

УДК 595.384.12

DOI 10.15853/2072-8212.2015.38.93-95

## АВТОРАДИОГРАФИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРОМЫСЛОВОЙ КРЕВЕТКИ *PANDALUS LATIROSTRIS* БУХТЫ СЕВЕРНАЯ (СЛАВЯНСКИЙ ЗАЛИВ, ЯПОНСКОЕ МОРЕ)

Г.Г. Калинина, В.И. Ковалева



Доцент, Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет

690087 Владивосток, Луговая, 52Б

Тел., факс: (423) 244-22-24; 8 914 707 6250

E-mail: iria-vba@yandex.ru

Доцент, Тихоокеанский государственный медицинский университет

690066 Владивосток, проспект Острякова, 2

Тел., факс: (423) 245-18-27; 8 953 220 7856

E-mail: kovalevavi@mail.ru

ПРОМЫСЛОВАЯ КРЕВЕТКА, *PANDALUS LATIROSTRIS*, АВТОРАДИОГРАФИЯ, УРИДИН, ТИМИДИН, БУХТА СЕВЕРНАЯ

Авторадиографические исследования показали, что синтетические процессы в половых клетках более активны весной, когда гонады находятся в состоянии активного гаметогенеза. Между синтезом ДНК и РНК имеется положительная корреляция. ДНК включается в интерфазные и профазные ядра до стадии пахинемы. В сперматогониях и сперматоцитах I порядка преобладает ядерный синтез РНК.

## AUTORADIOGRAPHIC RESEARCH OF GAMETES OF COMMERCIAL SHRIMP *PANDALUS LATIROSTRIS* INHABITING IN SEVERNAYA BAY (SLAVYANSKY CREEK, SEA OF JAPAN)

G.G. Kalinina, V.I. Kovaleva

Associate professor, Far Eastern State Technical Fisheries University

690087 Vladivostok, Lugovaya 52 B

Tel., fax: (423) 244- 22- 24; 8 914 707 6250

E-mail: iria-vba@yandex.ru

Associate professor, Far Eastern State Medical University

690066 Vladivostok, prospect Ostryakova, 2

Tel., fax: (423) 245-18-27; 8 953 220 7856

E-mail: kovalevavi@mail.ru

FISHING SHRIMP, *PANDALUS LATIROSTRIS*, AUTORADIOGRAPHY, URIDIN, TIMIDIN, SEVERNAYA BAY

Autoradiographic research showed that the synthetic processes in gametes are more active in spring when gonads are in the condition of an active gametogenesis. There is a positive correlation between the DNA and RNA synthesis. DNA joins the interphase and prophase nuclei in stage of pachinema. The nuclear synthesis of RNA prevails in the I<sup>st</sup> order of spermatogonia and spermatocytes.

Интенсивность синтетических процессов в развивающихся половых клетках определяется автордиографически. В настоящее время включение меченых предшественников лучше изучено у позвоночных. Данные об авторадиографических исследованиях беспозвоночных крайне скудны, а относительно половых клеток самцов креветок они, по нашим сведениям, отсутствуют. Меченые предшественники использовались для описания длительности стадий спермиогенеза (Ковалева, Калинина, 2010). Особое внимание уделено функции ядерных структур во время спермиогенеза.

Целью настоящей работы являлось исследование синтеза РНК и ДНК в половых клетках самцов промысловой креветки *Pandalus latirostris* в различные сезоны года. Результаты могут быть ис-

пользованы не только для познания особенностей спермиогенеза в биологии размножения креветки, а также для расширения воспроизводства, сохранения и увеличения численности дальневосточной промысловой креветки.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом для исследования служили гонады самцов промысловой креветки *P. latirostris* из б. Северная Японского моря, выловленной в 2010–2011 гг.

Авторадиографическое изучение синтеза РНК и ДНК проводили *in vitro* — в феврале и мае. Куочки гонад размером 0,5 см инкубировали при температуре 10–12 °С в 30 мл морской воды, содержащей меченый по тритию предшественник

(3Н-тимидин и 3Н-уридин) в концентрации  $3,7 \cdot 10^5 \text{С}^{-1} / \text{мл}$ , в течение 30 мин, 1, 2, 4, 12 часов. Перед нанесением эмульсии срезы обрабатывали 2%-й хлорной кислотой. Длительность экспозиции — 24 дня при температуре 4 °С. Интенсивность включения предшественника определялась по количеству треков на единицу площади. Рассчитывали коэффициенты корреляции между интенсивностью включения уридина и тимидина в ядро и цитоплазму сперматогоний. Степень достоверности коэффициентов корреляции определяли обычными методами (Урбах, 1964). Все количественные данные обрабатывали методами вариационной статистики (Лакин, 1980).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

*Инкубация с тимидином.* Зимой в гонаде креветки интенсивно образуются половые клетки. Анализ автографов показывает, что ядра сперматогоний активно синтезируют ДНК. Интенсивность метки, т. е. количество зерен серебра вокруг ядер, в течение инкубации возрастает в среднем от 6,0 до 21,1 (табл. 1). К концу опыта 94% всех интерфазных ядер сперматогоний включают предшественник ДНК. Встречаются плотные «шапки» зерен над ядрами клеток (рис. 1).

В мае гонада находится в состоянии активного гаметогенеза. Половые клетки представлены главным образом сперматогониями и сперматоцитами I; наблюдаются деления созревания. Самый активный синтез ДНК происходит в ядрах сперматоцитов I порядка (табл. 1). К 12 ч инкубации вокруг всех интерфазных ядер этих клеток метка увеличивается.

В профазных ядрах сперматоцитов I порядка количество зерен серебра невелико. В ядра встречающихся сперматоцитов II порядка тимидин не включается. Синтез ДНК в ядрах сперматогоний заметно снижается, но полностью не исчезает. К концу опыта только 45% всех ядер сперматогоний содержали меченый предшественник ДНК.

*Инкубация с уридином.* В феврале наряду с синтезом ДНК в сперматогониях не менее активно синтезируется РНК (рис. 2). Первые зерна серебра



Рис. 1. Включение 3Н-тимидина в ядра сперматогоний после 12 часов инкубации (февраль). Ув.: об. 100, ок. 15

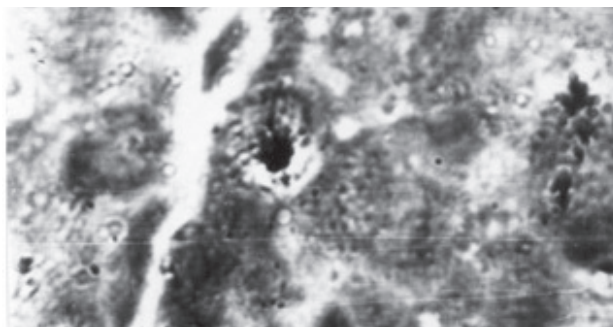


Рис. 2. Включение 3Н-уридина в сперматогонии после 4 часов инкубации (февраль). Ув.: об. 100, ок. 15

Таблица 1. Интенсивность включения (число зерен,  $x \pm mx$ ) 3Н-уридина и 3Н-тимидина в половые клетки семенников промысловой креветки

Месяц	Клетки	Длительность инкубации					
		30 мин	1 ч	2 ч	4 ч	6 ч	12 ч
Уридин							
Февраль	Сперматогонии:						
	ядрышко	$3,2 \pm 0,2$	$3,4 \pm 0,7$	$3,7 \pm 0,2$	$3,9 \pm 0,2$	$4,2 \pm 0,4$	—
	ядро	$4,8 \pm 0,1$	$7,6 \pm 0,7$	$8,7 \pm 1,4$	$8,8 \pm 0,1$	$11,8 \pm 0,6$	—
	цитоплазма	$4,9 \pm 0,2$	$4,9 \pm 0,8$	$5,0 \pm 0,3$	$4,4 \pm 0,5$	$5,3 \pm 0,3$	—
Май	Сперматогонии:						
	ядрышко	$3,8 \pm 0,1$	$4,9 \pm 0,5$	$5,1 \pm 0,5$	$5,2 \pm 0,3$	—	—
	ядро	$7,5 \pm 0,1$	$9,2 \pm 1,1$	$10,1 \pm 1,1$	$9,5 \pm 0,3$	—	—
	цитоплазма	$3,2 \pm 0,1$	$4,9 \pm 0,1$	$4,8 \pm 0,5$	$4,8 \pm 0,2$	—	—
	Сперматоциты I порядка: ядро	$3,9 \pm 0,1$	$6,3 \pm 0,1$	$6,9 \pm 0,4$	$7,4 \pm 0,3$	—	—
Тимидин							
Февраль	Сперматогонии:						
	ядро	$6,0 \pm 0,4$	$6,3 \pm 0,3$	$13,9 \pm 0,9$	$24,0 \pm 0,7$	$19,8 \pm 0,2$	$21,1 \pm 0,6$
Май	Сперматогонии:						
	ядро	$3,4 \pm 0,3$	$5,5 \pm 0,2$	$6,5 \pm 0,1$	$8,7 \pm 0,2$	$15,7 \pm 0,9$	$15,3 \pm 0,2$
	Сперматоциты I порядка: ядро	$3,1 \pm 0,1$	$4,5 \pm 0,1$	$11,0 \pm 0,1$	$12,5 \pm 0,8$	$14,8 \pm 0,1$	$18,0 \pm 0,6$

появляются над ядрышком сперматогоний, интенсивность метки на протяжении всего времени инкубации небольшая (табл. 1). Позднее метка появляется в ядре и цитоплазме, но в цитоплазме зерен значительно меньше.

В мае включения предшественника снижаются, уменьшается количество меченых сперматогоний. Зерна серебра видны главным образом над сперматоцитами I порядка (рис. 3). Предшественник включается только в интерфазные и профазные ядра, что соответствует данным, полученным при изучении сперматогенеза других животных (Hilscher, Hilscher, Dauss, 1974). Отсутствие цитоплазматического синтеза РНК в сперматоцитах I порядка можно объяснить тем, что рост этих клеток у промысловой креветки не выражен. Во время деления сперматоцитов и после него РНК не синтезируется. Сперматоциты II порядка — предшественник не включается.

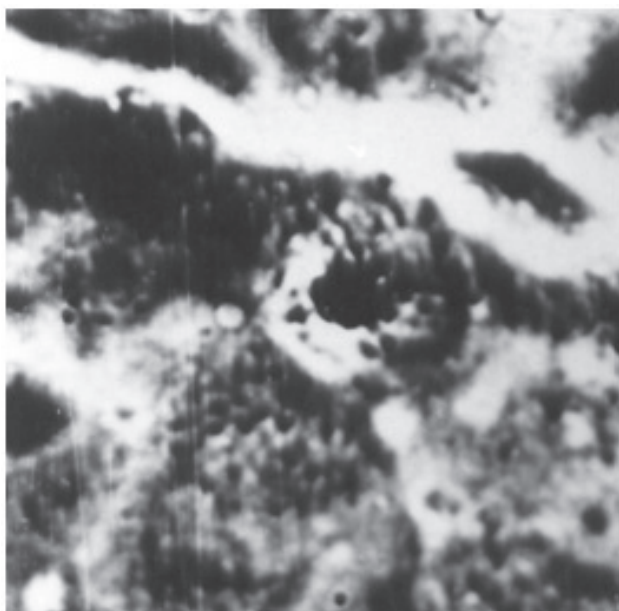


Рис. 3. Включение <sup>3</sup>H-уридина в ядра сперматоцитов I после 4 часов инкубации (май). Ув.: об. 40, ок. 15

У промысловой креветки *P. latirostris* ядра сперматогоний синтезируют ДНК зимой и весной, т. е. когда гонада переходит на стадию активного гаметогенеза, что подтверждается морфологическими данными (Ковалева, 1982). Цитоплазматический синтез РНК в сперматогониях сопряжен с ядерным синтезом РНК. Наблюдается достоверная корреляция между количеством зерен серебра над ядром и цитоплазмой сперматогоний в гонаде, инкубированной с тимидином весной. Уридин

включается главным образом в ядра сперматогоний, в цитоплазме этих клеток интенсивность метки незначительна. Цитоплазма сперматоцитов первого порядка предшественник РНК не включает. Таким образом, можно говорить о преобладании в сперматогониях и сперматоцитах первого порядка ядерного синтеза РНК. Подобные результаты получены при исследовании синтеза РНК в процессе сперматогенеза у других животных (Anastassova-Kristeva et al., 1974).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наиболее активные синтетические процессы в гонаде промысловой креветки наблюдаются весной, что соответствует массовому накоплению сперматогоний и подготовке сперматоцитов I к мейозу. Весной в семенниках преобладают процессы деления и созревания. В фолликулах встречаются единичные сперматогонии и сперматоциты II порядка, чаще сперматоциты I. Состав половых клеток гонады и снижение в них синтетических процессов свидетельствует о том, что гонада креветок готовится к спермиогенезу.

Таким образом, авторадиографические данные позволяют более полно интерпретировать гистологические картины и точнее характеризовать состояние половых клеток семенника промысловой креветки *Pandalus latirostris* в течение года.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Ковалева В.И. 1982. Репродуктивный цикл у травяного шримса из залива Петра Великого // Биол. моря. № 5. С. 65–67.

Ковалева В.И., Калинина Г.Г. 2010. Авторадиографическое исследование половых клеток самцов травяного шримса // Науч. тр. Дальрыбвтуза. Владивосток: Дальрыбвтуз. Вып. 22. С. 28–32.

Лакин Г.Ф. 1980. Биометрия. М.: Высш. шк. 184 с.

Урбах В.Ю. 1964. Биометрические методы. М.: Наука. 415 с.

Hilscher B., Hilscher W., Dauss D. 1972. Autoradiographische Untersuchungen zur Kinetik der PraspERMATOGENESE und SPERMATOGENESE der WISTARRATTE. Zuchtthygiene. V. 7. P. 1–14.

Anastassova-Kristeva M., Kantcheva L., Hadjioloff A.I. 1974. Rechercher histoautoradiographique sur la synthese ADH et ARN dans la spermatopoiese chez le hamster. Изв. Ин-та морфол. биол. V. 15. P. 5–15.