

Состояние гонад голотурии *Cucumaria frondosa* Баренцева моря в осенне-зимний период

А.В. Анциферова

Биологический факультет МГТУ, кафедра микробиологии

Аннотация. Проведены исследования по изучению особенностей оогенеза промысловой голотурии *Cucumaria frondosa* Баренцева моря, приведены сведения о плодовитости, описана морфометрия гонад и клеточный состав половых трубочек, выявлены стадии зрелости, прослежены изменения гаметогенеза в трубочках разного диаметра в осенне-зимний период.

Abstract. The studies of oogenesis peculiarities of industrial sea-cucumber *Cucumaria frondosa* of the Barents Sea have been carried out. The information about fertility has been given, morphometry of gonads and cell composition of genital tubules has been described, the stages of maturity have been found out, the changes of gametogenesis in tubules of different diameter have been marked during autumn-winter period.

1. Введение

Одним из перспективных объектов промысла являются иглокожие, в частности голотурии. Они входят в состав большинства бентических сообществ и играют в них доминирующую роль. Велика экологическая роль голотурий, они оказывают мощное воздействие на биопереработку органического материала на дне моря. В Баренцевом море встречается массовый вид голотурий – *Cucumaria frondosa*, запасы которой представляют интерес для промышленного освоения. Во избежание подрыва ресурсов и нарушения целостности донных сообществ необходимым аспектом является изучение репродуктивной биологии вида.

Эти животные играют важную роль в хозяйственной деятельности человека. Их используют в качестве пищевых продуктов, которым приписывают не только гастрономические, но и лечебные качества. Установлено, что органы и ткани *C. frondosa*, как и у других видов голотурий, содержат большой спектр ценных биологически активных веществ (БАВ), которые обладают противоопухолевой, антимикробной активностью, им присущи иммуномодулирующие и радиозащитные свойства. Концентрация и сезонные изменения химических соединений тесно связаны с динамикой и интенсивностью гаметогенетических процессов (Хотимченко и др., 1993). Поэтому при проведении работ по разработке биотехнологии получения и использования БАВ необходимой основой является знание особенностей функционирования репродуктивной системы вида в разные сезоны года (Оганесян, 1996).

В литературе накоплен обширный материал о репродуктивной биологии многих видов голотурий, а *C. frondosa* Баренцева моря в этом отношении является мало изученной.

Цель исследований состояла в изучении репродуктивного цикла на примере особенностей оогенеза промысловой голотурии Баренцева моря.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

- идентифицировать пол самок;
- изучить морфологию гонад и клеточный состав половых трубочек;
- выявить стадии зрелости гонад кукумариин;
- оценить плодовитость особей.

Объектом исследования является баренцевоморская голотурия *C. frondosa*, которая относится к типу Иглокожих *Echinodermata*, классу Голотурий *Holothuroidea*, отряду Древовиднощупальцевых *Dendrochirotida*, семейству *Cucumariidae*, роду *Cucumaria*.

2. Материалы и методы

Материал собран в различных районах Баренцева моря: Западно-Прибрежном, м. Св. Нос, Мурманского мелководья, Северо-Канинской и Гусиной банок – научно-промысловыми рейсами ПИНРО и рыболовецкими судами. Отлов животных производили путем траления на глубинах 80-180 м. Материал фиксировали в 4 % и 10 % растворах формалина.

У каждой особи определяли длину и массу кожно-мускульного мешка; описывали морфологию гонад: цвет, длину, массу, общее количество половых трубочек.

Гонадный индекс (ГИ, в %) определяли как отношение массы гонад q к массе кожно-мышечного мешка (КММ) P по формуле:

$$ГИ = (q/P) \cdot 100,$$

где q – масса половых желез, P – масса животного.

Использование в подобных расчетах значений массы КММ кукумарии вместо общей массы тела было принято различными исследователями голотурий (*Jordan, 1972; Hamel, Mercier, 1996*). Это связано со значительным содержанием внутриволокнистой жидкости (до 40-60 % массы тела) у этих животных и сильной оводненностью внутренних органов (водные легкие, желудочно-кишечный тракт), что приводит к значительным погрешностям при вычислениях.

При исследовании клеточного состава и стадий зрелости гонад у каждой самки отбирали 10 трубочек гонады, в каждой трубочке просматривали три участка (по 1 см): концевой, средний и основание трубочки. Измерение диаметра и подсчет разных категорий ооцитов проводили под биноклем при помощи окуляр-микрометра. Значения диаметра ооцитов группировали в размерные классы с интервалом 50 мкм. Развитие гонад классифицировали в 5 стадий (*Гудимова, 1998*):

1) *Восстановления*. Стадия характеризуется уплощенными стенками трубочек. Вдоль эпителия появляются гроздья молодых ооцитов (около 200 мкм). В трубочках присутствуют также мелкие ооциты диаметром менее 120 мкм. Трубочки тонкие (диаметр менее 1 мм), гонада коричневого цвета.

2) *Роста*. Толщина трубочек достигает максимума. Вдоль пристеночного эпителия располагается много мелких (около 120-180 мкм) ооцитов и некоторое количество превителлогенных ооцитов (400-600 мкм). В ооцитах заметно увеличивается количество желтка. Все ооциты округлые. Яичник коричневый, все трубочки округлы в поперечном сечении, средний диаметр их составляет около 1 мм.

3) *Созревания*. Большинство ооцитов имеет диаметр 280-340 мкм. Увеличивается количество превителлогенных ооцитов (диаметром около 600 мкм). Клетки плотно прижаты друг к другу. В основной массе они уже отделены от стенок трубочки и лежат свободно в ее полости. При разрыве гонады выделяются ооциты темно-оранжевого и красного цвета. Диаметр трубочек 1 мм и более.

4) *Быстрого роста*. Стенка трубочек становится тоньше, диаметр ее увеличивается. Помимо превителлогенных (около 600 мкм) присутствуют вителлогенные (>600 мкм) ооциты красно-оранжевого цвета. Вдоль эпителия располагаются многочисленные мелкие ооциты (около 300 мкм).

5) *Зрелости*. Трубочки предельно расширяются, стенки их тонкие, распрямленные, упруго твердые. Даже при незначительном повреждении из трубок вытекают ооциты. Просвет трубочек заполнен зрелыми ооцитами (>800 мкм). Незрелые клетки практически отсутствуют. Попадают случайные мелкие ооциты (диаметром около 120 мкм). Толщина трубочек достигает 2-2,5 мм.

Кроме того, для изучения клеточного состава и стадий зрелости использовали гистологический анализ. Парафиновые срезы толщиной 6-8 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, заключали в консервирующую среду "пертекс" и просматривали под микроскопом при увеличении 10×40.

Для оценки индивидуальной абсолютной плодовитости определяли среднее количество половых клеток разного диаметра в сегменте (1 см), затем в одной трубочке по формуле:

$$N = n \cdot l,$$

где n – среднее количество всех яйцеклеток в сегменте, l – длина трубочки.

Далее находили среднее значение ооцитов на 10 трубочек и рассчитывали индивидуальную абсолютную плодовитость (F) гонады в целом.

$$F = L \cdot M,$$

где L – среднее количество яйцеклеток в 10 трубочках, M – количество всех трубочек в гонаде.

3. Результаты и обсуждение

В основном голотурии *Cucumaria frondosa* – раздельнополые животные. Нами при обработке материала обнаружена гермафродитная особь. В литературе гермафродитизм у *C. frondosa* отмечен только Джорданом (*Jordan, 1972*). Поэтому можно сказать, что гермафродитизм у данного вида встречается очень редко.

Они имеют непарную гонаду, которая состоит из двух пучков длинных и многочисленных разветвленных и неразветвленных трубочек, заполняющих почти все свободное пространство полости тела. Определить пол особи по внешнему виду невозможно. В период интенсивного развития гаметогенеза и во время нереста его легко идентифицировать по цвету гонад после вскрытия. У самцов они бледно-фиолетовые или розовые, у самок – темно-коричневые или бордово-оранжевые.

В осенний период материал собран в Западно-Прибрежном районе (сентябрь, 2003) и районе м. Святой Нос (ноябрь, 2002).

Животные с массой яичников (сентябрь) от 1,24 до 93,66 г имели длину кожно-мускульного мешка от 7 до 16 см и массу от 56,03 до 308,14 г. У 20 % особей не удалось установить пол по причине незрелости. В яичниках половозрелых особей выявлены средние и толстые трубочки диаметром 0,8-1,6 мм, количество таких половых трубочек у самок в гонадах колеблется от 159 до 377 штук. Длина трубочек варьирует от 2,0 до 34,5 см.

Стенка трубочек толстая, толщиной 240-260 мкм. При обработке материала установлено, что гонады находятся на стадиях восстановления (I) и роста (II), т.к. в яичниках преобладают пристеночные мелкие ооциты диаметром d 45-115-300 мкм, и постепенно происходит накопление превителлогенных и вителлогенных ооцитов. Практически отсутствуют зрелые клетки. Наблюдается резорбция как превителлогенных, так и вителлогенных ооцитов. ГИ – 30,12-31,40 %.

Масса яичников (ноябрь) – 55,58-68,15 г. Стенка трубочек толстая. В основном яичники образованы средними и толстыми трубочками диаметром 1,5-2,0 мм, их количество составляет от 98 до 214 шт. Много трубочек с разветвлениями (около 33%). Анализ показал, что гонады находятся на стадии быстрого роста (IV), т.к. в них преобладают крупные ооциты диаметром более 475 мкм в количестве 55,06 %. Зрелые клетки d 700-900 мкм составляют 14,98 % от общего количества вителлогенных ооцитов. Содержание превителлогенных ооцитов и ооцитов цитоплазматического роста приблизительно равное 21,20 % и 23,84 %. В половых трубочках практически отсутствуют мелкие ооциты d 25-75 мкм. Процессы резорбции протекают в превителлогенных ооцитах.

Животные, выловленные в Западно-Прибрежном районе Баренцева моря (декабрь, 2003), – длиной кожно-мускульного мешка от 5 до 9 см и массой – от 26,54 до 80,36 г – имели маленькую массу яичников от 0,39 до 3,87 г. У 50 % особей не удалось установить пол по причине незрелости. Количество половых трубочек у самок в гонадах колеблется от 48 до 181 штук. Яичники половозрелых особей образованы средними трубочками диаметром 0,5-0,75 мм. Длина трубочек варьирует – 0,6 до 15 см.

Стенка трубочек толстая. Клеточный состав на разных участках одной половой трубочки существенно не отличается. В гонадах преобладают пристеночные ооциты d 25-75 мкм (27,74 %) и ооциты цитоплазматического роста d от 100 до 225 мкм (44,65 %). Количество превителлогенных ооцитов, которые перешли к накоплению трофических веществ в цитоплазме, d 250-450 мкм составляет 26,26 %. Помимо превителлогенных присутствуют вителлогенные ооциты размером 475-750 мкм (1,32 %) и ооциты диаметром более 750 мкм (0,045 %), но обнаружены они были не во всех сегментах.

Полученные данные позволяют судить, что пол особей можно диагностировать при массе яичников около 2 г при условии, если диаметр половых трубочек около 0,5 мм. Исследованные гонады молодых животных (массой 1,83-3,87 г) находятся на стадии роста (II).

При изучении гонад *C. frondosa* (февраль, 2005) на исследуемой нами акватории юго-восточной части Баренцева моря – Северо-Канинская и Гусиная банки, а также из района Мурманского мелководья установлено, что созревание особей в популяциях происходит неодновременно, т.к. яичники находились на разных стадиях зрелости (II-IV).

Анализируемые гонады имели массу от 5,32 до 41,21 г (l КММ 10-16 см и m КММ 70,14-174,40 г). ГИ – 7,58-23,36 %. Максимальное количество трубочек в яичниках составило 233 шт. В основном гонады образованы средними трубочками d 0,5-1,5 мм. Длина трубочек варьирует. Короткие имеют длину 2,5-6 см, длинные 8,5 – 14 см. Взаимосвязь между длиной и толщиной в наших исследованиях не выявлена.

Половые трубочки неразветвленные, округлые в поперечном сечении, их стенка имеет толщину 170-215 мкм. Клетки плотно прижаты друг к другу в просвете трубки. Клеточный состав на разных участках трубочек существенно не отличается. Для стадии роста (II) характерны ооциты цитоплазматического роста диаметром 25-300 мкм. Накопление превителлогенных ооцитов происходит на стадии созревания (III), а на стадии быстрого роста (IV) увеличивается доля зрелых клеток. Резорбции подвергаются как вителлогенные, так и превителлогенные ооциты, чтобы обеспечить развивающиеся половые клетки "строительным материалом". В ядрах превителлогенных ооцитов насчитывается большое количество ядрышек (5-10 шт.), что говорит об активных синтетических процессах в этих клетках.

По полученным данным можно предположить, что нерест баренцевоморской голотурии в 2005 г. происходил у большинства особей в апреле-мае.

В наших исследованиях гонады в преднерестовом состоянии обнаружены в ноябре и феврале. Согласно литературным данным, основной нерест баренцевоморской голотурии происходит в февралемарте (Оганесян, 1996). Сроки нереста животных зависят от многих причин, в частности, от температуры придонных вод (Conand, 1993) и цветения фитопланктона (Jordan, 1972); до наступления благоприятных для нереста условий вымета половых продуктов не происходит.

Плодовитость рассчитывали только для самок с гонадами на стадии быстрого роста (IV). Плодовитость низкая, у среднеразмерных особей с массой КММ 150-200 г она составила 60-150 тыс. клеток, что характерно для видов с лецитотрофной стратегией.

4. Выводы

- 1) Пол самок *C. frondosa* можно идентифицировать при массе гонад около 2,00 г, но при условии, если диаметр половых трубочек около 0,5 мм.
- 2) Выявлена неоднородность половых трубочек: тонкие трубки имеют неполовозрелое состояние, средние и толстые содержат все категории гамет.
- 3) Созревание особей в популяциях происходит одновременно, т.к. исследованные гонады находятся на разных стадиях развития.
- 4) На протяжении всего периода наблюдений в половых трубочках яичников наряду с гаметогенетическими процессами протекают процессы резорбции гамет.
- 5) Нерест баренцевоморской голотурии в 2005 г. происходил у большинства особей в апреле-мае.
- 6) Индивидуальная абсолютная плодовитость составила 60-150 тыс. клеток на гонаду.

Литература

- Conand C.** Reproductive biology of the characteristic holothurians from the major communities of the New Caledonia lagoon. *Mar. Biol.*, v.116, p.439-450, 1993.
- Hamel J.-F., Mercier A.** Studies on the reproductive biology of Atlantic Sea cucumber *Cucumaria frondosa*. *SPC Beche-de-mer Information Bulletin*, v.8, p.22-33, 1996.
- Jordan A.J.** On the ecology and behaviour of *Cucumaria frondosa* (Echinodermata: Holothuroidea) at Lamoine Beach, Maine. *Ph. D. Thesis. Univ. Maine. Orono*, 75 p., 1972.
- Гудимова Е.Н.** Голотурия *Cucumaria frondosa* (Gunner, 1776). *Промысловые и перспективные для использования водоросли и беспозвоночные Баренцева и Белого морей КНЦ РАН, Анапиты*, с.453-528, 1998.
- Оганесян С.А.** Годовой репродуктивный цикл кукумарии *Cucumaria frondosa* Баренцева моря. *Физиологические исследования рыб и беспозвоночных Баренцева моря. Сб. науч. тр., ПИНРО, Мурманск*, с.109-132, 1996.
- Хотимченко Ю.С., Деридович И.И., Мотавкин П.А.** Биология размножения и регуляция нереста у иглокожих. *М., Наука*, 168 с., 1993.