

РОЛЬ МЕТИЛФАРНЕЗОАТА В РАЗВИТИИ И ВЫБОРЕ СПОСОБА РАЗМНОЖЕНИЯ У *MOINA MACROSCOPA* (CLADOCERA, MOINIDAE)

научный руководитель канд. биол. наук Задереев Е.С.

Сибирский федеральный университет

Причины возникновения, эволюция и особенности регуляции полового размножения – являются одной из активно исследуемых, но проблемных областей в современной биологии. Удобным объектом для исследования основных закономерностей, преимуществ и недостатков, разных способ размножения (полового и неполового) являются ветвистоусые ракообразные, способные чередовать способы размножения, а так же варьировать количество потомков разного пола в потомстве в зависимости от условий среды обитания. Несмотря на то, что определение пола и способа размножения у ветвистоусых ракообразных определяется условиями среды обитания, физиологически реализация этих процессов протекает под контролем эндокринной системы.

Для исследования влияния природных и антропогенных факторов на структуру и динамику популяций животных и растений необходимо проведение лабораторных исследований. Множество исследований посвящено действию внешних условий на определение пола и способа размножения [3], однако эндокринные процессы и роль гормонов в этих процессах исследованы очень слабо. Основной прогресс в этой области в настоящее время связан с исследованием действия ювенильного гормона метила фарнезоата (МФ) на определение пола в потомстве ветвистоусых [4]. В экспериментах было показано, что гормон вызывает появление самцов в партеногенетическом потомстве, снижает скорость роста [2]. Но оставался открытым вопрос – как гормон влияет на смену способа размножения. Целью данного исследования послужило выявление роли гормона метила фарнезоата в выборе способа размножения *Moina macroscopa*, а также в процессе их онтогенеза.

Метил фарнезоат - главный терпеноидный гормон ракообразных. Метил фарнезоат был обнаружен более чем у 30 видов ракообразных, включая десятиногих (крабы, креветки и т.д.), усоногих (уточка морская) и беспанцирных (креветка морская) [5]. Этот гормон у ракообразных регулирует много функций, подобно ювенильным гормонам насекомых [6].

Объектами нашего исследования были ветвистоусые рачки *Moina macroscopa* (Straus, 1820), обладающие коротким жизненным циклом, высокой скоростью партеногенетического размножения, высокой функциональной пластичностью воспроизводительной системы. Биология этих видов хорошо изучена. Ветвистоусые используются как тест-объекты при оценке токсичности вод, как стартовый корм в рыборазведении и как корм для аквариумных рыб [1].

В качестве корма во всех экспериментах использовалась неаксеничная культура зеленой водоросли *Chlorella vulgaris*. В экспериментах использовались самки третьего поколения, культивируемые в условиях, не лимитирующих партеногенетическое размножение. Самок помещали в среду с концентрацией пищи 100000 кл./мл, среда ежедневно заменялась на свежеприготовленную. Данная пищевая обеспеченность не лимитирует удельную скорость соматического роста, плодовитость самок и не вызывает смены способа размножения у рачков [7].

В экспериментальные условия помещали одноразмерных (0.55 мм) ювенильных самок из первого отрожденного потомства в третьем поколении. Эксперименты с одиночными самками проводились в стаканчиках с объемом среды 20 мл. Среда

ежедневно заменялась на свежеприготовленную. Эксперименты проводились в термостате при постоянной температуре (26°C) и фотопериоде (16 часов свет, 8 часов темнота). В конце экспериментов измеряли длину рачка на окуляр-микрометре, определяли способ размножения, для партеногенетических самок подсчитывали количество отрожденных потомков и их пол. Эксперименты продолжались до момента отрождения самками первого потомства.

Во всех экспериментах разница между опытом и контролем в плодовитостях, времени от начала эксперимента до отрождения первой кладки, скорость прироста биомассы между опытом и контролем оценивали однофакторным дисперсионным анализом (ANOVA), разницу в доле эфиппидальных самок, отрожденных самцов между опытом и контролем оценивали критерием χ^2 (Хи-квадрат) в программе STATISTIKA.

В экспериментах был использован чистый гормон methyl farnesoate (фирма производитель - Echelon, USA). Используемый концентрированный гормон хранился в лабораторном низкотемпературном холодильнике при $t = -40^\circ\text{C}$. Для проведения экспериментов получали растворы с концентрацией гормона 50, 100, 200, 400, 800 и 1600 nM. Во всех экспериментах параллельно содержали особей в аналогичных контрольных условиях, не содержащих гормон.

По итогам проведенных экспериментов было обнаружено, что под воздействием гормона у моин снижается плодовитость (рис. 1А). Видно, что плодовитость снижается с увеличением концентрации гормона в среде. Однофакторный дисперсионный анализ показывает достоверную зависимость плодовитости от концентрации гормона.

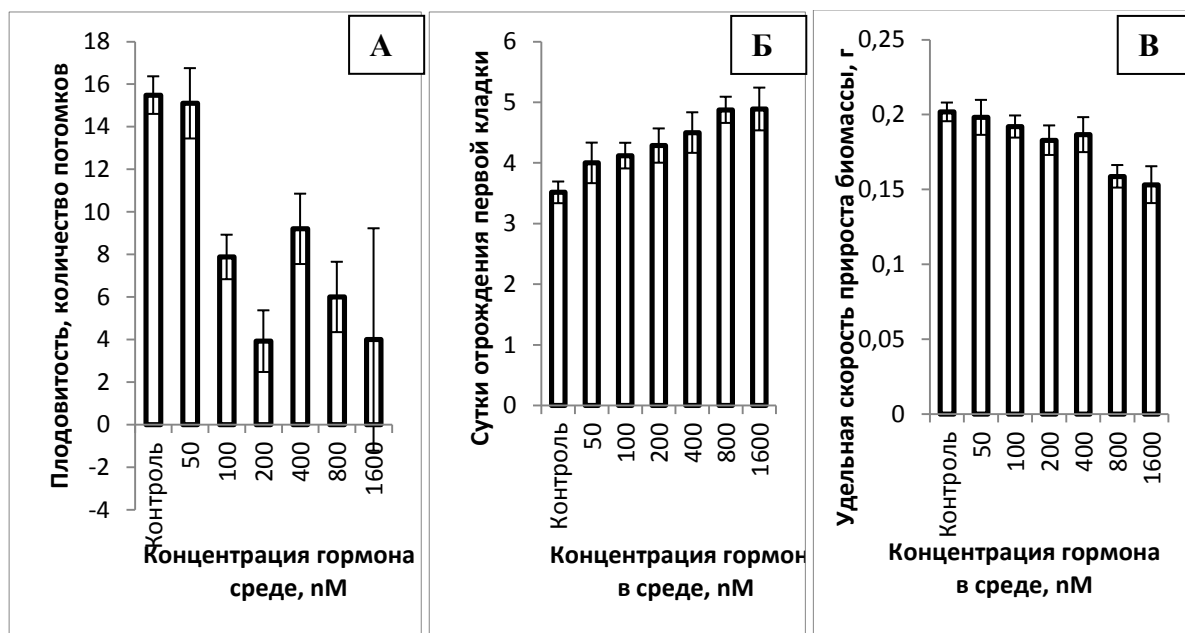


Рис. 1. Влияние метила фарнезоата на самок *Moina macroscopa* при различных концентрациях: А - плодовитость: Текущий эффект: $F(6, 97) = 49,907, P < 0,0001$; Б - время отрождения первой кладки: $F(6, 120) = 19,391, P < 0,0001$; В - удельная скорость прироста биомассы: $F(6, 120) = 18,449, P < 0,0001$. Вертикальные планки показывают 0,95 доверительный интервал

Под воздействием метила фарнезоата происходит задержка отрождения рачками первой кладки. Дисперсионный анализ выявляет достоверное влияние исследуемого фактора на время отрождения первой кладки (рис. 1Б). С увеличением концентрации гормона увеличивается время до появления первого потомства.

С увеличением концентрации гормона в среде снижается прирост биомассы рачков. Дисперсионный анализ также обнаруживает достоверную зависимость удельной скорости прироста биомассы рачков от концентрации гормона (рис. 1В).

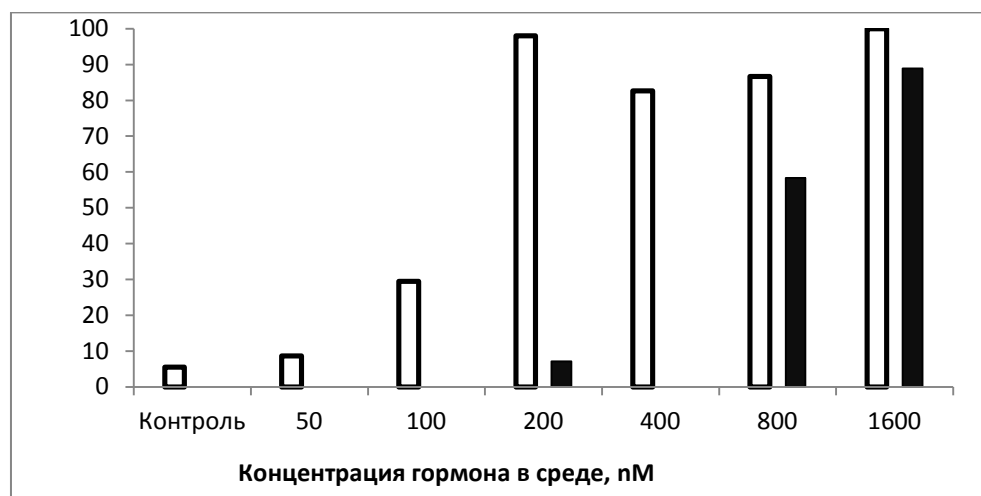


Рис. 2. Доля самцов в потомстве и эфиппидальных самок *M. Macroscopa* при различных концентрациях гормона. Светлые прямоугольники – доля самцов (в %), темные – эфиппидальные самки.

По итогам экспериментов обнаружено, что гормон стимулирует отрождение самцов (рис. 2). Было установлено достоверное различие между количеством самцов в потомстве самок, развивавшихся в среде с гормоном и без ($X^2=563$, $P<0,0001$). Причем доля самцов повышается с увеличением концентрации гормона в среде. А при наивысших концентрациях происходит смена способа размножения (рис. 2), самки производят эфиппидальные яйца ($X^2=76,1$, $P<0,0001$).

В результате проведенной работы мы выяснили, что от концентрации гормона в среде зависит сила эффекта, произведенного на самок *Moina macroscopa*. С повышением концентрации гормона сокращается плодовитость, прирост биомассы и увеличивается время до появления первого потомства у исследованных рачков. Впервые установлено, что при высоких концентрациях гормон стимулирует образование покоящихся яиц.

В экспериментах мы искусственным путем повысили концентрацию гормона в организме рачков. В итоге рачки проявили эффекты, подобные тем, которые возникают в результате воздействия факторов окружающей среды (такие как температура, качество или количество пищи и др.). Полученные результаты дают основание полагать, что в ответ на неблагоприятные факторы среды в организме самки вырабатывается гормон - метил фарнезоат, причем, когда в организме он достигает наибольшей концентрации, самка образует покоящиеся яйца, способные переносить неблагоприятные условия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Иванова, М.Б. Продукция планктонных ракообразных в пресных водах / М.Б. Иванова. Л.: Лениздат, 1985. - 224с.
2. Чугунов, В.К. Внутрипопуляционная стимуляция изменения онтогенеза у *Moina macroscopa* (Cladocera, Moinidae) // Доклады Академии Наук, Серия Биология, 2009 – Т. 425. – N 1, С. 139-141.
3. Diapause in Aquatic Invertebrates Theory and Human Use / Eds. V.R. Alekseev, B.T. de Stasio, J.J. Gilbert. – Netherlands: Springer, 2007. - 257p.

4. LeBlanc G.A. Crustacean endocrine toxicology: a review / G.A. LeBlanc // *Ecotoxicology*, 2007. –V.16. - №1. – P.61–81.
5. Laufer, H. Unifying concepts learned from methyl farnesoate for invertebrate reproduction and post-embryonic development / H. Laufer, W.J. Biggers // *Am. Zool.*, 2001. – V.41. - №3. – P.442–457.
6. Olmstead, A.W. The juvenoid hormone methyl farnesoate is a sex determinant in the crustacean *Daphnia magna* / A.W. Olmstead, G.A. LeBlanc // *J. Exp. Zool.*, 2002. – V.293. - №7. –P.736–739.
7. Zadereev, E.S The induction of diapause in *Moina* by species-specific chemical cues / E.S. Zadereev, T.S. Lopatina // *Aquatic Ecologi.*, 2007. – V.41. - №2 – P.255-261.