

ТИРЕОИДНЫЕ ГОРМОНЫ В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ КАМБАЛ (PLEURONECTIFORMES)

© 2020 г. Н. Е. Бойко

Азово-Черноморский филиал Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии (АзНИИРХ), г. Ростов-на Дону, 344002

E-mail: natalia.boyko@inbox.ru

Поступила в редакцию 4.09.2020 г.

У камбал (отряд Pleuronectiformes), личиночное развитие обеспечивается относительно низкими, по сравнению с периодом метаморфоза, концентрациями тиреоидных гормонов в организме, на уровне их количества в эмбриональный период. Показан стимулирующий эффект этих гормонов на дифференцировку кишечного эпителия и активность пищеварительных ферментов, а также ключевые параметры развития личинок рыб, в том числе, выживаемость. Обсуждается значение и способы воздействия тиреоидных гормонов, содержащихся в объектах питания камбал — микроводорослях и зоопланктоне с высоким содержанием органического йода, предположительно, в виде йодтирозинов.

Ключевые слова: камбалы, Pleuronectiformes, личиночное развитие, микроводоросли, живые корма, тиреоидные гормоны, кишечник, выживаемость

ВВЕДЕНИЕ

Камбалообразные (Pleuronectiformes) — многочисленный отряд (около 500 видов) с ярко выраженными особенностями морфологии, сложным циклом развития и широким ареалом. Камбалы являются одними из самых ценных объектов промысла и искусственного разведения. В марикультуре стран Северо-Американского континента и Европы широко представлены атлантический палтус *Hypoglossus hypoglossus*, морской язык *Solea solea* и тюрбо *Scophthalmus maximus*, в юго-восточной Азии — ложный палтус или паралихт *Paralichthys olivaceus*. Потенциальным объектом промышленной марикультуры на юге России является близкий к тюрбо (Nielsen, 1986) черноморский калкан *Scophthalmus maeoticus*, биотехнология разведения которого создавалась в течение длительного периода и постоянно совершенствуется (Битюкова и др., 1978; Маслова, Бурлаченко, 1997; Основные ре-

зультаты..., 2012; Туркулова и др., 2013; Ханайченко и др., 2015).

При выращивании камбал, как и других объектов аквакультуры, одной из основных проблем является качество потомства, которое в начальный период развития, в основном, определяется показателями выживаемости и роста. В раннем онтогенезе у камбал отмечается несколько периодов, характеризующихся снижением выживаемости. До начала активного питания, причиной, как правило, является неудовлетворительное качество (неполноценность) исходного материала — производителей и икры (Маслова, 2013), явление, широко известное в аквакультуре при использовании методов стимуляции созревания рыб. С переходом к активному питанию снижение выживаемости обусловлено внешними и внутренними причинами, связанными с условиями содержания рыб и особенностями личиночного развития (метаморфоз). В этот период личинки кам-

бал нуждаются в биорегуляторах и факторах роста в пропорциях, соответствующих данному этапу развития, а также в химическом и санитарном качестве воды и корма (Гирасов и др., 2018; Маслова, 2013).

В ихтиологии и экологии «критический» период подразумевает отрезок раннего онтогенеза рыб, когда наблюдается наибольшая смертность (Hjort, 1926). У калкана и тюрбо после начала питания, на 15–17 дни после вылупления смертность может достигать 85–95% (Маслова, 2013; Туркулова и др., 2013; Padrós et al. 1993; Şahin, 2001), в то время как создание благоприятных условий в этот период позволяет личинкам успешно пройти фазы начального развития, включая метаморфоз (Koven, 2003). Метаморфоз в условиях рыбоводных хозяйств также обозначается как критический период (Şahin, 2001), хотя в естественных условиях обитания морфологические и физиологические изменения камбал в это время, видимо, не ведут к повышению смертности (Geffen et al., 2007).

С точки зрения физиологии концепция критического периода предполагает, что на этих стадиях, в большей степени, чем на других, физиологические процессы в организме зависят от внешних факторов (Browman, 1989). За исключением воздействий, выходящих за пределы адаптивных возможностей организма, факторы среды влияют на развитие не непосредственно, а через изменение гормонального статуса (Бойко, Рудницкая, 2014; Torres-Núñez et al., 2014). Универсальными биорегуляторами у организмов различных систематических групп, в том числе беспозвоночных, в постэмбриональном периоде являются тиреоидные гормоны. Они также выполняют сигнальную функцию в водных экосистемах (Heyland, Moroz, 2006). Ведущая роль тиреоидных гормонов в метаморфозе камбаловых рыб изучена во множестве аспектов. В данной работе этот период онтогенеза не является предметом специального обсуждения, мы ограничиваемся кратким описанием изменений со ссылкой

на ряд обзоров. Гораздо меньше известно о влиянии тиреоидных гормонов на личиночное развитие рыб до начала метаморфоза, когда желтковые ресурсы истощены и личинки переходят к смешанному, а затем к активному питанию. Мы сделали попытку обобщить литературные данные, характеризующие динамику и функции тиреоидных гормонов в ранний период онтогенеза камбаловых рыб с привлечением современных материалов исследований тюрбо и калкана, а также других видов морских рыб. Также мы приводим имеющиеся пока еще фрагментарные сведения о наличии гормонов или их предшественников в объектах питания личинок. Обсуждается вопрос, может ли «внешний» гормональный фактор влиять на события начального периода развития камбал.

Общие представления о механизме действия тиреоидных гормонов

Тиреоидные гормоны — это липофильные аминокислоты, содержащие йод, который поглощается и концентрируется в фолликулах щитовидной железы и вместе с тирозином используется для синтеза тироксина (Т₄). В рамках геномного механизма действия Т₄ рассматривается как прогормон, а основным лигандом ядерных тиреоидных рецепторов (TR) является трийодтиронин (Т₃), образующийся из Т₄ с помощью тканевой дейодиназы (Eales, 1985). Костистые рыбы обладают как минимум двумя изоформами тиреоидных рецепторов — TR α и TR β , а у камбаловых рыб имеются еще дополнительные копии. Лигандированные рецепторы присоединяются к гормонотвечающему элементу ДНК в виде мономеров или гомодимеров, но в основном, в качестве гетеродимеров с ретиноидными X-рецепторами (RXR) и проявляют свой эффект посредством включения и выключения генов. Современные модели также предполагают активирующее действие кортикостероидов на уровне дейодиназ, тиреоидных бета-рецепторов и ранних генов-мишеней (Pittman et al., 2013).

Негеномное действие тиреоидных гормонов заключается в активации сигнального каскада реакций с участием киназ, при этом клеточные и физиологические реакции генерируются в течение нескольких секунд или минут, а биоактивность Т4 может быть выше, чем Т3 (Hulbert, 2000). Началу негеномным эффектам дают рецепторы плазматических мембран с участием интегрина, важного фактора сигнальной трансдукции, которые присутствуют практически во всех клетках позвоночных. Небольшое число молекул гормона без проникновения в ядро может регулировать клеточные процессы, например, посредством тиреоидных альфа-рецепторов (TR α) активировать пролиферацию (Arcos et al., 2011), регулировать баланс между пролиферацией и дифференцировкой (Sirakov et al., 2015).

Динамика тиреоидных гормонов и их рецепторов в раннем онтогенезе камбал

Тиреоидные гормоны в числе прочих биорегуляторов, содержатся в желтке яйцеклеток. В эмбриональный период у морских рыб, в целом, доминирует Т3 (Kim, Brown, 1997), у тюрбо эти показатели находятся почти на одном уровне (Tong et al., 2017), но после вылупления Т4 превышает количество его метаболита. Начальное развитие тюрбо обеспечивается концентрациями гормона щитовидной железы, сопоставимыми с их содержанием в эмбриональный период. Так, Т3 до вылупления составляет 220,6 нг/г, Т4—150 нг/г. В течение первых полутора суток после вылупления объем желтка снижается больше, чем наполовину, резервы Т3 уменьшаются почти на 40%, но при этом изменений уровня Т4 почти не происходит (Ibid.), что может свидетельствовать либо о синтезе Т4 щитовидной железой личинок с остатками желтка, либо об избирательности в использовании гормонов на данном этапе развития. Известно, что у вылупившихся личинок паралихта ось гипофиз/щитовидная железа уже функциональна (Jesus et al., 1991), хотя ткань железы содержит

мало фолликулов (Miwa, Inui, 1987). Отрицательная обратная связь щитовидной железы и гипофиза у камбал устанавливается несколько позднее, но до начала метаморфоза (Manchado et al., 2008). У изученных объектов (в основном, паралихта, соли и тюрбо) развитие в первые недели после завершения резорбции желтка обеспечивается стабильно низкими концентрациями Т4, а Т3 и TR β находятся на границе определения, но при этом отмечены высокие показатели мессенджеров тиреоидных альфа-рецепторов (рисунок а, б). Содержание тиреотропина и дейодиназа (D2) у камбал в этот период незначительно (на рисунке не показано). Во время метаморфоза, как полагают, в результате снижения тормозной функции гипоталамуса и активации тиреоидной оси кортиколиберином в организме рыб увеличивается содержание тиреоидных гормонов, при этом отрицательная обратная связь между тиреоидным статусом и системой дейодирования устанавливается на более высоком базовом уровне (Campinho, 2019). В период кульминации метаморфоза содержание тиреоидных гормонов достигает максимальных значений (Yamano, Miwa, 1998; Yamano, 2005). Особенностью тюрбо, в отличие от паралихта, является наличие высоких показателей TR α , а не TR β на стадии развития, соответствующей кульминации метаморфоза (Marchand et al., 2004) (см. рисунок).

Влияние тиреоидных гормонов на некоторые параметры развития камбал

Влияние на рост. Интенсивность роста личинок на ранних стадиях развития является важной характеристикой их качества. Личинки камбал, быстро растущие до метаморфоза, способны успешнее пройти и завершить его по сравнению с медленно растущими сверстниками (Næss, Lie, 1998). В раннем онтогенезе рост личинок имеет нелинейный характер и зависит от наличия источников питания и уровня морфологического развития. У калкана быстрое увеличение размеров в первые двое суток после

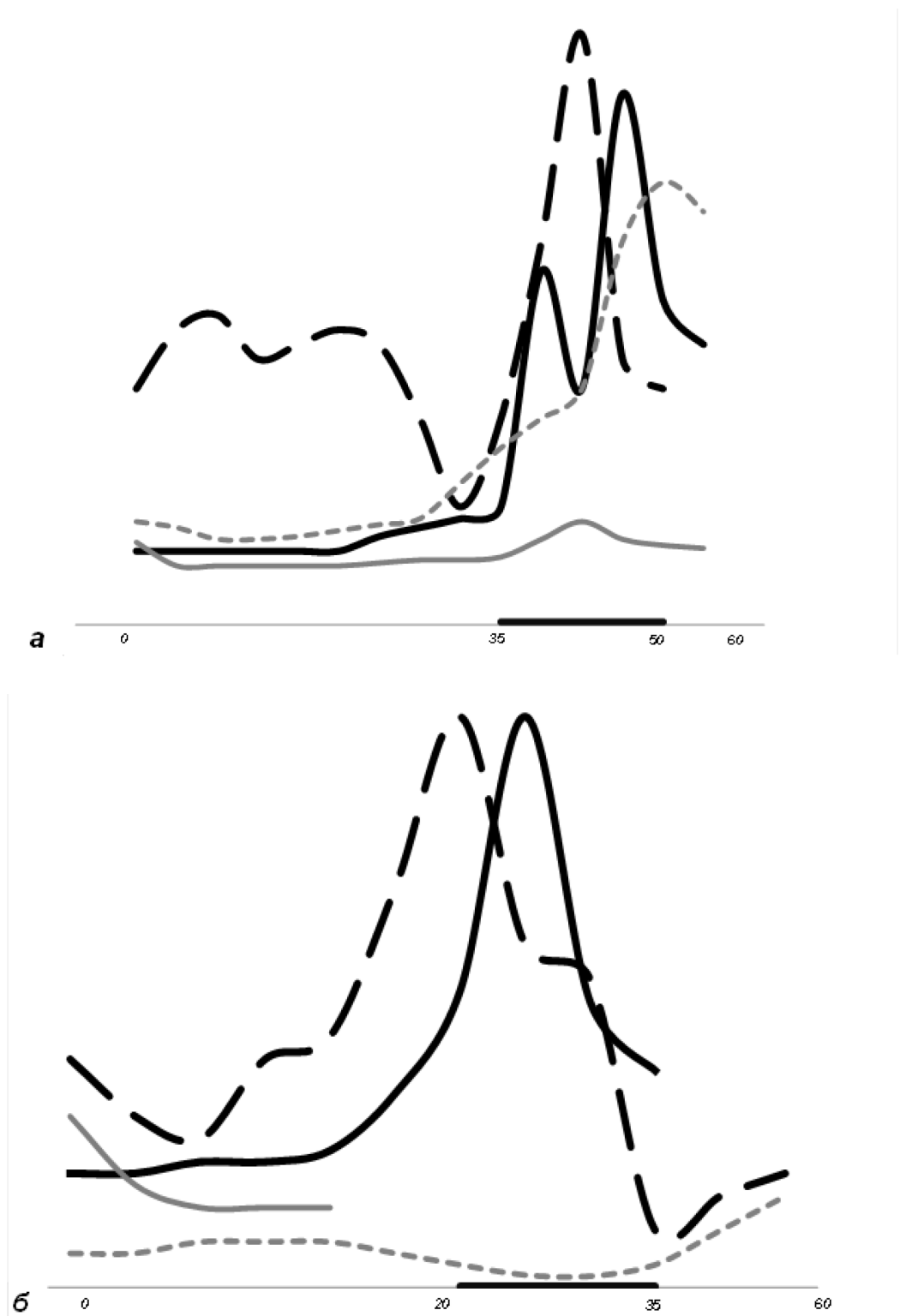


Рис. Схематическое изображение профилей гормонов щитовидной железы и тиреоидных рецепторов личинок камбал в раннем онтогенезе. Тироксин (Т4) — темная сплошная линия; TRα — темный пунктир; трийодтиронин (Т3) — светлая сплошная линия, TRβ — светлый пунктир. По горизонтали — дни после вылупления, период кульминации метаморфоза подчеркнут.

а) паралихт *Paralichthys olivaceus*. По: Yamano, Miwa, 1998; Yamano, 2005.

б) тюрбо *Scophthalmus macoticus*. По: Marchand et al, 2004; Meng et. al., 2016; Tong et al., 2017.

вылупления с завершением периода эндогенного питания сменяется торможением роста, очевидно, вследствие истощения желтковых ресурсов. Интенсивность роста постепенно увеличивается с переходом на внешние источники энергии (8–9 сут.), совпадает с активизацией гипофизарно-тиреоидной оси и усилением потребления кислорода (Moteki et al., 2001; Finn, Rønnestad, 2003).

Активизация роста личинок происходит по мере развития и созревания органов пищеварения, количества потребляемого корма и его состава, в том числе, потребления и эффективного переноса молекул фосфолипидов, особенно на ранних стадиях развития, когда способность к их синтезу в энтероцитах невысока (Coutteau et al., 1997). Критически важным для процессов пролиферации и линейного роста является наличие в составе фосфолипидов высоконенасыщенных жирных кислот, которые определяют все мембранно-связанные процессы, в том числе, зависимость от тиреоидных гормонов пролиферацию клеток (Hulbert, 2000). Влияние тиреоидных гормонов на показатели роста рыб зависит также от уровня зрелости других механизмов, включенных в регуляцию роста. Рост, в том числе, рост костной, хрящевой и мышечной тканей, контролирует зависимость от тиреоидных гормонов двухступенчатая система гормон роста/факторы роста. У рыб, как и у высших позвоночных, в ткани печени тиреоидные гормоны стимулируют продукцию инсулиноподобных факторов роста (IGF), а в гипофизе при участии глюкокортикоидов влияют на выработку гормона роста. У тюрбо в начальный период развития высокая удельная скорость роста обеспечивается IGF-II, мессенджеры которых преобладают на фоне низких значений T4, а их количество нечувствительно к тиреостатикам. С наступлением метаморфоза уровень IGF-II снижается и доминирует IGF-I, содержание которого коррелирует с ростом T4 (Meng et al., 2016).

Метаморфоз. В наиболее общем виде метаморфоз представляет собой необратимый переход организма от личиночной

к ювенильной форме. У камбал в процессе метаморфоза происходит поворот тела на 90° по отношению к грунту, связанный с асимметричными перестройками вестибулярного аппарата, в том числе, его представительства в ЦНС под влиянием гормонов (Schreiber, 2013). В период метаморфоза гормонозависимые изменения затрагивают мышцы, клетки крови, кишечник (Gomes et al., 2015). Метаморфоз заключается в пролиферации одних клеток и деградации других посредством различных форм клеточной гибели и последующих изменений условий жизни (оседания или расселения). Многие физиологические и молекулярные механизмы метаморфоза, ранее обнаруженные у амфибий, являются общими для метаморфоза камбал (Tata, 1998), у которых он также полностью контролируется тиреоидными гормонами. При естественном метаморфозе тканевая чувствительность к гормону изменяется в соответствии с программой развития и связана с экспрессией разных изоформ тиреоидных рецепторов (Yamano, 2005; Power et al., 2008). Высокая чувствительность к гормонам в локальном участке головы будущей слепой стороны обеспечивает асимметричное развитие кости и пролиферацию клеток подкожного слоя, «толкающих» глаз на противоположную сторону, которая затем пигментируется (Campinho, 2019). Стабильно высокие концентрации тиреоидных гормонов, используемые в экспериментальных исследованиях, в целом, сокращают время прохождения фаз метаморфоза, но, как правило, приводят к изменению внешнего облика особей в результате гетерохронии (Yamano, 2005).

Пищеварительная функция. Дифференцировка желудочно-кишечного тракта имеет решающее значение, поскольку от этого органа зависит доступность питательных веществ, при переходе к новым условиям обитания. В 90-е годы Спикер (Specker, 1988) была предложена концепция преадаптации, согласно которой эволюционно древняя функция тиреоидных гормонов связана с питанием и состоит в подготовке пищевари-

тельной системы водных организмов (позвоночных и беспозвоночных) к новым условиям жизни и источникам энергии. У амфибий в период метаморфоза строго под контролем тиреоидных гормонов реконструируется желудочно-кишечный тракт, включая апоптоз и пролиферацию клеток (Ishizuya-Oka, Shi, 2005). Также установлены гены, определяющие в том числе, созревание кишечного эпителия, поддержание его гомеостаза, развитие экзокринной функции поджелудочной железы и желудка (Gomes et al., 2015).

Первые доказательства того, что тиреоидная система регулирует развитие системы пищеварения рыб, были получены на преметаморфозных личинках паралихта, у которых обработка Т4 вызывала преждевременное развитие пищеварительных желез, в то время как тиреостатик задерживал их развитие (Miwa et al., 1992). Позднее были выявлены транскрипты ТГ-зависимых генов маркеров функциональной зрелости желудка (протонного насоса и пепсиногена) (Gomes et al., 2015).

О влиянии тиреоидных гормонов на пищеварительные структуры ранних личинок рыб, в том числе, камбал, имеется сравнительно мало данных. Известно, что тиреоидные гормоны ускоряют пролиферативные процессы в кишечнике и стратификацию кишечного эпителия, в том числе, появление специализированных железистых клеток, вырабатывающих гликопротеины слизи (Khalil et al., 2011). Слизь, выделяемая в пищеварительном тракте, является защитным барьером против повреждающих факторов, в том числе, инфекций (Bagloli et al., 1997). У тюрбо появление продуцирующих слизь клеток в кишечнике отнесено к началу экзогенного питания (Segner et al., 1994). У личинок рыб с высоким тиреоидным статусом в энтероцитах не наблюдается липидных включений (признаков дисбаланса внутриклеточного пищеварения и синтеза липопротеинов), приводящих к разрушению клеток (Khalil et al., 2011).

Известно, что у камбал до метаморфоза пепсиновый протеолиз отсутствует

(у личинок тюрбо до 22 дня после вылупления) (Ueberschär, 2006), хотя мессенджеры пепсина в небольших количествах выявляются гораздо раньше, во время перехода на экзогенное питание, на 9-е сутки (Tong et al., 2017). В ранний период пищевые белки гидролизуются, преимущественно, панкреатическими ферментами — сериновыми протеазами (трипсином и химотрипсином) (Segner et al., 1994). Уровень активности этих ферментов контролируется наличием корма, хотя не установлено, происходит ли это непосредственно или при участии нервных и гормональных механизмов. Трипсин является ведущим протеолитическим ферментом, играющим ключевую роль в активации других панкреатических ферментов в раннем онтогенезе рыб. У тюрбо транскрипты трипсина и фермента углеводного обмена (амилазы) появляются в желтковый период, достигая самых высоких значений на стадии экзогенного питания (Tong et al., 2017). Высокий уровень активности ферментов сохраняется до начала метаморфоза. Известно, что трипсиноподобные протеазы и гликозидазы личинок и молоди рыб чувствительны к тиреоидным гормонам (Кузьмина и др. 2010), причем, наблюдается повышение ферментативной активности даже после кратковременного гормонального воздействия (Kim, Brown, 2002), а обработанные гормонами личинки имеют повышенную выживаемость (Kim, Brown 1997).

Тиреоидные гормоны и их предшественники в объектах питания личинок камбал

Микроводоросли. В водных экосистемах первое звено пищевой цепи составляют бактерии и микроводоросли, одноклеточные организмы, способные синтезировать органические молекулы с использованием солнечной энергии. В аквакультуре микроводоросли используются в качестве источника пищи для различных фильтраторов (моллюсков), при производстве и насыщении питательными веществами кормового зоопланктона, а также при выращивании личинок

Таблица. Компоненты синтеза и метаболизма тиреоидных гормонов в составе живого корма личинок морских рыб

Показатели	Коловратки, выращ. на <i>Isochrysis galbana</i>	Артемия, наупл. обогащ. (Selco и Algamac)	Копеподы, наупл.	«Дикий» зоопланктон		Литературные источники
				мелкий	крупный	
Фенилаланин (нмоль/л)	1,6	0,8–1,0	1,5–2,0	2,6	-	Solbakken et al., 2005
Тирозин (нмоль/л)	5,2	3,5–7,3	2,5–3,1	3,9	-	Hamre et al., 2013
Йод (мг/ кг сухой массы)	1,1–3,2	0,5–4,6	35–50	45–350	19	Penglas et al., 2013
Селен (мг/ кг сухой массы)	0,08–2,1	1,4–2,7	3,0–5,0	2,9	4,1	Karlsen et al., 2015

морских рыб в соответствии с технологией «зеленой воды» (Ханайченко и др., 2000; Ølie et al., 1997; Şahin, 2001, Moteki et al., 2001). Питательная ценность водорослей заключается в высоком содержании белка, достигающего половины сухой массы, углеводов и полиненасыщенных жирных кислот в составе липидов. Показатели роста объектов марикультуры часто выше при использовании смеси микроводорослей, очевидно, вследствие компенсации дефицита отдельных компонентов (Conceição et al., 2010). При этом для каждого из направлений аквакультуры характерно использование определенных видов микроводорослей. Водоросли также содержат ряд микроэлементов, в том числе йод, выполняющий роль антиоксиданта. У некоторых водорослей фракция йода находится в составе тиреоидных гормонов или подобных им молекул.

Гормональный состав микроводорослей изучен лишь у небольшого числа видов. Определение тироксина у трех видов водорослей, стандартизированных по содержанию белка, показало, что в составе *Isochrysis galbana* (*Tisochrysis lutea*) и *Dunaliella* sp. содержание тироксина, примерно, одинаково

(200–250 мг/дл), в то время как криптофит *Rhodomonas lens* содержит в 10 раз меньше гормона (Heyland, Moroz, 2006). В составе *Isochrysis galbana*, помимо тироксина, были также определены ферменты, контролирующие его синтез и метаболизм (галопероксидаза и дейодиназа) (Javier et al., 2018). Варьирование гормонального состава, как полагают, может частично объяснять неодинаковые перспективы использования разных видов микроводорослей в марикультуре (Heyland, Moroz, 2006).

Микроводоросли поступают в кишечник рыб с момента открытия рта вместе с водой. Метаболиты водорослей обладают антибактериальным действием, а использование технологии «зеленой воды», позволяет снизить бактериальную нагрузку на среду и риск инфекционных заболеваний личинок (Способ снижения численности... 2015; Rocha et al., 2008). Также не исключаются и другие механизмы полезных эффектов. Показано, что личинки сибаса *Dicentrarchus labrax* в присутствии *Isochrysis galbana* растут быстрее и имеют более высокую выживаемость, при этом кишечные ферменты (трипсин и другие гидролазы) в онтогене-

зе выявляются раньше и их уровень выше, чем у рыб, питающихся насыщенными этими же водорослями коловратками (Cahu et al., 1998). Очевидно, микроводоросли, поставляя питательные вещества, в том числе гормоны, непосредственно личинкам, способствуют сохранению их качеств в неизменном виде (Makridis, Olsen, 1999).

Зоопланктон. В природных условиях основным рационом ранних личинок морских рыб является зоопланктон, в том числе личиночные формы моллюсков, науплиальные и копеподитные формы веслоногих ракообразных. Усваивая «дикий» зоопланктон личинки тюрбо способны успешно пройти все фазы развития. В естественной среде обитания метаморфоз не является причиной смертности рыб и не влияет на размер пополнения, несмотря на глубокие перестройки в этот период (Geffen et al., 2007).

Использование природного зоопланктона в марикультуре камбал существует пока только на уровне научно-исследовательских разработок (Основные результаты ..., 2012; Гиригосов и др., 2018), но не в промышленных масштабах, где более широко используются коловратки *Brachionus plicatilis*, а также брахиоподы *Artemia* sp. Изучение состава коммерчески выгодных живых кормов и их сравнение с природным зоопланктоном показало несоответствие их химического состава по многим параметрам (Hamre et al., 2008; Hamre et al., 2013; Karlsen et al., 2015). В связи с этим методика культивирования коловраток и артемии, помимо фазы производства, включает фазу «обогащения» комбинацией белков, липидов с определенным набором полиненасыщенных жирных кислот и витаминов (Olsen, 2004). В последние годы также стали уделять больше внимания минеральному составу пищевых объектов. В особенности, это относится к содержанию микроэлементов, участвующих в обмене гормонов щитовидной железы — селену и йоду. При дефиците селена у рыб в первую очередь нарушается работа селенопротеина глутатионпероксидазы GPx, которая играет ключевую роль в защите фолликулов щитовидной

железы от оксидативного стресса при синтезе тиреоидных гормонов. Селен входит в состав дейодиназ, контролирующих уровень ТЗ, содержание которого выше всего в период метаморфоза. Количество селена у взрослых рачков может более чем в 30 раз превышать содержание его у коловраток (таблица). Все же изучение влияния дефицита селена на развитие камбал находится в начальной стадии. В частности, по данным Рибейро с соавторами (Ribeiro et al., 2012) корм с добавлением селена личинкам соли в период метаморфоза не гарантирует успешного прохождения этого этапа развития, а потребность в селене, вероятно, должна быть удовлетворена в более ранний период жизни личинок.

Личинки рыб в марикультуре, по-видимому, не должны испытывать недостатка в аминокислотных предшественниках тиреоидных гормонов (фенилаланин и тирозин), поскольку по этим параметрам виды кормов существенно не различаются (см. таблицу). В то же время копеподы способны концентрировать значительные количества йода, чего не наблюдается у коловраток и артемии. У коловраток содержание йода более чем в 10 раз меньше, чем у копепод и до 100 раз меньше, чем в «диком» зоопланктоне. Особенности обмена коловраток также не позволяют им удерживать йод после обогащения: через 18 часов остается всего 3% от первоначального количества (Srivastava et al., 2012). Незначительное количество йода содержится в составе науплий артемии, для которых он является токсичным (Solbakken et al. 2005; Hamre et al., 2013).

Какие формы йода требуются личинкам морских рыб? Ранние личинки камбал способны в высоких количествах поглощать йод из воды с помощью жаберной системы, хотя она еще недостаточно развита в этот период (Mogen et al., 2008). Все же у личинок рыб при определенных условиях может возникнуть недостаток йода, что выражается в задержке роста, незавершенном метаморфозе на фоне гиперплазии щитовидной железы и снижения уровня Т4 в организме (Ribeiro et al. 2012). Как установлено, дефи-

цит йода связан с выращиванием в системах оборотного водоснабжения и происходит вследствие обеззараживания воды озонированием, а также накопления в воде нитратов, блокирующих поглощение организмом рыб растворенного неорганического йода (Morris et al., 2011). В этих условиях обогащение кормов йодом приводит к нормализации тиреоидной функции и, соответственно, развития и роста личинок. В системах же с непрерывным водообменом обогащение йодом живых кормов не дает положительно-го эффекта. Личинки палтуса (Moren et al., 2006; Hamre et al., 2013), солен (Mourad, Ismail, 2018) и трески (Penglase et al., 2013), которых кормили обогащенной йодом артемией, имели повышенные концентрации йода в организме, однако при этом темпы роста и развития не менялись. Интересно, что «насыщение» артемии йодом до уровней, сопоставимых с таковыми у копепод (около 130 мкг/г), приводило к патологиям щитовидной железы, характерным для токсикоза (Ibid.). В то же время йод, содержащийся в высоких количествах в морском зоопланктоне, совершенно не является токсичным для личинок рыб, что предполагает иные формы его связывания у этих беспозвоночных.

Возможные пути влияния «внешних» тиреоидных гормонов на ранних личинок камбал

В настоящее время нет точных сведений о содержании тиреоидных гормонов у копепод, также не известен уровень этих гормонов у коловраток. В то же время доказано, что морские беспозвоночные, в том числе моллюски и ракообразные, нуждаются в фитопланктоне не только как в источнике питательных веществ, но и морфогенов. Морфогенами являются йодтирозины, которые *накапливаются* в организме беспозвоночных в процессе питания и используются для завершения морфологических преобразований (метаморфоза) при расселении (Heyland, Moroz, 2006; Taylor, Heyland, 2017). Организм рыб также может быть адаптирован к гормонам пищи (микроводо-

рослей и природного зоопланктона) в период, когда щитовидная железа еще недостаточно развита и продуцирует собственные гормоны в незначительном количестве.

Для передачи гормонального сигнала имеет значение источник гормона (эндогенный или полученный из пищи). Для переноса в клетку «внешних» гормонов требуются трансмембранные транспортеры либо эти гормоны связываются с мембранными рецепторами (Tagawa, Brown, 2001; Taylor, Heyland, 2017). Поскольку у камбал в ранний период развития, по крайней мере, у изученных видов, в личиночной ткани преобладает TR α , то вероятно взаимодействие тиреоидных гормонов с мембранами и не прямое действие на геном. Кальций-независимая синтаза, обеспечивающая синтез оксида азота, антибактериального и цитотоксического фактора в разных тканях, стимулируется тиреоидными гормонами исключительно за счет негеномных механизмов (Arcos et al., 2011). С участием тиреоидных гормонов и TR α контролируется баланс пролиферации и дифференцировки клеток кишечного эпителия позвоночных (Sirakov et al., 2015).

Переход от эндогенного к экзогенному питанию является критическим периодом, когда несоответствующий потребностям рыб состав корма может сделать пищеварительную систему уязвимой в отношении повреждающих воздействий.

Кишечник личинок, не имеющих морфологических и функциональных возможностей питаться, после исчерпания эндогенных запасов, постепенно подвергается дегенеративным изменениям. Деструкция в кишечнике тюрбо может предшествовать бактериальной инфекции (Padrós et al. 1993). Гормоны щитовидной железы облегчают стратификацию кишечного эпителия; могут вызывать ответы в иммунных клетках, присутствующих в кишечнике в этот период, например, в моноцитах, макрофагах (Chantanachookhin et al., 1991), воздействуя на некоторые процессы, связанные с воспалением (такие как хемотаксис, фагоцитоз,

образование активных форм кислорода и производство цитокинов).

Возможные последствия дефицита тиреоидных гормонов на ранних стадиях развития камбал могут быть суммированы следующим образом. Тиреоидные гормоны, которые являются не только биорегуляторами эндогенного происхождения, но и поступают личинкам рыб в составе пищи, могут действовать локально в кишечнике, влияя на созревание структур органа, от которого зависит доступность питательных веществ и дальнейшее развитие организма. В противоположность этому, дефицит «пищевых» гормонов может повысить уязвимость кишечных структур в отношении повреждающих факторов. Гормоны, поступающие с пищей в количествах, адекватных потребностям личинок, могут дополнять запас «собственных» гормонов щитовидной железы и способствовать ее развитию и установлению нормального для данного периода онтогенеза тиреоидного статуса, хотя этот вопрос в настоящее время у рыб также не изучен.

В заключение следует отметить, что подавляющее большинство представленных материалов — результаты исследований, выполненных на таких видах, как палтус, тюрбо, а также камбаловых, обитающих в дальневосточном регионе, в то время как черноморский калкан, имеющий ряд особенностей биологии, пока не является в этом плане приоритетным объектом. В отношении последнего должны быть предоставлены большие возможности для физиолого-биохимических исследований ранних стадий жизненного цикла. Изучение гормонального состава кормовых объектов, характерных для региона, оценка действия гормональных факторов на параметры развития личинок на организменном и тканевом уровнях с учетом вклада «внешних» тиреоидных гормонов необходимы для дальнейшего выявления причин и механизмов морфофизиологической изменчивости и совершенствования методов культивирования этих ценных объектов аквакультуры и промысла.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Битюкова Ю.Е., Ткаченко Н.К., Чепурнов А.В. К вопросу о морфофизиологических показателях эффективности перевода личинок камбалы-калкана Чёрного моря на внешнее питание при искусственном разведении // Тез. докл. 2-й Всесоюз. конф. по биологии шельфа. 1978. Ч. 1. Киев: Наукова думка. С. 22—23.

Бойко Н.Е., Рудницкая О.А. Физиологические механизмы адаптивных функций в раннем онтогенезе осетровых рыб / Ростов-на-Дону: ФГУП «АзНИИРХ», 2014. 224 с.

Гиразосов В.Е., Ханайченко А.Н., Аганесова Л.О. и др. Некоторые особенности биотехнологии культивирования черноморского калкана и перспективы ее применения в практическом рыбоводстве / Водные биоресурсы и аквакультура юга России. Краснодар, 17—19 мая 2018. С. 318—323.

Кузьмина В.В., Лёвин Б.А., Вэй Л.В. и др. Влияние тиреоидных гормонов на динамику активности ферментов слизистой оболочки кишечника молоди плотвы *Rutilus rutilus* // Вопр. ихтиологии. 2010. Т. 50. № 3. С. 405—410.

Маслова О.Н. Разведение и товарное выращивание черноморской камбалы-калкана *Scophthalmus maeoticus*: проблемы и методы // Тр. ВНИРО. 2013. Т. 150. С. 35—49.

Маслова О.Н., Бурлаченко И.В. Способ искусственного разведения черноморской камбалы-калкана. Патент № 2073432 RU C16A01K61/00. № 93003040/13, заявл. 18.01.93, опубл. 20.02.97. Бюл. № 1.

Основные результаты многолетней деятельности и перспективы исследований ЮгНИРО в области развития морской аквакультуры в Украине / В.Н. Туркулова [и др.] // Тр. ЮгНИРО. 2012. Т. 50. С. 46—80.

Способ снижения численности бактерий-оппортунистов в средах выращивания личинок морских рыб и их кормов / Т.В. Рауэн [и др.]. Патент 2614604, РФ. МПК А01К 61/00; заявитель и патентообладатель ФГБУН «Институт морских

биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН». № 2015151334, заявл. 30.11.2015; опублик. 28.03.2017. Бюл. № 10.

Туркулова В.Н., Булли Л.И., Новоселова Н.В. и др. Динамика роста и выживаемости молоди черноморского калкана (*Psetta maecotica maecotica* Pallas) при годичном цикле выращивания в условиях бассейнового хозяйства научно-исследовательской базы ЮгНИРО «Заветное» / Современные рыбохозяйственные и экологические проблемы Азово-Черноморского региона. Материалы VIII Междунар. конф. Керчь, ЮгНИРО, 2013. С. 120–128.

Ханайченко А.М., Гиригосов В.Е., Ельников Д.В. и др. Способ интенсивного выращивания мальков камбалы калкан. Патент: № 2548106 RU C1 A01K61/00. № 2014150176/93, заявл. 30.10.2014, опублик. 10.04.2015. Бюл. № 10.

Ханайченко А.М., Планас М.И., Карнеро Д.Г. Рост, выживаемость и химический состав личинок тюрбо (*Scophthalmus maximus* L.) при интенсивном выращивании в «чистой» и «зеленой» воде // Экология моря. 2000. Вып. 50. С. 78–82.

Arcos M.L.B., Sterle H.A., Paulazo M.A. et al. Cooperative nongenomic and genomic actions on thyroid hormone mediated-modulation of T cell proliferation involve up-regulation of thyroid hormone receptor and inducible nitric oxide synthase expression // J. Cell. Physiol. 2011. V. 226. № 12. P. 3208–3218.

Baglolo C.J., Murray H.M., Goff G.P., et al. Ontogeny of the digestive tract during larval development of the Yellow tail flounder: A light microscopy and mucous histochemical study // J. Fish Biol. 1997. V. 51. P. 120–134.

Browman H.I. Embryology, ethology and ecology of ontogenetic critical periods in fish // Brain Behav. Evol. 1989. V. 34. № 1. P. 5–12.

Cahu C.L., Infante Z., Péres A. et al. Algal addition in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae rearing: effect on digestive enzymes // Aquaculture. 1998. V. 161. № 1–4. P. 479–489.

Campinho M.A. Teleost metamorphosis: The role of thyroid hormone // Front. Endocrinol. (Lausanne). 2019. V. 10. P. 383. DOI: 10.3389/fendo.2019.00383.

Chantanachookhin C., Seikai T., Tanaka M. Comparative study of the ontogeny of the lymphoid organs in three species of marine fish // Aquaculture. 1991. V. 99. P. 143–155.

Conceição L.E.C., Yúfera M., Makridis P. et al. Live feeds for early stages of fish rearing // Aquatic. Res. 2010. V. 41. № 5. P. 613–640.

Coutteau P., Geurden I., Camara M.R. et al. Review on the dietary effects of phospholipids in fish and crustacean larviculture // Aquaculture. 1997. V. 155. P. 149–164.

Eales J.G. The peripheral metabolism of thyroid hormones and regulation of thyroidal status in poikilotherms // Can. J. Zool. 1985. V. 63. P. 1217–1231.

Finn R.N., Rønnestad I. The effect of acute changes in temperature and light on the aerobic metabolism of embryos and yolk-sac larvae of turbot (*Scophthalmus maximus*) // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 2003. V. 60. № 11. P. 1324–1331.

Geffen A.J., van der Veer H.W., Nash R.D.M. The cost of metamorphosis in flatfishes // J. Sea Res. 2007. V. 58. P. 35–45.

Gomes A.S., Alves R.N., Rønnestad I. et al. Orchestrating change: The thyroid hormones and GI-tract development in flatfish metamorphosis // Gen. Comp. Endocrinol. 2015. V. 220. P. 2–12.

Hamre K., Srivastava A., Rønnestad I. et al. Several micronutrients in the rotifer *Brachionus* sp. may not fulfil the nutritional requirements of marine fish larvae // Aquaculture Nutrition. 2008. № 14. P. 51–60.

Hamre K., Yúfera M., Rønnestad I. et al. Fish larval nutrition and feed formulation: knowledge gaps and bottlenecks for advances in larval rearing // Reviews in Aquaculture. 2013. № 5 (Suppl. 1). P. 26–58.

Heyland A., Moroz L.L. Cross-kingdom hormonal signaling: an insight from thyroid hormone functions in marine larvae // J. Exp. Biol. 2006. V. 208. P. 4355–4361.

- Hjort J. Fluctuations in the great fisheries of Northern Europe viewed in the light of the biological research // J. Cons. Perm. Intern. Explor. Mer. 1926. V. 1. P. 5–38.
- Hulbert A.J. Thyroid hormones and their effects: a new perspective // Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. 2000. V. 75. P. 519–631.
- Ishizuya-Oka A., Shi Y.B. Molecular mechanisms for thyroid hormone-induced remodeling in the amphibian digestive tract: a model for studying organ regeneration // Dev. Growth Differ. 2005. № 47. P. 601–607.
- Javier L.H., Benzekri H., Gut M. et al. Characterization of iodine-related molecular processes in the marine microalga *Tisochrysis lutea* (Haptophyta) // Front. Mar. Sci. 2018. № 5. DOI: 10.3389/fmars.2018.00134.
- Jesus de E.G., Hirano T., Inui Y. Changes in cortisol and thyroid hormone concentrations during early development and metamorphosis in the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* // Gen. Comp. Endocrinol. 1991. V. 82. P. 369–376.
- Karlsen Ø., van der Meeren T., Rønnestad I. et al. Copepods enhance nutritional status, growth and development in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) larvae — can we identify the underlying factors? // Peer J. 2015. № 3: e902. DOI: 10.7717/peerj.902.
- Khalil N.A., Khalaf Allah H.M.M., Mousa M.A. The effect of maternal thyroxine injection on growth, survival and development of the digestive system of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* larvae // Adv. Biosci. Biotechnol. 2011. V. 2. № 5. P. 320–329.
- Kim B.G., Brown C.L. Interaction of cortisol and thyroid hormone in the larval development of pacific threadfin // Amer. Zool. 1997. V. 37. P. 470–481.
- Kim B.G., Brown C.L. Hormonal manipulation of digestive enzyme ontogeny in marine larval fishes — effects on digestive enzymes // UJNR Technical Report. 2002. № 28. P. 47–55.
- Koven W. Key factors influencing juvenile quality in mariculture: a review // Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh. 2003. V. 55. P. 283–297.
- Makridis P., Olsen Y. Protein depletion of the rotifer *Brachionus plicatilis* during starvation // Aquaculture. 1999. V. 174. P. 343–353.
- Manchado M., Infante C., Asensio E. et al. Thyroid hormones down-regulate thyrotropin [beta] subunit and thyroglobulin during metamorphosis in the flatfish Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup) // Gen. Comp. Endocrinol. 2008. V. 155. № 4. P. 447–455.
- Marchand O., Duffraisse M., Saffi G.T.R., et al. Molecular cloning and developmental expression patterns of thyroid hormone receptors and T3 target genes in the turbot (*Scophthalmus maximus*) during post-embryonic development // Gen. Comp. Endocrinol. 2004. V. 135. № 3. P. 345–357.
- Meng Z., Hu P., Lei J. et al. Expression of insulin-like growth factors at mRNA levels during the metamorphic development of turbot (*Scophthalmus maximus*) // J. Comp. Endocrinol. 2016. V. 235. № 1. P. 11–17.
- Miwa S., Inui Y. Histological changes in the pituitary-thyroid axis during spontaneous and artificially-induced metamorphosis of larva of the flounder *Paralichthys olivaceus* // Cell Tissue Res. 1987. V. 249. P. 117–123.
- Miwa S., Yamano K., Inui Y. Thyroid hormone stimulates gastric development in flounder larvae during metamorphosis // J. Exp. Zool. 1992. V. 261. P. 424–430.
- Moren M., Opstad I., van Der Meeren T. et al. Iodine enrichment of Artemia and enhanced levels of iodine in Atlantic halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus* L.) fed the enriched Artemia // Aquacult. Nutrition. 2006. V. 12. № 2. P. 97–102.
- Moren M., Sloth J.J., Hamre K. Uptake of iodide from water in Atlantic halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus* L.) // Aquaculture. 2008. V. 285. P. 174–178.
- Morris A.L., Hamlin H.J., Francis-Floyd L.J. et al. Nitrate-induced goiter in captive whitespotted bamboo sharks *Chiloscyllium plagiosum* // J. Aquatic Animal Health. 2011. V. 23. № 2. P. 92–99.
- Moteki M., Yoseda K., Şahin T. et al. Transition from endogenous to exogenous nutri-

- tional sources in larval Black Sea turbot *Psetta maxima* // Fish. Sci. 2001. V. 67. P. 571–578.
- Mourad M.M., Ismail R.F. Iodine indirect effect on thyroid gland: structure and hormone receptor (TR α) in common sole, *Solea solea* larvae // Int. J. Fish. Aquatic Stud. 2018. V. 6. № 6. P. 26–32.
- Næss T., Lie Ø. A sensitive period for the determination of pigmentation pattern in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L. juveniles: the role of diet // Aquacult. Res. 1998. V. 29. P. 925–934.
- Nielsen J.G. Scophthalmidae. In: Whitehead PJP, Bauchot M-L, Hureau J-C, Nielsen J, Tortonese E (eds). Fishes of the North-Eastern Atlantic and Mediterranean, V. III. UNESCO, Paris, 1986. P. 1287–1293.
- Ølie G., Makridis P., Reitan K.I. et al. Protein and carbon utilization of rotifers (*Brachionus plicatilis*) in first feeding of turbot larvae (*Scophthalmus maximus*) // Aquaculture. 1997. № 153. P. 103–122.
- Olsen Y. Live food technology of cold-water marine fish larvae. In: Kjorsvik E.M., Olsen Y. (eds). Blackwell Publishing, Oxford, UK. Culture of Cold-water Marine Fish. 2004. P. 73–193.
- Padrós F., Minkoff G., Sala R., et al. Histological events throughout the development of turbot, *Scophthalmus maximus* larvae // J. Comp. Pathology. 1993. V. 109. P. 321–334.
- Penglas S., Harboe T., Sæle Ø. et al. Iodine nutrition and toxicity in Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae // Peer J. 2013. № 1: e20; DOI: 10.7717/peerj.20.
- Pittman K., Yufera M., Pavlidis M. et al. Fantastically plastic: fish larvae equipped for new world // Rev. Aquacult. 2013. V. 5. P. 224–267.
- Power D.M., Einarsdóttir I.E., Pittman K. et al. The molecular and endocrine basis of flatfish metamorphosis // Rev. Fish. Sci. 2008. № 16 (S1). P. 93–109.
- Reitan K.I., Rainuzzo J.R., Ølie G. et al. Nutritional effect of algal addition in first-feeding of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) larvae // Aquaculture. 1993. № 118. P. 257–275.
- Ribeiro A.R.A., Ribeiro L., Saele O. et al. Iodine and selenium supplementation increased survival and changed thyroid hormone status in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) larvae reared in a recirculation system // Fish Physiol. Biochem. 2012. V. 38. P. 725–734.
- Rocha R., Ribeiro L., Costa R. et al. Does the presence of microalgae influence fish larvae prey capture? // Aquacult. Res. 2008. № 39. P. 362–369.
- Şahin T. Larval rearing of the black sea turbot, *Scophthalmus maximus* (Linnaeus, 1758) under Laboratory Conditions // Turk. J. Zool. 2001. № 25. P. 447–452.
- Schreiber A.M. Flatfish: An asymmetric perspective on metamorphosis. In Yun-Bo Shi, editor: Current Topics in Developmental Biology, Burlington: Acad. Press, 2013. V. 103. P. 167–194.
- Schreiber A.M., Specker J.L. Metamorphosis in the summer flounder (*Paralichthys dentatus*): influence of stage-specific thyroidal status on larval development and growth // Gen. Comp. Endocrinol. 1998. V. 111. P. 156–166.
- Segner H., Storch V., Reinecke M. et al. The development of functional digestive and metabolic organs in turbot, *Scophthalmus maximus* // Mar. Biol. 1994. V. 119. P. 471–486.
- Sirakov M., Boussouar A., Kress E. et al. The thyroid hormone nuclear receptor TR α 1 controls the Notch signaling pathway and cell fate in murine intestine // Development. 2015. V. 142. P. 2764–2774.
- Solbakken J.S., Berntssen M.H.G., Norberg B. et al. Differential iodine and thyroid hormone levels between Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) larvae fed wild zooplankton or Artemia from first exogenous feeding until post metamorphosis // J. Fish Biol. 2005. V. 61. P. 1345–1362.
- Specker J.L. Preadaptive role of thyroid hormones in larval and juvenile salmon: growth the gut and evolutionary considerations // Amer. Zool. 1988. V. 28. P. 337–349.

- Srivastava A., Hamre K., Stoss J., Nordgreen A. A study on enrichment of the rotifer *Brachionus* «Cayman» with iodine from different sources // *Aquaculture*. 2012. V. 334–337. P. 82–88. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2011.12.025. 53.
- Tagawa M., Brown C.L. Entry of thyroid hormones into tilapia oocytes // *Comp. Biochem. Physiol.* 2001. V. 129. P. 605–611.
- Tata J.R. Amphibian metamorphosis as a model for studying the developmental actions of thyroid hormone // *Cell Res.* 1998. V. 8. № 4. P. 259–272.
- Taylor E., Heyland A. Evolution of thyroid hormone signaling in animals: Non-genomic and genomic modes of action // *Molecular and Cellular Endocrinology*. V. XXX. 2017. P. 1–7.
- Tong X., Yang X., Bao Ch. et al. Ontogeny of the digestive enzymes, thyroid hormones and cortisol in developing embryos and yolk-sac larvae of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) // *Aquaculture*. 2017. V. 479. № 1. P. 704–711.
- Torres-Nuñez E., Cal R., Rotllant J. Phenotypic plasticity during early ontogeny in cultured turbot (*Scophthalmus maximus*): changes in dorsal and anal fin ray counts by water temperature // *J. Appl. Ichth.* 2014. V. 30. № 4. P. 762–766.
- Ueberschär B. Critical times for fish larvae — measurement of tryptic activity in order to assess the nutritional condition of fish larvae from laboratory rearing and from field samples an overview. *Verhandl. Gesellsch. Ichthyol. (GfI)*. 2006. V. 5. P. 193–229.
- Yamano K. The role of thyroid hormone in fish development with reference to aquaculture, review // *JARQ*. 2005. V. 39. № 3. P. 161–168.
- Yamano K., Miwa S. Differential gene expression of thyroid hormone receptor α and β in fish development // *Gen. Comp. Endocrinol.* 1998. V. 109. P. 75–85.

THYROID HORMONES IN THE EARLY ONTOGENESIS OF FLATFISH (PLEURONECTIFORMES)

© 2020 y. N. E. Boyko

Azov-Black Sea Branch of the All-Russian Scientific Research Institute of Fisheries and Oceanography, Rostov-on-Don, 344002

In flatfish (order Pleuronectiformes) the initial development is provided by relatively low concentrations of thyroid hormones in the body compared to the period of metamorphosis, at the level of their amount in the embryonic period. At the same time, the stimulating effect of these hormones on the differentiation of the intestinal epithelium and the activity of digestive enzymes, as well as key parameters of the development of fish larvae, including survival, has been shown. The significance and methods of exposure to thyroid hormones contained in flatfish food objects — microalgae and zooplankton with a high content of organic iodine, presumably in the form of iodotyrosines — are discussed.

Key words: flatfish, Pleuronectiformes, larval development, microalgae, live food, thyroid hormones, intestines, survival