal activity. - Z. Mikrosk.-anat. Forsch., 1976, vol. 90, № 1, p. 154-174.
- Pickford G.E., Atz I.W. The physiology of the pituitary gland of fishes. New York, 1957. - 613 p.
- Woodhead P.M.I. Relationship of pituitary size to body weight in cod, *Gadus morhua*. - Gen. Comp. Endocrinol., 1971, vol. 16, № 1, p. 160-162.

CHANGES IN THE PITUITARY WEIGHT OF  
BREAM DURING REPRODUCTIVE CYCLE

T. Noorits

Summary

Seasonal dynamics of the pituitary weight (PW) of mature breams resemble, in general, dynamics of the GSI of fish. Before spawning the average PW of females (with average body weight  $590 \pm 30$  g) forms  $1,98 \pm 0,11$  mg, and PW of males (with average body weight  $568 \pm 20$  g)  $1,51 \pm 0,06$  mg accordingly. During the whole seasonal cycle males pituitaries weighed significantly less than those of females. PW correlates significantly ( $P < 0,01$ ) with length ( $r = +0,59$ ), weight ( $r = +0,69$ ), age ( $r = + 0,38$ ) and fecundity ( $r = + 0,70$ ) of fish.

## СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ЛИПИДОВ И ГЛИКОГЕНА В ГОМАДАХ ЛЕЩА (НА ПРИМЕРЕ ВЬРТСЬЯРВСКОГО ЛЕЩА)

Т.К. Нооритс

Несмотря на интенсивное научение роли липидов как основного энергетического субстрата обменных процессов рыб (Nahana, 1960; Мильман, 1972) и гликогена, число работ по сезонной динамике содержания вышеуказанных энергетических веществ у рыб невелико. Кроме того, большинство этих исследований характеризуют изменения в содержании липидов и гликогена в печени и мышцах рыб в течение нагула; гораздо меньше исследований, в которых сезонную динамику рассматривают в комплексе с процессами генеративного обмена /Лаугасте и др., 1972; Магуновский и др., 1972, 1975; Мильман и др., 1977; Магуновский, 1980/. Вопросы содержания и динамики энергетических веществ в гомадах пресноводных костистых (в том числе и карповых) является малоизученными.

Целью данной работы служит выявление динамики липидов и гликогена в гомадах леща с использованием методов гистохимии.

### Материал и методика

Материал для изучения сезонной динамики липидов и гликогена в гомадах леща собран в 1976-1981 гг. из озера Вьртсьярв. Всего было проанализировано 1228 экз. рыб. Сборы и обработку материала проводили по общепринятым методам /Роскин, Левинсон, 1957; Пирс, 1962; Правдин, 1966/. Липиды окрашивали растворами судана черного В как в пропиленгликоле, так и в 70%-ном спирте. Гликоген выявляли реакцией ШИК. Для оценки относительного содержания резервных веществ (гликоген, липиды) в гомадах использовали метод так называемой "ступенчатой оценки", который применен рядом исследователей /Hirsh, Pelt, 1937; Шабадан, 1939, 1949; Лаугасте и др., 1972, 1974/ при изучении обмена гликогена и липидов как в печени, так и в нервной системе млекопитающих и рыб. Из большого количества препаратов выбирают различающиеся друг от друга по ступеням в отношении интересующего нас признака. Для оценки коли-

чества гликогена и липидов в гонадах нами использована четырехбалльная шкала эталонов (рис. 1, 2). Стадии зрелости гонад и фазы развития ооцитов определяли по общепринятой шкале /Сакун, Будкая, 1968/.

### Результаты и обсуждение

Как известно /Даниленко, 1967, 1972; Boulekbache, 1981/, в биодинамике клеток липиды и гликоген играют роль энергетических резервов. Они выявляются в семенниках, а также в яичниках (половых клетках - п.к.) производителей леща в виде мелких зернышек и капелек (рис. 3-6). Гликогену и липидам свойственна своеобразная сезонная динамика, которая в большей или меньшей степени совпадает с динамикой ГСМ половозрелых лещей (рис. 7).

В развивающихся ооцитах липиды обнаруживаются уже во II стадии зрелости - в июле в ооцитах обнаруживается узкая околоядерная суданофильная зона, которая в дальнейшем постепенно расширяется. Резко увеличивается содержание липидов с августа по сентябрь (III стадия зрелости). С ноября по нерестовый период (май) заметных изменений в содержании липидов в ооцитах не наблюдается.

Гликоген появляется в развивающихся ооцитах в начале марта (вторая половина IV стадии зрелости) и в дальнейшем интенсивно накапливается, достигая максимума своего содержания (~ 2,7 балла по визуальной шкале) к нерестовому периоду. В остальные сезоны года гликоген в ооцитах не обнаруживается.

Накапливание липидов и гликогена в семенниках леща начинается обычно с июля (рис. 7). Если содержание липидов в семенниках сначала повышается резко, достигая уже к началу августа 2-2,5 балла по визуальной шкале, и в последующие месяцы изменяется незначительно, то гликоген накапливается постепенно и медленно, достигая максимального своего содержания (~ 2 балла) лишь в ноябре. В дальнейшем динамика содержания липидов и гликогена в семенниках получает сходство, начиная с зимних месяцев (январь, февраль) начинается их постепенное расходование на нужды продолжающегося генеративного обмена, следовательно, снижаются и кривые, характеризующие их динамику. Содержание липидов и гликогена уменьшается постепенно и в нерестовый период составляет примерно 0,6-0,7 балла (липиды) - 0,2-0,3 балла (гликоген). В после-

нерестовый период гликоген в семенниках не обнаруживается. Липиды не обнаруживаются лишь в течение короткого периода в конце икты.

Вопросы содержания и динамики энергетических резервов в гонадах рыб методами гистохимии сравнительно малоизучены. Установлены локализация и динамика гликогена в ооцитах карпа и плотвы /Даниленко, 1967, 1972/. В некоторых аспектах вопрос динамики гликогена в гонадах изучен у голяна /Immers, 1952/ и пятнистого змеоголова /Sinha, Mondal, 1981/. Существует несколько гистохимических исследований на рыбах, в частности работа Хиббарда и Пара /Hibbard, Parat, 1928/ на окуне и девятиглазой колюшке, показавших накопление в период трофоплазматического роста диффузных липидов в околоядерной зоне ооцитов. Н.А. Буцкой /1966/ изучено распределение липидов в клетках семенника в различные сезоны года у карповых (сазан, плотва, линь), окуневых (судак, окунь, ерш), лососевых (балтийский лосось, горбуша), щуковых (щука) и осетровых (севрюга, стерлядь). Липидные включения и их значительные сезонные изменения обнаружены в фолликулярных клетках семенника у всех видов осетровых, лососевых и щуковых, но не найдены у карповых и окуневых. По мнению автора /Буцкая, 1966/, эти липиды связаны с питательной функцией. Сезонные изменения липидов в семенниках изучены также у щуки /Lofts, Marshall, 1957/ и пятнистого змеоголова /Sinha, Mondal, 1981/.

При анализе наших гистохимических материалов, охватывающих 6-летний период, по содержанию энергетических резервов в гонадах обнаружены межгодовые различия в их сезонной динамике, более ярко выходящиеся в 1976-1978 гг. (рис. 8 и 9). Если в основном эти различия объясняются асинхронностью развития и созревания ооцитов (хотя материал для анализа брали в одинаковых участках яичника), а также относительной неточностью визуальной оценки, то за различиями в сезонной динамике энергетических резервов в 1976-1978 гг. (которые, кстати, статистически достоверны при  $P < 0,05$ ), как показывает анализ совместных гидробиологических, ихтиологических и гидрохимических данных этого периода, стоит резкое изменение экологической обстановки в оз. Вуртъярв (дефицит кормовых объектов, острая пищевая конкуренция леща с угрем и т.д.) /Кангур и др., 1983/.

Естественно, что ухудшение условий существования половозрелых лещей в озере отражается в первую очередь и более наглядно в снижении жирности, упитанности, а также ГСИ про-

изводителей, и лишь в последние очередь в показателях качественности икры (размеры и масса икринок, содержание энергетических резервов). Кроме того, ухудшение условий существования отражается более ярко у самок, которые тратят гораздо больше энергии для заготовки половых продуктов, чем самцы.

### Литература

- Буцкая И.А. Цитохимическое исследование семенников рыб. II. Ливиды. - Архив анат. гистол. и эмбриол., 1966, т. 51, вып. 10, с. 81-87.
- Даниленко Т.П. Локализация гликогена в овоцитах карповых рыб в период созревания и оплодотворения. - Гидробиол. журнал, 1967, т. 3, № 4, с. 55, 62.
- Даниленко Т.П. Динамика гликогена в овоцитах фазы E у карпа *Cyprinus carpio L.* - Вопр. иктиол., 1972, т. 12, вып. 2 (73), с. 329-335.
- Кангур А., Кангур К., Ноорите Т. Многолетние изменения состояния популяции леща оз. Вяртсъярв. - Тез. XXI конф. по науч. внутр. вод Прибалтики. Псков, 1983, т. 2, с. 76-79.
- Лаугасте К., Кангур М., Пиху Э. Связь веса печени леща и наличия с биологическим циклом рыб и некоторыми абиотическими условиями. - В кн.: Биол. иссл. на внутр. водоемах Прибалтики. Минск, 1972, с. 230-233.
- Лаугасте К., Кирсипу А., Кангур А. Влияние питания и температуры воды на некоторые гистологические показатели печени, белки сыворотки крови и биохимический состав мышц у леща. - В кн.: Гидробиол. иссл. Тарту, 1974, вып. VI, с. 199-206.
- Мильман Л.С., Дровицкий В.Т., Ермолаева Л.П. Контроль углеводного обмена на различных стадиях оогенеза. - В кн.: Современ. пробл. оогенеза. М., 1977, с. 250-266.
- Пирс Э. Гистохимия. М., 1962. - 962 с.
- Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных). М., 1966. - 376 с.
- Роскин Г.И., Левинсон Л.Б. Микроскопическая техника. М., 1957. - 467 с.
- Сакун О.Ф., Буцкая И.А. Определение стадии зрелости и изучение половых циклов рыб. - Мурманск: Главрыбвод, 1968, - 47 с.

- Мабадан А.Л. Морфология распределения и превращения гликогена. Сообщение III: Цитология гликогеновых накоплений в двигательных клетках нормальной нервной системы. - Бюлл. экс. биол. и мед., 1939, т. 7, № 5, с. 418-424.
- Мабадан А.Л. Гистохимия гликогена нормальной нервной системы. М., 1949. - 324 с.
- Магуновский М.И. Экологические закономерности обмена веществ морских рыб. М., 1960. - 281 с.
- Магуновский М.И., Боголюбенская М.П., Вельтицева И.Ф., Масленникова Н.В. Исследование генеративного обмена балтийской трески. - Тр. ВНИРО, 1975, т. 96, с. 57-62.
- Магуновский М.И., Боголюбенская М.П., Вельтицева И.Ф. и др. Динамика физиолого-биохимического состояния промысловых рыб Северо-Восточной Атлантики в течение жизненного и годовичного циклов. - Отчет ОНТИ ВНИРО, 1972. - 67 с.
- Boulekbache H. Energy metabolism in fish development. - Amer. Zool., 1981, vol. 21, № 2, p. 377-389.
- Manahan D.I. Lipids chemistry. New York, 1960. - 33 p.
- Hibbard H., Parat M. Nature of evolution des constituants cytoplasmatiques de l'ovocyte de deux Teleosteens. - Bull. Hist. Appl., 1928, vol. 5, p. 313.
- Hirsch Q.C., van Pelt. Der Rythmus des Glykogengehalts der Leber der weissen Maus, dargestellt durch die Stokfenzählmethode. - Proc. Acad. Amsterdam, 1937, vol. 40, p. 6.
- Immers I. The influence of the sexual cycle on the metabolism of glycogen in the liver, gonads and skin of the stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) and minnow (*Phoxinus phoxinus* Ag.). - Arkiv För Zoologi, 1952, B 4, № 17, p. 327-339.
- Lofts B., Marshall A.V.I. Cyclical changes in the distribution of the testis lipids of a teleost fish *Esox lucius*. - Quart. J. Microsc. Sci., 1957, vol. 98, p. 79-88.
- Sinha G.M., Mondal S.K. Detection and Localization of Alkaline Phosphatase, DNA, Glycogen, Mucopolysaccharides and Bound Lipids in the Testis of the Teleost Fish, *Channa punctatus* (Bloch.) by Histochemical Methods. - Mikroskopie (Wien), 1981, vol. 38, p. 228-240.

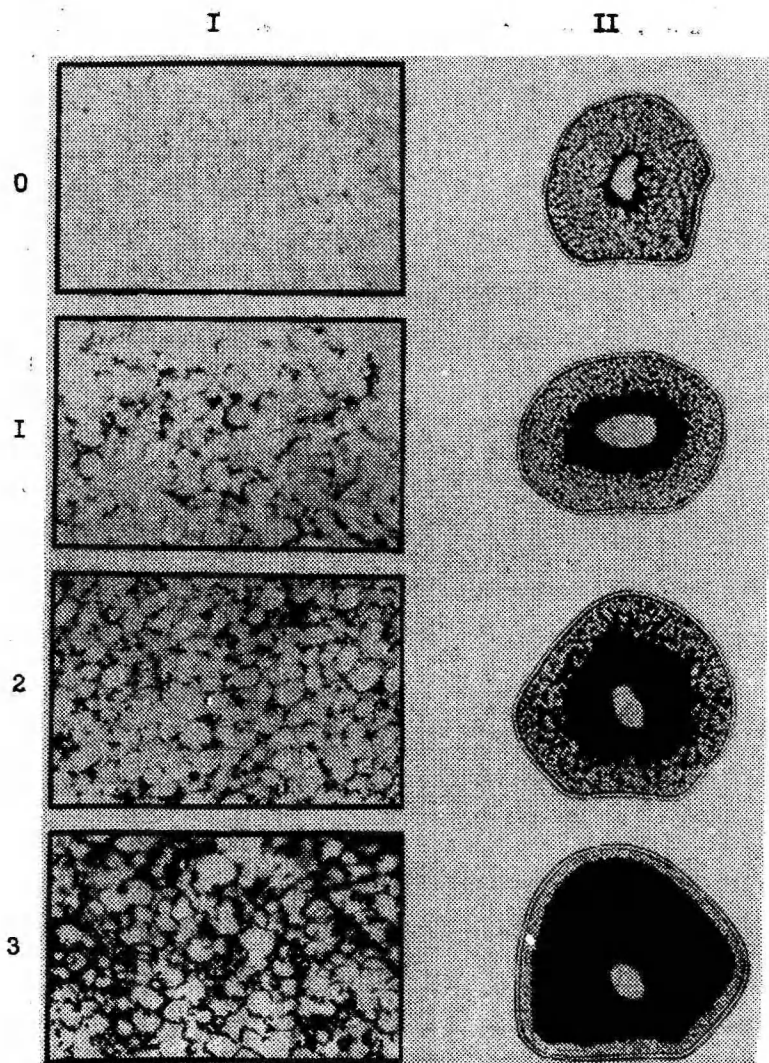


Рис. 1. Шкалы визуальной оценки относительного содержания гликогена (I) и липидов (II) в осадках леда. I: реакция ШИК. X280; II: судан черный Б. X70.

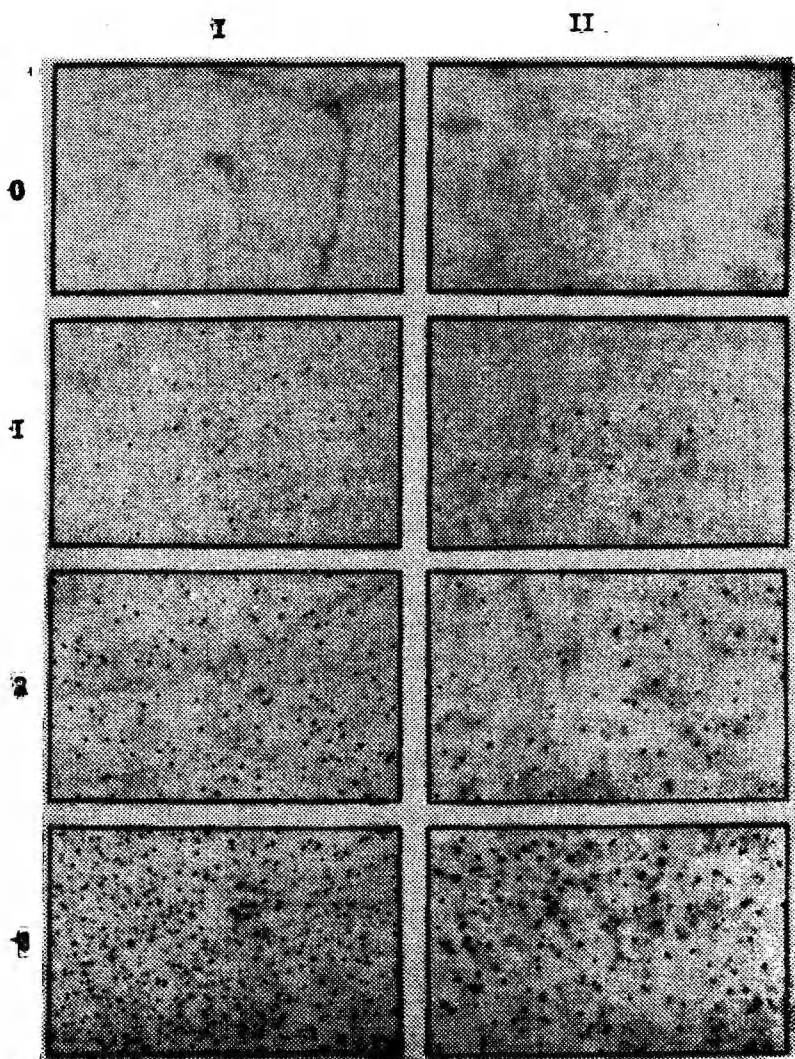


Рис. 2. Видимая реакция окраски относительного содержания гликогена (I) и липидов (II) в семенике. I: реакция НК. Е310; II: судан черной Б. X675.

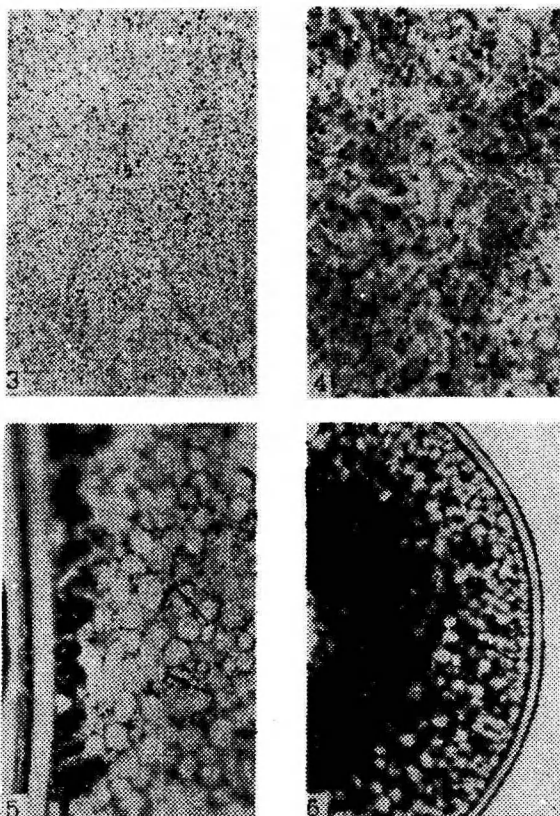


Рис. 3. Зернышки гликогена в семеннике леща (конец октября). Реакция ШИК. X310.

Рис. 4. Капельки липидов в семеннике леща (ноябрь). Судан черный Б. X675.

Рис. 5. Зернышки гликогена (↑) в ооците леща (апрель). Реакция ШИК. X310.

Рис. 6. Липидные включения (↑) в околоядерной зоне ооцита леща (ноябрь). X280.

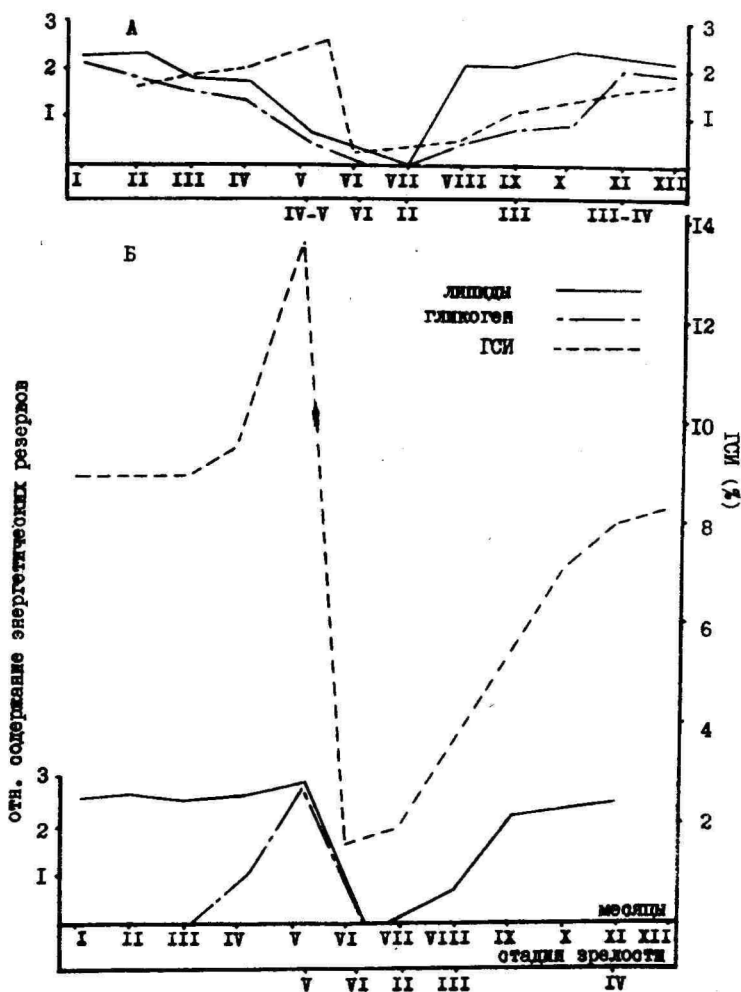


Рис. 7. Сезонные изменения ГСИ и отн. содержания энергетических резервов в семенниках (А) и в яичниках (п.к.) (Б) леща оз. Вуртъярв.

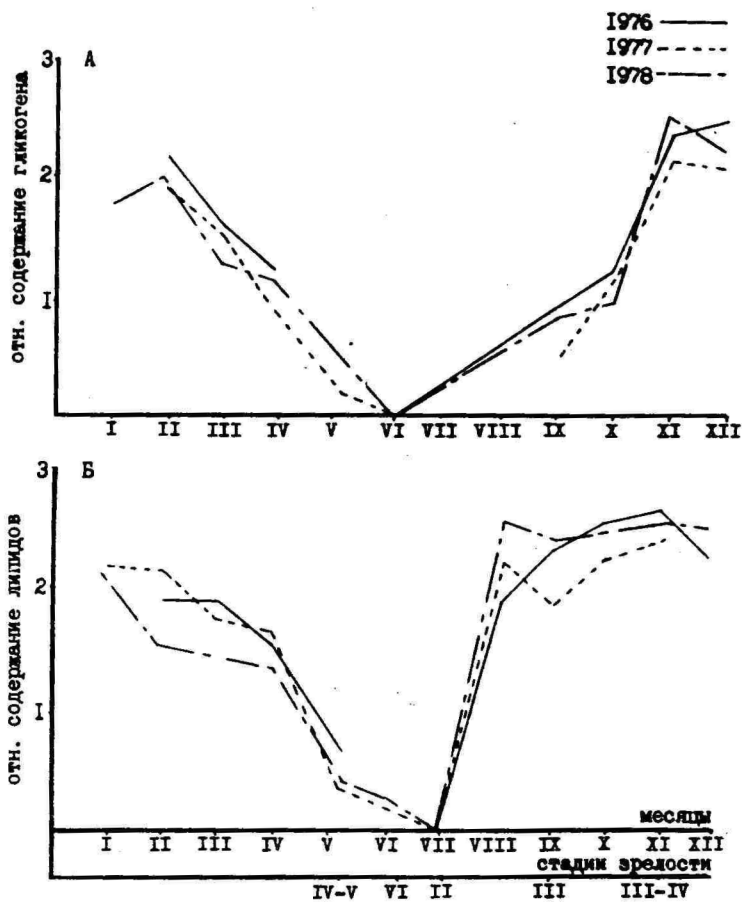


Рис. 8. Сезонные изменения отн. содержания гликогена (А) и липидов (В) в семенниках леща оз. Выртъярв в разные годы.

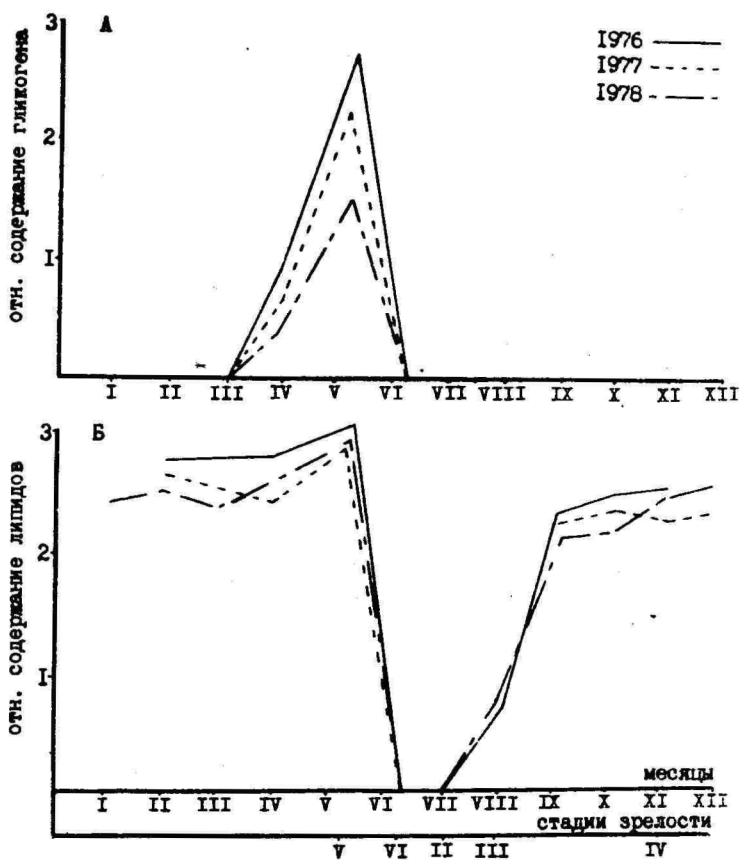


Рис. 9. Сезонные изменения отн. содержания гликогена (А) и липидов (Б) в яичниках (п.к.) леща оз. Выртсъярв в разные годы.

SEASONAL DYNAMICS OF LIPIDS AND GLYCOGEN  
IN THE GONADS OF BREAM

T. Noorits

Summary

The study indicates that the energetic reserves (lipids and glycogen) in gonads of bream have original seasonal dynamics, which more or less resemble the dynamics of GSI of fish. In testes deposition of lipids and glycogen begun from July (II stage of maturity). Till August the containing of lipids increases steeply, then stabilizes. Glycogen accumulates gradually, reaching the maximum in November. During winter months (III-IV stage of maturity) the containing of energetic reserves decreases gradually in testes. The lipids appear in oocytes in July (II stage of maturity). From August till September the containing of lipids increases steeply. Later, from November (IV stage of maturity), no remarkable changes are noticed in their containing. The glycogen appears in oocytes not before than at the beginning of March (second half of IV stage of maturity) and later it will be deposited intensively, getting his maximum level to the spawning period. The glycogen is not found in germ cells during other seasons.

## С о д е р ж а н и е

Т. В. Саат. Созревание и овуляция ооцитов костистых рыб <i>in vitro</i> .....	3
T. Saat. <i>In vitro</i> oocyte maturation and ovulation in bony fishes. Summary.....	27
Э. И. Дронен, Т.В. Саат. Электронно-микроскопическое исследование оплодотворения у двуполой и однополой форм серебряного карася .....	28
E. Juronen, T. Saat. Electron microscopic observation on fertilization in the bisexual and unisexual forms of <i>Carassius auratus gibelio</i> .....	41
А. А. Алатсей. Временные закономерности процесса оплодотворения у карпа и серебряного карася.....	42
A. Alatsei. The chronology of fertilization in the carp and goldfish. Summary.....	50
М. О. Саволайнен. Таблицы эмбрионального развития диплоидной и триплоидной форм серебряного карася.....	51
M. Savolainen. Stages of embryonic development in bisexual and unisexual forms of <i>Carassius auratus gibelio</i> . Summary.....	61
Т. К. Нооритс. Изменение массы гипофиза леща в течение репродуктивного цикла .....	62
T. Noorits. Changes in the pituitary weight of bream during reproductive cycle. Summary.....	69
Т. К. Нооритс. Сезонная динамика липидов и гликогена в гонадах леща (на примере вуртъярвского леща).....	70
T. Noorits. Seasonal dynamics of lipids and glycogen in the Gonads of bream. Summary.....	81

УДК 591

СОЗРЕВАНИЕ И ОВУЛЯЦИЯ ООЦИТОВ КОСТИСТЫХ РЫБ  
IN VITRO. Са а т Т.В. - Учен. зап. Тарт.  
ун-та, 1985, вып. 718. Труды по зоологии XIV,  
с. 3-27.

Обзор методик, используемых для индукции созревания и  
овуляции ооцитов костистых рыб in vitro. Рассматриваются  
также критерии созревания и овуляции и эффективность разных  
гормональных воздействий.

Библ. - 77, табл. 5.

УДК 591.313

ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОП-  
ЛОДОТВОРЕНИЯ У ДВУПОЛОЙ И ОДНОПОЛОЙ ФОРМ СЕ-  
РЕБРЯНОГО КАРАСЯ. Д р о н е н Э.И., Са а т  
Т.В. - Учен. зап. Тарт. ун-та, 1985, вып. 718.  
Труды по зоологии XIV, с. 28-41.

У двуполой формы серебряного карася процесс оплодотворе-  
ния сходен с таковым у других бисексуальных животных. У од-  
нополой (геногенетической) формы серебряного карася ядро  
спермия, проникшего в яйцо, изолируется от окружающей ци-  
топлазмы мембранными структурами; последние, по-видимому,  
препятствуют воздействию цитоплазматических факторов, ответ-  
ственных за преобразование ядра спермия в мужской пронукле-  
ус.

Библ. - 29, рис. - 10.

УДК 591.313

ВРЕМЕННЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ПРОЦЕССА ОПЛОДОТВОРЕНИЯ У КАРПА И СЕРЕБРЯНОГО КАРАСЯ. А л а т с е й А.А. - Учен. зап. Тарт. ун-та, 1985, вып. 718. Труды по зоологии XIV, с. 42-50.

Установлена относительная (в числе  $\tau_0$ ) продолжительность и время наступления некоторых стадий процесса оплодотворения у карпа и двуполной формы серебряного карася. Приведены данные об изменениях формы и размеров пронуклеусов и о скорости их погружения в цитоплазму яйца.

Библ. - 15, рис. - 2, табл. - 2.

УДК 591

ТАБЛИЦЫ ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ ДИПЛОИДНОЙ И ТРИПЛОИДНОЙ ФОРМ СЕРЕБРЯНОГО КАРАСЯ. С а в о л а й н е н М.О. - Учен. зап. Тарт. ун-та, 1985, вып. 718. Труды по зоологии XIV, с. 51-61.

Составлены таблицы нормального развития для диплоидной и трипloidной (геногенетической) форм серебряного карася. Выделено 40 стадий развития. На всех стадиях зародыши двух форм имели сходное строение. Время наступления стадий развития выражено в единицах относительной характеристики продолжительности развития - в числе  $\tau_0$ . Начиная с гаструляции, наступление одноименных стадий развития у трипloidной формы происходило несколько (до 2-4  $\tau_0$ , выдупление - 6  $\tau_0$ ) раньше, чем у диплоидной формы.

Библ. - 7, рис. - I, табл. - I.

УДК 597.554.3 : 591.166

ИЗМЕНЕНИЕ МАССЫ ГИПОФИЗА ЛЕЩА В ТЕЧЕНИЕ РЕП-  
ПРОДУКТИВНОГО ЦИКЛА. Н о о р и т с Т.К. -  
Учен. зап. Тарт. ун-та, 1985, вып. 718. Труды  
по зоологии XIV, с. 62-68.

Динамика массы ацетонированных гипофизов (МАГ) полово-  
зрелых лещей в основном совпадает с динамикой гонадосомати-  
ческого индекса (ГСИ). В преднерестовый период средняя МАГ  
у самок со средней массой порки  $590 \pm 30$  г составляет  $1,98 \pm$   
 $\pm 0,11$  мг, а у самцов (средняя масса порки  $568 \pm 20$  г) соответ-  
ственно  $1,51 \pm 0,06$  мг. В разные сезоны года МАГ самок леща  
достоверно выше МАГ самцов. Масса гипофиза леща связана с  
размерами ( $r = +0,59$ ), массой ( $r = +0,67$ ) и возрастом ( $r =$   
 $= +0,38$ ) рыб. Наблюдается тесная корреляция ( $r = +0,70$  при  
 $P < 0,01$ ) между МАГ и индивидуальной абсолютной плодовито-  
стью. Уровень связи между МАГ и ГСИ составлял  $+0,46$ .

Илл. - 1, табл. - 1, библ. - 13.

УДК 597.554.3 : 591.166.

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ЛИПИДОВ И ГЛИКОГЕНА В ГОНА-  
ДАХ ЛЕЩА (НА ПРИМЕРЕ ВЬРТСЬЯРВСКОГО ЛЕЩА). Н о о р и т с Т.К. - Учен. зап. Тарт. ун-та, 1985,  
вып. 718. Труды по зоологии XIV, с. 70-82.

С помощью гистохимических методов исследовали динамику  
липидов и гликогена (энергетических резервов) в гонадах ле-  
ща. Показано, что им свойственна своеобразная сезонная дина-  
мика, в большей или меньшей степени совпадающая с динамикой  
гонадосоматического индекса. Полагают, что межгодовые разли-  
чия в динамике энергетических резервов, наиболее ярко выяв-  
ляющиеся в 1976-1978 гг., обусловлены резким изменением эко-  
логической обстановки в оз. Вьртсъярв.

Илл. - 9, библ. - 23.