

MORFOMECHANICZNE ZMIANY JAJ RAKA SZLACHETNEGO (*Astacus astacus* L.) W TRAKCIE EMBRIOGENEZY

**Dorota PAWŁOS¹⁾, Agata KORZELECKA-ORKISZ²⁾,
Piotr WESOŁOWSKI¹⁾, Krzysztof FORMICKI²⁾**

¹⁾ Instytut Technologiczno-Przyrodniczy (dawniej IMUZ), Zachodniopomorski Ośrodek Badawczy w Szczecinie

²⁾ Zachodniopomorski Uniwersytet Techniczny w Szczecinie, Katedra Anatomii i Embriologii Ryb

Słowa kluczowe: Astacus astacus, jaja, rozwój embrionalny, zarodki, zmiany morfomechaniczne

Streszczenie

Stale wzrastające zanieczyszczenie środowiska oraz presja obcych gatunków raków, a przede wszystkim wyniszczenie przez dżumę raczą, spowodowało znaczne ograniczenie występowania stanowisk raka szlachetnego (*Astacus astacus* L.) w Polsce. Lepsze poznanie biologii rozrodu i embriogenezy tego gatunku raka jest konieczne nie tylko do jego ochrony przed wyginięciem, ale również poprawy warunków chowu i hodowli.

Rozwój zarodkowy raka szlachetnego w warunkach średniej temperatury $8 \pm 2^\circ\text{C}$ trwał 2100 D°. Podział żółtka przebiegał w bardzo wolnym tempie i kończył się dopiero po upływie 352 D°. Pierwsze półkoliste zawiązki zarodka zaobserwowano w 592 D°. Zamykanie się blastoporu nastąpiło w 928 D°. W 1200 D° zarodek przybrał postać naupliusu. Na tym etapie widoczne były przydatki: anteny I i II pary oraz zuwaczki. Około 1500 D° serce podjęło pracę. Na krótko przed wylęgiem (1800 D°) pojawił się w oczach pigment, zaś na powierzchni zarodka zaobserwowano równomierne rozmieszczenie komórek barwnikowych.

Po przeanalizowaniu zmian morfometrycznych jaj raka szlachetnego stwierdzono, że objętość w trakcie embriogenezy zwiększała się z $9,26 \pm 0,44 \text{ mm}^3$ do $13,5 \pm 0,44 \text{ mm}^3$ na krótko przed wylęgiem. Pomiar wytrzymałości mechanicznej osłonek jajowych ujawniły, że była ona dość znaczna na początku embriogenezy (ponad $150 \pm 20,2 \text{ g}$) i zmniejszała się w trakcie rozwoju embrionalnego do wartości $83,5 \pm 7,1 \text{ g}$ w chwili wylęgu. Współczynnik S/V na początku rozwoju zarodkowego wynosił 2,291 i w miarę trwania embriogenezy zmniejszał się do 2,017.

WSTĘP

W wodach Polski występują dwa rodzime gatunki raków – rak szlachetny (*Astacus astacus* L.) oraz rak błotny (*Astacus leptodactylus* Esch.). Rak szlachetny, będący swoistym reliktem polodowcowym, jest największym bezkręgowcem w wodach śródlądowych Polski. Jego liczebność w naszych wodach była znaczna, o czym świadczy choćby fakt, że w latach 1853–1879 na rynki Paryża wyeksportowano ponad 5 mln sztuk raków [LEŃKOWA, 1962]. W okresie ostatniego stulecia populacje raków rodzimych zostały w drastyczny sposób ograniczone.

Przyczyn takiego stanu rzeczy upatruje się w:

- znacznym wyniszczeniu pogłowia raków przez dżumę raczą, która wybuchła na zachodzie Europy w 1876 r., skąd rozprzestrzeniła się na teren całego kontynentu;
- opanowaniu większości wód przez ekspansywnego raka pręgowanego (*Orconectes limosus* Raf.), będącego też nosicielem dżumy raczej;
- pogarszaniu się stanu środowiska (eutrofizacja, zanieczyszczanie wód);
- intensyfikacji gospodarki rybackiej (nasilenie połowów sprzętem ciągnionym, intensywne zarybianie węgorzem) [GIELO, 1975; STRUŻYŃSKI, 1999].

Rak szlachetny, popularnie zwany rzeczonym lub szerokoszczypcowym, bytuje w wodach o niezamulonym, czystym dnie marglowym, piaskowym lub kamienistym. Jest zwierzęciem żerującym w nocy. Najczęściej przebywa w płynącym cieku o głębokości większej niż 0,4 m i szerokości 3,0 m, w wodzie pierwszej klasy czystości, zawierającej znaczne ilości wapnia. Gatunek ten jest wrażliwy na zmieniające się warunki środowiska (temperatura, zawartość tlenu) oraz wszelkie zanieczyszczenia [MASTYŃSKI, ANDRZEJEWSKI, 2005], dlatego też jest uznawany za wskaźnik czystości wód. Jego występowanie stanowi bezsprzeczny dowód wysokiej jakości ekosystemu. Utrzymywanie różnorodności biologicznej jest gwarancją wysokiej jakości środowiska wodnego, co również jest podkreślone w Ramowej Dyrektywie Wodnej (RDW) 2000/60/WE.

Tempo zanikania w ostatnich dziesięcioleciach raka szlachetnego jest alarmujące, o czym świadczą dane, dotyczące zmian jego występowania i liczebności. W 1902 r. raka szlachetnego pozyskiwano z co najmniej 569 zbiorników Pomorza [ŚMIETANA, KRZYWOSZ, STRUŻYŃSKI, 2004], a w 1958 r. odłowy komercyjne prowadzono w już tylko w 86 zbiornikach [LEŃKOWA, 1962]. W 2000 r. rak szlachetny występował tylko na 18 stanowiskach, z czego w ciągu ostatnich lat ustąpił z 4, a na 3 kolejnych należy go uznać za gatunek zanikający [ŚMIETANA, KRZYWOSZ, STRUŻYŃSKI, 2004]. Drastyczne zmniejszenie liczebności stanowisk raka szlachetnego na terenach Polski spowodowało wpisanie go do „Czerwonej księgi gatunków ginących” [KRZYWOSZ, ŚMIETANA, 2004].

Biorąc pod uwagę niewielką liczbę stanowisk raka szlachetnego oraz szybkie tempo ich zanikania, bezwzględnie konieczne jest podjęcie wszelkich działań, mających na celu jego ochronę i zachowanie jego puli genowej.

Najskuteczniejszym sposobem ratowania raka szlachetnego jest restytucja. Do chwili obecnej przeprowadzono już kilka, zakończonych sukcesem projektów, z których największym był „Program czynnej ochrony rodzimych raków w Polsce” [ŚMIETANA, KRZYWOSZ, STRUŻYŃSKI, 2004]. Zbiorniki bez raków lub te, w których jest on nieliczny, obsadza się rakami w celu stworzenia lub zwiększenia podstawowego stada matecznego. Dzięki takiemu zabiegowi zwiększa się pogłowie raków, które następnie może posłużyć jako materiał do zaraczania innych zbiorników. Działania takie wynikają również ze zobowiązań, które przyjęła na siebie Polska po przystąpieniu do Unii Europejskiej.

Rak szlachetny żyje stosunkowo długo, do ok. 20 lat. Dojrzewa w trzecim roku życia. Rozmiar jego ciała zależy od warunków panujących w danym zbiorniku – średnio samice osiągają dojrzałość, gdy całkowita długość ciała wynosi 7,6–9,5 cm, a samce – 6,0–7,0 cm [ABRAHAMSSON, 1966]. Rak parzy się na przełomie października i listopada. Liczba składanych jaj zależy od wielkości samicy – dziewięciocentymetrowa składa od 113 do 213 jaj. Czas rozwoju raka szlachetnego jest długi i wynosi od 5–6 [POLICAR i in., 2004] do 8 miesięcy [ZEHNDER, 1934].

Piśmiennictwo dotyczące rozrodu raków jest stosunkowo obszerne [ANDREWS, 1907; CELADA, CARRAL, GONZALES, 1991; CELADA i in., 1987; HUXLEY, 1880; REICHENBACH, 1877; ZEHNDER, 1934], jednak ogranicza się do analiz wybranych etapów jego embriogenezy i powstawania określonych narządów zarodka. Dotychczas nie badano morfomechanicznych osobliwości embriogenezy raków oraz ich motoryki embrionalnej.

Celem przedstawionych tu badań była obserwacja wybranych etapów rozwoju zarodkowego, m.in. procesu kształtowania się przestrzeni periwitellarnej i dynamiki wchłaniania wody w trakcie rozwoju zarodkowego oraz zmian wytrzymałości osłonek jajowych na ucisk mechaniczny w trakcie embriogenezy. Dokładne poznanie tych ważnych aspektów embriogenezy może być przydatne w ukierunkowaniu zabiegów hodowlanych, co przyczyni się do zwiększenia ilości materiału do zaraczania.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Badania wykonano w laboratorium Katedry Anatomii i Embriologii Ryb, Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie w latach 2001–2006 oraz kontynuowano w laboratorium Instytutu Melioracji i Użytków Zielonych Zachodniopomorskiego Ośrodka Badawczego w Szczecinie w latach 2008–2009. Materiał badawczy (20 sztuk samic raka szlachetnego) przywożono z południowo-wschodniej Polski na początku grudnia każdego roku. Całkowita długość (od rostrum do końca telsona) samic wynosiła 13–15 centymetrów. Przy ich pleopodach znajdowało się od 200 do 220 sztuk świeżo złożonych jaj. Samice umieszczano w 60-litrowych akwariach, zaopatrzonych w kryjówki. Ściany akwariów oklejono czarną folią, aby wyeliminować zewnętrzne czynniki, mogące wy-

wołać stres. Woda w akwariach, w których przebywały samice, była stale napowietrzana i wymieniana (1/3 objętości) raz w tygodniu. Pomiar temperatury odbywał się codziennie. Średnia temperatura w czasie trwania doświadczenia wynosiła $8 \pm 2^\circ\text{C}$.

Badano jaja, które delikatnie oddzielano od pleopodów samic, za pomocą pin-cety, zaopatrzonej w silikonowe końcówki. Od każdej samicy, bezpośrednio przed pomiarami i rejestracją, co 7 dni pobierano po 20 jaj.

Rozwój zarodkowy obserwowano za pomocą zestawu, składającego się z mikroskopu świetlnego, kamer CCD oraz magnetowidu SVHS.

Średnice 20 jaj rejestrowano, a następnie mierzono, wykorzystując program Multiscan v. 13.01 z dokładnością do 0,01 mm. Średnice mierzono raz w tygodniu. Objętość jaj obliczano, stosując wzór na objętość kuli $V = 4/3\pi r^3$ (mm^3).

Wytrzymałość osłonek jajowych określono za pomocą specjalnie skonstruowanego przyrządu, składającego się z elektronicznej wagi o dokładności $\pm 0,01$ g z wbudowanym programem rejestrującym nacisk, jaki wytrzymywała osłonka jajowa.

Materiał do zdjęć w skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM) utrwalano przez 10 dni w 4% formaldehydzie, a następnie odwadniano w alkoholu etylowym o zwiększającym się stężeniu i w acetonie. Tak utrwalone i odwodnione próbki przymocowywano do podstawek i napyłano cienką warstwą stopu złota i palladu. Zdjęcia wykonywano za pomocą mikroskopu elektronowego.

Wyniki badań opracowywano statystycznie za pomocą programu Statistica PL v. 7.01.

Czas rozwoju zarodkowego podano jako iloczyn dni rozwoju i temperatury inkubacji (D°).

WYNIKI BADAŃ

Prezentowane wyniki obejmują cały okres rozwoju zarodkowego raka szlachetnego, który w temperaturze $8 \pm 2^\circ\text{C}$ trwał $2100 D^\circ$. Przez ten okres jaja były przyłączone do pleopodów samicy za pomocą wydzieliny gruczołów cementowych, z której został uformowany stylik.

Uwodnione jaja raka szlachetnego kształtem były zbliżone do kuli. Kształt ten utrzymywał się w ciągu całej embriogenezy. Z zestawienia wybranych parametrów takich, jak objętość jaj i wytrzymałość osłonek jajowych (tab. 1), wynika, że przez cały okres embriogenezy ulegały one zmianom.

Średnica jaj na początku rozwoju zarodkowego wynosiła średnio $2,58 \pm 0,02$ mm, czyli w przeliczeniu na objętość jaja mierzyły $9,26 \pm 0,44 \text{ mm}^3$. Różnica objętości między najmniejszymi a największymi jajami sięgała 12,5% (tab. 1) i utrzymywała się na podobnym poziomie przez cały okres embriogenezy.

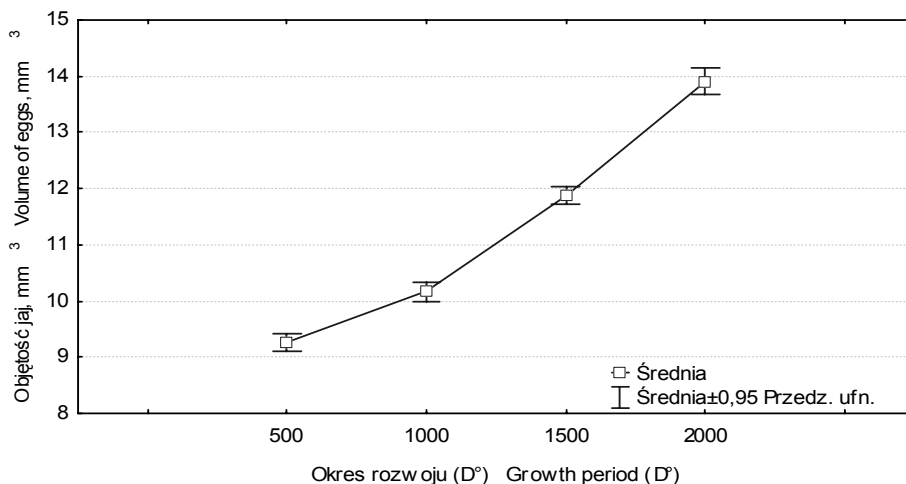
Tabela 1. Zmiany parametrów jaj raka szlachetnego (*Astacus astacus* L.) w trakcie embriogenezy, test Kolmogorowa-Smirnowa**Table 1.** Change of parameters of eggs of the *Astacus astacus* L. during embryogenesis, Kolmogorov-Smirnov test

Parametry Parameters	Okres rozwoju zarodkowego (D°) Growth period of embryogenesis (D°)											
	500			1000			1500			2000		
	min	max	\bar{x} $\pm SD$	min	max	\bar{x} $\pm SD$	min	max	\bar{x} $\pm SD$	min	max	\bar{x} $\pm SD$
Średnica jaj <i>S</i> , mm	2,50	2,66	2,58 $\pm 0,02$	2,61	2,74	2,69 $\pm 0,04$	2,80	2,91	2,79 $\pm 0,02$	2,92	3,04	2,91 $\pm 0,05$
Diameter of eggs, mm												
Objętość <i>V</i> , mm ³	8,55	9,76	9,26 $\pm 0,44^a$	9,19	10,98	10,17 $\pm 0,49^b$	11,06	12,85	11,88 $\pm 0,53^c$	13,02	14,79	13,91 $\pm 0,69^d$
Volume of eggs, mm ³												
Wytrzymałość osłonek jajowych, g	115	201	153 $\pm 20,2^a$	101	140	120 $\pm 8,3^b$	77	155	99,5 $\pm 21,6^c$	70	97	84 $\pm 7,1^d$
Resistance of egg membrane, g												
Współczynnik <i>S/V</i>			2,291			2,217			2,118			2,017
Coefficient <i>S/V</i>												

Objasnienia: a, b, c, d – zaznaczone różnymi indeksami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$).

Explanations: a, b, c, d – noted results with different indexes differ statistically indeed ($p < 0,05$).

Wymiary jaj raka szlachetnego zwiększyły się w miarę upływu czasu ich inkubacji. Zwiększanie się średnic w trakcie embriogenezy było w miarę równomierne, co przekładało się na zwiększanie się ich objętości (rys. 1), a zatem na zmniejszanie się i tak niezbyt korzystnego współczynnika $S:V$ rozwijającego się organizmu (tab. 1).



Rys. 1. Zmiany objętości jaj raka szlachetnego (*Astacus astacus* L.) w trakcie rozwoju zarodkowego (test Kolmogorowa-Smirnowa, $p < 0,01$)

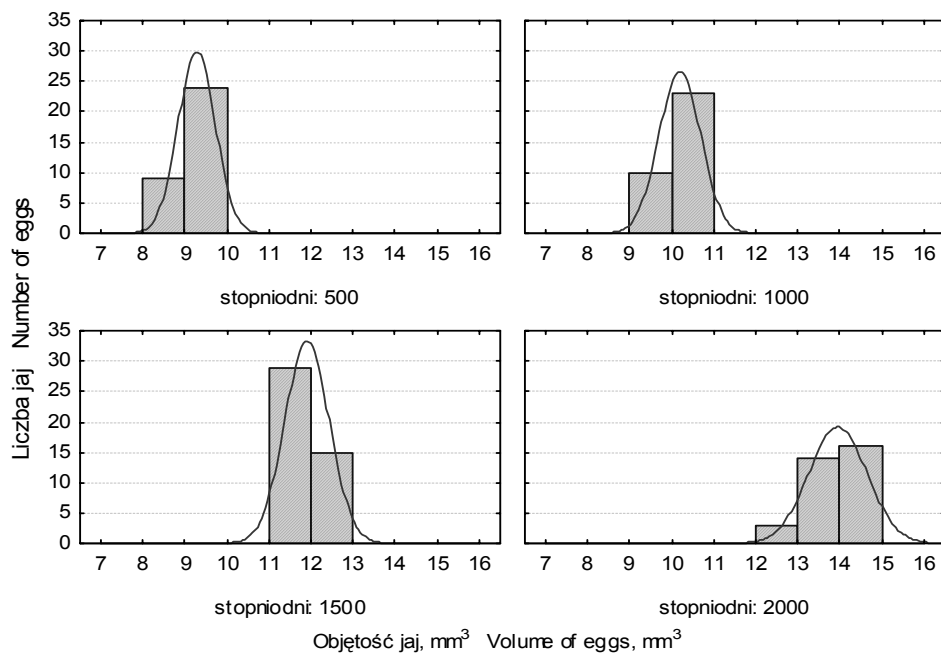
Fig. 1. Changes in the volume of eggs of the *Astacus astacus* L. during embryogenesis (Kolmogorov-Smirnov test, $p < 0.01$)

Nie stwierdzono większego zróżnicowania rozkładu objętości jaj raka szlachetnego z prób pobranych na różnych etapach rozwoju zarodkowego, chociaż największą liczbę przedziałów zaobserwowano na krótko przed wylęgiem (rys. 2). Wynikało to, jak się przypuszcza, z różnego tempa zmian przepuszczalności osłonek jajowych poszczególnych jaj.

Pomiary wytrzymałości mechanicznej osłonek jajowych ujawniły, że ich odporność na nacisk mechaniczny była dość znaczna na początku embriogenezy ($150 \pm 20,2$ g) – tabela 1. Wytrzymałość osłonek jajowych w trakcie rozwoju embrionalnego zmniejszała się równomiernie i była odwrotnie proporcjonalna do zwiększenia objętości. W chwili wylęgu była prawie o połowę mniejsza od wartości początkowej (rys. 3).

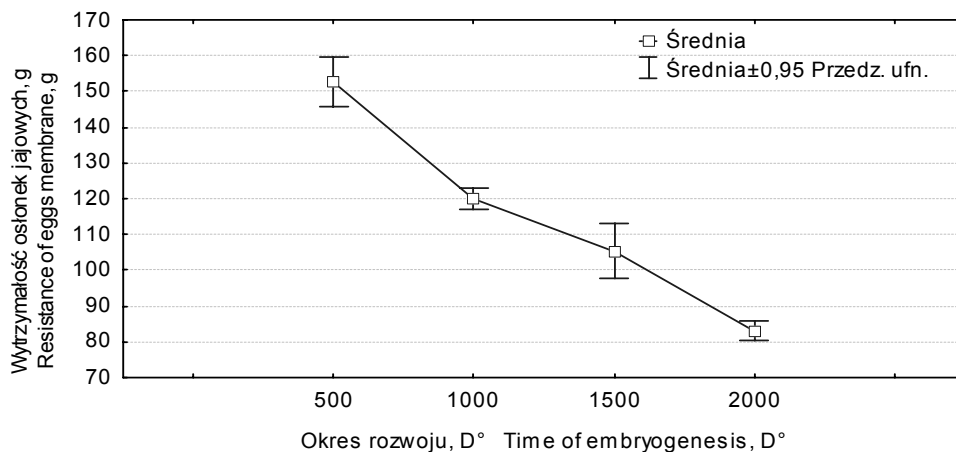
Inaczej niż w przypadku objętości, liczba klas w rozkładzie wytrzymałości osłonek jajowych była znaczna, czego efektem jest większa liczba przedziałów grupowych (rys. 4), zwłaszcza na początku i w trakcie embriogenezy.

Krótko po złożeniu jaja miały ciemnobrązowe zabarwienie oraz owalny kształt. Na tym etapie nie zaobserwowano w jaju przestrzeni periwitellarnej. Pierwszy etap



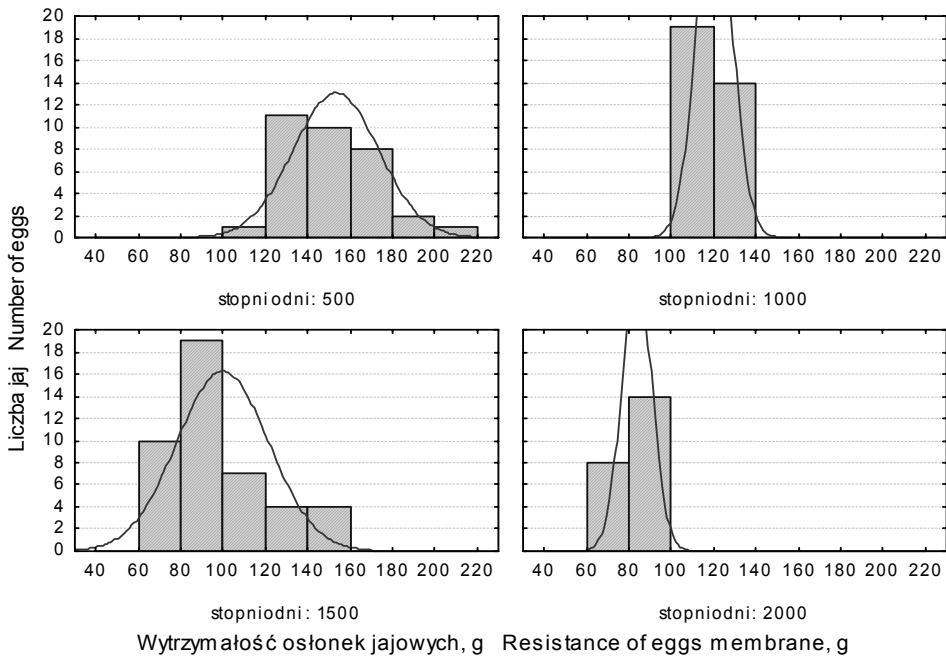
Rys. 2. Rozkład objętości jaj raka szlachetnego (*Astacus astacus* L.)
– test Kołmogorowa-Smirnowa, $p < 0,01$

Fig. 2. Distribution of egg volume of the *Astacus astacus* L. (Kolmogorov-Smirnov test, $p < 0.01$)



Rys. 3. Zmiany wytrzymałości osłonek jajowych raka szlachetnego (*Astacus astacus* L.)
w trakcie rozwoju zarodkowego (test Kołmogorowa-Smirnowa, $p < 0,01$)

Fig. 3. Changes in the resistance of egg membrane of the *Astacus astacus* L.
(Kolmogorov-Smirnov test, $p < 0.01$)



Rys. 4. Rozkład wytrzymałości osłonek jajowych raka szlachetnego (*Astacus astacus* L.)
– test Kołmogorowa-Smirnowa, $p < 0,01$

Fig. 4. Distribution of the resistance of egg membrane of the *Astacus astacus* L.
– Kolmogorov-Smirnov test, $p < 0.01$

rozwoju trwał od chwili złożenia jaj do momentu pojawienia się na ich powierzchni blastomerów (tab. 2). Żółtko dzieliło się na piramidy żółtkowe.

Jednocześnie na całej powierzchni żółtka tworzyła się blastoderma. Podział żółtka przebiegał w bardzo wolnym tempie i kończył się dopiero po upływie 352 D° (III faza rozwoju zarodkowego). Po upływie kolejnych 240 D° na powierzchni żółtka obserwowano zawiązki żołądkowe zarodka, chociaż nadal nie było przestrzeni periwitellarnej (V faza rozwoju zarodkowego). Zamykanie blastoporu (przyszłego otworu gębowego) zarejestrowano w 928 D° (VII faza rozwoju zarodkowego).

W 1200 D° zarodek przybrał postać naupliusu, u którego widoczne były anteny I i II pary oraz żuwaczki. Przydatki uwypuklały się nad powierzchnią kuli żółtkowej i układały się w formie okręgu. Zarodek w tym okresie zajmował ok. 30% objętości jaja (IX faza rozwoju zarodkowego). Dalszy rozwój zarodka polegał na stopniowym powiększaniu się głowotułowia i pojawieniu się kolejnych przydatków głowotułowiowych. Pojawił się już związek odwłoka, chociaż był on jeszcze bardzo nieznacznych rozmiarów. Na tym etapie powstała już przestrzeń periwitellarna, która obejmowała około 15% objętości jaja (X faza rozwoju zarodkowego).

Tabela 2. Przebieg i czas trwania poszczególnych etapów embriogenezy raka szlachetnego (*Astacus astacus* L.)**Table. 2.** The course and duration of particular stages of embryogenesis of the *Astacus astacus* L.

Faza rozwoju Stage of embryogenesis	Czas rozwoju Duration of embryogenesis D°	Opis fazy rozwoju Description of the growth stage
I	tuż po złożeniu jaj shortly after egg laying	jajo wkrótce po złożeniu, bez zewnętrznych oznak podziału the egg shortly after being laid without external signs of division
II	240	pojawienie się bruzd podziałowych na powierzchni jaja appearance of division furrows on the egg surface
III	352	wykształcenie się blastodermy formation of blastoderm
IV	480	formowanie się endodermy, mezodermy, pojawienie się przydatków głowowych oraz zawiązków tułowia i odwłoka formation of endoderm, mesoderm, the appearance of cephalothorax germs and abdomen
V	592	zarodek z półkolistymi żołądkowymi przydatkami embryo with semicircular stomach germs
VI	816	zarodek z kolistymi żołądkowymi przydatkami embryo with circular stomach germs
VII	928	zamykanie blastoporu closing of blastopore
VIII	1040	zarodek z zawiązkami żuwaczek embryo with mandible germs
IX	1200	stadium naupliusa the phase of nauplius
X	1300	zarodek z zawiązkami szczęk (szczęki pierwszej, drugiej pary, pierwsza para szczękonożek) embryo with germs of clangs (clangs of the first, second pair, first pair of maxilipedes)
XI	1400	zarodek z zawiązkami odnóży krocnych embryo with germs of gressorial limbs
XII	1500	pojawienie się akcji serca the appearance of the heart action
XIII	1800	pojawienie się pigmentu ocznego the appearance of eye pigment
XIV	1850	embrion z wykształconym płatem wątroby embryo with developed lobes of the liver
XV	1900–2100	wylęg hatching

Wylęganie się larw: pierwsze wylęgi – 1900 D°, 50% wylęgu – 1930 D°, ostatnie wylęgi – 2100 D°.

Hatching of larvae: first hatching – 1900 D°, 50% hatching – 1930 D°, last hatching – 2100 D°.

W miarę postępu embriogenezy (1400 D°) zaobserwowano wzrost wszystkich przydatków tułowiowych (anten I i II pary, żuwaczek, szczękonoży, pierwszej pary odnóży krocnych) oraz pojawienie się odnóży odwłokowych. Zawiązki oczu były widoczne w części szczytowej głowotułowia. Tuż pod nimi umiejscowiły się anteny pierwszej pary, niżej dwuramiennie anteny drugiej pary, pod nimi zaś wykształcone zostały szczęki i szczękoczułki. W części centralnej zarodka wykształciło się labrum. Cały zarodek otoczony został karapaksem (XI faza rozwoju zarodkowego) – tabela 2.

W 1500 D° podjęło pracę serce. Skurcze jego następowały w regularnych odstępach, w tempie ok. 49 uderzeń na minutę. W tym okresie zarodek zajmował 50% objętości jaja. Wyraźnie wykształcone odnóża krocne układały się równomiernie na powierzchni odwłoka, który uległ już podziałowi na poszczególne segmenty. Całe żółtko zostało zgromadzone w głowotułowiu, a przez przezroczysty karapaksa widoczne były poszczególne narządy wewnętrzne i materiał zapasowy (XII faza rozwoju zarodkowego).

Na krótko przed wylęgiem (1800 D°) pojawił się pigment w oczach, zaś na powierzchni zarodka zaobserwowano równomiernie rozmieszczone komórki pigmentowe. Głowotułów zarodka był dwukrotnie większy od pozostałej części ciała. Kleszcze (I pary odnóży krocnych) układały się między oczami zarodka, przykrywając rostrum. Odwłok został podzielony na wyraźnie wyodrębnione segmenty, zaś po jego bokach rozwijały się odnóża krocne (XIII faza rozwoju zarodkowego). Pojawiły się płyty wątrobotrzustki. Liczba skurczów serca zwiększyła się do 110 uderzeń na minutę. Zarodek był już w pełni przygotowany do opuszczenia osłon jajowych.

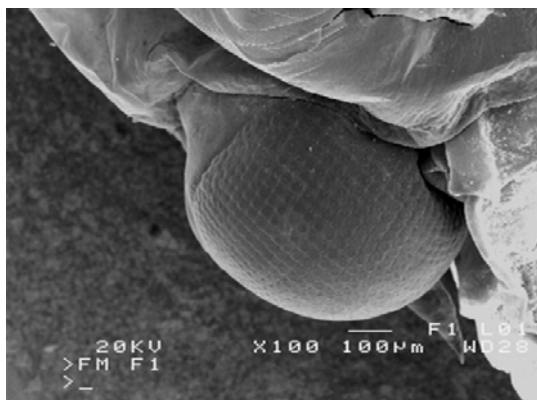
Wylęg w chwili opuszczenia osłonek jajowych przypominał zminiaturyzowaną postać dorosłą (fot. 1), chociaż nie był jeszcze wyodrębniony telson i uropodia. Kleszcze oraz odnóża krocne były zaopatrzone w charakterystyczne haki, umożliwiające przyczepienie się wylęgu do pleopodów samicy. Zbudowane z licznych ommatidiów oczy (fot. 2) pozostawały nieruchome.



Fot. 1. Głowotułów osobnika młodocianego raka szlachetnego (*Astacus astacus* L.)

Photo 1. Cephalothorax of the individual of the young (*Astacus astacus* L.)

Fot. 2. Oczy złożone raka szlachetnego (*Astacus astacus* L.)
Photo 2. Compound eyes of the *Astacus astacus* L.



DYSKUSJA WYNIKÓW

Celem wielu prac, dotyczących embriogenezy raków, oprócz aspektów poznawczych, było poprawienie efektów hodowlanych, czyli zwiększenie przeżywalności form młodocianych, oraz skrócenie czasu inkubacji, a przez to zmniejszenie kosztów produkcji [HESSEN i in., 1987; MASTYŃSKI, ANDRZEJEWSKI, 2005; POLICAR, SIMON, KOZAK, 2004; WESTIN, GYDEMO, 1986]. W niniejszej pracy szczególnie nacisk położono na analizę zmian morfometrycznych, obejmujących zwiększenie objętości jaj i zmniejszanie się wytrzymałości ich osłonek.

Doświadczenia o takim charakterze były prowadzone jedynie w Katedrze Anatomii i Embriologii Ryb na jednym gatunku – raku sygnałowym (*Pacifastacus leniusculus* Dana) [WINNICKI i in., 2004].

W naszych badaniach zwiększenie wymiarów jaj podczas embriogenezy było równomierne, inaczej niż w badaniach HESSENA i in. [1987], w których największe zwiększenie objętości nastąpiło na krótko przed wylęgiem. Powiększanie się wymiarów było spowodowane stopniowym wchłanianiem wody, na zasadzie różnicy ciśnień osmotycznych po obu stronach osłon jajowych, przez cały okres embriogenezy, czego efektem jest rozciągnięcie ich tak bardzo, że na krótko przed wylęgiem nawet niewielki nacisk na nie powoduje ich pęknięcie.

Efektom zwiększenia wymiarów jaj jest powstawanie przestrzeni okołozarodkowej, która systematycznie wypełniała się płynem periwitellarnym, stanowiącym odpowiednie środowisko dla powiększającego swe wymiary zarodka.

Wytrzymałość osłonek jajowych w trakcie rozwoju zarodkowego zmieniała się – największa była na początku embriogenezy i w miarę postępu rozwoju malała. Porównując wytrzymałość osłonek jajowych pochodzących od różnych gatunków raków z wód polskich [PAWLOS, 2007] z rakiem szlachetnym, zaobserwowano, że osłonki jajowe tego gatunku raka były najbardziej wytrzymałe, co wynikało – być może – z warunków środowiskowych, jakie ten rak obrał do rozrodu (płynące wody o wartkim nurcie).

W niniejszych badaniach uzyskano dłuższy czas inkubacji jaj, niż przedstawiony przez innych badaczy [CUKERZIS, 1973; HESSEN i in., 1987; POLICAR, SIMON, KOZAK, 2004], co prawdopodobnie było spowodowane tym, że przetrzymywali oni samice z jajami bądź same jaja w wodzie o podwyższonej temperaturze, gdyż jednym z celów ich badań było uzyskanie przyspieszonego wylęgu, który dzięki temu miałby przed sobą dłuższy okres rozwoju w pierwszym sezonie wegetacyjnym, a tym samym – szybszy wzrost w kolejnych latach.

Zawiązki serca zarodków raka szlachetnego pracowały w znacznie wolniejszym tempie niż u raka pręgowatego (*Orconectes limosus* Raf.) [PAWLOS, 2007]. Różnica ta wynika, jak można wnioskować, z odmiennych warunków termicznych, w jakich zachodzi rozwój zarodkowy, gdyż rak szlachetny rozwijał się w temperaturze ok. 8°C, natomiast jaja raka pręgowatego były inkubowane w 15°C. W wyższej temperaturze procesy przemiany materii zachodzą szybciej i w wyniku tego szybsza jest akcja serca. Nie bez znaczenia pozostaje fakt, że rak pręgowaty bytuje w wodach o znacznie gorszym natlenieniu, dlatego szybsza akcja serca umożliwia szybsze doprowadzenie tlenu do poszczególnych narządów.

Świeżo wylęgnięte osobniki różnią się tylko nieznacznie od osobników dorosłych, m. in. hakami znajdującymi się na końcach kleszczy, telsonem pozbawionym uropodii, głowotułowiem znacznie rozwiniętym w stosunku do odwłoka. Obecność haków jest niezbędna do przyczepienia się do pleopodów samicy.

Badania rozrodu raków w warunkach laboratoryjnych dają szansę na osiągnięcie sukcesu zarówno w systemie podchowalnictwa stawowego, jak i warunkach naturalnych podczas budowy stada reprodukcyjnego. Impulsem komercyjnym może być możliwość obrotu nadwyżkami wyprodukowanych raków, co jest bardzo dochodowym przedsięwzięciem. Doświadczenia produkcyjne krajów skandynawskich dowodzą, że mimo iż hodowla raka szlachetnego jest specyficzna i trudna, to tego typu przedsięwzięcia mają pełną szansę realizacji.

Niezwykle istotne są wszelkie badania oraz inne działania poszerzające świadomość ekologiczną w celu zachowania tego cennego gatunku w naszych wodach. Zaznaczyć w tym miejscu należy pozytywne zjawisko, jakim jest coraz większe zainteresowanie ze strony administracji lokalnej i organizacji społecznych poprawą stanu oraz składu ichtiofauny i astakofauny krajowych rzek i jezior, co bezpośrednio przekłada się na zwiększenie zainteresowania ze strony ekoturystów.

WNIOSKI

1. Czas trwania embriogenezy wynosił 2100 D° i zależał od warunków środowiskowych, w jakich bytuje badany gatunek.
2. Jaja raka chłoną wodę nie jednorazowo, tuż po aktywacji, lecz przez cały okres embriogenezy, w wyniku czego ich objętość stale zwiększa się z upływem czasu.

3. Wytrzymałość osłonek jajowych w trakcie embriogenezy ulegała ciągłym zmianom – największa była tuż po aktywacji jaj, a później, w miarę upływu czasu, stale malała, by w chwili wylęgu osiągnąć wartość najmniejszą.

4. Zmniejszenie wytrzymałości osłonek jest odwrotnie proporcjonalne do stopnia uwadniania jaj, a zatem zwiększenia ich objętości.

LITERATURA

- ABRAHAMSSON S.A.A., 1966. Dynamics of an isolated population on the crayfish *Astacus astacus* Linné. *Oikos* 17 s. 96–107.
- ANDREWS E.A., 1907. The young of the crayfishes *Astacus* and *Cambarus*. *Smithsonian Contributions to Knowledge* 35 ss. 79.
- CELADA J.D., DE PAZ P., GAUDIOSO V.R., FERNANDEZ R., 1987. Embryonic development of the freshwater crayfish (*Pacifastacus leniusculus* Dana): a scanning electron microscopic study. *Anat. Rec.* 219 s. 304–310.
- CELADA J.D., CARRAL J.M., GONZALEZ J., 1991. A study on the identification and chronology of the embryonic stages of freshwater crayfish *Austropotambius pallipes* (Lereboullet, 1858). *Crustaceana* 61 s. 225–232.
- CUKERZIS J., 1973. Biologische Grundlagen der Methode der kunstlichen Aufzucht der Brut des *Astacus astacus* L. *Freshwater Crayfish*. I. Austria s. 187–202.
- GIELO M., 1975. Raki. *Gospodarka Rybacka* 11 s. 9–10.
- HESSEN D.O., TAUGBØL T., FJELD E., SKURDAL J., 1987. Egg development and lifecycle timing in the noble crayfish (*Astacus astacus*). *Aquaculture* 64 s. 77–82.
- HUXLEY T.H., 1880. *The Crayfish. An introduction to the study of zoology*. New York: D. Appleton & Co. (Reprint: www.biology.ualberta.ca/palmer.hp/thh/crayfish.htm).
- KRZYWOSZ T., ŚMIETANA P., 2004. *Astacus astacus* (Linnaeus, 1758). Rak szlachetny, r. rzeczny, Noble Crayfish. W: *Polska czerwona księga zwierząt – Bezkręgowce*. Kraków: Wydaw. IOP PAN s. 37–39.
- LEŃKOWA A., 1962. Badania nad przyczynami zaniku, sposobami ochrony i restytucją raka szlachetnego *Astacus astacus* (L.) w związku z rozprzestrzenianiem się raka amerykańskiego *Cambarus affinis* Say. *Ochr. Przyr.* PAN. 28 s. 37.
- MASTYŃSKI J., ANDRZEJEWSKI W., 2005. Chów i hodowla raków. Poznań: Wydaw. AR ss. 168.
- PAWŁOS D., 2007. Osobliwości embriogenezy raków żyjących w wodach Polskich. Szczecin: AR rozpr. dokt. maszyn. ss. 141.
- POLICAR T., SIMON V., KOZAK P., 2004. Egg incubation in the noble crayfish (*Astacus astacus* L.): The effect of controlled laboratory and outdoor ambient condition on hatching success, growth and survival rate of juveniles. *Bulletin Francais de la Peche et de la Pisciculture* 372–373 s. 411–423.
- REICHENBACH H., 1877. Die Embryonalentwicklung und erste Entwicklung des Flusskrebse. *Zeitschr. wiss. Zool.* 29 s. 123–196.
- SKURDAL J., TAUGBØL T., 2002. *Astacus*. W: *Biology of freshwater crayfish*. Pr. zbior. Red. D.M. Holdich. London: Blackwell Sci. Ltd. s. 467–510.
- STRUŻYŃSKI W., 1999. Nasze raki – rak szlachetny (*Astacus astacus* L.) reliktem naszych wód. *Przeгляд Rybacki* t. 24 z. 2. s. 26–29.
- ŚMIETANA P., KRZYWOSZ T., STRUŻYŃSKI W., 2004. Review of the national restocking programme „Active Protection of Native Crayfish in Poland” 1999–2001. *Bulletin Francais de la Peche et de la Pisciculture* 372–373 s. 289–301.

- WESTIN L., GYDEMO R., 1986. Influence of light and temperature on reproduction and molting frequency of the crayfish, *Astacus astacus* L. *Aquaculture* 52 s. 43–50.
- WINNICKI A., PAWLOS D., FORMICKI K., ŚMIETANA P., 2004. On selected morphomechanical characteristics of signal crayfish (*Pacifastaus leniusculus* Dana) eggs during incubation. *Bulletin Francais de la Peche et de la Pisciculture* 372–373 s. 431–438.
- ZEHNDER H., 1934. Über die Embryonalentwicklung des Flusskrebse. *Acta Zoologica* 15 s. 261–408.

Dorota PAWLOS, Agata KORZELECKA-ORKISZ,
Piotr WESOŁOWSKI, Krzysztof FORMICKI

MORPHOMECHANICAL CHANGES IN EGGS OF THE NOBLE CRAYFISH (*Astacus astacus* L.) DURING EMBRYOGENESIS

Key words: *Astacus astacus*, eggs, embryo, embryogenesis, morphomechanical changes

S u m m a r y

Constantly increasing pollution of the environment, invasive species, and a great harm caused by the plague (*Aphanomyces astaci*) contributed to a significant decrease of the noble crayfish (*Astacus astacus*) in Poland. Expanding the knowledge of the biology, reproduction and embryogenesis of the noble crayfish is necessary not only for its conservation, but also to improve its farming.

Our study shows that embryogenesis of the noble crayfish at an average temperature of $8 \pm 2^\circ\text{C}$ lasted 2100 D°. The partition of the vitellus showed a rather slow rate and ended after 352 D°. First semicircular germs of the embryo were observed at 592 D°. Blastopore closed off at 928 D°. At 1200 D° embryo assumed the shape of nauplius, and at this stage the antennae of I, II pair and mandibles were visible. At about 1500 D° the heart became active. Shortly prior to hatching (1800 D°) eyes were pigmented, while steady distribution of pigment cell was observed on the surface of the embryo. After the analysis of morpho-mechanical changes in eggs of the noble crayfish, we found that the volume of eggs in the course of embryogenesis increased from $9.26 \pm 0.44 \text{ mm}^3$ to $13.5 \pm 0.44 \text{ mm}^3$ just shortly prior to hatching. Mechanical resistance of egg membrane to applied pressure was considerable – $150.0 \pm 20.2 \text{ g}$ at the beginning of embryogenesis, and dropped at hatching to $83.5 \pm 7.1 \text{ g}$. The S/V coefficient at the beginning of embryonic development was 2.291 and decreased during embryogenesis to 2.017.

Recenzenci:

prof. dr hab. Tadeusz Krzywosz

dr hab. Elżbieta Rościszewska

Praca wpłynęła do Redakcji 31.08.2009 r.