

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЯЙЦЕКЛЕТКАХ КЕФАЛЕЙ (MUGILIDAE) ПРИ СОЗРЕВАНИИ

Л. И. Булли

*Проанализированы изменения некоторых морфологических и физиолого-биохимических показателей ооцитов кефалей в период созревания. Показано, что плавучесть икры кефалей в значительной степени определяется особенностями химического состава и преобразованиями на заключительных этапах оогенеза.*

Ключевые слова: кефали, гидратация, ооциты, плавучесть

**Morphological, physiological and biochemical changes in the mullet (Mugilidae) eggcells during maturation period.** L. I. Bulli. *Changes in some morphological, physiological and biochemical characteristics of the mullet eggs during maturation period are analysed. It is shown that mullet eggs buoyancy is determined significantly by peculiarities of the egg biochemical composition and transformations at the final stages of oogenesis.*

Keywords: mullets, hydration, oocytes, buoyancy

На территории Украины работы по искусственному разведению лобана и сингиля начаты сотрудниками ЮгНИРО и ВНИРО в 1970 г. В ходе многолетних исследований были разработаны методы получения зрелых половых клеток двух аборигенных видов кефалей и акклиматизанта пиленгаса путем управления нерестом с помощью гормональных препаратов и факторов среды, исследованы эмбриональное и личиночное развитие, а также поведение, питание, рост и выживаемость личинок в искусственных условиях от вылупления до жизнестойкой стадии. Однако, несмотря на обширный объем выполненных работ, все еще малоизученными остаются некоторые вопросы биологии исследуемых видов.

В настоящей работе рассмотрены изменения показателей их ооцитов — диаметра, содержания влаги, сырой и сухой массы в процессе созревания, а также влияние содержания обезжиренного сухого вещества и липидов зрелой икры на плавучесть.

Исследование этих вопросов представляет интерес для понимания механизмов, обеспечивающих положительную плавучесть и нормальное развитие в пелагиали Азово-Черноморского бассейна икры и ранних личинок кефалей, обитающих в водах пониженной солености по сравнению с центром их естественного ареала (31–37 ‰).

### Материал и методы

Состояние ооцитов кефалей исследовали в течение всего периода их нерестовых миграций через Керченский пролив. Для оценки степени

зрелости яичников, а также особенностей роста и созревания ооцитов проводили их морфологический анализ под биноклем. Для этого фрагмент яичника помещали в чашку Петри с физиологическим раствором (0,8 % NaCl) и 50–100 шт. ооцитов от каждой самки измеряли при увеличении: ок.8х, об.4х. Из вариационного ряда с классовым промежутком 25 мкм находили средний диаметр желтковых ооцитов. В созревающих клетках дополнительно оценивали состояние жировых капель и желточных включений.

Для перевода рыб в нерестовое состояние использовался метод гормональных инъекций. Результаты гормональной обработки оценивали по состоянию ооцитов в щуповых пробах после действия первой и последующих доз гормонального препарата [1].

Для определения средней массы икринки подсчитывали количество их в навеске, взвешенной на аналитических весах. Содержание влаги в икринках определяли высушиванием навески 0,5–1,5 г при температуре 65 °С до постоянной массы. По массе высушенной этой же навески и числу в ней икринок определяли сухую массу одной икринки.

Количество белка в икре кефалей определяли по содержанию обезжиренного сухого вещества, так как известно [12], что между содержанием обезжиренного сухого вещества и количеством сырого протеина в теле рыб существует тесная прямолинейная связь.

Для оценивания содержания (% сырой массы) обезжиренного сухого вещества и липидов икру рыб экстрагировали хлороформ-метанолом (2:1), а затем анализировали, как описано В. И. Лапиным и Е. Г. Черновой [7].

Величину липидной и водной составляющих выталкивающих сил, действующих на пелагическую икринку в морской воде, рассчитывали по формуле предложенной J. C. F. Craik и S. M. Harvey [13]:

$$P = W(1,027 / \rho - 1),$$

где:  $W = wt$  — масса этого компонента в 100 г сырой массы яиц,  $\rho$  — плотность компонента, 1,027 — плотность морской воды соленостью 35 ‰.

Для определения составляющих выталкивающих сил, действующих на икру черноморских кефалей в период их нереста, использовали показатель плотности воды в Черном море соленостью 18–19 ‰ при температуре 18–20 °C [10].

## Результаты и обсуждение

В ходе более ранних исследований было установлено, что характер оогенеза у всех видов черноморских кефалей сходен [4–6]. В период протоплазматического роста идет активное увеличение объема протоплазмы, диаметр ооцитов увеличивается с 15–85 до 30–140 мкм. В период трофоплазматического роста происходит накопление липидов и желтка, увеличивается объем клеток. При увеличении диаметра яйцеклетки до 450–580 мкм накопление трофических веществ в ней завершается.

Исследования сотрудников АзЧерНИРО (ЮгНИРО) [1] показали, что в процессе созревания в яйцеклетке происходит ряд последовательных изменений, предшествующих овуляции: слияние жировых включений с образованием одной жировой капли, гомогенизация желтка, обводнение клетки, в результате чего увеличивается ее объем. Эти изменения хорошо видны под бинокулярным микроскопом. Поэтому было предложено использовать их в качестве критериев для оценки степени готовности рыб к нересту и эффективности гормональных инъекций при стимулировании созревания в условиях искусственного воспроизводства. Были выделены следующие фазы созревания ооцита: «Ж» — желтковые ооциты, «НЖК» — начало слияния жировых капель; «>10 ЖК» — количество жировых капель в ооците более 10; «5–10 ЖК» — жировых капель от 5 до 10; «2–4 ЖК» — жировых капель 2–4; «1 ЖК» — 1 жировая капля; «Ч/ГОМ»

— частичная гомогенизация желтка; «ГОМ» — процесс гомогенизации в ооците; «ЗЯ» — зрелое яйцо. Зрелые овулировавшие икринки кефалей становятся прозрачными и достигают в диаметре 0,65–1,05 мкм, они содержат одну крупную жировую каплю диаметром 0,31–0,45 мкм.

Как следует из данных рисунка 1, полученных в ходе наших наблюдений за созреванием ооцитов пиленгаса, у кефалей, одновременно с указанными выше изменениями, происходит укрупнение ооцита. При этом до начала фазы гомогенизации желтка содержание влаги в растущих желтковых ооцитах существенно не изменяется и варьирует от 42,5 до 54,5 %. Рост клеток в этот период происходит за счет интенсивного накопления трофических компонентов яйца — в основном липидов и белка, составляющих его сухую массу [4, 6].

В начале процесса гомогенизации, когда начинается просветление клеток, в цитоплазме появляются прозрачные участки, происходит интенсивная гидратация ооцита, сопровождаемая резким увеличением оводненности, размера и сырой массы (рис. 1). Из приведенных данных видно, что в созревающих ооцитах пиленгаса при значительном увеличении сырой массы и содержания влаги доля сухой массы несколько снижается. Ранее [4–6] подобные изменения были отмечены нами у лобана и сингиля. В работах ряда авторов [8, 11, 17], исследовавших эти процессы у других видов рыб, также показано, что при созревании, в результате частичного гидролиза белков желтка, в клетке снижается абсолютное содержание белка, а концентрация осмотически активных веществ возрастает. Повышение осмотического давления в ооците и изменение проницаемости оболочки ведут к активному притоку в клетку воды и неорганических ионов [14–16]. Процесс гидратации ооцитов сопровождается химическими и осмотическими явлениями, при которых происходит распад части белков желтка до свободных аминокислот и поступление внутрь ооцита ионов калия и натрия из внешней среды, т. е. из плазмы крови материнского организма. В этот момент в полости яичника появляется жидкость низкой плотности (1,0115–1,0116 г/см<sup>3</sup>), которая, как было установлено ранее (Fulton, 1898, цит. по [3]), секретируется гранулярным слоем фолликулярного эпителия.

По-видимому, на конечных этапах созревания, в системе ооцит – материнский организм происходят химические и осмотические процессы, в ходе которых идет частичный гидролиз белков, вследствие чего несколько снижается сухая масса

ооцита (рис. 1) и значительно увеличивается его оводнение. Содержание влаги в зрелых ооцитах лобана составляет 79,9–84,6 %, сингиля — 82,0–87,6 % и пиленгаса — 76,1–82,3 %.

В ходе наших исследований было выявлено, что за период созревания содержание влаги в яйцеклетках лобана в Черном море возрастает на 30–39 % (по сравнению с влагой дефинитивного ооцита), тогда как прирост влаги в созревающих ооцитах этого вида из тихоокеанского региона идет менее интенсивно и составляет в среднем 25 % [6]. Вероятно, это связано с условиями обитания. Более интенсивная гидратация ооцитов у черноморского лобана, по нашему мнению, является своего рода адаптацией, обеспечивающей плавучесть яиц в воде относительно низкой солености (17–18 ‰). Исследованиями ряда авторов [3, 8, 14, 15] также показано, что большое содержание влаги в пелагических икринках морских костистых рыб является одним из

основных факторов, обеспечивающих им относительно низкую плотность (в сравнении с плотностью окружающей среды) и возможность развития эмбрионов в пелагиали.

Подводя итог сказанному, подчеркнем, что у кефалей, как и у многих пелагофильных костистых рыб, липиды и влага являются основными компонентами, которые обеспечивают плавучесть икры, поскольку их плотность меньше плотности морской воды.

Исследователи J. C. F. Craik и S. M. Harvey [13] попытались оценить величины выталкивающих сил липидов и влаги в пелагических яйцах ряда океанических рыб. По расчетам авторов, выталкивающие силы в них обеспечиваются в основном водной составляющей. Даже в яйцах морской щуки и макруруса, содержащих большое количество липидов (26,6 и 34,9 % сухой массы икринки), плавучесть, соответственно, на 78 и 61 % обеспечивается влагой яйца (табл. 1).

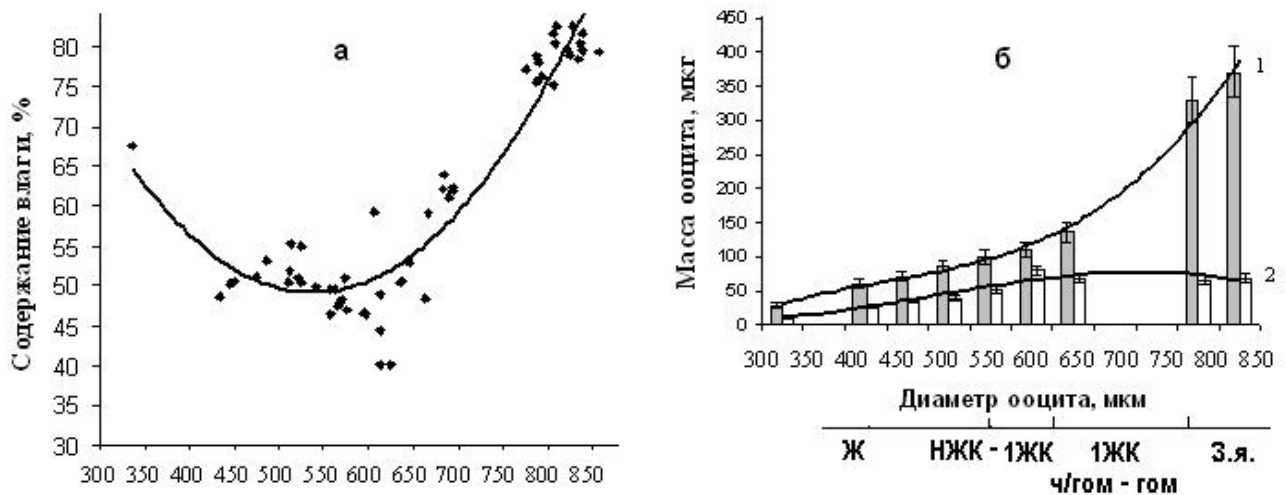


Рисунок 1. Изменение содержания влаги (а), сырой (1) и сухой (2) массы ооцитов (б) пиленгаса в процессе их созревания: Ж — желтковые ооциты, НЖК–1ЖК — фазы слияния жировых капель, 1ЖК ч/гом — частичная гомогенизация желтка в клетках с одной жировой каплей, 1ЖК гом — завершение гомогенизации, 3.я. — зрелое яйцо

Таблица 1. Содержание влаги и липидов в зрелых пелагических яйцах некоторых морских рыб и азово-черноморских кефалей

Виды рыб	Содержание влаги, %	Содержание липидов, % сухого в-ва яйца	Водная составляющая плавучести икры, %	Автор
Макрурус	81,4	34,9	61	Craik, Harvey, 1987
Морская щука, мольва	88,6	26,6	78	
Мерланг	92,2±0,6	12,5±0,7	92	
Лобан	82,2	58,79±3,8	44-57	Наши данные
Сингиль	86,2±0,5	58,15±4,8	44-52	
Пиленгас	81,86±1,28	55,87±1,13	41-52	

Характерной особенностью химического состава икры черноморских кефалей является наличие значительно большего количества липидов — 54–65 % сухой массы. Поэтому величина липидной составляющей выталкивающих сил, рассчитанная нами по формуле, предложенной исследователями J.C.F. Craik и S.M. Harvey (см. материал и методы), оказалась близкой водной составляющей, а в ряде случаев ее превышающей (см. табл. 1).

Заменив в формуле величину плотности океанической воды на плотность черноморской воды соленостью 18–19 ‰, которая составляет около 1,013 при температуре 18–20 °С (во время нереста кефалей), нами вычислено, что водная составляющая выталкивающих сил икры сингиля равняется 23 %, а липидная — 77 %, лобана — 16 и 84 %, пиленгаса — 15 и 85 %, соответственно. Как видно из наших расчетов, плавучесть икры кефалей Азово-Черноморского бассейна обеспечивается в большей степени липидной составляющей.

Одной из особенностей биохимического состава икры кефалей является также то, что отношение содержания липидов к содержанию белков (плотность которых составляет в среднем 1,3 г/см<sup>3</sup>), как правило, больше единицы. Следовательно, погружающие силы, обусловленные белками, у них уравниваются большим количеством липидов. Перивителлиновое пространство, которое после набухания яйца содержит некоторое количество морской воды, вероятно, также способствует погружению икринки.

Таким образом, плавучесть оплодотворенной и набухшей икры кефалей в значительной степени определяется гормонозависимыми процессами созревания ооцита, завершающимся интенсивной гидратацией, и зависит от ряда морфологических и физиолого-биохимических показателей зрелого яйца. Выявлены корреляционные связи между показателями плавучести икры пиленгаса с размерами зрелых яиц ( $r = -0,66$ ), содержанием в них влаги ( $r = -0,75$ ) и липидов ( $r = 0,63$ ), величиной относительного объема жировой капли ( $r = 0,86$ ). Близкие по значению коэффициенты корреляции между этими показателями получены нами и для партий икры лобана и сингиля.

Как показано ранее [2, 9], икра рыб, созревающих в одинаковых условиях по температуре, солености и гормональной обработке, часто, даже при близких значениях оводненности и относительного объема жировой капли зрелых

и набухших яиц, различается по плавучести. Также, при сходных показателях икры пиленгаса у рыб из маточных стад и естественных популяций, плавучесть икры последних выше. Все это позволяет считать, что плавучесть икры кефалей определяется особенностями химического состава икринки, причем в большей мере составом и качеством липидов.

## Литература

1. Апекин В.С., Вальтер Г.А., Гнатченко Л.Г. Изменение ооцитов при созревании и получении зрелой икры с помощью гомопластических инъекций у лобана (*Mugil cephalus* L.) // Труды ВНИРО. — 1976. — Т. 115. — С. 13–23.
2. Булли Л.И. Сравнительная морфофизиологическая характеристика икры лобана, сингиля и пиленгаса, объектов культивирования в Азово-Черноморском бассейне // Современные рыбохозяйственные и экологические проблемы Азово-Черноморского региона : мат. VII Межд. конф. — Керчь: ЮгНИРО, 2012. — Т. 2. — С. 37–40.
3. Зотин А.И. Физиология водного обмена у зародышей рыб и круглоротых. — М.: АН СССР, 1961. — 319 с.
4. Куликова Н.И. Особенности завершающих этапов роста и становления чувствительности к гормонам гипофиза яйцеклеток черноморского лобана в зависимости от температуры // Физиол. мор. животных : тезисы докл. Всес. конф., Мурманск, 1989 г. — Апатиты, 1989. — С. 129.
5. Куликова Н.И., Апекин В.С., Вальтер Г.А. и др. К характеристике трофоплазматического роста ооцитов кефали-сингиля *Mugil auratus* (Risso) // Вопросы морской аквакультуры. — М.: Пищевая промышленность, 1979. — С. 25–39.
6. Куликова Н.И., Макухина Л.И. О некоторых факторах, определяющих плавучесть икры черноморского лобана *Mugil cephalus* L. // Культивирование кефалей в Азово-Черноморском бассейне. — М.: ВНИРО, 1991. — С. 30–37.
7. Лапин В.И., Чернова Е.Г. О методике экстракции жира из сырых тканей рыб // Вопросы ихтиологии. — 1970. — Т. 10, вып. 4. — С. 753–756.
8. Масленникова Н.В. Содержание свободных аминокислот в мышцах, печени и гонадах балтийской трески при созревании // Вопросы ихтиологии. — 1970. — Т. 10, вып. 4. — С. 756–761.
9. Макухина Л.И. Некоторые особенности раннего онтогенеза пиленгаса *Mugil soiyu* (Basilewsky), акклиматизируемого в Северном Причерноморье // Культивирование кефалей в Азово-Черноморском бассейне. — М.: ВНИРО, 1991. — С. 30–51.
10. Океанографические таблицы. — Издание 4-е переработ. и дополненное. — Л.: Гидрометеиздат, 1985. — 308 с.

11. Шатуновский М.И., Богоявленская М.П., Вельтищева И.Ф., Масленникова Н.В. Исследования генеративного обмена балтийской трески // Труды ВНИРО. — 1975. — Т. 96. — С. 57–62.
12. Шулман Г.Е., Кокос Л.М. Содержание обезжиренного сухого вещества в теле некоторых черноморских рыб // Вопросы ихтиологии. — 1971. — Т. 11, вып. 2 (67). — С. 339–344.
13. Craik J.C.F., Harvey S.M. The causes of buoyancy in eggs of marine teleosts // J. mar. biol. Assc. U.K. — 1987. — Vol. 67, № 1. — Pp. 169–182.
14. Hirose K., Machida J., Donaldson E.M. Induction of ovulation in the Japanese flounder (*Limanda yokohamae*) with Human Chorionic gonadotropin and Salmon gonadotropin // Bul. Jap. Sci. Fish. — 1976. — Vol. 42, № 1. — Pp. 13–20.
15. Hirose K., Ishida R., Sakai K. Induced ovulation of ayu using Human Chorionic Gonadotropin (HCG), with special reference to changes in several characteristics of eggs retained in the body cavity after ovulation // Bul. Jap. Sci. Fish. — 1977. — Vol. 43, № 4. — Pp. 407–416.
16. Kuo C.-M., Nash C.E., Shehadeh Z.H. The effects of temperature and photoperiod on ovarian development in captive grey mullet (*Mugil cephalus* L.) // Aquaculture. — 1974b. — Vol. 3, № 1. — Pp. 25–43.
17. Wallace R.A., Selman R. Cellular and dynamic aspects of oocytes growth in teleosts // American Zoologist. — 1981. — Vol. 21. — Pp. 325–343.