

## ВЛИЯНИЕ Пониженной температуры на включение <sup>3</sup>H-уридина в развивающиеся ооциты мозамбикской тилапии

© Д. А. Чмилевский

Биологический научно-исследовательский институт С.-Петербургского государственного университета,  
Старый Петергоф;  
электронный адрес: ichtyol1943@mail.ru

С помощью <sup>3</sup>H-уридина (<sup>3</sup>HУ) изучена динамика синтеза РНК в развивающихся ооцитах мозамбикской тилапии в норме и при воздействии пониженной температуры. Контрольных рыб выращивали при 25—26 °С, подопытных — при 19—21 °С. До введения предшественника подопытных рыб содержали 5 сут при пониженной температуре. Затем контрольным и подопытным рыбам вводили <sup>3</sup>HУ в дозе  $37 \cdot 10^4$  Бк на 1 г массы и опыт продолжали еще 5 сут. Рыб фиксировали через 8 ч, 1, 2 и 5 сут после введения предшественника. Через 8 ч у контрольных рыб наблюдали интенсивное включение предшественника в карิโอплазму ооцитов фазы раннего превителлогенеза и быстрое выведение меченой РНК в цитоплазму. Ядрышки ооцитов фазы первоначального накопления желтка интенсивно включали <sup>3</sup>HУ. Через 1, 2 и 5 сут после введения наблюдали увеличение интенсивности включения метки в цитоплазму в ооцитах всех фаз развития. В ооцитах подопытных рыб отмечали снижение интенсивности синтеза РНК. Это связано с замедленным поступлением <sup>3</sup>HУ в гонады подопытных рыб, снижением интенсивности синтеза РНК на хромосомах и в ядрышках, замедленной миграцией меченой РНК из ядра в цитоплазму.

Ключевые слова: оогенез, мозамбикская тилапия, автордиография, синтез РНК, воздействие пониженной температуры.

Температура является важнейшим контролирующим фактором внешней среды. Температурные границы размножения вида и выживаемость, особенно на ранних стадиях развития, являются одними из основных показателей, лимитирующих ареал его расселения и динамику численности. Для рыб как пойкилотермных животных характерно не только опосредованное влияние температуры на гонады через системы внутренних органов (нейроэндокринную, кровеносную, пищеварительную и выделительную) и процессы обмена, но и ее прямое воздействие. В связи с этим ранее была выполнена серия исследований по влиянию пониженных (Захарова, Чмилевский, 1984, 1985; Чмилевский, Лаврова, 1990; Чмилевский, 1994, 1995, 1996) и повышенных (Лаврова, Чмилевский, 1987; Чмилевский, 1998) температур на рыб, содержащих в гонадах ооциты различных фаз развития.

На светооптическом уровне охарактеризованы изменения морфологии и количественного состава ооцитов под влиянием пониженной температуры. Выполнен анализ изменений в гонадах от момента воздействия до состояния, близкого к созреванию рыб. Однако, несмотря на четкие морфологические преобразования в цитоплазме превителлогенных ооцитов после воздействия пониженной температуры, происходящие в них биосинтетические процессы до сих пор не изучены. Кроме этого, реакция ооцитов различных фаз развития на упомянутое воздействие может различаться.

Цель работы — с помощью <sup>3</sup>HУ изучить динамику синтеза РНК в развивающихся ооцитах мозамбикской ти-

ляпии в связи с отсутствием данных о влиянии пониженной температуры на биосинтетические процессы в развивающихся ооцитах рыб.

### Материал и методика

Для экспериментов использованы 130-суточные самки мозамбикской тилапии *Oreochromis mossambicus* Peters. Контрольных рыб содержали при 25—26 °С, подопытных — при 19—21 °С. Ранее было показано (Чмилевский, Лаврова, 1990; Чмилевский, 1994, 1995, 1996), что для линии мозамбикской тилапии, культивируемой в лаборатории ихтиологии Биологического института, такие температуры являются пороговыми пониженными. Они задерживают развитие гонад и рост рыб. В течение эксперимента рыб кормили измельченным мотылем. Продолжительность эксперимента составляла 10 сут. Из них 5 сут до введения предшественника подопытных рыб содержали при пониженной температуре, затем контрольным и подопытным рыбам вводили внутрибрюшинно <sup>3</sup>HУ в дозе  $37 \cdot 10^4$  Бк (10 мКи) на 1 г массы и опыт продолжали еще 5 сут. Динамика температур проиллюстрирована на рис. 1.

Контрольных и подопытных рыб фиксировали через 8 ч, 1, 2 и 5 сут после введения предшественника. В качестве фиксатора использовали жидкость Карнуа. После обычной гистологической обработки на препараты наносили эмульсию типа М в разведении 1 : 4. Время экспози-

ции автографов составляло 1 мес, после этого их проявляли, используя проявитель Д-19. Время проявления 4—5 мин при 17.5 °С. Для количественной обработки отбирали рыб с однотипным состоянием гонад, которые содержали в качестве старшей генерации ооциты в фазе первоначального накопления желтка (Kraft, Peters, 1963; Чмилевский и др., 1995). В контрольном и опытном вариантах на каждый срок после введения предшественника зафиксировано по 3—4 рыбы. Однако для количественной оценки полученных результатов использованы лишь 2—3 рыбы с однотипным состоянием гонад. В результате проведенного отбора для количественной оценки на срок 8 ч после введения предшественника использованы 2 контрольные и 2 подопытные рыбы, 1 сут — 3 контрольные и 2 подопытные, 2 сут — 2 и 3 соответственно, 5 сут — 2 и 2.

Центральные срезы ооцитов всех фаз развития зарисовывали на плотной бумаге и подсчитывали количество зерен восстановленного серебра над ядрышками и определенными участками кариоплазмы и цитоплазмы. Затем их бумажные модели взвешивали на торсионных весах и вычисляли относительное число зерен в указанных частях ооцитов к весу их бумажных моделей. Эта величина характеризует относительную радиоактивность указанных структур. У каждой рыбы обработано по 10 ооцитов фаз раннего, среднего и позднего превителлогенеза и первоначального накопления желтка соответственно. Для ооцитов всех фаз у каждой рыбы вычисляли среднюю и ошибку средней. Затем, используя способ объединенных выборок (Лакин, 1973), вычисляли выборочную ошибку средней ( $m_{\text{ср}}$ ). Значимость различий оценена с использованием  $t$ -критерия Стьюдента. Микрофотографии выполнены с использованием приборной базы центра «Хромас» БиНИИ СПбГУ.

## Результаты

Включение  $^3\text{H}$ -уридина в гонады контрольных тилапий (рис. 2, 3). Через 8 ч после введения  $^3\text{H}$ У включался в ядра ооцитов всех фаз развития, фолликулярных и соединительнотканых клеток. Ооциты фазы раннего превителлогенеза характеризуются наибольшей относительной радиоактивностью кариоплазмы и цитоплазмы по сравнению с ооцитами всех остальных фаз  $P < 0.0001$  (рис. 2; 3, а, б). Ядрышки включали метку преимущественно в периферические участки. Ооциты фазы среднего превителлогенеза имеют относительную радиоактивность кариоплазмы больше, чем ооциты фазы позднего превителлогенеза и фазы первоначального накопления желтка, и более высокую относительную радиоактивность цитоплазмы, чем ооциты фазы первоначального накопления желтка ( $P < 0.0001$ ). Ядрышки включали метку преимущественно в периферические участки (рис. 3, в, г). Ооциты фазы позднего превителлогенеза имеют относительную радиоактивность ядрышек более высокую, чем ядрышки ооцитов фазы среднего превителлогенеза; относительная радиоактивность цитоплазмы была такой же, как и в ооцитах фазы среднего превителлогенеза. В ооцитах фазы первоначального накопления желтка отмечается наибольшая радиоактивность ядрышек по сравнению с ооцитами других фаз, но наименьшая радиоактивность цитоплазмы ( $P < 0.0001$ ). В ооцитах этой фазы отдельные ядрышки различались по локализации метки: в крупные ядрышки  $^3\text{H}$ У включался по всему

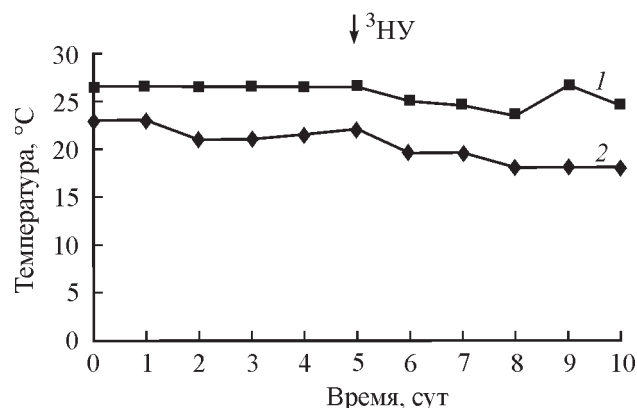


Рис. 1. Динамика температуры в течение опыта.

Стрелкой показано время введения  $^3\text{H}$ -уридина ( $^3\text{H}$ У). 1 — контроль, 2 — опыт.

объему (рис. 3, д), в мелкие — только в периферические участки. Включение в цитоплазму было меньше, чем в превителлогенных ооцитах (рис. 3, е).

Через 1 сут после введения  $^3\text{H}$ У характер локализации метки не изменился (рис. 3, ж, з). Однако в результате активных процессов выведения метки из ядрышек ооцитов фазы первоначального накопления желтка (рис. 2) различия в относительной радиоактивности ядрышек этой фазы и фазы позднего превителлогенеза стали незначимыми ( $P < 0.05$ ). Увеличилась относительная радиоактивность цитоплазмы ооцитов фазы первоначального накопления желтка ( $P < 0.001$ ). Относительная радиоактивность ядрышек и кариоплазмы значимо уменьшилась в ядрышках и кариоплазме ооцитов фазы раннего, среднего и позднего превителлогенеза ( $P < 0.0001$ ). Некоторое снижение относительной радиоактивности цитоплазмы ооцитов фазы раннего превителлогенеза незначимо ( $P < 0.05$ ).

Процесс выведения меченой РНК из ядрышек был наиболее выражен через 2 сут после введения  $^3\text{H}$ У, особенно это было заметно для ооцитов фазы позднего превителлогенеза ( $P < 0.001$ ) и первоначального накопления желтка (рис. 2). В ооцитах фаз раннего и среднего превителлогенеза ядрышки содержали метку не только в периферических участках, но и по всему объему. В ооцитах фазы раннего превителлогенеза отмечалась наибольшая относительная радиоактивность кариоплазмы и цитоплазмы по сравнению с ооцитами других фаз. Различия значимы ( $P < 0.0001$ ).

Через 5 сут после введения предшественника процесс миграции меченой РНК из ядрышек и кариоплазмы продолжался, а ее количество в цитоплазме увеличивалось. Особенно интенсивно этот процесс происходил в ядрышках ооцитов фаз позднего превителлогенеза и первоначального накопления желтка  $P < 0.0001$  (рис. 2; 3, и). Выведение метки из кариоплазмы было наиболее активным в ооцитах фазы раннего превителлогенеза ( $P < 0.0005$ ). В ооцитах всех фаз отмечалось значимое увеличение относительной радиоактивности цитоплазмы.

Наибольшая радиоактивность кариоплазмы и цитоплазмы по сравнению с ооцитами других фаз отмечалась для ооцитов фазы раннего превителлогенеза ( $P < 0.0001$ ). Ядрышки и кариоплазма ооцитов фазы среднего превителлогенеза имели большую относительную радиоактивность по сравнению с таковыми ооцитов фазы первоначального накопления желтка ( $P < 0.0001$ ), что свидетельствует о слабом выведении метки в ооцитах этой фазы.

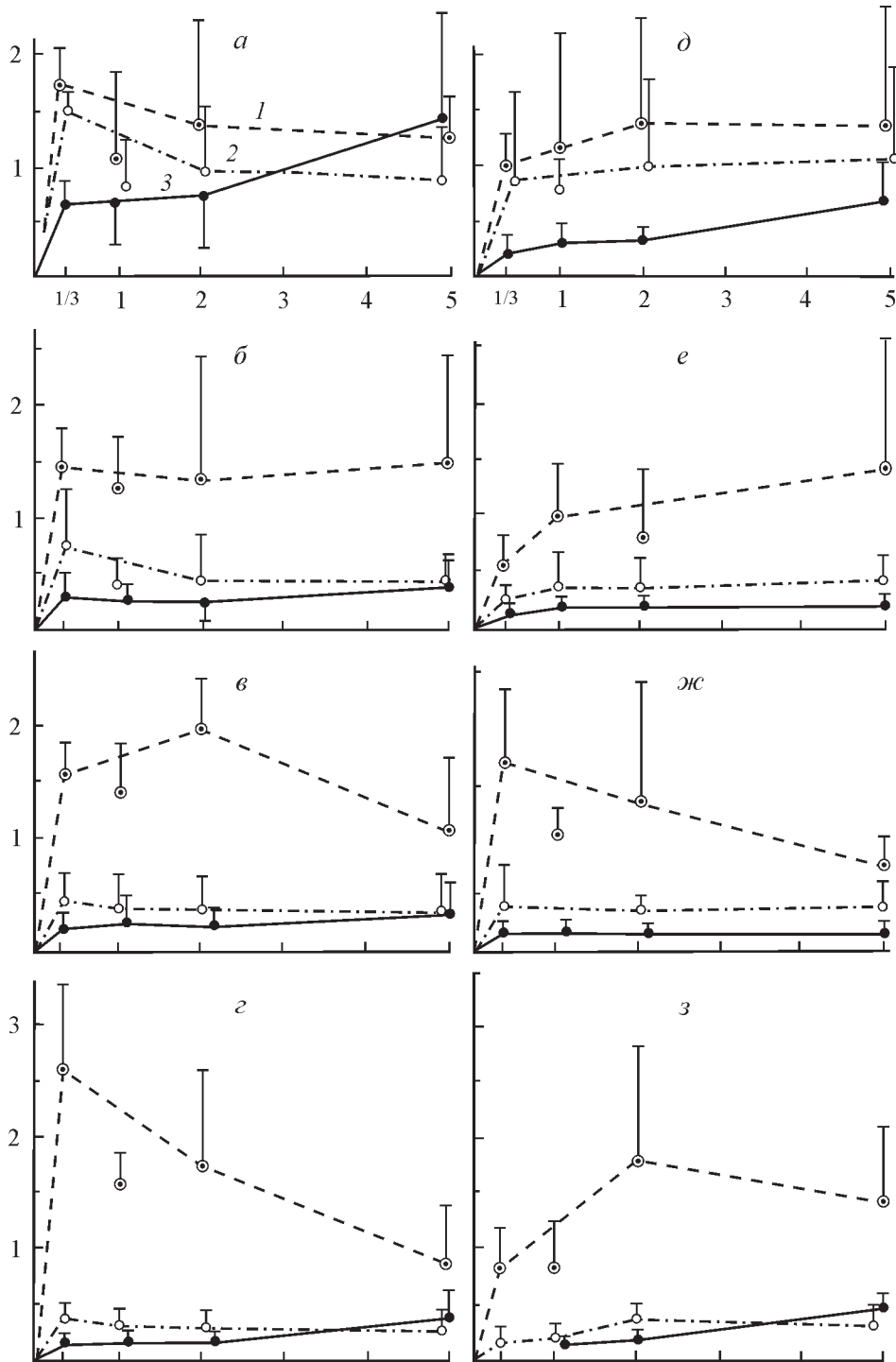


Рис. 2. Динамика включения  $^3\text{H}$ -уридина ( $^3\text{HУ}$ ) в развивающиеся ооциты мозамбикской тилапии при нормальной и пониженной температурах.

По оси абсцисс — время, сут; по оси ординат — относительная активность в синтезе РНК (отношение количества зерен к массе бумажных моделей) ядрышек, карิโอплазмы и цитоплазмы. а—г — ооциты фаз раннего, среднего, позднего превителлогенеза и первоначального накопления желтка контрольных рыб соответственно; д—з — ооциты тех же фаз развития подопытных рыб. 1 — ядрышки, 2 — карิโอплазма, 3 — цитоплазма. Вертикальные отрезки — 95%-ные доверительные интервалы средних значений.

Включение  $^3\text{H}$ -уридина в гонады подопытных тилапий (рис. 2, 4). Как и у контрольных рыб, через 8 ч после введения  $^3\text{HУ}$  включался в ядра ооцитов всех фаз развития и соматических клеток. Ядрышки включали предшественник только в периферические участки. Интенсивность включения метки по сравнению с контрольными рыбами была меньше (рис. 2). Так, в

ооцитах фазы раннего превителлогенеза включение в ядрышки было в 1.5 раза меньше, в карิโอплазму — в 1.7 раза и в цитоплазму — в 3 раза меньше. В ооцитах фаз среднего и позднего превителлогенеза эти показатели для ядрышек и карิโอплазмы были в 2 раза меньше. В ооцитах фазы первоначального накопления желтка число зерен восстановленного серебра в ядрышках было в 3 раза ме-

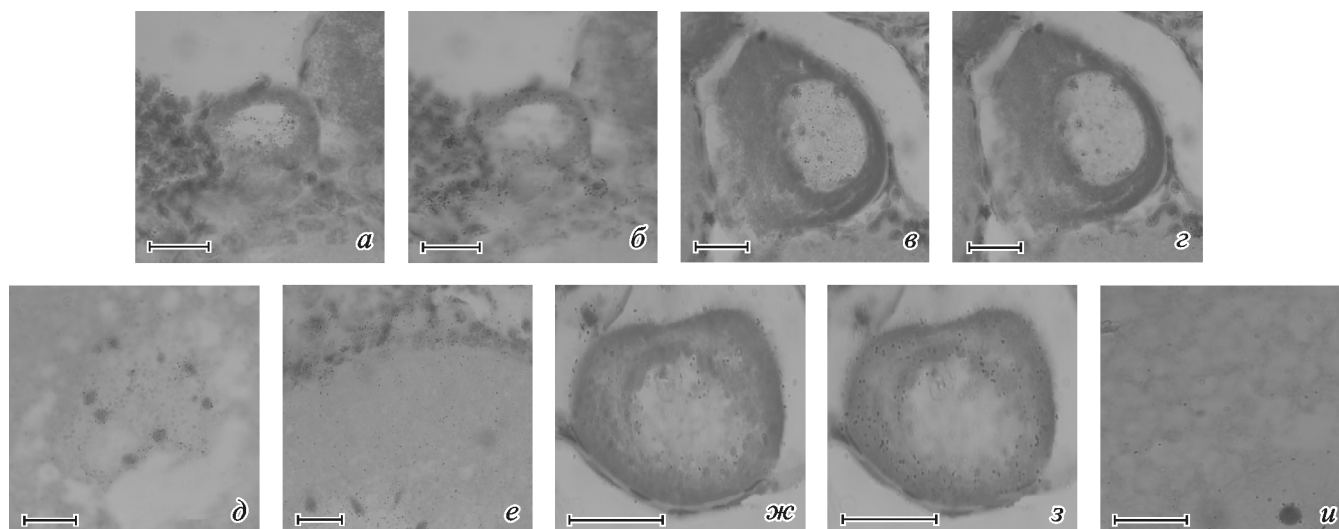


Рис. 3. Включение  $^3\text{H}$ -уридина ( $^3\text{H}\text{У}$ ) в развивающиеся ооциты мозамбикской тилляпии при нормальной температуре.

*a* — ооцит фазы раннего превителлогенеза. Интенсивное мечение карิโอплазмы (фокус на ядро). *б* — тот же ооцит, что на фото *a* (фокус на цитоплазму); высокая концентрация зерен серебра свидетельствует о быстром выведении меченой РНК в цитоплазму. *в* — ооцит фазы среднего превителлогенеза, включение  $^3\text{H}\text{У}$  в периферические участки некоторых ядрышек. *г* — тот же ооцит, что на фото *в* (фокус на цитоплазму); незначительное включение  $^3\text{H}\text{У}$  в цитоплазму. *д* — ооцит фазы первоначального накопления желтка; метка локализована как по всему объему ядрышек, так и в их периферических участках. *е* — ооцит той же фазы; фокус на цитоплазму; заметно включение метки в цитоплазму и фолликулярные клетки. *a–e* — 8 ч после введения  $^3\text{H}\text{У}$ . *ж*, *з* — ооцит фазы среднего превителлогенеза; увеличение интенсивности включения метки в цитоплазму; фокус на ядро и цитоплазму соответственно; 1 сут после введения  $^3\text{H}\text{У}$ . *и* — ооцит фазы первоначального накопления желтка; снижение интенсивности включения метки в ядрышки, что происходит за счет ее выведения в цитоплазму; 5 сут после введения  $^3\text{H}\text{У}$ . Масштабные линейки — 50 мк.

ныше, чем в карิโอплазме — в 4 раза меньше по сравнению с ооцитами аналогичной фазы у контрольных рыб. Метка над цитоплазмой была на уровне фона (рис. 2, 4). Относительная радиоактивность ядрышек, карิโอплазмы и цитоплазмы ооцитов фазы раннего превителлогенеза была значимо больше, чем в ооцитах всех остальных фаз ( $P < 0.0001$ ). Относительная радиоактивность карิโอплазмы ооцитов фазы среднего превителлогенеза была больше радиоактивности фаз позднего превителлогенеза и

фазы первоначального накопления желтка. Относительная радиоактивность ядрышек, напротив, была больше в двух последних фазах. Все различия значимы.

Через 1 сут в ооцитах всех фаз развития метка над некоторыми ядрышками была распределена по всему объему; ее интенсивность увеличивалась. Включение в карิโอплазму сохранялось на прежнем уровне. Интенсивность включения над цитоплазмой несколько увеличивалась (рис. 2). Характерно, что в ооцитах фазы раннего превителлогенеза

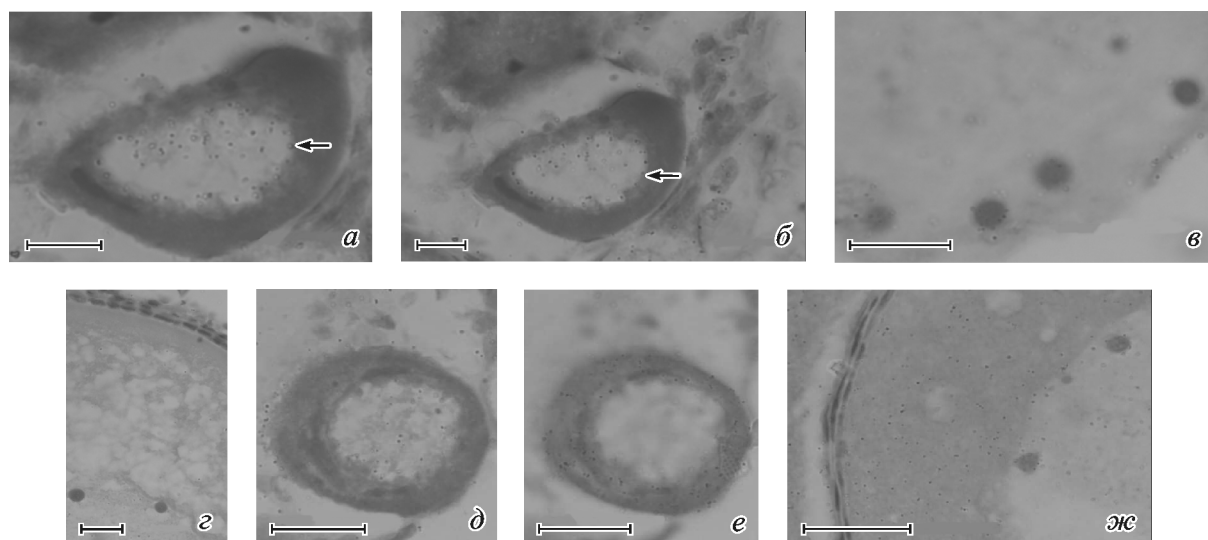


Рис. 4. Включение  $^3\text{H}$ -уридина ( $^3\text{H}\text{У}$ ) в развивающиеся ооциты мозамбикской тилляпии после воздействия пониженной температуры.

*a*, *б* — ооцит фазы раннего превителлогенеза; включение в карิโอплазму и цитоплазму менее интенсивное, чем в ооцитах сходной фазы контрольных рыб; заметна локализация метки в околоядерных участках цитоплазмы (стрелки); фокус на ядро и цитоплазму; 1 сут после введения  $^3\text{H}\text{У}$ . *в*, *г* — ооцит фазы первоначального накопления желтка; слабое включение  $^3\text{H}\text{У}$  в ядрышки и цитоплазму; 1 сут после введения  $^3\text{H}\text{У}$ ; фокус на ядро и цитоплазму. *д*, *е* — ооцит фазы раннего превителлогенеза; увеличение концентрации метки в цитоплазме; фокус на ядро и цитоплазму; 5 сут после введения  $^3\text{H}\text{У}$ . *ж* — ооцит фазы первоначального накопления желтка; увеличение концентрации метки в цитоплазме; 5 сут после введения  $^3\text{H}\text{У}$ . Масштабные линейки — 50 мкм.



теллогенеза метка была сосредоточена у внутренней и внешней сторон ядерной оболочки (рис. 4, а, б). В ооцитах фазы раннего превителлогенеза относительная радиоактивность карิโอплазмы и цитоплазмы была значимо больше, чем в ооцитах других фаз ( $P < 0.0001$ ). Различия в относительной радиоактивности ядрышек были незначимыми. Относительная радиоактивность карิโอплазмы ооцитов фазы среднего превителлогенеза была больше, чем ооцитов фазы позднего превителлогенеза и фазы первоначального накопления желтка. Относительная радиоактивность ядрышек ооцитов фазы первоначального накопления желтка была значимо меньше, чем ооцитов фаз среднего и позднего превителлогенеза ( $P < 0.0001$ ). Ядрышки слабо включали  $^3\text{HУ}$  (рис. 4, в). Включение  $^3\text{HУ}$  в цитоплазму было незначительным (рис. 4, г). Различия в относительной радиоактивности цитоплазмы ооцитов фаз среднего и позднего превителлогенеза и первоначального накопления желтка были незначимыми.

Через 2 сут после введения  $^3\text{HУ}$  характер включения предшественника сохранялся прежним. В ооцитах фазы раннего превителлогенеза сходно с предыдущим сроком сохранялась наиболее высокая радиоактивность карิโอплазмы и цитоплазмы ( $P < 0.0001$ ). Различия в относительной радиоактивности карิโอплазмы и цитоплазмы между ооцитами фаз среднего и позднего превителлогенеза и первоначального накопления желтка были незначимыми. Относительная радиоактивность ядрышек была наиболее высокой в ооцитах фазы первоначального накопления желтка (рис. 2).

Через 5 сут после введения  $^3\text{HУ}$  интенсивность метки над карิโอплазмой в ооцитах всех фаз развития сохранялась на прежнем уровне. Выведение метки из ядрышек было слабо выражено лишь для ооцитов фазы первоначального накопления желтка, в ооцитах остальных фаз число зерен либо сохранялось на прежнем уровне (ооциты фаз раннего и среднего превителлогенеза), либо увеличивалось — в ооцитах фазы позднего превителлогенеза (рис. 2). В ооцитах фазы раннего превителлогенеза, как и через 2 сут после введения предшественника, отмечалось наиболее высокая радиоактивность цитоплазмы по сравнению с ооцитами других фаз. В результате выведения меченой РНК из ядрышек отмечалось увеличение относительной радиоактивности цитоплазмы в ооцитах всех фаз развития (рис. 4, д—ж). Снижение относительной радиоактивности ядрышек было наиболее выраженным для ооцитов фаз позднего превителлогенеза и первоначального накопления желтка ( $P < 0.0001$ ), что отражает процесс активного выведения меченой РНК (рис. 2).

### Обсуждение

В настоящее время в результате морфологических и биохимических исследований на представителях амфибий и рыб хорошо изучены преобразования цитоплазм и ядрышек в ходе оогенеза и изменения в составе синтезированной РНК (Райкова, 1968; Scharrer, Wurzelmann, 1969; Чмилевский, 1971; Mazabraud et al., 1975; Raikova, 1976; Denis, Wegnez, 1977; Thiebaud, 1979; Azevedo, Coimbra, 1980; Чмилевский, Каменева, 2001). Существенным недостатком является ограниченное число видов, на которых они проведены. Это особенно заметно для класса рыб, самого многочисленного среди позвоночных, представители которого обитают в разнообразных условиях и различаются различной экологией нереста. В предыду-

щей статье (Чмилевский, Каменева, 2001) описаны характерные изменения морфологии ядрышек в ходе оогенеза мозамбикской тилапии и возрастание активности в синтезе РНК в ядрышках при вступлении ооцитов в период вителлогенеза, характерное для всех изученных рыб и амфибий. Для ооцитов фазы раннего превителлогенеза мозамбикской тилапии отмечены интенсивное включение  $^3\text{HУ}$  в кариплазму и быстрое выведение меченой РНК в цитоплазму. По данным Пераццолло с соавторами, в ходе превителлогенеза синтезируется информационная РНК для белков-рецепторов вителлогенина (Perazzolo et al., 1999). Следует отметить, что способ включения  $^3\text{HУ}$  в ядрышки ооцитов мозамбикской тилапии, характеризующий локализацию ядрышковой ДНК, имел определенные особенности по сравнению с развивающимися ооцитами ерша (Чмилевский, 1971). Так, в превителлогенных ооцитах ерша  $^3\text{HУ}$  включался только в периферические участки, тогда как у тилапии на поздних сроках после введения метка была локализована по всему их объему. Напротив, в вителлогенных ооцитах  $^3\text{HУ}$  включался как по всему объему ядрышек, так и в периферические участки некоторых из них. Различия в интенсивности синтеза РНК в ядрышках превителлогенных и вителлогенных ооцитов мозамбикской тилапии были не так велики, как в ооцитах ерша. Вакуоли в ядрышках в развивающихся ооцитах тилапии появляются в фазе среднего превителлогенеза, тогда как у ерша — в ооцитах фазы вакуолизации периода вителлогенеза. Особенно выражена вакуолизация ядрышек в ооцитах усача *Barbus barbuis* (Thiry, Poncin, 2005).

Некоторые различия в биосинтетической активности развивающихся ооцитов ерша и мозамбикской тилапии, очевидно, связаны с различиями в типе нереста и температурах обитания. Так, мозамбикская тилапия относится к рыбам с непрерывным типом нереста, который при оптимальных температурах происходит постоянно с определенными временными интервалами (у мозамбикской тилапии в условиях лаборатории через 40—45 сут). В этом случае наблюдается постоянное пополнение фонда половых клеток. У ерша в условиях Ленинградской обл. формируется одна или две порции икры, нерест приурочен к весенне-летнему сезону и в зимний период развитие ооцитов происходит замедленно. Опыты на ерше проводились при температуре 4—6 °С, которая характерна для весенне-зимнего периода, оптимальная температура для развития и размножения мозамбикской тилапии составляет 25—26 °С. Эти особенности биологии делают понятными различия в скорости выведения меченой РНК и ядрышек и карิโอплазмы. В ооцитах фазы первоначального накопления желтка мозамбикской тилапии максимальное включение метки в ядрышки происходит через 8 ч, у ерша — через 2 сут. Динамика включения  $^3\text{HУ}$  в ядрышки и карิโอплазму превителлогенных ооцитов ерша также была замедленной.

Характеризуя состояние подопытных рыб, следует отметить, что во время введения  $^3\text{HУ}$  они находились в состоянии замедленного метаболизма. В предыдущих работах было показано, что после 5-суточного воздействия пониженной температуры в цитоплазме превителлогенных ооцитов всех фаз развития возникают «зоны интенсивной окраски», что связано, очевидно, с подавлением биосинтетической активности ооцитов (Чмилевский, 1995, 1996). Появление таких зон отмечалось и в настоящем исследовании.

Этот факт был впервые установлен Гербильским (1939) при изучении влияния пониженной температуры

на развитие гонад у карпа. Автор назвал их циркумнуклеарным кольцом. Затем с использованием техники электронной микроскопии было показано, что зоны формируются под влиянием пониженной температуры в результате концентрации в околядерной цитоплазме клеточных органоидов — митохондрий, комплекса Гольджи, рибосом (Кондратьев, 1977, 1979; Емельянова, 1985; Емельянова, Макеева, 1988). У подопытных рыб концентрация меченой РНК отмечалась в околядерной зоне цитоплазмы отдельных ооцитов фазы раннего превителлогенеза через 1 и 2 сут после введения <sup>3</sup>HУ. Так как включение меченого предшественника носит импульсный характер и в организме рыбы происходит постоянное замещение меченой тритием РНК на немеченую, не вызывает сомнения, что в околядерных участках ооцитов фазы раннего превителлогенеза при воздействии пониженной температуры отмечаются зоны повышенной концентрации РНК.

При воздействии пониженной температуры на клетки корня кукурузы и проростки семян гороха были отмечены конденсация и конформация ядрышковой ДНК, что сопровождалось снижением ее транскрипционной активности (Mineur et al., 1998). Содержание триптонов при пониженной температуре сопровождается редукцией части петель хромосом типа «ламповых щеток» и возникновением новых. В ооцитах синтезируется новый вид белков — белки холодового шока (Angelier et al., 1989).

Анализируя включение <sup>3</sup>HУ в развивающиеся ооциты мозамбикской тилапии, можно заключить, что при воздействии пониженной температуры происходит замедление процесса синтеза РНК на всех его этапах: включения меченого предшественника, процесса биосинтеза РНК на матрице ДНК, миграции меченой ДНК из ядра в цитоплазму и перемещения РНК в цитоплазму. Наиболее четко воздействие пониженной температуры проявилось на ооцитах в функционально активном состоянии — в фазе раннего превителлогенеза и первоначального накопления желтка. У первых значительно замедляются интенсивность включения и процесс миграции меченой РНК из кариоплазмы в цитоплазму, у вторых — включение в ядрышки и выведение меченой РНК из ядрышек в цитоплазму. Ооциты фазы среднего превителлогенеза, отличающиеся низкой метаболической активностью, не обнаруживают столь четкой реакции.

#### Список литературы

Гербицкий Н. Л. 1939. Возрастные и сезонные изменения в ооцитах зеркального карпа. Арх. анат. гистол. эмбриол. 21 (2) : 241—247.

Емельянова Н. Г. 1985. Сезонные изменения цитоплазмы ооцитов периода превителлогенеза у белого толстолобика *Hypotlalmicus molitrix Valenciennes*. Вопр. ихтиол. 25 (2) : 248—255.

Емельянова Н. Г., Макеева А. П. 1988. Влияние температуры на состояние превителлогенных ооцитов некоторых карповых рыб. Вопр. ихтиол. 28 (3) : 446—452.

Захарова Н. И., Чмилевский Д. А. 1984. Влияние пониженной температуры на развитие гонад радужной форели (*Salmo gairdneri*). I. Воздействие на рыб в возрасте 13 суток после вылупления. Сб. науч. тр. ГосНИИ озер. и речн. рыб. хоз-ва. 203 : 40—46.

Захарова Н. И., Чмилевский Д. А. 1985. Влияние пониженной температуры на развитие гонад наружной форели (*Salmo gairdneri*). II. Воздействие на рыб в возрасте 5.5 месяца после

вылупления. Сб. науч. тр. ГосНИИ озер. и речн. рыб. хоз-ва. 229 : 94—104.

Кондратьев А. К. 1977. Функциональная морфология ооцитов периода превителлогенеза у сибирской стерляди (*Acipenser ruthenus marsiglii Brandt*) в разные периоды ее годового биологического цикла. Вопр. ихтиол. 17 (5) : 912—921.

Кондратьев А. К. 1979. Цитозоологическое исследование оогенеза сибирской стерляди. I. Сезонная динамика распределения структур, богатых РНК, в развивающихся ооцитах периода превителлогенеза. Цитология. 21 (12) : 1397—1403.

Лаврова Т. В., Чмилевский Д. А. 1987. Влияние повышенной температуры на оогенез тилапии *Oreochromis mossambicus* (Peters.) Изв. ГосНИОРХ. 259 : 134—143.

Лакин Г. Ф. 1973. Биометрия. М.: Высшая школа. 343 с.

Райкова Е. В. 1968. Морфология ядрышек в период роста ооцитов осетровых рыб. Журн. общ. биол. 30 (1) : 5—18.

Чмилевский Д. А. 1971. Синтез РНК и развитие ядрышкового аппарата в оогенезе ерша. Цитология. 13 (10) : 1233—1241.

Чмилевский Д. А. 1994. Влияние пониженной температуры на оогенез тилапии *Oreochromis mossambicus* (Peters). 2. Воздействие на рыб в возрасте 22 суток после вылупления. Вопр. ихтиол. 34 (5) : 675—680.

Чмилевский Д. А. 1995. Влияние пониженной температуры на оогенез тилапии *Oreochromis mossambicus* (Peters). 3. Воздействие на рыб в возрасте 30 и 60 суток после вылупления. Вопр. ихтиол. 35 (2) : 266—272.

Чмилевский Д. А. 1996. Влияние пониженной температуры на оогенез тилапии *Oreochromis mossambicus*. 4. Воздействие на рыб в возрасте 106 суток после вылупления. Вопр. ихтиол. 36 (5) : 647—652.

Чмилевский Д. А. 1998. Влияние повышенной температуры на оогенез тилапии при воздействии на его различные периоды и фазы. Вопр. ихтиол. 38 (5) : 676—683.

Чмилевский Д. А., Каменева Т. О. 2001. Оогенез мозамбикской тилапии. II. Синтез РНК и развитие ядрышкового аппарата. Цитология. 43 (2) : 114—121.

Чмилевский Д. А., Лаврова Т. В. 1990. Влияние пониженной температуры на оогенез тилапии *Oreochromis mossambicus* (Peters). Вопр. ихтиол. 31 (1) : 76—84.

Чмилевский Д. А., Юкина Г. Ю., Габаева Н. С. 1995. Морфофункциональные особенности развития фолликулярного эпителия в оогенезе мозамбикской тилапии и травяной лягушки. Вестн. СПбГУ. Сер. 3. 3 (17) : 31—39.

Angelier A., Moreau N. Da, Lautredou N. F. 1989. Cold-induced changes in amphibian oocytes. Exp. Cell Res. 183 : 508—513.

Azevedo C., Coimbra A. 1980. Evolution of nucleoli in the course of oogenesis in a viviparous teleost (*Xiphophorus helleri*). Biol. Cell. 38 : 43—48.

Denis H., Wegnez M. 1977. Biochemical research on oogenesis. Oocytes and liver cells of the teleost fish *Tinca tinca* contain different kinds of 5S RNA. Develop. Biol. 59 : 228—236.

Kraft A., Peters M. 1963. Vergleichende studien uber die Oogenese in der Gattung Tilapia (Cichlidae, Teleostei). Zeit. Zellforsch. 61 : 434—485.

Mazabraud A., Wegnez M., Denis H. 1975. Biochemical research on oogenesis. RNA accumulation in the oocytes of teleosts. Develop. Biol. 44 : 326—332.

Mineur P., Abdelilah J., Thiry M., Deltour R., Goessens G. 1998. Ultrastructural distribution of DNA within plant meristematic cell nucleoli during activation and the subsequent inactivation by cold stress. J. Struct. Biol. 123 : 199—210.

Perazzolo L., Coward K., Davail B., Normand E., Tyler C., Pakdel F., Schneider W. J., Le Menn F. 1999. Expression and localization of messenger ribonucleic acid for vitellogenin receptor in ovarian follicles throughout oogenesis in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Biol. Reprod. 60 : 1057—1068.

Raikova E. V. 1976. Evolution of nucleolar apparatus during oogenesis in Acipenseridae. J. Embryol. Exp. Morphol. 35 : 327—332.

Scharrer B., Wurzelmann S. 1969. Ultrastructural study on nuclear-cytoplasmic relationships in oocytes of the african lungfish,

*Protopterus aethiopicus*. I. Nucleo-cytoplasmic pathways. Z. Zellforsch. 96 : 325—343.

Thiebaud C. 1979. The intra-nucleolar localization of amplified rDNA in *Xenopus laevis* oocytes. Chromosoma. 73 : 29—36.

Thiry M., Poncin P. 2005. Morphological changes of the nucleolus during oogenesis in oviparous teleost fish, *Barbus barbus* (L.). J. Struct. Biol. 152 : 1—13.

Поступила 3 IV 2008

EFFECT OF LOW TEMPERATURE ON <sup>3</sup>H-URIDINE INCORPORATION  
IN OOCYTES OF TILAPIA MOSSAMBIQUE

D. A. Chmylevsky

Biological Research Institute of St. Petersburg State University;  
e-mail: ichtyol1943@mail.ru

Using <sup>3</sup>H-uridine dynamics of RNA synthesis in oocytes of tilapia which grow at different temperatures was studied. Intact fishes were cultivated at the temperature 25—26 °C, experimental ones — 19—21 °C. Before <sup>3</sup>H-uridine injection, experimental fishes were cultivated at low temperature for 5 days, then both intact and experimental fishes were injected by <sup>3</sup>H-uridine and experiment was continued for 5 days. Under normal temperature in 8 h after <sup>3</sup>H-uridine injection, chromosomes of early previtellogenic oocytes were strongly labeled and RNA migrated to the cytoplasm very fast. Nucleoli of early vitellogenic oocytes were intensively labeled as well. In 1, 2 and 5 days after injection, concentration of labeled RNA in cytoplasm of the oocytes at all stages was increased. Oocytes of the experimental fishes showed low level of RNA synthesis. Probably, this connected with slow migration of <sup>3</sup>H-uridine into gonads of fishes, low level RNA synthesis on chromosomes and nucleoli of oocytes and more low migration of labeled RNA from nucleus to cytoplasm of the oocytes.