

УДК 639.311.03

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ И ПРАКТИКА ПРИМЕНЕНИЯ
ХОРИОНИЧЕСКОГО ГОНАДОТРОПИНА
В РАЗВЕДЕНИИ ПРУДОВЫХ КАРПОВЫХ РЫБ**

Б. В. ВЕРИГИН, А. П. МАКЕЕВА, А. Б. БУРЛАКОВ, Н. Е. ЛЕБЕДЕВА

Видоспецифичность биологического действия, а также химическая структура гонадотропных гормонов позвоночных животных представляют большой интерес как в эволюционном аспекте, так и в плане практического использования гормонов, в частности в рыбоводстве, где вопросы рационального использования и возможности замены гипофизов, применяемых при искусственном разведении карповых рыб, таких, как белый толстолобик *Hypophthalmichthys molitrix* (Val.), пестрый толстолобик *Aristichthys nobilis* (Rich.), белый амур *Stenopharyngodon idella* (Val.) и карп *Cyprinus carpio* (L.), приобретают все большее значение в связи с переходом на поликультуру и сокращением запасов сазана, являющегося основным донором гипофизов.

В литературе имелись упоминания о применении гонадотропинов, имеющих не гипофизарное, а плацентарное происхождение, для стимуляции созревания и овуляции у некоторых костистых рыб, в том числе и у дальневосточных карповых фитофагов (Ramaswami, Sundararaj, 1957; Ramaswami, Lakshman, 1958; Киршенблат, 1961; Wu Hsien-Wen, Chung Ling, 1964; Гербильский, 1964, 1966; Лю Юань-кау и др., 1966; Tang, 1966; Stevens, 1966; Sundararaj, Goswami, 1961, и др.). Однако опубликованные материалы были недостаточно полными, что не давало возможности рекомендовать новые препараты производству.

С 1969 г. нами ведутся опыты по возможности использования хорионического гонадотропина (ХГ) для стимуляции созревания толстолобиков, белого амура и карпа. Параллельно проведено сравнительное изучение влияния этого препарата и гипофиза карпа на некоторые стороны обмена веществ у производителей. Опыты завершились производственным внедрением хорионического гонадотропина в практику разведения белого и пестрого толстолобиков. Материалы, касающиеся результатов работы с ХГ, представлены в данной статье.

Исследования проводились в Аккурганском экспериментально-показательном рыбокомбинате Узбекской ССР в 1969—1973 гг. В предварительных опытах использовали гонадотропный препарат хориогонин венгерской фирмы Г. Рихтера. В 1972 г. в опытах и в 1973 г. для производственного разведения применяли отечественный хорионический гонадотропин Московского завода эндокринных препаратов без добавки наполнителя¹.

¹ Хорионический гонадотропин для опытов был любезно предоставлен нам руководителем лаборатории технологических процессов Всесоюзного научно-исследовательского института антибиотиков Ф. Ю. Рышка и его сотрудницей Н. К. Асоновой, за что авторы приносят им свою глубокую благодарность.

Гипофизы сазана применяли те же, что и в производственной работе. Материалы по их активности представлены в работе Б. В. Веригина и А. П. Макеевой (1971). Испытание дозировок проведено на рыбах из стада производителей, используемых в производственной работе комбината. Контролем служили рыбы, инъецированные гипофизом, как специально подобранные, близкие по своим показателям к опытным, так и использованные в день опыта в производстве. Производителей в обоих случаях инъецировали по схеме, принятой для растительноядных рыб, с двукратным введением препарата самкам (первая — предварительная инъекция и вторая — разрешающая) и однократным — самцам. Рыбу после инъекций содержали в проточных земляных садках. Температура воды в них в период опытов с середины мая до конца июня была от 20 до 28°С с суточными колебаниями до 3—4°С. В большинстве случаев за полученной икрой вели биологический контроль: определяли рабочую плодовитость, процент оплодотворения и выхода жизнеспособных и уродливых предличинок.

При работе с самцами определяли объем продуцируемой спермы, концентрацию спермиев в 1 мм³, их активность и оплодотворяющую способность¹.

Изоферментные системы тканей исследовали методом диск-электрофореза в полиакриламидном геле по ранее описанной методике (Лебедева, Бурлаков, 1971). Электрофорез проводили в холодной комнате, в качестве которой использовали автофургон-холодильник при средней температуре —5°С. Общее число использованных в опытах рыб составляло около 170 экз. Для сокращения объема таблиц данные опытов, проведенных в различные сроки, в большинстве случаев объединены по применявшимся дозировкам.

ОПЫТЫ С ХГ НА САМКАХ БЕЛОГО ТОЛСТОЛОБИКА

В этих опытах в первой (предварительной) инъекции использовали гипофиз карпа в дозе 3—3,5 мг на одну рыбу. Во второй (разрешающей) инъекции использовали ХГ в дозах от 1000 до 2500 М. Е. (мышинные единицы) на 1 кг массы рыбы. Дозы 2000 М. Е. и выше дали 90—100% созревания. Введение же 1500 и 1000 М. Е. вызвало овуляцию у 80 и 66% самок соответственно (табл. 1). При этом у некоторых рыб икра овулировала не полностью. Попытка стимулировать созревание еще более низкими дозами не удалась, так как опыт совпал с резким снижением температуры воды. Можно считать, что оптимальной должна быть доза 2000 М. Е. на 1 кг массы рыбы. При работе в производственных условиях дозы 1000—1500 М. Е. на 1 кг массы рыбы следует считать минимальными.

Таблица 1

Введение ХГ самкам белого толстолобика при второй (разрешающей) инъекции

Число рыб	Длина, см	Масса, кг	Доза гипофиза на одну рыбу (первая инъекция)	Доза ХГ М. Е./кг (вторая инъекция)	Число созревших рыб, %
6	63	4,4	3—3,5	1000	66
10	62	4,5	3—3,5	1500	80
8	65	4,7	3—3,5	2000	100
10	61	4,2	3—3,5	2500	90
Контроль 189	62	4,4	3—3,5	Гипофиз, мг/кг 5,5	86

¹ Определения проведены нашей аспиранткой Н. В. Беловой

В литературе имелись указания, что использование для инъекций белому толстолобику смеси гипофизов с ХГ увеличивает количество созревших самок (Tang, 1966; Kigonima, 1968). С целью проверки этого и экономии гипофизов мы испытали возможность замены во второй инъекции примерно 50% гипофизов на ХГ. Доза гипофизов, применяемая в производстве, в этот период составляла 4,8 мг/кг. В опыте была введена половина этой дозы в смеси с 600 М. Е. на 1 кг, что составляло примерно половину минимальной дозы ХГ. Такая замена не сказалась отрицательно на числе созревших самок. В среднем процент созревания в опыте и контроле оказался примерно одинаковым и составил 80% (табл. 2).

Таблица 2

Введение смеси ХГ с гипофизом самкам белого толстолобика во второй (разрешающей) инъекции

Число рыб	Длина, см	Масса, кг	Доза гипофиза, мг на одну рыбу (первая инъекция)	Доза ХГ+гипофиз, М. Е./кг+мг/кг (вторая инъекция)	Число созревших рыб, %
10	50	2,5	2,5	600+2,4	80
18	50	2,5	2,5	0+4,8	84

Представлялось интересным испытать действие ХГ при условии применения его в обеих инъекциях — как в предварительной, так и разрешающей. В предварительной были испытаны дозы, составляющие около $\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{10}$ от разрешающей, или в абсолютных цифрах — от 200 до 400 М. Е./кг. Во время второй инъекции вводили 1500—2500 М. Е./кг. Во всех случаях рыбы полностью созрели, как и рыбы, получившие ХГ только во второй инъекции, и контрольные, которым был введен гипофиз (табл. 3).

Таблица 3

Введение ХГ самкам белого толстолобика в обеих инъекциях

Число рыб	Длина, см	Масса, кг	Доза при инъекции, М.Е./кг		Число созревших рыб, %
			первой	второй	
1	63	4,2	400	2500	100
3	64	4,3	250	2500	
1	68	5,3	300	2000	
2	57	3,5	250	2000	
9	64	4,3	250	2000	
1	62	4,4	200	1500	
Контроль			Гипофиз, мг на одну рыбу	Гипофиз, мг/кг	94
245	60—68	4—5	4—5	4—5	

Сопоставление гистологической картины гонад самок до инъекции и после первой инъекции ХГ показало, что введение ХГ вызывает смещение ядра к анимальному полюсу, аналогично тому, как это происходит после первой инъекции гипофиза.

Контроль за рабочей плодовитостью, оплодотворяемостью икры и процентом выхода на стадии вылупления предличинки не выявил каких-либо закономерных отклонений в случаях применения ХГ (табл. 4). Лучшие и худшие показатели получались как в опыте, так и в контроле, будучи, несомненно, связанными с другими биотехническими моментами, но не с видом применявшегося гонадотропного препарата.

Рыбоводно-биологические показатели при различных вариантах инъекций самок белого толстолобика, 1970 г.

Дата, температура	Число рыб	Масса, кг	Первая инъекция		Вторая инъекция		Число созревших рыб		Абсолютная рабочая плодовитость, см ³		Относительная рабочая плодовитость (средняя), см ³ /кг	Процент оплодотворения	Процент выхода
			препарат	доза, мг на одну рыбу (гипофиз, М. Е./кг (ХГ))	препарат	доза, мг/кг (гипофиз, М. Е./кг (ХГ))	шт.	%	индивидуальная	средняя			
14/V, 20—23 °C	1	5,1	Гипофиз	3	ХГ	2000	1	66,6	780	670	108	66	38
	1	5,5	»	3	»	1900	1		560				
	1	4,0	»	3	»	2600	0		0				
Контроль 18/V, 23—26 °C	7	4,3	»	3	Гипофиз	5,5	7	100	220—1000	469	190	52	32
	1	5,3	ХГ	300	ХГ	2000	1	100	940	785	167	87	51
	1	4,2	»	350	»	2500	1		660				
	1	5,1	Гипофиз	4	»	2000	1		820				
	1	4,3	»	4	»	2500	1	100	720				
Контроль 13/VI, 22—25 °C	15	4,6	»	4	Гипофиз	4,5	14	93	170—1040	555	121	72	61
	1	4,6	»	3	ХГ	1000	1	50	300	305	65	92	57
	1	4,5	»	3	»	1500	1		310				
	1	4,2	»	3	»	1600	0		0				
	1	4,3	»	3	»	1000	0		0				
Контроль 24/VI, 25—28 °C	11	4,4	»	3	Гипофиз	4—5	7	64	170—560	329	75	76	52
	4	2,5	»	3	ХГ+гипофиз	600+2,4	4	100	100—130	200	80	97	49
Контроль 25/VI, 25—27 °C	10	2,5	»	3	Гипофиз	4,8	7	70	100—460	230	92	48	42
	6	2,5	»	3	ХГ+гипофиз	600+2,4	4	66,6	—	245	98	99	44
Контроль	8	2,5	»	3	Гипофиз	4,8	8	100	—	230	92	94	46

ОПЫТЫ С ХГ НА САМКАХ БЕЛОГО АМУРА И КАРПА

Белому амуру ХГ вводили только при разрешающей инъекции. Опыты были начаты с дозы 300 М. Е./кг и доведены до 2500 М. Е./кг. Ни в одном случае из 14 не получили положительного результата, тогда как большинство контрольных рыб после введения гипофиза созрели (табл. 5). У опытных самок амура инъекции ХГ не вызвали изменения обхвата тела и внешнего вида икры. Когда этим самкам спустя сутки после срока возможной овуляции была введена обычная доза гипофиза, они созрели и от них была получена доброкачественная икра. В противоположность этому добавочное введение гипофиза белым толстолобикам, получившим недостаточную дозу ХГ, эффекта не дает. Следовательно, в отличие от толстолобика даже высокая доза ХГ не вызвала у белого амура сдвигов в предовуляционных процессах.

Таблица 5
Введение ХГ самкам белого амура при второй (разрешающей) инъекции

Число рыб	Длина, см	Масса, кг	Доза гипофиза, мг на одну рыбу (первая инъекция)	Доза ХГ, М. Е./кг (вторая инъекция)	Число созревших рыб, %
1	69	5,0	3	300	0
2	74	6,5	3	600	
3	72	5,3	3	900	
1	62	5,3	3	1000	
3	68	6,0	5	1500	
2	74	7,0	3	2100	
2	69	6,0	5	2500	68
Контроль				Гипофиз, мг/кг	
60	60—72	5,0—6,0	5	5	

Это подтвердил и гистологический анализ гонад, показавший, что ядро овоцитов после инъекции ХГ находится в центре клетки или начало мигрировать к анимальному полюсу. Однако последнее может быть следствием того, что предварительная инъекция гипофиза оказала влияние на начало предовуляционных ядерных изменений, но ХГ не довел их до конца.

Наши отрицательные результаты совпадают с данными сводки Куро-нумы (Kuronuma, 1968) и отчета Тропического рыбохозяйственного института в Малакке (Anonim, 1960—1961). Однако в литературе имеется и указание о положительной реакции самок белого амура на введение ХГ (Лю-Юань-кай и др., 1966). Позднее (Bailey, Boyd, 1971) появились данные о созревании белого амура при комбинированном применении двух первых инъекций ХГ с третьей инъекцией гипофиза. В этом случае авторы видят успех в действии ХГ. Однако мы склонны полагать обратное, поскольку их схема инъекций соответствует нашему случаю получения икры под действием гипофиза после безуспешного введения ХГ. Но в целом вопрос о возможности использования ХГ для белого амура, по-видимому, следует считать пока открытым.

На карпе ХГ испытывался также в разрешающей инъекции. В первом опыте с дозами от 500 до 1500 М. Е./кг икра не овулировала (табл. 6). Для определения того, произошли ли под влиянием ХГ сдвиги в состоянии гонад, самкам была введена разрешающая доза гипофиза, но овуляции после этого не произошло. Этот результат

отличался от того, что мы наблюдали у белого амура, и можно было, следовательно, полагать, что на карпа ХГ действовал, но доза была недостаточна для овуляции. Поэтому во втором опыте двум рыбам доза была увеличена до 2250 М. Е./кг, а две рыбы получили по 1500 М. Е./кг. Ни одна из четырех самок в положенные сроки не созрела. Через сутки их половые продукты также не были текучими, но через 1,5 сут у одной из самок, получивших дозу 1500 М. Е./кг, икра стала текучей. Икра имела высокий процент оплодотворения. Эта самка несколько отличалась в начале опыта от прочих рыб тем, что была более «полной». Осталось неясным, была ли ее текучесть обусловлена более поздним действием ХГ или быть может это была наиболее зрелая самка, у которой овуляция наступила вследствие содержания рыбы в теплой воде. Переход половых продуктов у самок карпа в текучее состояние даже в отсутствие самцов, как известно, наблюдается иногда и в прудах при повышении температуры.

Таблица 6
Введение ХГ самкам карпа при разрешающей инъекции

Число рыб	Масса рыб, кг	Первая инъекция гипофиз, мг/кг	Вторая инъекция ХГ, М. Е./кг	Число созревших рыб, %
2	1,5	0,5	500	0
3	2,0	0,5	1000	0
4	2,2	0,5	1500	0*
2	2,0	0,5	2250	0
Контроль			Гипофиз, мг/кг	
200	1,5—2,0	0,5	3,0	70—80

* У одной из самок икра овулировала через 1,5 сут после получения икры в контроле.

ОПЫТЫ С ХГ НА САМЦАХ БЕЛОГО И ПЕСТРОГО ТОЛСТОЛОБИКА

В 1969 г. введение двум самцам белого толстолобика 700 М. Е./кг и 1000 М. Е./кг ХГ не увеличило количества сцеженной от них спермы, тогда как подобное увеличение всегда наблюдается при введении даже небольшой дозы гипофиза.

Однако при проведении массовых опытов в 1971 и 1973 гг. выяснилось, что отрицательный результат 1969 г. был обусловлен какими-то случайными, не связанными с применением ХГ причинами. Введение ХГ самцам во всех случаях вызывало увеличение количества получаемой спермы по сравнению с самцами, не подвергавшимися инъекции. При повышении дозировок ХГ от 500 М. Е. на одну рыбу до 1500—3000 и даже до 10 000 М. Е. на одну рыбу не наблюдали четкой картины увеличения продукции спермы. Несмотря на большое число рыб в опытах (от 3 до 10—13 шт.), объем эякулята в одних опытах несколько повышался с увеличением дозы, в других несколько снижался, будучи в среднем немного ниже той величины, которая была характерной для контрольных рыб данного опыта, получивших обычную дозу гипофиза — 1—2 мг/кг (табл. 7).

Как видно из табл. 7, концентрация спермы у самцов, инъецированных ХГ, существенно не отличалась от таковой самцов, инъецированных гипофизом, и колебалась в пределах 31—34 млн. спермиев в 1 мм³.

Процент оплодотворения икры, выход предличинки на стадии вылупления при осеменении спермой, полученной под действием ХГ и гипофиза в опытах, проведенных на икре двадцати самок, были одинаковыми.

Таблица 7

Введение ХГ самцам белого и пестрого толстолобиков и белого амура

Год	Дата, температура	Длина рыбы, см	Масса, кг	Число рыб	Препарат	Доза на рыбу. М. Е. (ХГ), мг (гипофиз)	Объем спермы, см ³	Число спермиев в 1 мм ³ , млн.		
Белый толстолобик										
1971	21/V, 21 °C	55	3,2	5	—	—	1,5	—		
		55	3,2	3	ХГ	500	4,0	—		
		54	3,1	3	ХГ	1 000	4,3	—		
		55	3,3	3	ХГ	1 500	5,3	—		
1971	24/V, 24 °C	Контроль 55—57	3,3	15	Гипофиз	5	7,3	—		
		52	3,1	4	—	—	1,1	—		
		52	3,1	3	ХГ	500	9,8	—		
		53	3,2	3	ХГ	1 000	8,3	—		
		53	3,1	3	ХГ	1 500	8,5	—		
		Контроль 52—54	3,2	12	Гипофиз	6	10,9	—		
1973	Июнь	52—64	3,3	10	—	—	0,5	33,03		
				10	ХГ	500	8,4	33,46		
				3	ХГ	3 000	6,8	31,56		
				5	ХГ	10 000	6,2	33,88		
				24	Гипофиз	4—6	7,8	31,29		
				Контроль						
Пестрый толстолобик										
1973	Июнь	78—81	8,0—9,0	5	—	—	0,3	34,23		
				8	ХГ	6000	8,5	32,10		
				10	Гипофиз	20	13,5	35,93		
1969	Июнь	65—73	4,5—7,1	8	—	—	2,5—9,0	—		
				60	3,5	1	ХГ	1500	3,0	—
				74	7,2	1	ХГ	1500	2,5	—
				64	4,5	1	ХГ	3000	5,0	—
				74	7,2	1	ХГ	4500	4,5	—
				Контроль 72	7,0	2	Гипофиз	9—12	12,0	—

У пестрого толстолобика при введении 750 М. Е./кг ХГ получили примерно в 1,5 раза меньше спермы, чем при введении гипофиза, однако это быть может является случайностью, связанной с однократностью опыта и малым числом рыб. Введенный четырем самцам белого амура ХГ не вызвал у них увеличения продукции спермы.

ИЗМЕНЕНИЕ ИЗОФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМ В ТКАНЯХ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ГОРМОНАЛЬНЫХ ИНЪЕКЦИЙ

Эндокринная система является одним из регуляторных механизмов, обеспечивающих гармоничное протекание биохимических процессов в организме. Сдвиг гормонального баланса гонадотропинов вызывает ускоренное созревание половых продуктов посредством изменения обмена веществ. Одним из путей гормональной регуляции обмена веществ является воздействие гормонов на ферментные системы. Под гормональным контролем находится скорость биосинтеза и распада ферментов, изменение стабильности и скорости их обмена, количество кофакторов и активаторов, а также поддержание активной конформации ферментов (Юдаев, Протасова, 1973). Наличие ключевых ферментов обмена во множественных формах, катализирующих одну и ту же реакцию, но имеющих разные физико-химические свойства (изоферменты), обеспечивает большую пластичность обмена под воздействием регуляторов.

В настоящее время имеются данные об изменении изоферментного спектра ряда ферментов у рыб при различных физиологических состояниях: при подготовке молоди лосося к переходу из пресной воды в морскую (Лебедева, Бурлаков, 1972), при половом созревании (Wilkins, 1969) и при изменении физиологического состояния под влиянием целого ряда других факторов (Mester et al., 1972, 1973; Салменкова, 1973). Исходя из этого, мы и выбрали изучение изменений изоферментного спектра некоторых ферментов в ряде тканей в качестве оценки физиологического состояния рыбы под воздействием различных гормональных препаратов. Изучали изоферментные спектры трех де-гидрогеназ — лактатдегидрогеназы (ЛДГ), алкогольдегидрогеназы (АДГ) и малатдегидрогеназы (МДГ) — и ферментов жирового обмена — неспецифических эстераз (н.эст.). Анализу подвергали четыре ткани белого толстолобика и карпа: икру, печень, плазму крови и белые мышцы.

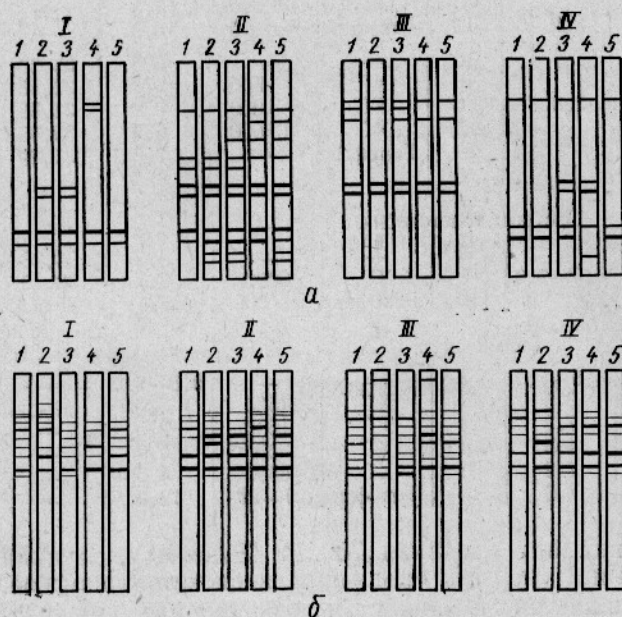


Рис. 1. Изоферментный спектр н. эст. (а) и МДГ (б) в различных тканях самок белого толстолобика после инъекций ХГ и гипофиза:

I — икра; II — печень; III — плазма крови; IV — белые мышцы; 1 — интактные самки IV стадии зрелости; 2 — предварительная инъекция гипофиза; 3 — предварительная инъекция ХГ; 4 — разрешающая инъекция гипофиза; 5 — разрешающая инъекция ХГ.

Не вдаваясь в подробности изменения изоферментных спектров каждого фермента, следует отметить, что во всех исследованных тканях изоферментные спектры меняются при введении как гипофиза, так и ХГ. Изменения изоферментного спектра у белого толстолобика под действием ХГ довольно близки к тем, которые происходят под воздействием препарата гипофиза. У карпа же введение ХГ резко сдвигает изоферментные системы во всех исследованных тканях, приводя их в состояние, значительно отличающееся от того, которое наступает при введении препарата гипофиза. В качестве примера рассмотрим динамику изменений изоферментных спектров н.эст. и МДГ в некоторых из исследованных тканей белого толстолобика после первой и второй инъекций гипофизом и ХГ.

Неспецифические эстеразы. Под действием предварительной инъекции ХГ в различных тканях можно наблюдать три формы ответа: предварительная инъекция не вызывает никаких изменений спектра эстераз (в плазме крови); она оказывает такое же действие, как и предварительная инъекция гипофизом (в икре и печени); и, наконец, она вызывает изменения, скорее похожие на изменения после разрешающей инъекции гипофиза (в белых мышцах).

Разрешающая инъекция ХГ приводит к еще большему разнообразию ответов в различных тканях. В этом случае мы наблюдаем следующие формы ответа: возвращение изоферментного спектра к доинъекционному состоянию, чего не наблюдается при разрешающей инъекции гипофиза (в икре); изменения, идентичные изменениям после второй гипофизарной инъекции (плазма крови); изменения, идентичные изменениям после предварительной гипофизарной инъекции (белые мышцы); изменения, довольно близкие к таковым после разрешающей инъекции; изменения, идентичные таковым после предварительной гипофизарной инъекции (белые мышцы); изменения, довольно близкие к таковым после разрешающей гипофизарной инъекции (печень) (рис. 1, а).

Малатдегидрогеназа. Под действием предварительной инъекции ХГ в различных тканях можно наблюдать следующие формы ответа: инъекция вызывает сходные изменения с таковыми при действии гипофиза (в печени); изменения, близкие к таковым после разрешающей инъекции гипофиза (в икре); специфические изменения, не наблюдаемые ни при одном из вариантов инъекций гипофиза (в плазме крови).

Разрешающая инъекция ХГ вносит сравнительно небольшие изменения в изоферментную картину МДГ, спектры изоформ МДГ; полученные после разрешающей инъекции гипофиза и ХГ, по своей картине близки друг к другу (рис. 1, б).

При исследовании влияния инъекций ХГ на изоферментные системы карпа в ряде тканей подобных результатов мы не получили. ХГ резко сдвигает изоферментный спектр во всех тканях по сравнению со спектрами, наблюдаемыми после гипофизарных инъекций. Достаточно наглядная картина сдвига изоферментной картины при введении ХГ показана на примере АДГ в плазме крови; МДГ и н. эст. в икре (рис. 2).

Возможность влияния на результаты опытов генетического полиморфизма изоформ была исключена 20—30-кратной повторностью опытов и анализом полиморфизма МДГ и н. эст. в белых мышцах 120 неполовозрелых самок и самцов — трехлеток белого толстолобика. Анализ показал наличие изменений лишь одной минорной компоненты МДГ, встреченной примерно у 50% особей. Изменчивой была также одна изоформа н. эст. в 50% случаев. Но эта изоформа отсутствует у самок IV стадии зрелости, с которыми велись опыты по гормонам.

ОПЫТ ПРОИЗВОДСТВЕННОГО ВНЕДРЕНИЯ ХГ

После проведения исследования ХГ в 1973 г. был применен при производственной работе инкубационного цеха Аккурганского рыбокомбината. В производственном эксперименте с ХГ было использовано 139 самок белого и 18 самок пестрого толстолобиков. Контролем служили 156 самок белого толстолобика и 20 пестрого. ХГ применяли в обеих инъекциях в дозах 500 М. Е./кг при предварительной и 2000—2500 М. Е./кг при разрешающей. Контрольные рыбы получали применяемую в производстве дозу гипофиза — 4 мг на одну рыбу при предварительной и 4—5 мг/кг при разрешающей инъекции. И в опыте, и в контроле икра была получена примерно от 80% самок. Успешно применяли ХГ и в 1974 г. Биологические показатели икры (процент

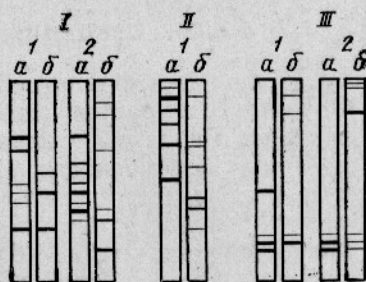


Рис. 2. Изоферментный спектр некоторых ферментов в тканях самок карпа после инъекций гипофиза и ХГ:

I — алкогольдегидрогеназа; II — малатдегидрогеназа; III — неспецифические эстеразы; 1 — икра; 2 — плазма крови; а — разрешающая инъекция гипофиза; б — разрешающая инъекция ХГ.

оплодотворения и процент выхода жизнеспособных личинок), как и в опытах, не давали какого-либо заметного отклонения по сравнению с контролем.

Интересно, что при применении указанных доз, которые, по-видимому, являлись оптимальными для данного состояния самок, не во всех случаях происходило некоторое запаздывание наступления овуляции, которое наблюдалось другими исследователями (Виноградов, Ерохина, 1972).

ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О ХОРИОНИЧЕСКОМ ГОНАДОТРОПИНЕ

ХГ является гонадотропным гормоном плацентарного происхождения. Он вырабатывается цитотрофобластом и клетками Лангерганса ворсинок плаценты у некоторых млекопитающих животных и человека во время беременности. Из плаценты он попадает в кровь и в значительном количестве выносится с мочой. ХГ по своей химической природе сложный белок и, как все гонадотропины, относится к глюкопротеинам. Молекулярная масса ХГ — 57 300, в молекуле содержится довольно много углеводов, среди которых найдены глюкозамин и сиаловые кислоты. Последние играют важную роль в обеспечении биологической активности, при отщеплении их гормон теряет свое действие. ХГ по своему действию на организм является синергистом лютеинизирующего гормона (ЛГ). Молекулы ХГ и ЛГ состоят из двух субъединиц — α и β . Молекулярная масса субъединиц α 22 300 и 21 200, а β — 35 000 и 18 000 соответственно (Reicher, Lawson, 1973). Проведенная в последнее время гибридизация субъединиц α и β различных гонадотропинов позволила получить гормон со свойствами того гормона, чья β -субъединица использовалась (Kennedy, 1973). При исследовании первичной структуры ХГ и ЛГ обнаружена гомология в области 83—94 аминокислотных остатков и прикрепления углеводной компоненты (Morgan et al., 1973).

ХГ используется в медицинской практике при лечении некоторых заболеваний и выпускается фармакологической промышленностью ряда стран под различными наименованиями. Отечественной промышленностью гормон выпускается под названием «хорионический гонадотропин», венгерский препарат называется «хориогонин», в ГДР он именуется «гонабион», в Польше — «биогонадил», в Нидерландах — «прегнил», в ФРГ — «хорагон», «хориоман», «предалон», «примогонил». В смеси с другими гонадотропинами он именуется «синахорин». Производство данного гормона основано на принципе сорбции из мочи активного начала на различных субстратах и дальнейшей очистке. Активность продажного препарата выражается в мышинных единицах. Имеется международный стандарт, активность которого является эталоном. Это кристаллический белок высокой очистки. 0,0011279 мг этого эталона является международной единицей и обозначается 1 М. Е.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали высокую эффективность ХГ в стимулировании овуляции у белого и пестрого толстолобиков. Действие этого препарата по показателям, характеризующим рыбоводный процесс, близко к тем результатам, которые получают при применении гипофиза карпа.

Сопоставляя эффективные дозы ХГ для самок и самцов белого толстолобика, можно сделать определенный вывод, что доза 500 М. Е. ХГ эквивалентна примерно 1 мг гипофизов сазана при той их активности, которую они обычно имеют в условиях производственной заготовки.

Исследования изоферментных спектров вместе с цитологическими данными и биологическим контролем за рыбоводными результатами при применении ХГ говорят о том, что предположения о возможном отрицательном действии ХГ на воспроизводительную систему рыб (Виноградов, Ерохина, 1972) не могут вызывать больших опасений. Во всяком случае, они могут быть отнесены не только к ХГ, но и к гипофизу, поскольку при введении последнего рыба получает кроме гонадотропина ряд других гормонов и прочих белков. К сожалению, последствие гормональных инъекций на рыбу совершенно не исследовано, хотя глубокое и длительное действие допинга гормонов на организм животных хорошо известно.

Технология получения ХГ относительно проста, и исходное сырье не является дефицитным. Учитывая растущую роль толстолобиков в деле повышения рыбопродуктивности прудовых хозяйств и особенно большие перспективы нагула их в водохранилищах, мы считаем вполне правомерной постановку вопроса об организации специального производства ХГ для рыбохозяйственных целей. Этот препарат может успешно применяться в качестве заменителя гипофиза для данных видов рыб.

Введение гормона в организм вызывает резкие сдвиги обмена веществ в его органах и тканях. Исследование этих сдвигов может способствовать выяснению особенностей действия различных гонадотропных препаратов. Поэтому учет и их наряду с цитологическими и рыбоводными результатами нам представляется весьма важным в дальнейшем совершенствовании метода гипофизарных инъекций и при поиске гонадотропинов, перспективных для искусственного рыборазведения. Примененный нами метод изучения изоферментных спектров может быть одним из подходов в данных исследованиях.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Баранникова И. А. Современное состояние метода гормональной стимуляции созревания рыб и его значение для рыбоводства.— В кн.: Современное состояние метода гипофизарных инъекций. Астрахань, 1969, с. 5—21.
- Веригин Б. В., Макеева А. П. Хориогонин—новый гормональный препарат—«Рыболовство и рыбоводство», 1971, № 1, с. 9—10.
- Веригин Б. В., Макеева А. П. Опыт определения активности гипофизов.— «Вопросы ихтиологии», 1971, т. II, вып. 6, с. 1014—1021.
- Виноградов В. К., Ерохина Л. В. Можно ли заменить гипофизы сазана?— «Рыболовство и рыбоводство», 1971, № 2, с. 13—14.
- Виноградов В. К., Ерохина Л. В. Совершенствование биотехники разведения и выращивания растительноядных рыб.— В кн.: Акклиматизация растительноядных рыб в водоемах СССР. Кишинев, 1972, с. 26—28.
- Гербильский Н. Л. Возможна ли в рыбоводстве замена ацетонированных гипофизов другими препаратами.— «Вестник ЛГУ», 1964, № 15, с. 19.
- Гербильский Н. Л. Современное состояние вопроса о нейрогормональной регуляции полового цикла у рыб и биотехника гормональных воздействий в рыбоводстве применительно к растительноядным рыбам.— В кн.: Материалы VII сессии смешанной комиссии по применению соглашения о рыболовстве в водах Дуная. Киев, 1966, с. 88—98.
- Киршенблат Я. Д. Физиологический механизм регуляции процессов созревания ооцитов и овуляции у выюна *Misgurnus fossilis* L.— «Вопросы ихтиологии», 1961, т. I, вып. 1 (18), с. 166—193.
- Лебедева Н. Е., Бурлаков А. Б. Изоферменты некоторых дегидрогеназ кожи, мышц и плазмы крови рыб.— В кн.: Электрофорез в полиакриламидном геле и его применение в биологии, сельском хозяйстве, медицине и пищевой промышленности. М., 1971, с. 181—183.
- Лебедева Н. Е., Бурлаков А. Б. Биохимические изменения в организме балтийского лосося в период смолтификации.— В кн.: Энергетические аспекты роста и обмена водных животных. Киев, 1972, с. 131.
- О возможности применения хориогонина для стимуляции созревания судака.— В кн.: Современное состояние метода гипофизарных инъекций. Астрахань, 1969, с. 24—33. Авт.: И. А. Баранникова, А. А. Боев, П. Е. Гарлов, И. И. Саенко.

- Саламенкова Е. А. Генетика изоферментов рыб. — «Успехи современной биологии», 1973, т. 75, вып. 2, с. 217—235.
- Юдаев Н. А., Протасова Т. Н. Молекулярные механизмы гормонального контроля у животных. — «Журнал Всесоюзного химического общества им. Д. И. Менделеева», 1973, т. 18, № 2, с. 160—173.
- Anonime Report for 1960—1961 Tropical Fish Culture Research Institute, Malacca. 1961, 15—16.
- Bailey W. M., Boyd R. L. Preliminary report on spawning and rearing of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) in Arkansas. «Proc. 24 th Annu. Conf. Southeast. Assoc. Game and Fish Commis., Atlanta, Ga, 1970», S. 1, 1971, 360—569.
- Kennedy J. G. The relationship of the Activity of Gonadotropins to their Structures. «Endocrin. Exp.» 1973, 7, N 1, 5—17.
- Kurouma K. New systems and new fishes for culture in the Far East. «FAO Fish Rep». 1968, (44), v. 5.
- Лю-Юань-кай, Сюй Гу-Синь, Е. Шэн Чжун. Стимуляция овуляции и созревания ооцитов *Ctenopharyngodon idellus* хорионическим гонадотропином человека. Шуйчань сюэбао, Ssuichan хуэбао. 1966, 3, N 1, 26—40.
- Mester R., Scripcarin D., Niculescu S. Effect of temperature on the isoenzymic pattern of loach (*Misgurnus fossilis* L.). I Glucose-6-phosphate dehydrogenase, lactate dehydrogenase, NAD- and NaDP-isocitrate dehydrogenase. «Rev. roum. biol. Ser. Zool.», 1972, 17, 3, 205—217.
- Mester R., Scripcarin D., Niculescu S. Effect of temperature on the isoenzymic pattern of pond loach (*Misgurnus fossilis* L.). II Malate dehydrogenase and succinate dehydrogenase. «Rev.» roum. biol. Ser. Zool. 1973, 18, 2, 153—161.
- Morgan F. J., Birken S., Canfield R. E. Comparison of chorionic gonadotropin and luteinizing hormone: a note on a proposed significant structural difference in the beta subunit. «FEBS Lett, 1973, 31, 1, 101—103.
- Ramaswami L. S., Lakshman A. B. Spawning catfish with mammalian hormones. «Nature». 1958, 182, 122—128.
- Ramaswami L. S., Sundararaj B. J. Induced spawning in catfish *Heteropneustes* with mammalian chorionic gonadotropins. «Acta anat. 1957, 32, 230—239.
- Riecher L. E., Lawson J. M. Molecular weight relationships among the subunits of human glycoprotein hormones. «Endocrinology» 1973, 92, 4, 1034—1042.
- Stevens R. E. Hormone-induced spawning of striped bass for reservoir stocking «Progress Fish. Culturist» 1966, 28, 1, 19—28.
- Sundararaj B. J., Goswami S. V. Effect mammalian hypophysial hormones, placental gonadotropins, gonadal hormones and adrenal corticosteroids on ovulation an spawning in hypophysectomized catfish *Heteropneustes fossilis* (Bloch.) J. Exp. Zool. 1966, 166, 2, 287—295.
- Tang Jun-An Progress in the hormone spawning of pondfishes in Taiwan «Indo-Pacif. Fish Council. Proc. 11-th Sess. Kuala Lumpur, 1964», Sec. 2, Bangkok, 1966, 122—127.
- Wilkins N. P. Biochemical and Serological studies on Atlantical Salmon (*Salmo salar* L.). «Intern. Coun. Explor. Sea, C. M., Spec. meet. «The biochemical and serological identification of fish stocks», 1969, 11, 44.
- Wu Hsien-Wen, Chung Zing. Progress and achievements in the artificial propagation of four farm fishes in China. Contributions at the 1964 Peking Symposium. 1964, 203—218.

The biological principles and practice for hormone chorionic gonadotropin in the breeding of pond's Cyprinidae fishes

B. V. Verigin, A. P. Makeeva, A. B. Burlakov, N. E. Lebedeva

SUMMARY

There are shown possibilities and normatives of hormone chorionic gonadotropin (HCG) application for stimulation of ovulation and spermatogenesis in *Hypophthalmichthys molitrix* (Val.) and *Aristichthys nobilis* (Rich.). Application HCG in *Cyprinus carpio* L. and *Ctenopharyngodon idella* (Val.) didn't have positive results. The research of spectra of isoenzymes of lactate-, alcohol-, malate dehydrogenase and non-specific esterases in four tissues have demonstrated considerable alteration under action of hormonal injection. In *Hypophthalmichthys molitrix* (Val.) there alteration were likely after HCG and pituitary injection, while in *Cyprinus carpio* L. alteration of spectra of isoenzymes under action HCG have differed from the some under pituitary injection. There are resulted detailed fishbreeding-biological characteristics of eggs and sperm after HCG and pituitary injection.

There are done a conclusion about necessary to decide the question about production HCG for fish-breeding purpose and prospects of analysis spectra of isoenzymes in various tissues, as one of the method in estimation of action hormonal preperates.