

УДК 591.1:591.4:591.5

МЕЛАТОНИН И ПОЛОВОЕ СОЗРЕВАНИЕ РЫЖЕЙ (*CLETHRIONOMYS GLAREOLUS*) И КРАСНО-СЕРОЙ (*CLETHRIONOMYS RUFOCANUS*) ПОЛЕВОК В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

© 2019 г. Л. Б. Кравченко¹, *, Н. А. Муралева², **

¹ Томский государственный университет, Томск 634050, Россия

² Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск 630090, Россия

* e-mail: kravchenkolb@mail.ru

** e-mail: myrалева.na@mail.ru

Поступила в редакцию 25.07.2017 г.

После доработки 15.11.2017 г.

Принята к публикации 21.12.2018 г.

Для оценки участия мелатонина в регуляции полового созревания рыжей (*Clethrionomys glareolus*) и красно-серой (*C. rufocanus*) полевков с мая по сентябрь изучали динамику сывороточного мелатонина и сопряженность количества гормона с массой органов генеративной системы на индивидуальном уровне. Количество гормона в крови измеряли в утренние часы (8.00–9.00). В мае и июне гормональный фон оценивали у перезимовавших самцов, изъятых из природы, в августе и сентябре — у двухмесячных сеголеток, выращенных в виварии (самцов и самок). Моделируя различную плотность населения, изучали зависимость количества мелатонина от данного фактора. При отсутствии значимых межвидовых различий выявлен более высокий уровень мелатонина в крови у самцов полевков. Максимальный уровень гормона выявлен у перезимовавших особей обоих видов. У сеголеток количество мелатонина ниже и уменьшается до минимальных значений в сентябре. Обнаружены различия чувствительности видов к повышению плотности населения. У сеголеток рыжей полевки высокая плотность населения в сентябре сопровождается увеличением количества мелатонина в крови. У красно-серой полевки уровень мелатонина не зависит от социальных факторов. Самцы и самки красно-серой полевки демонстрируют положительную корреляцию индивидуальных значений количества мелатонина в крови с массой репродуктивных органов (семенника и матки). У рыжей полевки связь между количеством мелатонина в крови и массой репродуктивных органов не обнаружена. В целом, полученные результаты позволяют предполагать, что у исследуемых видов высокий уровень мелатонина в условиях длинного дня способствует поддержанию функции репродуктивной системы.

Ключевые слова: лесные полевки, мелатонин, половое созревание, социальные условия, *Clethrionomys glareolus*, *Clethrionomys rufocanus*

DOI: 10.1134/S0044513419010136

Сезонность размножения — важная адаптивная особенность животных, позволяющая им осваивать территории с суровым климатом, где пригодный для размножения период ограничен по времени. Прекращение воспроизводства в неблагоприятные сезоны экономит энергетические ресурсы, позволяя перенаправить их на функции, напрямую связанные с выживанием. В качестве сигнального фактора окружающей среды, контролирующего сезонные ритмы репродукции, выступает динамика фотопериода (Штайнлехнер, Пухальский, 1999; Bartness et al., 1993).

Нейрохимическим трансдуктором, превращающим нервные сигналы восприятия света в эндокринный сигнал, является шишковидная железа (Axelrod, 1974). Основным ее гормон, мелатонин,

участвует у млекопитающих в координации циркадных ритмов и отвечает за контроль сезонных ритмов (Hoffmann et al., 1981; Kalsbeek et al., 2000), определяя сезонные различия массы тела, аппетита, шерстного покрова, уровня метаболизма и ряда других физиологических характеристик (Bartness et al., 1993), в том числе репродуктивной функции (Hoffmann, 1973; Brainard et al., 1982; Kennaway, Rowe, 1995; Barrett, Bolborea, 2012). Известно, что эффекты мелатонина имеют противоположную направленность у животных, размножающихся в условиях короткого (short-day (fall) breeders) или длинного (long-day (spring) breeders) дня. К первой группе относятся козы (*Capra hircus*), овцы (*Ovis aries*) и олени (*Cervus elaphus hispanicus*), у которых шишковидная железа и мела-

тонин стимулируют размножение (Schulte et al., 1981; Bittman et al., 1983; Mokhtar et al., 2016). Ко второй группе относятся лошади (*Equus caballus*), куньи и некоторые грызуны, у которых мелатонин, напротив, оказывает супрессивное воздействие на генеративную систему. Подобные эффекты выявлены у джунгарского (*Phodopus sungorus*), сирийского (*Mesocricetus auratus*), белого (*Peromyscus leucopus*) хомячков (Hoffmann, 1973; Goldman et al., 1979; Glass, Knotts, 1987) и лабораторных крыс (*Rattus norvegicus*) (Jarrige et al., 1990; Colmenero et al., 1991). Все эти виды имеют продолжительность жизни в несколько лет, и мелатонин у них обеспечивает ежегодные сезонные изменения активности репродуктивной системы. В то же время существует обширная группа так называемых грызунов “эфемеров”, продолжительность жизни которых составляет от нескольких месяцев до полутора лет. Такие виды участвуют в размножении только 3–4 месяца, принося за это время несколько пометов. Однако, в зависимости от условий среды, эта возможность реализуется либо в год рождения, либо на следующий год (Оленев, 2002). Одним из факторов среды, определяющих выбор траектории их развития, является динамика фотопериода. В частности, показано, что длина светового дня влияет на скорость роста и полового созревания горной (*Microtus montanus*) (Pinter, 1968; Petterborg, 1978) и рыжей (*Clethrionomys glareolus*) полевков (Kruszek, 1986). Вместе с тем, роль мелатонина в регуляции полового созревания таких видов практически не изучена.

В качестве объектов исследования выбраны два вида лесных полевков: рыжая (*Clethrionomys glareolus* Schreb. 1780) и красно-серая (*Clethrionomys rufocanus* Sund. 1846), которые, несмотря на систематическую близость и сходство экологических требований, различаются особенностями процессов воспроизводства. У красно-серой полевки в текущем году приступают к размножению только сеголетки, родившиеся до середины июля (Kaneko et al., 1998; Kravchenko et al., 2012), тогда как у рыжей, в условиях низкой плотности населения, возможно половое созревание особей, родившихся в конце июля и даже в августе (Кравченко и др., 2016). Эти различия могут быть связаны с видовыми особенностями пинеальных механизмов, регулирующих скорость полового созревания, что может найти отражение в различиях сезонной динамики уровня мелатонина.

Таким образом, целью данной работы была оценка роли мелатонина в регуляции полового созревания двух видов лесных полевков. Если предположить участие мелатонина в сезонном подавлении размножения исследуемых видов, можно ожидать следующие результаты: 1 – повышение уровня мелатонина в крови в июле–августе; 2 – более раннее сезонное повышение уровня мелатонина у сеголеток красно-серой полевки; 3 – отрицательную корреляцию уровня мелато-

нина в крови с массой репродуктивных органов. Для проверки данного предположения в настоящей работе изучали динамику количества мелатонина в сыворотке крови у исследуемых видов с мая по сентябрь, а также оценивали сопряженность количества гормона с массой органов генеративной системы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Отлов и содержание животных

В работе использовали зимовавших самцов исследуемых видов, отловленных в окрестностях г. Томска в мае–июне (по 10 особей рыжей и красно-серой полевки) и сеголеток (самцов и самок), родившихся в июне ($n_1 = 27$ и $n_2 = 14$, соответственно, первого и второго видов) и июле ($n_1 = 28$ и $n_2 = 31$) 2014 г. от изъятых из природы беременных самок. Перезимовавших особей в течение двух суток после отлова передерживали в виварии в индивидуальных садках для снятия стресса, связанного с отловом, затем брали кровь для анализа. Беременных самок помещали в виварий, где содержали индивидуально в стандартных пластиковых садках для лабораторных мышей размером $25 \times 40 \times 12$ см при естественных температуре и фотопериоде. В качестве корма для животных использовали овес, яблоки и свежую траву, которые, как и воду, предоставляли без ограничений. Точную дату рождения полевков определяли путем ежедневных утренних проверок (9.00–10.00) садков с беременными самками. Для моделирования различной плотности населения применяли два варианта выращивания. Спустя 20 дней после рождения (это возраст окончания молочного вскармливания и естественного расселения потомков (Тупикова, 1964)) общее число пометов – 21, поделили на две группы, не различающиеся по среднему размеру выводка (тест Манна-Уитни: 13 выводков рыжей полевки ($Z = 0.00$, $n_1 = 6$, $n_2 = 7$, $p = 1.0$) и 8 выводков красно-серой полевки ($Z = 0.58$, $n_1 = 4$, $n_2 = 4$, $p = 0.5$). Особей из первой группы пометов поместили в индивидуальные садки, имитируя низкую плотность населения. Особей из второй группы пометов продолжали содержать в составе выводков совместно с матерями, моделируя высокую плотность. Сеголеток выводили из эксперимента в возрасте 60 дней, соответственно, в августе и сентябре. Возраст изъятия животных был выбран в связи с наличием данных о том, что полевки исследуемых видов в зависимости от сроков рождения и плотности населения достигают половой зрелости в возрасте от одного до двух месяцев (Kravchenko et al., 2016).

При изучении сезонной и возрастной динамики уровня мелатонина выделяли две возрастные группы: “зимовавшие” и “сеголетки” с двумя категориями в каждой в зависимости от сроков взя-

тия пробы. Первая группа имела категории “май” и “июнь”, а вторая — “август” и “сентябрь”.

В качестве показателей полового созревания использовали массу семенника и наличие сперматогенеза у самцов, а также массу матки с яйцниками у самок. Сперматогенез диагностировали по наличию сперматозоидов в мазке из каудальной части эпидидимиса. Половозрелыми считали самцов с массой семенника более 100 мг при наличии активного сперматогенеза (Тупикова, 1964).

Сбор и хранение образцов

Сезонная динамика выявлена для многих характеристик уровня мелатонина: длительности и амплитуды ночного пика, акрофазы, среднего и суммарного количества гормона, выделяемого в течение ночи или суток (Brainard et al., 1982; Garcia et al., 2003; Todini et al., 2011). Практически все измеряемые параметры меняются в годовом цикле согласованно: круглосуточное измерение мелатонина с четырехчасовым интервалом выявило однонаправленные достоверные сезонные изменения уровня гормона в крови практически в каждом временном интервале у человека (Touitou et al., 1984; Asplund et al., 1995) и пальмовой белки (*Funambulus pennanti*) (Gupta et al., 2013). В связи с этим, в нашей работе в качестве параметра, характеризующего уровень мелатонина в крови, мы использовали количество этого гормона в утренние часы. Образцы крови получали при декапитации животных, которую проводили с 8.00 до 9.00. В сентябре, в связи с недостаточностью естественного освещения, во время работ использовали красный свет. Все процедуры с животными осуществляли в соответствии с требованиями Комиссии по биоэтике Биологического института Национального исследовательского Томского государственного университета, согласованными с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123 от 18 марта 1986 г.). Пробирки с кровью немедленно помещали в холод (4°C) на 2 ч, затем образцы центрифугировали при 3000 об/мин в течение 20 мин при 4°C. Полученную сыворотку хранили до проведения анализа при -25°C. Всего было получено 120 образцов сыворотки, соответственно 65 — рыжей и 55 — красно-серой полевки.

Определение уровня мелатонина

Определение уровня мелатонина в сыворотке осуществляли с помощью иммуноферментного анализа с использованием наборов реагентов Melatonin (Rat) ELISA Kit (#40-371-25005; GenWay Biotech Inc., USA), который проводили в соответствии с инструкциями производителя. Согласно характеристикам производителя кросс-реактивность для 5-Methoxy-Tryptophole составляет 1.2%, N-Acetyl-Serotonin — 1.2%, 5-Methoxy-

Tryptamine — 2.5%, для остальных субстратов < 0.01%. Коэффициент вариаций для оценки внутри планшета при концентрации образца 8.8–151.7 пг/мл составляет 3.0–11.4%, между планшетами (при 5.6–134.3 пг/мл), соответственно 6.4–19.3%. Стандарты наносили на каждый планшет. Мелкие размеры лесных полевок обусловили недостаточный для анализа объем получаемых проб. В связи с этим 150 мкл сыворотки доводили до необходимого объема физраствором с последующим пересчетом результатов. Количественный анализ проводили с помощью измерения оптической плотности на Мультискан ТЕКАН (GmbH, Австрия).

Статистическая обработка

Полученные данные имели нормальное распределение (Kolmogorov-Smirnov test, $d = 0.05$, $p > 0.2$), поэтому для анализа использовали параметрическую статистику. Степень влияния анализируемых факторов оценивали с помощью однофакторного и многофакторного дисперсионного анализа ANOVA. Сравнение средних проводили LSD-тестом (метод наименьшей достоверной разницы). Различия в размерах выводов изучали с помощью теста Манн-Уитни. Уровень корреляции показателей оценивали линейным (r) коэффициентом Пирсона.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Видовые и половые различия уровня мелатонина

Средневидовые значения мелатонина в крови составляли 60.3 ± 2.7 пг/мл ($n = 65$) у рыжей полевки и 54.9 ± 3.0 пг/мл ($n = 55$) — у красно-серой ($p = 0.18$, LSD-тест). Пределы изменчивости этого показателя среди перезимовавших животных были весьма сходны: 50.9–118.0 пг/мл ($n = 10$) у рыжей полевки и 58.6–116.5 пг/мл ($n = 10$) у красно-серой. У сеголеток размах вариаций уровня гормона был выше, чем у зимовавших и также был близок у обоих видов: 22.9–93.8 пг/мл и 20.5–77.8 пг/мл соответственно, для самцов ($n = 30$) и самок ($n = 20$) рыжей полевки и 24.0–75.9 пг/мл и 24.7–73.8 пг/мл — для самцов ($n = 28$) и самок ($n = 17$) красно-серой. Согласно результатам двухфакторного ANOVA (факторы “вид” и “пол особи”), количество мелатонина в крови полевок зависело от обоих факторов ($F_{(1,116)} = 4.5$, $p < 0.04$; $F_{(1,116)} = 16.3$, $p < 0.001$, соответственно). Однако совместное влияние на рассматриваемый показатель вида и пола особи показано не было ($F_{(1,116)} = 2.2$, $p = 0.14$). Средние значения составляли 64.2 ± 3.3 пг/мл ($n = 40$) и 54.0 ± 4.1 пг/мл ($n = 25$), соответственно для самцов и самок рыжей полевки ($p = 0.054$, LSD-тест), 61.7 ± 3.4 пг/мл ($n = 38$) и 39.6 ± 5.0 пг/мл ($n = 17$) — для самцов и самок красно-серой ($p < 0.001$, LSD-тест). В связи с обнаруженными половыми различиями показателя

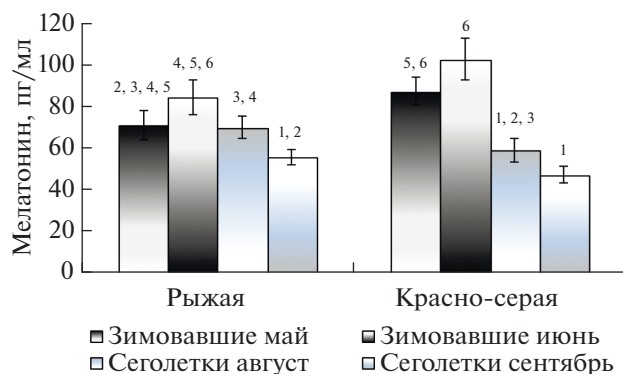


Рис. 1. Сезонная динамика содержания мелатонина в сыворотке крови самцов двух видов лесных полевков. Одинаковыми цифрами обозначены средние, не различающиеся по критерию LSD ($p < 0.05$).

дальнейший анализ проводили отдельно для самцов и самок каждого вида.

Сезонная динамика мелатонина

У самцов исследование количества мелатонина в сыворотке крови двухфакторным дисперсионным анализом (факторы: “вид”, “месяц взятия пробы”) показал, что этот параметр не зависел от вида животных ($F_{(1,70)} = 0.65$, $p = 0.4$), был обусловлен сроками взятия пробы ($F_{(3,70)} = 16.7$, $p < 0.0001$), а также совместным действием рассматриваемых факторов ($F_{(3,70)} = 2.8$, $p < 0.05$). Сезонная динамика рассматриваемого показателя имела, в целом, сходный характер у обоих видов (рис. 1): максимальным уровнем мелатонина отличались перезимовавшие полевки, изъятые в июне, тогда как сеголетки демонстрировали сезонное снижение гормонального фона. В то же время, была заметна определенная видовая специфика: у самцов рыжей полевки достоверное уменьшение уровня мелатонина происходило только в сентябре ($p < 0.01$ и $p < 0.04$, по сравнению с июнем и августом), тогда как все остальные исследованные группы слабо различались между собой. Напротив, у самцов красно-серой полевки перезимовавшие особи, вне зависимости от сроков изъятия, имели более высокий гормональный фон по сравнению с сеголетками, не различающимися по уровню мелатонина между собой. В отличие от самцов, сезонная динамика уровня мелатонина у самок, представленных в исследованиях только сеголетками, не имела видовых различий ($F_{(1,38)} = 1.7$, $p = 0.2$). Количество гормона определялось месяцем взятия пробы ($F_{(1,38)} = 17.7$, $p < 0.0002$) и не зависело от совместного действия этих факторов ($F_{(1,38)} = 2.0$, $p = 0.17$). Рыжие и красно-серые полевки, выведенные из эксперимента в августе, не отличаясь по уровню гормона между собой ($p = 0.95$) и от самцов своего вида, изъятых в этом же месяце ($p = 0.08$ и $p = 0.99$,

соответственно, рыжие и красно-серые полевки), имели более высокие показатели по сравнению с сентябрьскими особями ($p < 0.03$, $p < 0.001$). Значимые межполовые различия показателя были выявлены только в сентябре у красно-серой полевки, когда самки этого вида отличались от самцов более низкой концентрацией мелатонина ($p < 0.01$).

Сопряженность количества мелатонина с репродуктивными показателями

Влияние уровня сывороточного мелатонина на половое созревание оценивали только у самцов. Так как все перезимовавшие самцы, изъятые из природных условий в мае и июне, были половозрелыми, анализ ограничили сеголетками, родившимися в виварии. Согласно результатам однофакторного ANOVA (фактор — “половое созревание”), у рыжей полевки количество мелатонина в крови не зависело от полового созревания особей ($F_{(1,28)} = 0.14$, $p = 0.7$), а группы половозрелых и неполовозрелых самцов не различались по средним значениям показателя (59.3 ± 4.1 , $n = 20$ и 61.9 ± 5.8 , $n = 10$, соответственно; $p = 0.7$, LSD-тест). У красно-серой полевки связь полового созревания и количества гормона обнаружилась на уровне тенденции ($F_{(1,26)} = 3.7$, $p < 0.06$), причем половозрелые особи отличались более высоким уровнем мелатонина (58.5 ± 4.8 , $n = 9$; $p < 0.06$, LSD-тест) от неполовозрелых (47.3 ± 3.3 , $n = 19$).

Корреляционный анализ, проведенный с учетом зимовавших особей и сеголеток, показал, что и у самцов ($r = 0.19$, $n = 40$, $p > 0.05$) и у самок ($r = -0.23$, $n = 25$, $p > 0.05$) рыжей полевки сопряженность индивидуальных значений массы репродуктивных органов с количеством мелатонина в крови не наблюдалась. Напротив, самцы и самки красно-серой полевки демонстрировали значимую положительную связь этих показателей ($r = 0.61$, $n = 38$, $p < 0.05$ и $r = 0.63$, $n = 17$, $p < 0.05$ соответственно).

Для проверки выявленных зависимостей провели оценку связи индивидуальных значений рассматриваемых показателей в отдельные месяцы. Такой анализ не выявил значимой корреляции количества мелатонина в крови с массой репродуктивных органов ни у одного из видов: ($r = -0.45 \dots -0.04$, $p > 0.05$; $r = -0.47 \dots -0.19$, $p > 0.05$), соответственно для самцов и самок рыжей полевки и ($r = -0.53 \dots -0.21$, $p > 0.05$; $r = -0.13 \dots -0.62$, $p > 0.05$) — для самцов и самок красно-серой полевки.

Влияние условий содержания

Эффекты социального окружения на уровень мелатонина в крови оценивали у самцов и самок сеголеток, выращенных в виварии. Согласно ре-

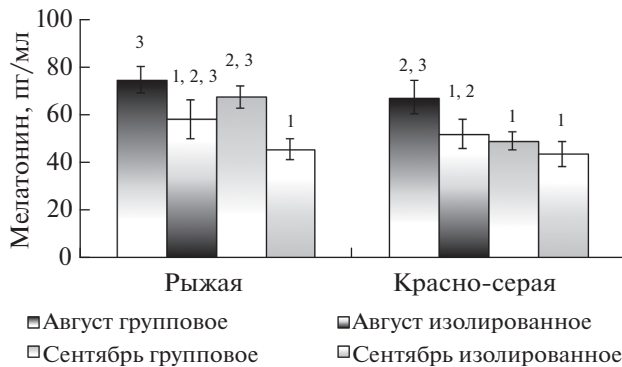


Рис. 2. Сезонная динамика количества мелатонина в крови самцов сеголеток двух видов полевков при различных условиях содержания. Одинаковыми цифрами обозначены средние, не различающиеся по критерию LSD ($p < 0.05$).

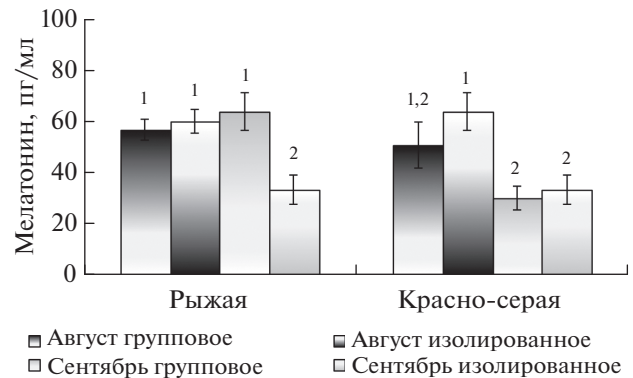


Рис. 3. Сезонная динамика количества мелатонина в крови самок сеголеток двух видов полевков при различных условиях содержания. Одинаковыми цифрами обозначены средние, не различающиеся по критерию LSD ($p < 0.05$).

зультатам трехфакторного ANOVA (“вид”, “условия содержания”, “месяц взятия пробы”), количество гормона в крови самцов полевков зависело от всех этих факторов ($F_{(1,50)} = 4.3, p < 0.04$; $F_{(1,50)} = 13.3, p < 0.001$ и $F_{(1,50)} = 8.1, p < 0.007$, соответственно), однако совместное их влияние выявлено не было ($F_{(1,50)} = 0.9, p = 0.3$). Детальный анализ показал, что условия содержания имели значение только для особей рыжей полевки (рис. 2). Их воздействие на уровне тенденции ($p = 0.09$) обнаруживалось в августе и достигало уровня достоверности в сентябре ($p < 0.001$). Напротив, у самцов красно-серой полевки социальные условия не оказывали влияния на уровень мелатонина, определяя в то же время характер сезонной динамики этого показателя. В частности, сезонное снижение гормонального фона наблюдалось только в условиях группового содержания ($p < 0.03$).

У самок исследуемых видов ANOVA с факторами “вид”, “условия содержания” и “месяц взятия пробы” выявил значимое влияние на гормональный фон последнего фактора ($F_{(1,34)} = 8.1, p < 0.007$) и, на уровне тенденции, влияние вида ($F_{(1,34)} = 4.0, p = 0.054$). Действие социального окружения без учета других факторов было не достоверно ($F_{(1,34)} = 0.4, p = 0.5$), однако этот фактор определял количество мелатонина совместно с видом животных ($F_{(1,34)} = 6.2, p < 0.02$) и сроками их изъятия ($F_{(1,34)} = 6.0, p < 0.02$). Вместе с тем, эффект совокупного действия всех трех рассматриваемых факторов был не значим ($F_{(1,34)} = 1.8, p = 0.2$). Так же как у самцов, влияние условий содержания обнаруживалось только у рыжей полевки: в сентябре групповое содержание сопровождалось ростом уровня мелатонина в крови самок этого вида (рис. 3). Сезонная динамика гормонального фона у самок рыжей и красно-серой полевки зависела от социального окружения. У рыжей полевки осеннее снижение количества мелатонина происходило только в условиях низкой социальной

плотности ($p < 0.001$), тогда как у красно-серой полевки сезонное уменьшение показателя ($p < 0.002$) наблюдалось как в условиях низкой плотности, так и, на уровне тенденции ($p = 0.052$), при содержании животных в выводковых группах.

ОБСУЖДЕНИЕ

Видовые и половые различия уровня мелатонина

Определяясь сезонной и суточной динамикой фотопериода, количество вырабатываемого эпифизом мелатонина варьирует в широких пределах как внутри одного вида, так и между видами. В ряде случаев систематически близкие виды характеризуются достаточно сходными значениями гормонального фона. В частности, муфлон и овца-меринос, демонстрируют одинаковую среднюю амплитуду мелатонина (Santiago-Moreno et al., 2005). В то же время в других исследованиях, обнаружены значимые различия ночного уровня гормона у двух пород домашней козы (Todini et al., 2011). Исследования, проведенные на 36 линиях лабораторной мыши (*Mus musculus*), показали, что количество мелатонина, которое определяется генетическими особенностями, может сильно изменяться даже внутри одного вида. Максимальные ночные значения гормона, содержащегося в пинеальной железе, различаются между разными линиями в 6 раз, составляя от 24 до 150 пг/железу (Goto et al., 1989). В то же время, столь разные виды, как лабораторная крыса (*Rattus norvegicus*) линии Вистар (Kawashima et al., 1984) и джунгарский хомяк (Lerchl, Schlatt, 1992) характеризуются сходными значениями ночного максимума мелатонина, отличаясь при этом в несколько раз по этому показателю от пальмовой белки (*Funambulus pennanti*) (Gupta et al., 2013).

Выявленная нами большая внутривидовая вариабельность уровня мелатонина в крови двух видов лесных полевков говорит о значительном гене-

тическом разнообразии их популяций по этому показателю, высокая степень наследственной обусловленности которого была показана неоднократно (Goto et al., 1989; Gomez-Brunet et al., 2002; Gomez-Brunet et al., 2010). Обращает на себя внимание разный уровень изменчивости этого показателя у перезимовавших животных и сеголеток. Меньшая вариабельность количества мелатонина у перезимовавших полевок, вероятно, является следствием большей генетической однородности этой группы по сравнению с сеголетками, которые родились в разные календарные сроки, играют разные экологические роли в популяции (Оленев, 2002) и, следовательно, отличаются особенностями эндокринной регуляции. Отсутствие значимых различий по уровню мелатонина в крови между исследуемыми видами, на наш взгляд, может быть следствием как их систематической близости, так и высокой степени внутривидовой изменчивости этого показателя. Вместе с тем, выявленные особенности сезонной динамики, связанные с более выраженным снижением гормонального фона у красно-серой полевки, несомненно, отражают видовую специфику регуляторных механизмов.

Исследования, посвященные анализу половых различий уровня мелатонина крайне малочисленны. В тех немногих работах, где специально рассматривается данный аспект изменчивости количества гормона, авторы отмечают либо отсутствие половых различий по этому показателю (Коркушко и др., 2004), либо описывают более высокий уровень мелатонина у особей женского пола (Touitou et al., 1985; Ghosh et al., 2014). Согласно нашим данным, самки обоих исследуемых видов демонстрировали более низкий по сравнению с самцами уровень мелатонина в сыворотке крови, что, на наш взгляд, может отражать специфику исследуемой группы.

Сезонная динамика мелатонина

Согласно современным представлениям, суточный ритм секреции мелатонина имеет сезонную динамику, обусловленную изменениями фотопериода. Сезонным изменениям подвержены многие характеристики этого ритмического процесса, однако основным синхронизирующим сигналом считают динамику продолжительности ночного пика секреции мелатонина (Carter, Goldman, 1983). Вместе с тем, выявлен целый ряд видов гомеотермных животных, у которых на протяжении некоторой части года суточный ритм продукции мелатонина полностью отсутствует. Так, у домашних свиней ритм наблюдается только при фотопериоде 12С : 12Т, исчезая в условиях короткого 8С : 16Т или длинного 16С : 8Т дня (McConnell, Ellendorff, 1987; Minton et al., 1989). У обыкновенного хомяка (*Cricetus cricetus*) в естественных условиях суточный ритм мелатонина

отсутствует в мае–июле, но обнаруживается в конце репродуктивного сезона и зимой (Vivien-Roels et al., 1992). Отсутствие суточного ритма в определенное время года выявлено также у кенгуру (*Macropus eugenii*) (McConnell, 1986) и пингвина (*Aptenodytes forsteri*) (Mishe et al., 1991). Эти факты заставляют предполагать, что для передачи фотопериодической информации в мозг используется не только продолжительность ночного пика, но и, в целом, амплитуда суточного цикла секреции мелатонина (Vivien-Roels et al., 1992).

Анализ литературы говорит о том, что сезонная динамика количества мелатонина у млекопитающих, размножающихся в различные сроки, часто имеет сходный характер с минимальными значениями в осенний период. У человека, в зависимости от пола и возраста, максимальный уровень гормона отмечают весной или в начале лета (апрель–июнь). В течение лета он постепенно снижается, достигая минимальных значений осенью (октябрь–ноябрь) и остается на низком уровне до января–февраля, когда вновь начинает повышаться (Touitou et al., 1984; Asplund et al., 1995). Подобную картину демонстрируют многие копытные: у благородного оленя (*Cervus elaphus hispanicus*) суммарное количество гормона, продуцируемого в течение ночи, сохраняется на высоком уровне с января по март, снижаясь затем до минимального уровня к концу сентября (García et al., 2003). Сезонное снижение от февраля–марта к августу–сентябрю (причем в апреле уровень был выше, чем в августе, несмотря на одинаковую длину дня) было выявлено у домашних овец и муфлона (*Ovis orientalis musimon*) (Santiago-Moreno et al., 2005; Todini et al., 2011). У грызунов годовая динамика мелатонина также носит сходный характер: среднесуточный уровень этого гормона у сирийского хомяка в условиях естественного фотопериода максимален с декабря по март, затем, в течение лета, снижается до минимальных значений в сентябре (Brainard et al., 1982). В то же время в литературе имеются сведения о другой картине сезонной динамики этого показателя. Так, у домашних коз в условиях тропического муссонного климата минимальный уровень мелатонина отмечают в апреле–июне, затем показатель увеличивается в сезон муссонов и достигает максимальных значений в зимний (ноябрь–январь) период (Ghosh et al., 2014).

Лесные полевки, к которым относятся исследуемые виды, с точки зрения изучения сезонной динамики продукции мелатонина, являются уникальными животными. Наличие летних короткоживущих когорт, значительно усложняет такие исследования, с одной стороны из-за очень короткого срока жизни этих особей, а с другой — из-за невозможности отделить сезонную изменчивость количества мелатонина в крови от возрастной. В настоящей работе анализировались особи, принадлежащие к двум различным когортам. Ко-

личество гормона весной и в начале лета оценивали у долгоживущих зимовавших зверьков, а в конце лета и осенью — у сеголеток, большая часть которых относится к короткоживущим полевым. В то же время, некоторые из этих зверьков, не прошедшие полового созревания, могут войти в число зимующих особей. Полученные нами результаты не поддержали предложенную изначально гипотезу о сезонном росте уровня мелатонина. Картина сезонной динамики уровня мелатонина у рыжей и красно-серой полевков, в целом, имела сходный вид: максимальный уровень гормона у обоих видов был отмечен у перезимовавших особей. У сеголеток количество гормона в крови снижалось, достигая минимальных значений в сентябре. Обнаруженное нами более раннее сезонное появление самцов с низким уровнем мелатонина у красно-серой полевки, на наш взгляд, может быть связано с особенностями регуляции процесса воспроизводства этого вида, у которого созревание сеголеток прекращается на месяц раньше, чем у рыжей полевки. С учетом описанной в литературе положительной зависимости количества продуцируемого эпифизом мелатонина от размеров железы и количества пинеалцитов (Coon et al., 1999; Brunet et al., 2002), полученные результаты хорошо согласуются с выявленным ранее уменьшением размеров эпифиза у этих видов от весны к осени (Кравченко, Ярцев, 2016). Одной из причин, объясняющих адаптивность осеннего снижения уровня мелатонина, на наш взгляд, может быть физиологический антагонизм мелатонина и глюкокортикоидов, убедительно продемонстрированный для человека и грызунов (на примере пальмовой белки) (Campinola et al., 2008; Gupta, Halдар, 2013). Введение экзогенного мелатонина, согласно результатам этих работ, уменьшает выброс кортизола после инъекции АКТГ, снижает уровень плазматического кортикостерона и, напротив, введение кортикостерона уменьшает количество мелатонина в крови. Осенне-зимнее повышение уровня глюкокортикоидов, документально подтвержденное для человека (Hadlow et al., 2014), копытных (Alila-Johansson et al., 2003; Huber et al., 2003; Khonmee et al., 2014) и грызунов (Лохмиллер, Мошкин, 1999; Bujalska et al., 1994; Kravchenko et al., 2016), обеспечивает мобилизацию резервов организма в неблагоприятных условиях среды. Исходя из представлений о физиологическом антагонизме этих гормонов, высокий уровень мелатонина в осенний период мог бы блокировать сезонный рост глюкокортикоидов, препятствуя подготовке организма к холодам и дефициту кормов.

Сопряженность количества мелатонина с репродуктивными показателями

Многие виды животных используют сезонную динамику продукции мелатонина для синхронизации репродуктивного сезона с наиболее благо-

приятными условиями среды. В зависимости от календарных сроков размножения, у одних видов этот гормон стимулирует (Schulte et al., 1981; Bittman et al., 1983; Mokhtar et al., 2016), а у других, наоборот, подавляет процессы воспроизводства (Hoffmann, 1973; Goldman et al., 1979; Glass, Knotts, 1987). Среди грызунов также описаны виды с альтернативной реакцией органов генеративной системы на этот гормон. Супрессивный эффект установлен для джунгарского, сирийского, белонного (*Peromyscus leucopus*) хомячков, болотного рисового хомяка (*Oryzomys palustris*) и лабораторных крыс (Hoffmann, 1973; Goldman et al., 1979; Glass, Knotts, 1987; Jarrige et al., 1990; Colmenero et al., 1991; Badura, Goldman, 1992; Edmonds, Stetson, 1995). Напротив, у обыкновенного хомяка и хомяка Брандта (*Mesocricetus brandti*) любые манипуляции, блокирующие выработку эпифизарного мелатонина (пинеалэктомия, денервация верхних шейных ганглиев, круглосуточное освещение), приводят к регрессии семенников (Carter et al., 1982; Masson-Pevet et al., 1987). Авторы пришли к выводу, что у этих видов мелатонин необходим для поддержания функции репродуктивной системы в условиях длинного дня. Интересные результаты были получены на золотистом (*Ochrotomys nuttalli*) и белонном хомячках. Время наступления репродуктивного сезона у этих широко распространенных американских видов определяется географической приуроченностью популяции: животные, обитающие севернее 35° с.ш., характеризуются репродуктивной активностью в летнее время, тогда как хомячки, населяющие более южные территории, размножаются зимой. Адаптивность таких различий определяется целым комплексом факторов — температурой, доступностью пищи, прессом хищников и паразитов (Pratt, Barrett, 2012). Для белонного хомячка показано, что у животных из северных популяций (Коннектикут) короткая длина дня и экзогенный мелатонин вызывают задержку полового созревания, которая блокируется пинеалэктомией. Напротив, хомячки, обитающие на более южной территории (Джорджия), оказались не чувствительны к действию короткого дня и мелатонина, что, по предположениям авторов, может быть результатом дефицита в проводящих путях эффектов этого гормона (Carlson et al., 1989).

Хотя считается вполне доказанным, что основным синхронизирующим сигналом для размножения является продолжительность ночного подъема мелатонина (Carter, Goldman, 1983), конкретные механизмы, вызывающие в одном случае стимуляцию, а в другом — супрессию генеративной системы, до сих пор окончательно не установлены.

Лесные полевки — сезонно размножающиеся животные, репродуктивный период у которых в условиях Западной Сибири продолжается с начала мая до конца августа. Скорость полового созревания определяется сроками рождения: зверь-

ки, родившиеся весной и в начале лета, созревают все и в наиболее короткие сроки. Созревание животных, родившихся в конце июня и июле, идет с меньшей скоростью и зависит от социальных факторов: высокая плотность может предотвратить половое созревание особи в текущем сезоне. Среди полевков, родившихся в августе, созревают лишь единичные особи. Красно-серая полевка отличается от красной и рыжей более ранним блокированием процесса созревания сеголеток: из воспроизводства в текущем году исключаются особи, родившиеся в июле (Kaneko et al., 1998; Kravchenko et al., 2012).

Полученные в работе результаты не подтверждают участие мелатонина в сезонном подавлении размножения у лесных полевков. Вопреки первоначальной гипотезе, оба исследованных вида демонстрировали сезонное снижение уровня сывороточного мелатонина. Корреляционный анализ в ряде случаев выявил у красно-серой полевки положительную связь индивидуальных значений уровня мелатонина и массы репродуктивных органов. Такая зависимость прослеживается как при анализе сеголеток, так и при исследовании всего материала. Однако отсутствие корреляции при анализе индивидуальных значений внутри каждого месяца заставляет с осторожностью рассматривать возможность непосредственной связи этих показателей. Можно предположить, что обнаруженная закономерность является следствием однонаправленности сезонных изменений массы репродуктивных органов и уровня мелатонина. Различия между видами, вероятно, определяются описанной выше спецификой сроков появления не созревающей генерации у исследуемых видов. Слабо выраженное снижение массы репродуктивных органов у особей рыжей полевки, родившихся в июле, уменьшает степень согласованности сезонных изменений рассматриваемых показателей и определяет отсутствие значимой корреляции между ними. Вместе с тем, присутствующая в разной степени у обоих видов однонаправленность сезонной динамики уровня мелатонина и скорости полового созревания позволяет высказать предположение, что у лесных полевков, как у обыкновенного хомяка, в условиях длинного дня высокий уровень мелатонина может быть необходим для поддержания функции генеративной системы.

Влияние условий содержания

Рост уровня стресса при увеличении плотности населения неоднократно отмечали у грызунов и других млекопитающих как в естественных (Новиков и др., 2012; Kemper et al., 1987), так и в экспериментальных условиях (Кравченко и др., 2011; Bian et al., 2008; Khonmee et al., 2014). Хорошо документированная в литературе стресспротективная роль мелатонина, заключающаяся в профилактике негативных эффектов глюкокор-

тикоидов (Aoyama et al., 1986; Gupta, Haldar, 2013), предполагает возможность существования механизмов, способствующих повышению фонового уровня мелатонина в ответ на социальный стресс. Полученные нами результаты говорят о различной чувствительности исследуемых видов к изменению социальной среды. Рыжая полевка отличалась высокой реактивностью по отношению к этому фактору. У сеголеток данного вида увеличение плотности населения сопровождалось ростом количества мелатонина в крови, причем самцы начинали демонстрировать такую реакцию на месяц раньше, чем самки. Возможно, высокая концентрация мелатонина подавляет рост концентрации глюкокортикоидов в условиях социальной нагрузки. Такое отсутствие роста кортикостерона было обнаружено нами у рыжей полевки (Кравченко и др., 2016). Содержание до двух месяцев в составе выводковых групп приводило у самок этого вида к отсутствию сезонного снижения уровня мелатонина (рис. 3). Учитывая описанный выше антагонизм мелатонина и глюкокортикоидов, высокая осенняя плотность населения рыжей полевки, в естественных условиях, вызывая повышение уровня мелатонина, возможно препятствует сезонной активации гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы и именно поэтому для рыжей полевки характерно активное расселение молодняка, родившегося во второй половине репродуктивного сезона. По нашим данным, доля мигрантов среди неполовозрелых сеголеток этого вида в июле–августе примерно в два раза выше, чем у красной и красно-серой полевков (Кравченко, 1999).

Напротив, у красно-серой полевки, вне зависимости от пола, уровень мелатонина в крови не зависел от социальной нагрузки. Такая особенность может быть связана со спецификой пространственной и социальной структуры этого вида, в частности с более высокой, по сравнению с другими лесными полевками, социальностью, неоднократно описанной в литературе (Кравченко, Москвитина, 2008; Saitoh, 1995; Ishibashi et al., 1998).

Таким образом, проведенные исследования двух видов лесных полевков выявили снижение уровня сывороточного мелатонина в ходе репродуктивного сезона, позволяющее предполагать, что высокий уровень мелатонина необходим этим видам для поддержания функции репродуктивной системы в условиях длинного дня. Вместе с тем, выявлены видовые и половые особенности влияния плотности населения на характер сезонной динамики этого показателя.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Коркушко О.В., Хавинсон В.Х., Шатило В.Б., Магдич Л.В., Лабунец И.Ф., 2004. Суточные ритмы мелатонинобразующей функции эпифиза у людей пожилого возраста // Успехи геронтологии. Вып. 15. С. 70–75.

- Кравченко Л.Б., 1999. Динамика сообщества и популяционные особенности лесных полевок (р. *Clethrionomys*) поймы Средней Оби. Дис. ... канд. биол. наук. Томск. 157с.
- Кравченко Л.Б., Москвитина Н.С., 2008. Поведенческие и физиологические особенности трех видов лесных полевок (*Clethrionomys*, Rodentia, Cricetidae) в связи с пространственной структурой их популяций // Зоологический журнал. Т. 87. № 12. С. 1509–1517.
- Кравченко Л.Б., Завьялов Е.Л., Москвитина Н.С., 2011. Половое созревание и возрастная динамика кортикостерона у двух видов лесных полевок (*Clethrionomys*, Rodentia, Cricetidae) в экспериментальных условиях // Зоологический журнал. Т. 90. № 12. С. 1522–1529. [Kravchenko L.B., Zavyalov E.L., Moskvitina N.S., 2012. Sexual maturation and age-related dynamics of corticosterone in *Clethrionomys rutilus* and *Cl. rufocanus* voles (Rodentia, Cricetidae) under experimental conditions // Biology Bulletin. V. 39. № 7. P. 627–633.]
- Кравченко Л.Б., Москвитина Н.С., Завьялов Е.Л., 2016. Изменчивость содержания кортикостерона в фекалиях при созревании у трех видов лесных полевок (*Myodes*, Rodentia, Cricetidae) // Зоологический журнал. Т. 95. № 4. С. 465–475. [Kravchenko L.B., Moskvitina N.S., Zavyalov E.L., 2016. Dynamics of the fecal corticosterone content in males of red, gray-sided, and bank voles (*Myodes*, Rodentia, Cricetidae) upon sexual maturation // Biology Bulletin V. 43. № 9. P. 45–54.]
- Кравченко Л.Б., Ярцев В.В., 2016. Сезонная динамика размеров эпифиза у трех видов лесных полевок (*Myodes*, Rodentia, Cricetidae). II Международная научная конференция “Популяционная экология животных”, посвященная памяти академика И.А. Шиловой (Томск, 10–14 октября 2016 г.) // Принципы экологии. Т. 5. № 3. С. 67.
- Лохмиллер Р.Л., Мошкин М.П., 1999. Экологические факторы и адаптивная значимость изменчивости иммунитета мелких млекопитающих // Сибирский экологический журнал. № 1. С. 37–58.
- Новиков Е.А., Панов В.В., Мошкин М.П., 2012. Плотностно-зависимые механизмы регуляции численности популяций красной полевки (*Myodes rutilus*) в оптимальных и субоптимальных местообитаниях юга Западной Сибири // Журнал общей биологии. Т. 73. № 1. С. 49–58.
- Оленев Г.В., 2002. Альтернативные типы онтогенеза цикломорфных грызунов и их роль в популяционной динамике (экологический анализ) // Экология. № 5. С. 341–350.
- Тупикова Н.В., 1964. Изучение размножения и возрастного состава популяций мелких млекопитающих // Методы изучения природных очагов болезней человека. М.: Медицина. С. 154–192.
- Штайнлехнер С., Пухальский В., 1999. Сезонная регуляция размножения мелких млекопитающих // Сибирский экологический журнал. № 1. С. 23–35.
- Alila-Johansson A., Eriksson L., Soveri T., Laakso M.L., 2003. Serum cortisol levels in goats exhibit seasonal but not daily rhythmicity // Chronobiology International. V. 20(1). P. 65–79.
- Aoyama H., Mori W., Mori N., 1986. Anti-glucocorticoid effects of melatonin in young rats // Acta pathologica Japonica. V. 36(3). P. 423–428.
- Asplund R., Aberg H., Wetterberg L., 1995. Seasonal changes in the levels of antidiuretic hormone and melatonin in the elderly // Journal of Pineal Research. V. 18(3). P. 154–158.
- Axelrod J., 1974. The pineal gland: a neurochemical transducer. Chemical signals from nerves regulate synthesis of melatonin and convey information about internal clocks // Science. V. 184. P. 1341–1348.
- Badura L.L., Goldman B.D., 1992. Central sites mediating reproductive responses to melatonin in juvenile male Siberian hamsters // Brain Research. V. 598(1–2). P. 98–106.
- Barrett P., Bolborea M., 2012. Molecular pathways involved in seasonal body weight and reproductive responses governed by melatonin // Journal of Pineal Research. V. 52. P. 376–388.
- Bartness T.J., Powers J.B., Hastings M.H., Bittman E.L., Goldman B.D., 1993. The timed infusion paradigm for melatonin delivery: what has it taught us about the melatonin signal, its reception, and the photoperiodic control of seasonal responses? // Journal of Pineal Research. V. 15. P. 161–190.
- Bian J., Wu, Y., Zhou, K., 2008. Effects of population density on demography and individual corticosterone level during breeding period in root voles (*Microtus oeconomus*) // Acta Theriologica Sinica. V. 28(2). P. 135–143.
- Bittman E.L., Dempsey R.J., Karsch F.J., 1983. Pineal melatonin secretion drives the reproductive response to day length in the ewe // Endocrinology. V. 113. P. 2276–2283.
- Brainard G.C., Petterbord L.J., Richardson B.A., Reiter R.J., 1982. Pineal melatonin in Syrian hamsters: Circadian and seasonal rhythms in animals maintained under laboratory and natural conditions // Neuroendocrinology. V. 35(5). P. 342–348.
- Brunet A.G., Malpaux B., Daveau A., Taragnat C., Chemineau P., 2002. Genetic variability in melatonin secretion originates in the number of pinealocytes in sheep // Journal of Endocrinology. V. 172. P. 397–404.
- Bujalska G., Eysikov V., Gerlinskaja L., Grika L., Grum L., Moshkin M., 1994. Adrenocortical variability in the life history of bank voles // Polish ecological studies. V. 20(3–4). P. 305–310.
- Campino I. A., Valenzuela F., Arteaga I. E., Torres-Farfan C., Trucco C., et al., 2008. Melatonin reduces cortisol response to ACTH in humans // Revista Medica De Chile. V. 136. P. 1390–1397.
- Carlson L.L., Zimmermann, A., Lynch, G.R., 1989. Geographic differences for delay of sexual maturation in *Peromyscus leucopus*: Effects of photoperiod, pinealectomy, and melatonin // Biology of Reproduction. V. 41(6). P. 1004–1013.
- Carter D.S., Hall V.D., Tamarkin L., Goldman B.D., 1982. Pineal is required for testicular maintenance in the Turkish hamster (*Mesocricetus brandti*) // Endocrinology. V. 3. № 3. P. 863–871.
- Carter D.S., Goldman B.D., 1983. Progonadal role of the pineal in the Djungarian hamster (*Phodopus sungorus sungorus*): Mediation by melatonin // Endocrinology. V. 113(4). P. 1268–1273.
- Colmenero M.D., Diaz B., Miguel J.L., Gonzalez M.L.I., Esquivino A., Marin B., 1991. Melatonin administration during pregnancy retards sexual maturation of female offspring in the rat // Journal of Pineal Research. V. 11(1). P. 23–27.

- Coon S.L., Zarazaga L.A., Malpoux B., Ravault J.P., Bordin L., et al., 1999. Genetic variability in plasma melatonin in sheep is due to pineal weight, not to variations in enzyme activities // *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. V. 277(5). P. E792–E797.
- Edmonds K.E., Stetson M.H., 1995. Pineal gland and melatonin affect testicular status in the adult marsh rice rat (*Oryzomys palustris*) // *General and Comparative Endocrinology*. V. 99. P. 265–74.
- Garcia A., Landete-Castillejos T., Zarazaga L., Garde J., Gallego L., 2003. Seasonal changes in melatonin concentrations in female Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*) // *Journal of Pineal Research*. V. 34. P. 161–166.
- Ghosh S., Singh A.K., Haldar C., 2014. Seasonal modulation of immunity by melatonin and gonadal steroids in a short day breeder goat *Capra hircus* // *Theriogenology*. V. 82. P. 1121–1130.
- Glass J.D., Knotts L.K., 1987. A brain site for the antigonadal action of melatonin in the white-footed mouse (*Peromyscus leucopus*): Involvement of the immunoreactive GnRH neuronal system // *Neuroendocrinology*. V. 46(1). P. 48–55.
- Goldman B.D., Hall V., Hollister C., Roychoudhury P., Tamarkin L., Westrom W., 1979. Effects of melatonin on the reproductive system in intact and pinealectomized male hamsters maintained under various photoperiods // *Endocrinology*. V. 104. P. 82–88.
- Gomez-Brunet A., Malpoux B., Daveau A., Taragnat C., Chemineau P., 2002. Genetic variability in melatonin secretion originates in the number of pinealocytes in sheep // *Journal of Endocrinology*. V. 172. P. 397–404.
- Gomez-Brunet A., Santiago-Moreno J., Chemineau P., Malpoux B., Lopez-Sebastian A., 2010. Melatonin secretion during postnatal development in wild and domestic female lambs // *Animal Reproduction Science*. V. 119(1–2). P. 24–30.
- Goto M., Oshima I., Tomita T., Ebihara S., 1989. Melatonin content of the pineal gland in different mouse strains // *Journal of Pineal Research*. V. 7. P. 195–204.
- Gupta S., Haldar C., 2013. Physiological crosstalk between melatonin and glucocorticoid receptor modulates T-cell mediated immune responses in a wild tropical rodent, *Funambulus pennanti* // *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. V. 134(1). P. 23–36.
- Gupta S., Haldar C., Singh S., 2013. Daily variations in plasma melatonin and melatonin receptor (MT1), PER1 and CRY1 expression in suprachiasmatic nuclei of tropical squirrel, *Funambulus pennanti* // *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*. V. 199. P. 763–773.
- Hadlow N.C., Brown S., Wardrop R., 2014. The effects of season, daylight saving and time of sunrise on serum cortisol in a large population // *Chronobiology International*. V. 31(2). P. 243–251.
- Hoffmann K., 1973. The influence of photoperiod and melatonin on testis size, body weight, and pelage colour in the Djungarian hamster (*Phodopus sungorus*) // *Journal of Comparative Physiology*. V. 85(3). P. 267–282.
- Hoffmann K., Illnerova H., Vanecsek J., 1981. Effect of photoperiod and of one minute light at night-time on the pineal rhythm on N-acetyltransferase activity in the Djungarian hamster *Phodopus sungorus* // *Biology of Reproduction*. V. 24. P. 551–556.
- Huber S., Palme R., Arnold W., 2003. Effects of season, sex, and sample collection on concentrations of fecal cortisol metabolites in red deer (*Cervus elaphus*) // *General and Comparative Endocrinology*. V. 130(1). P. 48–54.
- Ishibashi Y., Saitoh T., Kawata M., 1998. Social organization of the vole *Clethrionomys rufocanus* and its demographic and genetic consequences: A review // *Researches on Population Ecology*. V. 40. № 1. P. 39–50.
- Jarrige J.F., Jebbari K., Boucher D., 1990. Influence of the pineal gland on testicular function in offspring of pinealectomized rats // *Journal of Reproduction and Fertility*. V. 89(2). P. 415–421.
- Kalsbeek A., Garidou M.L., Palm I.F., Van der Vliet J., Simonneaux V., et al., 2000. Melatonin sees the light: blocking GABA-ergic transmission in the paraventricular nucleus induces daytime secretion of melatonin // *European Journal of Neuroscience*. V. 12. P. 3146–3154.
- Kaneko Y., Nakata K., Saitoh T., Stenseth N.C., Bjornstad O.N., 1998. The biology of the vole *Clethrionomys rufocanus*: a review // *Researches on Population Ecology*. V. 40. № 1. P. 21–37.
- Kawashima K., Nagakura A., Wurzbarger R.J., Spector S., 1984. Melatonin in serum and the pineal of spontaneously hypertensive rats // *Clinical and Experimental Hypertension*. V. A6(8). P. 1517–1528.
- Kemper C.M., Ritchener D.J., Humphreys W.F., How R.A., Bradle A.J., Schmit L.H., 1987. The demography and physiology of *Melomys* sp. (Rodentia: Muridae) in the Mitchell Plateau area, Kimberley, Western Australia // *Journal of Zoology*. V. 212. № 3. P. 533–562.
- Kennaway D.J., Rowe S.A., 1995. Melatonin binding sites and their role in seasonal reproduction // *Journal of Reproduction and Fertility*. Supplement. V. 49. P. 423–435.
- Khonmee J., Brown J.L., Rojanasthien S., Aunsusin A., Thumasanukul D., et al., 2014. Gender, season and management affect fecal glucocorticoid metabolite concentrations in captive goral (*Naemorhedus griseus*) in Thailand // *PLoS ONE*. V. 9(3). Article number e91633. Open Access.
- Kruszek M., 1986. Seasonal effects on sexual maturation of male bank voles (*Clethrionomys glareolus*) // *Journal of Reproduction and Fertility*. V. 76. P. 83–89.
- Lerchl A., Schlatt S., 1992. Serotonin content and melatonin production in the pineal gland of the male Djungarian hamster (*Phodopus sungorus*) // *Journal of Pineal Research*. V. 12(3). P. 128–134.
- Masson-Pevet M., Pevet P., Vivien-Roels B., 1987. Pinealectomy and constant release of melatonin or 5-methoxytryptamine induce testicular atrophy in the European hamster (*Cricetus cricetus*, L.) // *Journal of Pineal Research*. V. 4. P. 79–88.
- McConnell S.J., 1986. Seasonal changes in the circadian plasma melatonin profile of the tammar, *Macropus eugenii* // *Journal of Pineal Research*. V. 3. P. 119–126.
- McConnell S.J., Ellendorff F., 1987. Absence of nocturnal plasma melatonin surge under long and short artificial photoperiods in the domestic sow // *Journal of Pineal Research*. V. 4. P. 201–210.
- Minton J.E., Davis D.L., Stevenson J.S., 1989. Contribution of the photoperiod to circadian variations in serum cortisol and melatonin in boars // *Domestic Animal Endocrinology*. V. 6(2). P. 177–181.
- Mishe F., Vivien-Roels B., Pevet P., Spehner C., Robin J., Le Maho Y., 1991. Daily pattern of melatonin secretion

- in an Antarctic bird, the emperor penguin, *Aptenodytes forsteri*: Seasonal variations, effect of constant illumination and administration of isoproterenol and propranolol // General and Comparative Endocrinology. V. 84. P. 249–263.
- Mokhtar D.M., Abd-Elhafeez H.H., Abou-Elmagd A., Hassan A.H.S., 2016. Melatonin administration induced reactivation in the seminal gland of the soay rams during non-breeding season: an ultrastructural and morphometrical study // Journal of Morphology. V. 277(2). P. 231–243.
- Petterborg L.J., 1978. Effect of photoperiod on body weight in the vole, *Microtus montanus* // Canadian Journal of Zoology. V. 56. P. 431–435.
- Pinter A. J., 1968. Effects of diet and light on growth, maturation and adrenal size of *Microtus montanus* // American Journal of Physiology. V. 215. P. 461–466.
- Pratt N.L., Barrett G.W., 2012. Timing of breeding in *Ochrotomys nuttalli* and *Peromyscus leucopus* is related to a latitudinal isotherm // Landscape Ecology. V. 27. P. 599–610.
- Saitoh T., 1995. Sexual differences in natal dispersal and philopatry of the grey-sided vole // Res. Popul. Ecol. V. 37. № 1. P. 49–57.
- Santiago-Moreno J., Gomez-Brunet A., Gonzalez-Bulnes A., Toledano-Diaz A., Malpau B., Lopez-Sebastian A., 2005. Differences in reproductive pattern between wild and domestic rams are not associated with inter-specific annual variations in plasma prolactin and melatonin concentrations // Domestic Animal Endocrinology. V. 28. 416–429.
- Schulte B.A., Seal U.S., Plotka E.D., Latellier M.A., Verme L.J., et al., 1981. The effect of pinealectomy on seasonal changes in prolactin secretion in the white-tailed deer (*Odocoileus virginianus borealis*) // Endocrinology. V. 108. P. 173–178.
- Todini L., Terzano G.M., Borghese A., Debenedetti A., Malfatti A., 2011. Plasma melatonin in domestic female Mediterranean sheep (Comisana breed) and goats (Maltese and Red Syrian) // Research in Veterinary Science. V. 90. P. 35–39.
- Toutou Y., Fevre M., Bogdan A., Reinberg A., De Prins J., et al., 1984. Patterns of plasma melatonin with ageing and mental condition: stability of nyctohemeral rhythms and differences in seasonal variations // Acta Endocrinologica. V. 106(2). P. 145–151.
- Toutou Y., Fevre-Montange M., Proust J., Klinger E., Nakache J.P., 1985. Age- and sex-associated modification of plasma melatonin concentrations in man. Relationship to pathology, malignant or not and autopsy findings // Acta Endocrinologica. V. 108. P. 135–144.
- Vivien-Roels B., Pevet P., Masson-Pevet M., Canguilhem B., 1992. Seasonal variations in the daily rhythm of pineal gland and/or circulating melatonin and 5-Methoxytryptophol concentrations in the European Hamster, *Cricetus cricetus* // General and Comparative Endocrinology. V. 86. P. 239–247.

MELATONIN AND SEXUAL MATURATION IN THE BANK (*CLETHRIONOMYS GLAREOLUS*) AND GREY-SIDED (*CLETHRIONOMYS RUFOCANUS*) VOLES IN EXPERIMENTAL CONDITIONS

L. B. Kravchenko^{a,*} and N. A. Muraleva^{b,**}

^a Tomsk State University, Tomsk 634050, Russia

^b Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk 630090, Russia

*e-mail: kravchenkolb@mail.ru

**e-mail: myraleva.na@mail.ru

We tested the effects of melatonin on sexual maturation in *Clethrionomys glareolus* and *C. rufocanus* voles through an analysis of the dynamics of serum melatonin levels (MLs) and their relationships with the testis and uterus weights at individual levels. In May and June, we used overwintered males captured in the field. In August and September, we studied young-of-the-year males and females (two months old) grown in a vivarium. Using different modes of keeping, we modeled the conditions of high and low population densities. Then we tested these effects on MLs, measured at 8–9 a.m. in all individuals. We found no significant inter-specific differences in MLs. Males of both species had higher MLs than females did. Overwintered animals of both species showed the maximum values of this parameter. In comparison with them, young-of-the-year had lower MLs. In this group, we observed the minimal MLs in September. We found the sensitivity of both species to social factors to differ. The high population density in September was associated with high MLs in *C. glareolus* young-of-the-year. In contrast, MLs in *C. rufocanus* did not depend on population density. In males and females of that species, we found positive correlations between the individual MLs and the testis or uterus weights. However, the same relationships were absent from *C. glareolus*. In general, our data indicate that high MLs may be involved in the maintenance of the reproductive function in long-day conditions.

Keywords: Red-backed vole, Grey-sided vole, Bank vole, melatonin, sexual maturation, social conditions, *Clethrionomys glareolus*, *Clethrionomys rufocanus*