

УДК 591.147.595.36

ДИНАМИКА ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ В ОНТОГЕНЕЗЕ ДЛИННОПАЛОГО РЕЧНОГО РАКА (*Astacus leptodactylus* Esch)

© 2011 г. С. М. Никитина, Н. В. Чибисова

Российский государственный университет им. Иммануила Кантa

236041 Калининград, ул. А. Невского 14

*Институт океанологии им. П.П. Ширинова, Атлантическое отделение (АО ИОРАН)

236000 Калининград, пр-т Мира, 1

E-mail: swetmih@gmail.com, chibisovanv@mail.ru

Поступила в редакцию 14.09.10

Окончательный вариант получен 28.12.10

Изучена динамика глюкокортикоидов (гидрокортизона и кортикостерона) в онтогенезе длиннопалого речного рака *Astacus leptodactylus* Esch. Показано, что в период эмбриогенеза происходит постепенное увеличение концентрации стероидов. В ходе постэмбрионального развития наблюдается снижение уровня глюкокортикоидов, что, вероятно, связано со стабилизацией роста молоди и достижением уровня гормонов, характерного для взрослых особей.

Взаимосвязь уровня глюкокортикоидов с физиолого-биохимическими изменениями, происходящими на отдельных этапах онтогенеза, указывает на включение этих стероидов в регуляцию процессов жизнедеятельности длиннопалого речного рака.

Ключевые слова: эмбриогенез, постэмбриональное развитие, онтогенез, стероидные гормоны, глюкокортикоиды, ракообразные, длиннопалый речной рак.

ВВЕДЕНИЕ

Наиболее изученными стероидными гормонами у ракообразных и насекомых являются экдизоны (Hoffman, Porcher, 1984). Значительно менее исследованы остальные группы стероидов. Некоторыми исследователями (De Loof, 1984; Ollevier, et al., 1986), установлено присутствие у беспозвоночных животных стероидных гормонов половых гормонов, в том числе и глюкокортикоидов, изучен их метаболизм. Показано, что активный стероидогенез наблюдается в гонадах и гепатопанкреасе ракообразных (Teshima, Kanazawa, 1971; Sandor, 1979).

Анализ динамики глюкокортикоидов у перспективных для аквакультуры беспозвоночных может быть востребован при разработке биотехники их культивирования. Отсутствие в литературе данных о содержании их в жизненном цикле высших ракообразных определило цель исследования: изучение динамики глюкокортикоидов в онтогенезе длиннопалого речного рака (*Astacus leptodactylus* Esch).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Материалом для исследования служили икра и самки, их икра и рачки длиннопалого рака, отловленные в реке Преголя Калининградской области.

Для изучения динамики стероидов в эмбриональный и постэмбриональный периоды 15 самок

и 5 самцов этого вида содержались в аквариумных условиях с постоянным протоком воды, подкармливались водорослями, рыбой и мясом. Молодь подращивалась до стадии сеголетка (корм – водоросли, хирономиды и дафнии). Стадии эмбрионального и постэмбрионального развития определялись по классификации Я.М. Цукерзиса (1970).

Стадии эмбриогенеза:

I – яйцо без признаков оплодотворения; II – формирование энтомерозодермы; III – начало гастрюляции; IV – кольцеобразная гастрюла; V – науплиальная; VI – формирование зародыша с пульсирующим сердцем; VII – пигментация глаз; VIII – пигментация покровов зародыша; IX – выклюнувшийся зародыш.

Стадии постэмбрионального развития:

I – молодые рачки, называемые в этом периоде личинкой I стадии, через 2–3 дня после вылупливания, остаются в подвешенном состоянии, прикрепленными к самке; II – рачки после первой линьки (5–8 день после вылупливания), переходят к активному питанию; III – рачки после второй линьки (18–20 день после вылупливания), переходят к самостоятельному питанию; IV – рачки после третьей линьки (32–38 день после вылупливания).

Пробы на биохимическое определение брались в соответствии со стадиями развития икры (Мажлис, 1979). Контроль за развитием рачков осу-

ществлялся визуально на икре, предварительно зафиксированной в жидкости Буэна.

Определение количественного содержания гидрокортизона и кортикостерона проводили в гонадах, икре и рачках длиннопалого рака. Стероиды из гомогенизированных тканей экстрагировали ацетоном, а затем эфиром. Препаративная очистка и разделение стероидов осуществлялись методом тонкослойной хроматографии.

Гидрокортизон и кортикостерон определяли флюориметрически после образования соответствующих производных в смеси концентрированной серной кислоты с этанолом (3 : 1). Определение проводили на спектрофлуориметре марки "Hitachi" по отношению к стандартным образцам.

В работе использовано 20 особей половозрелых раков и 238 экземпляров молоди. На основе собранного материала (195 проб) было проведено 390 количественных определений стероидов.

Проведена стандартная статистическая обработка полученных данных. Результаты считались достоверными при $P \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты исследования показали, что наибольшие концентрации глюкокортикоидов обнаружены у выключившихся рачков, снятых с плеопод самок в начале июня, которые составили 505 пмоль/г гидрокортизона и 3835 пмоль/г кортикостерона. Самые низкие — в яйцах без признаков оплодотворения (по 22 пмоль/г гидрокортизона и кортикостерона).

Результаты сравнительных исследований выявили сходную направленность изменений концентраций гидрокортизона и кортикостерона в период эмбриогенеза и на ранних стадиях постэмбрионального развития длиннопалого рака (рис. 1).

В течение длительного времени (около 4 месяцев) развитие зародышей длиннопалого рака происходит при низких температурах (1–3°C), когда происходит выход ядер на поверхность желтка, образование бластодермы и формирование первичных пирамид желтка. Затем происходит формирование зачатка энтомеződермы, головных лопастей и туловища. Концентрация гидрокортизона в этот момент составила 163, а кортикостерона — 111 пмоль/г. Максимальные концентрации стероидов во время эмбриогенеза изучаемого рака установлены на стадии развития "начало гастрюляции" в период усиленной пролиферации клеток. Далее уровень накопления глюкокортикоидов снижается и в течение последующих двух стадий развития — науплиальной и формирования зародыша с пульсирующим сердцем — практически не меняется. Вторичное повышение концентраций гидрокортизона и кортикостерона с достижением максимума на стадии выключившегося зародыша наблю-

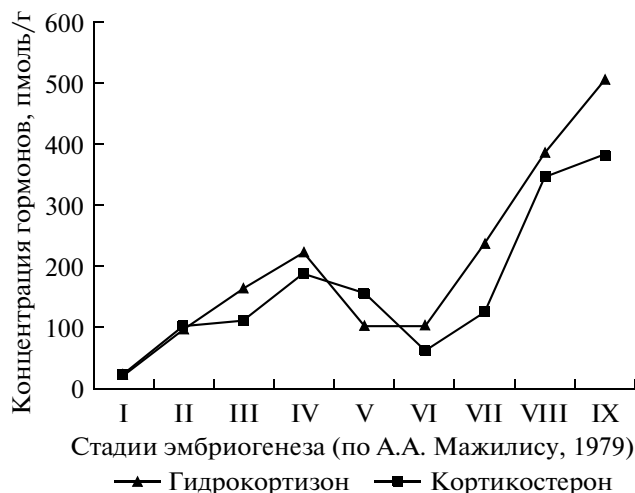


Рис. 1. Концентрация гидрокортизона и кортикостерона в период эмбриогенеза длиннопалого рака.

дается, начиная со стадии развития "пигментация глаз" и "пигментация покровов зародыша".

Период постэмбрионального развития связан с быстрым ростом молоди раков. В течение первого лета жизни молодь линяет обычно около пяти раз. По данным Г.И. Мацквичене (1979) в период постэмбрионального развития речного рака высокое содержание влаги, золы, ионов натрия и кальция отмечено в организме рачков, прошедших первую линьку.

Между содержанием минеральных веществ и уровнем накопления протеина в организме рачков в период постэмбрионального развития установлена обратная зависимость: так, снижение накопления протеина после первой линьки рачков соответствовало повышенному содержанию минеральных веществ.

Количество кортикостерона и гидрокортизона у молоди I–IV стадии развития уменьшается в течение всего периода постэмбрионального развития речного рака (рис. 2).

Максимальное количество стероидов обнаружено у молоди I стадии развития. После первой линьки (II стадия развития) отмечено снижение уровня гидрокортизона на 23.52% ($P < 0.05$) и кортикостерона на 24.14% ($P < 0.05$). Концентрация гидрокортизона в теле рачков III стадии развития в 3.5 раза выше, чем кортикостерона. Уровень стероидов достигает минимальных значений на IV стадии развития. У животных, достигших возраста одного года, концентрации глюкокортикоидов в теле равны 1.62–1.43 пмоль/г. По достижении двухлетнего возраста уровень гормонов несколько снижается, а у особей в возрасте 2–4 лет становится равным 0.62 пмоль/г тела гидрокортизона и 0.47 пмоль/г тела кортикостерона, что ниже такового у молоди I стадии развития на 83.18% ($P < 0.05$) для гидрокортизона и 92.32% ($P < 0.05$) для кортикостерона.

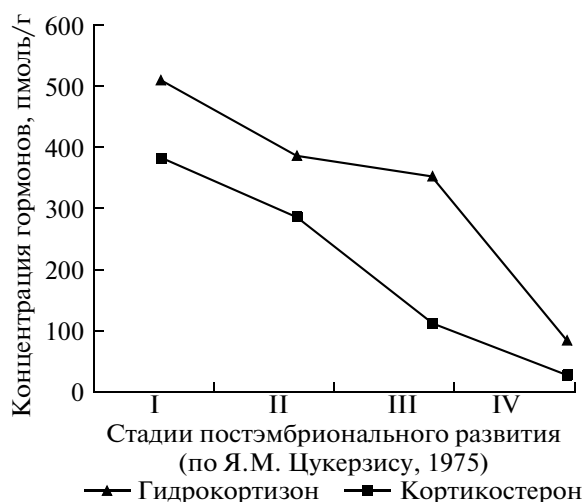


Рис. 2. Концентрация глюкокортикоидов в теле рачков длиннопалого рака на ранних стадиях постэмбрионального развития.

Таким образом, в ходе постэмбрионального развития наблюдается уменьшение уровня глюкокортикоидов, что, возможно, связано со стабилизацией роста молоди и достижением величин стероидов, характерных для взрослых особей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что в онтогенезе речного рака происходит изменение концентрации гидрокортизона и кортикостерона, с активизацией процесса накопления гормонов в период гастрюляции и перехода к самостоятельному образу жизни. В дальнейшем происходит

уменьшение уровня стероидов в ходе роста и полового созревания животных.

Взаимосвязь уровня глюкокортикоидов с физиолого-биохимическими изменениями, происходящими на отдельных этапах онтогенеза, указывает на включение этих стероидов в регуляцию процессов жизнедеятельности длиннопалого речного рака.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Мажилис А.А. Эмбриональное развитие широкопалого рака // Биология речных раков Литвы. Вильнюс: Мокслас, 1979. С. 28–40.
- Мацкявичене Г.И. Некоторые особенности обмена веществ у широкопалого рака // Биология речных раков Литвы. Вильнюс: Мокслас, 1979. С. 85–120.
- Цукерзис Я.М. Биология широкопалого рака (*Astacus astacus* L.). Вильнюс: Минтис, 1970. 206 с.
- Biosynthesis, metabolism, and mode of in invertebrate hormones / Ed. Hoffman J., Porchet M. Berlin e.a.: Spriner, 1984. V. 14. P. 162–348.
- De Loof A. Evolution and Hormones controlling reproduction // Adv. Invertebrate Reprod. 1984. № 3. P. 139–149.
- Ollevier F., De Clerk D., Diederik H., De Loof A. Identification of noncysteroid steroids in hemolymph of both male and female *Astacus leptodactylus* (Crustacea) by gas chromatography–mass spectrometry // Gen. and Comp. Endocrinol. 1986. 61. № 2. P. 214–228.
- Sandor T. Steroids in invertebrates // Adv. Invertebrate Reprod. Proc. 2. Int. Symp., Davis, Calif, Aug. 27–31, 1979. New York e.a., 1981. P. 81–96.
- Teshima S., Kanazawa A. In vitro byconversion of progesterone to 17-hydroxy-progesterone and testosterone by the sliced testes of crab *Portunus trituberculatus* // Bull. Japan Soc. Sci. Fish. 1971. 37. P. 524–528.

Dynamics of Glucocorticoids in the Ontogenesis of Freshwater Crawfish *Astacus leptodactylus* Esch

S. M. Nikitina^a and N. V. Chibisova^{a,b}

^aImmanuel Kant State University of Russia, Nevskogo str. 14, Kaliningrad, 236041 Russia
e-mail: swetmih@gmail.com

^bShirshov Institute of Oceanology, Atlantic Branch, Russian Academy of Sciences (AB IO RAS), pr. Mira 1, Kaliningrad, 236000 Russia
e-mail: chibisovanv@mail.ru

Abstract—Dynamics of changes in glucocorticoid (hydrocortisone and corticosterone) levels was studied in the ontogenesis of freshwater crawfish *Astacus Leptodactylus* Esch. It was shown that steroid concentrations increase during the embryogenesis period. Decrease in the glucocorticoid levels during postembryonic development is most probably related to the stabilization of young fish growth and the attainment of hormone levels typical for adult individuals. The correlation of glucocorticoid levels with physiological–biochemical changes at different stages of ontogenesis indicates that these steroids play an essential role in the regulation of freshwater crawfish vital functions.

Keywords: embryogenesis, postembryonic development, ontogenesis, steroid hormones, glucocorticoids, crustaceans, freshwater crawfish