

Г. М. ПЕРСОВ

МНОЖЕСТВЕННОЕ ПРОНИКНОВЕНИЕ СПЕРМИЕВ У ОСЕТРОВЫХ

(Представлено академиком Е. Н. Павловским 19 V 1954)

Вопрос о полиспермном оплодотворении у осетровых, помимо теоретического интереса, имеет практическое значение. В наших работах ⁽²⁾ был установлен факт зависимости конечных производственных показателей инкубации икры осетровых (процент выхода личинок) от концентрации спермиев при осеменении.

Возник вопрос, как влияет избыточное количество спермиев на разные этапы оплодотворения (контакт между икринкой и спермиями, проникновение спермиев под оболочку, их внедрение в овоплазму, образование мужского и женского пронуклеусов, слияние пронуклеусов). Решение этого вопроса невозможно без цитологического анализа.

В производственных условиях (рр. Кама и Кура) икра осетровых рыб осеменялась по «сухому» способу. Икра помещалась в насухо вытертый таз, затем к икре добавлялась сперма, после перемешивания икры со спермой в таз добавлялась вода из расчета около $\frac{1}{2}$ л воды на 1 кг икры. Фиксация икринок производилась через несколько минут (от 2 до 9) после добавления воды. В качестве фиксаторов были использованы смеси Буэна, Гелли, Чиаччио, Карнуа и 10% формалин.

При фиксации по Карнуа с последующей окраской железным гематоксилином мелкозернистый желток анимального полюса окрашивается слабо, а спермии после дифференцировки препарата остаются окрашенными весьма интенсивно. При фиксации по Гелли оболочка на анимальном полюсе отстает от плазмы, однако этот промежуток оказывается заполненным студневидным веществом, которое при обычной окраске железным гематоксилином по Гейденгайну имеет светлосерый тон. Спермии при этом способе фиксации интенсивно окрашиваются и приобретают характерную, уродливо изогнутую форму. При фиксации по Буэну с последующей окраской железным гематоксилином или азан по Гейденгайну отчетливо окрашиваются ядерные элементы. При фиксации по Чиаччио с последующей окраской азан по Гейденгайну отчетливо дифференцируется оболочка яйцеклетки. Особенности каждого из указанных фиксаторов облегчили цитологический анализ и сделали его более полным.

Имевшийся в моем распоряжении материал позволил последовательно описать картины от момента контакта икринки со спермиями до периода обнаружения спермиев непосредственно в плазме яйца. В живой яйцеклетке стерляди удастся видеть до 13 микропиле. На фиксированном материале в одном срезе попадает до 4 микропиле, в каждом из которых могут быть обнаружены спермии.

Двигаясь конусовидной головкой вперед через микропиле (рис. 2а), спермии проходят наружную студенистую оболочку и два слоя второй оболочки — зона radiata externa и z. г. interna (рис. 1), проникая таким образом к плазме яйцеклетки. При приближении спер-

миев к поверхностной зоне плазмы анимального полюса (рис. 2 б) начинается набухание спермиев. В дальнейшем спермии внедряются в овоплазму (рис. 2 в). Здесь начинается процесс превращения спермия в мужской пронуклеус. Этот процесс по времени может не совпадать с телефазой 2-го деления созревания яйцеклетки, очевидно опережая его.

Рис. 2 г, д демонстрирует проникновение различного количества спермиев как в область перивителлинового пространства, так и непосредственно в овоплазму. Особо следует отметить данные, полученные в препаратах яйцеклетки стерляди, зафиксированной смесью Карнуа после осеменения. Как видно на рис. 2 д, в глубине плазмы анимального полюса, строго против хода микропиле, лежат рядом головки двух спермиев. Одна из них изогнута, а форма второй не изменилась. Однако обе они отличаются от головок спермиев, расположенных как в ходах микропиле, так и вне яйцеклеток, своими несколько уменьшившимися размерами и менее интенсивной окраской. Кроме того, в головках, обнаруженных в глубине плазмы, выявляются чередующиеся между собой более светлые и более темные зоны, что можно истолковать как начавшееся лизирование спермиев. Во всяком случае тот факт, что одни спермии, внедрившиеся в овоплазму, набухают, а другие, наоборот, уменьшаются в своих размерах и начинают окрашиваться менее интенсивно, позволяет говорить о различной судьбе спермиев, попадающих в яйцеклетку.

В том же срезе яйцеклетки стерляди, помимо описанных двух спермиев, были обнаружены головки еще трех спермиев, из коих одна найдена на границе мелкозернистого с крупноглыбчатым желтком, а две — среди зерен крупноглыбчатого желтка.

В одной из яйцеклеток стерляди, зафиксированной по Гелли, после осеменения было обнаружено 52 спермия. Из них: под оболочкой 12, у плазмы анимального полюса 12, в овоплазме 24, на границе анимального и вегетативного полюсов 4 спермия.

Во всех случаях множественного проникновения спермиев, о которых до сих пор шла речь, они были найдены в яйцеклетках, осемененных максимальным количеством спермиев. Однако факты внедрения в овоплазму нескольких спермиев встречаются также и при оптимальных дозировках⁽²⁾. Так, в яйцеклетке осетра из варианта опыта, где дозировка спермиев при осеменении была оптимальной (что подтверждается высокими производственными показателями инкубации икры), кроме спермия, уже внедрившегося и превращающегося в мужской пронуклеус, обнаружен еще один спермий, внедряющийся в овоплазму. Помимо этих двух спермиев, в той же яйцеклетке обнаружено еще несколько спермиев, уже прошедших через все оболочки яйцеклетки и зафиксированных в момент выхода к овоплазме.

Таким образом, следует признать, что у осетровых в условиях искусственного осеменения встречаются случаи множественного проникновения спермиев под оболочку и множественного внедрения спермиев в овоплазму.

Одним из условий, способствующих множественному проникновению спермиев, вероятно, является обнаруженный факт наличия в яйцеклетках осетровых микропилярных ходов со стороны вегетативного полюса (рис. 4). В нескольких случаях у стерляди обнаружено по несколько микропиле со стороны вегетативного полюса, причем в некоторых из них найдено значительное число спермиев (рис. 3).

Есть указания⁽¹⁾, что у осетровых, так же как и у амфибий, избыточное число спермиев вызывает аномальное развитие, что выражается в нарушениях процесса дробления. В дальнейшем такие яйцеклетки, очевидно, обречены на гибель. С указанным выводом можно согласиться лишь в том случае, если под избыточным числом спермиев понимать такие их количества, которые выходят за пределы оптимальных.

В настоящей работе при осеменении яиц осетровых по «сухому»



Рис. 1. Микропилярная щель проходит через все слои (студенистый, *zona radiata externa* и *z. r. interna*) оболочки яйцеклетки. Микрофотография. Об. 90 ×

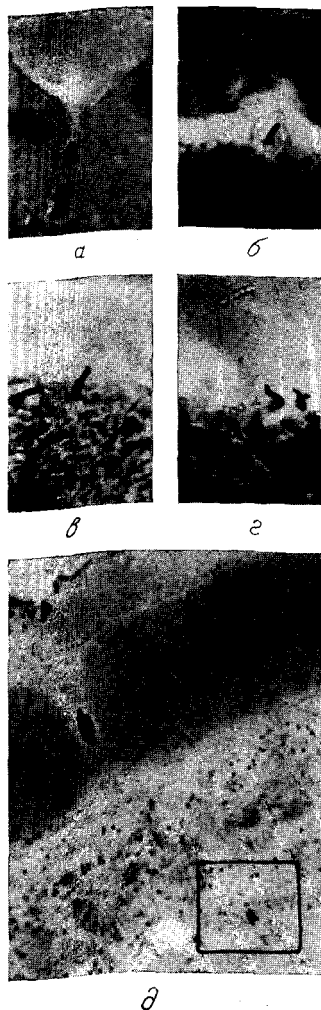


Рис. 2. Проникновение спермиев в яйцеклетки осетровых. *а* — сперматозоид в микропиле, *б* — сперматозоид у поверхностного слоя плазмы, *в* — внедрение в овоплазму одного спермия, *г* — внедрение в овоплазму группы спермиев, *д* — два спермия в глубине плазмы анимального полюса. В микропиле видна пачка спермиев. Микрофотографии. Об. 90 ×

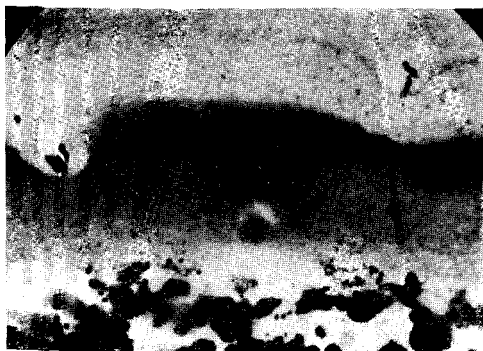


Рис. 3. Два микропиле со спермиями со стороны овоцита с крупноглыбчатым желтком (вегетативный полюс). Микрофотография. Об. 90 ×

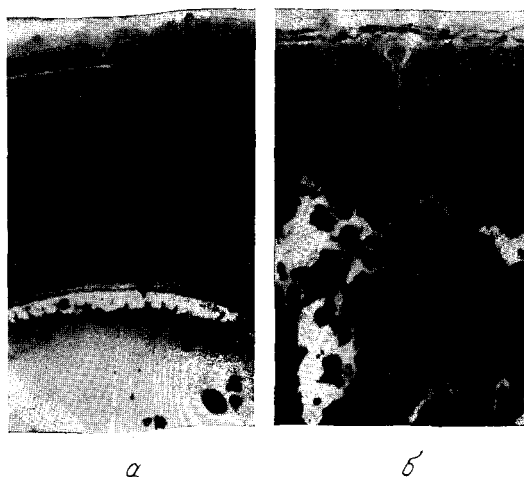


Рис. 4. Микропиле со стороны анимального и вегетативного полюсов в одной и той же яйцеклетке стерляди. *а* — два микропиле на анимальном полюсе, виден участок ядра, об. 20 ×; *б* — микропиле с замыкающей его фолликулярной клеткой на вегетативном полюсе. Микрофотографии. Об. 40 ×

способу различными дозами спермиев (избыточными и оптимальными) цитологически обнаружено множественное проникновение спермиев. Такая методика осеменения может оказаться полезной для дальнейшего анализа влияния множественного проникновения спермиев на процессы оплодотворения и на ход развития эмбрионов осетровых.

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

Поступило
15 V 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ А. С. Гинзбург, ДАН, **92**, № 5 (1953). ² Г. М. Персов, ДАН, **81**, № 2 (1951); **90**, № 6 (1953); Рыбн. хоз., № 12 (1953).