

Б. Н. КАЗАНСКИЙ

О СОЗРЕВАНИИ И ОПЛОДОТВОРЕНИИ ЯЙЦА ОСЕТРА

(Представлено академиком Е. Н. Павловским 5 II 1953)

Завершающий этап овогенеза, связанный с превращением овоцита в яйцо, и подготовкой его к оплодотворению у осетровых (как и у других рыб) изучен очень мало. В литературе имеются убедительные данные о постепенном исчезновении ядра, как морфологически обособленной структуры в овоцитах рыб при переходе самки из IV в V стадию зрелости, в период непосредственно предшествующий икротетанию (1, 4, 6). Биологическое значение этих изменений связывалось авторами с подготовкой овоцитов к делениям созревания. Однако до последнего времени не было получено объективных данных в подтверждение этого предположения.

Вообще вопрос о том, когда у рыб происходят деления созревания, до сих пор не решен. В отношении же осетровых имеются указания В. В. Заленского о том, что выделение одного из редукционных телец у стерляди происходит, очевидно, после вымета, но перед оплодотворением. Наблюдая яйца стерляди через 15 и более минут после осеменения, автор отмечает, что зародышевый пузырек в это время отсутствует (3). О. Б. Лепешинская, исследуя яйца севрюги через 33, 38 и более минут после осеменения, также не обнаружила в этот период морфологически обособленного ядра. Более того, она указывает, что «на очень тонких срезах (5 μ) яиц севрюги, взятых через 33 мин. после осеменения, в анимальной части яйца нельзя было обнаружить никаких хромосом или даже скоплений хроматина» ...«вне всякого сомнения за этим процессом должен последовать и другой процесс, а именно: появление снова ядра — так называемого «женского пронуклеуса» (7).

Объектом нашего исследования явились самки куринового осетра (*Acipenser güldenstädti persicus* Borodin) ранней яровой биологической группы (2). Икра получалась с применением методики гипофизарной инъекции. Материал фиксировался смесью Буэна. Брались кусочки яичника так называемой IV стадии зрелости и в разные моменты завершения созревания самки (несколько часов до овуляции и вплоть до момента ее завершения), а также икра перед осеменением и через 5, 10 и 15 мин. после осеменения. Заливка материала производилась в парафин через ксилол при быстрой проводке через спирты возрастающей крепости. Удобно перед проводкой через спирты отрезать и обрабатывать только часть икринки с анимальным полюсом. Все это облегчает изготовление срезов богатых желтком овоцитов осетровых. Применялась окраска железным гематоксилином и азан по Гейденгайну.

В овоцитах старшей генерации, достигших окончательных размеров (яичник так называемой IV стадии зрелости), крупное ядро более 100 μ в диаметре округлой формы расположено в зоне мелкозернистого желтка на анимальном полюсе в непосредственной близости от микропиле. У овоцитов осетра, очевидно, более 10 микропиле, так как в один десятимикронный срез их попадает иногда до четырех. Они образуют компактную группу на анимальном полюсе (см. рис. 1). В этом месте оболочки овоцита значительно утончены (главным образом за счет утончения наружной студенистой оболочки), так что их общая толщина вдвое мень-

ше, чем на вегетативном полюсе. Наличие многих микропиле, очевидно, связано с особенностями оплодотворения осетровых.

К моменту овуляции и непосредственно перед ее завершением (т. е. гораздо раньше, чем это указывается в работах Заленского для стерляди и О. Б. Лепешинской для севрюги) ядро в овоцитах как морфологически обособленная структура исчезает, карิโอплазма смешивается с плазмой

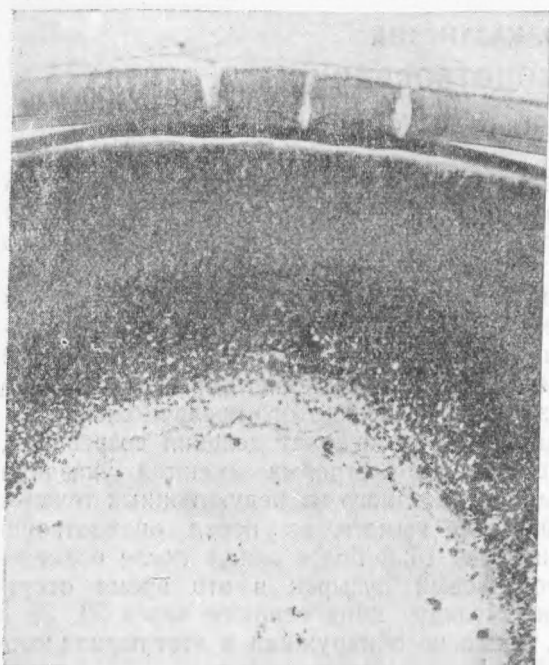


Рис. 1. Срез овоцита осетра из яичника так называемой IV стадии зрелости (перед началом овуляции). Видны три микропиле, мелкозернистый желток анимального полюса, крупное ядро с ядрышками. Буэн, азан, об. 40 ×, ок. 7 ×; микрофотография

овоцита. Участки карิโอплазмы хорошо различимы на препаратах. Этот процесс осуществляется постепенно по мере приближения к овуляции. Ядерные процессы происходят не вполне синхронно во всех овоцитах, но при нормальном их завершении в условиях оптимальных нерестовых температур оволируют овоциты — как правило уже «без ядер».

Интересно отметить, что в ядрах овоцитов перед овуляцией путем обычных гистологических методик не удается обнаружить никаких структур, чем-либо напоминающих обычное интеркинетическое состояние ядра, кроме постенно, либо, позже, центрально расположенных ядрышек. Ядрышки в ядрах таких овоцитов хорошо видны при жизни; непосредственно перед овуляцией они исчезают. Таким образом предовуляционное ядро является оптически пустым даже при применении обычных ядерных фиксатов,

которые способствуют их структуризации (5, 8).

При микроскопировании серийных срезов овоцитов осетра после овуляции нам пока не удалось обнаружить в них каких-либо ядерных структур. Однако уже через 10—15 мин. после осеменения в икринке удается обнаружить картины деления созревания — безусловно второго, так как в других икринках из этой же фиксации удается обнаружить уже выделившееся к этому моменту редукционное тельце (очевидно, первое). Редукционное тельце лежит на поверхности плазмы овоцита, под его оболочкой, в непосредственной близости к микропиле. Оно овальной формы, размером $22 \times 10 \mu$. В его центральной части хорошо видно сжатое ядро, в котором различимы очень мелкие образования, напоминающие компактно лежащие хромосомы. Плазма редукционного тельца бесструктурна и бесцветна при окраске азан, пикнотическое ядро хорошо воспринимает азокармин. К поверхности плазмы редукционного тельца пристают частицы пигмента, в значительном количестве находящегося на анимальном полюсе в периферическом слое плазмы овоцита. Наружно лежащий на редукционном тельце пигмент дает право предполагать, что оно при выходе наружу из плазмы овоцита по пути, проходя зону пигмента, захватило с собой его частицы. Очевидно, первое редукционное деление происходит в некотором отдалении от оболочки анимального по-

люса (см. рис. 2). К этому же моменту, как уже указывалось выше, приурочено и второе деление созревания. К сожалению, нам не удалось еще в серийных срезах одной и той же икринки обнаружить и первое редукционное тельце и картину второго деления созревания. Изготовление хороших серийных срезов крупных, богатых желтком, икринок осетра затруднительно. Не менее сложно обнаружить в массе мелкозернистого желтка анимального полюса четкие картины деления созревания.



Рис. 2. Срез икринки осетра через 10—15 мин. после осеменения. В образующемся перивителлином пространстве под оболочкой на поверхности плазмы анимального полюса вблизи микропиле лежит I редукционное тельце (первое деление созревания произошло при завершении овуляции). Буэн, азан, апохромат, об. 30 ×, ок. 7 ×; микрофотография

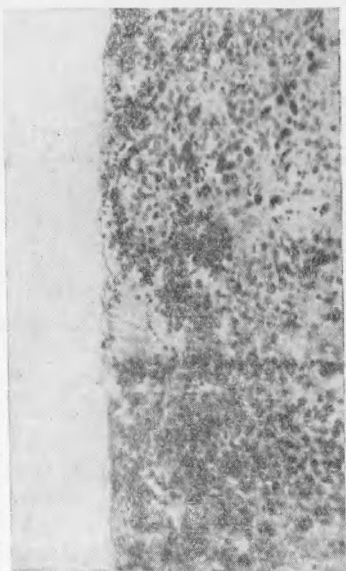


Рис. 3. Срез икринки осетра от той же самки, что и икринка рис. 2, через 10—15 мин. после осеменения. Второе деление созревания в поверхностном слое желтка анимального полюса вблизи микропиле (ранняя анафаза). Обработка и увеличение те же, что на рис. 2

Ранняя анафаза деления созревания была нами обнаружена в другой икринке из той же фиксации. Деление созревания происходит в самом наружном слое плазмы анимального полюса овоцита, в зоне пигмента. Зернышки пигмента, очерчивающие светлый участок плазмы, в котором происходит деление, хорошо выделяют его. Отчетливо видны «нити» веретена и очень мелкие яркокрасные (при окраске азан), округлые хромосомы, рассыпанные в центральной его части. Зернышки желтка анимального полюса, как правило, крупнее хромосом и окрашиваются несколько иначе, очевидно, более интенсивно воспринимают оранжевый и имеют поэтому желтоватый оттенок (рис. 3).

Наличие очень мелких округлых хромосом и наличие к этому моменту в других икринках из той же фиксации уже выделившегося редукционного тельца дает основание утверждать, что это второе деление созревания, тем более, что к этому моменту уже произошло проникновение спермия и образовался мужской пронуклеус. Он был обнаружен нами в ближайших срезах той же икринки в виде маленького (6 μ в диаметре) округлого ядра, лежащего вблизи микропиле под зоной пигмента, недалеко от места нахождения описанного выше второго деления созревания (см. рис. 4). Почти в каждом из микропиле в этот момент находится по несколько спермиев.

Начавшееся набухание икринки и образующееся перивителлиное пространство, очевидно, уже препятствуют проникновению спермиев в икринку. На серийных срезах нам удавалось обнаружить только один



Рис. 4. Та же икринка, что на рис. 3. Спермий в ходе микропиле значительное перивителлиное пространство, округлый мужской пронуклеус в поверхностном слое плазмы животного полюса вблизи микропиле. Обработка и увеличение те же, что на рис. 2 и 3

мужской пронуклеус в икринке. Спермии внедряются преимущественно через микропиле и лишь в редких случаях, и только в зоне животного полюса, непосредственно в студенистую оболочку. В этих случаях спермии проходят сквозь студенистую оболочку вплоть до поверхности лежащей под ней, радиальной исчерченной оболочки, и далее не проникают.

Таким образом, у осетра первое деление созревания происходит либо непосредственно при завершении овуляции, либо немного позже, когда овоциты находятся в овариальной жидкости, заполняющей в это время полость тела. Второе деление созревания происходит уже после икротетания, в воде, после проникновения спермиев, через 10—15 минут после осеменения (при температуре 15—16°). Собственно оплодотворение (слияние пронуклеусов) происходит несколько позже, очевидно, уже перед началом дробления. К этому моменту, веро-

ятно, выделяется и второе редукционное тельце. Известно, что переход от второго деления созревания к дроблению происходит без интерфазы. Первая борозда дробления при указанной температуре появляется обычно через 120 мин. после осеменения.

Естественно, что О. Б. Лепешинская, исследуя оплодотворенные яйца осетровых через 33 и более мин. после осеменения, не могла наблюдать первое и второе деления созревания.

При рыбоводном процессе особое внимание надо уделять созданию благоприятных условий для нормального завершения овуляции в период подготовки овоцитов к оплодотворению и во время самого процесса оплодотворения. От нормального завершения этих процессов в значительной степени зависит характер эмбрионального развития и судьба будущего потомства.

Ленинградский государственный университет
им. А. А. Жданова

Поступило
24 I 1953

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Н. П. Вотинков, Тр. лаб. основ рыбоводства, 1, 1947. ² Н. Л. Гербильский, ДАН, 71, № 4 (1950). ³ В. В. Заленский, Тр. Об-ва естествоиспыт. при Казанском ун-те, 7, в. 3 (1878). ⁴ Б. Н. Казанский, ДАН, 75, № 2 (1950). ⁵ В. П. Карпов, Начальный курс гистологии, М., 1928, стр. 56—57. ⁶ И. И. Лапидский, Тр. лаб. основ рыбоводства, 2 (1949). ⁷ О. Б. Лепешинская, Развитие жизненных процессов в доклеточном периоде, изд. АН СССР, 1952, стр. 101, 103, 104. ⁸ П. В. Макаров, Арх. анат., гист. и эмбриол., 29, в. 1 (1952).