

Л.А.Масленникова, Г.Г.Калинина
(Владивостокский медицинский университет,
Дальрыбвтуз)

РЕПРОДУКТИВНАЯ СИСТЕМА САМЦОВ
КОРБИКУЛЫ ЯПОНСКОЙ (CORVICULA JAPONICA)
АМУРСКОГО ЗАЛИВА (ЯПОНСКОЕ МОРЕ)

На Дальнем Востоке корбикула обитает в эстуариях, солоноватых лагунах, озерах вдоль всего побережья Японского моря. Это ценный пищевой моллюск, объем и добыча которого в нашем крае последнее время увеличиваются. Популяционная структура корбикулы в водоемах южного Приморья изучается (Колесникова, 1998; Дуванская, Кривошеева, 1998), так же как состав жирных кислот липидов и ионов тяжелых металлов в органах и тканях (Калинина и др., 1997; Калинина, 1998). Однако рост промысла корбикулы в Приморье ставит вопрос о сроках гаметогенеза, состоянии половой железы этого моллюска. Сведения о репродукции корбикулы, обитающей в зарубежных водах, отрывочны (Fusiwara, 1975; Kramer, 1979; Ituarte, 1985). В связи с этим мы изучали строение репродуктивной системы самцов корбикулы японской *Corbicula japonica* и ее состояние в течение года.

Моллюсков собирали в устье р.Раздольной в течение 1995–1996 гг. с глубины 1,0–1,5 м два раза в месяц, во время нереста каждую неделю. Кусочки семенников размером 0,5 см фиксировали жидкостью Буэна. Парафиновые срезы толщиной 3 мкм для морфологических исследований окрашивали азаном, гематоксилином Эрлиха с докраской эозином (Ромейс, 1953), ДНК выявляли реакцией Фельгена.

Степень зрелости семенников на протяжении года определяли визуально и уточняли цитологическими наблюдениями. Ежемесячно учитывали количество половых фолликулов в поле зрения микроскопа при увеличении 7 x 10, их среднюю площадь, площадь зоны роста и формирования. На микрофотометре МФ-2 определяли среднюю оптическую плотность зоны формирования (окраска по Фельгену). К зоне роста отнесли часть фолликула, занятую сперматогониями и сперматоцитами I и II порядка, к зоне формирования – площадь, на которой располагаются сперматиды и сперматозоиды. Все измерения выполняли с помощью рисовального аппарата РА-5, полярного планиметра ПП-2К и выражали в условных планиметрических единицах. Морфометрические показатели позволили рассчитать степень зрелости семенников (К) в каждом месяце как произведение площади формирования (S) на ее оптическую плотность (P): $K = S \times P$.

Морфометрические данные дополнялись цитологической характеристикой клеточных генераций сперматогенеза в семеннике в течение года. Для изучения строения репродуктивной системы использовали серийные парафиновые срезы.

Для электронной микроскопии материал фиксировали в 2 %-ном глутаральдегиде на 0,5 М какодилатном буфере, содержащем 2,9 % NaCl, дофиксировали 1 %-ным OsO₄ на том же буфере и заключали в аралдит. Срезы просматривали в микроскопе JEM-100 В.

Гонады корбикулы японской являются парными органами, состоящими из сильно разветвленных трубочек с многочисленными терминальными и латеральными фолликулами (половыми пузырьками). У хорошо питающейся зрелой особи перед нерестом фолликулы полностью заполнены сперматозоидами, образующими спирально закрученную группу клеток жгутиками к центру, и созревающими половыми клетками. Фолликулы в этот период составляют большую часть висцеральной массы. Трубочки каждой гонады в результате серии слияний образуют пару гонодуктов, которые идут каудально и дорзально по направлению к области половых отверстий. Отверстия в виде продольных щелей расположены на крошечных папиллах, локализованных на каждой стороне дорзальной вершины висцеральной массы, как раз впереди от мышцы ретрактора ноги.

Строение гонодуктов зависит от нерестовой активности самцов. Осенью в период пролиферации сперматогониев и весной на стадии “активного гаметогенеза” стенки гонодуктов утолщенные и спавшиеся (рис. 1). В период нереста гонодукт сильно растянут и складок на его стенке нет (рис. 2).

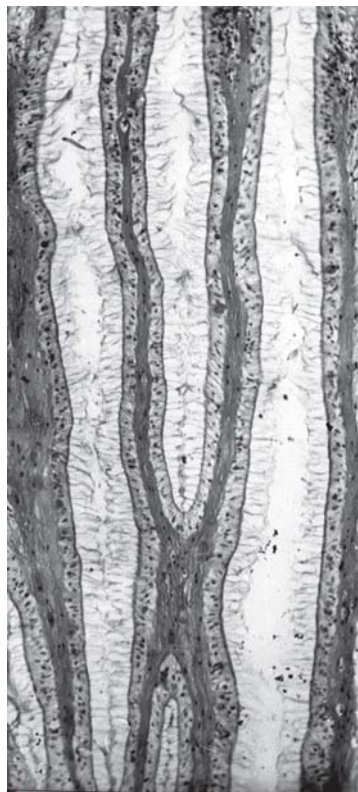
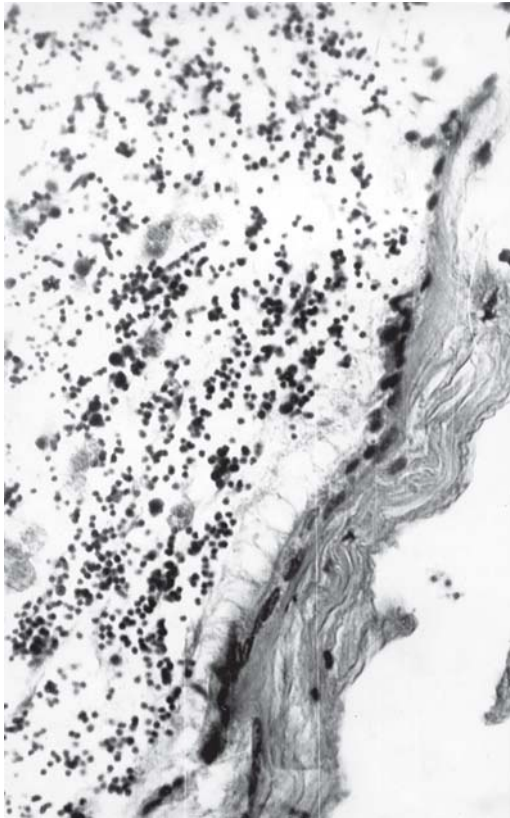


Рис. 1. Гонодукт корбикулы японской в ноябре. Азан (ув. об. 10, ок. 7)

Fig. 1. Mollusc's gonoduct in November. Azan (magnitude: ob. 10, oc. 7)

Ткань, выстилающая гонодукт, заслуживает особого внимания. Осенью внутренние стенки гонодукта сморщенные с продольными гребнями соединительной ткани, на которые опираются реснитчатые столбчатые эпителиальные клетки; среди них наблюдаются клетки с гранулярной цитоплазмой. Как правило, реснитчатые столбчатые клетки имеют выпуклые эллипсовидные ядра. Их цитоплазма слегка окрашивается эозином, а участки клеток в местах выхода ресничек более интенсивно. Среди столбчатых клеток однослойного многорядного реснитчатого эпителия встречаются одиночные клетки бульбообразной формы, которые лишены ресничек и содержат гранулярную цитоплазму (рис. 3). Многочисленные секреторные пузырьки сосредоточены в апикальной части этих клеток под плазматической мембраной и откры-



ваются широкими устьями в просвет гонодукта. В конечных отделах гонодуктов количество клеток с гранулярной цитоплазмой возрастает.

Рис. 2. Стенка гонодукта корбикулы японской в августе. Гематоксилин Эрлиха с эозином (ув. об. 20, ок. 10)

Fig. 2. Corbicula gonoduct's wall in August. Erlich hematoxylin with eosin (magnitude: ob. 20, oc. 10)

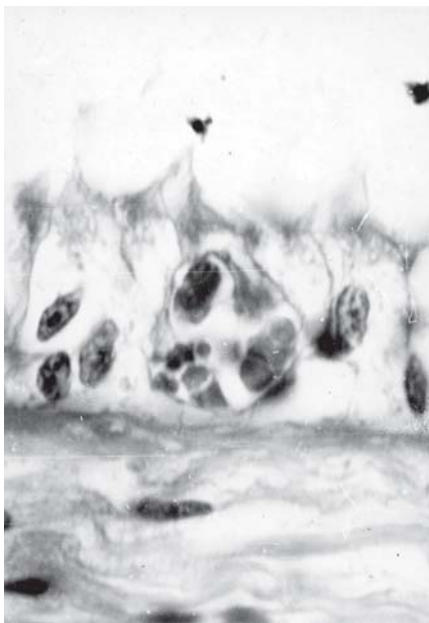


Рис. 3. Секреторные клетки в стенке гонодукта. Гематоксилин Эрлиха с эозином (ув. об. 100, ок. 10)

Fig. 3. Secretory cells in gonoduct wall. Erlich hematoxylin with eosin (magnitude: ob. 100, oc. 10)

Висцеральная часть гонады пронизана мышечными волокнами, которые чаще встречаются в стенке гонады, и кровеносными синусами. В зависимости от степени зрелости семенника толщина его стенки меняется; наименьшую толщину стенка имеет перед нерестом, наибольшую в период относительной половой инертности. Стенка фолликула семенника корбикулы состоит из базальной мембраны толщиной около 0,5 мкм (рис. 4). Электронно-микроскопические исследования показали, что она образована из аморфного вещества и тончайших волоконцев. Снаружи к базальной мембране примыкают мышечные волокна, а далее располагается соединительнотканый слой, в нем наблюдаются одиночные мышечные волокна и кровеносные сосуды. На внутренней стороне базальной мембраны располагаются вспомогательные клетки и первичные сперматогонии. Морфология вспомогательных клеток изменяется на про-

тяжении всего репродуктивного периода. В октябре они крупные и не имеют отростков. Весной, по мере формирования сперматогенного слоя, их тело разветвляется и многочисленные отростки простираются до просвета фолликулов. В период пролиферации они отделяют одну группу сперматогониев от другой. При спермиогенезе головки формирующихся сперматозоидов погружены в тело вспомогательных клеток.

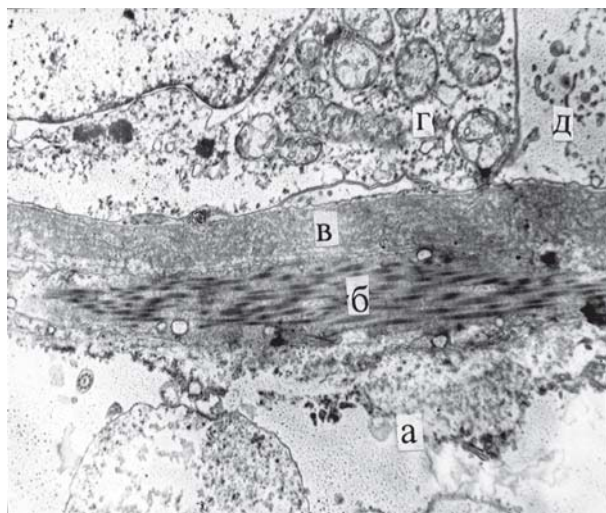
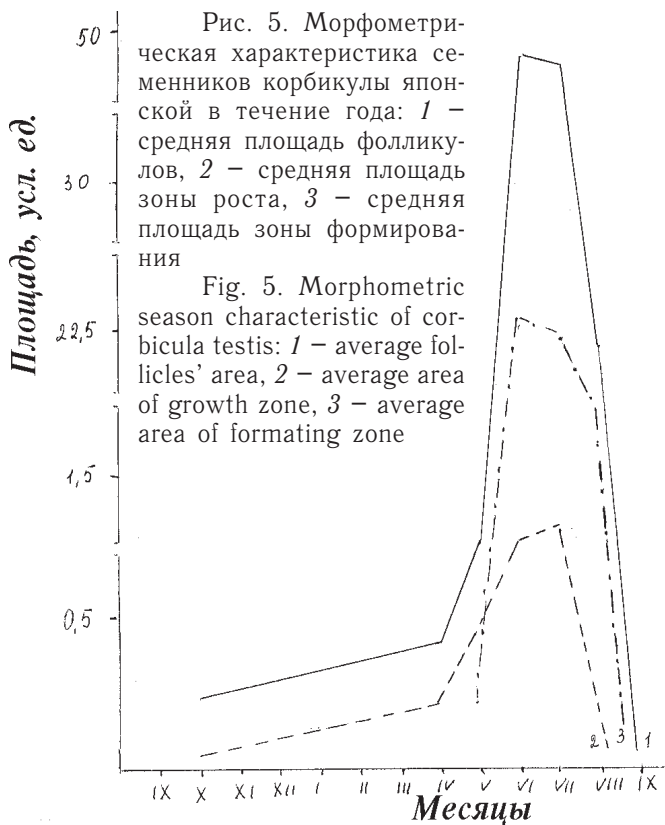


Рис. 4. Стенка фолликула корбикулы японской: *а* – соединительнотканьные элементы, *б* – мышечное волокно, *в* – базальная мембрана, *г* – базальная часть первичного сперматогония, *д* – базальная часть вспомогательной клетки (ув. 25000)

Fig. 4. Follicle's wall of corbicula: *a* – connective tissue elements, *б* – muscle fiber, *в* – basal membrane, *г* – basal part of primary spermatogonium, *д* – basal part of auxiliary cell (magnitude: 25000)

Морфометрические данные. На протяжении зимы фолликулы семенника имеют небольшой диаметр, а с середины апреля начинают увеличиваться (рис. 5). Максимальная величина их средней площади в поперечном сечении приходится на конец июня, июль. Зона роста начинает увеличиваться в начале апреля и достигает максимального значения в июне–июле. К августу средняя площадь зоны роста уменьшается и сохраняется до середины августа; в конце месяца она исчезает. Зона формирования впервые отмечается в конце мая и занимает третью часть фолликула, ее средняя площадь нарастает быстро и в июне имеет наибольшее значение, уменьшается в августе (рис. 5). К началу октября она отсутствует. Оптическая плотность половых элементов в зоне формирования быстро возрастает в течение июня и достигает максимума в июле. В августе она незначительно уменьшается, а в начале сентября становится минимальной. Оптимальная зрелость семенника отмечается в июле (рис. 6).

Цитологические данные. Крупные сперматогонии в фолликулах корбикулы имеются в течение всего года. В конце сентября – декабре появляется небольшое количество мелких, а в январе и начале марта их количество незначительно увеличивается. Активный сперматогенез отмечается в мае. Наибольшее количество мелких сперматогониев наблюдается в начале июня, к июлю их доля в составе зоны роста заметно уменьшается. Первые сперматоциты I появляются в мае. В конце мая 50 % половых клеток зоны роста представлены сперматоцитами I в профазе; в середине июля эти клетки преобладают, а в августе встречаются редко. Сперматоциты II появляются в начале мая, в июне на их долю приходится около 30 % клеток, а в начале августа они исчезают. Зона формирования в июне состоит только из сперматид на разных стадиях спермиогенеза, в июле представлена как сперматидами, так и сперматозоидами, а в августе имеет только сперматозоиды.



Морфологический и цитологический анализы клеточного состава семенников корбикулы в разные сезоны показали, что половой цикл самцов начинается во второй половине октября, но до середины апреля течет вяло.

Анатомическое и гистологическое строение семенников корбикулы японской имеет много общего с таковым у ряда двустворчатых моллюсков (Qiese, Pearse, 1974). У некоторых моллюсков, например мии японской, от парных гонад отходят гонодукты, которые сливаются в половой

пузырек; из него выходят короткие терминальные гонодукты, идущие к половым отверстиям (Stickney, 1963). Гонодукты и половые отверстия имеют высокую иннервированность ветвями церебровисцеральной комиссуры, которая проходит через эту область. Парные ветви из этих нервных тяжей следуют за основными гонодуктами в гонаду.

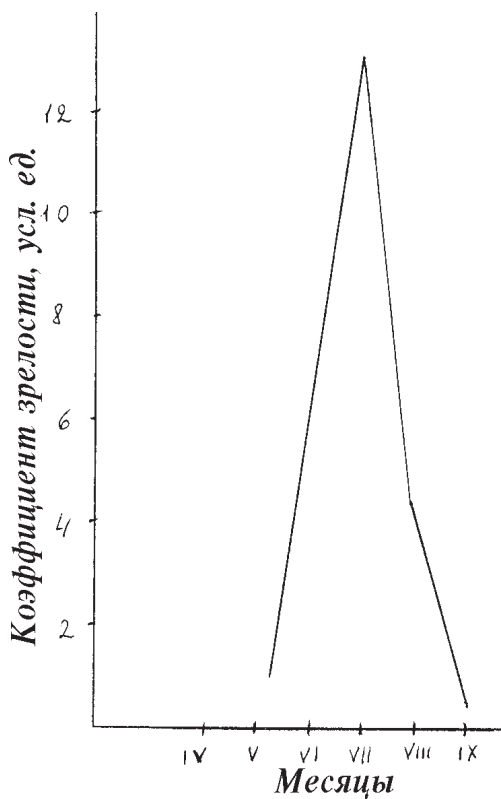


Рис. 6. Зрелость семенника корбикулы японской в течение года

Fig. 6. A maturity state of corbicula males' gonads in different season

Функция реснитчатых клеток, по-видимому, заключается в помощи выведения гамет из половых путей. Пожалуй, для двустворчатых мол-

люсков реснитчатый эпителий является особенно характерной разновидностью тканей с пограничными функциями. Он покрывает не только выводные протоки, но также поверхность гонады, жабры, желудок и кишечник (Заварзин, 1976). Общая организация ресничек достаточна универсальна для разных животных. Химически реснички образованы белково-липидным комплексом с наличием протеинов. Последние способны расщеплять АТФ, энергия которой обеспечивает подвижность ресничек (Satir, 1974). У этих клеток, очевидно, следует предполагать наличие высоких способностей к физиологической регенерации. Значение бульбовидных клеток не ясно, но по их внешнему строению можно предположить секреторную функцию голокринового типа.

Функциональной единицей семенника у двустворчатых моллюсков является фолликул. Стенки его образованы целомическим эпителием, лежащим на базальной мембране (Дзюба, Масленникова, 1987). Мезенхимная ткань гонады, которая у многих видов двустворок служит для накопления и хранения питательных веществ, у корбикулы хорошо развита. В фолликулах формирование гамет тесно связано с изменениями вспомогательных клеток на протяжении всего сперматогенеза. Возможно, что вспомогательные клетки у корбикулы, как и у позвоночных, формируют в просвете фолликула над сперматогониями особый отдел, в котором находятся сперматоциты, сперматиды и сперматозоиды. Благодаря этому, вероятно, создаются условия, благоприятные для прохождения сперматогенными клетками всех стадий мейоза и завершения спермиогенеза, подобно тому как это приписывается аналогичным компартаментам в семенниках млекопитающих (Райцина, 1982).

Каждый половой цикл начинается с размножения малодифференцированных клеток, хранилищем которых является гонада. Их пролиферация вызывается многими, в том числе и гонадными, факторами. Половая железа с участием стенки регулирует определенное для каждого полового цикла количество клеток. В.В.Евдокимов и Г.Г.Калинина (1995) определили, что индивидуальная плодовитость корбикулы составляет 6 млн. яйцеклеток.

Мышечные клетки и соединительнотканное волокно образуют в гонаде единый мышечно-сухожильный орган, тонус которого стимулирует гаметогенез, а сократительная функция играет решающую роль в процессах нереста. Кроме того, попеременное сокращение небольших групп миоцитов способствует циркуляции гемолимфы в сосудах, не имеющих собственных сократительных элементов.

При сравнении состояния семенников моллюсков в течение года оказалось, что в зал. Петра Великого нет ни одного двустворчатого моллюска, у которого стадия пролиферации была бы столь длительной и вялотекущей, как у корбикулы японской. В то же время в июне в фолликулах корбикулы наряду со сперматоцитами I и II порядка наблюдаются многочисленные скопления сперматид, начавших или закончивших спермиогенез. В июле и августе фолликулы заполнены сперматидами на разных стадиях спермиогенеза и сперматозоидами, а около стенок половых пузырьков сперматоциты заканчивают мейоз. Гонодукты в середине июля и августе расширены и наполнены спермой, а гонады "текут".

В репродуктивном цикле самцов корбикулы японской можно выделить пять стадий: относительная половая инертность, начало гаметогенеза, активный гаметогенез, преднерестовая и нерестовая (см. таблицу).

Стадии зрелости семенников корбикулы японской в течение года
Maturity stages of *corbicula males' gonads* in different season

Стадия	Визуальная	Характеристика стадий	Цитологическая	Период
		Морфометрическая		
Относительная половая инертность	Визуально пол не определяется; светлые семенники спавшиеся, уменьшены в размерах	В фолликулах четкой зоны роста нет	Стенка фолликулов утолщена; встречаются первичные сперматогонии; много амебоцитов	Сентябрь – начало октября
Начало гаметогенеза	Визуально пол не определяется; светлые семенники имеют вид тонкой пластинки, распластанной на внутренней поверхности кожно-мускульного мешка	Увеличивается диаметр фолликулов; расширяется зона роста	В фолликулах присутствуют вьюг сперматогонии, амебоцитов мало	Середина октября – середина мая
Активный гаметогенез	Пол визуально не определяется; фолликулы увеличены, объем гонады возрос	Зона роста достигает максимального значения	Фолликулы заполняются сперматогониями и сперматоцитами; амебоциты встречаются редко	Конец мая – июнь
Преднерестовая	Пол определяется визуально, семенники молочного цвета	Фолликулы максимально растягиваются; зона роста уменьшается, а зона формирования расширяется; увеличивается оптическая плотность клеток в зоне формирования	В фолликулах имеются все типы сперматогенных клеточек; в зоне роста преобладают сперматоциты; центр фолликула занят сперматоцитами и сперматозоидами; амебоцитов мало	Начало июня – середина августа
Нерестовая	Пол определяется визуально; семенники молочного цвета, набухшие	Фолликулы сильно растянуты; зона роста исчезает; зона формирования максимальна, оптическая плотность зоны формирования и коэффициент зрелости семенника максимальны	Фолликулы заполнены сперматоцитами и сперматозоидами; единично встречаются сперматогонии и сперматоциты	Середина июля – конец августа

Корбикула японская – теплолюбивый вид, обитает на небольшой глубине, ее нерест начинается при прогревании воды до 24 °С (Евдокимов, Калинина, 1995). Этим, вероятно, можно объяснить то, что стадии активного гаметогенеза, преднерестовая и нерестовая у самцов частично совпадают по времени и проходят в сжатые сроки. С началом нереста в июле гаметогенез не прекращается, а процессы спермиогенеза наблюдаются до середины августа. Самцы корбикулы японской нерестятся с середины июля до конца августа; нерест у них имеет порционный характер.

ЛИТЕРАТУРА

Дзюба С.М., Масленникова Л.А. Гаметогенез двустворчатого моллюска *Mya japonica* // Биол. моря. – 1987. – № 1. – С. 37–47.

Дуванская Н.А., Кривошеева А.В. Размерная структура и рост корбикулы японской в лагуне Лебежьей (Южное Приморье) // Регион. конф. по актуал. проблемам мор. биологии и экологии. – Владивосток, 1998. – С. 37–38.

Евдокимов В.В., Калинина Г.Г. Сроки нереста, плодовитость и соотношение полов у корбикулы, обитающей в заливе Петра Великого / ТИПРО-центр. – Владивосток, 1995. – Деп. во ВНИИЭРХ, № 1281 рх-95. – 6 с.

Заварзин А.А. Основы частной цитологии и сравнительной гистологии многоклеточных животных. – Л.: Наука, 1976. – 412 с.

Калинина Г.Г., Калинина Л.Ю., Слинко Е.Н. Содержание некоторых металлов в мягких тканях двустворчатого моллюска *Corbicula japonica* // Биомониторинг и рациональное использование гидробионтов. – Владивосток: ТИПРО-центр, 1997. – С. 51–52.

Калинина Г.Г. Состав жирных кислот липидов гонад двустворчатого моллюска // Пища. Экология. Человек. – М., 1998. – С. 34–35.

Колесникова Л.В. Плотности скоплений и некоторые параметры корбикулы японской (*Corbicula japonica*) реки Киевка // Регион. конф. по актуал. проблемам мор. биологии и экологии. – Владивосток, 1998. – С. 57–58.

Райцина С.С. Гематотестикулярный барьер // Современные проблемы сперматогенеза. – М.: Наука, 1982. – С. 191–224.

Ромейс Б. Микроскопическая техника. – М.: Иностран. лит., 1953. – 734 с.

Fusiwara T. In the reproduction of *corbicula leana* Prima // *Venus*. – 1975. – Vol. 34, № 1–2. – P. 54–56.

Ituarte C.F. Growth dynamics in a natural population of *corbicula fluminea* (*Bivalvia*, *Sphaeriacea*) at Punta Atalaya, Rio de La Plata, Argentina // *Stud. Neotrop. Fauna and Environ.* – 1985. – Vol. 20, № 4. – P. 217–225.

Kramer L.R. *Corbicula* (*Bivalvia*, *Sphaeriacea*) vs. indigenous mussels (*Bivalvia*, *Unfogacea*) in U.S. river: a hard caxse for intershecific competition? // *Amer. Zool.* – 1979. – Vol. 14, № 4. – P. 1085–1096.

Qiese A.C., Pearse J.S. Introduction general principles // *Reproduction of marine invertebrates*. – N.Y., etc.: Acad. Press, 1974. – P. 1–49.

Satir P. How cilia move // *Sci. Amer.* – 1974. – Vol. 231. – P. 45–63.

Stickney A.P. Histology of the reproductive system of the soft-shell clam (*Mya arenaria*) // *Biol. Bull. (Woods Hole)*. – 1963. – Vol. 125. – P. 344–351.

Поступила в редакцию 26.04.99 г.