

В.И. Ковалева

Владивостокский государственный медицинский университет
690600, г. Владивосток, пр. Острякова, 2

СПЕРМИОГЕНЕЗ ТРАВЯНОГО ШРИМСА *PANDALUS LATIROSTRIS*

*Исследована репродуктивная система самцов травяного шримса *Pandalus latirostris*. Показано, что в ходе этого процесса формирование акросомного материала имеет характерные особенности, присущие данному виду. Сперматозоид травяного шримса относится к безжгутиковым спермиям, с копьевидной акросомой, в центре которой проходит центральный канал.*

Ключевые слова: креветка, спермиогенез, репродуктивная система.

V.I. Kovaleva

SPERMIOGENEZ GRASSY SHRIMSA *PANDALUS LATIROSTRIS*

*The reproductive system of males grassy shrimp *Pandalus latirostris* is investigated. It is shown that during this process formation акросомного a material has the prominent features inherent in the given kind. Сперматозоид grassy шримса to concern to безжгутиковым спермиям, with копьевидной акросомой in which centre passes the central channel.*

Key words: the shrimp, spermiogenez, reproductive system.

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. К этому роду относят более 20 видов (Komai, 1999). 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 представляют теоретический и практический интерес.

Травяной шримс – протандрический гермафродит: на втором году жизни он 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 бухте Восток и проливе Старка зал. Петра Великого гаметогенез идёт с января по август, нерест происходит в конце августа-сентябре (Ковалёва, 1982, 2009, 2010).

Несмотря на важные промысловые значения травяного шримса, его гаметогенез мало изучен. Целью настоящей работы было изучить последовательные этапы сперматогенеза и спермиогенеза, развитие акросомы и морфологию зрелых сперматозоидов у травяного шримса.

Травяного шримса *Pandalus latirostris* (Subphylum Crustacea, Class: Malacostraca, Order: Decapoda, Infraorder: Caridea, Family: Pandalidae) вылавливали в прол. Старка и в бухте Восток зал. 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%-м формалине и смеси Буэна. 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 МакМануса и Шабодаша. Кислые полисахариды определяли методом Хейле.

Для электронно-микроскопического исследования кусочки гонад фиксировали 2,5%-м 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 ч. Дофиксировали 1%-м раствором четырёхокси осмия на фосфатном буфере, содержащем 27 % сахарозы, в течение одного часа. Материал заключали в эпон-812. Срезы контрастировали 2%-м раствором уранилацетата и просматривали в электронном микроскопе EM-100 В.

Мужская репродуктивная система травяного шримса представлена парными семенниками, имеющими бисексуальное строение. Снаружи гонады покрыты перитонеальным эпителием, затем следует соединительно-тканый слой, внутри семенник выслан 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 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, после стадии размножения следует стадия роста. Сперматогонии прекращают делиться и переходят в сперматоциты I. 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 гаплоидных клетки – сперматиды. На четвёртой стадии – формирование – сперматиды претерпевают сложные процессы превращения в сперматозоиды.

Сперматогонии – диплоидные клетки семенника. Диаметр сперматогоний 17 мкм, ядра 10 мкм. Овальной или округлой формы ядро имеет одно или два ядрышка. Под электронным микроскопом ядро умеренной плотности, лишено компактного хроматина, заполнено фибриллами и небольшими 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. 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.

Сперматоциты I

Интерфазные сперматоциты I имеют овальную форму и по размеру крупнее сперматогоний. 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 сети. Каналами и цистернами он связан с перенуклиарным пространством и клеточной мембраной около ядерной мембраны. Первое митотическое деление характеризуется высокой синхронностью, в результате образуются сперматоциты II.

Сперматоциты II

Объём сперматоцитов II уменьшается. В цитоплазме присутствуют такие же структуры, как и на предыдущей стадии. Уменьшается количество рибосом, преобладает гладкий эндоплазматический ретикулум и округлой формы митохондрии. Перед эквационным делением хромосомы спирализуются, укорачиваются.

Сперматиды

После митотического деления образуются четыре сперматиды с гаплоидными ядрами. Во время спермиогенеза фолликулярные клетки выступают в семенниковый просвет, образуют фолликулярную строму, контактирующую с развивающимися сперматидами. Спермиогенез креветки можно условно разделить на пять стадий (рис. 1).

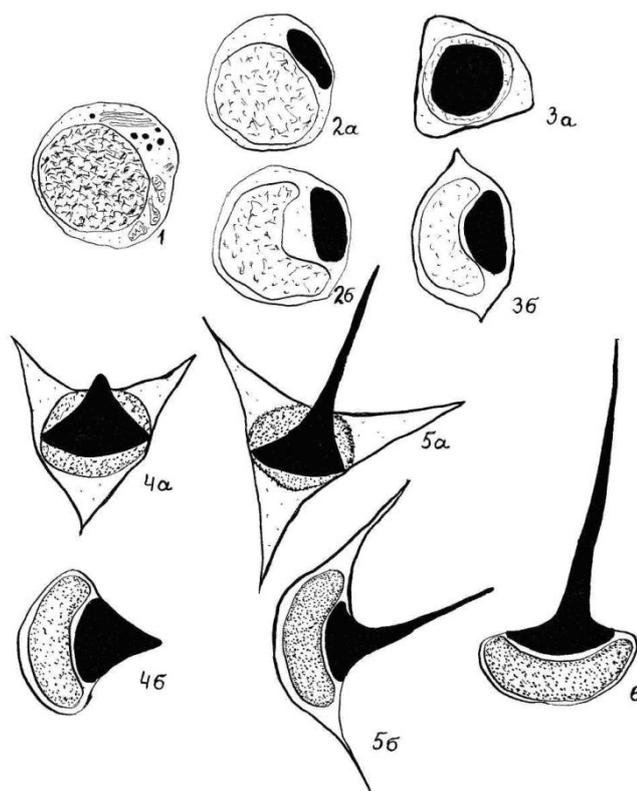


Рис. 1. Схема спермиогенеза травяного шримса: I – I стадия; 2а, б – II стадия; 3а, б – III стадия; 4а, б – IV стадия; 5а, б – V стадия; 6 – сперматозоид; а – поперечный срез; б – продольный срез
 Fig. 1. The scheme spermatogenez grassy shrimps: I – stage; 2а, б – II stage; 3а, б – III stage; 4а, б – IV stage; 5а, б – V stage; 6 – spermatozoid; а – cross-section cut; б – longitudinal cut

I стадия. Дифференциация ранней сперматиды начинается с морфогенеза ядерного материала и синтеза проакросомных пузырьков. В ранней сперматиде плотное ядро располагается полярно. В цитоплазме много митохондрий, полисом, одна центриоль и хорошо развит аппарат Гольджи (рис. 2, а). Реакция Фельгина и окраска на суммарные белки положительна.

II стадия. Плотность ядра уменьшается. Однако выход ядерного материала не обнаруживается. На продольном срезе ядро имеет округлую форму, на поперечном отмечается выпячивание ядерной оболочки в ядро. Проакросомные пузырьки, сливаясь, образуют эллипсоидную проакросомную вакуоль (рис. 2, б). Исчезает аппарат Гольджи, элементы эндоплазматического ретикулума, центриоль, значительно снижается количество полисом и митохондрий.

III стадия. Продолжается морфогенез ядра. Фельген – положительные ядра сперматид приобретают бобовидную форму. Эллипсоидная проакросомная вакуоль мигрирует к выпячиванию ядерной мембраны и погружается в неё. Изменяется форма клетки. На поперечном срезе она имеет прямоугольную форму (см. рис. 1, 3а, б). Таким образом, намечаются три направления будущей элиминации цитоплазмы.

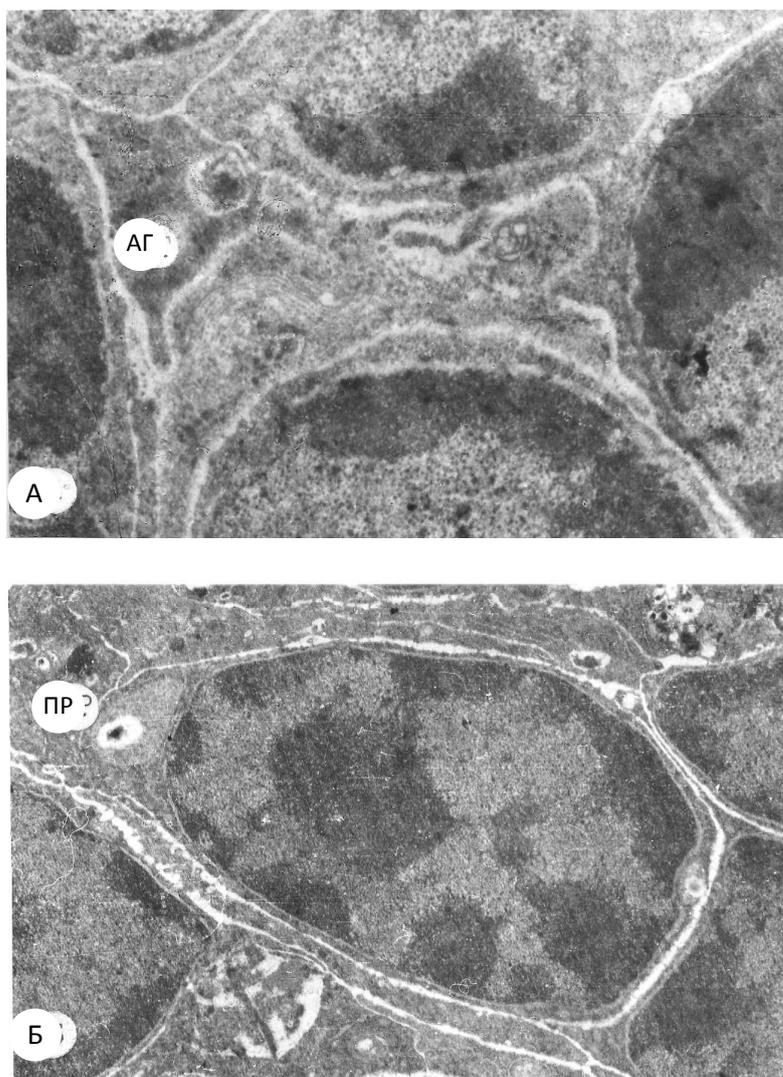


Рис. 2. Ранние сперматиды травяного шримса: А – I стадия; Б – II стадия.
 Обозначение: АГ – аппарат Гольджи; ПР – проакросомная вакуоль; ув. а – 1600 х; б – 1500 х
 Fig. 2. Early spermatids grassy shrimps: А – the first stage; Б – the second stage.
 Designation: АГ – the device Goldgi; ПР – proakrosomnaya vakyol; ув. а – 1600 х; б – 1500 х

IV стадия. Уменьшается плотность ядра. Начинается активное преобразование проакросомной вакуоли. Она приобретает конусовидную форму, нижним своим основанием покрывая большую часть ядра. Цитоплазматические выросты, появившиеся на предыдущей стадии, удлиняются (см. рис. 1, 4а, б).

V стадия. Продолжается выпячивание проакросомы. Мембраны проакросомы и клетки сливаются в одну. Проакросома принимает вид сильно заостренной пики (см. рис. 1, 5а, б). В центре проакросомной пики проходит канал. На поперечном срезе он заполнен электронно-плотным материалом белково-полисахаридной природы (рис. 3). Цитоплазматические выросты начинает частично элиминировать. К концу стадии длина акросомы достигает около 32 мкм. Цитоплазма полностью исчезает.

В результате спермиогенеза образуется сперматозоид особого типа без жгутика (рис. 4). Пикообразная акросома длиной 28-32 мкм покрывает бобовидное ядро со слабой ШИК-положительной реакцией. Субакросомное пространство типично для большинства сперматозоидов, у спермиев креветки *P. latirostris* нет.

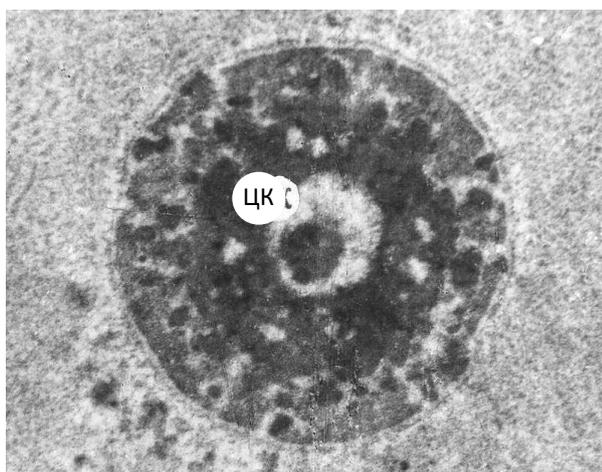


Рис 3. Поперечный срез акросомы. Ув. 36 000 х. Обозначение: ЦК – центральный канал
 Fig. 3. A cross-section cut akrosom. Ув. 36 000 х. Designation: the ЦК – the central channel

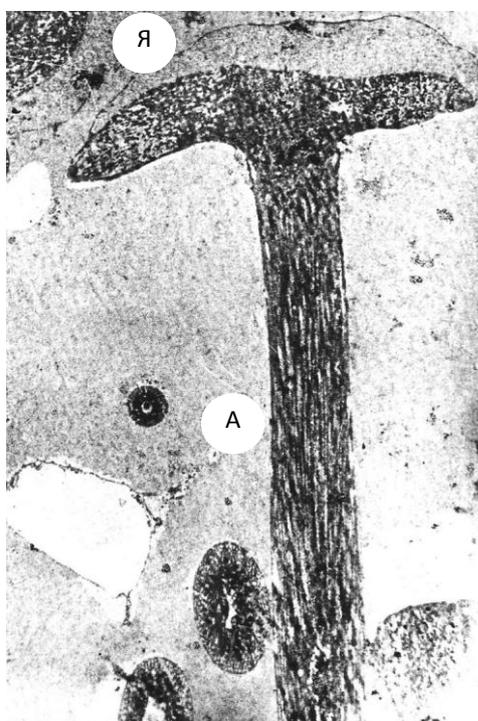


Рис. 4. Сперматозоид травяного шримса. Ув. 20 000 х. Обозначение:
 А – акросома; Я – ядро

Fig. 4. Spermatozoid grassv shrimс. Ув. 20 000 х. Обозначение: А – акросома; Я – ядро

Ракообразные – это самый многочисленный таксон морских животных после моллюсков. Из них десятиногие раки всегда привлекали внимание исследователей своими aberrantными спермиями. По спермиям десятиногих раков опубликовано много работ, в том числе несколько крупных монографий (Кольцов, 1905; Jamieson, Tudge, 2000). Чилимы относятся к семейству *Pandalidae*, которое входит в инфраотряд креветок *Caridea*. Сперматогенез и сперматозоиды изучены у нескольких видов из этого инфраотряда. Обзор этих работ дан Джемисоном и Тоджем (Jamieson, Tudge, 2000). Спермии креветок (*Caridea*) характеризуются особенностями, свойственными представителям подотряда *Dendrobranchiata* (Medina, 1995). К ним относятся: 1 – полностью отсутствует ядерная оболочка; 2 – нитчатый хроматин; 3 – отсутствие центриолей; 4 – отсутствие радиальных (звездчатых) рук.

Несмотря на многочисленные работы по спермиям креветок, представители семейства чилимов (*Pandalidae*) изучены слабо.

Морфология сперматогенеза: сперматогонии и сперматоциты травяного шримса имеют много общего с другими животными (Рузен-Ранге, 1980). Известно, что у креветки *Crandon septemspinosa* (Arsenault et al., 1980) сперматоциты заканчивают мейоз без цитотомии.

Однако у исследованной нами креветки *P. laterostris* наличие цитоплазматических мостиков мы не наблюдали.

Происхождение проакросомы безжгутиковых сперматозоидов у ракообразных пока не ясно. Среди предшественников проакросомы называют аппарат Гольджи (Reger, 1970), митохондрии, производные ядра и пузырьки эндоплазматического ретикулума (Langreth, 1969) гладкого и шероховатого (Moses, Chevallier, Cusse, 1975; Anderson, Ellis, 1967; Arsenault et al., 1979). У многих животных (Burgos, Favcett, 1955; Cameron, Fogal, 1969; Reger, 1970) акросома развивается из одной акросомной гранулы, в которой формируется (Moses, 1961a,b;

Vasusumi et al., 1961; Anderson et al., 1967; Lengreth, 1969) центральный канал для выделения ядерного материала во время акросомной реакции (Brown, 1966).

Процесс редукции цитоплазмы для поздних стадий спермиогенеза у ракообразных подробно не описан. Anderson, Ellis (1967) предполагает, что остаточная цитоплазма сперматид у рака отбрасывается, а затем поглощается фолликулярными клетками. У креветки *C. septemspinosa* цитоплазма преобразуется в слоистые структуры (Arsenault et al., 1979, 1980). Подобные мембранные комплексы наблюдались у различных беспозвоночных (Vasusumi, 1974).

Таким образом, спермиогенез у креветки *P. latirostris* отличается от других видов отсутствием синцитиальной связи между спермиогенными клетками, своеобразием элиминации цитоплазмы и ее органоидов, особенностями морфогенеза акросомы и формирования субакросомного материала. Разрыв оболочки ядра является обычным для спермиогенеза многих десятиногих ракообразных (Anderson et al., 1969; Reger, 1970). Смешивающее содержимое ядра и цитоплазмы вызывает образование спермиоплазмы.

После вымета сперматозоидов в гонадах происходит дегенерация семяпроводов и резорбция оставшихся мужских половых клеток, в которой активное участие принимают фолликулярные клетки. Сперматогенез прекращается полностью. Наступает инверсия пола. Оставшийся после нереста небольшой запас зародышевых клеток развивается как ооциты. Размер исследованных животных в этот период достигает 75-85 мм. Гонады начинают развиваться как яичники, в них присутствуют только женские половые клетки.

Список литературы

1. Ковалева В.И. Репродуктивный цикл у травяного шримса из залива Петра Великого [Текст] // Биол. моря. – 1982. – № 5. – С. 65-67.
2. Ковалева В.И. Сезонное изменение репродуктивной биологии травяного шримса *Pandalus latirostris* [Текст] / В.И. Ковалева // Научные тр. Дальрыбвтуза. – Владивосток: Дальрыбвтуз, 2009. – № 21. – Т. 1. – С. 40-44.
3. Ковалева В.И. Морфология сперматогенеза травяного шримса *Pandalus latirostris* [Текст] / В.И. Ковалева // Научные тр. Дальрыбвтуза. – Владивосток: Дальрыбвтуз, 2010. – № 22. – Т. 1. – С. 32-37.
4. Adivodi K.G., Adivodi R.G. Endocrine control of reproduction in decapod Crustacea. – Biol. – 1970. – P. 121-165.
5. Anderson W.A., Ellis R.A. Cytodifferentiation of the crayfish spermatozoon, acrosome formation, transformation of mitochondria and development of microtubules. – Z. Zellforsch. Microsk. Anat, 1967. – Vol. 77. – P. 80-94.
6. Anderson W.A., Weissman A., Ellis R.A. Cytodifferentiation during spermiogenesis in lumbricus terrestris. – J. Cell Biol., 1967. – Vol. 32. – № 1. – P. 11-26.
7. Arsenault A.L., Clattonburg R.E., Odenese P.H. Spermiogenesis in the shrimp, Crangon septemspinosa. – Say. Can. J. Zool., 1979. – Vol. 57. – P. 486-498.
8. Arsenault A.L., Clattonburg R.E., Odenese P.H. Further observations on spermatogenesis in the shrimp, Crangon septemspinosa. A mechanism for cytoplasmic reduction. – Say. Can. J. Zool. – 1980. – Vol. 58, #4. – P. 497-506.
9. Brown G.G. Ultrastructural studies of sperm morphology and sperm- egg interaction in the decapod Callinectes sapidus. – J. Ultrastruct. Res, 1966. – Vol. 14. – P. 425-440.
10. Charniaux-Cotton H. La glande androgene de quelques Crustacés Décapodes et particulièrement de *Lysmata seticaudata*, espèce à hermaphrodisme proterandrique fonctionnel. – C.R. Acad. Sci., Paris, 1958. – Vol. 246 – P. 2817-2819.
11. Charniaux-Cotton H. Physiologie de la gonade de *Lysmata seticauda*, (Crevette d'hermaphrodisme proterandrique) chez les individus normaux et les femelles masculinées. – C.R. Acad. Sci., Paris, 1961. – Vol. 253. – P. 199-201.

12. Cameron M.L., Fogal W.H. The development and structure of the acrosome in the sperm of *lumbricus terrestris* L. – *Can. J. Zool.* – 1963. – Vol. 41. – P. 753-761.
13. Komai T.A. revision of the genus *Pandalus* (Crustacea: Decapoda: Caridea: Pandalidae) // *Journal of Natural History.* – 1999. – Vol. 33. – P. 1265-1372.
14. Langreth S.G. Spermiogenesis in cancer crabs. – *J. Cell. Biol.* – 1969. – Vol. 43. – P. 575-603.
15. Medina A. Spermatozoal ultrastructure in Dendrobranchiata (Crustacea, Decapoda): Taxonomic and phylogenetic considerations I I Advances in spermatozoal phylogeny and taxonomy (ed. B.G.B. Jamieson, J Ausio, J.-L. Justine). *Memories du Museum National d'Histoire Naturelle.* Paris, France, 1995. – Vol. 166. – P. 231-242.
16. Moses M.J. Spermiogenesis in the crayfish (*Procambarus clarkii*). I. Structural characterization of the mature sperm. – *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 1961a. – Vol. 9. – P. 222-228.
17. Moses M.J. Spermiogenesis in the crayfish (*Procambarus clarkii*). II. Description stages. – *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 1961b. – Vol. 10. – P. 301-333.
18. Reger J.F. Studies on the fine structure of spermatids and spermatozoa of the crab, *Pinnizia*. – *J. Morphol.*, 1970. – Vol. 132. – P. 89-100.
19. Yasuzumi G. Electron microscope studies on spermiogenesis in various animal species. – *Int. Rev. Cytol.*, 1974. – Vol. 37. – P. 53-119.
20. Yasuzumi G., Kaye G.I., Pappas G.D., Yamamoto H., Taubo T. Nuclear and cytoplasmic differentiation in developing sperm of the crayfish, *Cambaroides japonicus*. – *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, 1961. – Vol. 53. – P. 141-158.
21. Рузен-Ранге Э. Сперматогенез у животных. – М.: Мир, 1980. – 255 с.
22. Medina Antonio. The atypical sperm morphology of *Aristeuse antennatus* and *Aristaeomorpha foliacea* and their phylogenetic significance // *Mem. Mus. nat. hist. Natur. Zool.* – 1995. – Vol. 166. – P. 243-250.
23. Medina Antonio. Spermatozoal ultrastructure in Dendrobranchiata // *Mem. Mus. nat. hist. Natur. Zool.* – 1995. – Vol. 166. – P. 231-242.

Сведения об авторе: Ковалева Валентина Ивановна, кандидат биологических наук, доцент.