

В.Я.Федосеев, Н.А.Баранова

**СЕЗОННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ООГЕНЕЗА САМОК
КАМЧАТСКОГО КРАБА *PARALITHODES CAMTSCHATICA*
(CRUSTACEA: DECAPODA, LITHODIDAE)
В УСЛОВИЯХ РЕГУЛИРУЕМОГО ПРОМЫСЛА**

Камчатский краб широко добывается рыбной промышленностью. Развивающийся промысел требует решения таких задач, как контроль состояния запасов, определение численности вида и, что особенно важно, колебаний его численности, а также выявление причин этих колебаний. Решить эти проблемы может только комплексное изучение всех сфер жизнедеятельности крабов. Биология размножения — важнейшая составляющая такого исследования. Исследования процессов размножения на клеточном уровне дают необходимые знания о состоянии и возможностях изучаемого вида в природе (Федосеев, Родин, 1986; Федосеев, 1994, 2000).

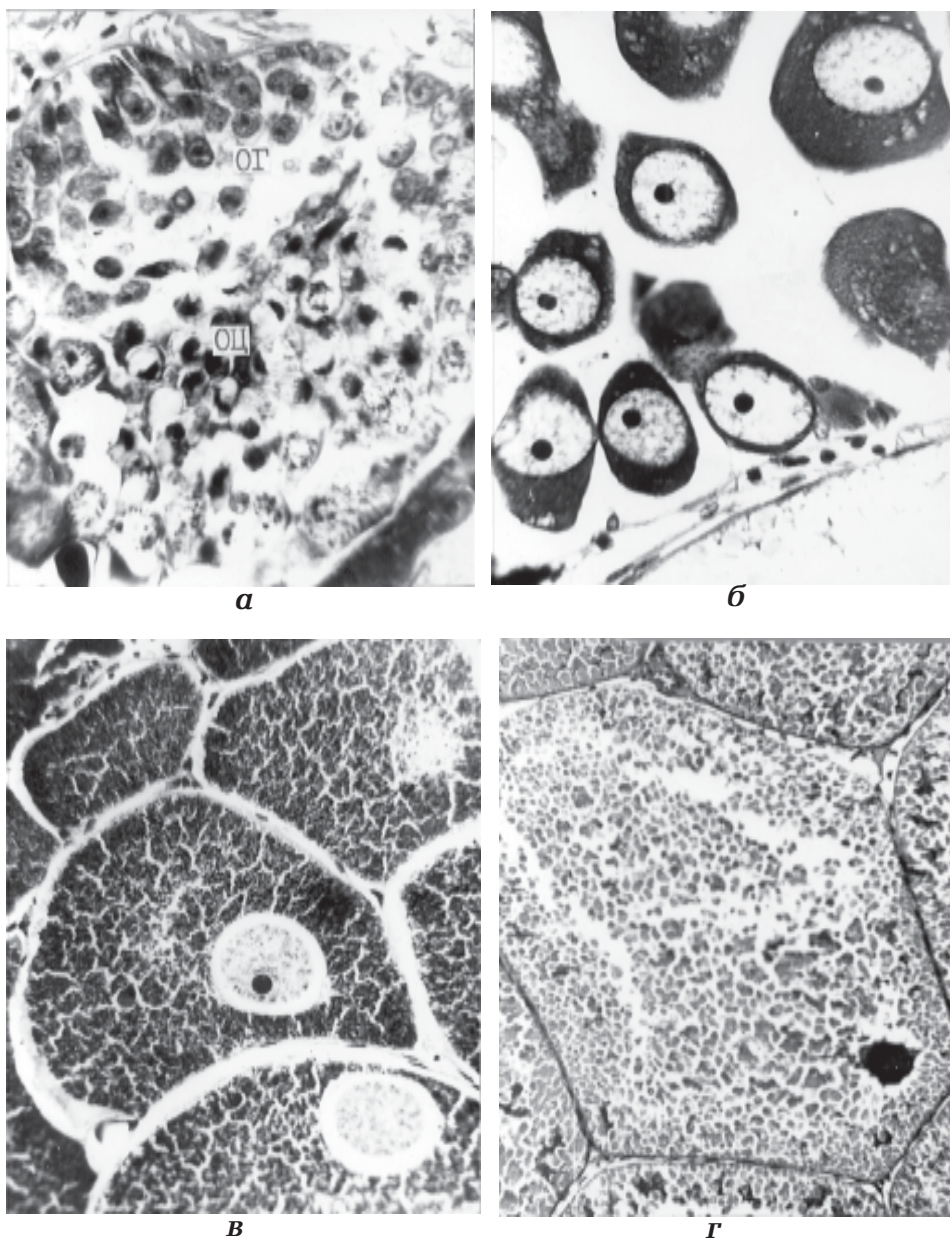
Основная цель настоящей работы — дать гистологическое описание половых клеток и показать сезонные гистоморфологические изменения в строении гонад самок камчатского краба в условиях регулируемого промысла.

Материал для исследований собирали у берегов западной Камчатки в мае — июне 1987 г. В зал. Петра Великого с апреля 1990 по март 1991 г. отлавливали по 10 самок ежемесячно. В работе использовали гонады 140 половозрелых животных 1 — 2 — 3 — 4-й межличиночных категорий. Средняя масса и размер карапакса самок составляли 1,74 кг и 13,7 x 15,09 см. Для гистологических исследований кусочки гонад крабов фиксировали в смеси Буэна и в спиртукусусной жидкости (3: 1). Далее материал обрабатывали по общепринятой методике (Ромейс, 1955). Парафиновые срезы толщиной 5 — 7 мкм окрашивали гематоксилином Караччи. Проанализировано состояние оогенеза в каждом месяце года. Описание гистоморфологического строения гонад дается по наиболее характерному месяцу каждого сезона года.

Апрель. В гонаде после нереста обнаруживаются оогонии, ооциты малого, большого цитоплазматического и раннего трофоплазматического роста. Оогонии характеризуются очень крупным ядром и небольшим количеством базофильной цитоплазмы (см. рисунок, а). Хроматин имеет вид тонких нитей. Гранулы хроматина располагаются по всему ядру. Все клетки этого типа имеют одну округлой формы ядрышко, гомогенное по структуре и базофильно окрашенное гематоксилином.

Ооциты малого роста подобно оогониям имеют небольшое количество цитоплазмы и очень крупное ядро, расположенное в центре клетки (см. рисунок, а). В ядре можно наблюдать различные этапы профазы мейоза. По мере роста ооцитов увеличивается объем цитоплазмы отно —

сительно ядра. Все ооциты малого роста имеют гомогенную цитоплазму, интенсивно окрашенную гематоксилином.



Половые клетки самок камчатского краба на разных стадиях развития: **а** — оогонии (ОГ), ооциты малого роста (ОЦ); **б** — ооциты большого цитоплазматического роста; **в** — ранний ооцит большого трофоплазматического роста; **г** — поздний ооцит большого трофоплазматического роста

Sexual cells of king crab females at different stages of development: **a** — oogonia (ОГ), oocytes of low growth (ОЦ); **б** — oocytes of high cytoplasmatic growth; **в** — early oocyte of high trophoplasmatic growth; **г** — late oocyte of high trophoplasmatic growth

Начиная со стадии большого цитоплазматического роста происходит интенсивный рост цитоплазмы и ядра (см. рисунок, б). Ооциты цитоплазматического роста имеют базофильную и однородную цитоплазму. Ядро крупное округлой или овальной формы, располагается чаще в

центре клетки. Хроматин образует более или менее рыхлые нити, равномерно распределенные по ядру. Процесс разрыхления хроматина на этой стадии усиливается.

Ооциты трофоплазматического роста имеют неоднородную по структуре цитоплазму. Ранние ооциты трофоплазматического роста имеют темную мелкозернистую цитоплазму (см. рисунок, в). В ней обнаруживаются мелкие плотные гранулы, которые интенсивно окрашиваются гематоксилином. Ядро располагается в центре клетки, хроматин равномерно распределен по ядру. В ядре присутствует одно базофильное ядрышко. На самых ранних этапах трофоплазматического роста формируется фолликулярная оболочка.

Половые клетки в гонадах камчатского краба располагаются следующим образом. Зоны оогоний и ооцитов малого роста располагаются вдоль продольной оси гонады или могут быть слегка смещены от нее в любом направлении. От этого участка мелких клеток радиально отходит несколько клеточных тяжей. Проксимальную часть тяжей образуют ооциты большого цитоплазматического роста. Среднюю и дистальную части тяжей составляют ранние ооциты трофоплазматического роста. В апреле клеточные тяжи длинные, иногда изгибаются и содержат большое количество клеток. В дистальных участках клеточные тяжи сильно расширяются и распадаются на несколько долек. В апреле оболочка, разделяющая трофоплазматические ооциты на дольки, хорошо видна.

Июль. В гонаде обнаруживаются оогонии и ооциты малого, большого цитоплазматического, раннего и позднего большого трофоплазматического роста.

Оогонии характеризуются очень крупным ядром и небольшим количеством цитоплазмы. Все клетки этого типа имеют одну округлой формы ядрышко, гомогенное по структуре и интенсивно окрашенное гематоксилином.

Ооциты малого роста содержат небольшое количество цитоплазмы и очень крупное ядро, расположенное в центре клетки. В ядре обнаруживаются различные этапы профазы мейоза. Все ооциты малого роста имеют гомогенную цитоплазму, интенсивно окрашенную гематоксилином.

У ооцитов большого цитоплазматического роста базофильная однородная по структуре цитоплазма. Ядро крупное округлой формы, располагается обычно в центре клетки. Хроматин имеет вид рыхлой массы. Базофильное ядрышко присутствует во всех клетках этого типа, располагается в центре ядра. Внутренняя структура ядрышка однородная.

Ранние ооциты трофоплазматического роста имеют базофильную цитоплазму, в которой обнаруживаются мелкие плотные гранулы, окрашивающиеся гематоксилином в темно-синий цвет. По мере роста и развития ооцита базофилия цитоплазмы уменьшается. У поздних ооцитов трофоплазматического роста цитоплазма почти полностью заполнена гранулами желтка. Ядро в ранних ооцитах трофоплазматического роста располагается чаще в центре клетки, имеет ровные края. Хроматин образует рыхлую массу с многочисленными уплотнениями. В ядре обнаруживается одно ядрышко, которое имеет округлую форму и интенсивно окрашивается гематоксилином. Внутри ядрышка обнаруживаются светлые вакуоли различной величины. Вокруг ооцитов, находящихся на самых ранних этапах трофоплазматического роста, формируется фолликулярная оболочка.

Оогонии, ооциты малого и большого роста располагаются в гонаде следующим образом. Зоны оогоний и ооцитов малого роста могут быть

расположены вдоль продольной оси гонады или могут быть слегка смещены от нее в любом направлении. От центра к стенке гонады участок мелких клеток плавно переходит в клеточные тяжи. Проксимальную часть тяжей образуют оогонии и ооциты цитоплазматического роста, среднюю и дистальную — ранние и поздние ооциты трофоплазматического роста. Клеточные тяжи длинные, иногда изгибаются, образуют складки. В этом месяце тяжи содержат большое количество клеток. В дистальных отделах клеточные тяжи расширяются и распадаются на несколько долек. Тяжи и дольки ограничены слоем соматических клеток гонады. В июле оболочки между дольками тоньше, чем в апреле.

Октябрь. В гонадах камчатского краба в этот период обнаруживаются оогонии, ооциты малого и большого роста.

Оогонии характеризуются очень крупным ядром и небольшим количеством базофильной цитоплазмы. Хроматин образует множество гранул или тонких нитей. В оогониях присутствует одно базофильное ядрышко.

Ооциты малого роста имеют небольшое количество цитоплазмы и очень крупное ядро. В ядре наблюдаются различные этапы профазы мейоза. Все ооциты малого роста имеют гомогенную базофильную цитоплазму.

Ооциты цитоплазматического роста округлой либо овальной формы. Цитоплазма у них базофильная и однородная по структуре. Крупное ядро располагается в центре клетки. Хроматин имеет вид рыхлой массы, равномерно распределенной по ядру. Процесс разрыхления хроматина усиливается по мере роста ооцитов. В ядре присутствует одно ядрышко, которое окрашивается гематоксилином в темно-синий или почти черный цвет. Внутренняя структура ядрышка однородная.

Ранние ооциты трофоплазматического роста имеют базофильную неоднородную цитоплазму. В ней обнаруживаются мелкие плотные гранулы, которые окрашиваются гематоксилином в темно-синий цвет. По мере роста и развития ооцита базофилия цитоплазмы ослабевает. Ядро, как правило, располагается в центре клетки, оно имеет округлую форму и ровные края. Хроматин образует рыхлую массу с многочисленными уплотнениями и глыбками. В ядре обнаруживается одно ядрышко, которое имеет округлую форму и интенсивно окрашивается гематоксилином, внутри ядрышка мелкие и крупные светлые вакуоли. Вокруг ранних трофоплазматических ооцитов формируется фолликулярная оболочка. У поздних ооцитов трофоплазматического роста цитоплазма почти полностью заполнена мелкими и крупными гранулами желтка (см. рисунок, г). Вокруг ядра остаются небольшие участки цитоплазмы, свободной от желтка. Ядро смещено к периферии клетки. В ядре присутствует одно базофильное ядрышко округлой формы. Структура ядрышка неоднородная, в ней обнаруживаются мелкие и крупные вакуоли. Все поздние ооциты трофоплазматического роста имеют фолликулярную оболочку.

Зоны оогоний и ооцитов малого роста располагаются вдоль продольной оси гонады или могут быть слегка смещены к ее периферии. Ооциты цитоплазматического роста располагаются в проксимальных отделах клеточных тяжей. Ранние ооциты трофоплазматического роста образуют среднюю часть клеточных тяжей. Поздние ооциты трофоплазматического роста — дистальную часть тяжей. В осенних гонадах клеточные тяжи выглядят более узкими и содержат в проксимальных и средних отделах меньшее количество клеток по сравнению с таковыми весной и летом. Оболочки дистальных отделов клеточных тяжей и долек очень тонкие и плохо видны.

Январь. В гонаде камчатского краба обнаруживаются оогонии, ооциты малого и большого роста.

Оогонии характеризуются очень крупным ядром и небольшим количеством цитоплазмы. Цитоплазма базофильная, гомогенная. Хроматин образует гранулы различной величины или нити. Базофильное ядрышко обнаруживается во всех оогониях.

Ооциты малого роста имеют небольшое количество цитоплазмы и очень крупное ядро. В ядре обнаруживаются различные этапы профазы мейоза. Все ооциты имеют гомогенную базофильную цитоплазму.

Ооциты цитоплазматического роста содержат крупное ядро и гомогенную базофильную цитоплазму. Ядро располагается в центре клетки. Хроматин образует рыхлую массу, равномерно распределенную по ядру. Во всех клетках присутствует одно крупное сильно базофильное ядрышко.

Ранние ооциты трофоплазматического роста имеют базофильную неоднородную цитоплазму, в которой обнаруживаются мелкие плотные гранулы, интенсивно окрашенные гематоксилином. Ядро в ранних ооцитах трофоплазматического роста располагается, как правило, в центре клетки. Хроматин образует рыхлую массу с большим количеством глыбок и уплотнений различной формы. Во всех ооцитах этого типа присутствует одно крупное базофильное ядрышко. Внутри ядрышка обнаруживаются светлые вакуоли различной величины. Вокруг ранних трофоплазматических ооцитов формируется фолликулярная оболочка.

У поздних ооцитов трофоплазматического роста вся цитоплазма заполнена мелкими и крупными гранулами желтка. Большинство ооцитов имеют сильно базофильные сморщенные ядра, которые смещены к оболочке ооцита. В ядрах присутствуют вакуолизованные ядрышки. Иногда еще встречаются ооциты с крупными округлыми ядрами. Такие ядра слабо окрашиваются гематоксилином, хроматин в них образует различные базофильные структуры. В ядрах этого типа присутствует одно крупное вакуолизованное базофильное ядрышко. Все поздние ооциты трофоплазматического роста имеют фолликулярную оболочку.

Зоны оогоний, ооцитов малого и большого роста располагаются в клеточных тяжях следующим образом: в центре гонады или слегка смещены к ее периферии — оогонии и ооциты малого роста; в проксимальной части клеточных тяжей — ооциты цитоплазматического роста; в средней — ранние ооциты трофоплазматического роста; в дистальной — поздние ооциты трофоплазматического роста. Оболочки дистальных отделов клеточных тяжей и долек очень тонкие, поэтому определить границы между ними трудно. Тяжи узкие и содержат в проксимальных и дистальных отделах небольшое количество клеток.

Гистоморфологическая характеристика половых клеток

В гонадах камчатского краба в исследованных нами четырех сезонах присутствуют следующие половые клетки: оогонии, ооциты малого роста, ооциты большого цитоплазматического и трофоплазматического роста.

Самое большое количество оогоний и ооцитов малого роста обнаруживается в весенний период. Оогонии камчатского краба по основным морфологическим признакам не отличаются от оогоний большинства беспозвоночных животных (Равен, 1964; Соколов, 1966). Как недифференцированные клетки, основная функция которых — размножение, они характеризуются очень крупным ядром и небольшим коли-

чеством цитоплазмы. Эти характеристики оогоний не меняются в течение всех сезонов (Федосеев, Баранова, 1996а, б).

Ооциты малого роста имеют небольшое количество однородной базофильной цитоплазмы. В ядре наблюдаются различные этапы профаза мейоза вплоть до диплотены. Наибольшее количество ооцитов малого роста присутствует в гонаде камчатского краба в весенний период. Наименьшее число ооцитов малого роста приходится на зимний сезон. Основные характеристики ооцитов малого роста в течение изученных сезонов не меняются.

На стадии цитоплазматического роста наблюдается интенсивный рост цитоплазмы и ядра ооцитов. Хроматин у этих клеток равномерно распределен по ядру и имеет вид рыхлых нитей. По-видимому, здесь идет образование хромосом типа «ламповых щеток», что свидетельствует о максимальной активности ядерного аппарата. В этот период ооциты накапливают рибосомы, которые вместе с целым рядом ферментов создают белоксинтезирующую систему, функционирующую на ранних этапах эмбриогенеза (Арронет, 1980; Зыбина и др., 1980). В ядре присутствует одно крупное сильно базофильное ядрышко. Такие ядрышки свойственны клеткам, в которых идет активный синтез р-РНК (Айзенштадт, 1984). Ооциты цитоплазматического роста с такими характеристиками присутствуют в гонадах камчатского краба в весенний, летний, осенний и зимний сезоны.

Наиболее значительные морфологические перестройки происходят в ооцитах трофоплазматического роста. В апреле, после нереста, в гонадах камчатского краба присутствуют только ранние ооциты трофоплазматического роста. Все они имеют неоднородную мелкозернистую цитоплазму, в которой отсутствуют гранулы желтка. Цитоплазма перестает быть однородной, потому что в ней начинают происходить различные процессы, связанные с синтезом и накоплением резервных веществ ооцита. Кроме того, ооциты трофоплазматического роста имеют оболочку из фолликулярных клеток. Главная функция фолликулярной оболочки — проведение к ооциту желточных белков. Ядро, как правило, располагается в центре клетки. Хроматин образует рыхлую массу с многочисленными мелкими глыбками и уплотнениями. Ооциты трофоплазматического роста имеют одно базофильное ядрышко. Внутри ядрышка обнаруживается не окрашенная гематоксилином вакуоль. Такой вид начинают приобретать ядрышки, завершающие функционирование (Заварзин, Харазова, 1982).

В июле в гонаде камчатского краба наряду с ранними появляются и поздние ооциты трофоплазматического роста. Цитоплазма у них заполняется мелкими и крупными гранулами желтка округлой формы. Ядро может либо располагаться в центре клетки, либо смещено к ее оболочке, в тех ооцитах, где цитоплазма больше заполнена желтком. В ядре хроматин образует множество базофильных структур. Происходит конденсация хромосом, что свидетельствует о завершении периода активности ядерного хроматина. В базофильном ядрышке обнаруживаются 2–3 вакуоли, таким образом, активность ядрышкового материала продолжает уменьшаться.

В октябре в гонаде камчатского краба присутствуют ранние и поздние ооциты трофоплазматического роста. Осенью ранние ооциты трофоплазматического роста характеризуются теми же признаками, что и летом. Цитоплазма поздних ооцитов трофоплазматического роста почти полностью заполнена гранулами желтка, только вокруг ядра остается не большой участок, свободный от желтка. Ядро во всех ооцитах смещено к

оболочке клетки. Хроматин образует множество базофильных структур. В ядре присутствует одно базофильное вакуолизированное ядрышко.

В январе вся цитоплазма поздних ооцитов заполнена гранулами желтка. В зимний период в гонадах присутствуют ооциты с двумя типами ядер. Большинство ооцитов имеют небольшие сильно базофильные сморщенные ядра. Хроматин образует множество базофильных структур, которые плохо просматриваются из-за сильной базофилии ядра. В ядре присутствует одно ядрышко, в котором обнаруживается большая вакуоль, не окрашенная гематоксилином. Подобные ядра находятся в ооцитах, в которых синтетическая активность ядра завершена. Иногда еще в гонадах встречаются ооциты с крупными округлыми ядрами, как в летний и осенний сезоны. Хроматин слабо окрашивается гематоксилином в серый цвет и образует множество четко определяемых базофильных структур. В ядре присутствует базофильное ядрышко, содержащее одну крупную вакуоль. В последующие месяцы, ближе к нересту, можно ожидать, что все ооциты будут иметь сморщенные базофильные ядра с завершенной синтетической активностью.

Сезонные изменения в гистоморфологическом строении гонад

Самые большие зоны оогоний и ооцитов малого роста с большим числом клеток обнаруживаются в весенний период. На протяжении всех четырех сезонов они располагаются вдоль продольной оси гонады или могут быть смещены от нее в любом направлении. Весной клеточные тяжи широкие, длинные, иногда изгибаются, образуя складки (Федосеев, Баранова, 1996б). В дистальных отделах они расширены и разделены на дольки. Ооциты цитоплазматического роста располагаются в проксимальных и средних отделах клеточных тяжей. Ранние ооциты трофоплазматического роста — в средних и дистальных отделах. Тяжи и дольки имеют оболочку из соматических клеток гонады. В апреле эти оболочки хорошо видны.

В июле ранние ооциты трофоплазматического роста вступают в стадию поздних трофоплазматических ооцитов, в связи с этим изменяется и расположение зон ооцитов в тяжах. Ооциты цитоплазматического роста располагаются в проксимальных отделах клеточных тяжей, ранние ооциты трофоплазматического роста — в средних отделах, поздние — в дистальных отделах тяжей. Увеличение гонады происходит за счет роста поздних трофоплазматических ооцитов. Клеточные тяжи становятся длинными, иногда изгибающимися. В дистальных отделах клеточные тяжи расширены и разделены на дольки. Оболочки клеточных тяжей и долек в этот период более тонкие, чем весной.

В октябре клеточные тяжи в проксимальных и средних отделах становятся более узкими и содержат меньшее число клеток. Расположение половых клеток в осенних гонадах не меняется. Оболочки дистальных отделов клеточных тяжей и долек осенью тоньше, чем весной и летом.

В январе рост гонады продолжает осуществляться за счет увеличения объемов поздних трофоплазматических ооцитов. Распределение зон оогоний, ооцитов малого и большого роста в зимний сезон не меняется. Клеточные тяжи узкие, с наименьшим числом клеток в проксимальных и средних отделах. Со всех сторон они сжаты поздними ооцитами трофоплазматического роста.

Весной в предстоящем нерестовом сезоне будут участвовать только ооциты позднего трофоплазматического роста. В апреле эта генерация половых клеток находилась на стадии ранних трофоплазматических ооцитов. Летом в их цитоплазме образовались гранулы желтка и ооциты

вступили в стадию поздних трофоплазматических ооцитов. Все последующие месяцы они накапливали питательные вещества в цитоплазме, увеличиваясь при этом в размерах. После нереста в гонаде камчатского краба останутся ранние ооциты трофоплазматического роста второй генерации, которые будут участвовать в нересте на следующий год.

Выводы

В гонаде самок камчатского краба половые клетки организованы в длинные радиально расходящиеся клеточные тяжи. Каждый тип половых клеток образует в гонаде соответствующую зону.

Оогонии, ооциты малого роста, большого цитоплазматического, ранние ооциты трофоплазматического роста присутствуют в гонадах во всех четырех сезонах, поздние ооциты трофоплазматического роста — в летний, осенний и зимний сезоны. В гонадах камчатского краба обнаруживаются две генерации ооцитов трофоплазматического роста, развитие которых происходит с разностью во времени относительно друг друга, равной одному году. Это позволяет сделать вывод о том, что длительность оогенеза у камчатского краба составляет два года. Образование половых продуктов и участие самок в нересте происходит ежегодно.

Литература

- Айзенштадт Т.Б.** Цитология оогенеза. — М.: Наука, 1984. — 201 с.
- Арронет В.Н.** Ядерные структуры в оогенезе черепах. Особенности функционирования ядрышкового организатора в ооцитах болотной черепахи // Цитология. — 1980. — Т. 22, № 12. — С. 1405–1412.
- Заварзин А.А., Харазова А.Д.** Основы общей цитологии. — Л.: ЛГУ, 1982. — 239 с.
- Зыбина Е.В., Зыбина Т.Г., Далманс А.Р.** Изучение структуры ядра на стадии диплономы и диакинеза в ооцитах лесной сони. Формирование кариосферы // Цитология. — 1980. — Т. 22, № 4. — С. 381–386.
- Равен Х.** Оогенез. — М.: Мир, 1964. — 306 с.
- Ромейс Б.** Микроскопическая техника. — М.: Иностранная литература, 1955. — 718 с.
- Соколов И.И.** Цитологические основы полового размножения многоклеточных животных. — Л.: Наука, 1966. — 406 с.
- Федосеев В.Я.** Длительность и продуктивность оогенеза у самок камчатского краба *Paralithodes camtschatica* в условиях регулируемого промысла // Тез. докл. конф. "Экосистемы морей России в условиях антропогенного пресса (включая промысел)". — Астрахань, 1994. — С. 536–539.
- Федосеев В.Я.** Способы искусственного повышения продуктивности природных популяций крабов // Экол. вестн. Приморья. — 2000. — № 5. — С. 3–9.
- Федосеев В.Я., Баранова Н.А.** Сезонные изменения в гонадах самок камчатского краба (*Paralithodes camtschatica*) в условиях регулируемого промысла / ТИНРО. — Владивосток, 1996а. — 14 с. — Деп. во ВНИЭРХ.
- Федосеев В.Я., Баранова Н.А.** Гистоморфологическая характеристика гонад камчатского (*Paralithodes camtschatica*) и синего (*Paralithodes platypus*) крабов в нерестовый период / ТИНРО. — Владивосток, 1996б. — 13 с. — Деп. во ВНИЭРХ.
- Федосеев В.Я., Родин В.Е.** Воспроизводство и формирование популяционной структуры камчатского краба // Динамика численности промысловых животных дальневосточных морей. — Владивосток: ТИНРО, 1986. — С. 35–45.

Поступила в редакцию 20.04.2000 г.