

ПРОВ. 1980

ПРОВ 98

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР  
ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ  
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ  
им. А. О. КОВАЛЕВСКОГО

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ МОРСКОЙ АКВАКУЛЬТУРЫ

Выпуск 1

Черноморская камбала-калкан  
*Scophthalmus maeoticus maeoticus* (Pallas)  
как объект искусственного разведения

Институт  
биологии южных морей

БИБЛИОТЕКА

№ 10

ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКОВА ДУМКА»

КИЕВ - 1975

мечено нацеливание, скачки и импульсные движения. При просмотре личинок под микроскопом в пищеварительном тракте были обнаружены фрагменты и мелкие формы кормового зоопланктона. Попытка кормления личинок эмульгированным кормом из олигохет не дала положительного результата.

Предельный возраст личинок калкана, выросших в искусственных условиях, достиг 12 суток. Существенными недостатками при инкубировании икры и подрачивании личинок калкана в аппаратах Вейса являются:

- 1) малая поверхностная площадь воды в аппарате, что снижает нормы загрузки (средняя норма для щуки - 300 тыс.шт., для калкана - 15-20 тыс. экз.);
- 2) столб воды между поверхностным слоем и сливной трубкой, инкубуируемой икрой калкана, практически не используется;
- 3) кормление личинок камбалы искусственными кормами загрязняет стеки аппарата.

Опыт применения аппарата Вейса для инкубации икры калкана дал некоторые положительные результаты, однако в дальнейшем, применительно к инкубации икры калкана, он требует значительного усовершенствования путем увеличения площади и сокращения высоты аппарата.

Таким образом, к настоящему времени выработаны специфические приемы и нормативы, которые в дальнейшем могут послужить отправным моментом при совершенствовании биотехники искусственного разведения морских рыб, в частности черноморской камбалы-калкана.

#### СПЕРМАТОГЕНЕЗ И ПОЛОВОЙ ЦИКЛ САМЦОВ КАМБАЛЫ-КАЛКАНА (*SCOPHTHALMUS MAEOTICUS* PALLAS)

М.Г. Таликина  
(АзЧерНИРО, Керчь)

В связи с резким падением природных запасов камбалы-калкана – ценного промыслового объекта Черного моря, в АзЧерНИРО, начиная с 1969 г., проводятся работы по искусственно воспроизводству этого вида.

При решении рыбоводных задач особенно большое значение приобретает знание процессов роста и созревания половых желез. Поэтому задача настоящей работы – изучение сперматогенеза для получения характеристики репродуктивного цикла и описание шкалы зрелости самцов камбалы-калкана.

Материалом для настоящей работы послужили 126 экз. калкана, выловленных в Черном море (район Анапы) в 1970-1971 гг. Рыб подвергали полному биологическому анализу по общепринятой методике/9/.

Данные биологического анализа исследованных рыб приведены в таблице. При визуальном анализе гонад учитывали форму, цвет, размеры, степень васкуляризации половых желез, а также состояние оболочек семенников. Для гистологического анализа кусочки семенников фиксировали в жидкости Буэна. В дальнейшем пробы обрабатывали стандартным способом  $\angle 10\%$ . Срезы толщиной 5-7 мк окрашивали железным гематоксилином по Гейденгайну. Половые железы под микроскопом изучены у 65 особей. Клетки на разных стадиях развития половых желез измеряли при увеличениях объективов 40, 90 и окуляре  $\times 10$ . Каждое цифровое значение в тексте - средняя величина 15-20 измерений, выполненных на срединном срезе, плюс-минус ошибка средней. Препараторы фотографировали на плоскую негативную фотопленку "Фото-65" микрофотонасадкой "ФНМ-3".

#### Анатомическое и микроскопическое строение семенников

Семенники калкана - парные железы, расположены в каудальной части брюшной полости. Правая и левая железы не одинаковы по длине. Правый семенник несколько длиннее левого. Гонады - трехгранный формы. Срез семенника в поперечном сечении имеет вид треугольника с закругленными углами. Хвостовой отдел железы уже головного. Головной отдел заканчивается тупым закруглением. Вдоль каждого семенника по центральной стороне проходит семенной проток. Снаружи семенники покрыты двухслойной оболочкой *tunica propria*.

По микроскопическому строению семенники калкана можно отнести к перкоидному типу, для которого характерна ориентация семенных ампул по радиусам от периферии к центру железы. Герминативная ткань семенников представлена половыми клетками, которые развиваются в стенках семенных ампул. Семяносящий проток состоит из нескольких сближенных каналов, стени которых выстланы эпителиальными клетками.

Наряду с соединительнотканными и герминативными элементами в межканальцевых участках и вблизи выводных протоков обнаруживаются клетки с четко контурированными ядрами овальной формы. В ядре хорошо заметно тонкогранулированное хроматиновое вещество. Эти клетки, по-видимому, аналогичны клеткам интерстициальной ткани, описанным для *Pleuronectes platessa* L. Барром  $\angle 14$ .

#### Развитие половых клеток в процессе сперматогенеза

Процесс развития половых клеток можно разделить на четыре периода: размножение (от первичной сперматогонии до сперматогоний по-

| Стадия зрелости                   | Длина тела, см       | Вес тела, кг            | Вес гонад, г            | Гоносоматический индекс (ГСИ) | Возраст, лет | Количество проанализированных рыб (n) | Количество рыб с гистологической характеристикой семенников (n) |
|-----------------------------------|----------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------------|--------------|---------------------------------------|---|
| I                                 | <u>26-34</u><br>30   | <u>0,42-1,2</u><br>0,81 | <u>0,2-2,0</u><br>1,1   | <u>0,07-0,028</u><br>0,17     | (I+)-3       | 19                                    | 7   |
| II<br>(впервые созревающие особи) | <u>30-41</u><br>35,5 | <u>0,6-1,9</u><br>1,25  | <u>2,2-4,0</u><br>3,1   | <u>0,2-0,67</u><br>0,37       | 3-6          | 19                                    | 9   |
| III<br>(половозрелые особи)       | <u>39-48</u><br>43,5 | <u>1,2-3,1</u><br>2,1   | <u>4,0-12,0</u><br>8,0  | <u>0,21-0,58</u><br>0,36      | 6-9          | 10                                    | 6   |
| IV                                | <u>38-50</u><br>44   | <u>1,5-3,9</u><br>2,7   | <u>5,0-25,0</u><br>15,0 | <u>0,25-1,23</u><br>0,48      | 5-10         | 17                                    | 6   |
| V                                 | <u>38-50</u><br>44   | <u>1,4-3,7</u><br>2,5   | <u>9,0-61,0</u><br>35,0 | <u>0,52-2,18</u><br>0,94      | 5-8          | 25                                    | 15  |
| VI                                | <u>36-51</u><br>43,5 | <u>1,4-3,2</u><br>2,3   | <u>8,0-65,0</u><br>36,5 | <u>0,5-3,2</u><br>0,99        | 5-8          | 19                                    | 14  |
| VII                               | <u>38-49</u><br>43,5 | <u>1,2-3,6</u><br>2,4   | <u>3,1-19,4</u><br>11,2 | <u>0,14-0,68</u><br>0,38      | 5-7          | 17                                    | 8   |

Примечание: В числителе - диапазон изменения признака, в знаменателе - средняя арифметическая.

К статье М. Г. Таликиной «Сперматогенез и половой цикл самцов камбалы-калканы»

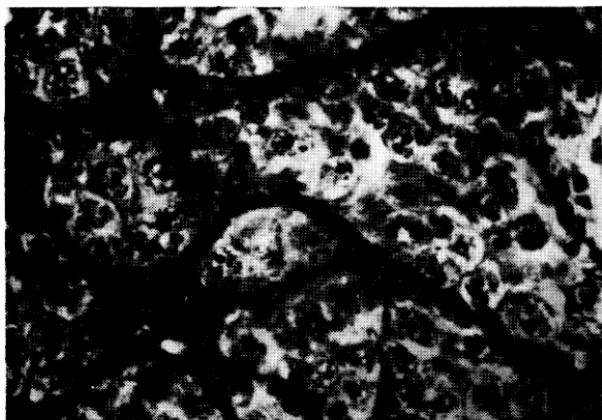


Рис. 1. Половая железа I стадии зрелости. Ув. об. 90×, ок. 6×.



Рис. 2. Половая железа II стадии зрелости:

*а* — «покоящиеся» сперматогонии I порядка с интерфатическими ядрами; *б* — первичные сперматогонии в период поздней профазы; *в* — делящиеся первичные сперматогонии на стадии метафазы; *г* — сперматогониальные клетки поздних порядков. Ув. об. 90×, ок. 6×.

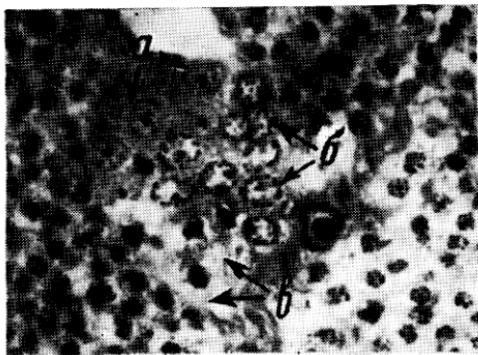


Рис. 3. Срез семенника II стадии зрелости.  
Группа сперматогоний II порядка:

*a* — клетки в покоящемся состоянии (интерфазическая фаза); *b* — клетки, в ядрах которых хроматин выглядит в виде «бляшек»; *c* — делящиеся сперматогонии на стадии метафазы. Ув. об. 90×, ок. 6×.

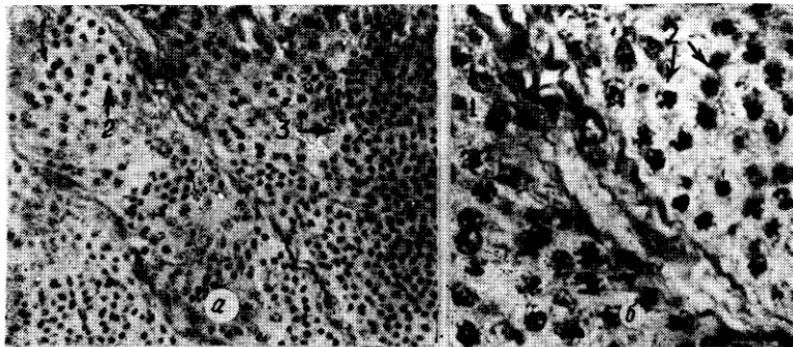


Рис. 4. Половая железа III стадии зрелости:

*1* — сперматогониальные клетки; *2* — сперматоциты I порядка; *3* — сперматиды;  
*a* — участок железы при ув. об. 40×, ок. 6×; *b* — при ув. об. 90×, ок. 6×.

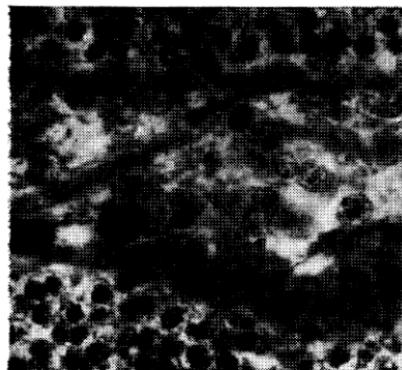


Рис. 5. Группа интерстициальных клеток в межканальцевом участке железы III стадии зрелости. Ув. об. 90×, ок. 6×.

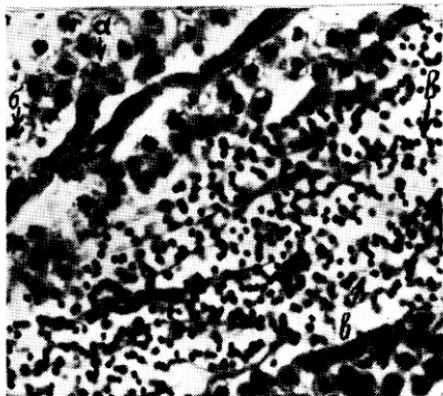


Рис. 6. Участок семенного канальца IV стадии зрелости:  
а — сперматиды, хроматиновый материал которых представлен крупными глыбками;  
б — клетки с содержимым ядра «полулунной» формы; в — сперматозоиды. Увел.  
об. 90×, ок. 6×.

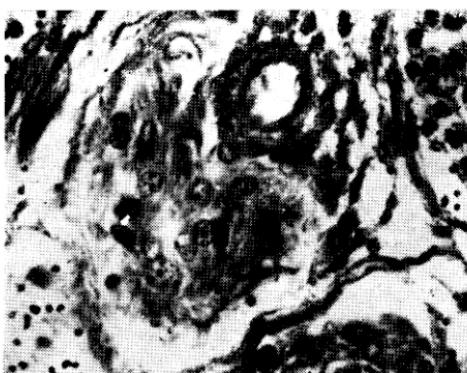


Рис. 7. Участок межканальцевой ткани семенника IV стадии зрелости. В центре расположена группа клеток интерстициальной ткани. Ув об. 90×, ок. 6×.

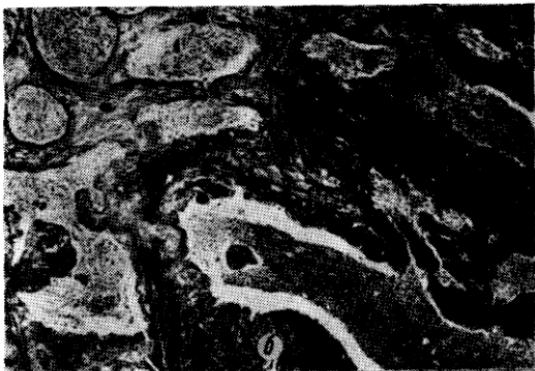


Рис. 8. Микроскопическая картина семенных ампул (а) и семявыносящих каналов (б) половой железы самца V стадии зрелости. Семенные ампулы и канальцы выводного протока заполнены массой зрелых половых клеток.  
Ув. об. 40 $\times$ , ок. 6.

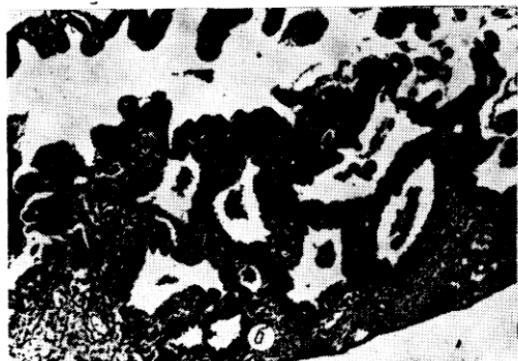
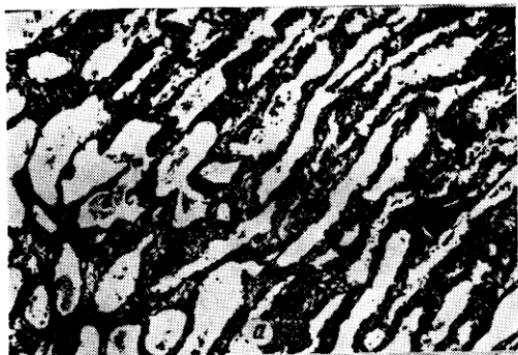
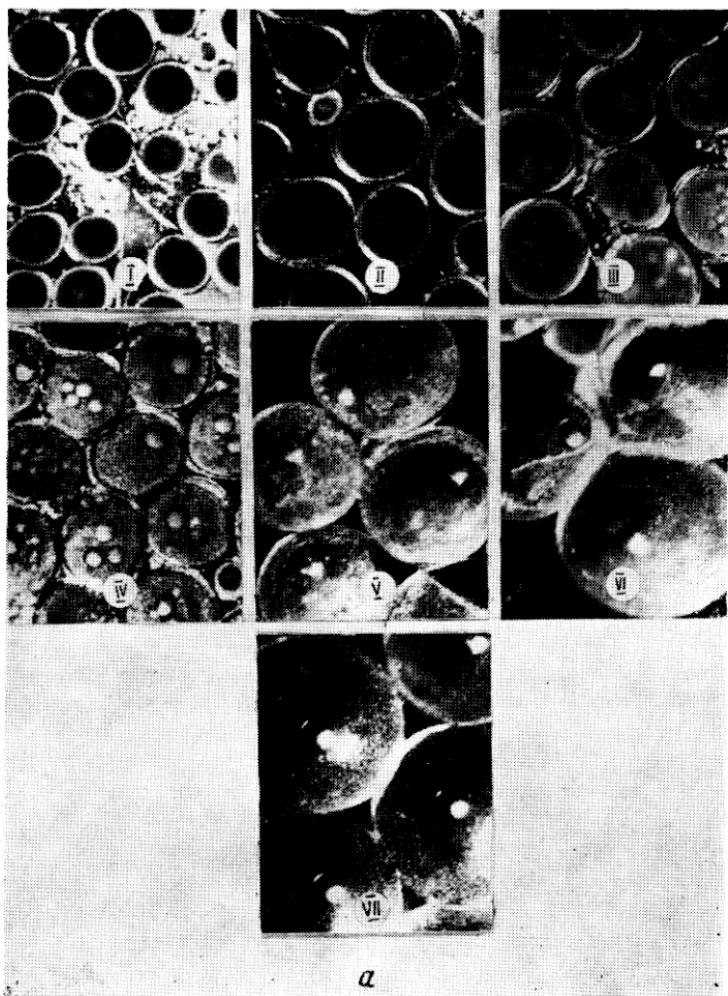


Рис. 9. Половые железы VI—II стадии — «выбой»:

*a* — общий вид семенных каналцев; *b* — выводной проток. Видны невыметанные зрелые половые клетки — «остаточные» сперматозоиды. Ув. об. 40×, ок. 6×.

К статье Н. К. Воробьевой, М. Г. Таликиной, А. П. Золотницкого  
«Исследование созревания самок черноморской камбалы-калкана  
(*Scophthalmus maeoticus* Pallas) в экспериментальных условиях»



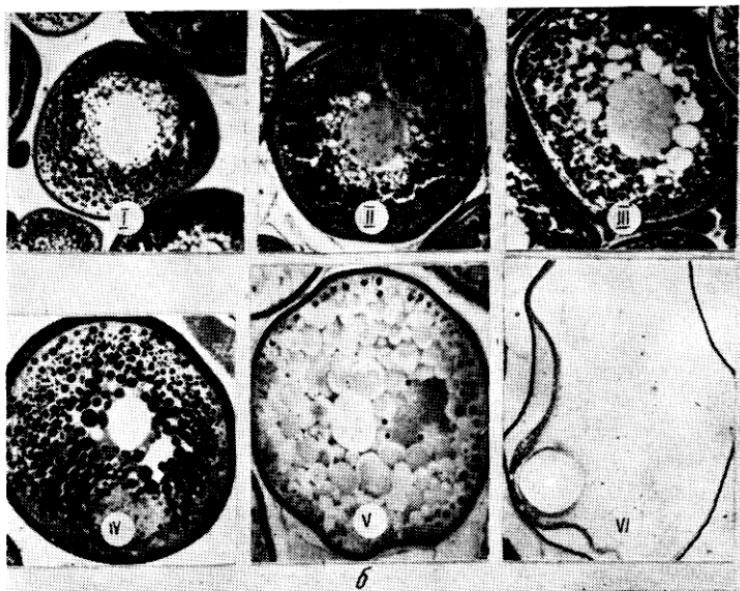


Рис. 1. Внешний вид живых (а) и гистологическая карта (б) ооцитов каждой фазы созревающих самок камбалы-калкана.

К статье В. Н. Иванова «Вопросы цитогенетики камбалы-калкана в связи с возможностями ее искусственного разведения»

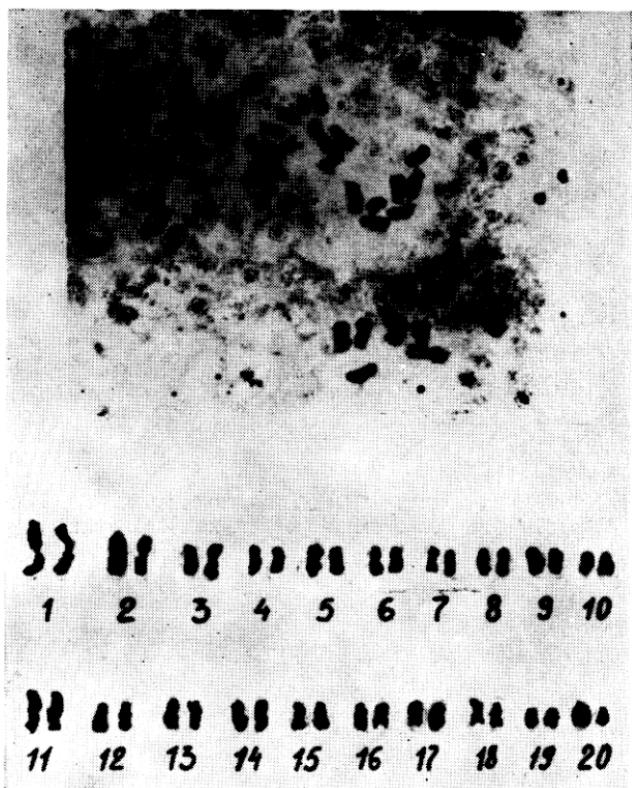


Рис. 1. Метафазная пластинка и кариотип камбалы-калкана.

следних генераций), рост (сперматоциты I порядка), созревание (сперматоциты II порядка, сперматиды) и формирование сперматозоидов (спермиогенез) [12]. Родоначальники всех последующих генераций половых клеток - первичные сперматогонии, самые крупные клетки в ряду сперматогенеза (рис. I\*). В семенных ампулах они занимают при-стенное положение, имеют слегка неправильную округлую форму, оболочка клеток выражена нечетко. Ядро клеток содержит одно центрально расположено ядрышко. От него по радиусам к оболочке ядра расходятся хорошо заметные хроматиновые нити. Из клеточных компонентов наиболее интенсивно воспринимает гематоксилин ядрышко. Цитоплазма пенистая, окрашивается светло. Диаметр первичных сперматогоний  $19,8 \pm 0,8$ , ядер  $6,1 \pm 0,8$  мк.

В результате деления первичных сперматогоний, о чём можно судить по часто встречающимся фигурам митоза (рис. 2), образуются сперматогонии второго порядка. Они меньше первичных сперматогоний, диаметр их клеток  $15,0 \pm 0,6$ , ядер  $5,6 \pm 0,2$  мк. Характерным признаком клеток этого этапа развития является своеобразное расположение хроматина по периферии ядра в виде крупных скоплений. Часто эти скопления можно наблюдать в виде "блёшек" на поверхности оболочки (рис. 3). В ядре содержится одно ядрышко, занимающее при-стенное положение.

В результате многократных делений число сперматогониальных клеток увеличивается, при этом размеры их уменьшаются. После нескольких митотических делений из первичной сперматогонии образуются клетки поздних порядков, диаметр ядер которых составляет  $4,0 \pm 0,1$  мк. Группы таких клеток, окруженные тонкой соединительнотканной оболочкой, образуют цисты, внутри которых продолжают развитие половые клетки. Сперматогонии последних порядков превращаются в сперматоциты I порядка. Далее происходит рост сперматоцитов I порядка, который связан с ядерными преобразованиями и известен как период синаптенного пути. Первичные сперматоциты - клетки округлой формы. Большую площадь клетки занимает ядро. При прохождении стадии синаптиса темноокрашенный хроматиновый материал концентрируется на одном из полюсов ядра. Это придает клеткам характерный вид, позволяющий легко отличить их от других клеток сперматогенеза. Диаметр сперматоцитов I порядка равен  $9,2 \pm 0,1$ , ядер  $3,9 \pm 0,1$  мк.

Следующим этапом развития половых клеток является период со-зревания. В это время происходит двукратное деление первичных сперматоцитов (мейоз). В результате первого деления образуются сперматоциты II порядка с диаметром  $6,0 \pm 0,1$  мк, ядра диаметром  $3,0 \pm$

\* См. рис. I - 9 на вклейке.

$\pm$  0,1 мк. Они округлой формы с нечеткой оболочкой. От сперматоцитов I порядка отличаются более светлой окраской ядерного вещества. Вслед за первым делением созревания происходит второе. В результате образуется сперматид с размерами клеток  $3,0 \pm 0,1$  мк. Оболочка сперматид четко выражена. В некоторых клетках этого периода сперматогенеза хроматиновый. Материал представлен гликами, равномерно распределенными по всему ядру (рис. 6, а). Иногда можно видеть и другое состояние сперматид, означающее собственно спермиогенез. В таких клетках содержимое ядра концентрируется в виде плотного образования полуулунной формы (рис. 6, б). Развитие половых клеток завершается формированием сперматозоидов (рис. 6, в). Размер головки зрелой клетки 1,8 - 2 мк, она интенсивно окрашивается гематоксилином. Хвостовая часть сперматозоидов хорошо заметна на срезах в виде длинных (около 30 мк) изогнутых нитей.

#### Стадии зрелости семенников

Стадии зрелости половых желез характеризуются определенным комплексом герминативных клеток, находящихся на разных этапах развития. Каждая стадия определяется главным образом состоянием клеток старшей генерации /I2/. При выделении стадий зрелости семенников у камбалы-калкана учитывали также анализ морфологических признаков. Использованы следующие основные признаки: отношение веса половых желез (гоносоматический индекс (ГСИ)), форма гонад, выделение спермы при разрезе семенника и опливание краев разреза, легкость выделения половых клеток из генипоры. Обнаружено, что на свежих поперечных срезах, а также фиксированных семенниках, выделяются зоны с различной окраской. Микроскопический анализ показал, что каждой зоне соответствует определенный комплекс половых клеток. Этот признак использован при описании стадий зрелости семенников. Схема расположения зон приведена на рис. 10. В половом цикле самцов выделено шесть основных стадий развития половых желез, взятых нами за основу шкалы зрелости.

I стадия зрелости наблюдается у неполовозрелых особей. На этой стадии проанализированы самцы размером 26-34 см в возрасте 2-3 лет. Среднее значение ГСИ равно  $0,16 \pm 0,04\%$ . Внешне пол различим. Гонады малы по размеру, стекловидные, имеют слабый розовый оттенок. Семенник на поперечном срезе однородно окрашен (рис. 10, а). Микроскопически герминативная часть железы представлена сперматогониями первого порядка (см. рис. 1).

II стадия зрелости характерна для неполовозрелых и половозрелых

рыб. Размер тела встречающихся в уловах в течение всего года неполовозрелых самцов этой стадии 30–41 см, возраст от 3 до 6 лет. ГСИ равен  $0,31 \pm 0,05\%$ . По сравнению с предыдущей стадией развития железы мутные непрозрачные. Кровеносная система развита лучше, поэтому семенники приобретают более интенсивную розовую окраску. Границы гонад выражены нечетко, закруглены. Железы на поперечных срезах однородны по окраске, как и у самцов I стадии зрелости (рис. 10, а). У половозрелых рыб эта стадия встречается через значительный промежуток времени после нереста. Гонады сероватые с бледно-розовым оттенком, менее упруги, чем семенники неполовозрелых рыб. Состав половых клеток свидетельствует о протекании в семенниках II стадии зрелости процесса размножения сперматогоний. Генеративная ткань гонад образована первичными сперматогониями, сперматогониями II порядка и клетками более поздних генераций (см. рис. 2). В хорошо выраженной негерминативной ткани неполовозрелых и уже нерестившихся рыб встречаются клетки интерстициальной ткани. В первом случае диаметр этих клеток равен  $7,1 \pm 0,2$  мк, у половозрелых  $6,6 \pm 0,1$  мк.

III стадия зрелости характерна для половозрелых особей. Размер проанализированных рыб этой стадии зрелости 38–50 см, возраст 5–10 лет. В уловах самцы этой стадии встречаются в сентябре–октябре. В процессе роста вес семенников увеличивается, соответственно возрастает гоносоматический индекс. Максимальная его величина 1,28, минимальная – 0,25%.

Железы серо-матовые, с розовым оттенком, тугие, стенки напряжены. Границы гонад отчетливо выражены, края разреза не оплывают. Лезвие бритвы после надреза семенника на ранней III стадии остается чистым, в конце слегка пачкается. На поперечных срезах семенника по характеру окраски заметны две зоны: более плотная и темная (наружная) и менее плотная и светлая (внутренняя зона) (см. рис. 10, б).

Микроскопический анализ показывает, что наружная зона образована сперматогониальными клетками разных порядков. Внутреннюю зону железы составляют семенные ампулы, в которых половые клетки находятся на более поздних этапах сперматогенеза. В них присутствуют сперматоциты I и II порядков и сперматиды. О начальном этапе III стадии зрелости можно судить по появлению в семенных ампулах первичных сперматоцитов. На более поздний этап указывает присутствие сперматид. Начиная с III стадии, семенные ампулы приобретают вид длинных лент, идущих от центра железы к периферии. Соединительно-тканые стенки ампул по сравнению со II стадией зрелости растягива-

ются за счет увеличивающейся в них массы клеток и поэтому утончаются. Можно также отметить, что в семенниках наряду с ампулами, содержащими цисты с асинхронно развивающимися половыми клетками, имеются такие, в которых процессы сперматогенеза во всех цистах протекают синхронно. Гистологическая картина гонад III стадии зрелости приведена на рис. 4.

Клетки интерстициальной ткани, обнаруживаемые чаще всего в центральной части железы, увеличиваются в размере по сравнению с предыдущей стадией зрелости. Средний диаметр ядер достигает  $8,9 \pm 0,6$  мк. Границы клеток не различимы, цитоплазма гемотоксилином окрашивается слабо. Ядро клеток округлой формы, содержит одно ядрышко, занимающее пристенное положение. Оболочки ядра и ядрышко интенсивно окрашиваются красителем (рис.5).

IV стадия зрелости довольно продолжительна. В уловах самцы встречаются с ноября по март. Размер тела исследованных рыб 38-50 см, возраст 5-10 лет. Вес семенников и значение ГСИ соответственно возрастают. Максимальная величина ГСИ равна 2,18, минимальная 0,52%. Под микроскопом гонады непрозрачные, бело-матовые, с желтоватым отливом. Края граней закруглены, но трехгранность хорошо выражена. Края разреза оплывают, на лезвии бритвы остается след белой массы. Если место надреза сжать, выделяется густая капля молочного цвета. По характеру расположения половых клеток в семенниках можно выделить три зоны: наружную, внутреннюю и центральную (см. рис. 10, в). В центральной зоне железы ампулы заполнены массой зрелых спермиев. Клеток более ранних стадий в пристеночном слое ампул нет, далее следует внутренняя зона. В ее ампулах содержатся клетки всех периодов развития, однако преобладают клетки периодов роста и созревания. Наружная зона, занимающая участок между *tunica propria* и внутренней зоной, образована сперматогониальными клетками. Таким образом, в семенниках IV стадии зрелости происходят процессы сперматогенеза и спермиогенеза (рис. 6). Формирование сперматозоидов начинается в центральных ампулах и с интенсификацией этого процесса распространяется на периферические участки железы. На этой стадии развития диаметр ядер клеток интерстициальной ткани уменьшается до  $7,4 \pm 0,2$  мк (на III стадии зрелости он равнялся  $8,9 \pm 0,6$  мк). Морфология клеток интерстициальной ткани на данном этапе развития половых желез приведена на рис. 7.

V стадия зрелости - ("стадия текучести") указывает на начало вымета половых продуктов. Рыбы, у которых половые железы находятся на этой стадии, встречаются в уловах в апреле-мае, размер их 38-49 см, возраст от 4 до 8 лет. Значение ГСИ в среднем составляет

0,99%. Наименьшая его величина равна 0,5%, наибольшая 3,2%. Внешне семенники молочно-белые, мягкие на ощупь. При надавливании бришка из генипоры выделяются беловатые молоки вязкой консистенции. Свободное выделение спермы служит четким признаком текучего состояния особей. На поперечных срезах семенников по степени их окраски можно выделить три зоны, как и на предыдущей, IV стадии зрелости: наружную, внутреннюю и центральную. Однако в отличие от IV стадии зрелости на срезах гонад описываемого периода более четко выявляются наружная и центральная зоны (см. рис. 10, г.). Микроскопическая картина показывает, что ампулы центральной зоны и семивыносящие каналы заполнены сплошной массой зрелых спермиев. В ампулах внутренней зоны кроме сперматозоидов содержатся группы "догоняющих" клеток, представленные в основном сперматидами. Наружная зона семенников образована первичными сперматогониями и гониями более поздних порядков. С освобождением семенных ампул от спермы происходит спадение стенок и их утолщение. Состояние семенных канальцев и выводного протока половых желез У стадии зрелости приведены на рис. 8. Ядра клеток интерстициальной ткани в период нереста несколько уплощены и продолжают уменьшаться. Диаметр их  $6,6 \pm 0,2$  мк.

УI стадия зрелости - "выбой". Состояние "выбоя" семенников, характерное для рыб, завершивших нерестовый период, встречается в июне-июле. Гоносоматический индекс исследованных в этот период рыб размером 39-49 см в возрасте 4-8 лет снижается в среднем до 0,38%. Гонады отнерестившихся самцов багрово-красные, дряблые на ощупь. Края надреза семенников не оплывают, но лезвие бритвы пачкается, что указывает на присутствие "остаточной" спермы. На поперечных срезах отнерестившихся рыб четко выделяются по степени окраски две зоны: темная - наружная и светлая - центральная (рис. 10, д.). Последняя занимает большую площадь на поперечных срезах гонад. Микроскопически темноокрашенный участок семенников представлен сперматогониальными клетками. Центральная зона желез образована сплавшимися семенными ампулами, в которых содержится небольшое количество невыметанных зрелых клеток. Гистологическая картина семенников в посленерестовый период свидетельствует о протекании в них двух процессов: ликвидации невыметанных спермиев и развитии новой сперматогониальной волны, дающей начало клеткам, которые будут использованы в нересте будущего года. Стенки семенных ампул сплавшиеся, значительно утолщены. Пристеночный слой ампул постепенно заполняется сперматогониальными клетками. По составу половых клеток семенники данной стадии соответствуют II стадии зрелости неполовово-

зрелых рыб. Однако в отличие от неполовозрелых особей в семенных ампулах отнерестившихся самцов содержится остаточная сперма. Поэтому посленерестовое состояние рыб следует обозначать как стадию зрелости VI-II. Микроскопическая картина семенных ампул и семявыносящих каналов приведена на рис. 9. Можно отметить, что диаметр клеточных ядер остается на уровне периода нереста ( $6,6 \pm 0,2$  мк). Морфологически выраженных изменений в этот период функционирования семенников в клетках интерстициума не отмечено. С завершением процессов дегенерации остаточных спермиев продолжается дальнейшее развитие начального этапа сперматогенеза — размножение сперматогоний. В августе в уловах встречаются самцы, половые железы которых находятся во II стадии зрелости. Семенники приобретают упругость за счет увеличения количества размножающихся клеток, изменяя цвет гонад от багрово-красного до сероватого с розовым оттенком.

#### Обсуждение результатов

Результаты выполненного исследования показывают, что семенники камбалы-калканы анатомически и микроскопически близки к семенникам перкоидного типа, описанного впервые для окуневых, а затем и для других видов рыб [12]. Кроме того, сходное строение половых желез отмечено у черного палтуса — *Reinhardtius hippoglossoides* Walb. и у морской камбалы — *Pleuronectes platessa* L. [13, 14].

Половые клетки развиваются в стенках семенных ампул. Морфология клеток различных фаз сперматогенеза мало отличается от других костистых рыб [1, 3-5, 11]. Размножение сперматогоний (II стадия зрелости) начинается в июне, сразу же после окончания нереста. Необходимо отметить, что основная масса клеток резервного фонда, т.е. первичных сперматогоний, в этот период деятельности семенников локализуется в верхних концах семенных канальцев, прилегающих к оболочке гонады. Такое расположение клеток резервного фонда свойственно для семенников перкоидного типа [2, 11], в отличие от половых желез цирриноидного строения, для которых характерны первичные сперматогонии в пристенном слое во всех ампулах [3, 4, 7].

Период пролиферации сперматогониальных клеток у половозрелых самцов камбалы-калканы длится около трех месяцев. Уже в сентябре мы наблюдали появление сперматоцитов I порядка. В сентябре-октябре в семенных ампулах идут активные процессы роста и созревания половых клеток, характеризующие III стадию зрелости. Появление сперматозоидов впервые наблюдается в ноябре. Как правило, процесс фор-

мирований спермиев раньше всего отмечается в семенных ампулах, расположенных ближе к семявыносящим каналам, распространяясь далее на периферические участки железы. В связи с этой особенностью, с наступлением нереста семенные ампулы, расположенные вблизи выводного протока, вероятно, быстрее освобождаются от зрелых половых клеток. Семенные ампулы, лежащие у выводного протока, находятся в лучших условиях питания, поскольку выводной проток лучше снабжен кровеносными сосудами [2].

Зимой в гонадах интенсивно развивается спермиогенез (IV стадия зрелости). В преднерестовом состоянии (последние числа марта) в семенниках калкана в массовом количестве находятся сперматозоиды, сперматиды и, кроме того, на периферии железы сохраняется не большое количество цист с клетками на догоноящих стадиях сперматогенеза, за счет которых, вероятно, в период нереста будет образовано дополнительное количество зрелых клеток.

Таким образом, формирование половых клеток – наиболее длительный процесс в половом цикле самцов калкана и продолжается около 5 мес. Сходный характер временных соотношений в развитии половых клеток описан у морской камбалы [4].

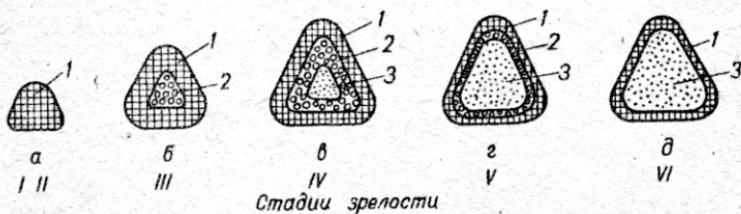


Рис.10. Схематическое изображение расположения половых клеток в семеннике на разных этапах полового созревания:

1 – сперматогонии разных генераций; 2 – сперматиды I и II порядка; 3 – сперматозоиды.

С начала апреля самцы нерестятся. Рыбы с текучими половыми продуктами встречаются в апреле и мае. Поскольку в период нереста в гонадах не наблюдается развития новой сперматогониальной волны, которая обеспечивала бы длительное функционирование семенников в этот период, то одной из причин растянутого нереста самцов, по-видимому, может быть неодновременное освобождение семенных ампул от зрелой спермы, как это отмечено для самцов ерша [2]. С другой стороны, длительность нерестового периода для всей популяции объясня-

ется тем, что самцы подходят на нерест неодновременно: степень физиологической подготовленности рыб к участию в нересте неодинакова.

Необходимо также отметить особенность функционирования семенников калкана, касающуюся клеток интерстициальной ткани. Эти клетки в гонадах рыб, подобно клеткам Лейдига семенников высших позвоночных, производят стероидные гормоны [15, 17]. Доказано, что присутствие андрогенов в семенниках костистых рыб значительно влияет на стимуляцию сперматогенеза [16].

Гистофизиологическое исследование семенников калкана показало, что клетки интерстициальной ткани изменяются в течение годичного полового цикла. Максимальная величина ядер клеток отмечена на III стадии зрелости ( $8,9 \pm 0,2$  мк), т.е. в период интенсивного роста и созревания половых клеток. С наступлением IV стадии зрелости, когда в семенниках идет процесс формирования зрелых спермиев, диаметр ядер уменьшается до  $7,4 \pm 0,2$  мк. Минимального значения клетки интерстициума достигают в период нереста. Размер ядер составляет  $6,6 \pm 0,2$  мк. Каких-либо существенных морфологических изменений клеточных образований интерстициума в этот период функционирования семенников не наблюдается. По окончании нереста и в процессе регенерации желез величина клеточных ядер интерстициальной ткани удерживается на том же уровне и равна  $6,6 \pm 0,2$  мк. С развитием новой сперматоцитальной волны, давшей начало генеративным клеткам будущего года, ядра клеток несколько увеличиваются. Диаметр их равен  $7,3 \pm 0,2$  мк. Сходная картина изменений размера клеток интерстициальной ткани в течение репродуктивного цикла была отмечена в семенниках бычка- кругляка - *Gobius melanostomus* Pallas [6].

Таким образом, показано, что наиболее активного состояния эти клетки достигают в семенниках II и III стадии зрелости половозрелых рыб. Этот факт позволяет высказать предположение о связи клеток интерстициальной ткани с процессами размножения, роста и созревания половых клеток самцов камбалы-калкана.

#### Выводы

1. По анатомическому и микроскопическому строению половые железы самцов калкана близки к перкоидному типу. Половые клетки в процессе сперматогенеза развиваются по схеме, общей для костистых рыб.

2. В семенных канальцах половые клетки развиваются асинхронно. У половозрелых рыб процесс пролиферации генеративных клеток будуще-

го года начинается прежде всего в центральных участках семенника. Наиболее отчетливо асинхронность сперматогенеза выражена в конце III и начале IV стадии зрелости.

3. В половом цикле самцов калкана выделено шесть стадий развития половых желез, взятых за основу шкалы зрелости. В процессе роста и созревания гонад на их поперечных срезах по плотности окраски выделяются несколько зон. Микроскопически каждой зоне соответствует определенный комплекс половых клеток определенной стадии развития.

Наиболее длительный процесс спермиогенеза, характеризующий IV стадию зрелости. Образование сперматид и формирование сперматозоидов продолжается около 5 мес.

4. В процессе сперматогенеза наблюдается изменение размера ядер клеток интерстициальной ткани. Максимальное значение их отмечено на III стадии зрелости, в период интенсивного развития процессов роста и созревания половых клеток.

### Л и т е р а т у р а

1. Буцкая А.А. Об особенностях функции семенника у рыб с различными типами нереста. - ДАН СССР, 1955, т. 100, № 4.

2. Буцкая А.А. Фолликулярный эпителий семенников и особенности его функций, связанные с типом нереста (на примере окуневых). - Зоол. журн., 1959, т.38, № 12.

3. Кулаев С.И. Наблюдение над изменением семенников речного окуня (*Perca fluviatilis L.*) в течение годового цикла. - Русск. зоол. журн., 1927, т.7, № 3.

4. Кулаев С.И. Годовой цикл и шкала зрелости семенников полновозрелой плотвы (*Rutilus rutilus L.*) - Зап.Большевск. биол.ст., 1939, № 11.

5. Лисовенко Л.А. Материалы к изучению сперматогенеза тихоокеанского морского окуня (*Sebastodes alutus G.*) залива Аляска. - Тр. ВНИРО, 1970, т.70.

6. Моисеева Л.Б., Пономарева В.П. Гистофизиологическая характеристика семенников и семенных пузырьков бычка-кругляка (*Gobius melanostomus Pallas*) на разных этапах полового цикла. - Вопр. ихтиол., 1973, т.13, вып. 3.

7. Черсов Г.М. Семенники севрюги в период нерестовой миграции, нереста и поката. - Тр.лабор.основ рыбоводства, вып. 1.Л., 1947.

8. Попова В.П. Об искусственном разведении черноморской камбала-калкана. - Рыбное хоз-во, 1969, № 5.

9. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. "Пищепромиздат", М., 1966.

10. Ромейс Б. Микроскопическая техника. ИЛ, М., 1953.

11. Сакун О.Ф. Анализ функции половых желез у самок и самцов рыб в связи с характером нереста (на примере сырты *Vimba vimba L.*). - ДАН СССР, 1954, т.98, № 3.

12. Сакун О.Ф., Буцкая А.А. Определение стадий зрелости и изучение половых циклов рыб. М., 1963.

13. Сорокин В.П., Григорьев Г.В. Сперматогенез и половой цикл

у гренландского или черного палтуса баренцевоморской популяции. - Тр. ПИНРО, 1968, вып. 23.

14. Barr W.A. The endocrine control of the sexual cycle in the plaice *Pleuronectes platessa* (L.). III. The endocrine control of spermatogenesis. - Gen. Comp. Endocrinol., 1963, N 3.

15. Hoar W.S. Comparative physiology: hormones and reproduction in fish. - Ann. Rev. Physiol., 1965, vol. 27.

16. Pickford G.E. and Atz J.W. The Physiology of the Pituitary Gland of Fishes. - N.J. Zool. Soc. N.J., 1957.

17. Stanley H., Chieffi G. and Botte V. Histological and Histochemical Observation on the Testes of *Gobius paganellus*. - Zeitsch. Zellforsch., 1965, vol. 65.

ИССЛЕДОВАНИЕ СОЗРЕВАНИЯ САМОК ЧЕРНОМОРСКОЙ КАМБАЛЫ-КАЛКАНА (*SCOPRINTHALMUS MAEOTICUS PALLAS*)

В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

Н.К. Воробьева, М.Г. Таликина, А.П. Золотницкий  
(АзЧерНИРО, Керчь)

Одна из исходных задач искусственного воспроизводства рыб - получение от них качественных зрелых половых продуктов. Для успешного решения этой задачи для черноморского калкана, необходимо всесторонне изучить процесс созревания и нереста этого вида как в природных, так и в экспериментальных условиях.

Некоторые особенности биологии размножения камбалы-калкана в море описаны в работах [2-7].

Мы специально исследовали завершающий период вителлогенеза и процесс созревания от желткового ооцита до зрелого овулировавшего яйца самок данного вида, содержащихся в экспериментальных условиях.

Работа выполнена на экспериментальной базе АзЧерНИРО в пос. Заветное в апреле-мае 1972 г. Производителей камбалы отлавливали донным тралом в районе Анапы и доставляли на базу за 8-12 ч в брезентовых ванночках (каждого в отдельной) размером 500x250 мм, специально сконструированных для этой цели В.Ф. Гнатченко. Такой способ транспортировки значительно снижал травмирование рыб при доставке. Воду в ванночках меняли через 4-6 ч. На базе рыбу содержали в бассейнах емкостью 2,5-3 м<sup>3</sup> по три-пять экземпляров в каждом при температуре 12-14°C.

Наблюдение за созреванием ооцитов проводили методом прижизненного анализа щуповых проб, предложенным Апекиным [7]. От созревающих самок брали через 4 ч, начиная с момента доставки, щуповые пробы. Ооциты из проб исследовали бинокуляром при увеличении 7x8. Положение ядра в яйцеклетках определяли на срезах, приготовленных с помощью замораживающего микротсма. Для получения размерных характеристик клеточных компонентов ооцитов различного состояния пробы