

Г. М. ПЕРСОВ

**ЗНАЧЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА СПЕРМИЕВ
В ПРОЦЕССЕ ОПЛОДОТВОРЕНИЯ У РЫБ**

(Представлено академиком Е. Н. Павловским 11 IX 1951)

Известно (3), какое огромное количество сперматозоидов вводится в половые пути самок домашних животных. Методика смешения спермы кролика со спермой домашних животных (4) помогает нам понять, зачем необходимы такие большие количества спермиев.

Как это хорошо установлено для кролика, процесс оплодотворения подразделяется на три этапа, каждый из которых характеризуется нарастающей степенью избирательности. Первый из них (распад лучистого венца на отдельные клетки) требует ферментативной обработки яиц гиалуронидазой, которая содержится в спермиях и сейчас уже выделена из семени многих животных.

Прямым наблюдением процесса оплодотворения у кролика (метод висячей капли) также установлено, что в плазму яйца проникает несколько спермиев. Этот же факт подтвержден (1) на яйцевых клетках белой мыши.

Таким образом, в литературе накапливается все больше и больше данных для более полного понимания процесса оплодотворения у млекопитающих, в частности, для объяснения факта участия больших количеств спермиев в этом процессе.

Такого рода работ на рыбах мы в литературе не обнаружили. Между тем, можно ожидать, что особенности их биологии (наружное оплодотворение) влекут за собой глубокие отличия от наземных позвоночных в отношении интимной связи между яйцеклетками и спермиями в процессе образования зиготы.

Эти же особенности в биологии размножения рыб создают большие возможности для экспериментальных исследований (одновременная постановка большого числа вариантов опытов и полный контроль над эмбриогенезом).

В настоящей работе была сделана попытка приблизиться к пониманию процесса оплодотворения у рыб.

Объектом работ служил вьюн. В течение января — марта 1951 г. от него методом гипофизарной инъекции добывалась икра (5), которая затем оплодотворялась спермиями, получавшимися путем раздавливания кусочков гонад (этот способ был использован потому, что у вьюна одновременно выделяется крайне незначительное количество спермы).

В наших опытах дозировка спермиев определялась миллиграммами кусочков ткани семенника. Удалось вычислить, что в кусочке ткани весом в 14 мг содержится около 1,5 мм³ жидкости со спермиями. Нами также было вычислено (на 12 самцах), что у вьюна в 1 мм³ спермы, получен-

ной путем раздавливания гонад, имеется в среднем 9,5 млн. спермиев* (подсчеты велись гемацитометром со счетной камерой Горяева).

Понятно, что абсолютное значение приводимых количеств спермиев весьма приблизительно, но, как способ получения сравнительных данных, такая методика определения числа спермиев вполне приемлема.

Всего было поставлено 20 опытов, для которых были использованы 20 самцов и 10 самок, давших для опытных целей около 22 тыс. икринок.

Таблица 1

Зависимость числа выклюнувшихся личинок от числа спермиев в процессе оплодотворения

| № вариантов | № самки | Порядк. № порции икры | Число икринок | № самца | Число спермиев в млн. | Т-ра оплодотворения в ° | Т-ра инкубации в ° | Получено личинок в % |
|-------------|---------|-----------------------|---------------|---------|-----------------------|-------------------------|--------------------|----------------------|
| 1 | 32 | 1 | 230 | 29 | 14 | 6 | 16 | 12,9 |
| 2 | 32 | 2 | 245 | 29 | 42 | 6 | 16 | 73,5 |
| 3 | 35 | 1 | 512 | 33 | 14 | 6 | 16 | 2,8 |
| 4 | 35 | 2 | 448 | 33 | 42 | 6 | 16 | 51,1 |
| 5 | 35 | 3 | 330 | 35 | 14 | 16 | 16 | 81,0 |
| 6 | 35 | 4 | 325 | 35 | 42 | 16 | 16 | 78,2 |
| 7 | 35 | 5 | 341 | 35 | 112 | 16 | 16 | 71,8 |
| 8 | 35 | 6 | 461 | 35 | 14 | 6 | 16 | 12,2 |
| 9 | 35 | 7 | 335 | 35 | 42 | 6 | 16 | 40,4 |
| 10 | 35 | 8 | 345 | 35 | 112 | 6 | 16 | 50,8 |
| 11 | 35 | 9 | 346 | 36 | 14 | 16 | 16 | 75,5 |
| 12 | 35 | 10 | 407 | 36 | 168 | 16 | 16 | 78,7 |
| 13 | 35 | 11 | 380 | 36 | 14 | 6 | 7—14 | 19,2 |
| 14 | 35 | 12 | 417 | 36 | 210 | 6 | 7—14 | 47,5 |
| 15 | 35 | 13 | 428 | 37 | 14 | 6 | 7—14 | 11,2 |
| 16 | 35 | 14 | 454 | 37 | 308 | 6 | 7—14 | 22,2 |
| 17 | 35 | 15 | 303 | 38 | 14 | 6 | 7—14 | 2,6 |
| 18 | 35 | 16 | 317 | 38 | 308 | 6 | 7—14 | 40,0 |
| 19 | 42 | 1 | 264 | 49 | 14 | 6 | 16 | 2,7 |
| 20 | 42 | 2 | 277 | 49 | 140 | 6 | 16 | 62,5 |
| 21 | 42 | 3 | 319 | 49 | 14 | 25 | 16 | 29,2 |
| 22 | 42 | 4 | 236 | 49 | 140 | 25 | 16 | 75,8 |
| 23 | 42 | 5 | 130 | 50 | 14 | 16 | 16 | 82,4 |
| 24 | 42 | 6 | 175 | 50 | 140 | 16 | 16 | 92,0 |

Данные табл. 1 демонстрируют прямую зависимость эффекта оплодотворения от количества спермиев. Как видно из показателей, во всех вариантах, где оплодотворение проходило при 6° и, в одном случае, при 25°, увеличенное число спермиев давало многократное (например, в вариантах 3—4, 17—18, 19—20 более чем в 15 раз) увеличение количества выклюнувшихся личинок. Отсутствие такого же эффекта в условиях, когда оплодотворение проходило при 16°, очевидно, объясняется достаточным при этой температуре числом спермиев уже в исходной, минимальной в опыте (14 млн.) дозировке. Это соображение подтверждается тем, что увеличение числа спермиев сверх определенной дозы при 6°, как это видно при сравнении вариантов 8, 9 и 10, также не повышает существенно процента выклева.

Таким образом, судя по показателям табл. 1, можно полагать, что при снижении температуры оплодотворения с 16 до 6° для нормального хода процесса оплодотворения у вьюна требуется, по крайней мере, трехкратное увеличение числа спермиев.

* В 1 мм³ спермы, взятой у текучего самца, содержится меньше спермиев (около 3 млн.), но активность их выше.

На вопрос, в чем же заключается значение повышенных количеств спермиев в процессе оплодотворения, как нам кажется, отвечают результаты опыта, представленные в табл. 2. В этом опыте предполагалось выяснить, почему при оптимальных температурах увеличение числа спермиев не приводит к повышению количества личинок.

Исходя из предположения, что применявшиеся нами минимальные дозировки спермиев сами по себе уже были достаточными для оплодотворения, в этом опыте дозировки спермиев брались в 10 и 100 раз меньше обычных.

Таблица 2

Зависимость выживания зародышей от числа спермиев в процессе оплодотворения

| № варианта | № самки | Порядк. № порции икры | Число икринок | № самца | Число спермиев в млн. | Т-ра оплодотворения в ° | Т-ра инкубации в ° | % оплодотворения* | Получено личинок в % |
|------------|---------|-----------------------|---------------|---------|-----------------------|-------------------------|--------------------|-------------------|----------------------|
| 1 | 47 | 1 | 133 | 58 | 0,14 | 6 | 17 | 52,6 | 0 |
| 2 | 47 | 2 | 165 | 58 | 1,4 | 6 | 17 | 61,8 | 0 |
| 3 | 47 | 3 | 193 | 58 | 14 | 6 | 17 | 55,4 | 18,6 |
| 4 | 47 | 4 | 229 | 58 | 0,14 | 25 | 17 | 56,3 | 0 |
| 5 | 47 | 5 | 204 | 58 | 1,4 | 25 | 17 | 56,8 | 0 |
| 6 | 47 | 6 | 211 | 58 | 14 | 25 | 17 | 63,9 | 0 |
| 7 | 47 | 7 | 150 | 58 | 0,14 | 17 | 17 | 63,0 | 0 |
| 8 | 47 | 8 | 171 | 58 | 1,4 | 17 | 17 | 67,4 | 7,0 |
| 9 | 47 | 9 | 184 | 58 | 14 | 17 | 17 | 65,4 | 23,3 |
| 10 | 48 | 9 | 148 | 60 | 0,14 | 6 | 17 | 54,0 | 0 |
| 11 | 48 | 10 | 161 | 60 | 1,4 | 6 | 17 | 59,6 | 0 |
| 12 | 48 | 11 | 154 | 60 | 14 | 6 | 17 | 51,3 | 0 |

* Процент икринок, оплодотворившихся и дошедших в своем развитии до формирования эмбриона.

Правильность нашего предположения подтвердилась результатами опыта. Как видно из данных табл. 2, при 17 и 6° удалось отдифференцировать минимальные дозировки спермиев, обеспечивающие оплодотворение и развитие зародыша. При 25° во всех трех вариантах (4—6) развитие доходило только до формирования зародыша. Очевидно, в этом случае самая большая дозировка (14 млн.) была все же ниже пороговой, необходимой для завершения эмбриогенеза.

Сравнение показателей числа икринок, дошедших в своем развитии до формирования эмбрионов, и числа закончивших эмбриональное развитие (последние две колонки табл. 2) дает фактический материал к характеристике вопроса о значении числа спермиев для эмбриогенеза у рыб.

При увеличении числа спермиев, например, в 10 раз (вариант 2) развитие дошло только до конца гастрюляции, а затем зародыши погибли; при дальнейшем увеличении числа спермиев (вариант 3) имело место нормальное развитие зародыша, и были получены личинки. Характерно, что при оптимальных температурах оплодотворение и развитие зародыша обеспечивалось значительно меньшим количеством спермиев, чем при температурах, отклоняющихся от нерестных.

Данные табл. 2 интересны также в практическом отношении. Возможно, что описанное в литературе (2) партеногенетическое развитие икры себрюги, являющееся, по мнению авторов, одной из причин ее гибели, объясняется недостаточным количеством спермиев, участвовав-

ших в процессе оплодотворения. Дозировка спермиев в процессе оплодотворения может явиться одним из факторов управления этим процессом, который необходимо использовать для повышения эффективности рыборазведения.

Биологический институт
Ленинградского государственного университета
им. А. А. Жданова

Поступило
7 IX 1951

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ Д. И. Генин, ДАН, 75, № 6 (1950). ² Т. А. Детлаф и А. С. Гинзбург, ДАН, 76, № 6 (1951). ³ В. К. Милованов, Искусственное осеменение сельскохозяйственных животных, 5-е перераб. изд., 1940. ⁴ И. И. Сокольская, Журн. общ. биол., 11, № 3 (1950). ⁵ О. Б. Чернышев, ДАН, 33, № 2 (1941).