

РЕПРОДУКТИВНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГОНАД ЯПОНСКОГО МОХНАТОРУКОГО КРАБА (*Eriocheir japonicus*)

Г.Г. Калинина, Дальрыбвтуз, Владивосток

Исследована репродуктивная система самок японского мохнаторукого краба. Морфологические изменения, происходящие в гонадах половозрелых самок, обитающих в устье р. Брусья, соответствуют второй, третьей и четвертой стадиям зрелости.

Японский мохнаторукий краб *Eriocheir japonicus* встречается в реках и эстуарно-прибрежных комплексах зал. Петра Великого и относится к типу Arthropoda, классу Crustacea, отряду Decapoda, семейству Grapsidae. Кроме него к роду *Eriocheir* также относятся китайский мохнаторукий краб *E. sinensis* и узколобый мохнаторукий краб *E. hepuensis* [1].

У мохнаторукого краба хорошо выражен половой диморфизм. Самцы крупнее самок, у них более мощные клешни с густыми волосками, форма абдомена треугольная, у самок округлая. Окраска карапакса может быть различной в зависимости от места обитания и времени, прошедшего с последней линьки, чаще всего она темно-оливкового, почти черного цвета. Ширина карапакса у взрослых особей обычно составляет 50-65 мм, но может достигать 86 мм у самцов и 75 мм у самок [2]. По данным Е.И. Барабанщикова [3], максимальная ширина карапакса у взрослых самцов и самок, обитающих в реках Приморья, достигает 89,5 и 81 мм соответственно, а максимальное значение массы – 350 и 210 г.

Японский мохнаторукий краб достигает половозрелости в пресных водах, но для размножения мигрирует вниз по течению до морских приливно-отливных областей. В течение пресноводного периода жизни животные несколько раз линяют. Во время линьки *E. japonicus* впитывает воду, в результате чего происходит увеличение размеров и веса тела. Последняя линька у самок носит название «половозрелой», так как после нее крабы становятся взрослыми особями, способными к размножению [2, 4]. Нерестовая миграция происходит весной, после схода льда. Нерестится *E. japonicus* в нижней части рек или в литоральной зоне, с соленостью воды не менее 10 ‰. После спаривания самка откладывает оплодотворенные яйца на плеоподы, где они развиваются до личиночной стадии. После выклева личинок может произойти повторное оплодотворение.

В течение одного периода размножения самки крабов могут откладывать яйца до трех раз, причем с каждым последующим разом их количество сокращается. Отнерестившиеся крабы погибают [5].

Строение половой системы у самцов и самок японского мохнаторукого краба аналогично таковому у китайского мохнаторукого краба

E. sinensis [6]. Подробное описание морфологического и гистологического строения репродуктивной системы китайского мохнаторукого краба дано в работе Ху Цзыцян и Ху Юньцзинь [7]. Половая система самцов состоит из многочисленных перевитых и извилистых семенных канальцев, семяпровода, семенного мешочка и придаточных половых желез. Половая система самок представлена парой яичников, яйцеводом, семяприемником и вагинальным канальцем. Яичники соединены между собой и по форме напоминают букву «Н». Цвет яичников зависит от стадии их зрелости и может варьировать от серовато-белого (незрелые) до бурого (зрелые). На начальном этапе развития размеры яичников малы, они имеют серовато-белый цвет. Далее, по мере развития гонад, их цвет становится коричневым или бурым.

Для японского мохнаторукого краба характерен фолликулярный тип оогенеза, при котором вокруг ооцитов находятся фолликулярные клетки, располагающиеся в один или несколько слоев. Фолликулярные клетки принимают участие в процессе роста и созревания ооцитов, через них поступают желточные белки и другие вещества, требующиеся для их развития [8, 9].

Оогенез японского мохнаторукого краба подробно описан Сатоши Кабояши [8, 9]. Он выделил у *E. japonicus* шесть стадий зрелости ооцита и в соответствии с этим шесть стадий зрелости яичника.

На **I стадии** ооцит имеет большое ядро с конденсированным хроматиновым материалом и ядрышком, которые интенсивно окрашиваются базофильными красителями. В ядре в это время наблюдаются хромосомные преобразования. Цитоплазма ацидофильна (без включений), окружает ядро тонким слоем. Диаметр ооцита и ядра – 8-15 мкм.

На **II стадии** происходит рост ооцита за счет увеличения объема цитоплазмы, вследствие чего увеличивается объем цитоплазмы относительно ядра. Все ооциты имеют в различной степени базофильную цитоплазму гомогенной структуры и крупное ядро с хроматином в виде рыхлых нитей. В ядре присутствуют одно или несколько крупных ядрышек. Диаметр ооцитов увеличивается до 15-100 мкм, а диаметр ядра – до 10-35 мкм.

III стадия характеризуется дальнейшим увеличением размеров ооцита, в цитоплазме которого появляются гранулы, плохо прокрашиваемые гематоксилин-эозином, – первые признаки формирования желтка. Эти гранулы увеличиваются в объеме и распределяются по цитоплазме, за счет чего она постепенно теряет базофильность. Ядро располагается в центре клетки. Хроматин образует рыхлую массу с редкими уплотнениями. Диаметр ооцитов составляет 120-240 мкм, а ядра – 40-60 мкм.

На **IV стадии** цитоплазму ооцита заполняют разно-размерные глобулы желтка, преимущественно округлой формы, которые интенсивно окрашиваются оксифильными красителями. Размеры ооцита при этом увеличиваются до 240-320 мкм. Диаметр ядра меняется незначительно и остается в пределах 50-70 мкм.

На **V стадии** цитоплазма ооцита продолжает заполняться глобулами желтка, которые постепенно увеличиваются в размере. Ядро интенсивно окрашивается базофильными красителями, и его структура практически не просматривается. Оно теряет округлую форму и деформируется. Часто можно наблюдать смещение ядра к периферии. Диаметр ооцитов при этом равен 280-360 мкм, большой диаметр ядра составляет 30-60 мкм.

На **VI стадии** наблюдается слияние глобул желтка и увеличение желтковой массы, за счет чего структура ооцитов становятся более однородной. Ядро просматривается с трудом или его не видно вообще. Диаметр ооцитов равен 300-380 мкм.

Сатоши Кабаяши [8, 9] отмечает, что на всех стадиях развития яичника *E. japonicus* в нем всегда присутствуют овогонии и ооциты I-II стадий зрелости, которые, как правило, располагаются вдоль центральной его оси и образуют так называемые гемарии – зародышевые гнезда. Присутствие же и соотношение ооцитов трофоплазматического роста (III-VI стадий зрелости), которые формируют отдельные «зоны» и располагаются вокруг зародышевых гнезд, зависит от степени зрелости гонады.

Стадии зрелости яичника Сатоши Кабаяши [8, 9] определяет по стадии развития доминирующей группы ооцитов. В соответствии с его классификацией в яичниках, находящихся на **1-й и 2-й стадиях зрелости**, преобладают ооциты малого роста соответствующих стадий. При этом отмечается присутствие в гонаде ооцитов в начале большого роста (III стадия зрелости). В яичниках **3-й и 4-й стадий зрелости** преобладающими являются группы ооцитов соответствующих стадий, которые образуют «зоны» вокруг зародышевых гнезд, а ближе к периферии располагаются ооциты более поздних стадий развития. Яичник на **5-й стадии** в основном заполнен зрелыми ооцитами V и VI стадий зрелости. В яичнике на **6-й стадии зрелости** большая часть ооцитов находится на II стадии зрелости, и в небольшом количестве присутствуют крупные ооциты VI стадии зрелости. Такая картина наблюдается сразу после нереста самок (посленерестовая стадия зрелости яичника).

Гу Чжиминь и Хэ Линьган [7], исследующие оогенез китайского мохнаторукого краба *E. sinensis*, выделили семь стадий развития яичника, которые в целом соответствуют классификации, предложенной Сатоши Кабаяши [8]. Добавленная ими **7-я стадия зрелости яичника** (стадия восстановления) характеризуется присутствием ооцитов малого роста и большого количества

фолликулярных клеток. При этом отмечается утолщение стенки яичника по сравнению с предыдущей (посленерестовой) стадией.

Исследователи, изучающие размножение мохнаторукого краба, отмечают изменение цвета яичников по мере их созревания.

Сатоши Кабоаши [6, 9] оценивает изменение цветности гонад самок *E. japonicus* от бледно-желтого на ранних стадиях зрелости яичника до ярко-оранжевого, а затем красно-коричневого на поздних стадиях. Ху Цзыцян и Ху Юньцзинь [7] отмечают, что на начальном этапе развития яичники *E. sinensis* имеют серовато-белый цвет, который, по мере развития гонад, становится все более насыщенным и переходит в коричневый или бурый. Гу Чжиминь и Хэ Линьган [7] также указывают на изменение цвета гонад у *E. sinensis* от молочно-белого или бледно-желтого до кофейного, коричневого и бурого. Эти же авторы отмечают, что на стадиях, классифицируемых ими как посленерестовая и восстановления, цвет яичников трудно различим. По данным Винниковой, Калининой [10], цвет гонад у самок *E. japonicus*, обитающих в р. Раздольная в летний период, по мере созревания менялся от кремового до светло-коричневого, а затем бурого.

Целью нашей работы было гистоморфологическое исследование гонад у мохнаторукого японского краба, обитающего в реках Хасанского района.

Самки японского мохнаторукого краба *Eriocheir japonicus* были собраны в русле реки Брусья в сентябре 2003 г. в 5 км от устья. Сбор материала производился с использованием ловушек. На анализ брали половозрелых животных с шириной карапакса более 45 мм.

У каждого животного измеряли ширину карапакса штангенциркулем с точностью до 1 мм. Кусочки гонады (5X5 мм) фиксировали в 70%-м этиловом спирте.

Гистофизиологическую обработку зафиксированного материала проводили в лабораторных условиях по стандартной методике [11]. Полученные на санном микротоме срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилином Эрлиха с докраской эозином. Препараты просматривали и анализировали под микроскопом Olympus BH-2 при увеличении объектива 10X, 40X и 100X и окуляра 10X. Стадии зрелости яичников определяли по классификации, предложенной Сатоши Кабоаши [9].

Результаты наших исследований показали, что в сентябре 2003 г. гонады половозрелых самок *E. japonicus*, обитающих в реке, находились на разных стадиях зрелости. У 14 особей гонады были на второй стадии, у 22 особей – на третьей, у 19 особей – на четвертой и у 24 особей – на пятой стадии зрелости.

У самок, яичники которых находились на II стадии зрелости, половые железы имели желтый цвет и были заполнены ооцитами цитоплазматического роста (II стадия зрелости ооцита) овальной формы. Эти клетки имели базофильную, интенсивно окрашенную

гематоксилином цитоплазму гомогенной структуры и крупное ядро округлой формы, расположенное в центре клетки. В ядре присутствовали одно или несколько больших и сильно базофильных ядрышек. Также на срезе гонады были видны гониальные гнезда с большим количеством оогоний, которые, как правило, располагались вдоль центральной оси яичника. Ооциты малого (цитоплазматического) роста в основном концентрировались вблизи гониальных гнезд. Ооциты большого (трофоплазматического) роста, отмеченные нами в небольшом количестве, находились на III и IV стадиях зрелости и располагались отдельными зонами ближе к периферии. Между ооцитами были видны фолликулярные клетки, которые располагались цепочками.

У самок с яичниками на III стадии зрелости гонады (бежевого и светло-фиолетового цвета) в основном были заполнены ооцитами раннего трофоплазматического роста (III стадия зрелости) ооцита. В цитоплазме этих клеток отмечались плохо прокрашиваемые гематоксилином мелко- и крупнозернистые включения, за счет которых цитоплазма теряла свою базофильность. При этом объем цитоплазмы относительно ядра по сравнению с предыдущей стадией существенно увеличился. Хроматиновые нити в ядре, расположенном в центре клетки, имели вид рыхлой массы с редкими уплотнениями. В ядре были хорошо видны ядрышки. Помимо ооцитов на III стадии зрелости в гонаде присутствовали оогонии и ооциты цитоплазматического роста, формирующие клеточные тяжи в проксимальной ее части, а также крупные ооциты, цитоплазма которых была заполнена ацидофильными глобулами желтка (IV и V стадии зрелости ооцитов). Последние в основном располагались отдельными зонами ближе к дистальной части гонады. При этом фолликулярные клетки, окружающие ооциты III стадии, имели более вытянутую форму, чем на предыдущей стадии зрелости яичника.

В яичниках на IV стадии зрелости (светло-коричневого и темно-фиолетового цвета) центральную часть срезов занимали крупные ооциты, цитоплазма которых была заполнена разноразмерными глобулами желтка, которые интенсивно окрашивались эозином. Эти глобулы были преимущественно округлой формы и у более продвинутых клеток имели большие размеры. Глобулы более крупных размеров располагались по периферии цитоплазмы клеток. Диаметр клеток на этой стадии был значительно больше, чем у ооцитов на III стадии за счет накопления желтка. Размеры же и структура ядра при этом существенно не менялись, поэтому объем цитоплазмы по отношению к ядру еще больше увеличился. Кроме ооцитов на IV стадии зрелости, описанных нами выше, в гонаде присутствовали клетки на более ранних стадиях, которые располагались небольшими группами между ними. Ооциты на V и VI стадиях зрелости, также присутствующие в гонаде в это время, располагались ближе к периферии яичника.

Вокруг ооцитов располагались фолликулярные клетки более тонкие, чем в предыдущем случае.

Яичники на V стадии зрелости (красно-коричневого и бурого цветов) в основном содержали ооциты, цитоплазма которых практически полностью была заполнена крупными глобулами желтка. Цитоплазма клеток на этой стадии становится более гомогенной. За счет этого ядро теряет округлую форму и деформируется, а его структура практически не видна из-за интенсивной базофильной окраски (ооциты V стадии зрелости). У некоторых ооцитов ядро просматривалось с трудом, или его не было видно вообще из-за еще большего увеличения желтковой массы и слияния глобул желтка (VI стадия зрелости ооцита). Присутствующие в гонаде оогонии, ооциты малого и раннего трофоплазматического роста располагались узкими тяжами между зрелыми клетками. При этом ооциты раннего трофоплазматического роста, сжатые со всех сторон более зрелыми клетками, деформировались и теряли свою округлую форму. Фолликулярные клетки, окружающие ооциты V и VI стадий, имели вид тонкой пленки.

По данным Т.Б. Айзенштадта [8], большинству членистоногих присущ фолликулярный тип оогенеза, когда в яичнике имеются специализированные клетки – фолликулярные, образующие один или несколько эпителиальных слоев вокруг ооцита. Исследователи, изучающие репродуктивную биологию *E. sinensis* и *E. japonicus*, пришли к выводу, что для этих видов также характерен фолликулярный тип оогенеза [7, 9]. В результате наших исследований мы тоже обнаружили присутствие фолликулярных клеток в яичнике *E. japonicus* на всех стадиях зрелости и заметили их морфологические изменения по мере созревания гонад, что согласуется с данными предыдущих авторов.

Полученные нами данные могут быть использованы для репродуктивной характеристики гонад мохнаторукого краба в связи рациональным ведением его промысла и воспроизводством.

Библиографический список

1. Guo J.Y., N.K. Ng, A. Dai and Peter K.L. Ng. The taxonomy of three commercially important species of mitten crabs of the genus *Eriocheir* de Haan, 1835 (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Grapsidae) // The Raffles Bull. of Zool. 1997. Vol. 45(2). P. 445-476.

2. Kobayashi S. & Matsuura S. Morphological changes of the exoskeleton of the female Japanese mitten crab, according to growth and maturity // Researches on Crustacea. 1992. Vol. 21. P. 159-168.

3. Барабанщиков Е.И. Японский мохнаторукий краб (*Eriocheir japonicus* de Haan) эстуарно-прибрежных систем Приморского края // Известия ТИНРО-центра. 2002. Т. 131. С. 239-259.

4. Kobayashi S. & Matsuura S. Population structure of the Japanese mitten crab *Eriocheir japonicus* (de Haan) – clinal variations in size of maturity // Crustacean Research. 1995. Vol. 24. P. 128-136.

5. Kobayashi S. & Matsuura S. Reproductive ecology of the Japanese mitten crab *Eriocheir japonicus* (de Haan) in its marine phase // Benthos Research. 1995c. Vol. 49. P. 15-28.

6. Kobayashi S. Reproductive ecology of the Japanese mitten crab *Eriocheir japonica* (de Haan): a review // Jap. Jour. of Benthology. 1999. Vol. 54. P. 24-35.

7. Ziqiang Hu, Yunjin Hu Morphology and histology structure of the reproductive system in *Eriocheir sinensis* (Decapoda, Crustacea) // Acta Sci. Nat. Univ. Norm. Hunan. 1997. Vol. 20. № 3. P. 71-77.

8. Айзенштадт Т.Б. Цитология оогенеза. М.: Наука, 1984. 274 с.

9. Kobayashi S. Process of maturity and reproduction of female Japanese mitten crab *Eriocheir japonica* (De Haan) // Crustacean Research. 2003. Vol. 32. P. 32-44.

10. Винникова Н.А., Калинина М.В. Состояние гонад самок японского мохнаторукого краба *Eriocheir japonicus* в летний период в реке Раздольная (Приморский край) / VII регион. конф. по актуальным проблемам экол., мор. биол. и биотехнол. студентов, аспирантов, мол. препод. и сотр. вузов и науч. орг. ДВ России. 18-20 ноября 2004 г.: Тез. докл. Владивосток: Изд-во ДВГУ. 2004. С. 29-30.

11. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники. Л.: Медгиз, 1969. 340 с.