

В.И. Ковалева, ВГМУ, Владивосток

МОРФОЛОГИЯ СПЕРМАТОГЕНЕЗА ТРАВЯНОГО ШРИМСА *PANDALUS LATIROSTRIS*

Исследована репродуктивная система самцов травяного шримса. Показано, что сперматогенез протекает в ацинусах семенников. Выделены и охарактеризованы стадии сперматогенеза. В ходе этого процесса цитоплазматические органеллы сначала умножаются, потом дезинтегрируют и уменьшаются.

Креветки рода *Pandalus* Leach, 1814 широко распространены в Мировом океане и имеют важное коммерческое значение. Они населяют придонные слои воды. Это хорошо плавающие креветки, обитающие преимущественно в зарослях морских водорослей или населяющие сложные биоценозы мшанок, гидроидов и губок. Наиболее характерным видом рода считается *P. latirostris* Rathbun, 1902 (= *P. kessleri* Czerniavskii, 1878 (*nomen nudum*)). Этот вид наиболее обычен в Японском море, где вылавливается в больших количествах. Исследования закономерности гаметогенеза этих животных представляет, помимо теоретического, практический интерес.

Травяной шримс на втором году жизни достигает половой зрелости и функционирует как самец, а в начале третьего года жизни становится самкой. Ранее нами было изучено состояние половых желез у самцов и самок травяного чилима *P. latirostris* в разные месяцы года. Показано, что в заливе Восток и проливе Старка залива Петра Великого гаметогенез идёт с января по август, нерест происходит в конце августа-сентябре [1].

Несмотря на важное промысловое значение травяного шримса, его гаметогенез мало изучен. Целью настоящей работы было изучить последовательные этапы сперматогенеза.

Травяного шримса *Pandalus latirostris* (Subphylum Crustacea, Class: Malacostraca, Order: Decapoda, Infraorder: Caridea, Family: Pandalidae) вылавливали в проливе Старка и в бухте Восток залива Петра Великого Японского моря. Исследовали животных длиной от 30 до 130 мм. Измерение проводили от основания глаза до конца тельсона с точностью до 1 мм. Кусочки гонад фиксировали в 4%-ом формалине и смеси Бузна. После заливки в парафин срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином – эозином и гематоксилином по Гейденгайду. РНК выявляли галлоцианином, белки – прочным зелёным. Для выявления гликогена и полисахаридов применяли методы Мак-Мануса и Шабодаша. Кислые полисахариды определяли методом Хейле.

Для электронно-микроскопического исследования кусочки гонад фиксировали 2,5%-ым раствором глутарового альдегида на 0,1 % М фосфатном буфере, рН 7,8, содержащем 0,5 % нейтрального

формалина и 17 % сахарозы, при 4 °С в течение 2 часов. Дофиксировали 1 % раствором четырёхокси осмия на фосфатном буфере, содержащем 27 % сахарозы, в течение одного часа. Материал заключали в эпон-812. Срезы контрастировали 2%-ым раствором уранилацетата и просматривали в электронном микроскопе EM-100 В.

Мужская репродуктивная система травяного шримса представлена парными семенниками (рис. 1, а), имеющими бисексуальное строение. Снаружи гонады покрыты перитонеальным эпителием, затем следует соединительно-тканый слой, внутри семенник выстлан зачатковым эпителием.

Структурной и функциональной единицей семенника является фолликул. Стенка фолликула состоит из двух слоёв. Наружный соединительный слой включает гладкие мышечные клетки. Внутренний слой состоит из вспомогательных (фолликулярных клеток). Развитие мужских половых клеток происходит в фолликуле. Семенник содержит как мужские, так и женские половые клетки.

Сперматогенез можно разделить на следующие стадии: размножение, рост, созревание и формирование. На первой стадии наблюдаются энергичные митотические деления, в результате которых появляется большое количество сперматогоний (рис. 2, а). После стадии размножения следует стадия роста. Сперматогонии прекращают делиться и переходят в сперматоциты I (рис. 2, б). У травяного шримса они увеличиваются в объёме, а их ядро проходит длинную профазу, в течение которой совершается конъюгация гомологичных хромосом и кроссинговер. На стадии созревания происходит деление сперматоцитов I, которые образуют по два сперматоцита II, из которых возникают четыре гаплоидные клетки – сперматиды. На четвёртой стадии – формирования – сперматиды претерпевают сложные процессы превращения в сперматозоиды.

Сперматогонии. Диаметр сперматогоний 17 мкм, ядра 10 мкм, ядерно-цитоплазматическое отношение составляет 0,33 (таблица). Овальной или округлой формы ядро имеет одно или два ядрышка. Под электронным микроскопом ядро умеренной плотности, лишено компактного хроматина, заполнено фибриллами и не большими глобулами. Ядрышко не имеет точных границ. Цитоплазма узким ободком окружает ядро и содержит много рибосом, в виде полисом. Округлой и вытянутой формы митохондрии разбросаны по всей цитоплазме или расположены полярно ядру (рис. 1, б). Эндоплазматический ретикулум представлен цистернами и каналами гладких мембран, связанных с ядерной оболочкой. Комплекс Гольджи локализуется около ядра и состоит из вытянутых ламелл и связанных пузырьков. Цитоплазма хорошо воспринимает красители на РНК, нейтрально-кислые полисахариды, суммарные белки и имеет единичные липидные включения неправильной формы. Цитоплазматическая мембрана чёткая по всей поверхности клетки.

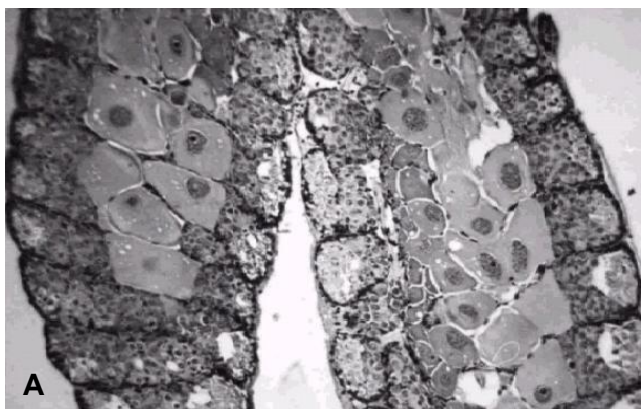
**Размерный состав мужских половых клеток креветки
*Pandelus latirostris***

Параметры	Сперматогонии	Сперматоциты I	Сперматоциты II	Сперматиды
Объём клетки, мкм ³	2350±188	7141±214	3849±214	1277±102
Объём цитоплазмы, мкм ³	1572±94	5197±311	2571±205	1169±81
Объём ядра, мкм ³	777±69	1944±77	1277±89	108±16
Ядерно-цитоплазматическое отношение, мкм ³	0,33	0,27	0,33	0,08

Интерфазные сперматоциты I имеют овальную форму и по размеру крупнее сперматогоний (см. таблицу). Цитоплазма сперматоцитов I содержит большое количество рибосом и митохондрий округлой формы. Эндоплазматический ретикулум значительно развит по сравнению с предыдущей стадией, в основном гладкий, иногда встречаются элементы шероховатой эндоплазматической сети. Каналами и цистернами он связан с перинуклеарным пространством и клеточной мембраной около ядерной мембраны. Первое мейотическое деление характеризуется высокой синхронностью, в результате образуются сперматоциты II.

Объём сперматоцитов II уменьшается по сравнению со сперматоцитами I, ядерно-цитоплазматическое отношение составляет 0,33

(см. таблицу). В цитоплазме присутствуют такие же структуры, как и на предыдущей стадии. Уменьшается количество рибосом, преобладают гладкий эндоплазматический ретикулум и округлой формы митохондрии (рис. 1, б). Перед делением хромосомы спирализуются, укорачиваются.



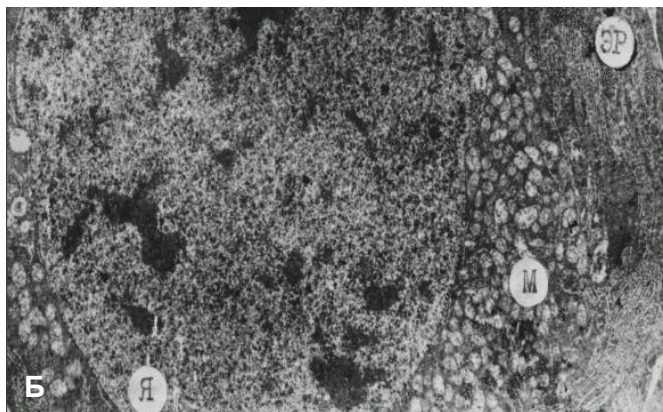
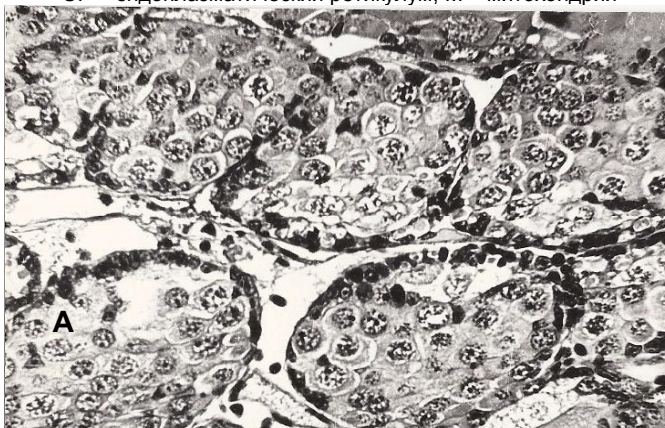


Рис. 1. А – продольный срез гермафродитной мужской половой железы травяного шримса. Ув. ок. 10, об. 8; Б – сперматоцит I. Ув. 8000 х; Я – ядро; ЭР – эндоплазматический ретикулум; М – митохондрии



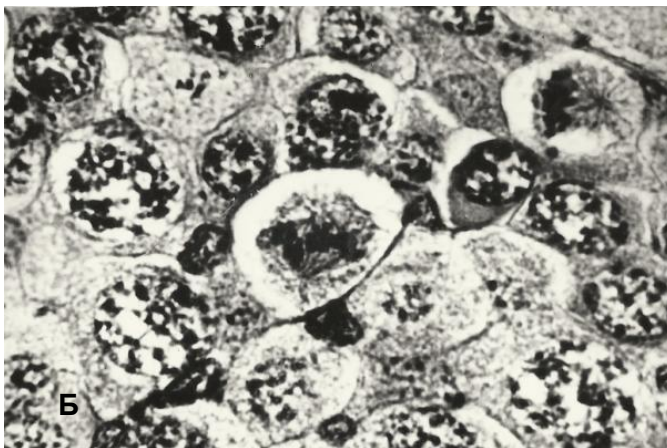


Рис. 2. Сперматогонии и сперматоциты I травяного шримса.
Окраска гематоксилином-эозином. Ув.ок. 15, об. 90;
А – сперматогонии; Б – сперматоциты I

После мейотического деления образуются четыре сперматиды с гаплоидными ядрами. Во время спермиогенеза фолликулярные клетки выступают в семенниковый просвет, образуя фолликулярную строму, контактирующую с развивающимися сперматидами.

В результате спермиогенеза образуется сперматозоид особого типа без жгутика. Пикообразная акросома длиной 28-32 мкм покрывает бобовидное ядро со слабой ШИК-положительной реакцией.

Нами показано, осенью на первом году жизни креветки достигают размера 40-50 мм [1]. Животные ювенильны, их гонады бисексуальны, в семенниках созревание половых клеток в первый осенний период не происходит, и они подвергаются резорпции, что подготавливает гонады к очередному половому циклу. У травяного шримса дифференцировка мужских половых клеток характеризуется ярко выраженной синхронностью, и развитие половых клеток имеет сезонный характер. Сперматогонии наблюдаются осенью, зимой и весной, сперматоциты I – в мае-июне, сперматоциты II – в июле, а зрелые гаметы появляются в конце августа-сентябре. Семенники достигают максимального развития при длине самца в 70-80 мм. Морфология сперматогенеза: сперматогонии и сперматоциты травяного шримса имеют много общего с другими животными [2]. Известно, что у креветки *Crandon septemspinosa* [3] сперматоциты заканчивают мейоз без цитотомии. Однако у исследованной креветки *P. latirostris* наличие цитоплазматических мостиков нами не наблюдалось.

Библиографический список

1. Ковалёва В.И. Сезонное изменение репродуктивной биологии травяного шримса *Pandalus Latirostris* // Науч. тр. Дальрыбвтуза. Владивосток: Дальрыбвтуз, 2009. № 21. Т. 1. С. 40-44.

2. Arsenault A.L., Clattenburg R.E., Odense P.H. Further observations on spermiogenesis in the shrimp, *Crangon septemspinosa*. A mechanism for cytoplasmic reduction. Can. J. Zool. 1980/ V. 58, № 46, p. 497-506.

3. Рузен-Ранге Э. Сперматогенез у животных. М.: Мир, 1980. 255 с.