

*На правах рукописи*



**Шульгина  
Елена Валерьевна**

**ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ АДАПТАЦИЙ  
ЛОСОСЕВЫХ РЫБ (SALMONIDAE) К ОБИТАНИЮ  
В УСЛОВИЯХ ИЗБЫТОЧНОЙ МИНЕРАЛИЗАЦИИ ВОДЫ**

1.5.13. Ихтиология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Москва – 2025

Работа выполнена в Государственном научном центре Российской Федерации Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» (ГНЦ РФ ФГБНУ «ВНИРО»), г. Москва

**Научный руководитель:**

**Есин Евгений Владиславович**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экологии низших позвоночных ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук (ИПЭЭ РАН), г. Москва

**Официальные оппоненты:**

**Пронина Галина Иозеповна**, доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры зоологии ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева (РГАУ–МСХА им. К.А. Тимирязева), г. Москва

**Микодина Екатерина Викторовна**, доктор биологических наук, профессор, г. Москва

**Ведущая организация:**

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (МГУ имени М.В. Ломоносова), г. Москва

Защита диссертации состоится «09» апреля 2025 г. в 14<sup>00</sup> часов на заседании диссертационного совета 37.1.001.01 при Государственном научном центре Российской Федерации Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» (ГНЦ РФ ФГБНУ «ВНИРО») по адресу: 105187, г. Москва, Окружной проезд, д. 19.

Телефон: +7 (499) 369-92-83, доб. 43-10, электронный адрес: [buyanovskiy@vniro.ru](mailto:buyanovskiy@vniro.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ГНЦ РФ ФГБНУ «ВНИРО»: <http://vniro.ru/files/disser/2024/shulgina-disser.pdf>

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2025 г.

Учёный секретарь  
диссертационного совета,  
доктор биологических наук



Буяновский А.И.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Лососевые рыбы сем. Salmonidae доминируют в пресных водах Северо-Востока Азии, включая полуостров Камчатка. Эволюционный успех этой группы анадромных рыб обусловлен экологической пластичностью лососевых рыб. В частности, лососевые способны эффективно инвертировать водно-солевой обмен организма с гипо- на гиперосмотический тип в мальковом периоде, осваивая в ходе дальнейшего онтогенеза новые местообитания с морской солёностью воды или с избыточным содержанием солей тяжёлых металлов. Смолтификации лососевых, предшествующей скату в море, и их адаптациям к заселению токсичных и закисленных местообитаний посвящена обширная научная литература (Куренков, 1957; Лукьяненко, 1983; Hoar, 1988; Groot, Margolis, 1991; Варнавский, 1993; Stefansson et al., 2008; Моисеенко, 2009; Черешнев и др., 2002; Esin, 2015; Есин и др., 2018, 2023).

Несмотря на прогресс научных исследований понимания выбора жизненной стратегии лососевых рыб, остаётся ряд принципиальных вопросов по механизмам регуляции гормонально-физиологического каскада, обеспечивающего инверсию водно-солевого обмена. Ряд ключевых этапов данного метаболического пути контролируют биологически активные вещества с плейотропными эффектами, и их комплексное воздействие может ускорять, тормозить или останавливать процесс, обеспечивать разную эффективность инверсии водно-солевого обмена или реализовывать её за счёт разных физиологических механизмов.

Лососевые относятся к ценным промысловым видам рыб, и их промысел играет существенную роль в экономике Дальнего Востока России. Для восстановления популяций лососей и роста их запасов строятся лососевые рыболовные заводы (далее – ЛРЗ), выпускающие подрощенную молодь. При этом виды, представляющие наибольшую коммерческую ценность (чавыча *Oncorhynchus tshawytscha*, нерка *O. nerka*, кижуч *O. kisutch*, сима *O. masou*), составляют не более 2% от объёма искусственного воспроизводства. Масштабное разведение этих видов сдерживается сложностью получения физиологически полноценных смолтов. При существующих биотехниках индивидуальная смолтификация часто развивается по девиантным

путям, для коррекции которых требуется разработка соответствующих терапий. Виды лососевых с длительным пресноводным периодом жизни также способны не смолтифицироваться и формировать жилые группировки, нагуливающиеся и размножающиеся в пресных водах. В случае с заводской молодью это приводит к конкурентным отношениям с дикими особями и снижению эффективности работы ЛРЗ.

Для урбанизированных территорий Дальнего Востока встаёт проблема хронического антропогенного загрязнения местообитаний лососевых в небольших реках. Понимание механизмов адаптации жилых лососевых к обитанию в неблагоприятной токсичной среде остается актуальным в настоящее время. Удачной моделью для анализа последствий акклиматизации к загрязнению являются популяции, оказавшиеся в зоне хронического загрязнения из вулканических источников. В частности, жилые лососевые обнаружены в ручьях, стекающих с вулканов на Камчатке (Куренков, 1957; Esin, 2015, 2017; Markevich, Esin, 2018). Процесс выведения избытков солей металлов из организма в этом случае сопряжён с противодействием окислительному стрессу. В итоге инверсия водно-солевого обмена реализуется по другому пути, чем при смолтификации, а фенотипические последствия такой адаптации кардинально отличаются от последствий смолтификации молоди лососей.

В связи с изложенным понимание физиологических процессов, протекающих у лососевых рыб с длительным пресноводным периодом жизни при смолтификации и адаптации к токсичной минерализованной воде, вызывает фундаментальный научный и прикладной интерес.

**Цель исследования:** оценка динамики физиологического состояния лососевых рыб родов *Oncorhynchus* и *Salvelinus* с длительным пресноводным периодом жизни в процессе метаморфоза (смолтификации) и адаптации к токсичной пресной воде (неотения).

**Задачи исследования:**

- 1) охарактеризовать динамику биохимических показателей организма молоди при смолтификации;
- 2) оценить влияние активности эндокринной системы на процесс смолтификации;
- 3) сравнить физиологические особенности смолтификации молоди из природной среды и молоди тех же видов, выращенной на ЛРЗ;
- 4) сравнить разные критерии оценки степени смолтификации молоди лососевых и предложить способы повышения эффективности заводского разведения тихоокеанских лососей с длительным пресноводным периодом жизни путем контроля физиологических показателей;
- 5) выявить гормонально-физиологические механизмы приспособления к оседлому образу жизни в условиях критического загрязнения пресноводной среды обитания, оценить экологические причины и фенотипические последствия этой адаптации в сравнении со смолтификацией.

**Научная новизна.**

Обнаружены устойчивые различия в работе гормонально-физиологического каскада при смолтификации молоди лососевых в природных условиях и при подращивании на заводах, определяющие низкую солеустойчивость заводских рыб. Определено, что молодь кижуча *Oncorhynchus kisutch* массой 10 г, выращиваемая на Вилюйском рыбоводном заводе, по гормонально-физиологическим параметрам не является смолтом, в отличие от диких особей с такой же массой тела. Предложены терапии, повышающие способность регулировать водно-солевой баланс в морской воде у молоди лососевых, не достигшей «порогового» размера смолта.

Обнаружены и изучены популяции гольца – мальмы *Salvelinus malma*, постоянно обитающие в ручьях, стекающих с вулканов, вода которых характеризуется избыточным содержанием солей тяжёлых металлов. Описана физиология возникновения неотении в таких популяциях.

Впервые получены данные, подтверждающие, что смолтификация и адаптация к обитанию в химически загрязнённой пресной воде у лососевых происходят за счет

инверсии единого гормонально-физиологического каскада.

### **Теоретическое и практическое значение работы.**

Определена динамика гормонально-физиологических показателей и их значения на разных этапах смолтификации.

Установлен механизм физиологических изменений и последствий специализации пресноводных популяций лососевых при загрязнении среды обитания тяжёлыми металлами.

Предложена оптимизация биотехники разведения лососевых видов рыб с длительным пресноводным периодом жизни.

### **Материал и методы исследования.**

В работе объединены результаты натурных исследований, экспериментов на лососевых рыборазводных заводах и в лабораторной аквариальной. Проводили анализ биологических характеристик, гематологических и биохимических показателей, концентрации гормонов, активности ферментов. Ставили эксперименты по оценке солеустойчивости, стимуляции смолтификации и акклимации рыб к избыточному содержанию в воде солей тяжёлых металлов. В работах по смолтификации использовали молодь чавычи, кижуча и нерки; акклимацию к токсичной среде изучали на гольцах (мальма). Полученные данные анализировали с помощью стандартных математических методов.

### **Положения, выносимые на защиту:**

1) в природных и заводских условиях смолтификация молоди лососевых рыб с продолжительным пресноводным периодом жизни может произойти только при двух условиях: во-первых, по достижении определённого видоспецифического порогового размера – не менее 7 г у чавычи, 4 г у нерки, 10 г у кижуча и 12–13 г у мальмы и, во-вторых, после накопления достаточного количества эссенциальных полиненасыщенных жирных кислот и запуска гормонально-физиологического каскада, инициируемого тиреоидными гормонами. Добиться смолтификации у молоди лососей меньших размеров возможно путём гормональной стимуляции и контроля факторов внешней среды;

2) при смолтификации дикой и заводской молоди тихоокеанских лососей динамика ряда биохимических показателей (содержание тропных гормонов гипофиза, тиреоидных гормонов, кортизола, кальцитонина и паратгормона, активности  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы) существенно различается, что может свидетельствовать о разных возможностях к регуляции солевого баланса;

3) изменение физиологической активности эндокринной системы у молоди лососевых рыб с продолжительным пресноводным периодом жизни вследствие химического отравления может спровоцировать нарушение смолтификации. Кратковременный всплеск активности щитовидной железы пролонгируется в хронический гипертиреозидизм, ускоряется метаболизм, энергетические ресурсы расходуются на противодействие окислительному стрессу. Онтогенез продолжается по пути неотении – раннего полового созревания лососевых на стадии пестрятки.

**Степень достоверности результатов.** Достоверность результатов обеспечена проведением исследований с использованием достаточного количества образцов для биологических и технических повторов, применением комплекса современных биохимических методов, а также общепринятых современных статистических методов обработки данных. Полученные результаты исследования прошли независимое слепое рецензирование при их опубликовании в российских и зарубежных научных изданиях.

**Личный вклад автора.** Работы по теме диссертации, которые начались в 2002 г. с проработки методов по оценке готовности молоди к переходу на морской образ жизни. Автор самостоятельно ставил задачи, планировал работы и эксперименты, участвовал в экспедициях, получал и обобщал данные.

**Апробация работы.** Основные результаты диссертации были представлены в виде докладов на Международных и Всероссийских конференциях: «Проблемы естественного и искусственного воспроизводства рыб в морских и пресноводных водоемах» (Ростов-на-Дону, Азов, 2004); «Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей» (Петропавловск-Камчатский, 2004, 2023); «Изучение водных и наземных экосистем: история и современность» (Севастополь, 2021, 2022); «Чтения

памяти профессора Владимира Яковлевича Леванидова» (Владивосток, 2023).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 17 печатных работ, из них 8 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК для публикации результатов научных исследований, и 9 тезисов и материалов докладов.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, четырех глав (обзор литературы, материалы и методы, результаты исследования, обсуждение результатов), выводов, списка сокращений и списка литературы. Работа изложена на 140 страницах, документирована 32 рисунками, 5 таблицами. Список литературы содержит 298 источников, из них 109 отечественных.

**Благодарности.** Автор выражает искреннюю благодарность своему бессменному наставнику В.Н. Леману и научному руководителю Е.В. Есину. Неоценимую помощь на завершающем этапе подготовки к защите диссертации оказал М.К. Глубоковский. Автор выражает огромную благодарность коллегам, с которыми довелось работать, которые все время меня поддерживали: Б.П. Смирнову, Г.Н. Маркевичу, Ф.Н. Шкилю, Ю.А. Баскаковой, А.В. Михайлову и самой неравнодушной А.Н. Канзепаровой. Особо хочется поблагодарить руководство и коллективы Малкинского и Вилюйского лососевых рыболовных заводов, в частности Л.В. Сахаровскую, Т.В. Волкову, А.М. Волкову и А.В. Волкова.

## ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

В обзоре литературы приводится описание жизненных стратегий лососевых рыб, отмечено наличие видов с коротким и с длительным пресноводным периодом жизни. Описывается ход и этапность онтогенеза лососевых рыб. Изложены современные представления о механизмах смолтификации с акцентом на основные причины, запускающие этот процесс. Приводятся сведения об адаптации изолированных форм лососевых при масштабном загрязнении их мест обитания. Приведено краткое описание исследуемых видов лососевых рыб.



## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили на Камчатке в период с 2002 по 2023 гг. В работе проанализированы физиологические адаптации лососевых рыб к обитанию в морской среде (смолтификация) и к жизни в химически загрязнённых изолированных водотоках (неотения). Смолтификацию изучали на молоди тихоокеанских лососей с длительным пресноводным периодом жизни: чавычи, нерки и кижуча, выращиваемой на Малкинском и Виллюйском лососевых рыбоводных заводах. Заводскую молодь сравнивали с дикой молодью тех же видов рыб, выловленной из базовых водных объектов заводов. Акклиматизацию к токсичной среде изучали на гольцах (мальма), находящихся в изоляции в ручьях вулканического пояса Камчатки; сравнивали с гольцами из чистых рек Авача и Карымчина.

Анализировали размерно-весовые параметры рыб; концентрацию глюкозы и гемоглобина, уровень гематокрита и осмолярность крови; активность  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы жабр, гормональный статус по концентрации соматотропинов и пролактина, трийодтиронина, кортизола, кальцитонина и паратгормона; содержание активных физиологических веществ в крови; соотношение фракций липидов и жирных кислот; реакции окислительного стресса; рутинный уровень метаболизма. Для решения поставленных задач был проведён ряд экспериментов, в которых изучали выживаемость и акклимацию рыб в зависимости от воздействий (гормональные терапии) и условий содержания (солёность, острые и хронических токсикологических тесты) (табл. 1). Все исследования проводили с использованием общепринятых современных методик. Было подобрано портативное оборудование, для обработки проб в полевых условиях. Часть биоматериала консервировали для дальнейшей обработки в лабораторных условиях. Полученные данные анализировали с помощью стандартных математических методов. В работе соблюдали принципы гуманного обращения с животными.

Таблица 1 – Объем собранного материала

Виды рыб	Виды анализа							
	Биологический анализ	Анализ физиологического состояния					Тесты в солёной воде / токсикологические	Потеря массы тела
		1	2	3	4	5		
<b>СМОЛТИФИКАЦИЯ</b>								
Чавыча, нерка, кижуч	1842	3941	121	197	95	-	2687 / -	443
<b>НЕОТЕНИЯ</b>								
Мальма*	629	179	102	152	123	192	- / 1035	-
<b>ВСЕГО</b>	<b>2471</b>	<b>4120</b>	<b>223</b>	<b>349</b>	<b>218</b>	<b>192</b>	<b>3722</b>	<b>443</b>

\*- Анализ химический состав воды; 1 – гематологические, 2 – активность ферментов, 3 – концентрация гормонов, 4 – концентрация запасяющих веществ, 5 – реакции окислительного стресса.

### **ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

#### **3.1. Физиологические параметры у заводской молоди перед выпуском с лососевых рыбоводных заводов**

*Гематологические показатели молоди чавычи и кижуча.* Приведены гематологические показатели сеголеток чавычи средней массой  $5,8 \pm 0,22$  г и двухлеток кижуча средней массой  $12,5 \pm 0,50$  г непосредственно перед выпуском с рыбоводных заводов. Средняя концентрация глюкозы в крови чавычи в разные годы составила 3,2–4,8 ммоль/л, гемоглобина – 65,5–73,4 г/л, уровень гематокрита менялся в диапазоне от 37,3 до 44,6 %. Осмолярность крови у молоди чавычи перед выпуском с завода варьировала от 288 до 321 мосм/л. У молоди кижуча средняя концентрация в крови глюкозы в разные годы составила 4,5–5,7 ммоль/л, гемоглобина – 59,4–72,2 г/л, уровень гематокрита – менялся в диапазоне от 43,8 до 46,2 %. Осмолярность крови у молоди кижуча 1+ перед выпуском с завода в пресной воде была в диапазоне 307–338 мосм/л.

Перевод заводской молоди чавычи и кижуча 1+ в воду солёностью 30 ‰ не повлиял на показатели содержания в крови глюкозы, гемоглобина и гематокрита. Достоверных отличий от контрольных групп не отмечалось. Гематологические показатели, полученные в разные годы исследований, демонстрировали высокую изменчивость и, как правило, достоверно различались (t-тест  $p < 0,05$ ). Не было выявлено корреляции с массой тела ( $r < 0,5$ ).

*Активность  $Na^+/K^+$ -АТФазы жабр молоди чавычи и нерки.* Оценивали возможность использования такого параметра как активность  $Na^+/K^+$ -АТФазы для понимания степени смолтификации. У заводской молоди чавычи наблюдался широкий разброс показателей активности  $Na^+/K^+$ -АТФазы от 2,8 до 7,1, в среднем  $5,01 \pm 0,23$  мкмоль Рн/мг белка/час, достоверных отличий между разными размерными группами заводской молоди не установлено (t-тест  $p > 0,05$ ). У дикой разноразмерной чавычи активность  $Na^+/K^+$ -АТФазы достоверно отличалась: у пестряток массой до 2 г в среднем составила  $3,53 \pm 0,10$  (3,00-3,96) мкмоль Рн/мг белка/час; у серебристых двухлеток средней массой  $7,78 \pm 0,10$  г –  $6,41 \pm 0,07$  (5,92–6,94) мкмоль Рн/мг белка/час. Отмечены достоверные различия активности  $Na^+/K^+$ -АТФазы у одноразмерной (массой  $>7$  г) заводской и дикой молоди чавычи, массой  $>7$  г, – 5,06 и 6,41 мкмоль Рн/мг белка/час, соответственно.

*Анализ состава жирных кислот мышечной ткани молоди чавычи.* В мышцах чавычи было идентифицировано 30 вариантов молекул жирных кислот. Количественно преобладали: из насыщенных – пальмитиновая C16:00, из ненасыщенных – олеиновая C18:1, из полиненасыщенных – линолевая C18:2, эйкозапентаеновая C20:5 и докозагексаеновая C22:6 кислоты. После шести суток в воде солёностью 30 ‰ у полноценных смолтов заводской чавычи почти в 2 раза снизилась общая жирность мышечной ткани, достоверно упала доля эссенциальных омега-3 кислот, за счёт докозагексаеновой и эйкозапентаеновой и выросла относительная доля мононенасыщенных жирных кислот пальмитолеиновой, олеиновой и гондоиновой. Обнаружены различия в липидном составе мышц заводской молоди и диких пестряток. Жирность мышц заводских рыб в среднем составляла 18 % от сухой массы, у диких рыб – 13 %. В мышцах диких пестряток отмечена более высокая доля биологически активных C22:6(n-3) и C20:5(n-3) кислот, структурных C15:0 и C17:0 кислот и сравнительно низкое содержание омега-6 кислот.

*Гормональный статус молоди чавычи.* Анализировали гормональный статус трёх размерных групп заводской молоди чавычи (мелкая, «М» –  $<5$  г, средняя, «С» – от 5 до 7 г, крупная, «К» –  $>7$  г) непосредственно перед её выпуском с Малкинского лососевого рыбководного завода, сравнивали с дикой молодью этого же вида.

Выявлена очень низкая концентрация  $T_3$  у всех групп заводской молодежи чавычи, близкая к границе обнаружения, заявленной производителем для аналитического набора (0,06 нг/г), попадание молодежи в воду с солёностью 30 ‰ не влияло на содержания  $T_3$ . У дикой молодежи чавычи на ранних стадиях серебрения уровень  $T_3$  доходил до 13,0 нг/г, у пестряток - примерно в 3 раза ниже.

Концентрация гормонов роста (соматотропинов и пролактина) в крови, как и кортизола выше у крупной молодежи (рис. 1). Стимуляция солёной водой в течение 6 суток провоцирует скачок этих гормонов у молодежи, способной регулировать водно-солевой баланс.

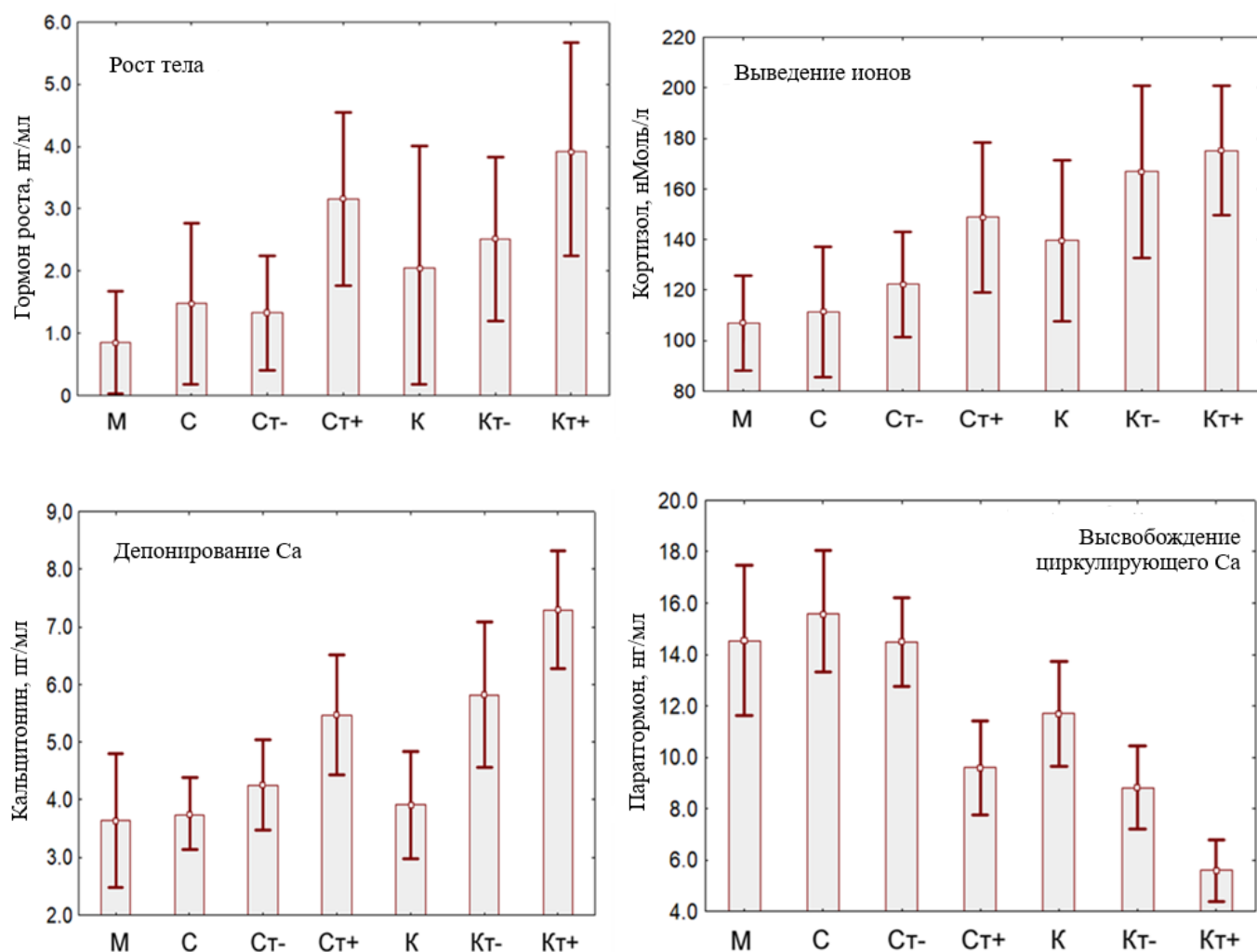


Рисунок 1 – Содержание гормонов роста, кортизола, кальцитонина и паратгормона в плазме чавычи перед выпуском с Малкинского ЛРЗ (среднее  $\pm$  дисперсия). '+' – смолты, '-' – не смолты.

Наблюдали обратную скоррелированную активность секреции кальцитонина и паратгормона. Стимуляция солёной водой привела к достоверному росту концентрации кальцитонина и падению концентрации паратгормона в крови, что особо выражено у крупной молодежи, способной регулировать водно-солевой баланс (рис. 1).

У диких смолтов чавычи концентрация гормонов передней доли гипофиза в среднем составила 7,48 нг/мл, что почти в 2 раза выше, чем у диких пестряток и у крупных заводских смолтов. Уровень кортизола в крови у диких смолтов чавычи был близок к показателям у крупной заводской чавычи, поддерживающей внутренний гомеостаз в солёной воде и составил в среднем 175,91 нМоль/л, у диких пестряток – 121,31 нМоль/л, что соответствует показателям у крупной заводской молодежи чавычи. У дикой молодежи чавычи, как и у заводской, уровень кальцитонина значительно выше у смолтов (7,03 пг/мл), чем у пестряток (4,34 пг/мл), в то время как концентрация паратгормона у смолтов ниже (4,47 нг/мл), чем у пестряток (7,91 нг/мл).

### **3.2. Сравнение разных критериев оценки степени смолтификации у молодежи исследуемых видов тихоокеанских лососей**

Перед выпуском исследуемой молодежи с лососевых рыбоводных заводов провели тесты в воде разной солёности и с разным временем экспозиции, для фиксации изменений в организме при изменении среды обитания.

#### **3.2.1. Тесты на суточную выживаемость молодежи тихоокеанских лососей в воде солёностью 40 ‰**

Тесты на выживаемость в воде солёностью 40 ‰ на молодежи чавычи, нерки и кижуча, выращенной на Малкинском и Вилуйском ЛРЗ, показали достоверную зависимость выживаемости от массы тела рыб. Выживаемость выше 50 % (критерий выживаемости в этом тесте) отмечена у чавычи всех размеров и нерки – от 2 г, у кижуча массой >10 г в разные годы исследований выживаемость менялась от 0 до 90 %. У всех рыб, выживших в «солёностном тесте», в особенности у мелких, осмолярность крови была значительно выше пресноводного уровня. Отмечено, что выживаемость зависит от целостности чешуйного покрова молодежи.

### **3.2.2. Динамика осмолярности крови у молоди тихоокеанских лососей при пересадке в воду солёностью 30 ‰**

Пересадка заводской молоди чавычи в воду солёностью 30 ‰ показала зависимость возможности успешно регулировать водно-солевой баланс от размеров тела. У молоди готовой к скату в море по мере адаптации к повышенной солёности осмолярность крови снижалась до 340 ммоль/л и ниже, вплоть до показателей пресноводного уровня. Дикая молодь чавычи средней массой  $4,64 \pm 0,14$  г, выловленная около эстуария, успешно изменяла тип солевого обмена с гипер- на гипоосмотический.

Молодь нерки средней массой  $5,3 \pm 0,15$  г хорошо поддерживала гомеостаз организма, находясь в воде солёностью 30 ‰.

Двухлетки заводского кижуча средней массой  $11,4 \pm 0,66$  г не могли поддерживать внутренний гомеостаз, у крупного кижуча осмолярность крови ниже. Дикая молодь кижуча средней массой 10,4 г успешно смолтифицируется.

### **3.2.3. Эксперименты по потере массы тела у молоди в солёной воде**

Эксперименты по потере массы тела в солёной воде проводили на заводской молоди чавычи и кижуча 1+ перед выпуском с лососевых рыбоводных заводов. Показано, что с увеличением размеров экспериментальных рыб снижается процент потери массы тела в солёной воде. У смолтов чавычи массой более 7 г снижение массы тела при солёности 30 ‰ прекращалось через 8–12 часов и не превышало 3,4 % (с учётом потери массы тела в контроле), чего не происходит у мелких особей, которые в солёной воде теряли в среднем 13,5 % массы тела. У кижуча снижение массы в течение эксперимента не прекращалось, за сутки потери составили 7,6 % (с учётом потери массы тела в контроле).

### **3.3. Эксперименты по стимуляции к смолтификации молоди**

Молодь реофильной нерки средней массой 1,3 г (пороговый размер смолта нерки – 4 г) стимулировали к смолтификации 4 видами воздействий. В эксперименте выделено 6 групп (рис. 2): 1 – пестрятки в пресной воде; 2 – контроль (без терапий); 3 – интенсивное кормление, увеличение фотопериода и подъём температуры воды (оптимизация условий выдерживания), 4 – оптимизации условий выдерживания

и 3-дневная терапия щитовидной железы (в воде, содержащей 1,0 нг/мл активной формы тиреоидных гормонов), 5 – оптимизация условий выдерживания и 3-дневная акклимация в воде солёностью 15 ‰, 6 – оптимизации условий выдерживания, 3-дневная терапия щитовидной железы и последующая 3-дневная акклимация в воде солёностью 15 ‰. Все терапии проводились на фоне 14 дней интенсивного кормления (10 % массы тела в сутки), в группе 3 – 17 дней. После проведённых терапий все группы пересадили на шесть суток в 10-литровые ёмкости с водой солёностью 30 ‰. Группа 1 не подвергалась ни терапиям, ни пересадке в солёную воду. Только полный комплекс подготовительных манипуляций (группа 6) позволил получить рыб ниже порогового размера смолта, способных хронически поддерживать осмолярность крови в солёной воде на уровне смолта.

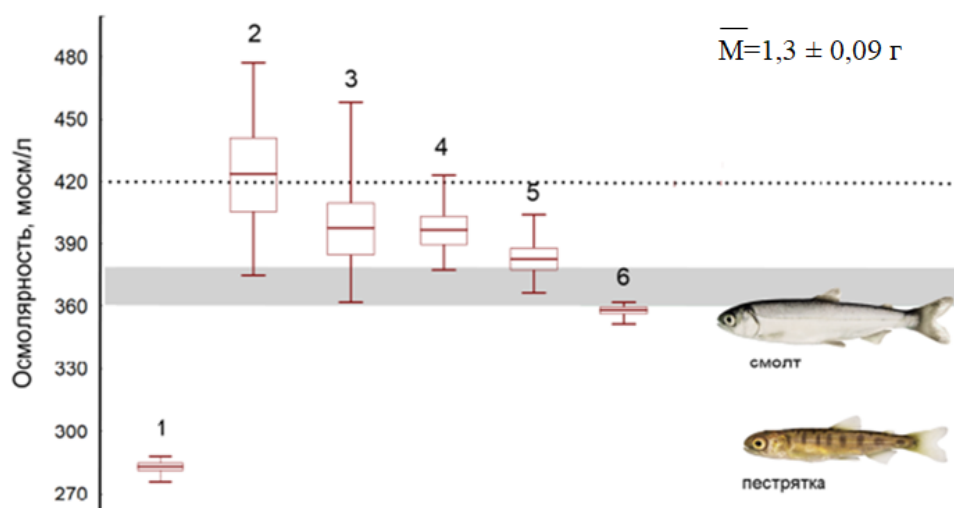


Рисунок 2 – Осмолярность крови молоди нерки через шесть суток в воде солёностью 30 ‰ в экспериментальных группах (обозначены цифрами, см. текст).

Показаны (—) – среднее, (□) – ошибка среднего, (I) – пределы варьирования. Серая зона – субоптимальные значения осмолярности крови; прерывистая линия – острые летальные значения осмолярности крови

### 3.4. Механизмы адаптации изолированных популяций мальмы к химическому загрязнению среды обитания

Сравнивали молодь проходных быстрорастущих гольцов из чистых рек Авача и Карымчина, с миниатюрной тугорослой формой гольца с блеклой окраской из рр. Фальшивая, Кищущ, Тройной, Нижне-Кошелевский, стекающих с вулканов. Предположили, что основной причиной миниатюризации гольцов может быть

адаптация к неблагоприятной среде обитания, поэтому был выполнен химический анализ воды в изучаемых водотоках и оценён ряд физиологических параметров у разных фенотипов мальмы. Затем были проведены эксперименты по оценке выживаемости мальмы в воде с разным химическим составом и акклимации мальмы к воде с повышенным содержанием тяжёлых металлов.

Анализ химического состава воды показал превышение ПДК<sub>рбх</sub> в ручьях, стекающих с вулканов, по ионам Cu, Fe, Mn, Mo, Pb, Sb, Se, V и Zn. Кратное превышение во всех «вулканических» водотоках было выявлено по меди, цинку и свинцу. Превышения содержания химических элементов в растворах не были связаны с мутностью воды ( $t < 0,4$ ). Жесткость, pH и температуры воды характеризовались оптимальными или субоптимальными значениями для лососевых видов рыб.

#### **3.4.1. Физиологическое состояние гольцов *Salvelinus malma* в водотоках с разным качеством воды**

*Биохимические показатели интенсивности метаболизма.* Выявлены изменения в значениях биохимических маркеров у молоди миниатюрного гольца, изолированного в р. Фальшивая, относительно молоди проходного гольца из чистой р. Авача. На фоне отсутствия различий в содержании глюкозы в крови, в условиях загрязнения было обнаружено достоверное снижение в крови содержания белков плазмы и гемоглобина, в мышцах – как общих липидов, так и запасяющих фракций запасяющих триацилглицеридов.

*Биохимические показатели окислительного стресса.* У молоди мальмы в загрязнённой р. Фальшивая по сравнению с особями из р. Авача выше концентрация диеновых продуктов перекисной дегградации липидов и концентрация малондиальдегида, на порядок выше содержание в печени пептидов, обогащённых -SH радикалами (группа металтионеинов), а концентрация свободного восстановленного глутатиона в печени ниже, он, очевидно, расходовался на иммобилизацию катионов тяжёлых металлов.

*Гормональный статус и биохимические параметры.* Выявлено, что уровень кортизола сопоставим во всех проанализированных популяциях, вне зависимости от загрязнения воды. В тоже время все миниатюрные гольцы из химически



загрязнённых местообитаний отличались хроническим гипертиреозом, уровень  $T_3$  примерно в 1,5 раза выше, чем у проходной мальмы. Также у гольцов в сильно минерализованной воде значительно выше тканевая антиоксидантная активность. Активность ионных насосов АТФаз и показатели накопления энергетических запасов организмом (триацилглицериды и гликоген) у рыб, обитающих в вулканических реках, были достоверно ниже, чем у мальмы из чистых водоёмов.

### 3.4.2. Акклимация к загрязнению

Для экспериментов по оценке влияния химического загрязнения на развитие гольцов подготовили растворы, имитирующие воду со средними концентрациями Cu, Zn и Pb в ручьях Н. Кошелевский и Тройной, а также раствор #Макс, повторяющий максимальные из наблюдаемых средних концентраций в ручьях по этим металлам. Было проведено две экспериментальные серии 7-дневных тестов в подготовленных растворах по оценке выживаемости гольцов быстрорастущего мигрантного фенотипа *S. malma* на разных стадиях развития. Молодь в этих растворах погибала на всех стадиях развития, особенно на стадиях вылупления и исчезновения провизорных органов. В растворе #Макс гибло в 1,5 раза больше особей, чем в растворе с максимальным превышением ПДК по Cu (р. Тройной), который проявлял бóльшую токсичность, чем раствор с максимальным превышением ПДК по Zn (р. Н. Кошелевский).

Затем попробовали изменить устойчивости экспериментальных гольцов к токсичности растворов. Для экспериментов молодь мальмы выращенную в аквариумальном комплексе с момента перехода на внешнее питание 12 недель выращивали (до стадии малька) при разных терапиях эндокринной системы, направленных на стимуляцию и угнетение метаболизма на уровне анаболизма, тиреоидной регуляции обмена веществ и нейроэндокринной стимуляции щитовидной железы.

После терапий провели стандартный 7-дневный тест на выживаемость в наиболее токсичном растворе #Макс относительно контроля, который показал, что группы с повышенным тиреоидным статусом продемонстрировали лучшую устойчивость к воздействию, чем контроль, а у групп с пониженным тиреоидным

статусом и угнетённым метаболизмом наблюдается повышенная смертность и выраженный окислительный стресс.

*Хронический эксперимент.* Эксперимент проводился после достижения стадии сформировавшегося малька на 38-й неделе после вылупления. В течение 12 недель рыба содержалась при разных стимуляциях: в условиях гипер- и гипотиреоза; моделировали долгосрочное воздействие тяжёлых металлов (1/2 самых низких средних концентраций тяжёлых металлов, обнаруженных в естественных вулканических ручьях).

В конце 12-недельного хронического эксперимента все серии, получавшие фармакологическое воздействие, значительно отличались от контрольной группы по содержанию  $T_3$ , особенно высокий/низкий уровень  $T_3$  в группах, получивших терапии направленные на гипер- и гипотиреоз (в 2 раза), соответственно. Интенсивность перекисного окисления липидов была немного повышена только в серии, прошедшей акклиматизацию. В 12-недельном хроническом эксперименте в сериях отмечалась различная смертность, максимальная (25 %) – в серии, моделирующей долгосрочное воздействие тяжёлых металлов.

*Тест на акклимацию к загрязнению, имитирующему природные воды вулканических ручьёв.* После хронического эксперимента все группы переносили в чистую воду на неделю, а затем подвергали 7-дневному выдерживанию в растворах тяжёлых металлов в концентрациях, повторяющих средние августовские значения в реках Фальшивая и Тройной (рис. 3).

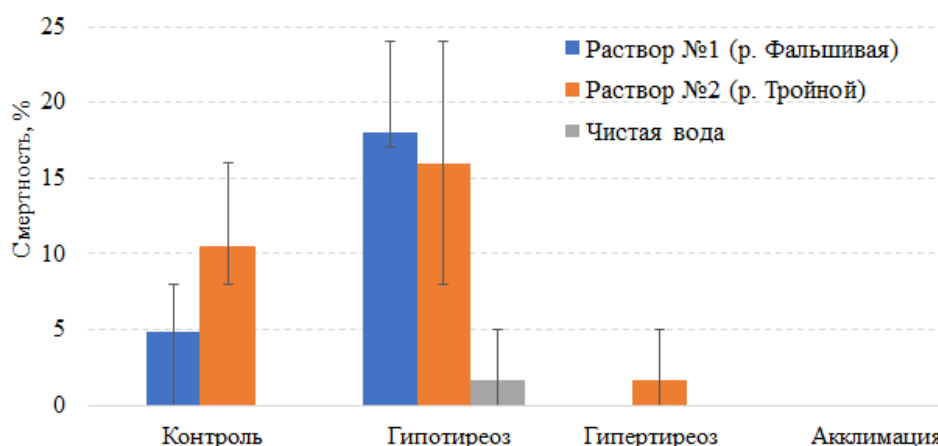


Рисунок 3 – Смертность (%) *Salvelinus malma* в семидневном тесте в воде, имитирующей средние летние концентрации тяжёлых металлов в рр. Фальшивая и Тройной. (|) – пределы варьирования

Выживаемость рыб в сериях с гипертиреозом и акклимацией около 100% в обоих растворах, в то время как в контроле и в серии с гипотиреозом достоверно ниже – 95–82 % (рис. 3). Содержание ТБК-активных соединений минимально повысилось у рыб из группы с гипертиреозом, ещё меньше у акклимированных рыб. Во всех группах отмечено увеличение содержания  $T_3$ .

#### **ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ**

В работе показано, что смена молодью тихоокеанских лососей пресноводной среды обитания на морскую и механизмы противодействия окислительному стрессу у гольцов в случае изоляции в водоёмах с избыточным содержанием солей тяжёлых металлов находятся под контролем гипофизарно-тиреоидной оси, энергетически обеспечиваются интенсивным липолизом запасённых жиров, провоцируются общей интенсификацией метаболизма. При смолтификации после кратковременного повышения активности щитовидной железы на ранних этапах смолтификации, дальнейшее поддержание механизмов акклимации происходит за счёт активности передней доли гипофиза и желёз нижнего иерархического ранга. Второй вариант метаболизма поддерживается постоянным гипертиреоидизмом. При этом в случае инверсии водно-солевого обмена для выживания в воде с избыточной солёностью в норме происходит ускорение соматического роста, торможение созревания половых желёз, интенсивное отложение пигментов в покровах, перагенез. У молоди резко возрастает активность ионотранспортных помп, вязкость мембран снижается, активность антиоксидантных ферментов возрастает незначительно, в крови растёт концентрация транспортных белков. В случае выживания популяций в химически загрязнённых водотоках происходит торможение соматического роста, ускорение полового созревания, деградация окраски покровов, снижение темпов морфологической дифференциации. У рыб снижается активность мембранных ионотранспортных помп, за счёт изменения состава липидов повышается вязкость (снижается проницаемость) мембран, резко возрастает активность антиоксидантных ферментов, происходит накопление связывающих металлы тиолосодержащих пептидов.

Буферизация ионной среды организма в первом случае достигается активным выведением избыточного количества ионов из организма, во втором – иммобилизацией токсичных ионов тяжёлых металлов и противодействием последствиям окислительного стресса.

Важнейшим практическим следствием из полученных результатов является подтверждение правильности нормативных навесок для заводской молоди чавычи и нерки. Показано, что заводская молодь кижуча при нормативной навеске не может смолтифицироваться, а дикая может. При смолтификации в природе и на ЛРЗ наблюдаются различия в гормональном фоне и некоторых физиологических реакциях молоди. Предложен оптимальный способ экспресс оценки готовности молоди тихоокеанских лососей с длительным пресноводным периодом жизни к скату в море. Показано, что выдерживание заводской молоди, не достигшей нормативной навески, в среде, содержащей 1,0 нг/мл активной формы тиреоидных гормонов, достоверно повышает её способность регулировать водно-солевой баланс в воде солёностью 30 ‰, особенно с предварительным выдерживанием молоди в воде солёностью 15 ‰.

## **ВЫВОДЫ**

1. Лососевым рыбам с длительным пресноводным периодом жизни доступны два альтернативных пути адаптации к обитанию в воде с избыточной солёностью и минерализацией за счёт инверсии единого гормонально-физиологического каскада: смолтификация – для миграции на нагул в море или приспособление к оседлому образу жизни в условиях загрязнения среды солями тяжёлых металлов.

2. Смолтификация и акклимация к среде, загрязнённой тяжёлыми металлами, характеризуются специфической динамикой эндокринной активности. При смолтификации после кратковременного скачка содержания тиреоидных гормонов в тканях достоверно повышается содержание соматотропина, кортизола и кальцитонина, а концентрация паратгормона снижается, что постепенно приводит к росту устойчивости к солёной воде. Обитание в растворе тяжёлых металлов вызывает у лососевых окислительный стресс, в ответ на который интенсифицируется стимуляция гипоталамуса нейротрансмиттерами, а уровень тиреоидных гормонов повышается стабильно на фоне отсутствия роста содержания кортизола.

3. При смолтификации в природе и на лососевых рыбоводных заводах наблюдаются различия в гормональном фоне и некоторых физиологических реакциях молоди. У заводских рыб сглажен пик активности щитовидной железы и ниже содержание кальцитонина. Заводская молодь к началу смолтификации накапливает меньше эссенциальных длинноцепочечных омега-3 кислот, которые наиболее активно расходуются при инверсии водно-солевого баланса. Выдерживание заводской молоди в среде, содержащей 1,0 нг/мл активной формы тиреоидных гормонов, достоверно повышает её способность регулировать водно-солевой баланс в воде солёностью 30 ‰. Эффективность смолтификации также повышает предварительное выдерживание молоди в воде солёностью 15 ‰.

4. Уровень гематокрита и содержание глюкозы и гемоглобина в крови не отражают реальный прогресс смолтификации и не пригодны для экспресс оценки степени смолтификации молоди, также как оценка по потере массы тела и выживаемости в «солёностном тесте». Более надёжным способом стоит считать контроль динамики осмолярности крови в течение трёх суток выдерживания в воде солёностью 30 ‰. У смолтов осмолярность снижается вплоть до пресноводного уровня (пороговое значение не должно превышать 340 мосм/л), в то время как у молоди, не готовой к жизни в море, осмолярность растёт. Толерантность к воде с морской солёностью повышается с увеличением массы тела. Пороговый размер смолта заводской молоди имеет видоспецифичный характер, он составляет 7 г у чавычи, 4 г – у нерки. Двухлетки кижуча, выращиваемые на Вилюйском лососевом рыбоводном заводе, при массе 10–15 г не в состоянии смолтифицироваться. Однако молодь дикого кижуча из оз. Большой Вилюй при массе 10 г успешно смолтифицируется.

5. В условиях хронического загрязнения среды тяжёлыми металлами у молоди мальмы под контролем щитовидной железы ускоряется метаболизм, а энергетические ресурсы расходуются на противодействие токсикозу. Критериями эффективности акклиматизации являются торможение скорости ионного транспорта и стабилизация показателей, отражающих развитие окислительного стресса и противодействие ему. В хроническом эксперименте удаётся добиться сохранения жизнедеятельности

молоди мальмы при концентрациях токсикантов, летальных для неакклимированных рыб. При этом в ходе онтогенеза замедляется соматический рост и темпы морфологической дифференциации на фоне ускорения полового созревания.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

*Публикации в рецензируемых научных журналах из перечня, рекомендованного ВАК РФ:*

1. **Шульгина Е.В.**, Смирнов Б.П. Определение готовности к покатной миграции заводской и дикой молоди кижуча *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum, 1792) // Труды ВНИРО. – 2015. – Т. 158. – С. 41–47.
2. Есин Е.В., **Шульгина Е.В.**, Широков Д.А., Зленко Д.В., Леман В.Н. Физиологическая адаптация молоди гольца *Salvelinus malma* (Salmonidae) к обитанию в загрязненных реках вулканических территорий Камчатки // Биология внутренних вод. – 2018. – № 2. – С. 57–59.
3. Esin E.V., Markevich G.N., Nikiforova A.I., **Shulgina E.V.**, Metal'nikova K.V., Novosadova A.V., Leman V.N., Zlenko D.V. Unspecific histological and hematological alterations in anadromous and resident *Salvelinus malma* induced by volcanogenic pollution // Hydrobiologia. – 2018. – Vol. 822. - № 1. – P. 237–257.
4. **Шульгина Е.В.**, Леман В.Н., Есин Е.В. Оценка готовности к обитанию в морской воде молоди чавычи при её тепловодном подращивании на Малкинском рыбноводном заводе (Камчатка) // Труды ВНИРО. – 2023. – Т. 194. – С. 155–164.
5. Михайлов А. В., **Шульгина Е.В.** Вопросы интенсификации производства аквакультурной продукции и новые подходы к развитию индустрии лососеводства // Рыбоводство и рыбное хозяйство. – 2023. – Т. 17. – № 10 (213). – С. 646–660.
6. Есин Е.В., **Шульгина Е.В.**, Павлова Н.С., Зленко Д.В. Роль тиреоидных гормонов в адаптации гольцов рода *Salvelinus* (Salmonidae) к вулканическому загрязнению местообитаний // Вопросы ихтиологии. – 2023. – Т. 63. – № 6. – С. 731–739.
7. Esin E.V., **Shulgina E.V.**, Shkil F.N. Rapid hyperthyroidism-induced adaptation of salmonid fish in response to environmental pollution // Journal of Evolutionary Biology.

– 2023. – Vol. 36. – № 10. – P. 1471–1483.

8. Михайлов А.В., **Шульгина Е.В.** Некоторые особенности естественного нереста и проблемы искусственного воспроизводства симы *Oncorhynchus masou* (Brevoort, 1856) // Рыбоводство и рыбное хозяйство. – 2024. – Т. 18. – № 5 (220). – С. 304–315.

*Публикации в других изданиях:*

9. Леман В.Н., **Шульгина Е.В.** Сравнительная характеристика заводской и дикой молоди чавычи по морфофизиологическим показателям // Проблемы естественного и искусственного воспроизводства рыб в морских и пресноводных водоемах. Тезисы Международной научной конференции, 9–10 июня 2004 г. Ростов-на-Дону, Азов, Россия, 2004. – С. 81–82.

10. Леман В.Н., **Шульгина Е.В.** О пороговом размере смолта и пластичности развития осморегуляторных способностей у молоди чавычи (Западная Камчатка) // Проблемы естественного и искусственного воспроизводства рыб в морских и пресноводных водоемах: Тезисы Международной научной конференции, 9–10 июня 2004 г. Ростов-на-Дону, Азов, Россия, 2004. – С. 82–83.

11. Смирнов Б.П., Леман В.Н., **Шульгина Е.В.** Заводское воспроизводство тихоокеанских лососей в России: современное состояние, проблемы и перспективы // Современные проблемы лососевых рыбоводных заводов Дальнего востока. Материалы международного научного семинара 30 ноября – 1 декабря 2006 г. Петропавловск-Камчатский, 2006. – С. 20–29.

12. Смирнов Б.П., **Шульгина Е.В.** Можно ли найти компромиссный подход к искусственному воспроизводству лососей с длительным пресноводным периодом жизни // Современные проблемы лососевых рыбоводных заводов Дальнего востока. Материалы международного научного семинара 30 ноября – 1 декабря 2006 г. Петропавловск-Камчатский, 2006. – С. 143–146.

13. Есин Е.В., **Шульгина Е.В.** Дисперсия морфометрических характеристик молоди Камчатской мальмы *Salvelinus malma* в связи с интенсивностью природного загрязнения местообитаний // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих

морей: Тезисы докладов XIV международной научной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения известного дальневосточного учёного, д.б.н., профессора В.Я. Леванидова, 14–15 ноября 2013 года. – Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс, 2013. – С. 156–160.

14. **Шульгина Е.В.** Оценка готовности к покатной миграции дальневосточных лососей с длительным пресноводным периодом жизни (на примере чавычи *Oncorhynchus tshawytscha* и кижуча *O. kisutch*) // Изучение водных и наземных экосистем: история и современность: Тезисы докладов Международной научной конференции, посвящённой 150-летию Севастопольской биологической станции – Института биологии южных морей имени А. О. Ковалевского и 45-летию НИС «Профессор Водяницкий», Севастополь, 13–18 сентября 2021 года. – С. 618–620.

15. **Шульгина Е.В.** Есин Е.В. Проблема физиологической готовности молоди лососёвых рыб с продолжительным пресноводным периодом жизни к скату в море после выпуска с рыбозаводных заводов // Изучение водных и наземных экосистем: история и современность: Тезисы докладов II Международной научно-практической конференции, Севастополь, 05–09 сентября 2022 года. – С. 300–301.

16. **Шульгина Е.В.**, Есин Е.В. Физиологические основы адаптаций лососевых рыб к обитанию в условиях избыточной минерализации воды // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей: Материалы XXIV международной научной конференции, посвящённой 300-летию Российской академии наук, – Петропавловск-Камчатский: ФГБУН Тихоокеанский институт географии ДВО РАН, 2023. – С. 109–110.

17. **Шульгина Е.В.**, Леман В.Н., Есин Е.В. Динамика физиологических показателей молоди чавычи и способность ее разных размерно-возрастных групп к миграции в море // X Всероссийская конференция "Чтения памяти профессора Владимира Яковлевича Леванидова", 20–22 марта 2023 года, г. Владивосток, ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, 2023. – С. 95.