Доклады Академии наук СССР
1955. Том 103, № 4

ЭМБРИОЛОГИЯ

Г. М. ПЕРСОВ

ФОРМИРОВАНИЕ ПРОНУКЛЕУСОВ, ИХ СБЛИЖЕНИЕ И СЛИЯНИЕ У СТЕРЛЯДИ (ACIPENSER RUTHENUS L.)

(Представлено академиком Е. Н. Павловским 22 III 1955)

Отсутствие детальных исследований процесса созревания яиц осетровых привело к неправильным представлениям о сущности явлений, протекающих в этот период в яйцеклетках ([6]). Этот пробел в известной мере восполняется серией работ ([4, 5, 7, 10, 11]), проведенных в последние годы. Детальное исследование созревающих яиц осетровых осложняется необходимостью получать серийные срезы, что для яиц, богатых желтком, как известно, представляет значительные трудности. Существенную помощь в этом отношении оказывает ускоренная проводка через спирты (по 10 мин. в 70; 80; 96° и 30 мин. в 100°) с последующей заливкой в парафин с воском.

Материал для настоящего исследования собирался на рыбоводном пункте Татрыбтреста (Рыбная Слобода на Каме). Фиксация икринок производилась периодически при разных температурах воды, от момента осеменения до начала дробления. Фиксатором служила смесь Буэна. Срезы толщиной 7—10 μ окрашивались железным гематоксилином по Гейденгайну.

Как уже хорошо установлено, овуляция яиц стерляди, севрюги и осетра происходит в состоянии метафазы 2-го деления созревания. После овуляции икринки могут, очевидно, длительное время пребывать в состоянии метафазы 2-го деления созревания. Для проверки этого предположения яйца стерляди после овуляции помещались в воду. За 2 часа содержания яиц в воде при температуре 11° 2-е деление созревания не сдвинулось с метафазы (рис. 1, *а*).

Эти факты хорошо согласуются с литературными данными о способности яиц осетровых (севрюга) к оплодотворению после многочасового их содержания в воде ([3, 8]).

Второе деление созревания в яйцах стерляди заканчивается уже после проникновения в яйцо спермия. Через 9—11 мин. после осеменения при температуре воды 10,2° обнаруживается анафаза (рис. 1 *б*). Хромосомы на обоих полюсах фигуры были видны с большой отчетливостью. Она имела размеры 22 × 10 μ и находилась у самой поверхности яйца. Через такое же время после осеменения (9—11 мин.) в другой икринке деление созревания зашло дальше. Икринка была зафиксирована в момент перехода от анафазы к телофазе.

Через 23—24 мин. после осеменения, при температуре воды 11,9°, были найдены два состояния телофазы. В одной икринке момент фиксации пришелся на раннюю телофазу. Хромосомы, лежавшие около нижнего полюса веретена, образовали компактную группу (рис. 1, *в*). Верхняя часть фигуры уже начала выходить за пределы анимального полюса (рис. 1, *г*). На этом этапе деления созревания она представляется в виде обособляющегося участка цитоплазмы, в котором заключена группа хромосом, сливающихся между собою. К еще не отделившемуся второму

редукционному тельцу подходили нити веретена. Можно отметить начавшуюся отшнуровку редукционного тельца, очевидно предшествующую моменту его отделения.

На рис. 1, *д, е* показано следующее состояние телофазы. На одном срезе был найден нижний полюс фигуры с еще сохранившимися нитями веретена (рис. 1, *д*). Хромосомы здесь лежали уже настолько слитно, что различить отдельные хромосомы было невозможно. С этого момента мы вправе говорить о женском пронуклеусе.

Уже отделенное второе редукционное тельце (рис. 1, *е*) было обнаружено на другом срезе. Оно имело почти шаровидную форму (14 × 16 μ).

Параллельно появлению описываемых картин 2-го деления созревания идет формирование мужского пронуклеуса. Существующее в литературе представление о формировании мужского пронуклеуса у стерляди ([2]) в настоящее время может быть дополнено.

Уже было описано проникновение спермия и начало набухания его передней части в момент внедрения в овоплазму ([9]). В дальнейшем в результате такого набухания в икринке осетра образовалась характерная фигура, имевшая вид булавы ([10]). В икринке у стерляди такое состояние обнаружено через 9—11 мин. после осеменения, при температуре воды 10° (рис. 2, *а*). Однако обращает на себя внимание тот факт, что более набухшая часть головки спермия в этом случае расположена не впереди, как было описано для внедряющегося спермия ([9]), а позади (рис. 2, *а*). По аналогии с данными для других животных можно предположить, что здесь происходил поворот спермия. Набухший спермий лежал на расстоянии 26 μ от поверхности яйца, вся его длина составляла 4 μ. Таким образом, длина набухшего спермия осталась примерно такой же, как это известно для спермия стерляди до его входа в микропиле. Однако ширина его увеличилась в 2—3 раза.

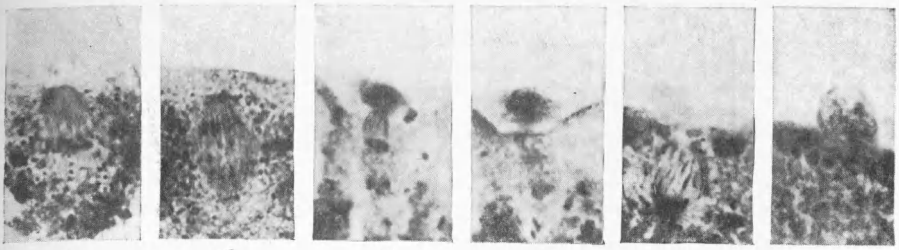
Через 23—24 мин. после осеменения, при температуре воды 11,9°, очевидно в результате неоднородного набухания, мужской пронуклеус имел вид компактного образования своеобразной формы (рис. 2, *б*). Размеры такого пронуклеуса 4 × 4 μ. Вокруг него была видна зона более светлой плазмы. На этой стадии формирования мужской пронуклеус окрашивается весьма интенсивно. На этот факт приходится обращать внимание, так как в дальнейшем по мере увеличения размеров пронуклеуса интенсивность его окрашиваемости резко падала.

Через 21—22 мин. после осеменения, при температуре воды 10°, в одной из икринок мужской пронуклеус был обнаружен в виде шарика 6 × 6 μ (рис. 2, *в*). Границы пронуклеуса очень четкие. Он имел хорошо выраженное сетчатое строение. Окрашиваемость его была менее интенсивной, чем это имело место на предыдущей стадии. Недалеко от мужского пронуклеуса ближе к поверхности икринки был найден женский пронуклеус, который имел несколько большие размеры, чем мужской пронуклеус. Оба пронуклеуса были обнаружены в яйце стерляди, осемененном спермой осетра. Может быть, именно этим обстоятельством и объясняется тот факт, что картины дальше зашедшего формирования мужского пронуклеуса были выявлены через более короткий срок после осеменения, чем это было показано ранее (рис. 2, *б*).

Рис. 1. Второе деление созревания яиц стерляди. Образование женского пронуклеуса. *а* — метафаза после двухчасового содержания в воде; *б* — анафаза; *в* — телофаза; *г* — та же фигура, но при другой фокусировке; *д* — конец телофазы — образование женского пронуклеуса; *е* — второе редукционное тельце. Об. 90×, ок. 7

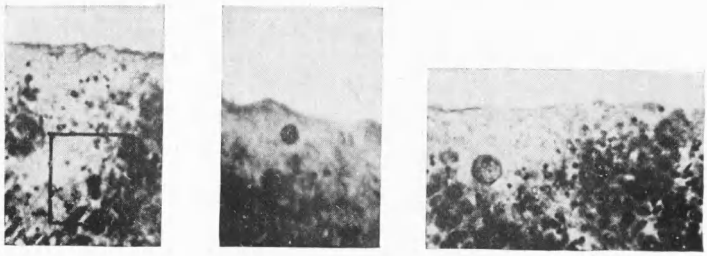
Рис. 2. Формирование мужского пронуклеуса стерляди. *а* — набухание спермия; *б* — образование пронуклеуса; *в* — увеличение пронуклеуса в размерах, снижение интенсивности его окрашивания, выявление в нем сетчатой структуры. Об 90×, ок. 7

Рис. 3. Погружение обоих пронуклеусов (*а*), их сближение (*б*), их слияние (*в*) и метафаза деления сегментационного ядра (*г*). *б, в, г* — об. 90×, ок. 7; *а* — об. 40×, ок. 7



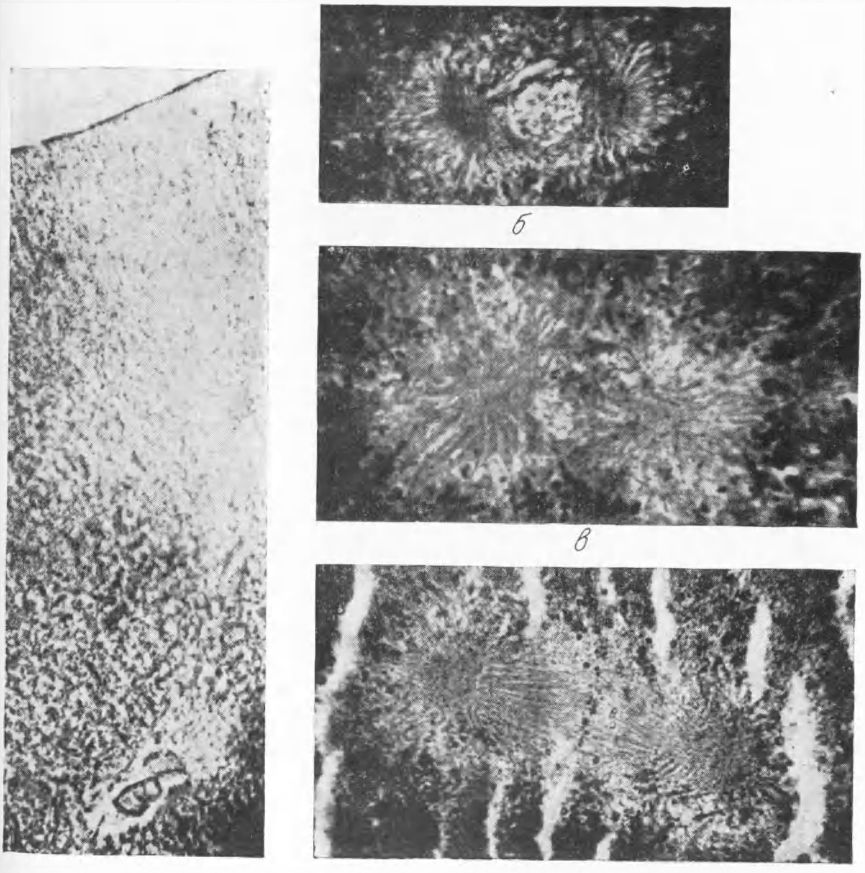
а б в г д е

Рис. 1



а б в

Рис. 2



а б в г

Рис. 3

В икринке через 25—27 мин. после осеменения, при температуре воды 14,8°, был найден один пронуклеус, который лежит на расстоянии 74 μ от поверхности яйца. Судя по размерам, можно считать, что это был мужской пронуклеус. Спустя 18—23 мин., при той же температуре воды, на расстоянии 220 μ от поверхности были обнаружены два рядом лежавших пронуклеуса. На обоих концах были видны две звезды с короткими лучами. Судя по слабой выраженности амфиастера и слабой интенсивности его окрашивания, момент фиксации, очевидно, пришелся на начало формирования амфиастера. Размеры обоих пронуклеусов оказались близкими (10—11 μ).

Обнаружение пронуклеуса этого периода развития связано с большими трудностями, так как при окраске железным гематоксилином они при дифференцировке препарата очень слабо удерживают гематоксилиновый лак. Такое отношение к красителям пронуклеусы сохраняли при температуре воды 14,8° в течение 20—25 мин. Существенную помощь в выявлении пронуклеусов в этом случае оказала методика повторного окрашивания препаратов. Готовый препарат снова помещался в ксилол, карболксилол, спирты, воду и в гематоксилин. Сильно перекрашенный препарат на этот раз дифференцировался на выявление определенной, ожидаемой картины. Таким же образом мы поступали и в тех случаях, когда надо было получить более тонко окрашенный препарат (препарат доводился до квасцов, где и производилось дополнительное дифференцирование).

На следующем этапе, который имелся в нашем распоряжении, через 1 час 41 мин.— 1 час. 43 мин. после осеменения, при температуре воды 10,2°, оба пронуклеуса были обнаружены на значительном расстоянии от поверхности (260 μ). Они лежали рядом (рис. 3, *а*). Один из них имел форму, близкую к фигуре прямоугольника, 20 × 10 μ, а другой — форму, близкую к фигуре квадрата, 14 × 12 μ. В таких пронуклеусах хорошо выявлялись хромосомные структуры. От поверхности яйца к месту расположения пронуклеусов был заметен более светлый участок плазмы (рис. 3, *а*), который как бы очерчивал их путь движения вглубь яйца.

При более высоких температурах (14,8°) уже через 1 час 30 мин. заканчивается процесс слияния пронуклеусов. На рис. 3, *б* представлено состояние, предшествующее их слиянию. Оба пронуклеуса сильно сближены. На полюсах видны две звезды (амфиастер). Лучи обеих звезд тесно переплетались между собой. Размеры пронуклеусов оказались почти равными (22 × 14 μ, 20 × 12 μ). В звездах центриолей не было видно, однако центральная часть каждой сферы может быть охарактеризована как центросома ([1]). По лучам звезд были беспорядочно разбросаны мельчайшие зернышки — микросомы ([1]).

Слившиеся пронуклеусы (рис. 3, *в*) были обнаружены в центре икринки. Ядро зиготы имело правильно округлую форму 26 × 26 μ. Сплетающиеся лучи звезд, как и на предыдущей стадии, окружали ядро зиготы.

В дальнейшем протекают процессы, связанные с подготовкой к дроблению зародыша. Точно указать сроки начала деления сегментационного ядра трудно, так как следующая фиксация была произведена через 1 час 30 мин. после описанных картин. В это время, при температуре воды 14,8°, была обнаружена уже метафаза деления сегментационного ядра (рис. 3, *г*).

Таким образом, данные настоящего исследования позволяют дополнить наши представления о последовательности процесса оплодотворения у стерляди ([10]). Первый этап, осеменение, заканчивается вхождением спермиев в овоплазму, что, повидимому, может происходить в течение нескольких минут. В течение второго этапа заканчивается 2-е деление созревания, которое идет по анастральному типу, и образуется женский пронуклеус. При температуре воды 11,9° этот процесс заканчивается через 23—24 мин. после осеменения. В течение этого же промежутка времени происходит образование мужского пронуклеуса. На следующем этапе, кото-

рый при температуре воды 14,8° длится не менее 20—25 мин., оба пронуклеуса имеют вид пузырчатых ядер, постепенно погружающихся вглубь яйца, где и происходит их сближение. Заканчивается процесс оплодотворения слиянием пронуклеусов, которое при температуре 14,8° происходит через 1 час 30 мин. после осеменения.

Ленинградский государственный университет
им. А. А. Жданова

Поступило
28 I 1955

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] Э. Вильсон, Клетка, 1936. [2] В. В. Заленский, Тр. Общ. естествоиспыт. при Казанском унив., 7, 3 (1878). [3] А. И. Зотин, Т. А. Детлаф, А. С. Гинзбург, Тр. Инст. морф. животн. им. А. Н. Северцова, 5 (1951). [4] Б. Н. Казанский, ДАН, 89, № 4 (1953). [5] Б. Н. Казанский, ДАН, 98, № 6 (1954). [6] О. Б. Лепешинская, Происх. клеток из живого вещества и роль живого вещества в организме, М., 1945. [7] В. В. Мансурова, Т. А. Детлаф, А. С. Гинзбург, Зародышевое развитие осетровых рыб (севрюги, осетра и белуги) в связи с вопросами их разведения, 1954. [8] Г. М. Персов, ДАН, 33, № 4 (1941). [9] Г. М. Персов, ДАН, 97, № 6 (1954). [10] Г. М. Персов, ДАН, 98, № 4 (1954). [11] Т. И. Фалеева, ДАН, 91, № 1 (1953).