

ЭКОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 574.24

doi: 10.17223/19988591/62/5

Совместное влияние метилфарнезоата и концентрации пищи на репродуктивные параметры двух видов ветвистоусых ракообразных рода *Moina*

Елена Николаевна Волкова¹, Егор Сергеевич Задереев^{1,2}

¹ Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия

² Институт биофизики СО РАН, Красноярский научный центр СО РАН,
Красноярск, Россия

¹ volkovaan2008@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0003-2366-8604>, egor@ibp.ru

Аннотация. Метилфарнезоат (МФ) играет роль ювенильного гормона у ветвистоусых ракообразных. Известно, что МФ участвует в регуляции полового размножения самок рачков, в частности, вызывает отрождение самцов и образование требующих оплодотворения покоящихся яиц. При этом как появление в потомстве самцов, так и образование покоящихся яиц у ветвистоусых ракообразных контролируются факторами внешней среды. Совместное действие экзогенного МФ и факторов внешней среды, влияющих на половое размножение ветвистоусых рачков, не исследовалось. В работе оценивали совместное влияние МФ в концентрации 400 нМ и субоптимальной обеспеченности пищей на репродуктивные параметры самок двух видов рода *Moina*. При всех исследованных концентрациях пищи в среде с гормоном у самок наблюдалась более высокая предрасположенность к половому размножению (процент самцов и количество покоящихся яиц в первом потомстве), чем в контроле. В среде с гормоном у самок также наблюдалась пониженная по сравнению с контролем плодовитость, которая практически не увеличивалась с ростом концентрации пищи. Плодовитость самок в контрольной среде росла с увеличением концентрации пищи. Возраст отрождения первой кладки незначительно увеличивался с уменьшением концентрации пищи и существенно возрастал при добавке в среду гормона. Таким образом, под действием МФ самки начинали размножаться позже, снижалась их плодовитость, увеличивалась доля самцов в потомстве и росло количество покоящихся яиц. Наблюдаемые изменения в репродуктивных параметрах самок под действием МФ аналогичны таковым при лимитирующей обеспеченности пищей и приведут к резкому снижению скорости роста популяции.

Ключевые слова: ветвистоусые ракообразные, ювенильный гормон, скорость роста, плодовитость, определение пола

Источник финансирования: работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ (проект № 0287-2021-0019).

Для цитирования: Волкова Е.Н., Задереев Е.С. Совместное влияние метилфарнезоата и концентрации пищи на репродуктивные параметры двух видов ветвистоусых ракообразных рода *Moina* // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2023. № 62. С. 94–108. doi: 10.17223/19988591/62/5

Combined Effect of Methylfarnezoate and Food Concentration on the Reproductive Parameters of Two Cladoceran Species of the Genus *Moina*

Elena N. Volkova¹, Egor S. Zadereev^{1,2}

¹ Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russian Federation

² Institute of Biophysics SB RAS, Krasnoyarsk Science Center SB RAS, Krasnoyarsk, Russian Federation

¹ volkovaan2008@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0003-2366-8604>, egor@ibp.ru

Summary. Cladocera are mass representatives of zooplankton in freshwater ecosystems, which are of great ecological importance. To be aware of the dynamics of cladoceran populations in nature and to control the abundance of animals in artificial conditions, for example, in aquaculture, it is important to understand the reaction of the reproductive system of animals to external stress factors. Adverse environmental conditions trigger a chain of neurohormonal changes that largely determine the rate and type of reproduction (parthenogenesis or sexual reproduction) in Cladocera. With the discovery and isolation of methyl farnezoate (MF), one of the key hormones involved in the regulation of growth and reproduction of crustaceans, it became possible to study the combined endogenous and exogenous effects of this hormone on crustacean reproduction. In this work, we assessed the effect of MF on the reproductive parameters of two species of cladocerans of the genus *Moina* at suboptimal (for these species) food concentrations. As a working hypothesis, it was assumed that the combined effect of the external stress factor and MF would have a more pronounced effect on the growth and reproduction of animals than each of these factors separately.

We used females of two species of cladocerans *Moina brachiata* (Jurine, 1820) and *Moina macrocopa* (Straus, 1918). In all experiments, a non-sterile culture of the green alga *Chlorella vulgaris* was used as a food, and aged tap water - as a culture medium. Animals were grown individually under conditions favourable for parthenogenesis (the volume of cultivation medium was 20 ml per animal, temperature (26°C), and photoperiod (16 hours of light, 8 hours of darkness); the concentration of food was $2 \cdot 10^5$ cells/ml per day for *M. macrocopa* and $5 \cdot 10^5$ cells/ml per day for *M. brachiata*). To start the experiment, one-size juvenile females (body length 0.6–0.7 mm) from the first offspring of third-generation crustaceans were placed individually in 40-ml beakers containing 20 ml of the medium. The medium was updated daily. When studying the effect of MF on growth and reproduction, the following food concentrations were used: for *M. brachiata* – 0.1; 1; 2 and $4 \cdot 10^5$ cells/ml per day; for *M. macrocopa* – 0.5 and $1 \cdot 10^5$ cells/ml per day. The differences in food concentrations are due to the fact that these two species have a different food threshold, at which females begin to produce resting eggs. For each food concentration, the development of females in the medium with MF and in the control medium was compared. The concentration of MF (Echelon, USA) in the medium was 400 nM. For each exposure, at least 10 animals were tested. The experiments were carried out until the females gave birth to the second offspring. For each female, the day of birth of the first offspring, the type of reproduction (parthenogenetic offspring or resting eggs), the number and sex of the hatched parthenogenetic offspring were recorded. On Day 1 and 4 of the experiment, the linear size of the animals' bodies was measured. Based on the body length, the specific rate of somatic growth of animals was calculated.

Experiments showed that MF stimulated females of both species to sexually reproduce at all tested food concentrations (see the figures). The proportion of males in the parthenogenetic offspring of females of both species for each of the tested food concentrations in the medium with MF was higher than in the control. Both MF and food concentration affected the proportion of females of both species that produced resting eggs. The proportion of females with resting eggs increased with a decrease in food concentration and with the addition of MF to the culture medium. MF and food concentration had a significant effect on fecundity, the age of the first reproduction, and the specific somatic growth rate of females of both study species (see the figures). Both species in the medium with MF gave birth to fewer offspring than in the control, while fecundity increased with increasing food concentration in the medium. In the medium with MF, the females hatched the first clutch later than in the control medium. The age of the first reproduction also increased with a decrease in the concentration of food. Both species in the medium with MF had a lower specific somatic growth rate than in the control, while a significant increase in the specific somatic growth rate with increasing food concentration was recorded only for one of the species. Thus, the study showed that the concentration of the juvenile hormone MF 400 nM in the culture medium leads to a decrease in the specific rate of somatic growth, a delay in the hatching of the first clutch, a decrease in fecundity, an increase in the proportion of males in the offspring, and the production of resting eggs by females of *Moina brachiata* and *Moina macrocopa*. Changes in the studied parameters of growth and reproduction of *Moina brachiata* and *Moina macrocopa* females with a decrease in the food concentration below the optimum had a similar pattern but were less pronounced. The combined effect of MF and low food concentration leads to the strongest changes in the studied parameters of growth and reproduction of the studied females. Such changes will lead to a sharp decline in the population growth rate, which indicates the possibility of controlling the number of natural or laboratory populations of cladocerans by interfering with the signalling pathway of juvenile hormone receptors.

The article contains 3 Figures, 24 References.

Keywords: Cladocerans, juvenile hormone, growth rate, fecundity, sex determination

Funding: This work was partially supported by State Assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (project No. 0287-2021-0019).

For citation: Volkova EN, Zadereev ES. Combined effect of methylfarnesoate and food concentration on the reproductive parameters of two cladoceran species of the genus *Moina*. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2023;62:94-108. doi: 10.17223/19988591/62/5

Введение

Ветвистоусые ракообразные – массовые представители зоопланктона в пресноводных экосистемах, имеющие важное экологическое значение. Представители таких родов ветвистоусых, как *Daphnia* и *Moina*, также часто используются в экотоксикологических исследованиях, а в последнее время и в качестве модельных объектов в работах по эволюции и генетике [1]. Важная экологическая роль в природе и широкое использование в лабораторных исследованиях ветвистоусых ракообразных во многом связаны с особенностями их размножения. При благоприятных условиях самки ветвистоусых ракообразных размножаются партеногенезом, отрождая при каждой линьке многочисленных близкородственных самок. Благодаря этому

популяции ветвистоусых достаточно быстро достигают большой численности. При ухудшении условий окружающей среды в потомстве появляются самцы, а позже самки образуют требующие оплодотворения покоящиеся яйца [2].

Рост и размножение ветвистоусых ракообразных во многом контролируются действием ряда эндокринных гормонов [3–4]. Среди наиболее изученных ювенильный гормон метилфарнезоат (МФ). Интерес к исследованию МФ во многом связан с его вовлеченностью в регуляцию полового размножения у ветвистоусых ракообразных. Синтез этого гормона является необходимым условием появления самцов в партеногенетическом потомстве самок [5]. К настоящему времени найдены гены, задействованные в активации его синтеза [6]. При высокой концентрации МФ также способен стимулировать самок ветвистоусых ракообразных к образованию покоящихся яиц [7]. Под влиянием этого гормона также изменяется способность животных накапливать жир в теле, что, в свою очередь, оказывает влияние на их плодовитость [8]. Таким образом, под действием МФ происходят изменения в жизненном цикле рачков (снижение плодовитости, рождение самцов, образование покоящихся яиц), которые снижают скорость роста популяции. То есть понимание взаимосвязей между действием МФ и особенностями размножения ветвистоусых ракообразных крайне важно для предсказания и управления их численностью в природных и искусственных условиях.

Обычно воздействие МФ на параметры роста и размножения ветвистоусых ракообразных исследуют при благоприятных условиях окружающей среды. При этом циклическое размножение ветвистоусых находится под средовым контролем сигнальных факторов. Воздействие таких неблагоприятных факторов, как короткий световой день, низкая температура, недостаток пищи, высокая концентрация продуктов жизнедеятельности, запускает цепочку синтеза МФ в организме [5]. Таким образом, экзогенное воздействие МФ на организм при благоприятных внешних условиях является искусственно созданной комбинацией, не встречающейся в природе. Можно предположить, что при ухудшении условий среды обитания, которые вызывают эндогенный синтез МФ, и одновременном экзогенном применении этого гормона эффекты будут более выражены в силу более высокой концентрации действующего соединения.

В данной работе оценивали действие МФ на репродуктивные параметры двух видов ветвистоусых ракообразных из рода *Moina* при субоптимальных для этих видов концентрациях пищи в среде. В качестве рабочей гипотезы предположено, что совместное действие внешнего стрессового фактора и МФ будет оказывать более выраженное действие на рост и размножение рачков, чем каждый из этих факторов по отдельности.

Материалы и методы

В работе использовали самок двух видов ветвистоусых ракообразных – *Moina brachiata* (Jurine, 1820) и *Moina macrocopa* (Straus, 1918). Покоящиеся яйца *M. brachiata* и *M. macrocopa* с почвой из временного пруда, расположенного рядом с Институтом биологии внутренних вод РАН (с. Борок), любезно предоставил Владимир Чугунов. После выхода животных из покоящихся яиц перед экспериментами их несколько месяцев содержали в лабораторных условиях. Ранее один из соавторов данной работы вместе с коллегами исследовал влияние концентрации корма на рост и размножение этих видов [9–10].

Во всех экспериментах в качестве корма использовали нестерильную культуру зеленой водоросли *Chlorella vulgaris*. Водоросль выращивали в колбах объемом 500 мл в накопительном режиме на среде Тамия (KNO_3 – 5 мг/л, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 2,5 мг/л, KH_2PO_4 – 1,5 мг/л, микроэлементы и Fe в незначительных количествах) при постоянном освещении и аэрации. Перед использованием в качестве корма водоросли центрифугировали при 3 000 об/мин. Полученную концентрированную суспензию хранили в холодильнике и использовали в качестве корма не более 2 недель после центрифугирования. Концентрацию клеток хлореллы в среде после разведения суспензии определяли с помощью счетчика частиц CASY TTC (Германия).

В опытах использовали самок третьего поколения, выращиваемых индивидуально в условиях, благоприятных для партеногенеза (объем среды культивирования – 20 мл на животное, температура – 26 °C, фотопериод – 16 ч свет, 8 ч темнота, концентрация клеток хлореллы в среде – $2 \cdot 10^5$ клеток/мл в сутки для *M. macrocopa* и $5 \cdot 10^5$ клеток/мл в сутки для *M. brachiata*). Ранее исследователями показано [11], что два этих вида мойн имеют разный пищевой порог, при котором самки начинают образовывать покоящиеся яйца. Среду культивирования обновляли ежедневно. В качестве среды использовали отстоянную (не менее 24 ч) водопроводную воду (pH – 7,3; жесткость – 62,9 мг-эквивалент CaCO_3 /л; общее содержание катионов – 26,4 мг/л). Ранее исследователями показано [11], что такие условия благоприятны для партеногенетического размножения и не влияют на удельную скорость соматического роста и плодовитость изученных видов рачков.

Для начала эксперимента одноразмерных ювенильных самок (длина тела 0,6–0,7 мм) из первого потомства рачков третьего поколения, культивируемых в описанных выше условиях, помещали индивидуально в 40-миллилитровые стаканы, содержащие 20 мл среды. Условия культивирования (температура, фотопериод) соответствовали описанным выше. Среду обновляли ежедневно. При изучении влияния МФ на рост и размножение использовали следующие концентрации корма: для *M. brachiata* – 0,1; 1; 2 и $4 \cdot 10^5$ клеток/мл в сутки; для *M. macrocopa* – 0,5 и $1 \cdot 10^5$ клеток/мл в сутки. Для каждой концентрации корма сравнивали развитие самок в среде с МФ и в контрольной среде. Концентрация МФ (Echelon, США) в среде составляла 400 нМ. Растворы МФ изначально готовили в этаноле, концентрация этанола в среде

культивирования составляла 0,01%, что не оказывало воздействия на рост и размножение рачков. Концентрация гормона, используемая в данном исследовании, приводила к массовому отрождению самцов у клонов *D. magna* [12–13], а также вызывала отрождение самцов и эпизодическое образование покоящихся яиц у самок *M. macrocopa* [14]. Для каждого воздействия протестировано не менее 10 животных.

Опыты проводили до отрождения самками второго потомства. Для каждой самки фиксировали день отрождения первого потомства, тип размножения (партеногенетические потомки или покоящиеся яйца), количество и пол вылупившихся партеногенетических потомков. В первые и четвертые сутки эксперимента измеряли под бинокулярной лупой ($\times 16$) линейный размер тела животных как расстояние между вершиной головы и концом створок панциря. На основе линейных размеров тела рассчитывали удельную скорость соматического роста животных [15].

Для оценки влияния МФ и концентрации пищи на количество вылупившихся самцов использовали критерий хи-квадрат (Chi-square test). Влияние концентрации корма и МФ на количество самок, образующих покоящиеся яйца, оценивали с помощью обобщенной линейной модели (Generalized Linear Model), предполагая биномиальное распределение. Чтобы проверить влияние концентрации пищи и МФ на плодовитость самок, возраст первого размножения и удельную скорость соматического роста, использовали факторный дисперсионный анализ (factorial ANOVA). Все статистические расчеты проводились в программе STATISTICA 6.0.

Результаты исследования и обсуждение

Для понимания причин изменения численности популяций ветвистоусых ракообразных в природе и для управления численностью в искусственных условиях, например в аквакультуре, важно понимать общие закономерности реакции репродуктивной системы на внешние стрессовые факторы. Неблагоприятные воздействия запускают цепочку нейрогормональных изменений, которые во многом определяют скорость и тип размножения (партеногенез или половое размножение). С открытием и выделением в чистом виде одного из ключевых гормонов, вовлеченных в регуляцию роста и размножения ракообразных, метилфарнезоата, стало возможным исследовать совместное эндогенное и экзогенное воздействие этого гормона на размножение ракообразных. В предыдущих исследованиях проводилась оценка отклика параметров роста и размножения самок *M. macrocopa* и *M. brachiata* на изменение пищевых условий. Выявлено, что данные виды различаются пороговыми концентрациями пищи, при которых у самок снижается скорость соматического роста, и они начинают размножаться позже, снижается плодовитость, в кладках появляются покоящиеся яйца [16]. То есть автоматы определены пороговые концентрации пищи, при которых в организме рачков по всей видимости запускается синтез МФ. В данном исследовании

выполнена оценка экзогенного действия МФ на рост и размножение этих видов при субоптимальных и видоспецифичных концентрациях пищи.

МФ стимулировал самок обоих видов к половому размножению при всех протестированных концентрациях пищи (рис. 1). Доля самцов в партеногенетическом потомстве самок обоих видов для каждой из протестированных концентраций пищи в среде с МФ выше, чем в контроле ($p < 0,01$, критерий хи-квадрат). Доля самцов в партеногенетическом потомстве самок *M. brachiata* при воздействии МФ также увеличивалась с уменьшением концентрации пищи ($p < 0,001$, критерий хи-квадрат). В контрольной среде небольшое количество самцов (5%) фиксировалось лишь при самой высокой из протестированных концентраций пищи. В партеногенетическом потомстве самок *M. macroscopa* доля самцов с уменьшением концентрации пищи в контрольной среде увеличивалась ($p < 0,001$, критерий хи-квадрат), в среде с МФ – незначительно уменьшалась ($p = 0,02$, критерий хи-квадрат).

Как МФ, так и концентрация пищи влияли на долю самок обоих видов моин, откладывающих покоящиеся яйца. Доля самок с покоящимися яйцами увеличивалась с уменьшением концентрации пищи ($p < 0,05$, двухфакторный дисперсионный анализ) и при добавке в среду культивирования МФ ($p < 0,01$, двухфакторный дисперсионный анализ).

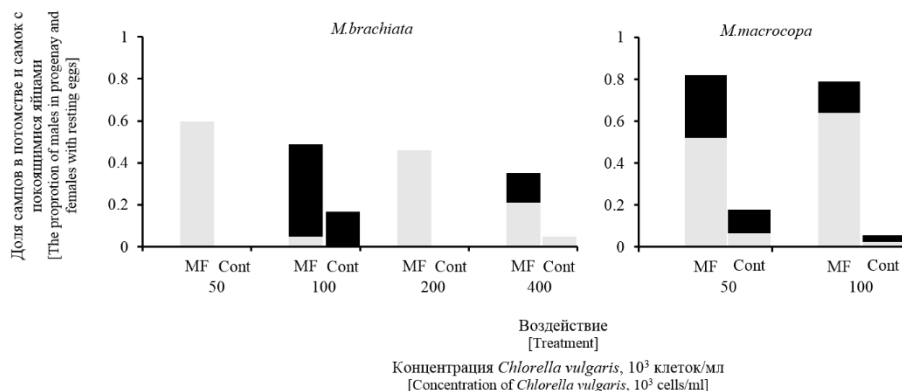


Рис. 1. Доля самцов в партеногенетическом потомстве (серые столбцы) и доля самок *Moina brachiata* и *Moina macroscopa* с покоящимися яйцами (черные столбцы) в среде с добавкой метилфарнезоата (MF) и в контрольной среде (Cont) при разных концентрациях пищи

[Fig. 1. The proportion of males in parthenogenetic progeny (grey bars) and the proportion of females of *Moina brachiata* and *Moina macroscopa* with resting eggs (black bars) in the methylfarnesoate treatment (MF) and control (Cont) with the different food concentrations]

Переход к половому размножению у ветвистоусых ракообразных и связанное с ним резкое уменьшение скорости роста популяции происходят при ухудшении условий среды обитания в виде последовательности событий: появление в партеногенетическом потомстве самцов, появление в кладках у самок покоящихся яиц, требующих оплодотворения. При этом для разных видов и даже популяций одних видов значения неблагоприятных факторов

и их комбинации, вызывающие переход к половому размножению, могут существенно варьировать, что связано с приспособленностью популяций к конкретным условиям среды обитания.

Как видно на примере двух протестированных видов моин, вид *M. brachiata* более чувствителен к пищевым условиям и начинает образовывать покоящиеся яйца при более высоких концентрациях пищи, чем *M. macroscopa*. Для интерпретации результатов, однако, существенно, что для обоих видов склонность к половому размножению резко возрастает при добавке в среду МФ, также она увеличивается с уменьшением концентрации пищи в среде. Несмотря на то, что экзогенная добавка гормона вызывает выраженный эффект, с уменьшением концентрации пищи он увеличивается. То есть можно предположить, что с ростом концентрации гормона доля самцов в потомстве самок и доля самок с покоящимися яйцами будут расти. Действительно, ранее исследователями показано [14], что доля самок *M. macroscopa* с покоящимися яйцами с увеличением содержанием МФ в среде до 1 600 нМ вырастает практически до 100%.

Близкие концентрации МФ, стимулирующие вылупление самцов, получены ранее для других видов ветвистоусых ракообразных. Так, в партеногенетических кладках *Daphnia magna* самцы появляются при концентрации МФ 50 нМ, а при 500 нМ МФ в среде дафнии дают только мужское потомство [12]. При этом действие гормона проявляется в конце цикла развития яичника перед откладкой яиц в выводковую камеру, что хорошо согласуется с данными по времени определения пола в потомстве для других ветвистоусых, например *Moina* [17]. Эндогенный синтез метилфарнезоата необходим и в случае стимуляции производства самцов средовыми стимулами. Например, доля самцов при коротком световом дне в потомстве самок *D. pulex* может уменьшаться или увеличиваться за счет подавления или стимуляции синтеза метилфарнезоата соответствующим ферментом [18].

Метилфарнезоат, видимо, связывается с транскрипционным фактором [19], регулирует транскрипцию ряда генов, в том числе в созревающем ооците [5]. Таким образом, пол потомства предположительно определяется нейроэндокринным сигнальным путем, при котором чувствительные нейроны воспринимают соответствующий средовой стимул, передают сигнал секреторным нейронам, выделяющим нейропептиды, которые регулируют синтез метилфарнезоата из фарнезоевой кислоты ферментом О-метилтрансферазой фарнезоевой кислоты (FAMeT). В свою очередь, метилфарнезоат, связываясь с транскрипционными факторами Met и SRc, регулирует транскрипцию множества генов, в том числе определяющих пол развивающейся особи [20].

Факторный дисперсионный анализ показал значимое влияние МФ и концентрации пищи на плодовитость и возраст отрождения первой кладки (рис. 2), удельную соматическую скорость роста (рис. 3) самок обоих исследованных видов.

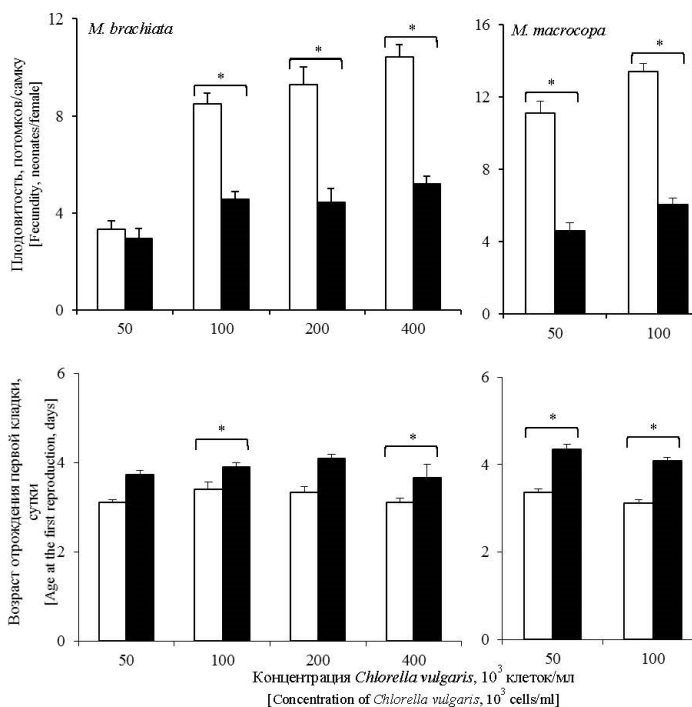


Рис. 2. Плодовитость и возраст отрождения первой кладки (среднее $\pm$ S.E.) самок *Moina brachiata* и *Moina macroscopa* в контрольной среде (белые столбцы) и в среде, содержащей 400 нМ метилфарнезоата (черные столбцы).

* – разница между контрольной средой и средой с МФ достоверна при $p < 0,0001$ [Fig. 2. The fecundity and the age at the first reproduction (mean $\pm$ S.E.) of females of *Moina brachiata* and *Moina macroscopa* in the control (white bars) and 400 nM methylfarnesoate treatment (black bars).

* The difference between control and methylfarnesoate treatment is significant at $p < 0,0001$ (post-hoc Tukey test)]

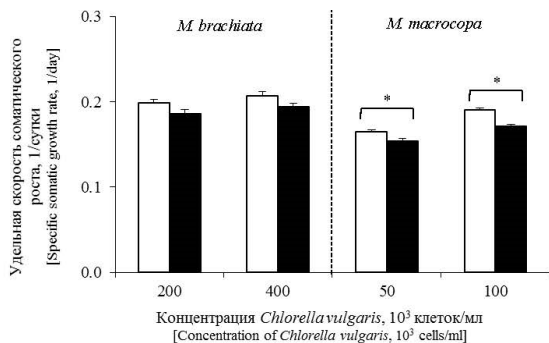


Рис. 3. Удельная скорость соматического роста (среднее $\pm$ S.E.) самок *Moina brachiata* и *Moina macroscopa* в контрольной среде (белые столбцы) и в среде, содержащей 400 нМ метилфарнезоата (черные столбцы). * – разница между контрольной средой и средой с МФ достоверна при $p < 0,0001$

[Fig. 3. The specific somatic growth rate (mean $\pm$ S.E.) of females of *Moina brachiata* and *Moina macroscopa* in the control (white bars) and 400 nM methylfarnesoate treatment (black bars).

* The difference between control and methylfarnesoate treatment is significant at $p < 0,0001$ (post-hoc Tukey test)]

Оба вида в среде с МФ отрождали меньше потомков, чем в контроле (*M. brachiata*: $F = 23,59$, $p < 0,0001$; *M. macroscopa*: $F = 10,95$, $p < 0,001$), при этом плодовитость увеличивалась с ростом концентрации корма в среде (*M. brachiata*: $F = 71,31$, $p < 0,0001$; *M. macroscopa*: $F = 154,99$, $p < 0,0001$) (рис. 2).

В среде с МФ самки отрождали первую кладку позже, чем в контрольной среде (*M. brachiata*: $F = 42,46$, $p < 0,0001$; *M. macroscopa*: $F = 111,46$, $p < 0,001$). Возраст отрождения первой кладки также увеличивался с уменьшением концентрации корма в среде (*M. brachiata*: $F = 2,88$, $p = 0,0385$; *M. macroscopa*: $F = 7,84$, $p = 0,0057$) (см. рис. 2).

Оба вида в среде с МФ имели меньшую удельную соматическую скорость роста, чем в контроле (*M. brachiata*: $F = 8,13$, $p = 0,007$; *M. macroscopa*: $F = 35,29$, $p < 0,0001$), при этом достоверное увеличение удельной соматической скорости роста с возрастанием концентрации корма в среде зафиксировано лишь для одного из видов (*M. macroscopa*: $F = 68,97$, $p < 0,0001$) (рис. 3).

Ранее в опытах с *M. macroscopa* В.К. Чугунов показал [21], что при концентрации МФ в среде 400 нМ замедляется линейный прирост самок и увеличивается доля самцов в потомстве. В данной работе показано, что самки двух видов моин, подвергшиеся воздействию гормона, не только медленнее растут (см. рис. 3), но также позже приступают к размножению (см. рис. 2). Также зарегистрирован синергетический эффект уменьшения концентрации корма в среде и добавки МФ в среду, который проявлялся в увеличении возраста отрождения первой кладки. Известно, что у насекомых под действием ювенильного гормона в личиночный период ослабевает активность гормона экдизона, стимулирующего рост личинки и ускоряющего ее линьку [22]. МФ у ветвистоусых ракообразных может выполнять те же функции, что и ювенильный гормон у насекомых; когда его концентрация высока, он замедляет развитие животных. В экологии ветвистоусых ракообразных время достижения половой зрелости является одним из ключевых параметров жизненного цикла, оказывающих существенное влияние на динамику популяции [23]. Таким образом увеличение возраста отрождения первой кладки под действием МФ будет способствовать снижению скорости роста популяции.

Характер влияния МФ и концентрации пищи на плодовитость самок двух исследованных видов схож с влиянием на другие параметры жизненного цикла. Как добавка в среду МФ, так и уменьшение концентрации пищи снижали плодовитость. При этом минимальные плодовитости зафиксированы в среде с МФ при наименьшей из протестированных концентраций пищи. Стоит отметить, что плодовитость в среде с МФ даже с ростом концентрации пищи остается достаточно низкой. Недавно исследователи показали [8], что МФ, как и ряд других соединений, оказывающих влияние на эндокринную систему, влияет на накопление жиров, что сказывается на репродуктивном успехе самок *Daphnia magna*. Снижение плодовитости под действием МФ, как и наблюдаемые изменения в других оцениваемых в данной работе параметрах, будут также приводить к снижению скорости роста популяции [24].

Таким образом, показано, что экзогенное воздействие ювенильного гормона метилфарнезоата на параметры роста и размножения самок двух видов ветвистоусых ракообразных рода *Moina* приводит к комплексным эффектам (снижение удельной соматической скорости роста, более позднее отрождение первой кладки, снижение плодовитости, увеличение доли самцов в потомстве, появление покоящихся яиц), которые существенным образом скажутся на численности популяции. Эффекты, зафиксированные при добавке 400 нМ метилфарнезоата в среду культивирования, сходны с таковыми при концентрациях пищи, лимитирующих рост и размножение исследованных видов рачков. Результаты исследования подтверждают, что вещества, вовлеченные в регуляцию эндокринной системы и сигнальный путь рецепторов ювенильных гормонов, будут оказывать существенное воздействие на популяции ветвистоусых ракообразных.

Выводы

1. Концентрация ювенильного гормона метилфарнезоата 400 нМ в среде культивирования самок ветвистоусых рачков *Moina brachiata* и *Moina macroscopa* приводит к снижению удельной скорости соматического роста, задержке в отрождении первой кладки, снижению плодовитости, увеличению доли самцов в потомстве, появлению в первой кладке покоящихся яиц.

2. Изменения в исследованных параметрах роста и размножения самок *Moina brachiata* и *Moina macroscopa* при уменьшении концентрации пищи в среде ниже оптимальной носят схожий характер, но менее выражены.

3. Совместное действие метилфарнезоата и низкой концентрации пищи приводит к наиболее сильным изменениям в исследованных параметрах роста и размножения самок исследованных видов. Подобные изменения приведут к резкому снижению скорости роста популяции, что указывает на возможность контролировать численность природных или лабораторных популяций рачков путем вмешательства в сигнальный путь рецепторов ювенильных гормонов.

Список источников

1. Коровчинский Н.М., Котов А.А., Бойкова О.С., Смирнов Н.Н. Ветвистоусые ракообразные (Crustacea: Cladocera) Северной Евразии. Т. I. М. : Товарищество научных изданий КМК, 2021. 481 с.
2. Alekseev V.R. Diapause in crustaceans: peculiarities of induction // Diapause in Aquatic Invertebrates Theory and Human Use / eds. by V.R. Alekseev, B. De Stasio, J.J. Gilbert. Springer, Dordrecht, 2007. PP. 29–63.
3. Смирнов Н.Н. Современное состояние и перспективы исследований физиологии ветвистоусых ракообразных (Cladocera, Crustacea) // Зоологический журнал. 2016. № 7. С. 788–804.
4. Алексеев В.Р. Физиологические и молекулярно-генетические основы механизма биологического покоя у водных беспозвоночных // Онтогенез. 2010. № 2. С. 83–93.
5. LeBlanc G.A., Medlock E.K. Males on demand: the environmental–neuro–endocrine control of male sex determination in daphnids // FEBS Journal. 2015. № 21. PP. 4080–4093.

6. Toyota K., Miyakawa H., Hiruta C., Furuta K., Ogino Y., Shinoda T., Tatarazako N., Miyagawa S., Shaw J.R., Iguchi T. Methyl farnesoate synthesis is necessary for the environmental sex determination in the water flea *Daphnia pulex* // Journal of Insect Physiology. 2015. Vol. 80. PP. 22–30.
7. Suppa A., Gorbi G., Marková S., Buschini A., Rossi V. Transgenerational effects of methyl farnesoate on *Daphnia pulex* clones: Male and ephippia production and expression of genes involved in sex determination // Freshwater Biology. 2021. № 2. PP. 374–390.
8. Jordão R., Garreta E., Campos B., Lemos M.F., Soares A.M., Tauler R., Barata C. Compounds altering fat storage in *Daphnia magna*. // Science of the Total Environment. 2016. Vol. 545. PP. 127–136.
9. Заdereев Е.С., Губанов В.Г., Егоров И.В. Влияние концентрации пищи и воды скопления на репродуктивные параметры самок *Moina macroscopa* (Crustacea: Cladocera). // Журнал общей биологии. 1998. № 1. С. 45–57.
10. Lopatina T.S., Zadereev E.S. The effect of food concentration on the juvenile somatic growth rate of body length, fecundity and the production of resting eggs by *Moina brachiata* (Crustacea: Cladocera) single females // Журнал Сибирского федерального университета. Серия: Биология. 2012. № 4. С. 427–438.
11. Zadereev E.S., Lopatina T.S. The induction of diapause in *Moina* by species-specific chemical cues. // Aquatic Ecology. 2007. Vol. 41. PP. 255–261.
12. Olmstead A.W., LeBlanc G.A. 2002. The juvenoid hormone methyl farnesoate is a sex determinant in the crustacean *Daphnia magna* // Journal of Experimental Zoology. 2002. Vol. 293. PP. 736–739.
13. Galimov Y., Walser B., Haag C.R. Frequency and inheritance of non-male producing clones in *Daphnia magna*: evolution towards sex specialization in a cyclical parthenogen? // Journal of Evolutionary Biology. 2011. № 7. PP. 1572–1583.
14. Волкова Е.Н., Заdereев Е.С. Влияние метилфарнезоата на смену способа размножения у самок *Moina macroscopa* (Cladocera) // Доклады Академии наук. 2012. № 4. С. 450–453.
15. Лопатина Т.С., Бобровская Н.П., Оськина Н.А., Заdereев Е.С. Сравнительное исследование токсического воздействия никеля и кадмия на активные и покоящиеся стадии ветвистоусого рачка *Moina macroscopa* // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. 2017. Т. 10, № 3. С. 358–372. doi: 10.17516/1997-1389-0031
16. Лопатина Т.С. Межвидовые различия в реакции на действие пищевой обеспеченности и продуктов жизнедеятельности как основа для совместного обитания двух видов ветвистоусых ракообразных *Moina macroscopa* и *Moina brachiata* : дис. ... канд. биол. наук. Красноярск, 2013. 164 с.
17. Banta A.M., Brown L.A. Control of sex in Cladocera. III. Localization of the critical period for control of sex // Proceedings of the National Academy of Sciences. 1929. № 2. PP. 71–81.
18. Toyota K., Miyakawa H., Yamaguchi K., Shigenobu S., Ogino Y., Tatarazako N., Miyagawa S., Iguchi T. NMDA receptor activation upstream of methyl farnesoate signaling for short day-induced male offspring production in the water flea, *Daphnia pulex* // BMC Genomics. 2015. Vol. 16. P. 186.
19. Miyakawa H., Toyota K., Hirakawa I., Ogino Y., Miyagawa S., Oda S., Tatarazako N., Miura T., Colbourne J.K., Iguchi T. A mutation in the receptor Methoprene-tolerant alters juvenile hormone response in insects and crustaceans // Nature communications. 2013. № 1. PP. 1–7.
20. Галимов Я.Р. Изменчивость признаков, связанных с половым размножением и диапаузой, у планктонного ракообразного *Daphnia magna* straus (Crustacea Cladocera) : автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2016. 22 с.
21. Чугунов В.К. Внутрипопуляционная стимуляция изменения онтогенеза у *Moina macroscopa* (Cladocera, Moinidae) // Доклады Академии наук. 2009. № 1. С. 139–141.

22. Safranek L., Cymborowski B., Williams C.M. Effects of juvenile-hormone on ecdysone-dependent development in the tobacco hornworm // *Biological Bulletin*, 1980. Vol. 158. PP. 248–256.
23. Gliwicz Z.M., Wrzosek D. Predation-mediated coexistence of large- and small-bodied *Daphnia* at different food levels. // *American Naturalist*. 2008. Vol. 172. PP. 358–374.
24. Oda Y., Nakamura H., Tokishita S., Mano H., Chang K.H., Sakamoto M. Phenotypic changes in *Daphnia pulex* under oxygen deficiency, resource limitation and predation risk // *Ecological Research*. 2021. № 3. PP. 533–544.

References

1. Korovchinskiy NM, Kotov AA, Boykova OS, Smirnov NN. *Vetvistousye rakoobraznye* (Crustacea: Cladocera) Severnoy Evrazii. [Cladocera of the North Eurasia]. Vol. 1. Moscow: Tovarishestvo nauchnykh izdaniy KMK Publ., 2021. 481 p. In Russian
2. Alekseev VR. Diapause in crustaceans: peculiarities of induction. In: *Diapause in Aquatic Invertebrates Theory and Human Use*. Alekseev VR, De Stasio B, Gilbert JJ. (Eds.) Springer, Dordrecht, 2007. pp. 29–63.
3. Smirnov NN. The recent state and prospects of studying the Cladocera (Crustacea) physiology. *Zoologicheskii zhurnal*. 2016;7:788–804. In Russian, English summary
4. Alekseev VR. Physiological and Molecular Biological Mechanisms Underlying Diapause in Aquatic Invertebrates. *Russian Journal of Developmental Biology*. 2010;41(2):83–93. doi: [10.1134/S1062360410020013](https://doi.org/10.1134/S1062360410020013). In Russian, English summary
5. LeBlanc GA, Medlock EK. Males on demand: the environmental–neuro-endocrine control of male sex determination in daphnids. *FEBS Journal*. 2015;21:4080–4093. doi: [10.1111/febs.13393](https://doi.org/10.1111/febs.13393)
6. Toyota K, Miyakawa H, Hiruta C, Furuta K, Ogino Y, Shinoda T, Tatarazako N, Miyagawa S, Shaw JR, Iguchi T. Methyl farnesoate synthesis is necessary for the environmental sex determination in the water flea *Daphnia pulex*. *Journal of Insect Physiology*. 2015;80:22–30. doi: [10.1016/j.jinsphys.2015.02.002](https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2015.02.002)
7. Suppa A, Gorbi G, Marková S, Buschini A, Rossi V. Transgenerational effects of methyl farnesoate on *Daphnia pulex* clones: Male and ehippia production and expression of genes involved in sex determination. *Freshwater Biology*. 2021;2:374–390. doi: [10.1111/fwb.13644](https://doi.org/10.1111/fwb.13644)
8. Jordão R, Garreta E, Campos B, Lemos MF, Soares AM, Tauler R, Barata C. Compounds altering fat storage in *Daphnia magna*. *Science of the Total Environment*. 2016;545:127–136. doi: [10.1016/j.scitotenv.2015.12.097](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.12.097)
9. Zadereev ES, Gubanov VG, Egorov IV. The influence of food concentration and "water of aggregation" on the reproductive parameters of *Moina macrocopa* (Crustacea: Cladocera) females. *Zhurnal Obshchey Biologii*. 1998;59(1):45–57. In Russian, English summary
10. Lopatina TS, Zadereev ES. The effect of food concentration on the juvenile somatic growth rate of body length, fecundity and the production of resting eggs by *Moina brachiata* (Crustacea: Cladocera) single females. *Journal of Siberian Federal University. Biology*. 2012;5(4):427–438.
11. Zadereev ES, Lopatina TS. The induction of diapause in *Moina* by species-specific chemical cues. *Aquatic Ecology*. 2007;41:255–261. doi: [10.1007/s10452-006-9062-2](https://doi.org/10.1007/s10452-006-9062-2)
12. Olmstead AW, LeBlanc GA. 2002. The juvenoid hormone methyl farnesoate is a sex determinant in the crustacean *Daphnia magna*. *Journal of Experimental Zoology*. 2002;293:736–739. doi: [10.1002/jez.10162](https://doi.org/10.1002/jez.10162)
13. Galimov Y, Walser B, Haag, CR. Frequency and inheritance of non-male producing clones in *Daphnia magna*: evolution towards sex specialization in a cyclical parthenogen? *Journal of Evolutionary Biology*. 2011;7:1572–1583. doi: [10.1111/j.1420-9101.2011.02288.x](https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2011.02288.x)
14. Volkova EN, Zadereev ES. Effect of Methyl Farnesoate on the Change of the Reproduction Mode in *Moina macrocopa* (Cladocera). *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2012;447:282–285.

15. Lopatina TS, Bobrovskaya NP, Oskina NA, Zadereev ES. Comparative Study of the Toxic Effect of Cadmium and Nickel on the Active and Resting Stages of Cladoceran *Moina macrocopa*. *Journal of Siberian Federal University. Biology*. 2017;10(3):358-372. doi: [10.17516/1997-1389-0031](https://doi.org/10.17516/1997-1389-0031) In Russian, English summary
16. Lopatina TS. Mezhhvidovye razlichiya v reaktsii na deystvie pishchevoy obespechennosti i produktov zhiznedeystel'nosti kak osnova dlya sovmnestnogo obitaniya dvukh vidov vetvistousykh rakoobraznykh *Moina macrocopa* i *Moina brachiata* [Interspecific differences in the response to the effects of food supply and waste products as the basis for the cohabitation of two species of cladoceran crustaceans *Moina macrocopa* and *Moina brachiata*. CandSci. Dissertation, Hydrobiology]. Krasnoyarsk: Siberian Federal University Publ., 2013. 164 p. In Russian.
17. Banta AM, Brown LA. Control of sex in Cladocera. III. Localization of the critical period for control of sex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1929;2:71-81.
18. Toyota K, Miyakawa H, Yamaguchi K, Shigenobu S, Ogino Y, Tatarazako N, Miyagawa S, Iguchi T. NMDA receptor activation upstream of methyl farnesoate signaling for short day-induced male offspring production in the water flea, *Daphnia pulex*. *BMC Genom*. 2015;16:186. doi: [10.1186/s12864-015-1392-9](https://doi.org/10.1186/s12864-015-1392-9)
19. Miyakawa H, Toyota K, Hirakawa I, Ogino Y, Miyagawa S, Oda S, Tatarazako N, Miura T, Colbourne JK, Iguchi T. A mutation in the receptor Methoprene-tolerant alters juvenile hormone response in insects and crustaceans. *Nature communications*. 2013;1:1-7. doi: [10.1038/ncomms2868](https://doi.org/10.1038/ncomms2868)
20. Galimov YR. Izmenchivost' priznakov, svyazannykh s polovym razmnozheniem i diapauzoj, u planktonnogo rakoobraznogo *Daphnia magna* straus (Crustacea Cladocera) [Variability of characters associated with sexual reproduction and diapause in the planktonic crustacean *Daphnia magna* straus (Crustacea Cladocera)] [[CandSci. Dissertation Abstract, Hydrobiology]. Moscow: Koltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences Publ., 2016. 22 p. In Russian
21. Tchougounov VK. A pheromone-induced developmental switch in *Moina macrocopa* (Cladocera, Moinidae): the "hunger!" signal forms the dauer stage. *Doklady Biological Sciences*. 2009;425(1):125-127.
22. Saffranek L, Cymborowski B, Williams CM. Effects of juvenile-hormone on ecdysone-dependent development in the tobacco hornworm. *Biological Bulletin*. 1980;158:248-256. doi: [10.2307/1540934](https://doi.org/10.2307/1540934)
23. Gliwicz ZM, Wrzosek D. Predation-mediated coexistence of large- and small-bodied *Daphnia* at different food levels. *American Naturalist*. 2008;172:358-374. doi: [10.1086/589890](https://doi.org/10.1086/589890)
24. Oda Y, Nakamura H, Tokishita S, Mano H, Chang KH, Sakamoto M. 2021. Phenotypic changes in *Daphnia pulex* under oxygen deficiency, resource limitation and predation risk. *Ecological Research*. 2021;3:533-544. doi: [10.1111/1440-1703.12216](https://doi.org/10.1111/1440-1703.12216)

Информация об авторах:

Волкова Елена Николаевна – инженер кафедры биофизики, Сибирский федеральный университет (Красноярск, Россия).

E-mail: volkovaan2008@mail.ru

Задереев Егор Сергеевич – канд. биол. наук, доцент, в.н.с. лаборатории биофизики экосистем Института биофизики СО РАН, Красноярский научный центр СО РАН (Красноярск, Россия); доцент кафедры биофизики Института фундаментальной биологии и биотехнологии, Сибирский федеральный университет (Красноярск, Россия).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2366-8604>

E-mail: egor@ibp.ru

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about the authors:

Elena N. Volkova, Engineer of the Biophysical Chair, Institute of Fundamental Biology and Biotechnology, Siberian Federal University (Krasnoyarsk, Russia).

E-mail: volkovaan2008@mail.ru

Egor S. Zadereev, Cand.Sci. (Biol.), associate professor at the Biophysical Chair, Institute of Fundamental Biology and Biotechnology, Siberian Federal University (Krasnoyarsk, Russian Federation); leading research scientist at the Laboratory of Biophysics of Ecosystems, Institute of Biophysics, Krasnoyarsk Research Center SB RAS (Krasnoyarsk, Russia).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2366-8604>

E-mail: egor@ibp.ru

The Authors declare no conflict of interest.

*Статья поступила в редакцию 05.07.2023;
одобрена после рецензирования 13.09.2023; принята к публикации 03.10.2023.*

*The article was submitted 05.07.2023;
approved after reviewing 13.09.2023; accepted for publication 03.10.2023.*