

УДК 599.14

*И.В. Кудряшова***Динамика состояния сперматогенного эпителия марала в течение годового цикла***I.V. Kudryashova***The Dynamics of the Seminiferous Epithelium Condition of Male Marals during the Annual Cycle**

Сперматогенный эпителий семенника марала характеризуется отсутствием строгой временной и пространственной упорядоченности сперматогенеза во все изученные периоды годового цикла, отсутствием периода полного прекращения сперматогенеза и наличием спермиогенеза вне сезона размножения.

Ключевые слова: марал, сперматогенный эпителий, сперматогенез, репродуктивный годовой цикл.

Морфологическое изучение репродуктивной функции самцов одного из подвидов благородного оленя – марала (*Cervus elaphus sibiricus* Severtzov, 1872) имеет большое значение не только в плане получения новых данных по еще одному виду животных, но и для целей животноводства [1, 2]. Кроме того, представители семейства Оленьих являются объектами интенсивных исследований по разработке метода сохранения их генофонда путем криоконсервации мужских гамет. При этом одна из важных задач – изучение возможности получения полноценной спермы вне сезона размножения в условиях климата России [3, 4]. В то же время сведения о сезонных изменениях сперматогенеза у разных подвидов благородного оленя в различных условиях отсутствуют или явно недостаточны. Цель данного исследования – морфологическое изучение состояния сперматогенного эпителия семенника марала в разные периоды репродуктивного годового цикла.

Материал и методики. Объектом для исследования послужили семенники маралов, находящиеся на полувольном содержании в мараловодческих хозяйствах республики Алтай и Алтайского края. Материал от 30 половозрелых самцов в возрасте от 4-х до 10 лет брали в различные периоды годового цикла: осенью, в конце сезона репродукции (начало октября), и в различные периоды полового покоя: зимой (январь–февраль), весной, в начале роста пантов (март–апрель), и летом, в период срезки пантов (конец июня – начало июля).

Полученный материал обрабатывался стандартными гистологическими методиками. Для изучения особенностей протекания сперматогенеза исполь-

Seminiferous epithelium in the testicles of male marals is characterized by absence of temporal and spatial spermatogenesis regularity in all studied periods of the annual cycle, by absence of the period of total suspension in spermatogenesis and by presence of spermiogenesis out of mating season.

Key words: maral, seminiferous epithelium, spermatogenesis, annual reproductive cycle.

зовались препараты, окрашенные гематоксилином Эрлиха – эозином и по ШИК. Оценивались количество сперматогониев на один семенной каналец, объем его ядер, уровень сперматогенеза, частота встречаемости отдельных стадий сперматогенеза. За основу количественного подсчета, проводимого при увеличении около 15. об. 90, принимались 150 ядер сперматогониев на одно животное [5, 6]. Для определения среднего числа их подсчитывали в 20 строго поперечных срезах канальцев. Также учитывались стадии сперматогенеза и проводился подсчет клеточных ассоциаций в стенке канальца [7]. Под частотой встречаемости отдельных стадий сперматогенеза понимался процент канальцев от общего числа, в которых встречались зародышевые клетки того или иного этапа развития. При определении уровня сперматогенеза канальцы делили на пять типов: в канальцах I типа сперматогенез доходит до стадии сперматогониев; II типа – до первичных сперматоцитов; III типа – до вторичных сперматоцитов; IV типа – до сперматид, кроме поздних; V типа – до поздних сперматид и сперматозоидов [8].

Полученный числовой массив данных подвергался стандартной статистической обработке с использованием пакета программ STATGRAFICS.

Результаты и их обсуждение. При исследовании особенностей процесса дифференцировки мужских половых клеток у марала было установлено, что морфологические характеристики отдельных стадий сперматогенеза в основном совпадают с таковыми у ранее изученных животных [9–12].

Цитологическая картина поперечного сечения семенного канальца во все изученные периоды характеризуется наличием 2–3-х секторов в стенке

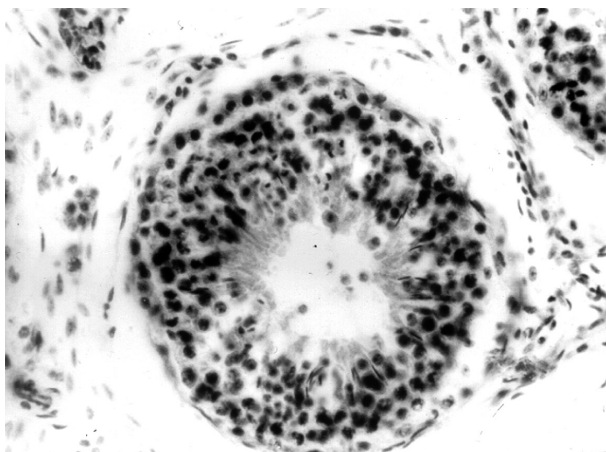


Рис. 1. Гетерогенность клеточных ассоциаций на поперечном срезе семенного канальца (марал 5 лет. Осень. Карнуа. Гематоксилин-эозин. Ок. 7, об. 40)

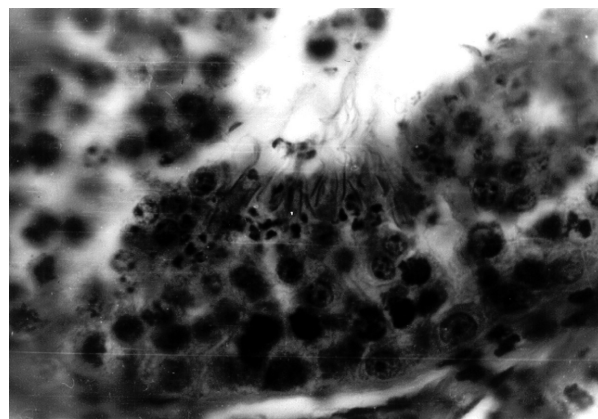


Рис. 2. Сочетание пахитенных первичных сперматоцитов со сперматидами в фазе Гольджи и фазе акросомы (марал 10 лет. Зима. Карнуа. Гематоксилин-эозин. Ок. 7, об. 90)

канальца, в которых клеточные ассоциации различаются (рис. 1). Сходное явление отмечено у человека [13] и у некоторых австралийских грызунов [14], что связывают с отсутствием строгой временной и пространственной упорядоченности сперматогенеза.

Анализ клеточных ассоциаций сперматогенного ряда позволяет говорить об их большом разнообразии, однако серии устойчивых, закономерно повторяющихся сочетаний не выявлены. В то же время некоторые из них встречаются чаще, а именно сочетания зиготенных и пахитенных первичных сперматоцитов со сперматид в фазе Гольджи и в фазе акросомы (рис. 2). Таким образом, на данном этапе исследований у маралов не обнаружены цикл и волна сперматогенеза. Это обстоятельство может быть обусловлено не только видовыми особенностями, но и сезонностью размножения. Так, известно, что у северного оленя в период полового покоя упорядоченность в организации семенного эпителия нарушается, а цикл и волна сперматогенеза устанавливаются лишь в последние недели перед гоним [9]. У маралов же в некоторых семенных канальцах в июле встречаются правильные концентрические слои клеток сперматогенного ряда (как это характерно для многих животных), что, вероятно, указывает на начало установления цикла сперматогенеза (рис. 3).

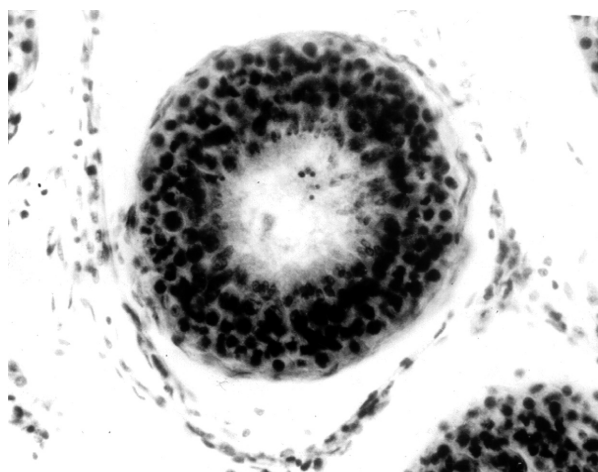


Рис. 3. Формирование правильных концентрических слоев клеток семенного эпителия по периметру сечения семенного канальца (Марал 8 лет. Лето. Формалин. Ван-Гизон. Ок. 7, об. 40)

Пролиферация сперматогониев (рис. 4) увеличивается дважды в год: зимой и летом, к периоду срезки пантов (табл. 1).

Осенью и весной митотическая активность этих клеток падает, причем наиболее значительно – в ве-

Таблица 1

Количество и кариометрические показатели сперматогониев марала в течение годового цикла

Сезон	К-во на один каналец	Ср. объем ядер (мкм)	Соотношение с различными объемами ядер (в %)		
			мелкие	средние	крупные
Осень	6,1 ± 0,3***	272,8 ± 5,1***	23,8 ± 5,4	71,5 ± 4,1	4,8 ± 1,6
Зима	11,5 ± 0,4***	293,1 ± 5,7	12,3 ± 1,3	78,0 ± 1,2	9,7 ± 0,7
Весна	4,5 ± 0,3***	287,1 ± 6,1**	36,7 ± 6,9	70,7 ± 5,5	10,0 ± 3,6
Лето	9,9 ± 0,4	321,6 ± 6,1	18,3 ± 9,8	70,0 ± 5,0	11,8 ± 5,4

Примечание: различия между соседними группами достоверны: * – при P < 0,05; ** – при P < 0,01; *** – при P < 0,001; то же и для других таблиц.

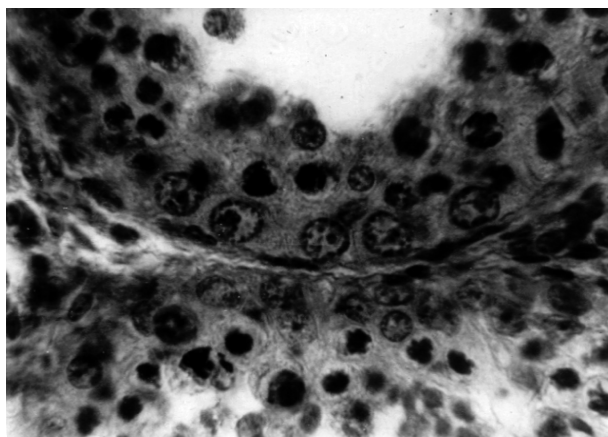


Рис. 4. Сперматогонии в семенном канальце (марал 8 лет. Лето. Карнуа. Гематоксилин-эозин. Ок. 7, об. 90)

сенний период. При анализе данных по объему ядер сперматогониев в течение годового цикла были выделены три группы ядер: «мелкие» – 100–199 мкм³, «средние» – 200–501 мкм³ и «крупные» – свыше 501 мкм³. В целом максимальный объем ядер характерен для летней популяции сперматогониев, а минимальный – для осенней.

Во все изученные периоды в ядерных популяциях преобладают ядра средних размеров. Численность клеток с мелкими и крупными ядрами подвержена значительным индивидуальным колебаниям, однако во все сезоны года отрицательно коррелирует между собой ($r = -0,78$, $P < 0,01$): при увеличении числа мелких ядер уменьшается число крупных и наоборот. Учитывая, что сперматогонии с мелкими ядрами представляют собой начальные этапы дифференцировки мужских гамет, а для более поздних форм характерно увеличение объема ядер, этот факт следует расценивать как свидетельство синхронных преобразований на начальных и конечных этапах их размножения. Кроме того, постоянное количественное преобладание клеток со «средними» ядрами косвенно указывает на различную продолжительность существования разных типов сперматогониев.

Количество клеток с крупными ядрами заметно снижается в осенний период. Также осенью и весной

наблюдается тенденция к увеличению количества сперматогониев с мелкими ядрами. Таким образом, можно говорить о преобладании в эти сезоны начальных этапов сперматоцитогенеза, тогда как для зимы и лета характерны более поздние.

Показатели, характеризующие уровень сперматогенеза, также демонстрируют значительные индивидуальные и сезонные колебания (табл. 2). Заметно выделяется летний сезон, в котором сперматогенез более чем в половине канальцев протекает только до стадии сперматогониев и первичных сперматоцитов (канальцы I и II типа), в то время как в остальные сезоны такие канальцы отсутствуют или их не более 5–7%. Соответственно, летом канальцы V типа, где сперматогенез доходит до стадии поздних сперматид и сперматозоидов, не обнаружены. Во все остальные сезоны такие канальцы встречаются, причем чаще всего в период репродукции, хотя и зимой, и весной их присутствие достаточно заметно. Количество канальцев, где сперматогенез доходит до сперматид (без последних этапов их развития) в эти сезоны составляет в среднем 76–90%, т.е. для них характерно преобладание стадий спермиогенеза. Некоторое уменьшение числа канальцев с последними стадиями сперматогенеза в весенний период, вероятно, обусловлено перемещением части зрелых сперматозоидов в придаток семенника.

У большинства животных весьма редко, в силу кратковременности их существования, обнаруживаются вторичные сперматоциты [13,15], у маралов эта стадия встречается не часто, но во все сезоны (рис. 5).

По частоте встречаемости из мейотических стадий в разные сезоны года доминируют пахитенные и зиготенные первичные сперматоциты за исключением зимнего периода, особенностью которого является преобладание зиготенных и лептотенных первичных сперматоцитов (табл. 3). Эти данные подтверждают мнение многих авторов [10, 11, 13, 15] о том, что пахитена является самой длинной стадией профазы I мейоза. На этапе спермиогенеза во все сезоны года преобладают сперматиды на стадиях Гольджи и акросомы. Данные по частоте встречаемости различных стадий сперматогенеза у маралов совпадают

Таблица 2

Уровень сперматогенеза в семенных канальцах у марала в течение годового цикла (в %)

Тип канальца	Осень	Зима	Весна	Лето
I	–	–	–	13,8 ± 8,0
II	1,4 ± 1,3	5,0 ± 2,1	–	41,2 ± 14,1
III	1,3 ± 1,0	2,7 ± 1,8	1,5 ± 1,3	2,8 ± 2,0
IV	76,1 ± 2,3	72,2 ± 2,3*	90,2 ± 2,4***	45,0 ± 4,2
V	22,5 ± 1,1*	16,2 ± 2,5	10,0 ± 2,9	–

Примечание: в одном канальце могут одновременно встречаться несколько стадий развития первичных сперматоцитов и сперматид, так что общее число учтенных канальцев превышает 100%.

Таблица 3

Частота встречаемости массовых стадий сперматогенеза в семенных канальцах марала в течение годового цикла (в %)

Стадия сперматогенеза	Осень	Зима	Весна	Лето
Сперматоциты I:				
лептотена	8,8 ± 1,3***	56,3 ± 4,3***	12,5 ± 2,3	16,2 ± 3,1
зиготена	60,0 ± 4,1*	81,3 ± 6,3**	47,5 ± 4,8	36,0 ± 4,2
пахитена	85,1 ± 5,4***	28,8 ± 3,8***	86,2 ± 3,2***	52,5 ± 1,4
Сперматиды:				
в фазе Гольджи	55,2 ± 2,4	61,3 ± 4,1	50,0 ± 4,1***	25,0 ± 1,6
в фазе акросомы	52,5 ± 6,0	37,5 ± 4,3	50,0 ± 2,8	22,5 ± 1,0
Поздние сперматиды и сперматозоиды	22,5 ± 1,1*	16,2 ± 2,5	10,1 ± 2,9	–

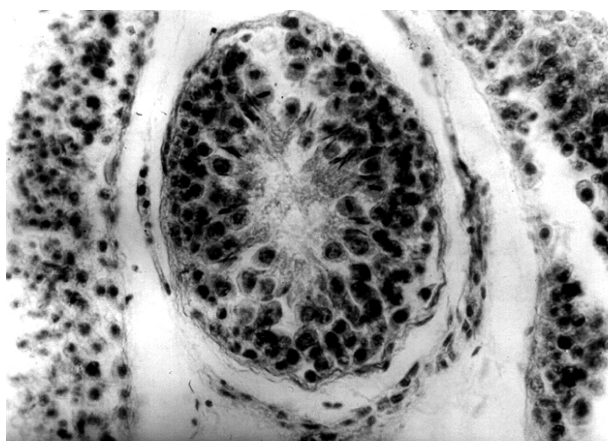


Рис. 5. Метафаза 1-го деления мейоза и вторичные сперматоциты (марал 8 лет. Лето. Формалин. Ван-Гизон. Ок. 7, об. 40)

с результатами Э.К. Бороздина по северному оленю [9] и позволяют утверждать, что у этих видов наиболее продолжительными являются стадии зиготены и пахитены профазы I мейоза и спермиогенез.

Следует отметить, что у маралов не обнаружено полного прекращения сперматогенеза ни в один из изученных периодов репродуктивного покоя. Подобная особенность характерна как для некоторых копытных, в частности, домашних козлов [12], так и для представителей других отрядов с выраженной сезонностью в размножении (одноголовый верблюд из мозолоногих и слепыш из грызунов) [16, 17]. В то же время у козули, имеющей сходные с маралом сроки гона, в зимне-весенний период в семенных канальцах из всех стадий сперматогенеза обнаруживаются только сперматогонии [18], а эякулят не содержит спермиев [19]. Таким образом, особенности протекания сперматогенеза, несмотря на сходство репродуктивного цикла, не отражают филогенетическую близость видов.

Итак, сперматогенная активность семенника марала начинается зимой с увеличения числа и

объемов ядер сперматогониев после осенней депрессии начальных этапов сперматогенеза, которая фактически происходит уже во время гона. К весне продукты этой активности частично завершают свое развитие, не достигая, однако, уровня, характерного для сезона размножения. Тем не менее у некоторых особей в канальцах сети семенника и придатке обнаруживаются дифференцированные сперматозоиды. Таким образом, состояние сперматогенного эпителия допускает возможность получения зрелых половых продуктов от парковых маралов в зимне-весенний период. Полученные результаты хорошо согласуются с данными о выделении жизнеспособных спермиев из эпидидимиса через 2–4 месяца после окончания гона у благородного оленя [4]. На весну же приходится наибольший в годовом цикле спад процесса пролиферации сперматогониев.

Интересно, что эти изменения в сперматогенном эпителии происходят на фоне пессимума функциональной активности интерстициальных эндокриноцитов семенника, сопровождающегося снижением содержания тестостерона в периферической крови, и максимальной функциональной напряженности в годовом цикле коры надпочечников [2].

После весеннего спада митотической активности сперматогониев летом вновь увеличивается их количество в расчете на один семенной каналец, а объем ядер становится максимальным. В это время в семенных канальцах преобладают мейотические стадии сперматогенеза. Очевидно, что клетки, вступившие на путь дифференцировки летом, завершат этот процесс к началу гона.

Два пика сперматогенной активности семенника, один из которых менее выражен и не связан с сезоном размножения, обнаружены и у других видов копытных, в частности у сайгака [20] и двух видов подсемейства американских оленей: колумбийского чернохвостого и южного пуду [21, 22]. У маралов, возможно, весенний «всплеск» спермиогенеза обусловлен влиянием не тестостерона, а гормонов надпочечников.

Библиографический список

1. Луницын В.Г. Пантовое оленеводство России / РАСХН. Сиб. отд-ние ВНИИПО. – Барнаул, 2004.
2. Овчаренко Н.Д., Бондырева Л.А., Грибанова О.Г., Власова О.Е., Кудряшова И.В. Эндокринная регуляция роста и развития организма оленевых. – Барнаул, 2010.
3. Ротт Н.Н. Создание генетических криобанков и использование методов биологии развития как способ сохранения редких видов животных. I. Криоконсервация спермы диких млекопитающих // Онтогенез. – 1995. – Т. 26, №4.
4. Сипко Т.П., Ротт Н.Н., Абилов А.И., Присяжнюк В.Е., Шишова Н.В., Комбарова И.А. Сохранение генетических ресурсов оленьих (*Cervidae*) путем криоконсервации их половых клеток // Известия РАН. Сер. биол. – 1997. – №5.
5. Хесин Я.Е. Размеры ядер и функциональное состояние клеток. – М., 1967.
6. Ташкэ К. Введение в количественную цитогистологическую морфологию. – Бухарест, 1980.
7. Ухов Ю.И., Астраханцев А.Ф. Морфометрические методы в оценке функционального состояния семенников // Архив АГЭ. – 1983. – Т. 84, вып. 3.
8. Прасолов А.И., Иванова Т.М. Количественное изучение сперматогенного эпителия у речного бобра // Акушерство, гинекология, искусственное осеменение и болезни молочной железы. – Л., 1976.
9. Бороздин Э.К. Спермиогенез и цикл семенного эпителия у северного оленя // Архив АГЭ. – 1964. – Т. 66, №5.
10. Иванова Т.М. Строение семенного эпителия и цикл его развития у речного бобра // Труды Воронежского гос. заповедника. – 1974. – Вып. 10.
11. Ащепкова Л.Ю., Федосеев В.Я. Развитие мужских половых клеток у северного морского котика (*Callorhinus ursinus* L.) // Архив АГЭ. – 1988. – Т. 65, №12.
12. Шевлюк Н.Н., Стадников А.А., Обухова Н.В., Кленов В.А., Бикчентаев Э.М. Морфофункциональная характеристика интерстициальных эндокриноцитов (клеток Лейдига) семенников и предстательной железы козлов оренбургской породы в онтогенезе и в условиях сезонного изменения их репродуктивной активности // Морфология. – 1998. – Т. 113, №2.
13. Данилова Л.В. Сперматогонии, сперматоциты, сперматиды // Современные проблемы сперматогенеза. – М., 1982.
14. Pierce E.J., Breed W.G. Cytological organization of the seminiferous epithelium in the Australian rodents // *Pseudomys australis* and *Notomys alexis* // J. Reprod. and Fert. – 1987. – Т. 80, №1.
15. Райцина С.С. Сперматогенез и структурные основы его регуляции. – М., 1985.
16. Friedlander M., Rosentrauch A., Bedrak E. Leydig cell Differentiation during the reproductive cycle of the seasonal breeder // *Camelus dromedarius*: an ultrastructural analysis // Gen. and Comp. Endocrinol. – 1984. – Т. 55, №1.
17. Gottreich A., Hammel I., Yogev L., Terkel J. Qiantitative microscopic changes in the mole rat testis during an annyal cycle // Anat. Res. – 1995. – Т. 243, №2.
18. Цаплик О.Э. Возрастные и сезонные особенности биологии размножения косули (*Capreolus capreolus*) в Казахстане // Зоологический журнал. – 1977. – Т. 56, №4.
19. Goritz F., Broich A., Quest M., Hidebrandt T.B., Lengwinat T., Wagener A., Fassbenger M., Hermes R., Blotter S. Seasonal changes in morphology and function of the male reproductive tract in roe deer: Pap 3rd International Symposium on Physiology and Ethology of Wild and Zoo Animals. Berlin, 4–7 Oct. 2000 // Adv. Ethol. – 2000. – №35.
20. Цаплик О.Э. Наступление половозрелости и процесс сперматогенеза у самцов сайгака // Труды Ин-та зоологии АН Каз. ССР. – 1962. – Вып. 17.
21. West N.O., Nordan H.C. Hormonal regulation of reproduction and the antler cycle in the male Colambion black-tailed deer (*Odocoilleus hemionus columbianus*). Part I. Seasonal changes in the histology of the reproductive organs, serum testosterone, sperm productio and the antler cycle // Can. J. Zool. – 1976. – Т. 54, №10.
22. Reys E., Bubenec G.A., Schams D., Lobos A., Enri-guez R. Seasonal changes of testicular parametrs in sauthern pudu *Pudu pudu* in relationship to circannual variation of in reproductive hormones // Acta theriol. – 1997. – Т. 42, №1.