

ЛЕНИНГРАДСКИЙ ОРДЕНА ЛЕНИНА И ОРДЕНА ТРУДОВОГО
КРАСНОГО ЗНАМЕНИ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ А. А. ЖДАНОВА

На правах рукописи

КОНДРАТЬЕВ

Анатолий Константинович

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ООЦИТОВ ПЕРИОДА ПРЕВИТЕЛЛОГЕНЕЗА
В ГОДОВОМ ЦИКЛЕ СИБИРСКОЙ СТЕРЛЯДИ
(*ACIPENSER RUTHENUS RUTHENUS NATIO
MARSIGLII BRANDT*)

(03.00.10 — Ихтиология)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

ЛЕНИНГРАД

1977

Работа выполнена в лаборатории рек и водохранилищ Государственного научно-исследовательского института озерного и речного рыбного хозяйства (ГосНИОРХ), лаборатории экспериментальной ихтиологии и лаборатории электронной микроскопии Биологического института Ленинградского государственного университета имени А. А. Жданова

Научные руководители:

доктор биологических наук Персов Г. М.

кандидат биологических наук Чмилевский Д. А.

Официальные оппоненты:

профессор, доктор биологических наук
Казанский Б. Н.

кандидат биологических наук
Парфенов В. Н.

Будущее предприятие:

Московский ордена Ленина и ордена Трудовой
Красного Знамени государственный университет
имени М. В. Ломоносова

Защита состоится в 15³⁰ 8 декабря на заседании
специализированного совета по защите докторских диссер-
таций Д-063.57.22. при Ленинградском государственном уни-
верситете имени А. А. Жданова. Адрес: Ленинград, 19916.
Университетская наб., 7/9. С диссертацией можно ознакомиться
с в научной библиотеке университета.

Автореферат разослан « 3 » ноября . . . 1977 года

Ученый секретарь специализированного
совета, ст. научный сотрудник, к. б. н.

Будкая
Наталья Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Изучение оогенеза имеет перспективное значение для понимания воспроизводительной способности и динамики численности популяций, решения задач, связанных с разведением рыб, и организации научно обоснованного рационального их промысла. Для разработки этих вопросов информация о периоде превителлогенеза представляет особый интерес, так как у костистых и особенно у осетровых этот период отличается наибольшей продолжительностью по сравнению с периодами вителлогенеза и созревания и во многом определяет длительность полового цикла у впервые и повторнорестующих рыб (Мейен, 1944; Кузьмин, 1957; Вотинов, 1963). По вопросам, касающимся развития воспроизводительной системы у рыб, накоплен большой фактический материал. Однако, во многих работах содержатся подробные данные лишь о поздних периодах оогенеза – вителлогенезе и созревании. Хотя к началу настоящей работы и имелись немногочисленные данные о процессах, протекающих в период превителлогенеза, у исследователей не было единого мнения в оценке морфофункционального состояния развивающихся ооцитов этого периода.

Лишь в последние годы представлены данные (Персов, 1966, 1968, 1975; Дэвидсон, 1972), которые изменили существовавшее в ихтиологической литературе ошибочное мнение о том, что период превителлогенеза представляет "латентную фазу" в развитии ооцита, в течение которого не происходит каких-либо существенных структурных изменений в ооцитах (Мейен, 1944; Лапицкий, 1949; и др.). Оказалось, что у разных видов животных в этот период оогенеза происходят процессы интенсивного накопления в цитоплазме определенных видов РНК, синтезированной в ядре (Дэвидсон, 1972). В этой связи особый интерес представляют факты о её накоплении или концентрации в определенных участках цитоплазмы ооцитов периода превителлогенеза у лососей (Персов, 1966). Отметим, что участки с высокой концентрацией РНК у лососей морфологически напоминали так называемые темноокрашенные участки или зоны цитоплазмы в ооцитах периода превителлогенеза у других костистых (Lams 1904; Franz, 1910; Гербильский, 1939;



Негоновская, 1966; и др.). Одни авторы считают их обязательной дифференциацией ооцитов (Персов, 1966, 1968, 1975; Кузнецов, 1975), другие — отмечают сравнительно непродолжительный, сезонный характер их образования (Героильский, 1939; Кузьмин, 1957). В связи с этим подчеркивалось, что вопрос о природе образований с высокой концентрацией РНК, их функциональном значении в оогенезе рыб является дискуссионным и заслуживает специального исследования (Персов, 1966, 1975).

В предварительном исследовании оогенеза сибирской стерляди в зимний период развития ооцитов периода превителлогенеза в их цитоплазме были обнаружены участки с высокой концентрацией РНК. В весенний период они постепенно исчезали и в течение летнего периода цитоплазма ооцитов равномерно воспринимала базофильные красители.

Цель работы. В исследовании ставились следующие задачи:

1) дать краткую характеристику биологии стерляди бассейна р. Иртыш, уделяя основное внимание на вопросы, связанные с её размножением;

2) исследовать сезонные изменения морфофункционального состояния ооцитов периода превителлогенеза в ходе годового цикла стерляди (применяя методы световой микроскопии);

3) используя методы электронной микроскопии, дать характеристику процессам, протекающим в ^{в ооцитах} зимний и летний периоды их развития, обращая основное внимание на распределение цитоплазматических органелл, содержащих РНК, и рибосом.

Научная новизна результатов исследований. В работе дан подробный анализ первого и повторного половых циклов сибирской стерляди. Приведены оригинальные сравнительно-экологические данные о процессах, протекающих в растущих ооцитах периода превителлогенеза во все их периоды годового развития.

Впервые на рыбах показаны сложные сезонные изменения в распределении и функциональной активности цитоплазматических органелл, содержащих РНК, и рибосом, функциональной активности краевых ядрышек, пиноцитозной и микропиноцитозной активности развивающихся ооцитов, которые рассмотрены как основные элементы единого клеточного механизма посредством которого под воз-

действием экологических факторов ооциты переходят в состояния различной биосинтетической активности. В зимних ооцитах диаметром 150–400 мкм описан новый тип цитоплазматических образований – плотные скопления, состоящие из рибосом, фибрилл и фиброгранулярных нитей. Рассмотрены клеточные механизмы образования плотных скоплений и их функциональное значение в оогенезе. Сформулировано представление о четырёх периодах функционирования ооцитов периода превителлогенеза и половых желез ранних стадий зрелости в ходе годового цикла стерильности.

В свете полученных данных рассмотрены сезонный аспект формирования фонда половых клеток у рыб, причины внутривидовой дифференциации в продолжительности половых циклов у подвидов, населяющих северные и южные границы их ареала и ряд других вопросов.

Практическое значение. Даны практические рекомендации по регуляции скорости роста ооцитов периода превителлогенеза путем изменения температурных параметров воды, в которой выращивается стерильность. Рекомендованы критерии оценки морфофункционального состояния развивающихся ооцитов периода превителлогенеза для прогнозирования их темпа роста и развития воспроизводительной системы в целом у рыб.

Апробация работы. Результаты, изложенные в диссертации, докладывались на совещаниях лаборатории водохранилищ и рек ГосНИОРХ и лаборатории экспериментальной ихтиологии Биологического института ЛГУ в 1975–1977 гг. В целом работа апробирована на совещаниях лаборатории водохранилищ и рек и методической комиссии по ихтиологии ГосНИОРХ (1977 г.) и кафедры ихтиологии и гидробиологии ЛГУ (1977 г.).

Публикация результатов исследований. По материалам диссертации опубликованы 4 научные статьи.

Объем работы. Диссертация изложена на 136 страницах машинописного текста с 4 таблицами. Список литературы включает 159 наименований работ, в том числе 93 иностранных авторов. Атлас диссертации, оформленный в виде отдельного тома, содержит 171 иллюстрацию (рисунки, светооптические и электронномикроскопические микрофотографии).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследований служила сибирская стерлядь р. Оби *Acipenser ruthenus ruthenus natio marsiglii* Brandt. Материал для исследований собран в девяти экспедициях в 1973-1976 гг. во все периоды годового цикла сибирской стерляди.

Ихтиологический анализ включал измерение длины тела, взвешивание рыбы, определение стадии зрелости, описание и взвешивание яичников, полевой анализ питания, определение возраста рыб по спицам маргинального луча грудного плавника по общепринятой методике (Правдин, 1966). Всего исследовано 3012, в том числе определен возраст у 773 стерлядей. Материал обработан статистически.

Для исследования в световом микроскопе кусочки половых желез I и II стадий зрелости у впервые и VI и II стадий зрелости у повторносозревающих самок (по Сагун и Буцкой, 1968) разного возраста фиксировали в жидкостях Буэна, Ценкера, Флемминга, Шампи, изменённой по Насонову. Иногда фиксировали кусочки половых желез III и IV стадий зрелости. Часть материала обрабатывали по методу Колачёва - Насонова и по методу да Фано. Фиксированный материал заключали в парафин. Для исследования морфологии ооцитов срезы окрашивали железным гематоксилином по Гейденгайну либо азановым методом по Гейденгайну (Ромейс, 1953). Нуклеиновые кислоты выявляли методами метиловый зелёный - пиронин по Браше и галлоцианин - хромовые квасцы по Эйнарссону. В контроле перед окраской РНК удаляли I нормальной соляной кислотой в течение 10 минут при 60°C. Для обнаружения ДНК применяли реакцию Фельгена (Пирс, 1962). Рисунки выполнены с помощью рисовального аппарата РА-5 на уровне предметного столика микроскопа. Препараты фотографировали на фотоустановке ФМН-3. Всего исследовано 193 яичника.

Для исследования в электронном микроскопе кусочки от 32 яичников I, II, III, IV стадий зрелости живых стерлядей, выловленных в летний и зимний периоды, фиксировали 3-6% глутаральдегидом на фосфатном буфере (рН 7,4), а затем в 1% растворе OsO₄ на том же буфере, либо в фиксаторе Миллонига (Гайер, 1974). Мате-

риал обезвоживали в спирте - ацетоне и заключали в арадит. Срезы толщиной 300-600 Å готовили на ультратоме Ш ЛКВ, окрашивали спиртовым раствором уранилацетата и пикратом свинца по Рейнольдсу. Ооциты просматривали и фотографировали в электронных микроскопах Nu II E "Hitachi" и BS -500 "Tesla".

Для удобства сравнительного анализа ооциты периода превителлогенеза подразделены на четыре размерные группы: I- диаметром от 30 до 75; II- 75-110; III- 110-130; IV- 130-400 мкм. Процесс дифференциации ооцитов изучали при последовательном анализе структурной организации половых клеток в ходе роста. Для анализа сезонных изменений в растущих ооцитах сравнительно изучали клетки одинакового диаметра в половых железах одинаковых стадий зрелости у самок, отловленных в разные сезоны года.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

I. Биология стерляди бассейна р. Иртыш

По мнению исследователей (Иоганзен, 1946; Дрягин, 1948) сибирская стерлядь в Обь - Иртышском бассейне образует ряд локальных стад одним из которых является тобольско-иртышское, по этому стаду собран основной материал.

Изучение в 1973 г. размерного состава стерляди (измерено 3012 экз.) из контрольных и промысловых уловов показало, что маломерная стерлядь (менее 31 см) почти во всех исследованных районах бассейна р. Иртыш преобладала в количественном отношении над мерной, составляя от 68,2 до 80,3, за исключением Кондинского сора, где её уловы составили 34,9%.

В период весенней кормовой и нерестовой миграций по р. Тоболу и Иртышу (у г. Тобольска) в уловах были представлены стерляди от I до I3 лет. Основу уловов составляли пятигодовики - 20,9%.

В период летнего нагула в Кондинском соре преобладали рыбы шестилетнего возраста - 20,8%, а в период осенней миграции стерляди к местам зимовок доминировали четырёхлетние особи - 31,1% (Иртыш у пос. Демьянского). Старшие возрастные группы

в осенних уловах были представлены I8, а иногда и 2I-22 летними рыбами.

Исследование развития воспроизводительной системы у впервые и повторносозревающих самок стерляди с использованием ихтиологических и гистологических методов показало, что индифферентный период развития гонад у этого вида продолжается 2-4 года. Анатомические признаки дифференцировки пола обнаруживаются обычно у двух-четырёхлетних рыб. У самок в начале этого процесса, как и у других осетровых (Персов, 1975), появляется продольная щель-борозда в латеральной части железы. Впервые созревают самки по достижении 5-9 и более лет, но в основном - 6-8 лет, при длине 3I-33 см и весе 185-260 г.

Основные нерестилища стерляди расположены на Иртыше у Тобольска. Нерест начинается обычно в III-ей декаде мая при температуре воды 10°C. Средняя плодовитость составляет около II.000 икринок. Длительность перерыва между нерестами у большинства стерлядей составляет 4 года. В некоторых случаях, когда период вителлогенеза у самок продолжается I год, повторный половой цикл сокращается до 3 лет. Естественно, что при повторном цикле, так же как и при первом созревании, могут быть значительные различия в темпе развития половых желёз.

II. Функциональная морфология ооцитов периода превителлогенеза у сибирской стерляди в разные периоды её годового биологического цикла (по данным световой микроскопии)

Годовой биологический цикл сибирской стерляди складывается из четырёх периодов: (I) зимовки, (2) весенней миграции к местам нагула, (3) летнего нагула, (4) осенней миграции к местам зимовки.

(I). Период зимовки. Зимует стерлядь на ямах Иртыша с глубинами до 30 м с октября по апрель. Процесс зимовки у рыб протекает при температурах близких к 0°C, отсутствии освещенности, почти при полном прекращении питания и резком снижении их двигательной активности. Половые клетки в зимних личниках I стадии зрелости представлены оогониями и ооцитами лептотенной,

зиготенной и ранней диплотенной стадии. В яичниках II стадии, помимо перечисленных клеток, обнаруживаются ооциты I, II, III и IV размерной групп периода превителлогенеза с особой структурной организацией.

I размерная группа (30-75 мкм). В ооцитах этого размера более интенсивно по сравнению с остальной цитоплазмой окрашивается гематоксилином участок околоядерной цитоплазмы у одного полюса ядра. Цитохимическим анализом в таких темноокрашенных участках установлена более высокая концентрация цитоплазматической РНК по сравнению с остальной бледноокрашенной цитоплазмой.

II размерная группа (75-110 мкм). В половых клетках этой группы значительное количество РНК сконцентрировано в перинуклеарной цитоплазме в виде плотного пиронинофильного кольца хорошо заметного на фоне остальной бледноокрашенной цитоплазмы. Соответствующими методами в пределах кольца выявляются комплексы Гольджи и множество липидных капель.

III размерная группа (110-130 мкм). С развитием ооцитов околоядерное кольцо, состоящее из материала богатого РНК, липидных капель и комплексов Гольджи становится шире, а остальной слой цитоплазмы, слабо воспринимающей пиронин, более узким.

IV размерная группа (130-400 мкм). Когда ооциты достигали диаметра 150 мкм пиронинофильное кольцо переставало обнаруживаться. С этого периода на фоне бледноокрашенной цитоплазмы начинало выявляться много плотных интенсивно красящихся на РНК скоплений округлой или неправильной формы диаметром до 8 мкм. Такие скопления цитоплазматической РНК обнаруживались в развивающихся зимних ооцитах в течение всего остального периода превителлогенеза до начала накопления желточных пластинок в периферической цитоплазме. После окраски железным гематоксилином между плотными скоплениями РНК обычно обнаруживается так называемая цитоплазматическая сеть (Вотинов, 1963; Райкова, 1968), особенно заметная после импрегнации серебром по методу да Фано.

Описанный тип структурной организации цитоплазмы ооцитов

у впервые и повторно созревающих стерлядей обнаружен с сентября по май.

(2). Период весенней миграции стерляди к местам нагула.

С повышением температуры от 0,5 до 11°C и началом интенсивного питания стерляди происходили последовательные изменения структурной организации цитоплазмы ооцитов периода превителлогенеза. Они выражались в постепенном исчезновении структур типичных для зимнего периода развития ооцитов. В весенних ооцитах всех размерных групп плотные скопления цитоплазматической РНК начинали прогрессивно фрагментироваться. Материал богатый РНК, входивший в их состав, постепенно рассеивался по цитоплазме ооцитов. Позднее исчезала и цитоплазматическая сеть. К июню цитоплазма ооцитов всех размерных групп периода превителлогенеза уже равномерно воспринимала базофильные красители.

(3). Период летнего нагула стерляди. В летний период температура воды в Иртыше и сорных системах поднимается до 20-22°C. В руслах рек и сорах стерлядь весьма интенсивно питается. В период нагула с июня по сентябрь цитоплазма ооцитов всех размерных групп периода превителлогенеза в половых железах I, II, III, IV и VI стадий зрелости у разновозрастных самок равномерно окрашивалась базофильными красителями, что было связано с равномерным распределением в ней РНК.

(4). Период осенней миграции стерляди к местам зимовки.

Процесс миграции стерляди сопровождается постепенным снижением интенсивности её питания при понижении температуры воды до 2°C. Соответственно изменениям экологических факторов в ооцитах периода превителлогенеза вновь происходили структурные изменения цитоплазмы. Они выражались в том, что в цитоплазме начинали выявляться структуры, характерные для зимнего периода функционирования ооцитов. Так, в сентябре в ооцитах I группы значительное количество РНК начинало локализоваться в виде плотного цитоплазматического скопления у одного полюса ядра. Такие осенние ооциты уже не отличались морфологически от ооцитов I группы зимнего состояния. В ооцитах IV группы сначала возникала цитоплазматическая сеть, типичная для зимних и весенних

ооцитов, а затем значительное количество РНК во многих участках цитоплазмы соединялась в плотные скопления диаметром до 8 мкм.

* * *

Сравнительное цитозоологическое исследование развития половых желез сибирской стерляди показало, что в течение всех периодов её годового биологического цикла на фоне процессов роста и дифференциации ооцитов периода превителлогенеза происходят последовательные сезонные изменения их структурной организации. Эти изменения были связаны в значительной степени с сезонной динамикой распределения цитоплазматической РНК ооцитов. Сезонные изменения структурной организации цитоплазмы рассматриваются в исследовании как морфологическое выражение функциональной реакции растущих ооцитов на изменение экологических условий в годовом биологическом цикле стерляди. На основании полученных фактов в работе сформулировано представление о четырех периодах функционирования ооцитов периода превителлогенеза и половых желез I и II стадий зрелости в целом в ходе годового биологического цикла стерляди:

П е р в ы й период совпадает по времени с зимовкой и прекращением питания ("голодание") стерляди. Морфологической особенностью этого периода функционирования является локализация части цитоплазматической РНК в виде плотных скоплений в определенных участках цитоплазмы в ооцитах разных размерных групп периода превителлогенеза. Функционально зимний тип структурной организации интерпретируется как период замедленного роста ооцитов и развития половых желез.

В т о р о й период наблюдается во время весенней миграции стерляди к местам нагула. В цитоплазме ооцитов можно обнаружить картины перехода от зимнего типа структурной организации к летнему. Функционально этот период можно оценить как период возрастания биосинтетической активности ооцитов.

Т р е т ь и й период имеет место во время летнего нагула стерляди. Морфологически он характеризуется равномерным распределением РНК по всему объёму цитоплазмы и функционально интерпре-

тируется как период интенсивного развития ооцитов и желез.

Четвертый период совпадает по времени с осенней миграцией стерляди к местам зимовки. В течение этого периода можно обнаружить картины последовательного перехода от летнего типа структурной организации цитоплазмы ооцитов к зимнему. По-видимому функционально этот период можно оценить как постепенное снижение биосинтетической активности ооцитов.

Это представление, сформулированное на основании данных световой микроскопии, хорошо подтверждено результатами электронномикроскопического исследования.

III. Распределение и метаболическая активность оргanelл, содержащих РНК, и рибосом в цитоплазме ооцитов периода превителлогенеза в зимний и летний периоды их развития. Краткая характеристика ядрышек зимних и летних ооцитов.

В зимних ооцитах I - III групп в районах цитоплазмы высокой концентрацией РНК обнаружено много дискретных или соединенных друг с другом плотных скоплений различной формы. Скопления состояли из плотных фибрилл и фиброгранулярных нитей (скопления РНП - материала I типа). В ооцитах I группы скопления концентрировались на сравнительно небольшом участке матрикса цитоплазмы у одного полюса ядра, который давал интенсивную реакцию на РНК при исследовании в световом микроскопе. В ооцитах II и III групп скопления такого типа часто соединялись в длинные цепочки и вместе с липидными каплями, митохондриями и комплексами Гольджи и опоясывали ядро в виде более или менее широкого околоядерного кольца, заметного и в световом микроскопе. В дальнейшем ходе превителлогенеза отмечается прогрессивное сокращение плотных фибриллярных и фиброгранулярных скоплений. В ооцитах диаметром 400 мкм они уже изредка встречались в перинуклеарной цитоплазме.

В зимних ооцитах диаметром 150-400 мкм IV группа в цитоплазме появлялись несколько иные образования. В ооцитах диаметром 150 мкм они состояли преимущественно из фибрилл, фиброгранулярных нитей и сравнительно небольшого числа рибосом (скопле-

ния РНП – материала II типа). С ростом ооцитов в матриксе окружающем скопления отмечено возрастание числа рибосом и соответственное сокращение численности фибрилл и фиброгранулярных нитей. Адекватно ^{этому} процессу в плотных скоплениях II типа синхронно изменялось количественное соотношение органелл, богатых РНК: количество рибосом в них увеличивалось, а численность фибрилл и фиброгранулярных нитей сокращалось. Когда ооциты достигали диаметра 400 мкм, скопления состояли в основном из рибосом.

В цитоплазме зимних ооцитов диаметром 822–870 мкм с продвинутым вителлогенезом в электронном микроскопе плотные скопления II типа уже не встречались.

В летних ооцитах I–III групп скопления из фибрилл и фиброгранулярных нитей (скопления I типа) были значительно меньше по размеру и встречались в меньшем количестве по сравнению с такими в зимних ооцитах. В летний период эти скопления, липидные капли и комплексы Гольджи располагались на большом расстоянии друг от друга и не формировали локальных концентраций в перинуклеарной цитоплазме.

В летних ооцитах IV группы фибриллы, фиброгранулярные нити и рибосомы равномерно распределялись в цитоплазматическом матриксе. Скоплений II типа из этих органелл не встречалось.

Для более объективной оценки функционального состояния ооцитов изучали краевые ядрышки и пиноцитозную активность половых клеток.

В зимний период у части краевых ядрышек ооцитов замечены следующие ультраструктурные изменения: полная или частичная утрата гранулярного компонента; появление выхлоупакованных участков в фибриллярной части, а нередко и обширных областей с очень низкой электронной плотностью; утрата четких очертаний у фибрилл и гранул, после чего они обнаруживались в виде темных пятен в фибриллярной части. Эти изменения видимо связаны с сильной ингибцией синтеза рибосомной (р) РНК в ядрышках ооцитов.

Они напоминали ядрышки соматических клеток в которых синтез РНК был ингибирован термическим шоком (Simard a. Bernhard, 1967).

В летний период в ядрышках интенсивно развивается гранулярный компонент и, очевидно, такие органеллы начинают активно синтезировать р РНК. С ростом ооцитов и дальнейшим развитием нуклеолярного аппарата у значительной части дополнительных краевых ядрышек начинает преобладать в объемном соотношении гранулярный компонент. Когда ооциты достигали диаметра 350-400 мкм, большинство нуклеол обладало сильно развитым, гипертрофированным гранулярным компонентом, свидетельствующем, очевидно, о высоком уровне синтеза в рРНК. Соответственно развитию ядрышкового аппарата отмечается возрастание численности рибосом в цитоплазме.

На летних ооцитах показана судьба первичного ядрышка в преемствителлогенезе. Отмечается, что с развитием ядрышкового аппарата в молодых ооцитах диаметром примерно 150 мкм первичное ядрышко сильно вакуолизируется, принимает кольцеобразный профиль и распадается на мелкие тельца - фрагменты, которые впоследствии перемещались к периферии ядра. Их функция неясна.

Как показало электронномикроскопическое исследование в зимний период функционирования ооцитов сибирской стерляди микропиноцитоз посредством так называемых (Roth a. Porter, 1964; Drober a. Roth, 1966) каёмчатых пузырьков диаметром до 110 нм происходил медленно и в небольшом масштабе, а транспорт питательных веществ посредством пиноцитозных вакуолей не осуществлялся вовсе. В летний период показан интенсивный транспорт питательных веществ посредством пиноцитозных вакуолей диаметром до 4 мкм и каёмчатых микропузырьков. Наиболее характерной чертой зимних ооцитов I-III групп (диаметр 30-130 мкм) сибирской стерляди является аккумуляция фибриллярного и фиброгранулярного материала (вероятно низкомолекулярной РНК) в виде плотных скоплений I типа в перинуклеарной цитоплазме. Зоны концентрации скоплений интенсивно окрашивались на РНК при исследовании в световом микроскопе. Кажется вероятным, что материал этих

скоплений в течение всего зимнего периода функционирования ооцитов остается в неактивном состоянии. В летний период функционирования ооцитов происходила фрагментация скоплений I типа, вероятно активация их материала и его использование интенсивно растущими ооцитами. Видимо эти факты отражают сезонную динамику накопления РНК, синтезированной хромосомами и её использование развивающимися ооцитами стерляди.

В зимних ооцитах IV группы (диаметром 150–400 мкм) обнаружены скопления II типа. Они существенно отличались от образований, состоящих из органелл богатых РНК, описанных в ооцитах других видов животных (Taddei, 1972; Wegmann u. Götting, 1971; Beams a. Kessel, 1973; и др.) Это позволило отнести их к новому типу сезонных образований.

В функциональном аспекте образование плотных скоплений II типа очевидно можно рассматривать как регуляторный клеточный механизм, посредством которого часть рибосом в период резкого снижения поступления питательных веществ в зимние ооциты исключается из участия в синтезе белка.

Таким образом, ультраструктурное исследование распределения органелл, содержащих РНК, в зимних и летних ооцитах периода превителлогенеза подтвердило данные по сезонной динамике распределения цитоплазматической РНК, полученные в световом микроскопе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты цитозекологического исследования развития воспроизводительной системы сибирской стерляди в ходе её годового цикла позволяют заключить, что биосинтетическая активность развивающихся ооцитов периода превителлогенеза, а следовательно и темп развития половых желез ранних стадий зрелости в целом изменяются под воздействием экологических факторов.

Светомикроскопические картины цитоплазмы ооцитов периода превителлогенеза сибирской стерляди в зимний период функционирования морфологически сходны с таковыми, описанными в ооцитах костистых рыб (Lams, 1904; Гербильский, 1939; Кузьмин, 1957;

Вотинов, 1963; Персов, 1966, 1968, 1975; Негоновская, 1966; и др.). Эти факты дают основание заключить, что у рыб, населяющих водоёмы умеренных и северных широт, концентрация части РНК и других оргanelл в определенных участках цитоплазмы ооцитов представляет широко распространенное явление. В ооцитах сибирской стерляди, как и у некоторых костистых (Гербильский, 1939; Кузьмин, 1957), это явление носило сезонный характер.

Материалы, полученные в настоящем исследовании позволяют заключить, что образование плотных скоплений из структур, содержащих РНК, и рибосом, прекращение процесса пиноцитоза и сокращение микропиноцитоза, снижение функциональной активности краевых ядрышек ооцитов представляют основные элементы единого клеточного механизма, посредством которого происходит переход ооцитов в состояние крайне низкой биосинтетической активности под воздействием экологических факторов, которое продолжается в условиях Сибири 6-7 месяцев. В летний период плотные скопления из структур богатых РНК и рибосом фрагментируются. Рибосомы, входившие в их состав, равномерно распределяются в матриксе и начинают вероятно активно синтезировать молекулы белков; ооциты начинают интенсивно поглощать питательные вещества посредством пиноцитозных вакуолей и каёмчатых микропузырьков; ядрышки, в которых синтез рРНК в течение зимнего периода был ингибирован, начинают активно функционировать. Такое состояние повышенной биосинтетической активности продолжается в течение всего периода летнего нагула стерляди. Таковы внутриклеточные механизмы реакции половых клеток сибирской стерляди на сезонные изменения экологических факторов.

Представление о четырех периодах функционирования ооцитов периода превителлогенеза и половых желез ранних стадий зрелости объясняет на клеточном уровне причины позднего полового созревания и большой продолжительности периода между нерестами у сибирской стерляди. Уже отмечалось, что в течение 6-7 месяцев зимнего периода биосинтетическая активность ооцитов превителлогенеза ингибирована, и лишь в течение 3-4 месяцев летнего периода они интенсивно растут. Это приводит к позднему половому

созреванию (6-8 и более лет) и большой продолжительности периода между нерестами (не менее 3-4 лет). В этой связи логично предположить, что у сибирской стерляди зимний период функционирования ооцитов будет продолжительнее, а летний короче по сравнению с соответствующими периодами функционирования ооцитов у стерляди, населяющей нижнее течение Волги. Этим, очевидно, могут объясняться причины внутривидовой дифференциации в продолжительности половых циклов у подвидов, населяющих северные и южные районы ареала и относительно позднее созревание северных подвидов.

Материалы данной работы, вероятно, могут быть использованы и при прогнозировании возможной скорости развития воспроизводительной системы у рыб при их акклиматизации в водоемах с более "мягкими" или "суровыми" гидрологическими условиями по сравнению с условиями исходного водоема.

ВЫВОДЫ

1. В ходе годового развития в ооцитах периода превителлогенеза сибирской стерляди происходят сложные сезонные изменения их структурной организации, сходные с таковыми, описанными в ооцитах этого периода у костистых рыб.

2. Эти изменения в значительной степени связаны с распределением цитоплазматической РНК: в зимний период развития ооцитов часть этой РНК соединяется в виде плотных локальных скоплений; в летний - РНК равномерно распределяется по объёму цитоплазмы.

3. Показанные на световом и электронномикроскопическом уровнях сложные сезонные изменения в распределении и функциональной активности цитоплазматических структур, содержащих РНК, и рибосом; функциональной активности краевых ядрышек и пиноцитозной и микропиноцитозной активности развивающихся ооцитов периода превителлогенеза сибирской стерляди следует рассматривать как основные элементы единого клеточного меха-

низма, посредством которого под воздействием экологических факторов ооциты переходят в состояния различной биосинтетической активности.

4. У сибирской стерляди в ходе годового развития ооцитов периода превителлогенеза можно выделить четыре периода их функционирования: I-й - период замедленного роста (с октября по апрель); II-й - период возрастания биосинтетической активности ооцитов (май); III-й - период интенсивного роста ооцитов (с июня по сентябрь); IV-й - период снижения биосинтетической активности (сентябрь).

5. Представленные данные о внутриклеточных механизмах реакции развивающихся ооцитов периода превителлогенеза на сезонные воздействия экологических факторов можно использовать для решения задач, связанных с регуляцией роста ооцитов периода превителлогенеза у рыб.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Картины сезонных изменений развивающихся ооцитов периода превителлогенеза сибирской стерляди, показанные в данном исследовании, рекомендуется использовать как морфологические критерии для оценки функционального состояния растущих ооцитов этого периода и темпа развития половых желез ранних стадий зрелости у природных популяций осетровых рыб, а также при их акклиматизации, разведении и товарном выращивании в прудовых, заводских и экспериментальных условиях. Очевидно такой принцип морфофункциональной идентификации развивающихся ооцитов периода превителлогенеза может быть использован при анализе развития воспроизводительной системы у костистых рыб.

2. Скорость роста ооцитов периода превителлогенеза можно регулировать путем изменения температурных параметров воды, в которой выращивается стерлядь

- а) для ингибции биосинтетических процессов в ооцитах температуру воды следует понижать от 8 до 9,5°C;
- б) при повышении температуры воды от 8 до 12°C интенсивность

биосинтетических процессов в половых клетках будет постепенно возрастать;

- в) при повышении температуры воды до 22° и обильном кормлении стерляди интенсивность биосинтетических процессов в ооцитах будет сильно возрастать.

Эти факты следует учитывать при регуляции скорости развития половых желез ранних стадий зрелости и роста стерляди.

Работы, опубликованные по теме диссертации:

1. Кондратьев А. К. 1974. Осмиофильные элементы в ооцитах сибирской стерляди. Тез. отчет. сессии ЦНИОРХ. Астрахань: 67-68.
2. Вотинов Н. П., Еньшина С. А., Кондратьев А. К. 1975. Состояние запасов стерляди в Обь-Иртышском бассейне и мероприятия по их увеличению. Тез. докл. науч.-практ. конф. СибрыбНИИпроект по развитию Тюменского рыбопромышлен. комплекса. Тюмень: 18-20.
3. Кондратьев А. К. 1975. Сроки полового созревания и периодичность нереста самок стерляди бассейна р. Иртыш. Там же: 28-30.
4. Кондратьев А. К. 1977. Состояние ооцитов периода превителлогенеза у сибирской стерляди в зимний и летний периоды. Изв. Государст. н.-иссл. ин-та озерн. и речн. рыбн. хоз-ва, т. III: 28-40.

Кондратьев