

УДК 591.465.2:595.34:57.086.3

## СКАНИРУЮЩАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ ЯЙЦЕВЫХ ОБОЛОЧЕК ДИАПТОМИД (COPEPODA: CALANOIDA)

Самчишина Л.В.

Покоящиеся (диапаузирующие) яйца пресноводных каланоид впервые были описаны Е. Вольфом [1]. Он подметил наличие двух типов яиц у *D. coeruleus* Fisch. [= *E. transylvanicus* (Dad.)]. Первые – с толстой слоистой хитиновой оболочкой, как у *D. castor* Jur., вторые – с тонкой хитиновой оболочкой. Экспериментально автор доказал, что яйца первого типа способны выносить промерзание. Это дало ему основание назвать их зимующими. Позже было подтверждено наличие у диапаузирующих яиц этого вида весьма плотной резистентной внешней оболочки, под которой расположена тонкая внутренняя [2]. У *E. graciloides* (Lill.), по данным С. Экмана [3], диапаузирующие яйца снабжены только одной оболочкой. Установлены также были и отличия в окраске у двух типов яиц диаптомид [4]. Л. Лохнер и др. [5] описали метод, позволяющий различать субитанные и диапаузирующие яйца у представителей р. *Diaptomus* по наличию либо отсутствию пространства между хорионом и желточной мембраной. Все вышеизложенные данные были получены с применением световой микроскопии. И лишь совсем недавно появилось подробное гистологическое описание диапаузирующих и субитанных яиц у пресноводной каланоиды южного полушария *Boeckella triarticulata* Thomson с использованием трансмиссионного электронного микроскопа [6]. Оно показало наличие толстой трехслойной оболочки у яиц первого типа и тонкой однослойной – у яиц второго типа. Это позволило авторам предположить наличие принципиальных отличий и в физиологии этих яиц.

Приведенные весьма скудные морфологические отличия диапаузирующих и субитанных яиц пресноводных Calanoidea достаточно схематичны. Диапаузирующие яйца диаптомид не просто опускаются на дно пресного водоема, но и подвергаются там влиянию совсем иных, чем в планктоне, факторов среды. Это и возможные токсические воздействия, например сероводорода и метана, накапливающегося к весне в воде подо льдом, гипоксия и даже аноксия, в мелких водоемах – пересыхание (в этом случае будут иметь место более быстрые и резкие колебания температуры) либо

промерзание, вероятные механические и осмотические нагрузки, лизирующее воздействие пищеварительных ферментов при поедании яиц диаптомусов турбелляриями, рыбами и т. п. К тому же и продолжительность воздействия фактора, лимитирующего реактивацию, может быть довольно длительной, что угнетает эмбриональное развитие и губительно сказывается на жизнеспособности зародыша.

В связи с разной экологической ролью выполняемой диапаузирующими и субитанными яйцами у пресноводных диаптомид представилось интересным исследовать тонкую структуру их оболочек.

### Материал и методика

Исследовалась структура оболочек яиц двух близких видов *E. graciloides* (Lilljeborg, 1888) и *E. gracilis* (Sars, 1863). У первого вида изучались покоящиеся яйца (которые при инкубации в искусственных условиях не давали науплиусов), у второго, не имеющего диапаузу и откладывающего яйца только одного типа [7], субитанные. Материал был собран из озер Plüsee и Selentersee на севере Германии в октябре-ноябре 2001 г. Исследования проводились на базе Max-Planck-Institute for Limnology (Ploen, Deutschland). При подготовке объектов для СЭМ была использована методика описанная Ф. Хернандес-Чаверри и С. Шапер [8]. Просмотр и съемку объектов проводили на сканирующем электронном микроскопе LEO Elektronenmikroskopie, Zeiss-Leica (SEMCONanolab 7). Статистический анализ цифровых данных проводили с помощью программы "Statistica for Windows V 5.5A (C) Statsoft".

### Результаты

Яйцевой мешок *E. graciloides* покрыт очень тонкой и плотно прилегающей к яйцам мембраной (Рис.1а). Среднее число яиц в яйцевом мешке составляет  $4.35 \pm 0.35$  ( $n=20$ ). Диаметр яиц 87.5-106.8 мкм (Рис.1в). Хорион толщиной 0.61-1.13 мкм ( $n=5$ ), имеет два четко выраженных слоя (Рис.1с), из которых внутренний примерно в 3 раза толще внешнего. Поверхность яйца гладкая, однако, при сильном увеличении на поверхности заметны небольшие волнообразные бугорки (Рис.1д).

Средний размер кладки у *E. gracilis*  $8.85 \pm 3.1$  ( $n=20$ ). Диаметр субитанных яиц составлял 123.4-131.7 мкм. Они покрыты чрезвычайно нежной однослойной оболочкой (Рис.2а,в), толщина которой не превышает 0.25 мкм (0.13-0.25 мкм,  $n=5$ ). Эти яйца были необычайно хрупкими и при попытках расщепить их просто рассыпались (Рис.2с). Поверхность яиц абсолютно гладкая (Рис.2 д).

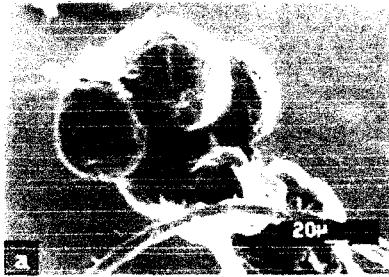


Рис. 1а

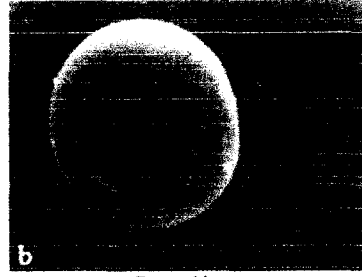


Рис. 1б

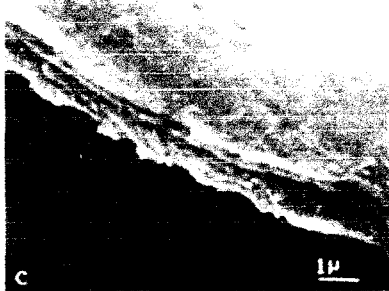


Рис. 1с



Рис. 1д

рис. 1. *E. gracillodes*. диапаузирующие яйца: а - яичниковый мешок; б - яйцо с хорион в разрезе; в - поверхность хориона



Рис. 2а



Рис. 2б

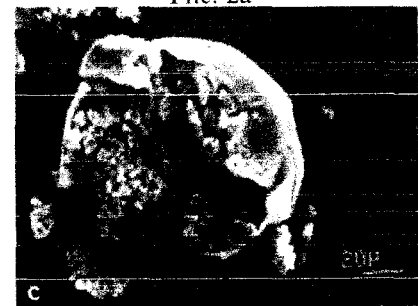


Рис. 2с



Рис. 2д

Рис. 2. *E. gracilis*, субитанные яйца: а, б - хорион яйца, с - разрушенное яйцо, д - поверхность хориона

### Обсуждение

Оболочка, покрывающая яйцо и называемая хорионом [9], может быть одной многослойной (до 7-8 слоев насчитывается [10] у яиц морского *Calanus sinuatus*).

Известно, что субитанные яйца имеют более тонкий хорион, чем диапаузирующие того же вида диаптомид. Так, у *D. sanguineus* субитанные яйца имеют хорион 0.3-0.6 мкм, а диапаузирующие 1.7-3.9 мкм [11]. В жизненном цикле *E. gracilis* отсутствует диапауза и самки откладывают только субитанные яйца [7], следовательно сравнение с диапаузирующими яйцами этого же вида не было возможным. По этой причине произведем сравнение с диапаузирующими яйцами очень близкого к нему вида *E. graciloides*. Толщина хориона субитанных яиц выявилась в 4.5 раза меньше, чем диапаузирующих яиц *E. graciloides*. Понятно, что резистентность субитанных яиц, находящихся в яйцевом мешке самки с момента откладки и до выхода науплиусов, ниже, чем у диапаузирующих, что обусловлено более тонким хорионом, защищающим эмбрион. Субитанные яйца, вероятно, не способны переносить сильные стрессовые факторы, такие как, например, высыхание. Хорион субитанных яиц служит для предохранения зародыша от низких зимних температур: *E. gracilis* эвритермичный вид и может развиваться также зимой. К тому же, нами наблюдался факт успешного прохождения через кишечный тракт рыб субитанных яиц *E. gracilis* и диапаузирующих яиц *E. graciloides*. Яйца, после выхода из кишечника рыб, оставались способными давать живых науплиусов. Таким образом, в силу своей кутикулярной природы хорион, несмотря даже на его незначительную толщину, может защищать зародыш от лизирующего воздействия пищеварительных ферментов (как тегумент у трематод).

Довольно толстая яйцевая оболочка у диапаузирующих яиц *E. graciloides* предохраняет зародыш не только от неблагоприятных факторов в водной среде. Яйца остаются жизнеспособными и после высыхания. По данным [12] покоящиеся яйца *E. graciloides* легко переносятся по воздуху, что позволяет виду быстро заселять новые водоемы. СЕМ выявил двуслойный характер хориона диапаузирующих яиц у *E. graciloides* (Рис.1с), хотя до этого времени он считался однослойным [3].

Яйца исследованных обоих типов были богаты желтком. Он имеет гомогенную структуру, или зуфиллопоидного (по А. В. Макрушину [13]) типа.

### Благодарность

Мы благодарим проф. W. Lampert за приглашение Л.В. Самчишиной и предоставление возможности использования СЭМ на базе Max-Planck-Institute for Limnology. Сердечно признательны А.В. Макрушину (Ин-т биологии

внутренних вод, Россия) и Е.И. Домашевской (Ин-т зоологии НАНУ, Украина) за консультации по методике работы, а также искренне благодарим чл.-корр. НАНУ В.И. Монченко за существенную помощь при написании рукописи.

### Список литературы

1. Wolf E. Die Fortpflanzungsverhältnisse unserer einheimischen Copepoden // Zool. Jahrb. Abt. Syst. Georg. Biol. – 1905. – 22. – S. 101–280.
2. Рылов В.М. Пресноводные Calanoida С.С.С.Р. – Л. – 1930. – С. 23-26.
3. Ekman S. Die Phyllopoden, Cladoceren und freilebenden Copepoden der Nordschwedischen Hochgebirge // Zool. Jahrb. Abt. Syst. – 1904. – 21. – S. 1-170.
4. Cooley J.M. The effect of temperature on the development of resting eggs of *Diaptomus oregonensis* Lillj. (Copepoda: Calanoida) // Limnol. Oceanogr. - 1971. - 16. - P. 921-926.
5. Lohner L.M., Hairston G.N. Jr., Schaffner W.R. A method for distinguishing subitaneous and diapausing eggs in preserved samples of the calanoid copepod genus *Diaptomus* // Limnol. Oceanogr. – 1990. – 35. – P. 763-767.
6. Couch K. M., Downes M., Burns C.W. Morphological differences between subitaneous and diapause eggs of *Boeckella triarticulata* (Copepoda: Calanoida) // Fresh. Biol. – 2001. – №46. – P. 925-933.
7. Santer B., Blohm-Sievers E., Caceres C.E., Hairston G.N. Jr. Life-history variation in the coexisting freshwater copepods *E. gracilis* and *E. graciloides* // Arch. Hydrobiol. – 2000. – 149. – P. 441-458.
8. Hernandez-Chavarria F., Schaper S. *Mesocyclops thermocyclopoideus* (Copepoda: Calanoida): a scanning electron microscopy study // Revista Latinoameric. de Microbiologia. – 2000. – 42. – P. 53-56.
9. Lindley J.A. Resistant eggs of the Centropagoidea (Copepoda: Calanoida): a possible preadaptation to colonization of inland waters // J. Crust. Biol. – 1992. – 12. – P. 368-371.
10. Toda H., Hirose E. SEM and TEM observation on egg membranes of the two types of *Calanus sinicus* eggs // Bull. Plankton. Soc. Jap. 1991. – Spec. Vol. – P. 613-617.
11. Hairston N.G., Olds E.J. Population differences in the timing of diapause: Adaptation in a spatially heterogeneous environment // Oecologia. – 1984. – 61. – P. 42-48.
12. Nauwerck A. Die verbreitung der Familie Diaptomidae Sars in Nordschweden // Arch. Hydrobiol. – 1980. – 89. – P. 247-264.
13. Макрушин А.В. Ангидробиоз и структура желтка латентных яиц Calanoida (Copepoda, Crustacea) // Журн. общ. биол. – 1987. – 48. – С. 756-762.

Поступила в редакцию 07.04.2003 г.