

STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ MGR ANNY DYMEK „STRUKTURA GONAD A ZRÓŻNICOWANE MECHANIZMY BIOLOGII ROZRODU U RYB KOSTNOJĘZYKOWYCH (TELEOSTEI: OSTEOGLOSSOMORPHA)”

Wśród ryb kostnoszkieletowych (Teleostei) dominującą strategią rozrodczą jest zapłodnienie zewnętrzne. Wielokrotne niezależne pojawienie się inseminacji oraz zapłodnienia wewnętrznego w różnych liniach ewolucyjnych ryb kostnoszkieletowych było związane z ewolucją różnorodnych przystosowań do tego typu rozrodu, jak np. obecność wyspecjalizowanych obszarów jądra (*testis*) oraz tworzenie pakietów plemników w układzie rozrodczym samców oraz modyfikacje w obrębie jajnika służące przechowywaniu zachowującej zdolność do zapłodnienia plemników u samic.

Ryby kostnojęzykowe (Osteoglossomorpha) stanowią ewolucyjnie starą grupę ryb kostnoszkieletowych cechującą się zróżnicowaniem morfologicznym kształtów ciała i wielkości oraz odmiennymi strategiami rozrodczymi. Spośród ponad dwustu współcześnie żyjących gatunków sklasyfikowanych w tej grupie, jedynie *Pantodon buchholzi* (Pantodontidae) cechuje się występowaniem inseminacji, a obserwowana różnorodność strukturalna plemników stanowi obecnie największe ich zróżnicowanie w obrębie taksonu o randze nadrzędu, a także unikatową wśród kręgowców.

Celem niniejszej pracy było: (1) przeprowadzenie analizy struktury gonad obu płci wybranych gatunków cechujących się odmienną strategią rozrodczą wraz z wykazaniem adaptacji do danego typu rozrodu; (2) opisanie przebiegu spermatogenezy, a w szczególności spermiogenezy, prowadzącej do powstania plemnika złożonego u *P. buchholzi*; (3) przeprowadzenie analizy struktury i ultrastruktury różnicujących się oocytów na etapie prewitelogenezy ze szczególnym uwzględnieniem rozwoju ciała Balbianiego u gatunków z inseminacją oraz zapłodnieniem zewnętrznym. Do badań wykorzystano techniki mikroskopii świetlnej oraz elektronowej transmisyjnej i skaningowej.

U samców *P. buchholzi* parzyste jądra złożone są z anastomozujących kanalików. Każda z gonad jest podzielona na część spermatogeniczną, w której zachodzi proces spermatogenezy i formowanie się pakietów plemników, oraz na część aspermatogeniczną, w której pakiety te są przechowywane, oraz która funkcjonuje jako gruczoł dodatkowy, w którym zachodzi proces steroidogenezy.

Spermatogonia i spermatocyty *P. buchholzi* wykazują cechy typowe dla ryb kostnoszkieletowych, z wyjątkiem procesu degradacji aparatów Golgiego, który prowadzi do formowania się ciał wrzecionowatych, co jest unikatową cechą opisaną dotychczas tylko u *P. buchholzi*. Podczas spermiogenezy dochodzi do formowania się witki oraz migracji

mitochondriów, które ulegając fuzji tworzą pochodne mitochondrialne będące elementem wstawki, a w jądrze komórkowym zachodzi kondensacja chromatyny oraz usuwanie nukleoplazmy. Pod koniec spermiogenezy dochodzi do rotacji jądra komórkowego względem diplosomu, co wskazuje na spermiogenezę typu I.

Gatunki *Notopterus notopterus*, *Xenomystus nigri* (Notopteridae) i *Campylomormyrus alces* (Mormyridae), posiadają pojedyncze jądro składające się z anastomozujących kanalików nasiennych. U *N. notopterus* obecny jest także bocznie przebiegający gruczoł. U *X. nigri* oraz *C. alces* do światła kanalików nasiennych zostają uwolnione plemniki, natomiast u *N. notopterus* późne spermatydy, które następnie są transportowane do gruczołu dodatkowego, w którym zachodzi usuwanie zbędnej cytoplazmy i organelli w postaci ciał resztkowych.

Spośród badanych samic, jedynie *P. buchholzi* posiada parzyste jajniki, natomiast u *Osteoglossum bicirrhosum* (Osteoglossidae), *Marcusenius cyprinoides*, *Brevimyrus niger*, *Gnathonemus petersii* i *Mormyrus rume* (Mormyridae) jajnik jest pojedynczy. Wszystkie analizowane gatunki posiadają jajniki typu workowatego. Centralnie położone światło gonady wyścielone jest nabłonkiem płciowym (germinalnym) zawierającym oogonia/oocyty oraz komórki somatyczne, poniżej którego położona jest łącznotkankowa stroma, w której znajdują się pęcherzyki jajnikowe z oocytami na różnych etapach rozwoju. Nabłonek płciowy jedynie u *P. buchholzi* tworzy krypty wyścielone nabłonkiem cylindrycznym. Zróżnicowanie organizacji oocytów pomiędzy gatunkami jest widoczne podczas prewitelogenezy i obejmuje m.in. różnice w formowaniu się ciała Balbianiego, obecności lub braku strefowości ooplazmy oraz odmienną kolejność pojawiania się pęcherzyków korowych i kropli tłuszczu.

Analiza ultrastrukturalna oogoniów oraz oocytów prewitelogenicznych *P. buchholzi* oraz *O. bicirrhosum* i *Arapaima gigas* (Osteoglossidae) wykazała, że ciało Balbianiego u każdego z badanych gatunków składa się z plazmy płciowej, mitochondriów, które ulegają fuzji oraz rozszczepianiu się, aparatów Golgiego a także siateczki śródplazmatycznej. Jednakże u każdego z powyższych gatunków proces formowania się ciała Balbianiego jest odmienny i wykazuje cechy specyficzne gatunkowo. Również forma plazmy płciowej związanej z siecią mitochondrialną jest odmienna u badanych gatunków.

Badania wykazały różnorodność w budowie gonad obu płci u przedstawicieli ryb kostnojęzykowych, które wynika z przystosowania do odmiennego sposobu rozrodu (inseminacja vs. zapłodnienie zewnętrzne), jak również jest skutkiem długiego czasu niezależnej ewolucji poszczególnych taksonów. Czas ten miał także prawdopodobnie wpływ na zróżnicowanie widoczne w procesach zachodzących podczas gametogenezy.

Anna Dyrek

A. Peco

**ABSTRACT OF THE PHD THESIS OF MSC ANNA DYMEK
“GONAD STRUCTURE RELATED TO DIFFERENT REPRODUCTIVE BIOLOGY IN
BONY TONGUE FISHES (TELEOSTEI: OSTEOGLOSSOMORPHA)”**

External fertilization is the most common reproductive strategy among Teleostei. Insemination and internal fertilization independently evolved multiple times in different lineages of this group of fishes and involved various modifications in gonad structure of both sexes such as dividing testis into spermatogenic and aspermatogenic part, the formation of sperm packets and modifications within the ovary for storage sperm capable to fertilization.

Osteoglossomorpha is an evolutionary old group of teleosts characterized by morphological diversity of the body shape and size as well as different reproductive strategies. Among more than two hundred species classified in this group, only *Pantodon buchholzi* (Pantodontidae) practices insemination. Diversity of sperm present in this superorder is currently the greatest among fish taxa and is unique among vertebrates.

The aim of this study was to: (1) analyze the gonad structure both sexes of nine species characterized by a different reproductive strategy and demonstrate adaptations to a given type of reproduction; (2) describe the process of spermatogenesis leading to the formation of complex introsperm in *P. buchholzi*; (3) analyze the structure and ultrastructure of differentiating previtellogenic oocytes with particular emphasis on the development of Balbiani body in species with insemination and external fertilization. A light microscopy as well as a transmission and scanning electron microscopy were used for the study.

In males of *P. buchholzi*, the paired testes consist of anastomosing tubules. Each gonad is divided into a spermatogenic part, where the spermatogenesis and the sperm packets formation take place, and an aspermatogenic one functioning as a sperm reservoir and also as a testicular gland.

The spermatogonia and spermatocytes of *P. buchholzi* does not differ significantly from these described in other species of teleosts, except the process of early degradation of the Golgi apparatus resulting the formation of spindle-shaped bodies. Until now, these unique structures has been described among teleosts only in *P. buchholzi*. During spermiogenesis, formation of the flagellum and migration of mitochondria take place. Fused mitochondria form mitochondrial derivatives, which are a part of the midpiece. Simultaneously, chromatin condensation in the nucleus and rejection of nucleoplasm take place in spermatids. At the end of spermiogenesis, the nucleus rotates, indicating presence of the type I spermiogenesis.

In *Notopterus notopterus*, *Xenomystus nigri* (Notopteridae) and *Campylomormyrus alces* (Mormyridae), there is a single testis formed by anastomosing tubules.

Only in *N. notopterus* a testicular gland situated laterally is present. In *X. nigri* and *C. alces*, spermatozoa are released into the lumen of the tubules, while in *N. notopterus* a spermiogenesis is finished in the lumen of testicular gland, where unnecessary cytoplasm and organelles are rejected as residual bodies.

Similarly as in males, female's gonads are paired in *P. buchholzi*, while in *Osteoglossum bicirrhosum* (Osteoglossidae), *Marcusenius cyprinoides*, *Brevimyrus niger*, *Gnathonemus petersii* and *Mormyrus rume* (Mormyridae) a single ovary is present. All analyzed species have saccular ovaries. The centrally located lumen of the gonad is lined with the germinal epithelium containing oogonia, one nucleolus oocytes and somatic cells. Beneath germinal epithelium there is a stroma formed by connective tissue, in which ovarian follicles within oocytes at various stages of development are situated. The germinal epithelium only in *P. buchholzi*, is columnar epithelium and forms crypts. Some species-specific differences in developing oocytes were observed in previtellogenic oocytes. They included the formation of the Balbiani body, the presence or absence of ooplasm zonation, and a different sequence of cortical alveoli and oil droplets appearance.

Ultrastructural analysis of oogonia and previtellogenic oocytes of *P. buchholzi*, *O. bicirrhosum* and *Arapaima gigas* (Osteoglossidae) showed that in each of the studied species, the Balbiani body has conservative features as germ plasm, mitochondria that undergo fusion and fission, as well as Golgi apparatus. However, the process of the Balbiani body formation varies between species because they exhibit some species-specific characteristics. Also, the form of germ plasm joined with the mitochondrial network is different in the studied species.

The research allowed to demonstrate the diversity in the structure of the gonads of both sexes in representatives of Osteoglossomorpha, which seems to be adaptation to different modes of reproduction (insemination vs. external fertilization), as well as may be the result of a long time of independent evolution of the taxa, which could influence for various processes taking place during gametogenesis.

Dyrek Anna

A. Reis