

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ ИМ. А. О. КОВАЛЕВСКОГО

ISSN 0203-4646

ЭКОЛОГИЯ МОРЯ



35
—
1990

ФОРМИРОВАНИЕ ФЕКАЛИЙ ЧЕРНОМОРСКОЙ МИДИИ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* В СВЯЗИ С ПРОЦЕССАМИ ПИЩЕВАРЕНИЯ И АНТРОПОГЕННЫМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ

Исследован состав фекалий черноморской мидии при прекращении питания, когда остатки непереваренной пищи полностью выделяются и в фекалии поступают только вещества, образующиеся в пищеварительной системе. Они состоят из мелких коричневых гранул и грудьков маленьких капелек. Первые образованы белковыми веществами и пуринами и представляют остаточные тельца внутриклеточного пищеварения в клетках пищеварительной железы; грудьки капелек состоят из липидов. Накопление липидов в пищеварительной системе черноморской мидии и поступление их в фекалии зависит от внешних условий, при загрязнении среды и при голодании мидий количество липидов увеличивается. В пищеварительных процессах и процессах экскреции липидов значительную роль играют амебоциты, образующие в эпителии желудка и кишки большие скопления. В обычных условиях фекалии мидий содержат остатки непереваренной пищи и вещества, образующиеся в пищеварительной системе в процессе пищеварения и обмена веществ, что необходимо учитывать при расчетах энергетического баланса.

При изучении питания и энергетического баланса моллюсков большое значение имеет состав и структура фекалий. Форма и структура фекалий моллюсков являются хорошим показателем характера их питания. Во многих случаях фекалии имеют сложное строение и формируются из компонентов различного происхождения, представляющих собой остатки пищи, а также продукты, образующиеся в результате пищеварения.

Форма и структура фекалий некоторых двустворчатых моллюсков, в том числе и мидий *Mytilus edulis*, описаны в работах [4, 7]. Подчеркивается значение формы фекалий для видовой идентификации, а также роль фекалий в процессах биоседиментации и образования морских осадков [8–10]. Систематическое описание фекалий двустворчатых моллюсков и связь формы фекалий со способом питания, образом жизни и строением пищеварительной системы даны в [3]. В связи со слабой изученностью связи структуры фекалий двустворчатых моллюсков с процессами пищеварения необходимо исследование некоторых сторон гистофизиологии пищеварительной системы, связанных с образованием отдельных компонентов фекалий моллюсков. Представляет интерес исследование влияния антропогенных факторов, в первую очередь загрязнения, на структуру фекалий.

Методика. Объектом исследования служили черноморские мидии *Mytilus galloprovincialis*. Их собирали в различных местах обитания возле Севастополя, как чистых, так и загрязненных: в Севастопольской и Казачьей бухтах, у Феолента и Балаклавы; вели наблюдения за фекалиями мидий. С этой целью моллюски, собранные в море, отсаживались в чашки с морской водой, полученные фекалии исследовались под бинокуляром и микроскопом.

Для изучения гистологии и гистохимии пищеварительной системы мидий приготавливались срезы на замораживающем микротоме с полупроводниковым замораживающим столиком ТОС-1, или материал после фиксирования жидкостями Буэна или Ценкера заливали в парафин и приготавливали парафиновые срезы. Гистологические срезы окрашивали многоцветно по Маллори, азановым методом по Гайденгайну и квасцевым гематоксилином Майера.

Гистохимия пищеварительной системы черноморской мидии изучалась следующими методами: углеводы и мукополисахариды определялись по ШИК-реакции, окрашиванию муцикармином Беста, толуидиновым синим, липиды — по окрашиванию суданом III и IV, белки — по окрашиванию бромфеноловым синим. Каротиноиды определялись

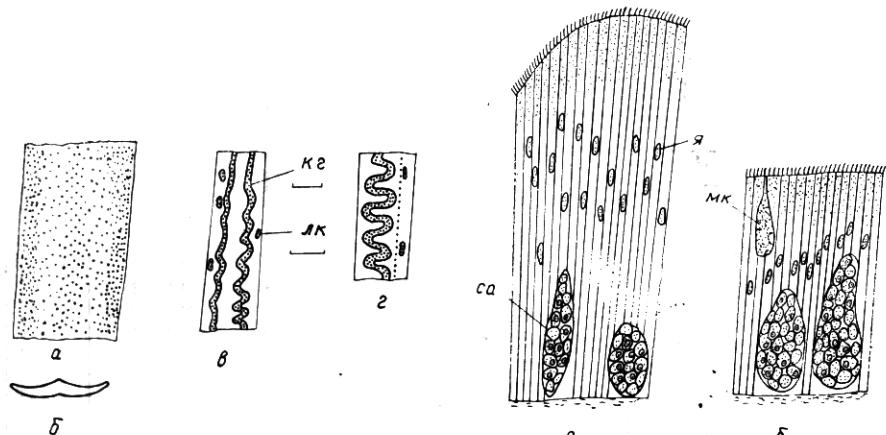


Рис. 1. Фекалии *Mytilus galloprovincialis*

нормально питающейся мидии (а); поперечный разрез фекального шнуря питающейся мидии (б, г); кг — шнурки с коричневыми гранулами; лк — гроздья лидинных капелек

Рис. 2. Гистология желудка и кишки мидии:

а — эпителий желудка; б — эпителий возвратной кишки; мк — мукусные клетки; я — ядра эпителиальных клеток; са — скопления амебоцитов

по окраске и способности растворяться в спирте и ацетоне. Использовалась также реакция Шморля на липофусцины и мурексидная реакция на мочевую кислоту. Исследовалось влияние голодаания на состояние пищеварительной системы и фекалии мидий. Для этого мидии длительное время содержались в чашках с морской водой. Вода в чашках менялась через один-два дня, корм моллюскам не давали.

Результаты и обсуждения. У питающихся черноморских мидий *Mytilus galloprovincialis* фекалии имеют вид утолщенных в центре широких лент, края которых слегка загнуты внутрь (рис. 1, а). Фекалии состоят из органического и минерального детрита, переваренных и непереваренных диатомовых и других одноклеточных водорослей, а также из компонентов, поступающих из пищеварительной системы. Более грубый материал размещается в центре ленты, более тонкий — по краям. Фекалии могут быть темно-коричневого, буровато-зеленоватого или оранжевого цвета.

При прекращении питания, когда остатки непереваренной пищи полностью выделяются, в фекалии поступают только вещества, образующиеся в пищеварительной системе моллюсков. Фекалии голодных мидий представляют узкие светлые ленты, внутри которых тянутся два узких извитых темно-коричневых шнурка с плотно упакованными изгибами. Фекальная лента может еще более сужаться, а извитые коричневые шнурки выпрямляются, иногда фекальные ленты содержат один извитый коричневый шнурок (рис. 1, б, г). По краям светлых лент располагаются мелкие бесцветные капельки, часто образующие большие гроздья, достигающие 90 мкм (рис. 1, е).

Коричневые шнурки голодных мидий состоят из мелких желтовато-коричневых гранул диаметром 3—5 мкм. В спирте и ацетоне они теряют свой цвет и становятся зеленовато-бурыми, а раствор желтеет, в растворе едкого натра цвет сохраняется. Это указывает на то, что гранулы содержат ксантофилл. Реакция с бромфеноловым синим на белки и пурины положительная, реакция на липиды с суданом III и реакция Шморля с ферроферрицианидным тестом на липофусцины отрицательная. Основная масса гранул, оставшаяся после растворения ксантофилла в спирте, состоит из белков и, возможно, продуктов экспрессии — пуринов.

Бесцветные капли, образующие гроздья, окрашиваются суданом

III, при надавливании покровным стеклом они сливаются в большие капли и представляют липиды.

Если у голодных мидий органические компоненты, образующиеся в результате пищеварения — коричневые гранулы и липидные гроздья — находятся в фекалиях в чистом виде, то в нормальных условиях у фильтрующих мидий они лежат вперемежку с непереваренными и частично переваренными остатками пищи — минеральными и органическими дегритными частицами, живыми одноклеточными водорослями и их оболочками, причем коричневые гранулы и липидные капельки обычно локализуются по краям фекалий.

Таким образом, фекалии мидий содержат остатки пищи, непереваренной и переваренной, и органические вещества, образующиеся в теле самой мидии — мелкие коричневые гранулы и гроздья липидных капелек. Характер формирования фекалий определяется особенностями функционирования пищеварительной системы мидии.

Фильтруемая пища первоначально сортируется на жабрах и губных пальцах. В желудке пищевые частицы подвергаются дальнейшей сортировке, грубые частицы направляются прямо к кишке, мелкие органические частицы попадают в протоки пищеварительной железы. В полости желудка пищи, главным образом углеводы, частично перевариваются, но в основном пищеварение происходит внутриклеточно в клетках пищеварительной железы. Мелкие частицы пищи попадают в гетерофагосомы пищеварительных клеток, где в результате внутриклеточного пищеварения образуются остаточные тельца, которые в виде коричневых гранул выбрасываются наружу и из протоков пищеварительной железы попадают в желудок, а затем в фекалии.

Выделение суданофильтных липидных капелек, вероятно, связано с деятельностью амебоцитов, в большом количестве встречающихся в эпителии пищеварительного тракта мидии и играющих значительную роль в процессах пищеварения у двустворчатых моллюсков [11].

У черноморских мидий амебоциты встречаются в соединительной ткани, окружающей желудок и кишку, а также между трубочками пищеварительной железы. Среди маленьких амебоцитов с чистой цитоплазмой встречаются экскреторные амебоциты с крупными включениями в цитоплазме. Особенно много амебоцитов в лакунарных пространствах соединительной ткани. Проникшие в эпителий амебоциты встречаются во всех отделах пищеварительного тракта и размещаются между эпителиальными клетками на всех уровнях. Помимо одиночных амебоцитов в эпителии пищеварительного тракта черноморских мидий встречаются большие плотные скопления амебоцитов; особенно много скоплений амебоцитов в эпителии желудка, прямой и возвратной кишки. В основном это амебоциты, цитоплазма которых заполнена включениями экскреторного характера (рис. 2).

Исследователи, отмечавшие большое количество амебоцитов, диффузно разбросанных в эпителии пищеварительного тракта, не находили подобных скоплений у двустворчатых моллюсков [12, 13]. Ф. Гиусти [6], детально исследовавший гистологию кишки *Mytilus galloprovincialis* из Средиземного моря, не отмечает в ее эпителии скоплений амебоцитов. Последние в эпителии желудка и кишки черноморской мидии окрашиваются суданом III и содержат липиды. Вместе с жировыми включениями амебоциты из эпителия выбрасываются в полость пищеварительного тракта и являются источником липидных экскретов. В полости желудка голодных мидий в большом количестве встречаются липидные образования в виде гроздьев округлых гранул, состоящих из липидов и происходящие, вероятно, из гроздьев амебоцитов в эпителии пищеварительного тракта. Подобные гроздья липидных экскретов встречаются в фекалиях. Особено много липидов в загрязненных местах. Так, фекалии мидий, собранных в Севастопольской бухте у памятника Погибшим кораблям, содержали довольно крупные липидные капли, размером до 1 мм, окрашивающиеся суданом III. Поми-

мо липидов некоторые скопления амебоцитов в эпителии пищеварительного тракта черноморской мидии содержат также и коротиноиды. На замороженных срезах такие скопления амебоцитов окрашены в коричневый цвет, в спирте окраска исчезает.

В пищеварительной системе мидии, помимо скоплений амебоцитов в эпителии желудка и кишki, липиды локализуются в виде маленьких капелек в клетках пищеварительной железы и в соединительнотканых, окружающих пищеварительный тракт. Проведенные гистохимические анализы липидов у мидий из разных местообитаний показали, что клетки пищеварительной железы мидий в загрязненной Севастопольской бухте содержат больше жировых капель, чем клетки мидий в чистых местах у Феолента и Балаклавы.

Экспериментально изучено влияние голодания на содержание липидов в теле мидии. Для этого мидии содержались в чашках с морской водой без пищи в течение одного месяца. По истечению этого срока произошло значительное истощение тела мидий, уменьшились высота клеток пищеварительной железы и количество белковых гранул. Количество жировых капель в клетках пищеварительной железы значительно увеличилось. Жир в клетках пищеварительной железы мидии при голодании ведет себя так же, как и при загрязнении.

Отложение жира наблюдается у некоторых животных — паразитических червей trematod [2] и других беспозвоночных в условиях анаэробиоза при неполном расщеплении углеводов и жировом перерождении тканей. Такой жир Брандт [1] называет экскреторным. У мидий, вероятно, также происходит накопление в клетках пищеварительной железы и в амебоцитах экскреторного жира, что особенно выражено в условиях загрязнения. Не являясь энергетическим источником, этот жир попадает в фекалии мидии.

В теле мидии — в пищеварительной системе, гонаде, нервных ганглиях и других органах — накапливается большое количество каротиноидов. Основным каротиноидом, накапливающимся в пищеварительной системе, является ксантофилл, поступающий в организм мидии с пищей — диатомовыми и другими фитопланктонными водорослями. Ксантофилл в наибольшем количестве локализуется в мелких, коричневатых гранулах клеток пищеварительной железы. В спирте гранулы пищеварительной железы мидии обесцвечиваются, а спирт приобретает светло-коричневый цвет. В пищеварительном тракте мидии ксантофилл выявляется на замороженных срезах свежего или фиксированного формалином материала по коричневой окраске, в спирте окраска исчезает. Ксантофилл часто локализуется в больших скоплениях амебоцитов в эпителии желудка, прямой и возвратной кишки.

Ксантофилл, вероятно, принимает участие в процессах внутриклеточного пищеварения в пищеварительных клетках железы. Гранулы с ксантофиллом локализуются в гетеролизосомах. В результате пищеварения в гранулах накапливаются продукты азотистого обмена — пурины, превращающиеся в остаточные тельца, которые выбрасываются наружу и попадают в фекалии. Вместе с остаточными тельцами в фекалии попадают каротиноиды. Большое количество каротиноидов в фекалиях *Mytilus californianus* отмечает Д. Фокс [5].

Выводы. Фекалии мидии содержат остатки непереваренной пищи и продукты, образующиеся в процессе пищеварения. При прекращении питания, когда остатки непереваренной пищи полностью выделяются, в фекалии поступают только вещества, образующиеся в пищеварительной системе мидий — коричневатые гранулы, представляющие остаточные тельца внутриклеточного пищеварения в клетках пищеварительной железы, и капли липидов.

Остаточные тельца состоят из белковых веществ и пуринов. Вместе с остаточными тельцами выводятся наружу и попадают в фекалии каротиноиды, в значительном количестве накапливающиеся в пищеварительной железе мидии.

Гроздья липидных капелек постоянно встречаются в фекалиях мидий. У голодных мидий они локализуются в краевой зоне фекалий. Особенно много липидных капелек в фекалиях черноморской мидии в загрязненных местах, иногда они сливаются в довольно крупные капли.

Липиды локализуются в виде маленьких капелек в клетках пищеварительной железы и в соединительнотканых клетках, окружающих пищеварительный тракт мидии, а также встречаются в эпителии желудка и кишечника, главным образом в скоплениях амебоцитов. В загрязненных местах (Севастопольская бухта) клетки пищеварительной железы черноморской мидии содержат больше липидных капелек, чем в чистых местах (Феолент, Балаклава). При голодании количество липидов в клетках пищеварительной железы черноморской мидии увеличивается. Липиды пищеварительной системы мидий частично являются экскреторными, накапливающимися в большом количестве при ухудшении условий существования и при голодании, часть их выбрасывается наружу в фекалии.

В пищеварительных процессах мидии значительную роль играют амебоциты, образующие в эпителии желудка и кишечника черноморских мидий большие скопления. Амебоциты этих скоплений содержат включения экскреторного характера, в том числе и липиды. Вместе с липидными включениями амебоциты выбрасываются в полость пищеварительного тракта и являются источником липидных экскретов в фекалиях.

1. Брандт Т. Анаэробиоз у беспозвоночных. — М.: Изд-во иностр. лит., 1951. — 335 с.
2. Гинецинская Т. А. Динамика отложения жира в ходе жизненного цикла trematod // Докл. АН СССР. — 1961. — 139, № 4. — С. 1016—1019.
3. Arakawa K. Y. Scatological studies of the Bivalvia (Mollusca) // Adv. Marine Biol. — 1970. — 8. — Р. 307—436.
4. Dodgson R. W. Report on mussel purification // Fish. Invest., London. — 1928. — Ser. 11, N 1. — 19 p.
5. Fox D. L. Certain physical and chemical properties of the faecal pellets and some experimental feeding studies // Bull. Inst. océanogr. — 1936. — 4, N 1. — P. 1—64.
6. Giusti F. The fine structure of the style sac and intestine in *Mytilus galloprovincialis* Lam // Proc. Malac. of Soc. London. — 1970. — 39, N 95. — P. 115—137.
7. Moore H. B. The systematic value of a study of molluscan faeces // Ibid. — 1931. — 19, N 6. — P. 281—290.
8. Moore H. B. The specific identification of faecal pellets // J. Mar. Biol. Assoc. — 1931. — 17, N 1. — P. 359—365.
9. Moore H. B. The form of faecal pellets and specific identification // Nature. — 1931. — 127. — 818 p.
10. Moore N. B. Faecal pellets from marine deposits // Discovery. — 1933. — 7. — P. 17—26.
11. Owen G. Digestion // Physiology of Mollusca. — New York, London: Academic Press, 1966. — P. 53—96.
12. White K. M. *Mytilus* // L. M. B. C. Mémoirs. — 1937. — 31. — P. 117.
13. Yonge C. M. Structure and physiology of the organs of feeding and digestion in *Ostrea edulis* // J. Mar. Biol. Assoc. — 1926. — 14, N 2. — P. 295—386.

Ин-т биологии юж. морей
им. А. О. Ковалевского АН УССР, Севастополь

Получено 13.12.88

V. D. CHUKHCHIN

FORMATION OF FAECAL PELLET IN THE BLACK SEA *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* IN CONNECTION WITH THE DIGESTION PROCESSES AND ANTHROPOGENIC ACTION

Summary

The faecal components of the Black Sea mussel formed due to digestion (small brown granules and clusters of small drops) are studied. The brown granules are residual bodies of intracellular digestion in the digestive gland cells, they consist of proteins and purines and incorporate carotinoids. Clusters of small drops consist of lipids. It is found that pollution of environment results in an increase of the lipid content in the digestive gland cells and in faecal pellet the mussel. Considerable accumulation of amoebocytes containing lipids are found in the stomach and intestine epithelia of the Black Sea mussel.