

УДК 595.384(268.45)

**ГОРМОНЫ ЛИНЬКИ КАМЧАТСКОГО КРАБА
(*PARALITHODES CAMTSCHATICUS*)**

С.А. Кузьмин, А.Г. Дворецкий
(Мурманский морской биологический институт КНЦ РАН)
В.В. Володин, С.О. Володина
(Институт биологии КомиНЦ УрО РАН, г. Сыктывкар)

**MOLTING HORMONES OF THE RED KING CRAB
(*PARALITHODES CAMTSCHATICUS*)**

S.A. Kuzmin A.G. Dvoretzky (Murmansk marine biological institute KSC RAS)
V.V. Volodin, S.O. Volodina (Institute of biology KomiSC UrO RAS, Syktyvkar)

Molting hormones of the red king crab (*Paralithodes camtschaticus*) were studied in the hemolymph of the crabs sampled in the Guba Dolgaya inlet (Barents Sea) in 2006. Two molting hormones (ecdysteroids) were identified in the red king crab hemolymph: 20-hydroxy ecdysone (20E) and ecdysone (E) (alpha – ecdysone). Concentration 20E was more than an order of magnitude exceeded concentration for E. Concentration of 20E gradually decreased with the crabs growth: in specimens with carapace width (CW) from 80 mm to 107 mm concentration of 20E was 9.4×10^{-3} mg/ml, while in the larger crabs (CW 137–164 mm) concentration of 20E was only 2.1×10^{-3} mg/ml. In males changes of molting hormones concentration with the growth was not significant statistically.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время основное внимание исследователей камчатского краба направлено на изучение тех аспектов биологии данного вида, которые имеют непосредственно практическое значение. Абсолютный подрыв запасов камчатского краба в Беринговом море (Аляска) и на российском Дальнем Востоке направил исследования данного вида в названных районах на его воспроизводство и аквакультуру. Не трудно прогнозировать, что с дальнейшим развитием промысла камчатского краба в Баренцевом море возможен подрыв его запасов и в новом месте обитания. В связи с этим актуальны фундаментальные исследования, направленные на изучение физиологических и экологических особенностей камчатского краба. Именно поэтому исследования ученых ряда научных организаций России, США, Японии и Норвегии в настоящее время направлены на более глубокое исследование различных аспектов биологии краба и, в частности, ростовых процессов – линьки.

Как указывали многие авторы в более ранних работах, стимуляция личиночного процесса проходит за счет гормона, вырабатываемого Y-органом [Passano, 1960]. Гормоны линьки, вырабатываемые данным органом, имеют в своей осно-

ве холестерол. Данное биологически активное вещество выполняет важную роль в биологических системах как важный компонент клеточной мембраны. Он также имеет значение в синтезе стероидных гормонов, в частности экдизона. Экдизон – наиболее обычный экдистероид, продуцируемый Y-органом ракообразных [Splinder, 1989].

Ранее нами были получены предварительные результаты исследований гормонов линьки, содержащихся в гемолимфе камчатских крабов из разных районов Баренцева моря [Матипов и др., 2007]. Целью настоящей работы является расширение и уточнение имеющихся данных о содержании экдистероидных гормонов в гемолимфе камчатских крабов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Отбор гемолимфы проводили по общепринятой методике [Павлов, 2003]. Гемолимфу фиксировали 95% этиловым спиртом. Отбор гемолимфы сопровождался полным полевым биологическим анализом крабов, включающим определение ширины карапакса (ШК), массы животного, стадии межлиночного состояния экзоскелета, зрелости икры самки и наличие поврежденных конечностей [Руководство ..., 1979; Donaldson, Byersdorfer, 2005].

Камчатские крабы, у которых отбирали гемолимфу, были отловлены в ходе береговой экспедиции 2006 г. в губе Долгой Баренцева моря. Отбор гемолимфы был произведен у 30 крабов, отловленных водолазным методом, а также с использованием донных ставных ловушек. Средняя ШК крабов составила $116,7 \pm 4,9$ мм (81,8–163,0 мм). Проанализированные крабы были представлены 12 самцами и 18 самками второй линичной категории.

Лабораторный анализ гемолимфы проводили в лаборатории биохимии и биотехнологии растений Института биологии Коми НЦ УрО РАН. Для определения титров гормонов линьки (20-гидроксиэкдизона и экдизона) камчатского краба образец гемолимфы (точная навеска) экстрагировали 70%-ным этанолом в течение суток. Затем пробу центрифугировали (1200 об/мин.) в течение 30 мин. 3 мл супернатанта пропускали через концентрирующий патрон ДИАПАК С-16 (ЗАО «БИОХИММАК» г. Москва). Очищенную пробу анализировали на хроматографической системе Varian, Pro Star (USA). Элюент: ацетонирил/вода 20:100; скорость подачи элюента 1 мл/мин.; $\lambda = 242$ nm; колонка: 150×4 mm; Diasorb 130 C16 T; 7×10^{-9} m (ЗАО «БИОХИММАК» г. Москва).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате проведенных анализов гемолимфы в ней были обнаружены два экдистероида: 20-гидроксиэкдизон (20E) и экдизон (E) (по старой номенклатуре – альфа-экдизон). Концентрация 20E более чем на порядок превышала таковую для E (табл. 1).

Таблица 1. Содержание экдистероидных гормонов в гемолимфе камчатских крабов из губы Долгой (август 2006 г.)

Table 1. Concentration of ecdysteroid hormones in the hemolymph of the red king crabs sampled in the Guba Dolgaya inlet in August, 2006

Пол	Концентрация 20E, мг/мл			Концентрация E, мг/мл		
	Среднее	Минимум	Максимум	Среднее	Минимум	Максимум
Самцы	$0,0056 \pm 0,0020$	0,0005	0,0246	$0,0013 \pm 0,0012$	0,00003	0,0097
Самки	$0,0079 \pm 0,0026$	0,0006	0,0445	$0,0024 \pm 0,0019$	0,0001	0,0134
Общее	$0,0069 \pm 0,0017$	0,0005	0,0445	$0,0019 \pm 0,0010$	0,00003	0,0134

Анализ зависимости титров гормонов линьки от размера краба выявил определенную связь между ШК и концентрацией гормонов в гемолимфе камчатских крабов. Данные зависимости имеют разный характер у самцов и самок камчатских крабов.

В случае самок происходит снижение содержания гормонов линьки по мере роста особей. У крабов с ШК 80–136 мм концентрация 20Е держится на уровне 0,0094 мг/мл, у особей с ШК более 136 мм количество данного гормона в гемолимфе снижается до 0,0021 мг/мл (рис. 1). Данные величины достоверно отличаются ($t=2,08$, $p<0,05$). Для экдизона прослеживается такая же картина, однако достоверных отличий между содержанием экдизона у особей разных размерных групп установить не удалось.

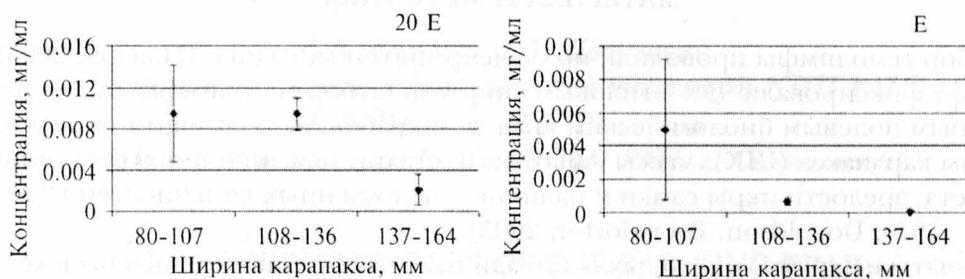


Рис. 1. Концентрация 20-гидроксиэкдизона (20Е) и экдизона (Е) в гемолимфе самок камчатского краба

Figure 1. Concentration of 20-hydroxy ecdysone (20E) and ecdysone (E) in the hemolymph of the red king crab females

Для самцов характерно увеличение средней концентрации гормонов в гемолимфе по мере роста особей (рис. 2). Отмечено, что у крабов с ШК 86–134 мм, содержание 20Е составляет в среднем 0,0033 мг/мл, в то время как у более крупных особей данный показатель достигает значения 0,0120 мг/мл. Однако достоверных отличий данных величин установить не удалось.

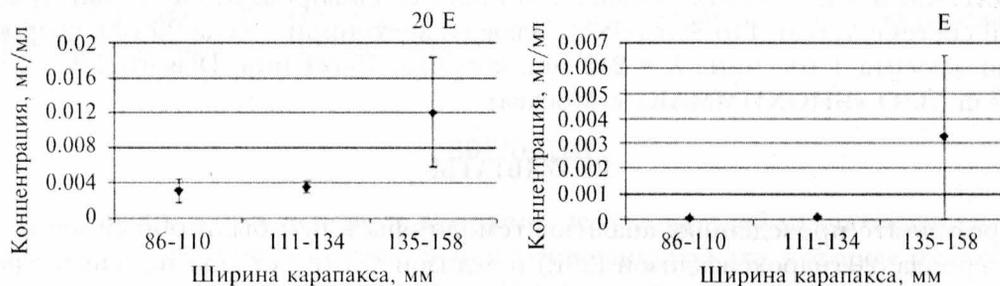


Рис. 2. Концентрация 20-гидроксиэкдизона и экдизона в гемолимфе самцов камчатского краба

Figure 2. Concentration of 20-hydroxy ecdysone and ecdysone in the hemolymph of the red king crab males

ОБСУЖДЕНИЕ

В гемолимфе камчатских крабов присутствовали два гормона линьки – 20-гидроксиэкдизон и экдизон. В предыдущих работах с использованием методик высокоэффективной жидкостной хроматографии при анализе гемолимфы камчатских крабов в экстрактах был обнаружен только 20Е [Рыбин и др., 2006]. Методика, использованная в нашей работе, позволила наряду с 20Е обнаружить также небольшие концентрации экдизона. В ряде случаев фиксировали следы данного гормона.

Полученные результаты определения количества эcdистероида 20E у самок объясняются тем, что крабы с меньшей шириной карапакса линяют гораздо чаще по сравнению с половозрелыми крабами [Кузьмин, Гудимова, 2002], соответственно уровень гормона линьки 20E у них выше. Подобную связь наблюдали ранее у камчатских крабов [Матишов и др., 2007] и у настоящих крабов – крабов-стригунов ооилио [Cormier, Fraser, 1992]. При этом в гемолимфе камчатских крабов с ШК 45–75 мм уровень 20E отмечался на уровне 0,0289 мг/мл [Матишов и др., 2007], что примерно в 3 раза превышает те уровни, которые мы установили для крабов с ШК 80–136 мм в настоящем исследовании.

У самцов наблюдали обратную картину – более высокие концентрации гормонов линьки фиксировали у особей с большими размерами. Однако достоверных отличий между наблюдаемыми величинами установить не удалось. Данный результат может быть обусловлен малым объемом данных. Единичные выбросы содержания 20E в гемолимфе самцов приводят к тому, что у крупных особей, которые линяют редко, концентрация гормона линьки выше, чем у небольших крабов, линяющих несколько раз в год.

ЛИТЕРАТУРА

Кузьмин С.А., Гудимова Е.Н. 2002. Вселение камчатского краба в Баренцево море. Особенности биологии, перспективы промысла. Апатиты: Изд-во Кольского научного центра РАН. 236 с.

Матишов Г.Г., Кузьмин С.А., Володин В.В., Володина С.О., Зензеров В.С., Дворецкий А.Г. 2007. Титры эндогенных гормонов линьки камчатского краба в Баренцевом море // Доклады Академии Наук. Т. 412. № 5. С. 716–717.

Павлов В.Я. 2003. Жизнеописание камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1885). М.: Изд-во ВНИРО. 110 с.

Руководство по изучению десятиногих ракообразных Decapoda дальневосточных морей. Владивосток. 1979. 60 с.

Рыбин В.Г., Павел К.Г., Караулов А.Е. 2006. Аспекты применения высокоэффективной жидкостной хроматографии в анализе жирных кислот, каротиноидов и стероидов в липидах и липидных препаратах их гидробионтов // Вопросы рыболовства. Т. 7. № 2. С. 304–317.

Cormier R.J., Fraser A.R. 1992. Hemolymph ecdysone concentration as a function of sexual maturity in the male snow crab (*Chionoecetes opilio*) // Can. J. Fish. Aquat. Sci. V. 49 (8). P. 1619–1623.

Donaldson W. E. Byersdorfer S.E. 2005. Biological field techniques for lithodid crabs // Fairsbanks. Alaska: Alaska Sea Grant College Program, University of Alaska. 82 p.

Passano L.M. 1960. Molting and its control // The physiology of Crustacea. Academic Press Inc. New York. P. 473–536.

Splinder K.D. 1989. Hormonal Role of Ecdysteroids in Crustacea, Chelicerata and Other Arthropods // Koolman M. (Ed) Ecdysone: From Chemistry to Mode of Action. Stuttgart, N.Y., Thime Med. Publ. P. 290–295.