

ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

Б. Н. КАЗАНСКИЙ

**ЯДЕРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОВОЦИТАХ ОСЕТРА ПРИ ПЕРЕХОДЕ
ОРГАНИЗМА В НЕРЕСТНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОСЛЕ
ГИПОФИЗАРНОЙ ИНЪЕКЦИИ**

(Представлено академиком Е. Н. Павловским 27 VI 1954)

В настоящее время метод гипофизарных инъекций широко апробирован и принят в осетроводстве. Он является пока единственным методом, позволяющим получать в рыбоводных целях зрелые половые продукты от производителей осетровых в низовьях рек (¹⁻³).

Сочетание гипофизарных инъекций с предварительным выдерживанием и резервированием производителей в специальных земляных садках дало возможность освоить в рыбоводном отношении представителей различных внутривидовых биологических групп осетровых в низовьях рек — ранних яровых, поздних яровых и озимых (⁴⁻⁶). Таким образом, значительно повысилась эффективность осетроводства в низовьях рек.

Рядом предшествующих исследований было установлено, что после введения в организм рыбы определенных доз порошка из ацетонированных и высушенных гипофизов, содержащих гонадотропный гормон, в течение 20—40 час. (в зависимости от температуры) в гонадах самки согласованно протекают два процесса: а) ядерные превращения в овоцитах, связанные с делениями созревания, превращением овоцита I порядка в яйцо и подготовкой его к оплодотворению, и б) выход овоцитов старшей генерации из фолликулов в полость тела — овуляция (⁷⁻¹⁰). Однако до последнего времени детально были исследованы только начальный и конечный этапы этого завершающего периода овогенеза, судьба же зародышевого пузырька при переходе к делениям созревания в предыдущих работах не была прослежена.

В настоящей работе сообщаются результаты цитологического исследования ядерных изменений в овоцитах у осетра из р. Куры (*Acipenser güldenstädti persicus* Borodin) с момента гипофизарной инъекции (IV стадия зрелости) и до завершения овуляции (V стадия зрелости).

Материал собирался весной и осенью 1953 г. от самок раннего ярового осетра (май) и ярового осетра осеннего хода (сентябрь), т. е. в периоды весеннего и осеннего туров осетроводных работ в низовьях Куры (^{5, 6}).

Одновременно с гипофизарной инъекцией при помощи металлического щупа у подопытной самки бралась проба овоцитов. Затем такие пробы овоцитов брались от той же самки через каждые 5 час. по ходу ее созревания после гипофизарной инъекции, вплоть до завершения овуляции и далее, более часто, после осеменения. Материал фиксировался жидкостью Буэна и Карнуа и ускоренно заливался в парафин. Из каждого овоцита приготавливались серийные срезы толщиной 10 μ , которые окрашивались железным гематоксилином и азаном по Гейденгайну. Исследовано по 5—10 овоцитов из каждой фиксации. Таким образом были собраны две серии фиксаций от двух самок, качество икры которых было весьма высоким, что свидетельствует о нормальности прошедшего процесса созревания (табл. 1).

Созревание и качество икры подопытных самок осетра

№ самки	Биологич. группа	Созревание самки						Развитие икры					
		дата инъекции	доза ацетониров. гипофиза в мг	срок созревания	т-ра при созревании в °С	колич. икры в кг	число икринок в 1 г	% икринок с правильным дробл. на 8 бл.	% оплодотв. икринок	% развивающихся эмбрионов			дата выклевыв. личинок
										гастрюла	нейрула	подвижный эмбрион перед выклевом	
I	Ранняя яровая	2 V 1953	70	22 ч. 30 м.	17,3—18	3,5	52	80,6	96,8	94,5	93,5	76,3	8—9 V
II	Яровая осеннего хода	30 IX 1953	70	23 ч.	20,8—19,2	4,9	32,5	90,0	96,2	91,7	84,5	83,2	5—6 X

В овоцитах старшей генерации из яичника IV стадии зрелости (исходное состояние у самок I и II, табл. 1) крупное пузырчатое ядро (719 μ в диаметре) расположено в зоне мелкозернистого желтка анимального полюса вблизи группы микропиле. Кариоплазма тонко коагулирует и имеет в препаратах мелкогранулированное строение. Ядрышек уже нет, базальный край ядра заметно структурирован (см. рис. 1).

Через 9 ч. 30 мин. после введения препарата гипофиза ядро овоцита сильно видоизменяется. За счет крупного пузырчатого ядра (исходное состояние) сформировалось «ядро созревания», приблизительно в 300 раз меньшее в объеме, лежащее вблизи оболочки у микропиле. Резкое уменьшение ядра произошло путем выхода из него большей части кариоплазмы и распределения ее среди желтка анимального полюса. Границы ядра созревания четко очерчены и неясны лишь в районе выступа, представляющего, очевидно, то место, через которое происходил выход кариоплазмы. Кариоплазма нового ядра обнаруживает после фиксации тонкопенистое состояние. Четких структур, напоминающих хромосомы, обнаружить еще не удается (см. рис. 2).

Более детально ступени этого процесса удалось исследовать у другой самки, фиксация материала от которой производилась более часто. Уже через 5 час. после инъекции структуризация базального края ядра усиливается и к этому его краю примыкает участок плазмы, лишенный желточных включений. Далее, параллельно с уменьшением объема ядра и усилением структуризации его базального края увеличивается количество свободной от желтка плазмы вблизи базальной его части. Эта субстанция очень слабо и неравномерно чернится гематоксилиновым лаком, а при азановой методике окрашивается в фиолетовый или синий цвет. Получается впечатление, что содержимое ядра как бы постепенно выфильтровывается через структуризованную базальную часть его поверхности (см. рис. 3). В результате этого через 9—12 час. после инъекции (т. е. на полпути до завершения овуляции) образуется уже описанное выше ядро созревания (рис. 2).

Фиолетовые или голубые при азановой методике островки кариоплазмы, распыленной на анимальном полюсе, в дальнейшем оказываются перемещенными к оболочке, что, вероятно, и может быть отождествлено с так называемой секрецией яиц рыб^(11, 12). В дальнейшем в этом видоизмененном ядре («ядре созревания»), потерявшем большую массу кариоплазмы или какую-то ее фракцию, формируются хромосомы и оно переходит в профазу первого деления созревания. Профаза первого деления созревания обнаружена нами в фиксациях от обеих самок через 10 час. после инъекции. Через 15 час. после инъекции обнаружены чет-



Рис. 1. Срез овоцита старшей генерации из яичника IV стадии зрелости осетра (исходное состояние в момент гипофизарной инъекции). Крупное пузырчатое ядро 719μ в диаметре. Об. апохр. $10 \times$, ок. $7 \times$



Рис. 2. Срез подобного же овоцита той же самки через 9 час. после гипофизарной инъекции. Образовалось «ядро созревания» 104μ в диаметре. Об. апохр. $10 \times$, ок. $7 \times$

кие картины метафазы первого деления созревания (см. рис. 4, а). За 1½ часа завершения овуляции и в момент ее завершения обнаруживается уже метафаза второго деления созревания и лежащее вблизи I редукционное тельце (рис. 4, б).

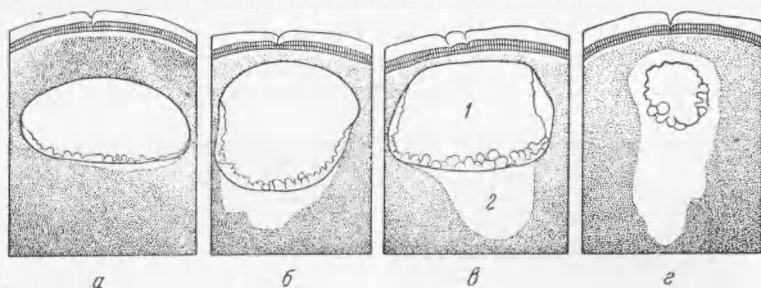


Рис. 3. Схема "последовательных фаз «выфильтровывания» карิโอплазмы (2) из зародышевого пузырька (1) и образования «ядра созревания» в течение первых 9 час. после гипофизарной инъекции. а — исходное состояние; б, в, г — через 5—9 час. после гипофизарной инъекции

Как первое, так и второе деления созревания происходят у самого края плазмы анимального полюса вблизи микропиле. Ось веретена делений проходит перпендикулярно к поверхности овоцита. Фигура первого деления созревания в 1½ раза крупнее фигуры второго деления. Хромосомы овальные; в первом случае они крупнее, чем во втором. Завершение второго деления созревания происходит весьма ускоренно уже после осеменения.

Через 5 мин. после осеменения (самка I, $t = 16-17^\circ$) обнаруживаются ранняя анафаза второго деления созревания и сохранивший еще продолговатую форму спермий, внедрившийся в наружный слой овоплазмы анимального полюса. Через 10 мин. после осеменения спермий видоизменяется в шаровидный компактный мужской пронуклеус (5 μ в диаметре), лежащий в самом поверхностном слое плазмы анимального полюса, а второе деление созревания переходит в позднюю анафазу. Через 15 мин. после осеменения уже выделяется II редукционное тельце и формируются женский и мужской пронуклеусы. Дальнейшее формирование, сближение и слияние пронуклеусов, как это хорошо прослежено на том же объекте в работе Т. И. Фалеевой (¹⁰), происходит в течение первого часа после осеменения.

Таким образом, за счет крупных пузырчатых ядер, характерных для всего периода большого (трофоплазматического) роста овоцитов, при переходе к овуляции (переход рыбы в нерестное состояние) образуются во много раз меньшие в объеме «ядра созревания», в которых формируются хромосомы; овоциты переходят к делениям созревания. Преемственность ядра прослеживается вплоть до образования женского пронуклеуса. Эти данные исправляют ошибку, допущенную О. Б. Лепешинской (¹⁵) в трактовке этого этапа овогенеза у осетровых.

Переход в нерестное состояние в природе происходит под контролем нервной системы при обязательном участии гипофиза, очевидно как трансформатора и пролонгатора нервных импульсов. Таким образом, имея вначале безусловно нервное звено в регуляции этого явления, в общем можно говорить о нервно-гуморальной регуляции перехода к столь специализированному процессу, каким являются первое и второе деления созревания.

Некоторая задержка второго деления созревания на метафазе, вероятно, является весьма относительной и, может быть, даже кажущейся, так как при переходе овоцита из полости тела в водную среду и после

осеменения темп деления ускоряется более чем в 40 раз. При этом может создаться впечатление задержки и быстрого сдвига на метафазе второго деления созревания. Однако это явление может иметь и существенное биологическое значение, как дающее возможность овоцитам после овуляции находиться в полости тела в более или менее однородном состоянии до их выхода в водную среду и встречи со спермиями. При длительной задержке в полости тела после овуляции, как известно, овоциты «перезревают» и теряют способность к оплодотворению (1, 2, 13, 14).

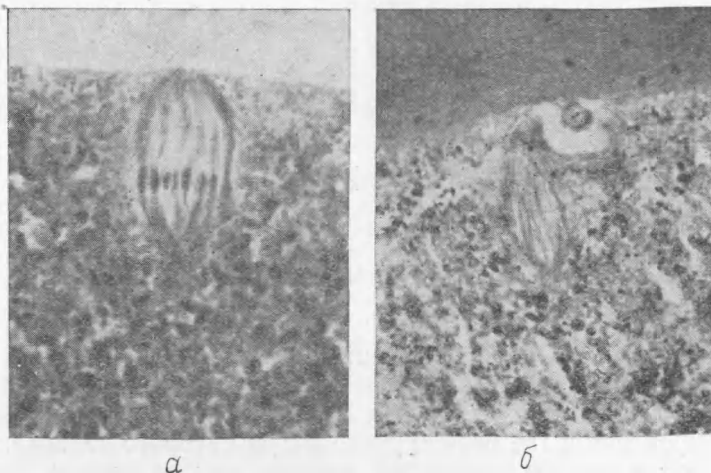


Рис. 4. Деления созревания в овоцитах осетра. *а* — первое деление (метафаза) через 15 час. после гипофизарной инъекции, *б* — второе деление (метафаза) через 20 час. после гипофизарной инъекции (за 1,5 часа до завершения овуляции всей массы икры). Над фигурой деления под оболочкою овоцита лежит 1 редуцированное тельце. Имм. апохр. 90 ×, ок. 7 ×

У самок осетра, принадлежащих к разным биологическим группам (ранняя яровая и поздняя яровая осеннего хода), под воздействием гипофизарной инъекции завершающий этап овогенеза протекает вполне сходно. Нет оснований поэтому сомневаться в возможности использования самок ярового осетра осеннего хода при осеннем туре осетроводных работ на Куре.

Полученные данные расширяют и уточняют наши представления о сфере влияния гонадотропного гормона гипофиза у рыб и о сущности гипофизарной инъекции, столь широко применяющейся в осетроводстве.

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

Поступило
29 IV 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Н. Л. Гербильский, Тр. лаб. основ рыбоводства, 1 (1947); 2 (1949).
- ² Б. Н. Казанский, Рыбн. хоз., № 1 (1951). ³ Н. Л. Гербильский, Вестн. ЛГУ, № 9 (1951). ⁴ Н. Л. Гербильский, ДАН, 71, № 4 (1950); Рыбн. хоз., № 4 (1951). ⁵ Н. Л. Гербильский, И. А. Баранникова, Б. Н. Казанский, Рыбн. хоз., № 9 (1951). ⁶ Б. Н. Казанский, ДАН, 89, № 5 (1953).
- ⁷ В. В. Заленский, Тр. Об-ва естествоисп. при Казанск. ун-в., 7, 3, 1 (1878).
- ⁸ Н. П. Вотинов, Тр. лаб. основ рыбоводства, 1 (1947). ⁹ Б. Н. Казанский, ДАН, 75, № 2 (1950); 83, № 6 (1953); 89, № 4 (1953). ¹⁰ Т. И. Фалеева, ДАН, 91, № 1 (1953).
- ¹¹ С. Г. Крыжановский, Вопр. ихтиол., 1, 37 (1953).
- ¹² А. И. Зотин, Автореферат диссертации, Зоол. инст. и Инст. морфол. животн. АН СССР, 1953. ¹³ Л. М. Нусенбаум, Тр. лаб. основ рыбоводства, 2 (1949).
- ¹⁴ М. Ф. Вернидуб, ДАН, 92, № 5 (1953). ¹⁵ О. Б. Лепешинская, Развитие жизненных процессов в доклеточном периоде, М., 1952, стр. 101—111.