

**В.И. Ковалёва, ВГМУ; Г.Г. Калинина, Дальрыбвтуз,
Владивосток**

**АВТОРАДИОГРАФИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ПОЛОВЫХ КЛЕТОК САМЦОВ ТРАВЯНОГО ШРИМСА
*PANDALUS LATIROSTRIS***

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

Интенсивность синтетических процессов в развивающихся половых клетках определяется автордиографически. В настоящее время включение меченых предшественников лучше изучено у позвоночных. Такие предшественники использовались для описания длительности стадий спермато- и спермиогенеза [7, 8]. Данные об автордиографических исследованиях крайне скудны, а относительно половых клеток самцов травяного шримса они, по нашим сведениям, отсутствуют.

В настоящей работе исследовали синтез ДНК И РНК в половых клетках самцов травяного шримса в различные сезоны года.

В некоторых автордиографических исследованиях половых клеток беспозвоночных отмечается идентичность распределения метки в опытах *in vivo* и *in vitro*. Холланд и Гизе [6], исследуя синтез ДНК в гонаде морского ежа, установили, что опыты с изотопами *in vivo* и *in vitro* выявляют одинаковую автордиографическую картину.

Автордиографические исследования синтеза ДНК и РНК в семенниках травяного шримса выполнены *in vitro*. Кусочки семенников размером 0,5 см инкубировали в 30 мл морской воды, содержащей меченый по тритию предшественник (тимидин или уридин в концентрации

$3,7 \cdot 10^5 \text{ С}^{-1}/\text{мл.}$), в течение 10, 20 и 30 мин, 1, 2, 4, 6, 12 и 16 ч. Перед нанесением эмульсии Р-срезы обрабатывали 2%-ой хлорной кислотой 15 мл. Длительность экспозиции – 24 дня при температуре 4 °С. Подсчитывали число меченых клеток и количество зёрен над клетками. Опыты с тимидином и уридином проводили зимой и весной. Рассчитывали коэффициенты корреляции между интенсивностью включения тимидина и уридина в ядро и цитоплазму сперматогоний. Степень достоверности коэффициентов корреляции определяли обычными методами [2]. Количественные данные обрабатывали на ЭВМ МИР-2.

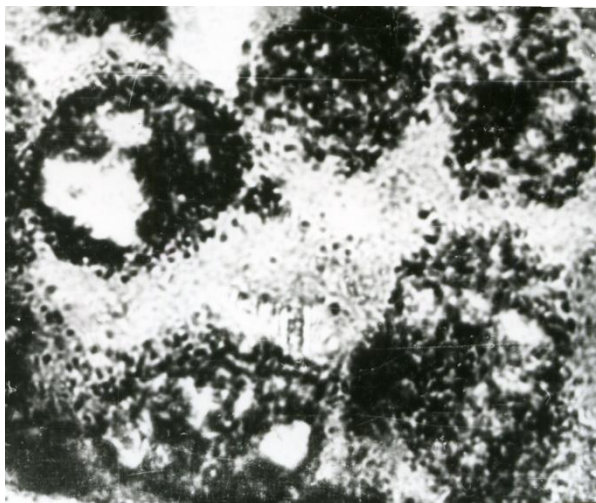
Инкубация с тимидином. Зимой в гонаде креветки интенсивно образуются половые клетки [1]. Анализ автографов показывает, что ядра сперматогоний активно синтезируют ДНК. Интенсивность метки, т.е. количество зерен серебра над ядром, в течение инкубации возрастает в среднем от 5 до 25 (таблица). К концу опыта 94 % всех интерфазных ядер сперматогоний включают предшественник ДНК. Количество зёрен над ядрами иногда более 30, встречаются плотные «шапки» зёрен над клетками.

В апреле-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 (таблица). К 12 ч инкубации над всеми интерфазными ядрами этих клеток увеличивается метка (рисунок).

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

**Интенсивность включения (число зерен, $\pm$ Mm) 3Н-тимидина и 3Н-уридина
в половые клетки семенников травяного шримса**

Месяц	Клетки	Длительность инкубации							
		10 мин	20 мин	30 мин	1 ч	2ч	4ч	6ч	12ч
Февраль	Сперматогонии: ядро	Тимидин							
		-	5,6 $\pm$ 0,6	6,0 $\pm$ 0,4	6,3 $\pm$ 0,3	13,3 $\pm$ 0,9	24 $\pm$ 0,7	19,8 $\pm$ 0,2	21,1 $\pm$ 0,6
Май	Сперматогонии: ядро Сперматоциты I порядка: ядро	2,2 $\pm$ 0,3	2,5 $\pm$ 0,1	3,4 $\pm$ 0,1	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
		2,3 $\pm$ 0,1	2,7 $\pm$ 0,1	3,1 $\pm$ 0,1	4,5 $\pm$ 0,1	11 $\pm$ 0,1	12,5 $\pm$ 0,8	14,8 $\pm$ 0,1	18,0 $\pm$ 0,6
Февраль	Сперматогонии: ядрышко ядро цитоплазма	Уридин							
		2,7 $\pm$ 0,1	3,4 $\pm$ 0,3	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	-
Май	ядро	-	4,8 $\pm$ 0,4	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	-	3,6 $\pm$ 0,1	4,9 $\pm$ 0,2	4,9 $\pm$ 0,8	5,0 $\pm$ 0,2	4,4 $\pm$ 0,5	5,3 $\pm$ 0,3	-
	Сперматогонии: ядрышко ядро цитоплазма	-	3,9 $\pm$ 0,4	3,8 $\pm$ 0,1	4,9 $\pm$ 0,5	5,1 $\pm$ 0,5	5,2 $\pm$ 0,3	-	-
		-	4,6 $\pm$ 0,1	7,5 $\pm$ 0,1	9,2 $\pm$ 1,1	10,1 $\pm$ 1,1	9,5 $\pm$ 0,3	-	-
		-	3,4 $\pm$ 0,5	3,2 $\pm$ 0,1	4,9 $\pm$ 0,1	4,8 $\pm$ 0,5	4,8 $\pm$ 0,2	-	-
Май	Сперматоциты I порядка: ядро	-	-	3,9 $\pm$ 0,1	6,3 $\pm$ 0,1	6,9 $\pm$ 0,4	7,4 $\pm$ 0,3	-	-



Радиоавтографы гонады самца травяного шримса после 12 часов инкубации с 3Н-тимидином в ядрах сперматоцитов I. Ув. об. 100 х. ок. 15

Инкубация с уридином. В феврале наряду с синтезом ДНК в сперматогониях не менее активно синтезируется РНК. Первые зерна серебра появляются над ядрышком сперматогоний, интенсивность метки на протяжении всего времени инкубации небольшая (см. таблицу). Позднее метка появляется в ядре и цитоплазме, но в цитоплазме зерен значительно меньше.

В мае включение РНК-предшественника снижается, уменьшается количество меченых сперматогоний. Зерна серебра видны главным образом над сперматоцитами I порядка, предшественник включается только в интерфазные и профазные ядра, что соответствует данным, полученным при изучении сперматогенеза других животных [4]. В цитоплазме клетки не обнаруживается. Отсутствие цитоплазматического синтеза РНК в сперматоцитах I порядка можно объяснить тем, что рост этих клеток у приморской креветки не выражен. Во время деления сперматоцитов и после него РНК не синтезируется. Сперматоциты II порядка РНК-предшественник не включают.

У дальневосточной креветки *P. latirostris* ядра сперматогоний синтезируют ДНК зимой и весной, т.е. когда гонада переходит на стадии активного гаметогенеза, что подтверждается морфологическими данными [1]. Цитоплазматический синтез РНК в сперматогониях у травяного шримса сопряжен с ядерным. 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 этой метки незначительна. Цитоплазма сперматоцитов I предшественик РНК не включает. Таким образом, можно говорить о преобладании в сперматогониях и сперматоцитах I ядерного синтеза. Подобные результаты получены и при исследовании синтеза РНК в процессе сперматогенеза у других животных [3]. Наиболее активные синтетические процессы в гонаде травяного шримса наблюдаются весной, что соответствует массовому накоплению сперматогонии и подготовке сперматоцитов I к мейозу. Таким образом, авторадиграфические данные позволяют более полно интерпретировать гистологические картины и точнее характеризовать состояние половых клеток семенника в течение года.

Библиографический список

1. *Калинина Г.Г. Кавалёва В.И.* Репродуктивная биология травяного шримса залива Петра Великого. Владивосток: Дальрыбвтуз, 2008. С. 49-52.
2. *Урбах В.Ю.* Биометрические методы. М.: Наука, 1964. 415 с.
3. *Anastassova-Kristeva M., Kantcheva L., Hadjioloff A.I.* Rechercher histoautoradiographiques sur la synthese d'ADH et ARN dans la spermatopoiese chez le hamster Изв. Ин-те морфол. Бълг. АН, 1974. 15, 3: 5-15.
4. *Hilscher B., Hilscher W., Dauss D.* Autoradiographische Untersuchungen zur Kinetik der Praspermato-genese und Spermatogenese der Wistar-ratte. Zuchtthygine. 1972. 7, 1: 1-14.
5. *Holland N.D. Giese A.C.* An autoradiographic investigation of the gonads of the purple sea urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*). Biol. Bull. 1965. 128, 2: 241-258.
6. *Meistrich M.Z., Reid B.O., Barcellone W.J.* Changes in sperm nuclei during spermiogenesis and epididymal maturation. Exp. Cell Res. 1976. 99, 1: 72-78.
7. *Rocchi B.A.* Studio dell' incorporazione della timidina durante la spermatogenesi di *Asselus coxalis*. Atti Accad. naz. Lincei. Rend. Cl. sci. fis., mat. e natur. 1967. 42, 2: 264-268.