

Г. М. ПЕРСОВ

**О ДЕЛЕНИЯХ СОЗРЕВАНИЯ ЯЙЦЕКЛЕТОК И О НАЧАЛЬНЫХ
ЭТАПАХ ФОРМИРОВАНИЯ МУЖСКОГО ПРОНУКЛЕУСА
У ОСЕТРОВЫХ (СТЕРЛЯДЬ И ОСЕТР)**

(Представлено академиком Е. Н. Павловским 14 V 1954)

Для управления процессом размножения осетровых требуется детальный анализ развития яйцеклеток в предовуляционный и овуляционный периоды. Сложнейшие явления, наблюдаемые в яйцеклетках осетровых в этот период, в настоящее время выясняются с большой детальностью (1, 3, 7). Как это и предполагалось, именно в этот период (2) обнаружены картины первого деления созревания у осетра (3) и севрюги (7). Опубликованы также данные о втором делении созревания, о мужском пронуклеусе, о слиянии мужского и женского пронуклеусов и о первых делениях сегментационного ядра у осетра (3, 7). Дальнейшее накопление подобных фактов на других объектах, уточнение уже имеющихся данных и детальный анализ всех явлений, связанных с ядерными процессами в яйцеклетках, имеют практическое и теоретическое значение.

Объектом настоящего исследования были стерлядь и осетр. Материал собирался на рр. Северной Двине, Капе, Днестре и Куре в 1950—1953 гг. Фиксация неосемененных и осемененных яйцеклеток производилась весной и осенью при разных температурах.

В качестве фиксаторов использовались смеси Буэна, Чиаччио, Гелли, Карнуа и 10% формалин. После очень быстрой проводки через спирты (по 10 мин. в 70, 80, 96° и 30 мин. в 100°) производилась заливка материала в парафин. Срезы приготавливались толщиной 6—10 м. Для окраски срезов использованы железный гематоксилин и азан по Гейденгайну.

Всего обработано около 150 икринок. Из каждой икринки приготавлилось около 200 серийных срезов. Относительно большое количество просмотренных срезов позволило проверить некоторые картины многократно (в неосемененных яйцеклетках обнаружено 3, а в осемененных — 17 случаев делений созревания).

Предшествующие авторы определяли время выделения первого направительного тельца у осетровых по косвенным показателям (3, 7). В настоящем исследовании для осетра и стерляди прямым наблюдением установлено, что выделение первого направительного тельца происходит до осеменения.

У осетра в неосемененной яйцеклетке первое направительное тельце величиной $22 \times 10 \mu$ примыкает к оболочке яйцеклетки и, как видно на рис. 1а, имеет овальную форму. В нем некоторое время сохраняются ядерные структуры. В тельце видны также зерна пигмента, несомненно вынесенные при выделении тельца на поверхность анимального полюса.

В неосемененной яйцеклетке стерляди первое направительное тельце найдено в виде образования более плоской формы ($14 \times 2 \mu$). Очевидно, форма направительных телец не является систематическим признаком, а

зависит от того, как прошел срез, и от времени прошедшего со времени его выделения.

Таким образом, данные настоящего исследования в согласии с известными фактами (³, ⁷) устанавливают, что в яйцеклетках осетровых (стерлядь, осетр и севрюга) ядерные структуры обнаруживаются значительно раньше, чем это было описано ранее (⁵).

При изготовлении гистологических препаратов в нескольких случаях срезы прошли так удачно, что на одном срезе икринки одновременно видны фигура второго деления созревания, правое направительное тельце, а иногда (в двух случаях) также и микропиле. Это позволило выявить некоторые закономерности их взаимного расположения.

При просмотре этой серии препаратов было установлено, что положение первого направительного тельца может свидетельствовать о той или иной фазе второго деления созревания. При метафазе оно находится непосредственно над фигурой деления (рис. 1 б), а при переходе к анафазе первое направительное тельце обнаруживается уже сбоку, на некотором расстоянии от места деления (рис. 1 в, г, д).

Второе направительное тельце в икре осетра найдено в виде плоского образования ($36 \times 4 \mu$), которое примыкает к поверхностной зоне плазмы анимального полюса и лежит вблизи одного из микропиле. Между тельцем и овоплазмой заметна узкая щель (см. рис. 2). Второе направительное тельце лежит в стороне от первого направительного (рис. 1 д).

Считая вполне вероятной зависимость скорости прохождения завершающего периода овогенеза от количества спермиев, использованных при осеменении, мы поставили следующий опыт. Икра одной и той же самки осетра осеменялась различными дозами — из расчета 120 000 и 1 200 000 спермиев на одну икринку. Фиксация производилась через $1\frac{1}{2}$ —2 мин. после осеменения. Температура воды в обоих вариантах была около 21° .

Как показал анализ, икринки при меньших дозировках оказались зафиксированными на стадии метафазы, а при больших дозировках — на стадии перехода к анафазе. Можно отметить также факт некоторой задержки развития яйцеклеток на стадии метафазы в зависимости от температуры. Так, в опыте, где осеменение икры осетра производилось при температуре воды 11° , через 4 мин. после осеменения в икринках обнаружена метафаза второго деления созревания, а при температуре $20,8^\circ$, при дозировках спермиев в 10 раз меньших и при фиксации через вдвое сокращенный срок ($\frac{1}{2}$ —2 мин.) второе деление созревания уже закончилось.

Описанные факты показывают, что скорость прохождения последнего этапа созревания яйцеклеток зависит от условий оплодотворения, причем задержка на стадии метафазы второго деления должна быть признана как важное для вида приспособление, поскольку в естественных условиях возможен разрыв во времени между выделением яйца в воду и его осеменением.

Обработанный материал позволил проанализировать формирование мужского пронуклеуса. Этот процесс прослежен от момента проникновения спермиев через микропиле до формирования пронуклеуса в виде пузырька в поверхностной зоне плазмы анимального полюса.

Через микропилярный ход спермий движется вперед своей конусовидной головкой. В месте его соприкосновения с овоплазмой в ней образуется впячивание, края которого в результате активного перемещения плазмы могут сомкнуться, и сперматозоид таким образом может оказаться «захваченным».

Следовательно, внедрение спермия в овоплазму происходит не только в результате его активного перемещения, но, возможно, и активного его захвата яйцеклеткой.

Набухание спермия начинается после проникновения под оболочку, но еще до его внедрения в овоплазму. Передняя часть головки набухает

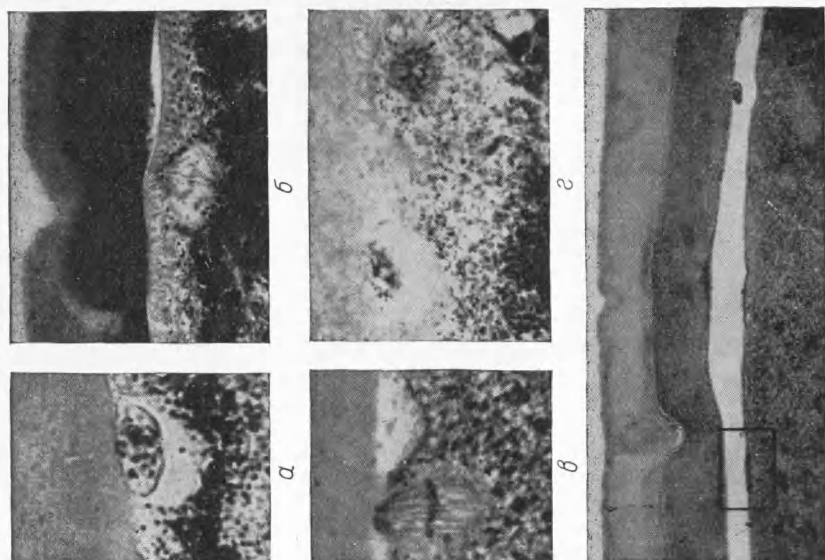


Рис. 1. Второе деление созревания в яйцеклетках осетровых. *а* — первое направительное тельце, *б* — метафаза, *в*, *г* — ранняя анафаза (об. $\times 90$), *д* — сильное уплотненное второе направительное тельце лежит против микрониле. Рядом левее виден спермий, внедряющийся в овоплазму. Правее (у обреза фото) — первое направительное тельце. Об. $\times 20$

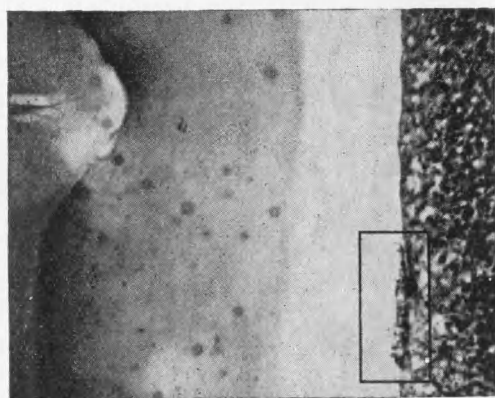


Рис. 2. Второе направительное тельце. Об. $\times 90$

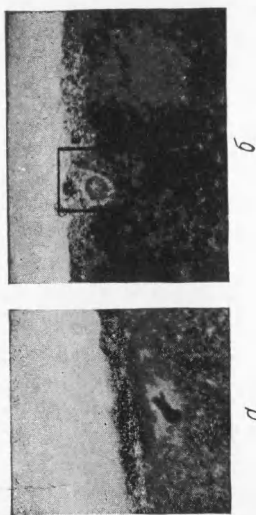


Рис. 3. Формирование мужского пронукулеуса. *а* — набухание спермия осетра, *б* — формирование пронукулеуса стерляди. Об. $\times 90$

Рис.	Время фиксации после осеменения (в мин.)	Т-ра воды в °C
1 б	$4\frac{1}{2}-2\frac{1}{2}$	13,8
1 в	8	13,8
1 г, д, 2, 3 а,	$4\frac{1}{2}-2$	20,8
3 б	$4\frac{1}{2}-5\frac{1}{2}$	13,8

иначе, чем задняя. В результате такого неоднородного набухания в дальнейшем образуется характерная фигура (см. рис. 3 а).

На следующем этапе мужской пронуклеус обнаруживается в виде округлого образования диаметром в 6 μ , в котором при окраске по азан еще не проявляется четкой ядерной структуры. Вокруг мужского пронуклеуса видна зона бесструктурной (в препарате светлой) плазмы. Такого строения пронуклеус обнаружен рядом с фигурой второго деления созревания на стадии ее перехода к анафазе (см. рис. 3 б).

Уже указывалось (⁶), что приводимое в литературе деление процесса оплодотворения у млекопитающих на этапы (⁴) неприменимо к рыбам. Анализируя цитологические и экспериментальные данные настоящего исследования, а также литературные данные (³, ⁷), процесс оплодотворения у осетровых можно условно разделить на несколько этапов.

Первый этап — осеменение. Он длится от момента встречи икринки со спермиями до их проникновения под оболочку яйцеклетки. Длительность этого этапа исчисляется минутами.

Второй этап — ядерные преобразования и формирование пронуклеусов. Для мужского пронуклеуса он начинается с внедрения спермия в овоплазму. Для женского пронуклеуса этот этап включает второе деление созревания (начиная с анафазы) и выделение второго направительного тельца. Заканчивается этот этап формированием обоих пронуклеусов. Длительность этого этапа еще не определена.

Третий этап — сближение пронуклеусов, их слияние и подготовка к первому делению сегментационного ядра. Длится этот этап по меньшей мере несколько десятков минут.

Выявленная этапность процесса оплодотворения у осетровых создает предпосылки для экспериментальных работ по управлению этим процессом.

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

Поступило
14 IV 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Н. П. Вотинов, Тр. лаб. основ рыбоводства, 1 (1947). ² Н. Л. Гербильский, там же, 2 (1949). ³ Б. Н. Казанский, ДАН, 75, № 2 (1950); 83, № 6 (1952); 89, № 4 (1953). ⁴ М. М. Лебедев, М. П. Либизов, Скрещивание и двойное спаривание в пользовательном животноводстве, М., 1952. ⁵ О. Б. Лепешинская, Происхождение клеток из живого вещества и роль живого вещества в организме, М., 1945. ⁶ Г. М. Персов, ДАН, 90, № 6 (1953). ⁷ Т. И. Фалеева, ДАН, 91, № 1 (1953).