

**ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА И ОКЕАНОГРАФИИ  
(ГНЦ РФ ФГБНУ «ВНИРО»)**

*На правах рукописи*



Шульгина Елена Валерьевна

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

1.5.13. Ихтиология

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Научный руководитель:  
доктор биологических наук,  
Есин Евгений Владиславович

Москва – 2024

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	10
1.1. Жизненная стратегия проходных лососевых.....	10
1.2. Жизненный цикл лососевых (Salmonidae) .....	11
1.3. Смолтификация проходных лососевых рыб .....	14
1.4. Адаптации изолированных форм лососей при масштабном загрязнении воды .....	22
1.5. Краткая информация об исследуемых видах лососевых.....	25
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	32
2.1. Район работ и объекты исследования.....	33
2.2. Методики исследований.....	37
2.2.1. Изучение смолтификации у молоди тихоокеанских лососей с длительным пресноводным периодом жизни .....	37
2.2.2. Изучение механизмов адаптаций изолированных популяций мальмы к химическому загрязнению среды обитания .....	42
2.3. Объем собранного материала .....	50
2.4. Протоколы исследований.....	51
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	57
3.1. Физиологические параметры у заводской молоди перед выпуском с лососевых рыбоводных заводов.....	57
<i>Гематологические показатели молоди чавычи и кижуча .....</i>	<i>57</i>
<i>Активность <math>Na^+/K^+</math>-АТФазы жабр молоди чавычи и нерки .....</i>	<i>59</i>
<i>Анализ состава жирных кислот мышечной ткани молоди чавычи .....</i>	<i>61</i>
<i>Гормональный статус молоди чавычи .....</i>	<i>63</i>
3.2. Сравнение разных критериев оценки степени смолтификации у молоди исследуемых видов тихоокеанских лососей .....	66
3.2.1. Тесты на суточную выживаемость молоди тихоокеанских лососей в воде солёностью 40 ‰ .....	67

3.2.2. Динамика осмолярности крови у молоди тихоокеанских лососей при пересадке в воду солёностью 30 ‰ .....	70
3.2.3. Эксперименты по потере массы тела у молоди в солёной воде .....	75
3.3. Эксперименты по стимуляции к смолтификации молоди.....	78
3.4. Механизмы адаптации изолированных популяций мальмы к химическому загрязнению среды обитания.....	80
3.4.1. Физиологическое состояние гольцов <i>Salvelinus malma</i> в водотоках с разным качеством воды .....	82
3.4.2. Акклимация к загрязнению .....	86
ВЫВОДЫ .....	106
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	108
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	109

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** Лососевые рыбы сем. Salmonidae доминируют в пресных водах Северо-Востока Азии, включая полуостров Камчатка. Эволюционный успех этой группы анадромных рыб обусловлен её высокой экологической пластичностью. 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 или с избыточным содержанием в воде солей металлов. Смолтификации лососевых, предшествующей скату в море, и их адаптациям к заселению токсичных и закисленных местообитаний посвящена обширная научная литература (Лукьяненко, 1983; Hoar, 1988; Groot, Margolis, 1991; Варнавский, 1993; Stefansson et al., 2008; Моисеенко, 2009; Черешнев и др., 2002; Kristjansson et al., 2012; 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 рыбодоводные заводы (далее – ЛРЗ), выпускающие подращенную 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** данной работы является 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).

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие **задачи**:

- 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 рыбноводном 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.

**Основные 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.

**Материал и методы исследования.** В работе объединены результаты натуральных 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.

**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 к морскому образу жизни. Автор самостоятельно ставил задачи, планировал работы, участвовал в экспедициях, получал и обобщал данные.

**Апробация работы.** Основные результаты диссертации 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 литературы. Работа изложена на 139 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 Вилуйского лососевых рыбноводных заводов, в частности Л.В. Сахаровскую, Т.В. Волкову, А.М. Волкову и, А.В. Волкова.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Жизненная стратегия проходных лососевых

Жизненная стратегия проходных лососевых рыб предполагает миграцию молоди для нагула из рек в морскую среду обитания и затем обратную миграцию готовых к воспроизводству взрослых особей в реки и озера на нерест. Продолжительность пресноводного и морского периодов зависит от комплекса биотических и абиотических факторов, а также генетически закреплённых особенностей метаболизма и механизмов поведения, в связи с чем время нахождения в пресных и морских водах варьирует в зависимости от вида, и в разных популяциях одного вида.

Тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus* условно можно разделить на две группы: с коротким и с длительным пресноводным периодом жизни. К первой группе относится горбуша (*O. gorbuscha*) и кета (*O. keta*). Молодь горбуши способна выдерживать пребывание в воде океанической солёности уже в нерестовых буграх (Зуева, 1965) и начинает скатываться в море сразу же после выхода из них. Миграция молоди кеты более продолжительная, массовый скат в море протекает в течение двух месяцев, но также происходит в первый год жизни. Известны редкие случаи, когда молодь кеты задерживалась в реке до сентября и даже оставалась на зимовку (Воловик, Гриценко, 1968; Волобуев, 1983). Ко второй группе относятся четыре вида тихоокеанских лососей: чавыча (*O. tshawytscha*), кижуч (*O. kisutch*), нерка (*O. nerka*) и сима (*O. masou*), пресноводный период жизни у которых длится он нескольких месяцев до нескольких лет. На Камчатском полуострове молодь чавычи обычно живет в реках один год, редко до трех лет или скатывается сеголетками; покатная миграция кижуча происходит на второй–третий год жизни, часть молоди скатывается сеголетками; молодь реофильной нерки живет в реках от нескольких месяцев до двух лет, сима в пресных водах проводит от одного до трех лет, обычно два года (Есин, 2015). Виды с длительным пресноводным периодом жизни при определённых условиях способны образовывать жилые дериваты,

которые нагуливаются и созревают без выхода в морские воды (Есин, 2015; Кириллова и др., 2021; Марченко, 2023).

## 1.2. Жизненный цикл лососевых (*Salmonidae*)

Лососевые рыбы размножаются только в пресных водах, относятся к литофильной группе, в норме нерестятся на галечно-гравийных грунтах с минимальной примесью ила. Самки выметывают икру в вырытые ими нерестовые гнезда, а после оплодотворения засыпают гнезда грунтом, под защитой которого в течение 3–9 месяцев идет развитие эмбрионов (Крыжановский, 1948; Смирнов, 1975; Thorpe, 1984; Есин, 2015).

Икра лососей имеет значительный запас желтка, обеспечивающий зародышей значительным количеством питательных веществ, относится к олигоплазматической, собственно зародышевая цитоплазма составляет около  $0,3 \times 10^{-4}$  от общей массы икринки (Мешков, Лебедева, 1984; Макеева, 1992; Есин, 2015). После оплодотворения происходит стягивание цитоплазмы, в результате чего формируется зародышевый диск. Благодаря скоплению под бластодиском жировых капель он вытесняется на верхний (анимальный) полюс икринки. Дробление и дифференциация частей зародыша на протяжении всего эмбриогенеза затрагивает только анимальный полюс. Желток в период формирования нервной трубки постепенно обрастает бластодермой (процесс эпиболии), а на поздних стадиях органогенеза постепенно втягивается в стенки тела. Сразу после вылупления желточный мешок составляет более половины массы организма (Павлов, 1989, Есин, 2015). Необходимым условием успешного развития лососей является хороший водообмен в нерестовых гнездах, обеспечивающий благоприятные кислородные условия и вынос продуктов жизнедеятельности. Для создания условий омывания икры лососи откладывают икру на участках с вертикальной фильтрацией речного потока через дно или в местах выхода грунтовых вод (Смирнов, 1975; Леванидов, 1968; Бабкин, Вуглинский, 1982; Леман, 1988, 2003)

Вылупившиеся свободные зародыши какое-то время лежат в грунте между галькой. Питание в этот период происходит целиком за счет желточного мешка, который постепенно всасывается в кишку. После выхода из грунта молодь приступает к питанию внешней пищей, в основном беспозвоночными, населяющими поверхность речного дна (эпибентос). С момента приобретения способности переваривать захваченную пищу начинается т.н. период алёвина. Алёвины сохраняют временные провизорные (т.е. эмбриональные) органы, например, плавниковую кайму. Питание смешанное – за счет внешней пищи и остаток желточного мешка (Смирнов, 1975; Valon, 1985; Павлов, 1989; Есин, 2015).

К началу малькового периода у молоди исчезают эмбриональные органы, появляется сложная пигментация покровов, меняются пропорции тела. Мальки активно расселяются по рекам и озерам, горбуша и кета в это время скатываются в море. К концу периода завершается формирование всех систем органов и появляется чешуя. Полностью сформированную молодь лососей с длительным пресноводным периодом жизни за ее пеструю окраску называют пестрятками. В реках основным кормом пестряток становятся сносимые вниз по течению беспозвоночные животные, в основном личинки и имаго амфибиотических насекомых, которых молодь схватывает, когда они роятся в воздухе у воды или падают на ее поверхность. В озерах пестрятки переходят на питание зоопланктоном, в основном ракообразными. Подростки лососи часто хищничают, поедая мелких рыбок. Жилые лососевые через какое-то время начинают созревать (Есин, 2015).

Проходные лососевые перед миграцией в соленые воды претерпевают сложную морфофизиологическую перестройку (смолтификацию), цель которой – подготовка организма для жизни в морской воде (Hoar, 1953, 1965; Fontaine, 1954; Folmar, Dickhoff, 1980; McCormick, 2012 и др.). Активизируется работа выделительных клеток жаберного эпителия, меняется состав крови, пестрая окраска сменяется на серебристую (Robertson, 1948), за счет гетерохронии в росте разных частей тела молодь становится более прогонистой, у нее появляется

стайное поведение (Wedemeyer et al., 1980). Смолтификация запускается после накопления в крови определенного количества тиреоидных гормонов и липидов, а сигналом к началу ската в море служит увеличение протяженности светового дня и повышение температуры (Баранникова, 1975; Ноар, 1976). Лососевые могут вернуться к состоянию, адаптированному к пресной воде (десмолтификация), если они не попадают в соленую воду в течение определенного периода времени (Ноар, 1976; McCormick et al., 1997).

Выход в море через эстуарную зону (зону смешения речных и морских вод) и первые месяцы в прибрежье – самый опасный период в жизни лососевых. В это время погибает до 99,97% от численности поколения лососей с коротким пресноводным периодом жизни (Шершнева, 1973, Куликова, Рослый, 1978). Смертность лососей с длительным пресноводным периодом жизни меньше, вероятно из-за больших размеров покатников (Mathews, Buckley, 1976, 2011; Карпенко, 1998). Высокая смертность связана со стрессовыми изменениями гидрологических условий (прежде всего, солености), прессингом многочисленных хищников, а также конкуренцией за кормовые ресурсы прибрежья и голоданием в холодные годы (Карпенко, 1998; Бирман, 2004; Темных, 2004).

Ближе к зиме подростки рыбы откочевывают от берегов. Тихоокеанские лососи нагуливаются и зимуют в открытом океане, распространяясь по всей акватории Северной Пацифики (Шунтов, Темных, 2008); камчатская сёмга и голец совершают менее протяженные миграции – в пределах нескольких сотен километров от побережья (Максимов, 1976; Савваитова, 1989). В течение периода морского нагула лососевые перемещаются вслед за фронтом течений - зоной, богатой кормовыми ресурсами (Карпенко, 1997; Шунтов, Темных, 2008). Рыбы, достигшие половой зрелости, начинают свою нерестовую миграцию к побережью. Предполагают, что при возвращении в родную реку лососи сначала ориентируются по солнцу, луне, созвездиям и электромагнитным полям Земли, вблизи берегов — по химическому составу вод родной реки (Райт, 1966; Есин, 2015).

Внешний вид входящих в реки рыб меняется. Под действием большого количества гормонов, которые необходимы для быстрого созревания половых желёз, лососевые приобретают брачный наряд. Изменяются пропорции тела, окраска становится ярче, разрастаются хрящи, в результате чего вырастает горб и на одной из челюстей образуется крюк. Особо сильно брачный наряд выражен у тихоокеанских лососей. Во время подъёма по рекам представители этого рода не питаются, существуя исключительно за счёт энергетических запасов, накопленных в виде жира и мышечной ткани. Перестройки водно-солевого обмена на пресноводный тип у тихоокеанских лососей не происходит, и они удерживают в себе соли за счёт утолщения и ороговения кожи (Есин, 2015).

Тихоокеанские лососи нерестятся один раз в жизни, после чего погибают в течение месяца (Смирнов, 1975; Бугаев, 1995, 2011). В жилых популяциях симы и нерки изредка встречаются самцы, которые живут после нереста около года (Куренков, 1999; Иванков и др., 1977; Tsiger et al., 1994; Маркевич и др., 2011). Микиша и гольцы могут нереститься до семи раз, но обычно — не более 3–4 раз. При этом часть рыб погибает после каждого нереста, а выжившие сразу же скатываются в нижнее течение рек на откорм (Максимов, 1976; Савваитова, 1989; Есин, 2015).

### **1.3. Смолтификация проходных лососевых рыб**

Для успешного перехода молоди лососей с длительным пресноводным периодом жизни из пресных вод в море необходимо, чтобы в их организме произошёл комплекс морфофизиологических изменений, а также изменений в поведении (Варнавский, 1990; Folmar, Dickhoff, 1980; Wedemeyer et al., 1980, Hoar, 1988; Нøгасен, 1998; Thorpe et al., 1998; Finstad, Jonsson, 2001). Окраска молоди сменяется с пёстрой на серебристую, появляется чёрная кайма на плавниках. Тело становится вальковатым за счёт уменьшения высоты тела и удлинения хвостовой отдела, изменяется положение плавников. Также у смолтифицирующейся молоди повышается коэффициент упитанности, уменьшаются жировые отложения, увеличивается размер плавательного пузыря

(Johnston, Saunders, 1981; Казаков, 1982; Miwa, Inui, 1983; Ikuta et al., 1985; McPhail, 1985; Taylor et al., Winans, 1987; McCormick, Saunders, 1987; Hoar, 1988; Soyano et al., 1988; Björnsson, Einarsdottir, 2012; Кузицин и др., 2019).

При подготовке к переходу в гиперосмотическую среду смолты становятся способными поглощать повышенное количество воды через кишечник и активно выводить соль из организма через ионоциты жабр, избыточное поглощение двухвалентных ионов выводится почками (Boeuf, 1993; D’Cotta et al., 2000; Ojima, Iwata, 2007; Tipsmark et al., 2010; Edwards, Marshall, 2013; Morera et al., 2015). Также у молоди начинают синтезироваться дополнительные изоформы гемоглобина с повышенным сродством к кислороду (Sullivan et al., 1985; Seear et al., 2010).

На стадии смолтификации происходит запечатление запахов родной реки (Hasler, Scholz, 1983). Повышенная активность гормонов щитовидной железы в этот период стимулирует рост клеток обонятельного эпителия и развитие обонятельных нейронов, что способствует обонятельному импринтингу (Nevitt et al., 1994; Kudo et al., 1994; Nevitt, Dittman, 1999), другие гормоны, участвующие в процессе смолтификации тоже прямо или косвенно влияют на запоминание реки (Dickhoff, Sullivan, 1987; McCormic, 2009).

Связанные со смолтификацией перестройки организма становятся возможными только после достижения рыбами определённого минимального размера – «пороговый размер смолта» и соответствующего ему уровня развития (Берг, 1948; Elson, 1957; Jonston, Eales, 1970). Достаточная масса необходима молоди для успешной конкуренции за пищевые ресурсы и перестройки водно-солевого обмена при смене пресноводной среды обитания на морскую. Это энергозатратный процесс, зависимый от липидов и особенностей их метаболизма, которые обеспечивают структурный и энергетический гомеостаз, а также гидролиза мышечных белков, направленный на увеличение количества хлоридных клеток в жабрах и синтез изоформ  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы и  $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$ -котранспортера 1a, обеспечивающих повышенную способность жабр к секреции

солей морской воды (Saunders et al., 1982; McCormick et al., 1995; Павлов и др., 2007; Мурзина и др., 2023; Немова и др., 2021).

Смолтификация должна совпасть по времени с периодом благоприятных экологических условий в устье реки и морском побережье в начале лета (Voeuf, Prunet, 1985; Prunet et al., 1989; McCormick et al., 1998). Ранний морской период жизни – одним из самых опасных в жизни лососевых рыб, в морском побережье нередко регистрируется массовая гибель смолтов (Карпенко, 1998). В связи с этим у лососевых с длительным периодом жизни выработалось адаптивное «окно смолтификации» – период весны, в течение которого должна начаться смолтификация. «Окно смолтификации» различается между видами, популяциями и реками в зависимости от местных условий и локальных адаптаций рыб (Voeuf, 1993; McCormick, 2012). Большинство морфофизиологических изменений, запускающихся при смолтификации, обратимы и должны начаться в течение короткого периода времени. Если рыба не достигает морской воды в течение периода смолтификации, происходит реверсия смолтификации, (десмолтификация / парреверсия) (Hoar, 1988; Duston et al., 1991; Stefansson et al., 1998).

Весь период от парра до смолта можно считать длительным личиночным метаморфозом, который стимулируется различными гормонами (инсулин, пролактин, тиреоидные гормоны, гормон роста и кортизол), чья активность проявляется в разные моменты на протяжении нескольких месяцев в процессе смолтификации (McMenamin, Parichy, 2013; Björnsson, Einarsdottir, 2012; Dickhoff et al., 1990). Запуск смолтификации провоцирует повышение температуры воды при подъёме уровня после снеготаяния и увеличение продолжительности дня (Баранникова, 1975; Hoar, 1976, Zydlewski et al., 2014). Рост температуры способствует интенсификации метаболических процессов в организме пестряток, а рост освещённости стимулирует нейрогормональную активность мозга. Все процессы происходят под контролем гипоталамо-гипофизарной системы, выполняющей функции как нервной, так и эндокринной систем (Ebbesson et al., 2003). Пусковым механизмом выступают гипоталамические гормоны,

представляющие собой пептиды из 30–45 аминокислотных остатков, которые поступают в гипофиз, где продуцируются тропные гормоны с более длинными полипептидными цепочками. Тропные гормоны обладают средством к эндокринным железам следующего ранга и оказывают на них стимулирующее действие (рис. 1.3.1).

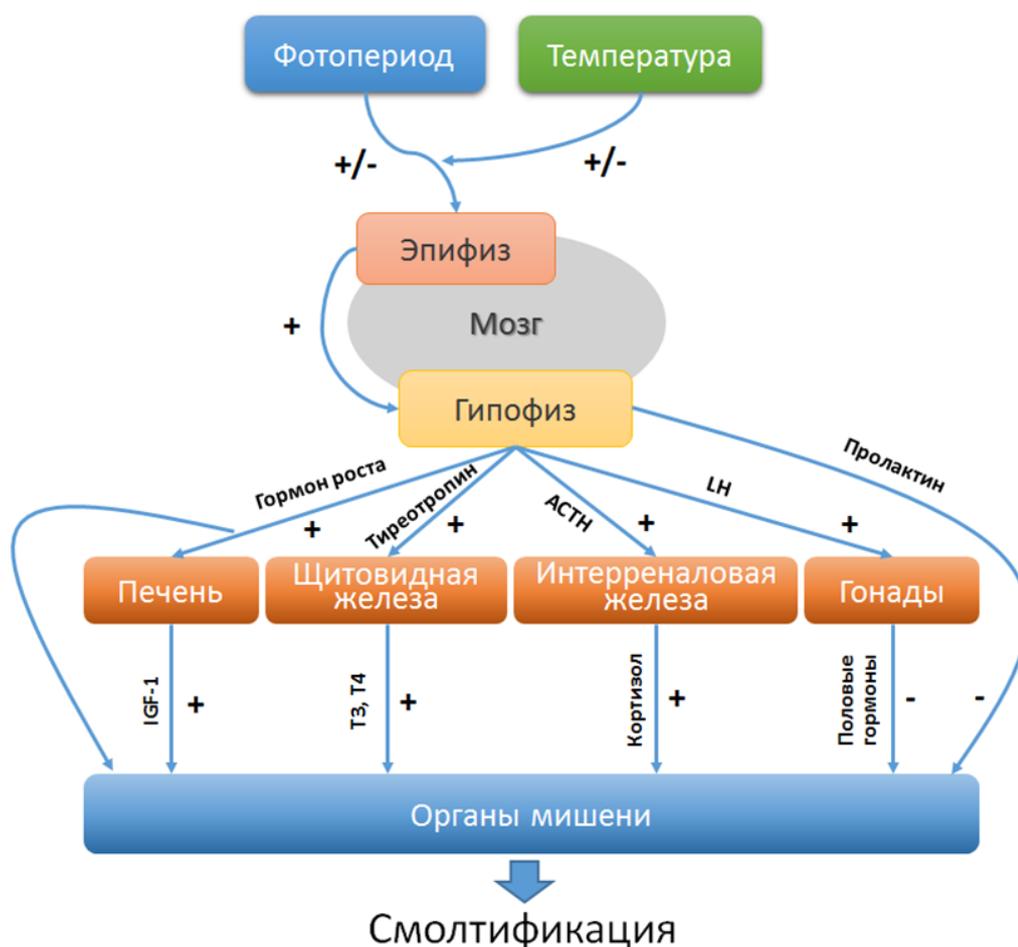


Рисунок 1.3.1 – Схема нейрогормонального контроля смолтификации

В самом начале процесса фотостимулы от рецепторов сетчатки глаза способствуют изменению баланса секреции моноаминов в эпифизе – снижается активность биохимической трансформации серотонина в мелатонин и таким образом растёт секреция самого серотонина (Falcón, Zohar, 2018; Nisembaum et al., 2021). Синтез мелатонина обратно пропорционален освещённости – ночью

уровень мелатонина в плазме и спинномозговой жидкости высокий, а днём – низкий (Randall et al., 1995; Migaud et al., 2010). Нейромедиаторы оказывают противоположный эффект на парвентрикулярное и магноцеллюлярное ядра гипоталамуса (Nelson et al., 2018), контролирующие работу гипофиза. Концентрация мелатонина в мозге обратно скоррелирована с активностью передней доли гипофиза, а серотонин, напротив, стимулирует гипофиз по тубероинфундибулярному нервному пути через специфические рецепторы (лимбическая система – гипоталамус – гипофиз).

Снижение концентрации мелатонина также обеспечивающей падение агрессивности у позвоночных (Темурьянц и др., 2016), это способствует смене территориального типа поведения мальков на стайный.

В результате начинается добавочный синтез релизинг-факторов и тропных гормонов передней доли гипофиза (Migaud et al., 2010; Falcón, Zohar, 2018). Такой нейроэндокринный сдвиг запускает сложный многоуровневый автокаскадный процесс физиологических, морфологических и поведенческих изменений, составляющих процесс смолтификации. Гипофиз синтезирует и выделяет в кровь следующие основные пептидные гормоны: тиреотропный гормон, гормон роста, или соматотропный гормон, адренкортикотропный гормон, пролактин, меланоцитостимулирующий гормон, а также ряд половых тропных пептидов (фолликулостимулирующий гормон, лютеинизирующий гормон). Гормон гипофиза тиреотропин запускает выработку тиреоидных гормонов щитовидной железы, адренкортикотропин воздействует на интерреналовую ткань, что способствует высвобождению кортикостероидов (главным образом кортизола), гормон роста действует на ткани через выработку печенью инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-I) (Rousseau et al., 2012).

На ранних этапах смолтификации происходит резкий всплеск секреции тиреотропина и как следствие – активности щитовидной железы. В несколько раз увеличивается концентрация тиреоидных гормонов. Последние провоцируют скачок метаболической активности (Lorgen et al., 2015) и эффективное расходование запасённых липидов на энергетические затраты при

морфофизиологических изменениях во время смолтификации. Причём тиреотропин также регулирует чувствительность соматических тканей к тиреоидным гормонам посредством специфической локальной регуляции активности экспрессии паралога дейодиназы-2, модифицирующей тиреоидные гормоны в активную форму.

Щитовидная железа является ключевым регулятором обмена веществ в организме животных, гормоны щитовидной железы участвуют во многих биохимических, физиологических и поведенческих изменениях организма рыбы (Dodd, Matty, 1964; Woodhead, 1975; Hoar, 1976; Bern, 1978; Wedemeyer et al., 1980; Folmar, Dickhoff, 1980, Campinho, 2019). У лососевых рыб щитовидная железа расположена в области глотки, около брюшной аорты и имеет вид достаточно плотного парного образования, состоящего из фолликулов, выделяющих тиреоидные гормоны (Анисимова, Лавровский, 1991).

Трийодтиронин ( $T_3$ , активная форма) в основном образуется в результате монодейодирования тироксина ( $T_4$ , неактивная форма) в печени, мозге, почках и жабрах (Eales, Brown, 1993; Blanton, Specker, 2007). Тиреоидные гормоны присутствуют в сыворотке как в свободной (несвязанной), так и в связанной с транспортными пептидами формах. Гормональной активностью обладают только свободные  $T_3$  (Эндокринология, 1999).  $T_3$  участвует в регулировании углеводного обмена, процесса роста и дифференцировки, скорости метаболизма, поведенческих реакций, в поддержании осморегуляции, нормальной деятельности нервных центров, коры надпочечников и половых желёз, а также в регуляции экспрессии и транскрипции генов (Folmar, Dickhoff, 1980; Анисимова, Лавровский, 1991; Kitano et al., 2010). Гормоны щитовидной железы могут также регулировать фототаксис, как показано у кижуча (*Oncorhynchus kisutch*) и кеты (*Oncorhynchus keta*) (Iwata et al., 1989) и также способствуют изменениям зрительных пигментов сетчатки, как у *O. kisutch* (Alexander et al., 1994).  $T_4$  индуцирует переключение с ультрафиолетовых фоторецепторов на фоторецепторы синего опсина в колбочках сетчатки глаза молоди кижуча и радужной форели (Cheng et al., 2009), что обеспечивает лучший визуальный

контраст при кормлении перед миграцией в морскую воду (Flamarique, Browman, 2001). Также  $T_3$  участвуют в приобретении специфических морфологических изменений, таких как серебрение, и поведенческих реакциях, таких как миграция вниз по течению (Ojima, Iwata, 2007).

У мигрирующих анадромных видов рыб щитовидная железа играет важную роль в функциональных изменениях мозга и обонятельного эпителия, выполняя подготовительную роль для возврата в родной водоём после нагула (хоминг).  $T_3$  индуцирует пролиферацию нейронов обонятельных рецепторов (которые имеют решающее значение для импринтинга натального потока) в обонятельном эпителии (Lema, Nevitt, 2004). У симы связывание  $T_3$  в головном мозге является тканеспецифичным во время трансформации из пестрятки в смолта: на обоих этапах жизни связывание  $T_3$  является самым высоким в обонятельном эпителии, и смолты демонстрируют более высокое связывание по сравнению с пестрятками (Kudo et al., 1994).

После падения концентрации тиреоидных гормонов до нормального уровня гипофиз продолжает синтезировать больше гормона роста, стимулирующего синтез IGF-I в печени (Barron, 1986; Björnsson, 1997; McCormick, 2009). Ускоряется рост, пролиферация и специализация клеток соматических тканей, рыбы увеличиваются в длину. Имеются данные о том, что гормон роста индуцирует гипоосморегуляторные механизмы в почках, повышая переносимость морской воды (McCormick, 2013). Постоянно высокая концентрация IGF-I поддерживается в плазме крови, а на более поздних этапах смолтификации интенсифицируется локальная выработка IGF-I в жабрах. IGF-I положительно влияет на развитие и дифференциацию хлоридных клеток морского типа в жаберном эпителии (Sakamoto, McCormick, 2006).

В процессе смолтификации изменяется баланс гормонов, управляющих ионным обменом (Bern, 1978). Изменяются функции тканей органов осморегуляции – жабр, кишечника, почек, костей. Повышается активность АТФ-зависимых ионных помп и депонирующих ионы структур, что приводит к увеличению буферности ионного гомеостаза (McCormick, et al., 2013, 2019).

Гормон роста способствует увеличению секреции кортизола за счёт повышения чувствительности клеток внутренней секреции к адренокортикотропному гормону (McCormick, 2013), что в свою очередь, стимулирует выработку глюкокортикоидов этими клетками (Ágústsson et al., 2003). Происходит значительное увеличение количества жаберных глюкокортикоидных рецепторов, особенно в ионоцитах жабр (Prunet et al., 1989; Shrimpton, McCormick, 1998). Также увеличивается синтез кальцитонина, управляющего депонированием излишков двухвалентных ионов в костной ткани.

Кортизол способствует увеличению число хлоридсекретирующих клеток, влияет на активность  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы (McCormick, 1996; Ban, 2002, 2004, 2005; Richman III, Zaugg, 1987; McLeese et al., 1994; Seidelin et al., 1999; Uchida et al., 1998). Также кортизол изменяет осморегуляторную функцию кишечника, что позволяет рыбе компенсировать осмотические потери воды в морской среде путём употребления воды с последующим выведением одновалентных ионов жабрами и двухвалентных ионов почками (Ojima, Iwata, 2007). Содержание кортизола и тироксина при смолтификации в плазме крови повышается в одно время, но на фоне падения концентрации второго содержание кортизола остаётся повышенным до выхода в море, т.е. завершения смолтификации (Folmar, Dickhoff, 1981; Specker, 1982; Thorpe et al., 1987). Тироксин синергист по отношению к кортизолу, усиливает его воздействие (Ban, 2002, 2005; Miwa and Inui, 1983, 1985; McCormick, 1996).

Концентрация пролактина, который способствует поглощению ионов и ингибирует секрецию солей (за счёт снижения способности жабр реагировать на IGF-I), падает с начальных этапов смолтификации (Breves et al., 2014; McCormick, 2001) и остаётся низкой до выхода в море (Prunet et al., 1989; Prunet, Voeuf, 1989). Также во время смолтификации снижается концентрация паратгормона – антагониста кальцитонина, способствующего росту содержания кальция в плазме. Рядом авторов отмечались изменения в концентрации других гормонов, таких как инсулин (Plisetskaya et al., 1988; Mayer et al., 1994) и половые стероиды (Nagahama et al., 1982; Patiño, Schreck, 1986; Sower et al., 1992; Yamada et al., 1993).

Резюмируя выше сказанное, можно заключить, что смолтификация – это этолого-физиолого-морфологическая перестройка организма лососевых рыб, предшествующая и сопутствующая миграции из реки в море. Смолтификация происходит под комбинированным воздействием каскадной выработки ряда гормонов. По всему организму активизируется синтез ряда ключевых гормонов, что даже позволило назвать смолтификацию «pan-hyper-hormonal state» (Bern, 1978). Прежде всего, активизируется работа передней доли гипофиза, вырабатывающего несколько тропных гормонов. При этом активность задней доли (окситоцин) тормозится. Имеются сведения, что стимуляция гипофиза происходит под контролем гипоталамуса через гипер-синтез серотонина. Одним из последствий изменения активности нейрогормонов становится изменение баланса гормонов, управляющих ионным обменом. В частности, увеличивается синтез кортикостероидов и кальцитонина, а синтез паратиреоидного гормона и пролактина падает. В результате изменяются функции основных органов осморегуляции – жабр, кишечника и почек. Повышается активность АТФ-зависимых ионных помп ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы,  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы,  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ -котранспортера) в жабрах, что приводит к увеличению буферности гомеостаза и более высокой выживаемости в море (McCormick, et al., 2013, 2019).

#### **1.4. Адаптации изолированных форм лососей при масштабном загрязнении воды**

Для рыб мощнейшим фактором, определяющим направления адаптивной специализации, является химическое загрязнение мест воспроизводства. Анализ механизмов запуска и реализации разных каналов онтогенеза в ответ на изменение воздействия внешних факторов представляет большой интерес (Watson et al., 2016; Skulason et al., 2019; Muller, 2021). Показано, что незначительные, но своевременные изменения в экспрессии отдельных генов или регуляторных факторов могут катализировать автокаскадные процессы развития, приводящие к контрастным фенотипическим вариантам, в том числе имеющим адаптивное значение (Nosil, Feder, 2012; Salisbury, Ruzzante, 2021). Например, у позвоночных

изменение скорости дифференциации соединительных тканей в голове по мере развития приводит к искажению формы костей и в итоге – к образованию рта новой формы, что обеспечивает возможность эффективного потребления ранее недоступных кормов и генетическую фиксацию адаптации (Skulason et al., 2019). Близкородственные группы с разным размером тела и формой рта, которые разделяют доступные ресурсы экосистемы, описаны для рыб, рептилий, птиц, млекопитающих (Bolnick, Fitzpatrick, 2007; Seehausen et al., 2014; Wollenberg et al., 2019).

Модельным объектом для анализа механизмов регуляции развития у анамний традиционно выступают лососевые рыбы. Для этой группы известны сотни случаев параллельного образования нескольких адаптивных фенотипов (Schluter, 2000). В частности, гольцы рода *Salvelinus* способны дивергировать в локальном нерестовом бассейне на формы, различающиеся размерами в 50–70 раз (Klemetsen, 2013; Markevich, Esin, 2018). В ультраолиготрофных и особо глубоких озёрах для гольцов характерно образование чрезвычайно тугорослых популяций с пedomорфными признаками и анатомической редукцией (Ostbye et al., 2020). В Исландии и на Камчатке «миниатюрные» короткоголовые гольцы, отличающиеся крайним вариантом проявления пedomорфоза, обнаружены в верховьях рек территорий активного вулканизма (Kristjansson et al., 2012; Esin, 2015).

Камчатские популяции миниатюрных гольцов во всех случаях населяют верховья химически загрязнённых вулканических ручьёв, изолированных от нижнего течения завалами и дамбами (Esin, 2017). Ниже преград в зоне разбавления вулканического стока воспроизводятся родительские популяции крупных мигрантных гольцов. Для миниатюрного фенотипа свойственна глубокая специализация метаболизма в ответ на хроническое загрязнение среды растворёнными тяжёлыми металлами, прежде всего, медью, цинком и свинцом (Esin et al., 2018). Смеси этих металлов в избыточных концентрациях вызывают окислительный стресс, нарушения биохимических циклов и расходование резервов организма на поддержание гомеостаза (Olsson et al., 1998; Голованова, 2008; Euskmans et al., 2011). Так медь включается в состав активных центров

окислительно-восстановительных ферментов. Хронический избыток меди вызывает остановку роста, снижение содержания гемоглобина, поражению печени, почек и мозга. В концентрации более 0,2 мг/л медь вызывает гибель лосося. Цинк в повышенной концентрации нарушает синтез металлопротеинов и других металлорганических соединений. Соединения цинка накапливаются в первую очередь в печени и скелете. При концентрации цинка 0,05 мг/л лососевые погибают. Свинец связывается с остатками цистеина в HS-содержащих ферментах, что приводит к ингибированию их активности; ионы  $Pb^{2+}$  образуют устойчивые комплексы с карбонильными и фосфатными группами белков и нуклеиновых кислот, тем самым нарушая их нормальный метаболизм. Свинец влияет на почки, печень, нервную систему и органы кроветворения, нарушает синтез небелковой части гемоглобина. Концентрируется в первую очередь в костях (до 95% поступившего свинца), откуда позже высвобождается, приводя к осложнению интоксикации организма. Основной путь выведения – через выделительную систему. Концентрация свинца в природных водах более 0,1–0,3 мг/л вызывает гибель подавляющего числа видов рыб (Афанасьева, 2006; Филов, 1988).

Энергозатратный сдвиг физиологии обеспечивает противодействие окислительному стрессу и сопровождается ускоренным половым созреванием в ущерб соматическому росту и морфологической дифференциации (Esin et al., 2019). Примечательно, что сходный тип метаболизма имеют популяции, изолированные в удалённых вулканических ручьях, различающихся концентрацией металлов и сроками изоляции.

Миниатюрные гольцы из химически загрязнённых местообитаний отличаются хроническим гипертиреозом, в то время как уровень гормонов стресса у них снижен (Есин и др., 2023). Ряд авторов отмечал тиреоидные гормоны, как один из ключевых факторов в регуляции типа метаболизма (Deal, Volkoff, 2020; Lema, 2020). Они имеют мощный плеiotропный эффект на все системы тканей и органов, регулируя у рыб скорость метаболизма и эффективность ассимиляции пищи (Gairin et al., 2022), контролируя рост и

поведение (Birnie-Gauvin et al., 2021), участвуя в биохимической детоксикации и поддержании гомеостаза организма (Esin et al., 2021). Таким образом, вероятно, что тиреоидные гормоны способны регулировать формирование адекватного адаптивного фенотипа из генетически запрограммированного набора в ответ на воздействие определённого сочетания факторов среды.

### 1.5. Краткая информация об исследуемых видах лососевых

Чавыча *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum, 1972) – самый крупный представитель тихоокеанских лососей, достигает длины 1,5 м и веса 61 кг (Scott, Crossman, 1973; Черешнев и др., 2002; Mecklenburg et al., 2002). Вид наиболее многочислен в реках Британской Колумбии и Орегона. На Азиатском участке побережья крупнейшие популяции воспроизводятся на Камчатке (Савваитова и др., 1989; Зикунова, 2022).

Чавыча относится к тихоокеанским лососям с длительным пресноводным и морским периодами жизни, однако миграционная стратегия может различаться по продолжительности пресноводного, эстуарного и морского периодов; по распределению и характеру миграций в море, а также по возрасту и сезону миграции на нерест. Северные популяции чавычи экологически однообразны, на Чукотском полуострове и Аляске чавыча заходит в реки после ледохода, нерестится летом. Южнее чавыча представлена сезонными расами, различающимися по срокам хода, так в Северной Америке отмечается три чётко обособленные расы – ранняя (весенняя), летняя и поздняя (осенняя), которые отличаются друг от друга и генетически (Healey, 1991; Черешнев и др., 2002; Groot, Margolis, 1991).

У самцов чавычи отмечены разные варианты репродуктивных стратегий. Карликовые самцы созревают, не выходя в морскую воду, на второй–третий год жизни при длине 7,5–17,5 см (Healey, 1991; Черешнев и др., 2002). У таких самцов даже возможен повторный нерест, что подтверждено экспериментами на заводской чавыче (Taylor, 1989; Bernier et al. 1993; Unwin et al., 1999). Второй вариант репродуктивной стратегии самцов чавычи – смолтификация и выход в

море на несколько месяцев с последующим возвращением на нерест в тот же год (Larsen et al. 2004; Beckman, Larsen, 2005; Connor et al. 2005, Johnson et al, 2012). Такой вариант распространён у чавычи азиатской части ареала, в том числе в камчатских популяциях (Берг, 1948; Вронский, 1972; Черешнев и др., 2002; Рыбы..., 2007; Кловач и др., 2015). Наконец, самцы, как и самки, могут нагуливаться в море перед нерестом несколько лет.

Для американских популяций чавычи из рек южнее 56° с.ш. характерен «океанический тип» жизненной стратегии, когда молодь скатывается в море сеголетками и от 1 до 8 лет, обычно 3–4 года, живёт в море. В американских реках также встречаются жилые формы. Для более северных популяций, в том числе азиатских, характерен «речной тип» – молодь скатывается в море в возрасте 1+ – 2+ лет (Healey, 1991), живёт в море 3–4 года (иногда 5–6 лет). При этом производители чавычи от ската сеголетками практически отсутствуют.

В водоёмах Камчатки чавыча представлена двумя расами: многочисленной ранней, с нерестом с середины мая до августа, и поздней, с нерестом в августе – начале сентября (Вронский, 1983; Антонов, 2011; Рыбы..., 2007). Период морского нагула обеих рас продолжается 2–4 года (иногда до 5–6 лет). Самовоспроизводящихся жилых форм на Камчатке не образуется. Ранняя чавыча входит на нерест в реки Камчатки первой из всех тихоокеанских лососей, ещё подо льдом, ход совпадает с паводком (май–июнь). Какое-то время у зашедших в реку производителей чавычи сохраняется хватательный рефлекс. Нерестилища обычно располагаются в главных руслах и крупнейших рукавах в зоне фильтрации потока в дно, гнезда располагаются на быстрых и глубоких местах перед гребнями перекатов, где другие лососи не способны удержаться на течении (Вронский, Леман, 1991; Леман, Есин, 2008, Есин и др., 2015).

Молодь чавычи выходит из нерестовых бугров весной с началом повышения температуры и уровня воды при длине тела больше 30 мм (Рыбы..., 2007; Леман, Есин, 2008, Есин и др., 2015). Переход на смешанное питание сопровождается появлением территориального поведения, более сильные особи занимают более кормные места (ближе к фарватеру по основным руслам и

рукавам среднего и нижнего течения) и растут быстрее. В пищевой рацион входят наземные беспозвоночные, личинки и имаго амфибиотических насекомых (Черешнев и др., 2002). Молодь чавычи в основном питается в потоке, схватывая сносимый в толще воды корм.

Смолтификация и скат в море в реках Камчатки обычно происходят на втором, иногда третьем году жизни в период с мая по август. Молодь крупнее 7 см собирается в стайки и мигрирует к устью (Вронский, 2003; Карпенко, 1998; Есин и др., 2015). Окраска тела у покатников меняется с пёстрой на серебристую, темнеют края грудных и хвостового плавников (Robertson, 1948; Langdon et.al., 1984, 1985). Небольшое количество молоди скатывается сеголетками (Карпенко, 1998; Леман, Чебанова 2000, 2005; Рыбы..., 2007), при этом, судя по данным анализа чешуи, промыслового возврата от скатившихся сеголетков чавычи нет (Смирнов, Кляшторин, 1991). В эстуариях на отмелях все лето держатся смешанные скопления смолтов чавычи, кижуча, симы и мальмы. С осенним понижением температуры воды до 6,2–6,5 °С чавыча откочёвывает в море (Смирнов, 1975; Леванидов, 1976; Карпенко, 1998).

Нерка *Oncorhynchus nerka* (Walbaum, 1972) – наиболее ценный промысловый лосось Камчатки с ярко-красной мускулатурой (Антонов, 2011). В длину нерка может достигать 84 см, весить до 7,7 (обычно 1,5–3,5) кг (IGFA, 2001; Токранов, Бугаев, 2011); максимальный отмеченный возраст – восемь лет (Altman, Dittmer, 1962). На американской части ареала нерка является вторым по распространённости и численности видом тихоокеанских лососей после горбуши, распространена в восточной части Тихого океана на юг до Калифорнии, на север до Канадской Арктики, особенно много нерки на Аляске (Burgner, 1991). В Азии – это третий по численности после горбуши и кеты вид. Основные стада азиатской нерки воспроизводятся на Камчатке в бассейнах р. Озерная (оз. Курильское), р. Камчатка (оз. Азабачье, Харчинское и др.) и р. Палана (оз. Палана) (Леман, Есин, 2008; Синяков, 2006). Нерестовое стадо реки Озерная (оз. Курильское) обеспечивает до 90% добычи азиатской нерки (Gustafson, et.al., 1997), это вторая

по численности популяция вида в мире после Аляски (Discovering Kamchatka..., 2008).

Нерка, как и чавыча, относится к тихоокеанским лососям с длительным пресноводным периодом жизни. Морской период жизни длится от одного до пяти лет, чаще 2–3 года (Леман, Есин, 2008; Бугаев, 1995, Карпенко, 1998). У нерки наиболее выражен хоминг (репродуктивная филопатрия) и самое высокое внутривидовое разнообразие среди тихоокеанских лососей. Тем не менее, ни одна из географически обособленных популяций, в том числе и жилых, не образует чётких подвидов (Животовский и др., 2019).

Анадромная нерка образует два экотипа: лимнофильный, более многочисленный, с нерестом в озёрах, и реофильный, с нерестом в реках. В некоторых бассейнах Камчатки нерка также разделяется на сезонные расы, которые различаются сроками миграции на нерест. В р. Камчатке крупную лимнофильную нерку нижнего течения называют «азабач», реофильную нерку верхнего течения — «арабач» (Промысловые рыбы России, 2006; Есин и др., 2015). За счёт строго хоминга в крупных и разветвлённых озёно-речных системах нерка может разделяться на стада отдельных участков. Так, в бассейне р. Камчатка выделяется семь наиболее важных локальных стад, отличающихся по срокам и местам нереста, нагула, продолжительности пресноводного периода жизни (Бугаев, 2011). Общий ход в реки длится с начала мая по сентябрь, нерест — с августа и вплоть до января в некоторых озёрах. В нересте участвует до 9–11 биографических групп (возраст ската — период нагула) производителей (Смирнов, 1975; Есин и др., 2015, Бугаев, 2011).

Также виду свойственно образовывать жилые формы — «кокани». Кокани распространена как в Азии, так и на североамериканском континенте (Смирнов, 1972, Бугаев, 1995, Burgner, 1991; Леман, Есин, 2008; Синяков, 2006). На Камчатке известны популяции кокани из озёр Кроноцкое, Подсопочное (бассейн р. Средняя Воровская), Утиное (бассейн р. Шануч) и Китовое на о-ве Беринга. Предельная масса тела в оз. Кроноцкое — 600 г, продолжительность жизни до 6 лет. У кокани, как и у проходной нерки, может быть деление на расы. Половое

созревание начинается в четырёхлетнем возрасте при длине 18–20 см. Небольшая часть рыб после нереста погибает только на следующий год (Есин и др., 2015). Также у камчатской нерки есть «остаточные» группировки, образованные карликовыми самцами (созревают в нерестовых озёрах), жилые самки в составе которых появляются редко и только в отдельные благоприятные годы (оз. Дальнее, Копылье, Большой Сокоч и т. д.) (Есин и др., 2015).

Молодь реофильной нерки после выхода из грунта расселяется по тихим прибрежным участкам и питается сносимыми потоком личинками насекомых. Лимнофильная нерка питается зоопланктоном, воздушными насекомыми и их личинками, потребление иного корма происходит при недостатке зоопланктона (Смирнов, 1975; Бугаев, 1995, Леванидов, 1976; Есин и др., 2015). Смолтификация лимнофильной нерки обычно происходит после одного–трёх лет жизни в пресных водах, реофильной – после одной зимовки в реке, но также возможна на первый и третий годы жизни. Миграция в море идёт по ночам, длится с мая по конец августа (Бугаев, 1995; Карпенко, 1998; Леман, Есин, 2008; Бугаев, 2011; Есин и др., 2015).

Кижуч *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum, 1972) является ценным промысловым объектом на Дальнем Востоке. Ареал по азиатскому побережью – от Анадыря до о. Хоккайдо, по американскому – от Аляски до Калифорнии. Максимальная зарегистрированная длина составляет 98 см, масса – 14,0 кг. На Камчатке встречается кижуч массой тела от 1,2 до 6,8 (в среднем 3,0–3,5 кг) (Фадеев, 2005), длиной – от 29 до 85 см (Зорбиди, 2010; Черешнев и др., 2002).

Кижуч – экологически пластичный вид, который кроме типичной для тихоокеанских лососей проходной формы может образовывать озёрные и жилые формы (редко). Отмечаются оседлые самцы, созревшие в год ската после нескольких месяцев нагула в море (каюрки или джеки). Среди тихоокеанских лососей с длительным пресноводным периодом жизни у кижуча самый короткий период морского нагула – не более 15 месяцев (Грибанов, 1948; Зорбиди, 2010), при этом кижуч отличается самой высокой среди тихоокеанских лососей скоростью роста (Грибанов, 1948; Зорбиди, 2010; Есин и др., 2015).

Ход кижуча в реки растянут с конца июля по декабрь (подо льдом), нерест тянется до февраля (Введенская, Куренков, 1988; Леванидов, 1976; Черешнев и др., 2002; Зорбиди, 2004, 2010; Стыгар и др., 2000; Рыбы..., 2007; Есин и др., 2015). На Камчатке проходная форма начинает анадромную миграцию позже, чем остальные виды лососей. Кижуч представлен летней, осенней и зимней расами, которые различаются сроками нерестовой миграции и нереста. Камчатский кижуч летней расы по темпам роста в море уступает особям осенней расы (Зорбиди, 1990). У кижуча хорошо развит «хоминг», для размножения он может подниматься в самые истоки рек. Икра откладывается на участках дна с грунтовым питанием (Смирнов, 1975; Леванидов, 1979; Sandercock, 1991).

С переходом на внешнее питание у сеголеток кижуча выделяют два типа поведения: выражено территориальное с агрессивной охраной своих кормовых участков (которое меняется на стайное в процессе смолтификации) и стайное поведение с активной миграцией. Молодь питается личинками амфибиотических насекомых, воздушными насекомыми, икрой других рыб. В отличие от чавычи, кижуч часто схватывает пищевые объекты с поверхности воды. Молодь проводит в пресной воде от года до трёх лет, чаще скатывается на втором–третьем году жизни (Антонов, 2011; Леман, Есин, 2008; Черешнев и др., 2002; Есин и др., 2015). В скате есть небольшой процент сеголеток (Волобуев, Рогатых, 1982). Основная масса покатников кижуча мигрирует в тёмное время суток с мая по июль (Черешнев и др., 2002).

Озёрные жилые группировки размножается на литорали, половое созревание проходит на 3–4 году жизни. Карликовые самцы известные из солоноватых озёр восточного побережья Камчатки, также обнаружены в озёрах Курильское и Аяогытгын (бассейн р. Лесной) (Есин и др., 2015).

Мальма *Salvelinus malma* (Walbaum, 1972) относится к ближайшему к тихоокеанским лососям роду гольцы *Salvelinus*. Длина проходной мальмы обычно 40–55 (до 120) см, масса до 12 кг (Есин и др., 2015). Также мальма образует жилые (озёрные, речные, ручьевые) формы, которые, как правило, мельче проходной. В некоторых озёрах Камчатки обитают быстрорастущие оседлые

формы: белый голец оз. Кроноцкое вырастает до 80 см и массы свыше 4,5 кг, жилой белый голец оз. Азабачье может достигать массы 1,5 и более кг (Есин, Маркевич, 2017). Ареал мальма продолжается от рек северной части бассейна Охотского моря до рек арктического стока; в Америке – на юг до Аляскинского полуострова (Большая российская энциклопедия, 2011). На Камчатке мальма является самым широко распространённым видом рыб, обитающим практически во всех реках и озёрах, распространённым от истоков до устьев. Мальма способна реализовывать самые разнообразные жизненные стратегии. Проходная прибрежная мальма («морской голец») выходит на нагул в море каждое лето и возвращается в реки в конце лета на зимовку и размножение, достигает массы свыше двух килограмм. Типично проходная мальма зимует в море.

У мальмы, в отличие от тихоокеанских лососей, все формы нерестятся несколько раз в жизни, но часть рыб после нереста гибнет. Нерест чаще с сентября по октябрь, во время осеннего похолодания. Характерной особенностью репродуктивного цикла мальмы является откорм непосредственно перед размножением (Волобуев, 1976; Pichugin et al., 2006). В питании голецов преобладают донные беспозвоночные, во время нереста тихоокеанских лососей голецы активно потребляют вымытую из гнёзд икру. После откорма проходная мальма поднимается в небольшие горные ручьи и нерестится на гравийных аллювиальных линзах между крупными валунами. В нересте принимают участие оседлые самцы, которые созревают в нерестовых водотоках на третий–пятый год жизни.

Переход мальмы на внешнее питание происходит при длине 25–28 мм. Сеголетки держатся разрозненно, в момент опасности укрываются под камнями. Перезимовав на ямах, пестрятки широко расселяются по рекам и озёрам, проникая в самые удалённые притоки. Подростая молодь придерживается быстрин и перекатов, укрывается в древесных завалах, уходит в пойменные водоёмы. Молодь проходной формы проводит в пресной воде до ската от 2 до 6 лет (чаще 3–4 года), скат в море идёт с апреля по май, размеры смолтов составляют 12–20 см при массе 15–40 г (Савваитова, 1989; Черешнев и др., 2002; Тиллер, 2003; Павлов и др., 2012; Леман, Есин, 2008; Есин, 2015).

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе проанализированы две физиологические адаптации, доступные лососевым рыбам с длительным пресноводным периодом жизни:

- подготовка к миграции на нагул в морские воды – **смолтификация**;
- приспособление к оседлому образу жизни в высокоминерализованных и химически загрязнённых водотоках, ведущее к **неотению**.

Было предположено, что, несмотря на то, что в обоих случаях рыбы приспособляются к обитанию в среде с избыточной минерализацией воды, гормональная активность и итоговый тип метаболизма у них принципиально различаются. Чтобы подтвердить свою теорию, были изучены некоторые физиологические особенности молоди лососевых видов рыб, как реализующих проходной образ жизни, так и видов, обитающих в химически загрязнённых вулканических водотоках без возможности уйти в чистую воду.

Процесс смолтификации изучался на примере молоди чавычи *Oncorhynchus tshawytscha*, нерки *O. nerka* и кижуча *O. kisutch*, выращиваемой на лососевых рыбоводных заводах. Были проведены тесты в воде разной солёности, в которых сравнивали разные размерные группы молоди, предполагая, что мелкая рыба – пестрятки, крупная – смолты, средняя молодь – переходные варианты. С целью инициации смолтификации на пестрятках проводили гормональные терапии. Также проанализировали различия в процессе смолтификации у заводской и дикой молоди, которую отлавливали в базовых реках ЛРЗ.

Неотению изучали на мальме *Salvelinus malma*, приспособленной к оседлому образу жизни в условиях химического загрязнения среды обитания, изолированной в вулканических ручьях. Изолированную мальму сравнивали с популяциями этого же вида из чистых водотоков и загрязнённых, но не изолированных ручьёв. Были проведены тесты на устойчивость рыб к токсикозу в процессе нормального развития, и в шести экспериментальных группах, в которых разными терапиями изменяли интенсивность обмена веществ и активность синтеза тиреоидных гормонов.

В работе обобщены материалы многолетних полевых сборов образцов от природных популяций лососевых рыб на Камчатке, данные полученные в контроле и после различных манипуляций с молодь, выращиваемой на ЛРЗ, а также в ходе острых и хронических экспериментов и разнообразных гормональных терапий молоди в контролируемых лабораторных условиях.

## 2.1. Район работ и объекты исследования

Исследования проводились на Камчатке в период с 2002 по 2023 гг.

Объектами исследования для изучения процессов *смортификации* тихоокеанских лососей с длительным периодом жизни были выбраны: молодь чавычи и нерки, выращенная на Малкинском ЛРЗ (далее – МЛРЗ), и молодь кижуча, выращенная на Вилюйском ЛРЗ (далее – ВЛРЗ). Также исследовали дикую молодь чавычи и нерки, пойманную в верхней части эстуария р. Большой (в районе Микояновского лимана) и молодь кижуча выловленную в оз. Большой Вилюй (рис. 2.1.1).

МЛРЗ расположен в Елизовском районе у села Малка в 130 км от города Петропавловска-Камчатского, на правом берегу реки Ключёвка (бассейн реки Большой) в 5 км от места её впадения в реку Быстрая и в 200 км от Охотского моря. МЛРЗ является тепловодным, для подогрева речной воды используются геотермальные воды из местных месторождений. С завода выпускают подрошенных сеголеток чавычи и нерки. Среднее количество выпускаемой молоди чавычи в период с 2002 по 2023 гг. составляло 875,9 тыс. экземпляров средней массой – 8,7 г, нерки – 644,5 млн экз. средней массой 5,0 г.

Река Ключёвка, левый приток р. Быстрой, длиной – 24 км, водосборная площадь – 152 км<sup>2</sup>. Уровень воды не имеет значительных колебаний даже в период весенних паводков. Температура воды в летнее время колеблется от 2 до 13 °С, зимой опускается до 0,1 °С. В р. Ключёвка заходят на нерест кижуч, сима, чавыча, нерка, горбуша.

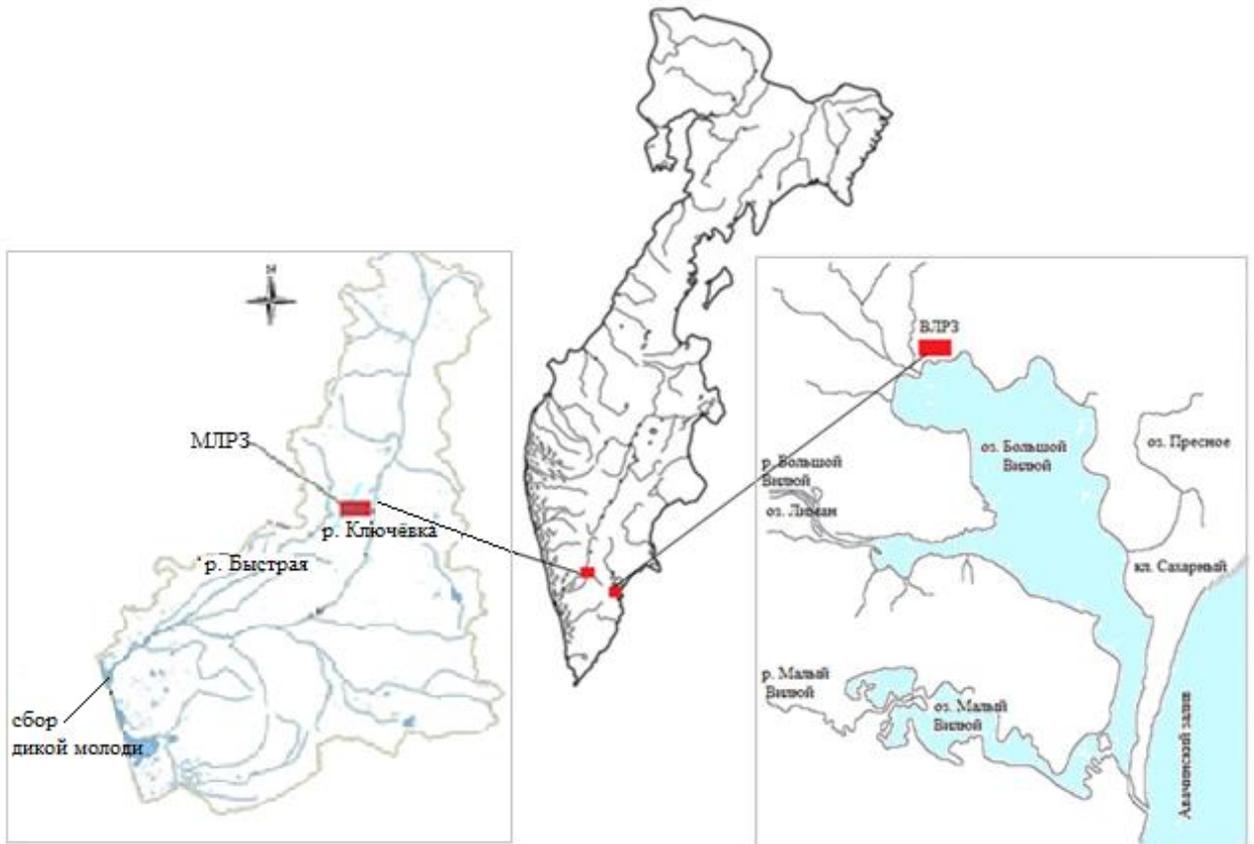


Рисунок 2.1.1 – Районы отбора проб для изучения смолтификации

ВЛРЗ расположен на территории ЗАТО Вилучинск в Елизовском районе Камчатского края в 8 км от Тихого океана на северо-западном берегу озера Большой Вилюй. После реконструкции завод введён в эксплуатацию в 2003 г. Выпуск двухлеток кижуча с Вилюйского ЛРЗ производился в период с 2004 по 2021 гг. Среднее количество выпускаемой молоди составляло 370,3 тыс. экз. средней массой – 12,9 г. С 2022 года из-за проблем с водоснабжением выпуск кижуча 1+ приостановлен.

До ската в море молодь кижуча обитает в оз. Большой Вилюй, которое посредством небольшой протоки сообщается с озером Малый Вилюй и с Тихим океаном. Длина протоки между озёрами и морем 0,9 км, ширина 0,1 км. Во время осенне-зимних штормов протока почти ежегодно замывается песком, изолируя озеро от моря от двух недель до пяти месяцев. Площадь акватории оз. Большой Вилюй 8,1 км<sup>2</sup>, средняя глубина около 3 м, своих наибольших величин (до 6–7 м)

глубина достигает в северо-западной части озера. Температура воды в озере в зимний период изменяется от 0 до 0,5°C на поверхности и от 1,2 до 4,0°C в придонных слоях, после распаления льда из-за небольших глубин температура воды в озере быстро повышается, достигая наибольших значений в конце июля-середине августа (в особо жаркое лето на мелководьях - до 25°C). Озеро Большой Виллой относится к водоёму лиманного типа с сильной стратификацией вод по уровню солёности. В северо-западной глубоководной части озера солёность воды в поверхностных слоях составляет 1–37 ‰, в придонных – 29–30 ‰. Непосредственно в озеро впадает река Большой Виллой. Озеро Большой Виллой является местом обитания проходных, полупроходных и морских видов рыб. Ихтиофауна озера представлена 15 видами из 8 семейств (Мешкова, Смирнов, 2003).

Объектом исследований приспособлений к оседлому образу жизни в условиях химического загрязнения среды обитания по пути *неотении* выбрана мальма. Изучали популяции гольцов, обитающих в «вулканических» ручьях и находящихся в изоляции от десятков до сотен лет (рис. 2.1.2). Так, изоляция популяций гольцов в ручьях Кущущ, Фальшивый и Гольцовый обусловлена сходом селей во второй половине XX века; в ручьях Нижнекошелевский и Тройной гольцы населяют участки выше древних задернованных завалов и выходов термальных высоко минерализованных вод. При этом адаптивные изменения у них схожи, а именно происходит пedomорфная миниатюризация, преждевременное созревание, отсутствие брачной окраски, снижение плодовитости и укорочение продолжительность жизни (Esin et al., 2020). Гольцы населяют верховья этих порожистых ручьёв с меженным расходом менее 1,5 м<sup>3</sup>/с, протекающих по пирокластическим толщам голоценового возраста.

Реки, на которых проводилась работа, похожи – короткие, имеют горный характер с максимальными перепадами высот. Как пример, р. Фальшивая, которая берет начало со склонов Мутновского вулкана и близлежащих сопкок, образуя глубокие каньоны, впадает в одноименную бухту Тихого океана. Площадь водосбора реки – 191,8 км<sup>2</sup>, длина – 31 км, крупнейший приток – р. Левая

Фальшивая (12 км), всего притоков более 60. Общая совокупная длина всей речной системы – 144 км. В верхнем течении р. Фальшивая (высотная зона 500–1000 м над у. м.) протекает по глубокому каньону и отличается крутым падением русла (100 м и более на 1 км продольного профиля реки). Для верховий характерны пороги и водопады (Сорокин, 2008).

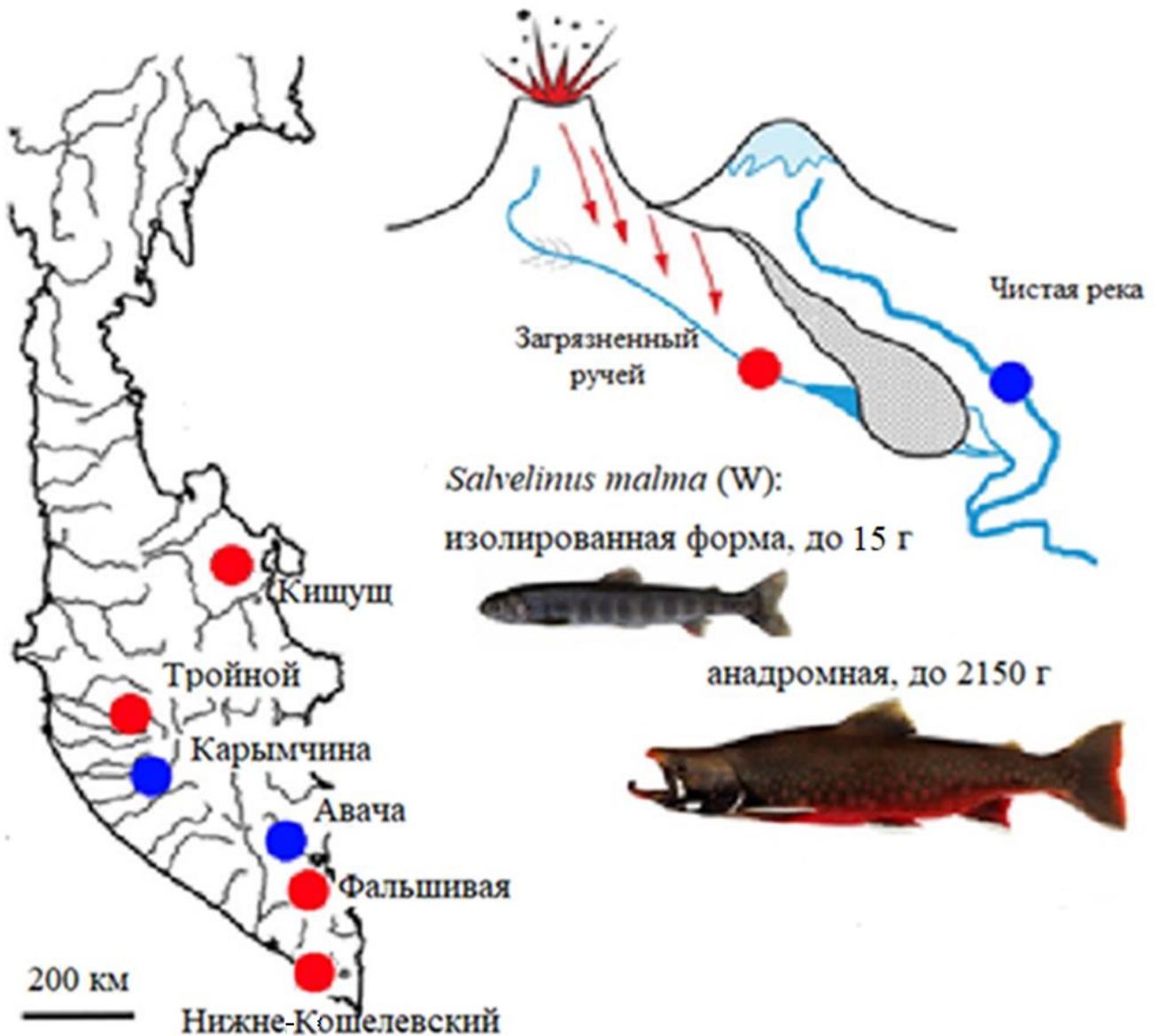


Рисунок 2.1.2 – Районы отбора проб для изучения адаптаций к обитанию в «вулканических» ручьях

## 2.2. Методики исследований

### 2.2.1. Изучение смолтификации у молоди тихоокеанских лососей с длительным пресноводным периодом жизни

Рыбоводные процессы на заводах во все годы наблюдений не отличались, выпуски проводились по достижению молодью нормативной навески с учётом гидрологических условий. Перед выпуском на заводах увеличивают продолжительность светового дня для стимуляции смолтификации, на Малкинском ЛРЗ постепенно снижают температуру воды в выростных бассейнах до показателей температуры в реке, во избежание дополнительного стресса у молоди. Выпуск молоди с заводов проводят в период, когда складываются благоприятные для молоди гидрологические и гидробиологические условия, сроки выпуска уточняются ежегодно.

Непосредственно перед выпуском оценивалась готовность молоди чавычи 0+, нерки 0+ и кижуча 1+ к переходу в морскую воду. В экспериментах молодь выдерживалась сутки в воде солёностью 40 ‰ и в течение одних-трёх-шести суток в воде солёностью 30 ‰. Для приготовления солёной воды использовалась искусственно сбалансированная морская соль (Marine Life), разведённая водой, взятой из выростных бассейнов. Перед проведением экспериментов растворы отстаивались с аэрированием в течение суток. Условия проведения экспериментов по освещённости, температуре и содержанию кислорода в воде максимально схожи с условиями, в которой находилась рыба в выростных бассейнах. В опытах не использовалась молодь с видимыми нарушениями чешуйного покрова, поскольку такие особи отличаются сниженной выживаемостью (Wedemeyer et al., 1980; Bouck, Smith, 1979; Zydlewski et al., 2010, собственные наблюдения). Некоторые исследователи приводят другие данные, так в работе Мур и др. (Moore et al, 2018) показано, что удаление 10 % чешуи у атлантического лосося не оказывает значительного влияния на выживаемость в морской воде. Контролем служили эксперименты в пресной воде при тех же условиях содержания (температура, аэрация, плотность посадки 1–2 экз./л). В

ходе проведения опытов контролировалась динамика ряда гематологических показателей: концентрация гемоглобина и глюкозы, уровень гематокрита, а также осмолярность крови в первые сутки каждые 6 часов, потом с интервалом в сутки. Также оценивалась активность жаберной  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы, ряда гормонов и изучалось изменение жирнокислотного состава в процессе смолтификации у молоди. Дополнительно учитывалось изменение массы тела с точностью  $\pm 0,1$  г.

Пробы для определения содержания ряда гормонов в крови брали непосредственно перед выпуском молоди чавычи с МЛРЗ. Оценивали концентрацию трийодтиронина, кортизола, кальцитонина и паратгормона, а также валовую концентрацию соматотропинов (все паралоги) и пролактина.

Молодь чавычи для анализов разделили на три размерные группы: особи массой до 5 г (мелкая группа, «М»), массой от 5 до 7 г (средняя, «С»), массой более 7 г (крупная, «К»). Мелкая размерная группа со всей очевидностью представляла собой пестряток, не прошедших смолтификацию. Средние и крупные рыбы по экстерьеру и окраске напоминали смолтов. В анализе гормонального статуса средние и крупные особи были разделены на три подгруппы: контрольные рыбы, которых перед отбором крови выдерживали в пресной воде; рыбы после трёхдневного выдерживания в воде солёностью 30 ‰, у которых осмолярность крови вернулась к уровню 295–340 мосм/л (потенциальные смолты, обозначены ‘т+’); рыбы после трёхдневного выдерживания в воде солёностью 30 ‰, у которых осмолярность крови повысилась до 340–524 мосм/л (не способны удерживать осмолярность, ‘т-’). Из анализа исключали особей ‘т-’ в предсмертном состоянии и с признаками необратимого стресса. Таким образом, гормональный статус сравнивали между семью подгруппами: ‘М’ (мелкие пестрятки из пресной воды), ‘С’ (средние рыбы из пресной воды), ‘Ст-’ (средние рыбы, не способные удерживать осмолярность крови при выдерживании в солёной воде), ‘Ст+’ (средние рыбы, способные удерживать осмолярность крови при выдерживании в солёной воде), и по аналогии – ‘К’, ‘Кт-’ и ‘Кт+’. Также анализировалась молодь дикой чавычи, пойманная в бассейне р. Быстрая. Молодь

условно разделили на пестряток (до 5,6 г) и пресмолтов (от 7,4 г) – по экстерьеру и окраске напоминающих смолтов.

Кровь для биохимических анализов получали прижизненно из культи хвоста молоди (Амиров и др., 2020) из каудальных сосудов, предварительно хвостовой отдел протирался, затем лезвием для опасной бритвы отрезали хвост под углом примерно  $60^\circ$  (чтобы кровь не растекалась по анальному плавнику, у мелких особей его подрезали). Кровь для исследований набирали в следующем порядке: глюкоза, осмолярность, гемоглобин, гематокрит.

Приборы для проведения измерений в полевых условиях подбирались портативные, требующие минимального количества образца для анализа, что важно при работе с мелкой рыбой и максимально быстро выдающие результат.

Для анализа на *гормоны*, как правило, отбиралась кровь от нескольких рыб с максимально схожими показателями по массе и осмолярности крови. Эппендорфы с кровью центрифугировали 3 мин при 2900 g, 5 мин (velocity-6м, Dynamica), чтобы разделить форменные элементы от плазмы, которую сразу же отбирали в чистые эппендорфы и замораживали при  $-30^\circ\text{C}$ . Содержание гормонов определяли в лаборатории методом иммунофлуоресцентного анализа, использовали готовые заводские наборы реактивов на основе рекомбинантных антител.

Для определения состава *жирных кислот* отбирали пробы мышц, очищенных от кожи, ниже спинного в сторону хвостового плавника. Экстракцию липидной фракции из мышц рыб проводили смесью хлороформа и метанола в соотношении 2:1 (Folch et al., 1957), после пробоподготовки анализировали на газовом хроматографе с применением капиллярной жировой колонки.

Как и в случае с гормонами для анализа состава жирных кислот предварительно разделили молодь рыб на пестряток, пресмолтов и смолтов по осмолярности крови после пребывания 3–6 суток в воде солёностью 30 ‰.

Для лабораторного анализа *активности антиоксидантных ферментов и ионных насосов АТФазы* тушки без целомических органов замораживали при температуре  $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Все эксперименты проводились в трёх повторностях, в редких случаях в двух. Также сравнивали гематологические показатели у заводской и дикой молоди. Анализировали отличия результатов экспериментов в солёной воде у молоди разного происхождения.

#### *Эксперименты по стимуляции смолтификации у экспериментальной молоди нерки*

Стимуляцию смолтификации проводили на молоди реофильной нерки, полученной путём инкубации и подращивания в контролируемых лабораторных условиях. Через 40 ч после оплодотворения икру поместили в аквариальную установку; дальнейшие инкубацию и подращивание осуществляли в 250-литровых ёмкостях при стандартных контролируемых условиях: фильтрация и УФ стерилизация с интенсивностью 900 л/ч (фильтры со встроенной помпой e902, лампы UV-C 11 Вт, JBL, Германия), общая жёсткость  $5 \pm 0,001^{\circ}\text{Ж}$  (2,5 ммоль/л), рН 7,8, концентрация кислорода  $\geq 11$  мг/л, температура  $3,0 \pm 0,03\text{ }^{\circ}\text{C}$ , освещённость  $< 100$  лк. После вылупления молодь рассадили в сетчатые садки, свободно плавающие в ёмкостях, с плотностью 80 особей на  $0,004\text{ м}^3$ . На 12-й неделе выращивания, когда молодь начала проявлять пищевую активность и заглатывать науплиусов *Artemia salina*, плотность посадки снизили в два раза, суточный режим освещения поменяли на 2000 лм в течение 8 ч и 100 лм ночью (лампы Sun-Glo, Hagen, Канада), температуру воды подняли до  $4,2 \pm 0,06\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Рыб кормили стандартными навесками (5 % массы тела в сутки) сбалансированного гранулированного корма (Correns Vital, Германия).

После достижения молодьёу нерки массы тела в среднем 1,3 г, её разделили на пять экспериментальных групп по 30–40 экз. в каждой (рис. 2.2.1).

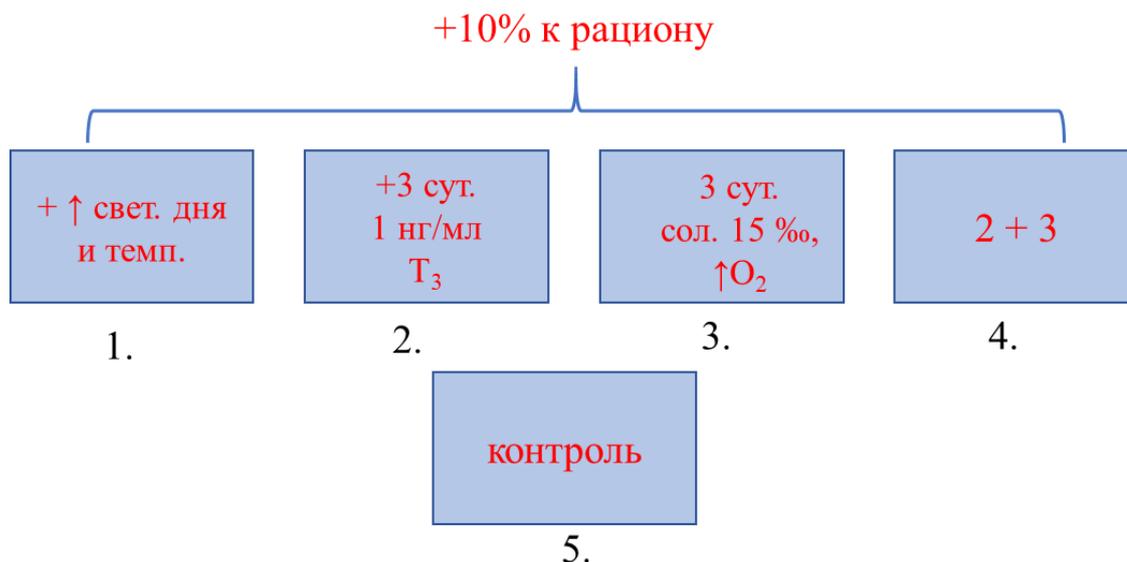


Рисунок 2.2.1 – Схема проведения эксперимента по стимуляции смолтификации молоди нерки

Группа 1. В течение 17 дней интенсивно кормили (10 % массы тела в сутки), увеличили продолжительность освещения с 8 до 11 часов, температуру воды подняли с 4,2 до  $6,0 \pm 0,11$  °С.

Группа 2. После 14 суток манипуляций как в группе 1 дополнительно в течение трёх суток выдерживали в среде, содержащей 1,0 нг/мл активной формы тиреоидных гормонов – трийодтиронина ( $T_3$ , Sigma).

Группа 3. После 14 суток манипуляций как в группе 1 на трое суток пересадили в воду солёностью 15 ‰ (соль Marine Life Salt, Россия, pH = 8,1) и принудительной гиперэрацией.

Группа 4. После 14 суток как в группе 1 дополнительно трое суток выдерживали в воде с 1,0 нг/мл  $T_3$ , а затем сразу же ещё на трое суток пересадили в воду солёностью 15 ‰.

Группа 5 – ‘контроль’. Содержали это же время без изменения условий, гормональной терапии и акклимации.

После проведённых манипуляций и терапий все группы выдержали трое суток в чистой пресной воде без кормления, и, убедившись в отсутствии летальных и сублетальных эффектов, пересадили на шесть суток в 10-литровые ёмкости с водой солёностью 30‰. Масса молоди к моменту начала теста в

солёной воде достигла  $1,3 \pm 0,09$  (0,9–2,0) г. В процессе теста молодь подкармливали (3–5 % в день от массы тела).

Результаты экспериментов оценивали по выживаемости молоди, в момент завершения теста у всех рыб измерили осмолярность периферической крови, по величине которой судили о солеустойчивости и прогрессе смолтификации.

### **2.2.2. Изучение механизмов адаптаций изолированных популяций мальмы к химическому загрязнению среды обитания**

В изолированных загрязнённых вулканических водотоках были обнаружены самовоспроизводящиеся миниатюрные популяции гольцов (других видов рыб в этих ручьях обнаружено не было). Чтобы понять, как гольцы смогли адаптироваться к такой сильно минерализованной воде, их сравнили с гольцами из похожих, но чистых ручьёв. Также доставили в лабораторию оплодотворённую икру проходных форм гольцов для инкубации и подращивания молоди, для дальнейшего проведения экспериментов.

Работы проводились несколько лет (2012–2015, 2017–2021) в середине августа на рр. Авача, Карымчина, Фальшивая и Тройной, Нижне-Кошелевский и Кищущ.

В местах отбора рыбы оценивали суточную динамику температуры, жёсткости, рН и мутности воды, а также химический состав (табл. 3.4.1). Мутность определяли весовым методом, фильтры Ф-Ш ГОСТ 12026-766. Фильтрат использовали для анализа элементного примесного состава. Химический анализ выполняли методами ICM-MS, измеряли концентрацию ионов Cu, Pb и Zn (масс-спектрометр Elan-6100, Perkin Elmer) и ICP-AES (эмиссионный спектрометр Optima-4300 DV, Perkin Elmer) по НСАМ № 480-х (Методика определения..., 1998). Полученные концентрации сравнивали с ПДК<sub>рбх</sub> (предельно-допустимыми концентрациями), установленными для рыбохозяйственных водных объектов (Нормативы качества воды..., 2011). Индекс валового загрязнения воды (ИКВ) рассчитывали как среднюю кратность превышения критических значений (Лозовик, Кулакова, 2014).

Молодь гольцов длиной 85–165 мм, массой 5–55 г отлавливали сачками. Перед отбором проб рыбу помещали в контейнеры объёмом 10 л на 30 мин. Активность метаболизма и силу физиологического стресса у молоди мальмы оценивали по ряду показателей: концентрация глюкозы (ГЛ), уровень гемоглобина в крови (ГМ). Также отбирали пробы плазмы крови для дальнейшего анализа на гормоны (кортизол, общий  $T_3$ ), белок (БП), общую антиоксидантную активность (каталазы), интенсивность перекисного окисления липидов, как маркера окислительного стресса, которую оценивали по содержанию диеновых конъюгатов и кетонов (ДКК) и ТБК-активного соединения – малонового диальдегида (МДА) в плазме крови. Кровь получали прижизненно из хвостовых сосудов с помощью вакууматоров с K2EDTA (Galen). Из крови центрифугированием отбирали плазму, которую замораживали для дальнейшего анализа. Кроме того, отбирали мышечную ткань для оценки содержания основных фракций липидов и печень для оценки концентрации восстановленного глутатиона (ГТ) и других пептидов и белков со свободными тиольными группами (металлотионеин, МТ). Оставшиеся тушки без целомических органов замораживали при температуре  $-50^{\circ}\text{C}$  для дальнейшего анализа активности антиоксидантных ферментов и ионных насосов АТФазы.

#### *Эксперимент по определению летальной токсичности воды*

Следующий этап работ заключался в определении летальной токсичности воды для гольцов. Для чего в исследуемых водотоках ежегодно в августе с 2017 по 2021 г. отбирали пробы воды из 4 ручьёв (Нижне-Кошелевский, Тройной, Кищущ, Фальшивая), текущих с вулканов, где воспроизводится миниатюрный фенотип *Salvelinus malma*, а также в местах отлова производителей в рр. Авача и Карымчина. Воду фильтровали (8  $\mu\text{m}$  SCWP, Millipore), после чего измеряли pH, общую жёсткость и концентрацию ионов Cu, Pb и Zn (метод ICP-MS на приборе Elan-6100, Perkin Elmer; чувствительность  $\pm 0,1$  мкг/л).

Работы проводились на базе лаборатории, куда была перевезена икра мигрантного фенотипа мальмы. Производители были отловлены на нерестилище

в бассейне р. Авача. Икру оплодотворили (соотношение производителей – 2 самца на 1 самку, 5 самцов на 3 самки), спустя 40 часов её поместили для дальнейшей инкубации и подращивания в 250-литровую аквариальную со стандартными контролируруемыми условиями (жёсткость  $250 \pm 30$  ppm, освещённость  $<100$  лм, pH = 7,8, скорость фильтрации и УФ стерилизации 900 л/ч, концентрация кислорода  $\geq 11$  мг/л, температура 3,0 C).

В лаборатории подготовили растворы для экспериментов, повторяющие средние концентрации Cu, Zn и Pb в ручьях Нижне-Кошелевский и Тройной. Для получения растворов #Кош / #Тро на литр воды жёсткостью 250 ppm растворяли, соответственно, 0,044 / 0,133 мг  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 0,415 / 0,375 мг  $\text{ZnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  и 0,050 / 0,025 мг  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ . Также подготовили раствор #Макс с концентрациями металлов, соответствующими максимальным из средних годовых зарегистрированных значений в четырёх водотоках (табл. 3.4.1): 0,133 мг  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 0,415 мг  $\text{ZnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  и 0,066 мг  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  на литр. Для другого эксперимента сделали растворы, соответствующие воде в рр. Фальшивая (№1) и Тройной (№ 2) (табл. 3.4.1), для чего растворили 0,044 / 0,133 мг  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 0,200 / 0,375 мг  $\text{ZnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  и 0,025 / 0,025 мг  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  на 1 л воды. Концентрации металлов в растворах однократно верифицировали масс-спектрометрически (Elan-6100, Perkin Elmer).

Оценили летальную токсичность полученных растворов для экспериментальных гольцов на восьми стадиях развития в 7-дневных тестах против контроля (в чистой воде). Эксперименты проводились в трёх повторностях, рыб отсаживали в двухлитровые ёмкости с принудительной аэрацией при интенсивности фильтрации 100 л/ч. В каждом тесте использовано по 20 экз. (за сутки до экспериментов питающуюся молодь прекращали кормить).

*Манипуляции по изменению устойчивости экспериментальных гольцов к токсичности растворов*

В аквариумальном комплексе была получена молодь мальмы (от привезённой икры мигрантной формы гольцов), которая сразу после вылупления была рассажена в садки с плотностью 100 особей на 0,004 м<sup>3</sup>.

С появления пищевой активности, на 15-й неделе выращивания, в 2 раза уменьшили плотность посадки, выставили суточный режим освещения на 10 ч – 2000 лм и 14 ч – 100 лм (лампы Sun-Glo, Hagen), повысили температуру воды до 4,2 °С. Молодь кормили сбалансированным гранулированным кормом (Coppens.Pro “Vital”) из расчёта 5 % массы от тела в день.

С момента перехода на внешнее питание молодь обеих серий была разделена на семь экспериментальных групп, которые далее выращивали 12 недель (~ 350 градусо-дней) до стадии малька при разных терапиях эндокринной системы. Стимулирующие и тормозящие воздействия были проведены на трёх уровнях регуляции метаболизма (рис. 2.2.2):

Группа 1. Анаболизм и общий обмен веществ активировали (группа ‘Insu’) путём интенсивного кормления (+ 30% к рациону) и микроинъекций (1 мкл каждые четыре дня, МРРІ-3, ASI) суспензией, содержащей 1Е инсулина (Медсинтез; интенсификация гликолиза) и 2 нг ипаморелина (cas 170851-70-4, Sigma; стимулятор секреции грелина и факторов роста).

Группа 2. Угнетение анаболизма (группа ‘Sita’) достигалось путём ограничения подачи корма (- 30 % рациона), добавления в воду 33 мг/л ситаглиптина (cas 486460-32-6, Акрихин; ингибитор дипептидилпептидазы, деградирующей инсулинотропные глюкогонные пептиды) и микроинъекций 2 нг сунитиниба (cas 341031-54-7, Pfizer; неспецифический ингибитор тирозинкиназ, обеспечивающих средство факторов роста к рецепторам) каждые четыре дня.

Группа 3. Активность тиреоидной регуляции обмена веществ повышали (группа ‘Thyr’) путём постоянного содержания молоди в растворе 1,0 мкг/л трийодтиронина (= Т<sub>3</sub>, cas 6893-02-3, Sigma; биологически активная форма

тиреоидных гормонов) и добавлением в воду иопановой кислоты (cas 96-83-3, Sigma; ингибитор дейодиназ) из расчёта 2 мкг на 1 г рыбы.

Группа 4. Угнетение активности щитовидной железы (группа ‘Thio’) проводилось добавлением в воду 0,2 г/л тиомочевины (cas 62-56-6, Solins Chem; неспецифический гойтроген). Рабочие концентрации гойтрогена и  $T_3$  были выбраны на основе экспериментов на молоди гольцов (Esin et al., 2021).

Группа 5. Активность нейроэндокринной стимуляции щитовидной железы повышали (группа ‘НТР’) добавлением в воду 75 мг/л гидрокситриптофана (Эвалар; прямой предшественник серотонина, стимулирует тубероинфундибулярный путь (Лычкова, 2013)).

Группа 6. Угнетение регуляторов передней доли гипофиза (группа ‘РСРА’) достигалось добавлением в воду 1,7 мг/л пара-хлорфенилаланина (cas 7424-00-2, Sigma; ингибитор триптофан-гидроксилазы, тормозит синтез серотонина).

Группа 7 – ‘контроль’. Рыба содержалась в чистой воде без терапий.



Рисунок 2.2.2 – Схема проведения эксперимента по стимуляции устойчивости мальмы к токсичным растворам

Остальные условия в экспериментах были стандартными. Полная подмена воды с действующими веществами выполнялась каждые семь дней. Концентрации действующих веществ были подобраны исходя из результатов предварительных экспериментов и предписаний для лечения человека; все препараты в используемых концентрациях показали отсутствие острой токсичности для молоди гольца.

Наличие эффекта терапий проверялось через 12 недель по изменению скорости роста, показателя рутинного метаболизма (РПМ) и концентрации  $T_3$  в теле относительно контроля. Длину тела ( $FL$ ) измеряли линейкой у 10–15 экз. каждой группы обеих серий. РПМ оценивали в середине светового дня по потреблению кислорода в покое у рыб, голодающих сутки (Eliason, Farrell, 2015). Для этого по 4–5 мальков известной массы каждой серии дважды помещали в герметичную ёмкость объёмом 350 мл без пузырьков воздуха на 30 мин и измеряли падение концентрации кислорода в воде (датчик HI 9146-04, Hanna Inst.). Экстракцию  $T_3$  из тела 5–6 рыб каждой серии выполняли, соблюдая общепринятый протокол (Holzer et al., 2017). Содержание гормона оценивали методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческого набора (Monobind) и Хема (кортизол) в соответствии с инструкцией производителя.

Через неделю после завершения терапий во всех группах провели стандартные 7-дневные тесты на выживаемость в растворе #Макс (в трёх повторностях для каждой группы обеих серий). Дополнительно, во всех группах первой серии перед тестами и сразу по их завершению отобрали по пять экземпляров без явных нарушений поведения для анализа интенсивности перекисного окисления липидов (показатель силы окислительного стресса (Schlenk et al., 2008; Eysckmans et al., 2011)) по содержанию продуктов окисления, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активные соединения). Содержание ТБК-активных соединений определили спектрофотометрически в супернатантах.

### Хронический эксперимент

Хронический эксперимент проводился после достижения стадии сформировавшегося малька на 38-й неделе после вылупления. В течение 12 недель рыба содержалась при разных стимуляциях (рис. 2.2.3).

Группа 1 и группа 2 выращивались в условиях гипер- и гипотиреоза соответственно. Изменённый статус щитовидной железы был получен как в предыдущем эксперименте в группах 3 и 4, соответственно.

Группа 3. Моделировали долгосрочное воздействие тяжёлых металлов на физиологию акклиматизированных гольцов так, чтобы избежать высокой смертности. Для этого рыба отсаживалась в раствор, содержащий примерно половину самых низких средних концентраций тяжёлых металлов, обнаруженных в естественных вулканических ручьях (табл. 3.4.1):  $\sim 0,005$  мг/л Cu,  $\sim 0,025$  мг/л Zn и  $\sim 0,005$  мг/л Pb. Для приготовления этого раствора, растворяли 0,022 мг  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 0,115 мг  $\text{ZnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  и 0,013 мг  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (XIMMAC Chem.) на 1 л воды, обработанной ультрафиолетом.

Группа 4 – ‘контроль’. Рыбу содержали в чистой воде. Все остальные условия выращивания и режим кормления были аналогичными. Во всех группах аквариумную воду полностью меняли раз в неделю.

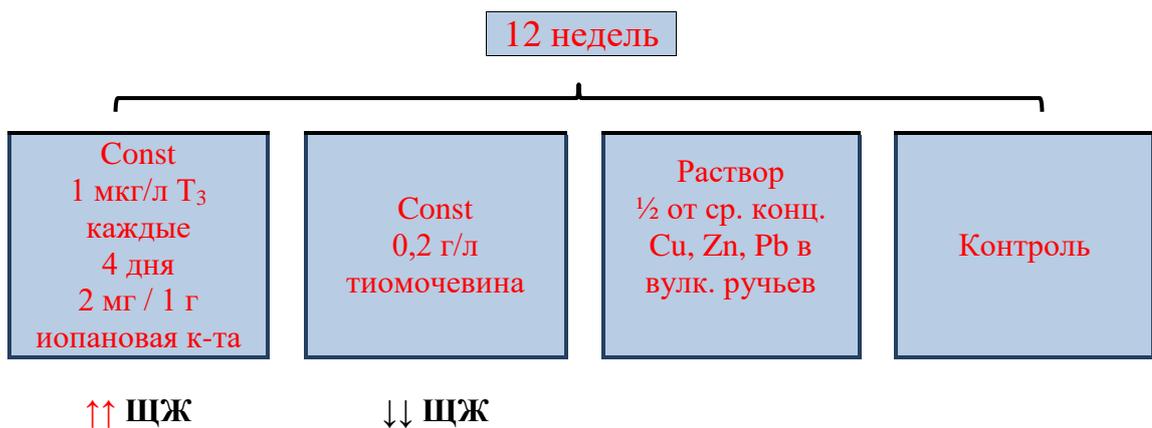


Рисунок 2.2.3 – Схема проведения хронического эксперимента

Эффективность обработок в конце эксперимента проверяли по изменению скорости потребления кислорода (Eliason, Farrell, 2015) по сравнению с контрольной рыбой ( $=3,42 \pm 0,135$  мг  $O_2$ /кг мин). Параметр увеличился на треть в группах с гипертиреозом и акклиматизацией и снизился на четверть в группе с гипотиреозом. Измерения были проведены в группах из 4–5 рыб с ограниченным потреблением корма в 1,5-литровом герметичном контейнере в полдень с использованием датчика HI 9146-04 (Hanna Inst.) в 10 повторностях.

*Тест на акклимацию к загрязнению, имитирующему природные воды вулканических ручьёв*

В конце 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 (№1) и Тройной (№2). Тесты были проведены в трёх повторностях на 20 рыбах для каждой серии в сравнении с контролем между и внутри серий. Рыбы содержались в двухлитровых аквариумах с внутренними фильтрами (100 л/ч) и воздушными компрессорами, кормление стандартизировано во всех группах.

Подробные методики описаны в разделе 2.4 «Протоколы исследований».

## 2.3. Объем собранного материала

Виды рыб	Место	Виды анализа								
		Биологический анализ	Анализ физиологического состояния					Тесты в солёной воде / токсикологические	Потеря массы тела	Качество воды
			1	2	3	4	5			
<b>СМОЛТИФИКАЦИЯ</b>										
Чавыча	МЛРЗ	872	1693	44	157	95	-	1980 / -	334	-
	Эстуарии р. Большая, р. Авача	66	204	39	40	-	-	47 / -		-
Нерка	МЛРЗ	148	317	38	-	-	-	123 / -	66	-
	Эксперимент	268	-	-	-	-	-	210 / -		-
Кижуч 1+	ВЛРЗ	361	1404	-	-	-	-	298 / -	43	-
	Оз. Б. Виллой	127	323	-	-	-	-	29 / -		-
<b>НЕОТЕНИЯ</b>										
Мальма	Чистые реки (рр. Авача, Карымчина)	138	90	24	-	54	55	-	-	+
	Загрязненные реки (Фальшивая, Тройной, Кищущ, Нижне-Кошелевский)	175	89	27	-	37	32	-	-	+
	Эксперименты	316	-	51	152	32	105	- / 1035	-	+
<b>ВСЕГО</b>		2471	4120	223	349	218	192	3722	443	

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

## 2.4. Протоколы исследований

### *Определение уровня глюкозы в крови*

Концентрация глюкозы в крови измеряли глюкометром SmartScan / Contour-TS, в основу работы которого заложен ферментативно-амперметрический метод, а именно восстановленный из глюкозы под действием глюкозооксидазы ферроцианид калия окисляется при контакте с электродом, отдавая один электрон, который попадает на измерительный электрод, в итоге специальным электронным устройством измеряется электрический ток, который пропорционален концентрации глюкозы. Кровь (необходимый объем крови всего 2,5 мкл) капается на тест-полоску, которая имеет микроячейку, содержащую комплекс реагентов и измерительные электроды, вставленную в прибор, через 15 секунд на экране высвечивается результат.

### *Определение концентрации гемоглобина в крови*

Гемоглобин измеряли гемиглобинцианидным методом (Авдеева, 1987). 20 мл крови отбирали в пипетку Сали, вносили в пробирку с 5 мл трансформирующего раствора (использовали набор «Диагем Т» производства фирмы «Ренам» разведённый дистиллированной водой) тщательно перемешивали и выдерживали 30 минут. В результате весь гемоглобин преобразуется в конечный продукт реакции – цианметгемоглобин, после чего содержимое пробирки переливали в оптическую кювету и фотометрировали на миниглобинометре «МиниГем 540» или анализатор Nach DR2400.

### *Определение уровня гематокрита в крови*

Величину гематокрита рассчитывали после центрифугирования в центрифуге СМ-70 (в течение 5 мин. при 7000 об./мин.). Кровь набирали в капилляр на высоту 60–65 мм, свободный конец капилляра перекрывали пальцем, во избежание вытекания из него крови, другой конец втыкали в замазку. После чего капилляры устанавливались замазкой вниз, и проводилось центрифугирование. Затем извлекали капилляры и измеряли соотношение длины

капилляра, занимаемого клетками красной крови, к общему объёму пробы (в %), что и является значением уровня гематокрита.

#### *Определение осмолярности крови*

Осмолярность крови измеряли гигрометрическим методом (осмометр Varco 5520, позволяющий работать с цельной кровью). В держатель образца осмометра кладётся бумажный диск, на который капается 10 мкл крови, после чего образец закрывается в камере, в которой происходит уравнивание давления пара, термоэлемент фиксирует температуру окружающего воздуха, устанавливая, таким образом, базисную, контрольную точку для последующих измерений. Электронно-управляемый термоэлемент фиксирует температуру точки росы в пределах этого ограниченного пространства и даёт результат пропорциональный разности температур, измерение длится 80 секунд. Так как в большинстве работ данные осмолярности приведены по плазме крови, нами была проведена серия из 30 измерений осмолярности как в цельной, так и в плазме крови, различия в показателях не превышали 4% (выше в плазме), что позволило далее работать с цельной кровью.

#### *Определение концентрации гормонов*

Все гормоны определялись строго по методикам описанных в наборах реагентов для определения гормонов. Концентрацию трийодтиронина определяли с использованием набора Monobind tT3 ELISA (США), чувствительность  $\pm 0,04$  нг/мл, ref#125-300, кортизола – Хема Кортизол-ИФА (Россия), чувствительность  $\pm 6$  нМоль/л, ref #k210, кальцитонина – Biomerica Calcitonin ELISA (США), чувствительность  $\pm 1$  пг/мл, ref #7024, паратиреоидного гормона – Хема ПТГ-ИФА (Россия), чувствительность  $\pm 3,8$  пг/мл, ref #k262. Для определения валовой концентрации соматотропинов (все паралоги) применяли набор Хема ГР-ИФА (Россия), чувствительность  $\pm 0,05$  нг/мл, ref #k204; использованы неспецифические поликлональные антитела из мыши ser0130 и пролактина – Хема Пролактин-ИФА (Россия), чувствительность  $\pm 0,24$  нг/мл, ref #k206.

*Анализ состава свободных жирных кислот*

Для определения состава жирных кислот отбирали пробы мышц, очищенных от кожи, ниже спинного в сторону хвостового плавника. В 10 й г пробы добавляли 30 мл смеси метанол-хлороформ (соотношение растворителей может быть изменено в зависимости от влажности и жирности пробы, но обычно 1:2), измельчали на гомогенизаторе. Затем через фильтровальную воронку Шотта под вакуумом отделяли твёрдый осадок, который повторно гомогенизировали с бинарной смесью растворителей, и фильтровали в ту же делительную воронку. Добавляли 2 мл воды в воронку, перемешивали, ждали (2 часа), когда расслоится на две фазы – хлороформенную и водную. Хлороформенную фазу отделяли, подсушивали над сернокислым натрием, хлороформ отгоняли на роторном испарителе.

Метилвые эфиры жирных кислот готовили из смесей жирных кислот, беря за основу ГОСТ 31665-2012. Образец жира массой 0,5 г растворяли в 5 мл гексана, добавляли 0,25 мл 2Н КОН в метаноле, встряхивали и отстаивали в течение 40 мин. Отбирали 0,2 мл верхнего слоя и добавляем 0,8 мл гексана (необходимая концентрация для введения в газовый хроматограф). Если брали меньшее количество жира, то соответственно, пропорционально уменьшали количество реактивов. Но минимальное рекомендованное количество жира – 50 мг.

Полученные метилвые эфиры жирных кислот разделяли на хроматографе «Хроматэк Кристалл-5000.2» (Россия) с ДАЖ-2М (дозатор автоматический жидкостный) с пламенно-ионизационным детектором, на капиллярной колонке CR-FAME 100 м x 0,25 мм x 0,2 мкм («Хроматэк») (внутренний диаметр 0,25 мм, длина 100 м, толщина слоя неподвижной жидкой фазы 0,2 мкм), в качестве подвижной фазы служил водород особой чистоты (99,999 %), скорость потока газа – 1 мл/мин. Режим разделения –градиентный температуре термостата колонок с 0 по 15 мин – 120 °С, с 15 по 22 мин – 180 °С, с 22 по 65 мин – 220 °С, соответственно; температура детектора 250 °С, температура испарителя 250 °С. В данных условиях метилвые эфиры жирных кислот разделяются в соответствии с числом углеродных атомов и двойных связей. Расчёт хроматограмм проводили с

помощью компьютерной программы «Хроматэк Аналитик» (Россия). Идентификацию проводили сравнением со стандартной смесью (Supelco 37 component FAME MIX, каталожный номер Sigma Aldrich CRM47885). При обработке результатов измерений использовали метод внутренней нормализации.

*Определение активности жаберной  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы*

Для получения данных по активности жаберной  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы были собраны образцы ткани у молодежи, скатывающейся в эстуарий р. Большой, и у экспериментальных особей, после выдерживания в воде солёностью 0, 30 и 40 ‰.

Использовали оптимизированную методику по Zaugg (1982) и McCormick (1993).

Навеску 0,2 г гомогенизировали в 2 мл буфера 2 мМ EDTA, 50 мМ имидазола (pH = 7.1), и центрифугировали 5 мин при 2910 g. Осадок ресуспендировали (вортекс) в буфере в соотношении 1:3, добавляя 1 мкл Triton X-100 (cas 9002-93-1). Суспензию выдерживали 1 ч при +4 °С и повторно ресуспендировали.

Активность ферментов оценивали по разнице концентрации неорганического фосфата в инкубационной среде против контроля. Инкубационную среду получали добавлением к 1 мл пробы 100 мкл водного раствора, содержащего 30 мМ  $\text{MgCl}_2$ , 1300 мМ  $\text{NaCl}$ , 200 мМ  $\text{KCl}$ , 30 мМ АТФ и 1 мМ имидазола (cas 288-32-4); контроль – к 1 мл супернатанта добавляли 100 мкл 10 мМ убаина (cas 630-60-4).

Оба раствора выдерживали 20 мин при 25 °С, первоначально нагрев кратковременным опускаем в горячую воду. По истечении срока инкубации добавляли по 100 мкл холодного (4 °С) стоп-раствора: 10% ацетата натрия в 4% формалине. Вортексировать и поместить в холод. Содержание фосфата в супернатанте определяли при помощи коммерческого кита MAK308 (Sigma) по реакции с молибдатом (Cogan et al., 1999) согласно прилагаемому протоколу. Активность мембранных АТФаз оценивали по разности концентрации неорганического фосфата в инкубационной среде и контроле против экстинкции супернатанта до внесения солей.

*Определение концентрации восстановленного глутатиона (ГТ) и других пептидов и белков со свободными тиольными группами (металлотионеинов, МТ)*

Отбирали каудальный фрагмент центральной доли печени (навеска 0,12–0,32 г), размалывали в ступке с 4 мл буфера (100 ммоль  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 1 ммоль EDTA, pH 7.0 + антиоксидант Sigma A4403 + ингибитор протеаз Sigma P2714) и добавляли 6 мл насыщенного раствора  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . В лаборатории образцы гомогенизировали ультразвуком и разделяли на фракции (12000 g, 10 мин). Предполагая, что супернатант содержит пептиды, а осадок — высоленные белки, концентрацию SH-групп определяли в двух фракциях спектрофотометрически при длине волны 412 нм (анализатор 6705S, Jenway) по методу Элмана (1959).

*Определение концентрации белка плазмы крови (БП)*

Определяли по реакции плазмы с биуретовым реактивом (Справочник биохимика, 1991) при длине волны 540 нм, в качестве стандарта использовали бычий сывороточный альбумин. Все делали в соответствии с инструкцией к набору реагентов Spinreact (Испания).

*Определение общей антиоксидантной активности плазмы крови (ААП)*

В основном активность каталазы, изучали по методу М.А. Королюка (1988) с модификациями. Плазму объёмом 0,05 мл добавляли в 2 мл 0,01%-ной  $\text{H}_2\text{O}_2$ , реакцию останавливали через 10 мин добавлением 1 мл 2%-ной  $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ . Концентрацию пероксомолибдатов определяли при длине волны 410 нм, предварительно отделив центрифугированием (2900 g, 3 мин) коагуляты. Расчёты проводили исходя из коэффициента молярной экстинкции  $\epsilon = 2220$  л/моль·см (Goth, 1991).

*Определение содержания основных фракций липидов*

Мышечную ткань отбирали за спинным плавником (навеска 0,40 г). Липиды экстрагировали по Фолчу и промывали 1%-ной NaCl (Folch et al., 1957). Валовую концентрацию липидов (ОЛ) определяли по реакции с фосфованилином в  $\text{H}_2\text{SO}_4$  при длине волны 520 нм (Knicht, 1972). Концентрацию фракций определяли ферментативноколориметрическими методами по конечному продукту кинонимину (Кейтс, 1975) при длине волны 505 нм. Значение ТАГ было получено

в результате реакции ферментативного гидролиза (Takayama et al., 1977). Использовали готовые наборы реагентов Spinreact (Испания). Концентрацию липидов пересчитывали в% сухой массы, измельчённые мышцы сушили в эксикаторе. Считали липидный коэффициент Дьерди – соотношение холестерина к фосфолипидам.

#### *Интенсивность перекисного окисления липидов*

Оценивали по содержанию диеновых и ТБК-активных соединений в плазме крови. Диеновые конъюгаты и кетоны (ДКК) экстрагировали из 0,2 мл плазмы, определяли в 3 мл смеси гептан: спирт (1:5) спектрофотометрически (RT-2100С, Rayto) при длинах волн 270 и 233 нм (Гаврилов, Мишкорудная, 1983). Малоновый диальдегид (МДА) экстрагировали из 0,2 мл плазмы, определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой при длинах волн 570 и 535 нм (Гаврилов и др., 1987). Также содержание ТБК-активных соединений определили спектрофотометрически в супернатантах (2900 g 5 мин, velocity-6μ, Dynamica), полученных из тел мальков без полостных органов, подвергшихся гомогенизации (Tissuelisser LT, Quagen; с добавлением фосфатно-буферного солевого раствора в массовом отношении с пробой 1:1). Все делали в соответствии с инструкцией к набору реагентов ТБК-Агат ООО «Агат-Мед» (Россия).

#### *Статистическая обработка результатов*

Распределения всех биохимических параметров были проверены на соответствие / несоответствие нормальному (тесты  $\chi^2$ ,  $p > 0,05$  /  $< 0,05$ ). Для нормально распределённых параметров попарные сравнения выборок проводили при помощи t-теста, несколько групп сравнивали по критерию Тьюки с поправкой Бенферрони (дисперсионные тесты). Для счётных и ненормально распределённых параметров использовали U-тест Манна-Уитни (попарные сравнения) и Краскола-Уоллиса (множественные сравнения). Взаимосвязи между параметрами анализировались с использованием рангового корреляционного критерия Спирмена. Для статистических анализов использовалась программа Statsoft v. 10.0.

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

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

##### *Гематологические показатели молодежи чавычи и кижуча*

Непосредственно перед выпуском с МЛРЗ у молодежи **чавычи** средней массой  $5,8 \pm 0,22$  г (0,4–12,9 г) брали кровь для определения уровня глюкозы, гемоглобина, гематокрита и осмолярности (табл. 3.1.1). Пресноводный уровень содержания *глюкозы* в крови молодежи чавычи перед выпуском с МЛРЗ в разные годы колебался от  $3,2 \pm 0,01$  до  $4,8 \pm 0,21$  ммоль/л и не коррелировал с массой тела ( $r < 0,5$ ), в целом, демонстрируя высокую изменчивость. При попарном сравнении значений разных лет наблюдений установлено, что достоверная межгодовая разница наблюдалась почти во всех случаях (t-тест  $p < 0,05$ ), кроме данных за 2004 и 2009 гг. ( $p = 0,191$ ).

Таблица 3.1.1. – Показатели крови заводской молодежи чавычи в пресной воде в разные годы исследований перед выпуском с МЛРЗ

Год	Глюкоза, ммоль/л	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, %	Осмолярность, мосм/л
2003	$4,0 \pm 0,09$	$65,5 \pm 1,19$	$39,6 \pm 0,85$	-
2004	$3,6 \pm 0,22$	$73,4 \pm 1,87$	$44,1 \pm 1,79$	-
2006	$4,8 \pm 0,21$	$69,7 \pm 1,38$	$37,3 \pm 1,34$	$303,9 \pm 1,03$
2009	$3,2 \pm 0,10$	$69,2 \pm 0,87$	$44,6 \pm 0,74$	$314,6 \pm 1,82$
2022	-	-	-	$315,7 \pm 1,47$
2023	-	-	-	$302,1 \pm 1,37$

Уровень *гемоглобина* в крови чавычи в разные годы изменялся в пределах от  $65,5 \pm 1,19$  до  $73,4 \pm 1,87$  г/л, при отсутствии корреляции с массой тела ( $r = 0,18$ ). При сравнении значений за разные годы наблюдений, достоверная разница отмечена в парах 2003–2004 и 2003–2009 гг. (t-тест  $p < 0,05$ ).

Средние показатели гематокрита в крови молоди чавычи в разные годы изменялись в пределах от  $37,3 \pm 1,34$  до  $44,6 \pm 0,74$  % и не коррелировали с массой тела ( $r = 0,11$ ). При попарном сравнении значений разных лет наблюдений установлено, что достоверная межгодовая разница наблюдалась почти во всех случаях (t-тест  $p < 0,05$ ), кроме данных за 2003–2006 ( $p = 0,21$ ) и 2004–2009 гг. ( $p = 0,81$ ).

Осмолярность крови у молоди чавычи перед выпуском с МЛРЗ варьирует от 288 до 321 мосм/л, при этом средние показатели осмолярности крови в разные годы изменялись в пределах от  $302,1 \pm 1,37$  до  $315,7 \pm 1,47$  мосм/л.

Во время экспериментов по переводу заводской молоди чавычи в воду солёностью 30 ‰ уровень глюкозы в крови чаще незначительно поднимался, но устойчивых достоверных отличий (трёхсуточный тест в 30 ‰) в разные годы от контрольных групп из пресной воды не отмечалось. Достоверных и закономерных изменений концентрации гемоглобина и уровня гематокрита также отмечено не было.

У молоди *кижуча* 1+ средней массой  $12,5 \pm 0,50$  г (5,3–22,9 г) непосредственно перед выпуском с ВЛРЗ пресноводный уровень содержания глюкозы в разные годы колебался от  $4,5 \pm 0,14$  до  $5,7 \pm 0,23$  ммоль/л и не коррелировал с массой тела ( $r < 0,5$ ) (табл. 3.1.2). Показатель достоверно не отличался в 2005–2006 гг. –  $5,5 \pm 0,28$  ммоль/л и  $5,2 \pm 0,31$  ммоль/л, соответственно (t-тест  $p = 0,19$ ). Концентрация глюкозы в 2007 г. ( $4,5 \pm 0,59$  ммоль/л) была достоверно ниже, чем в 2005 (t-тест  $p = 0,00007$ ) и в 2006 гг. (t-тест  $p = 0,03$ ).

Таблица 3.1.2 – Показатели крови заводских двухлеток кижуча в пресной воде в разные годы исследований перед выпуском с ВЛРЗ

Год	Глюкоза, ммоль/л	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, %	Осмолярность, мосм/л
2005	$5,5 \pm 0,28$	$60,3 \pm 2,17$	$43,8 \pm 1,79$	-
2006	$5,2 \pm 0,31$	$59,4 \pm 1,92$	$45,3 \pm 2,01$	$320,8 \pm 2,57$
2007	$4,5 \pm 0,59$	$72,2 \pm 1,18$	$46,2 \pm 0,79$	$329,5 \pm 1,21$

Пресноводный уровень гемоглобина у двухлеток кижуча в годы исследований менялся в среднем от  $59,4 \pm 1,92$  до  $72,2 \pm 1,18$  г/л, не было отмечено корреляции с массой тела. При попарном сравнении по годам достоверных отличий не отмечено (t-тест  $p = 0,12$ ) по данным 2005–2006 гг. –  $60,3 \pm 2,17$  г/л и  $59,4 \pm 1,92$  г/л, соответственно. В 2007 г концентрация гемоглобина была достоверно выше (t-тест  $p < 0,05$ ), чем в 2005 и 2006 гг. и составила  $72,2 \pm 1,18$  г/л.

Уровень гематокрита у кижуча 1+ перед выпуском колебался от  $43,8 \pm 1,79$  до  $46,2 \pm 0,79$  %, не было отмечено корреляции с массой тела. Достоверно отличались данные 2005 и 2007 гг. (t-тест  $p = 0,01$ ).

Осмолярность крови у молоди кижуча 1+ перед выпуском с ВЛРЗ в пресной воде составляет  $324,7 \pm 1,16$  мосм/л (307–338 мосм/л).

Эксперименты по переводу заводской молоди кижуча 1+ в воду солёностью 30 ‰ показали повышение концентрации глюкозы в крови относительно рыб, взятых сразу из выростных бассейнов. Тем не менее, достоверных отличий от контрольных групп не отмечалось (t-тест), при этом диапазон показателей составил от 3,3 до 14,7 ммоль/л. Уровень гематокрита незначительно снижался.

#### *Активность $Na^+/K^+$ -АТФазы жабр молоди чавычи и нерки*

Для понимания возможности оценки степени смолтификации по активности  $Na^+/K^+$ -АТФазы её измерили у разноразмерной заводской молоди чавычи и нерки перед выпуском с МЛРЗ, а также у сеголеток и двухлеток дикой чавычи.

У заводской молоди чавычи у всех групп (мелкая группа, «М» – <5 г, средняя, «С» – от 5 до 7 г, крупная, «К» – >7 г) наблюдался широкий разброс показателей активности  $Na^+/K^+$ -АТФазы от 2,8 до 7,1 мкмоль Рн/мг белка/час (рис. 3.1.1), достоверных отличий между разными размерными группами заводской молоди не установлено (t-тест  $p > 0,05$ ). Так у заводской чавычи группы «М» максимально отмеченная активность фермента составила 6,6 при среднем значении  $5,05 \pm 0,78$  мкмоль Рн/мг белка/час, у «С» активность достигала 7,1, при

среднем значении  $4,98 \pm 0,33$  мкмоль Рн/мг белка/час; у «К» – 6,9, при среднем значении  $5,06 \pm 0,39$  мкмоль Рн/мг белка/час.

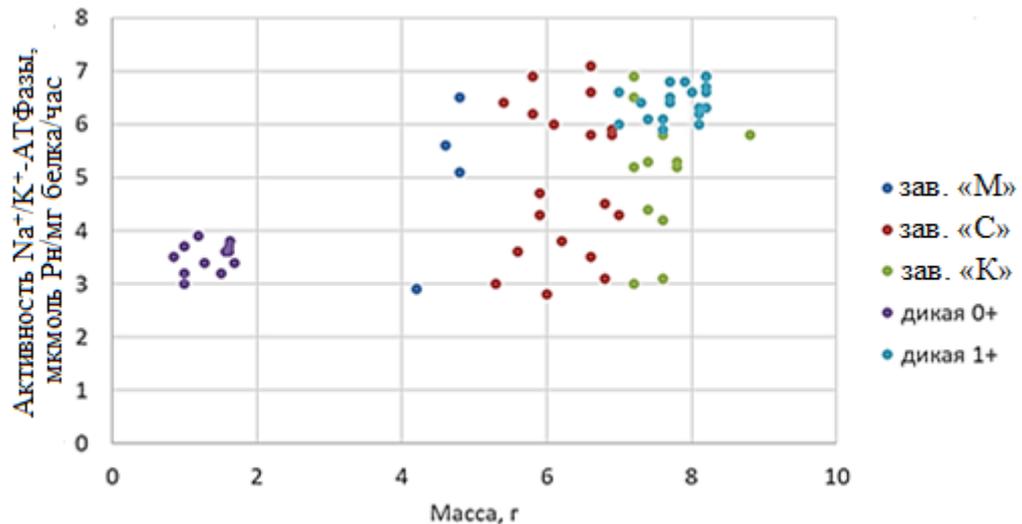


Рисунок 3.1.1 – Активность  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы жабр у разновозрастной заводской и дикой молоди чавычи

У дикой чавычи разброс показателей незначительный (рис. 3.1.1) и достоверно отличался у разновозрастной молоди (t-тест,  $p = 0,0000$ ). Активность  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы у диких сеголетков чавычи массой до 2 г была в диапазоне 3,00–3,96 (в среднем  $3,53 \pm 0,10$ ) мкмоль Рн/мг белка/час; у серебристых двухлеток средней массой  $7,78 \pm 0,10$  г – в диапазоне 5,92–6,94 ( $6,41 \pm 0,07$ ) мкмоль Рн/мг белка/час.

У одноразмерной заводской и дикой молоди чавычи, массой  $>7$  г, активность  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы достоверно различалась (t-тест,  $p = 0,0002$ ) – у дикой в среднем 6,41, у заводской – 5,06 мкмоль Рн/мг белка/час, соответственно.

Активность  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы жабр у крупной и средней молоди *нерки* перед выпуском с МЛРЗ (рис. 3.1.2) достоверно не различалась ( $p = 0,90$ ). Так у нерки, массой от 4,3 до 6,6 г ( $5,51 \pm 0,65$  г) составила  $3,74 \pm 0,39$  мкмоль Рн/мг белка/час, а у нерки массой 2,7–3,9 г ( $3,45 \pm 0,42$  г) –  $3,19 \pm 0,18$  мкмоль Рн/мг белка/час, в то



изменилось, но достоверно (непараметрический тест Манна-Уитни,  $p = 0,006$ ) упала доля эссенциальных омега-3 кислот, главным образом за счёт докозагексаеновой ( $p = 0,001$ ) и эйкозапентаеновой ( $p = 0,012$ ). Линолевая и линоленовые кислоты при запуске смолтификации организмом не использовались, и в результате их относительная доля выросла ( $p = 0,031$  и  $= 0,011$  соответственно). Также на фоне расходования омега-3 кислот выросла относительная доля мононенасыщенных жирных кислот – пальмитолеиновой ( $p = 0,036$ ), олеиновой ( $p = 0,005$ ) и гондоиновой ( $p = 0,043$ ) (табл. 3.1.3).

Таблица 3.1.3 – Содержание основных жирных кислот у смолтов и не смолтов заводской чавычи после 6 суток в морской воде (30 ‰) в сравнении с дикими пестрятками

Кислота	Смолт	Не смолт	Дикие, не смолт
НЖК	25,79	25,88	28,05
МНЖК	31,4	27,06	24,33
С16:1 Пальмитолеиновая	3,46	3,11	2,16
С18:1n9c Олеиновая	23,53	20,25	20,00
С20:1 Гондоиновая	2,55	2,11	2,01
ПНЖК	42,81	47,06	47,62
омега 3	30,63	35,96	40,50
С18:3n3 Линоленовая	2,16	1,97	2,36
С20:5n3 Эйкозапентаеновая	4,14	4,88	6,58
С22:6n3 Докозагексаеновая	24,18	29,10	32,16
омега 6	12,18	11,10	7,12
С18:2 n6c Линолевая	9,86	8,52	6,62

Также обнаружены некоторые различия в липидном составе заводских и диких пестряток (проанализировано 7 и 6 особей, соответственно). В то время как жирность мышц заводских рыб в среднем составляла 18 % от сухой массы, у диких рыб этот показатель равнялся 13 %. В мышцах диких пестряток отмечена более высокая ( $p = 0,033$ ) доля биологически активных С22:6(n-3) и С20:5(n-3)

кислот, более высокая доля ( $p = 0,005$ ) структурных C15:0 и C17:0 кислот, а также сравнительно низкое содержание ( $p = 0,007$ ) омега-6 кислот.

*Гормональный статус молоди чавычи*

Анализ гормонального статуса разновозрастной (мелкая группа, «М» – <5 г, средняя, «С» – от 5 до 7 г, крупная, «К» – >7 г) заводской молоди чавычи непосредственно перед её выпуском с МЛРЗ и дикой молоди чавычи показал следующее.

*Трийодтиронин.* У заводской чавычи всех выделенных подгрупп концентрация  $T_3$  в крови доходила максимум до 0,8 нг/г. Выдерживание в воде с солёностью 30 ‰ не приводило к изменению содержания  $T_3$  в крови заводской молоди чавычи. Только у 60 % среднеразмерных рыб из подгрупп «С» и «Ст+» уровень  $T_3$  был достоверно выше 0,06 нг/г, что является границей обнаружения, заявленной производителем для аналитического набора.

У диких пестряток чавычи концентрация  $T_3$  в крови в середине мая составляла 1,6–6,3 (в среднем 3,42) нг/г, в то же время у дикой молоди на ранних стадиях серебрения уровень  $T_3$  был выше – 9,5–13,0 нг/г.

*Гормоны передней доли гипофиза.* Верхняя граница концентрации соматотропинов и пролактина в крови мелкой и средней молоди чавычи (подгруппы «М» и «С») в период отбора крови находилась на уровне 1,5–2,1 нг/мл, у крупной молоди «К» уровень этих гормонов составил 2,6–3,3 нг/мл (рис. 3.1.3).

После шестисуточной стимуляции солёной водой в подгруппе «Ст-» значение не отличались по этому показателю от мелких пестряток и средней молоди в пресной воде, а в «К-» от «К». У молоди, способной удерживать в тестах осмолярность крови в пределах 340 мосм/л, солёная вода спровоцировала скачок тропных гормонов: в подгруппе среднеразмерных особей «Ст+» до уровня 2,5–4,1 нг/мл, в подгруппе «Кт+» – до 3,0–5,5 нг/мл. Содержание тропных гормонов в подгруппе «Кт+» было достоверно выше, чем у рыб «М», «С» и «Ст-» (здесь и далее – непараметрический многомерный тест Краскола-Уоллиса,  $p \leq 0,039$ ).

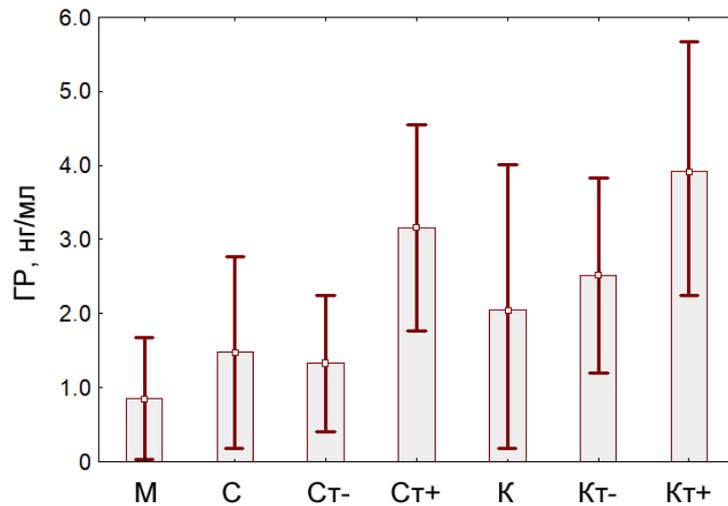


Рисунок 3.1.3 – Содержание соматотропинов и пролактина в плазме чавычи с Малкинского ЛРЗ перед выпуском в 2022 г. (среднее  $\pm$  дисперсия). Обозначение анализируемых подгрупп см. в тексте методики

У диких пестряток чавычи концентрация гормонов передней доли гипофиза в крови в середине мая составила 2,6–4,2 (в среднем 3,61) нг/мл, на ранних стадиях серебрения уровень гормонов достоверно выше – 5,7–9,0 (в среднем 7,48) нг/мл.

*Кортизол.* Концентрация кортизола (рис. 3.1.4) у мелких ‘М’ и средних ‘С’ особей заводской чавычи не превышала 114,46 нМоль/л, у крупной молодежи ‘К’ была достоверно выше 127,59 (96,4–157,9) нМоль/л ( $p = 0,049$ ).

Стимуляция солёной водой вызывала скачок концентрации кортизола у части среднеразмерных заводских рыб (подгруппа ‘Ст+’). У крупных заводских особей уровень кортизола в крови был повышен ( $p = 0,049$  при сравнении с ‘М’). Стимуляция солёной водой вызывала рост содержания кортизола в среднем на 20 %. Особенно заметен рост концентрации был в подгруппе ‘Кт+’ ( $p = 0,046$  при сравнении с ‘М’, ‘С’ и ‘Ст-’) до 175,22 (151,6–223,9) нМоль/л.

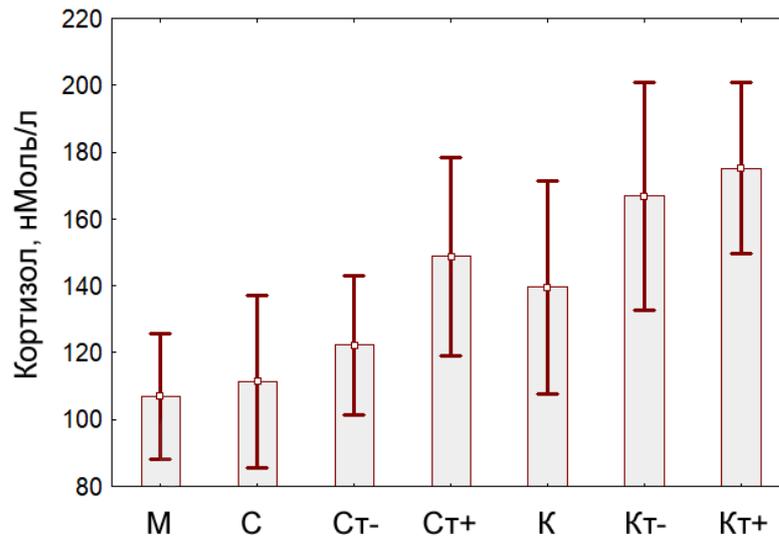


Рисунок 3.1.4 – Содержание кортизола в плазме чавычи с Малкинского ЛРЗ перед выпуском в 2022 г. (среднее  $\pm$  дисперсия).

Обозначение анализируемых подгрупп см. в тексте

У диких смолтов чавычи уровень кортизола в крови был близок к таковому в подгруппе ‘Кт+’ и составил в среднем 175,91 (153,4–198,5) нМоль/л, у диких пестряток – 121,31 (84,04–159,8) нМоль/л, что соответствует показателям подгруппы ‘К’ у заводской молодежи чавычи.

*Кальцитонин/паратгормон.* Содержание кальцитонина и паратгормона учитывалось во взаимной связи, поскольку по литературным данным при смолтификации в норме наблюдается обратно скоррелированная активность секреции данных пептидных гормонов. Было установлено, что молодежь чавычи подгрупп ‘М’, ‘С’, ‘Ст-’ и ‘К’ характеризовалась сходным низким уровнем кальцитонина в среднем не превышающим 4,5 пг/мл и высоким уровнем паратгормона в крови, самое низкое среднее значение которого отмечено у крупной чавычи ‘К’ (11,69 нг/мл) (рис. 3.1.5).

Стимуляция солёной водой среднеразмерных заводских рыб (подгруппа ‘Ст+’) привела к достоверному росту концентрации кальцитонина и падению концентрации паратгормона в крови ( $p = 0,045$  и  $0,027$  при сравнении с ‘С’,

соответственно). Особенно заметно было изменение содержания гормонов в подгруппе 'Кт+' ( $p \leq 0,01$  при сравнении с 'К'), концентрация кальцитонина увеличилась на 86,4 % (7,29 пг/мл), а паратгормона снизилась на 52,2 % (5,59 нг/мл).

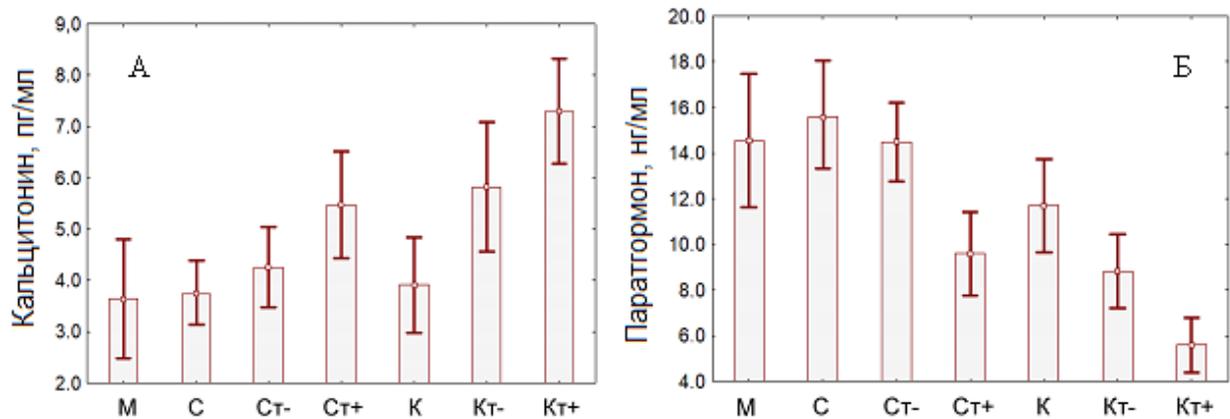


Рисунок 3.1.5 – Содержание кальцитонина (А) и паратгормона (Б) в плазме чавычи с Малкинского ЛРЗ перед выпуском в 2022 г. (среднее  $\pm$  дисперсия).

Обозначения анализируемых подгрупп см. в тексте

У дикой молодежи чавычи уровень кальцитонина значительно выше у смолтов (7,03 пг/мл), чем у пестряток (4,34 пг/мл), в случае с паратгормонами ситуация противоположная, – у смолтов концентрация гормона 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 ЛРЗ были проведены 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 молоди тихоокеанских лососей в воде солёностью 40 ‰

Тесты на выживаемость в воде солёностью 40 ‰ на молоди чавычи, нерки и кижуча, выращенной на Малкинском и Вилюйском ЛРЗ, показали достоверную зависимость выживаемости от массы тела рыб (рис. 3.2.1). Выживаемость выше 50 % (критерий выживаемости в этом тесте) отмечена у чавычи всех размеров и нерки – от 2 г. Кижуч в разные годы исследований показывал разные результаты, вплоть до 100 % смертности в 2007 г, в другие периоды исследований двухлетки кижуча массой от 10 г успешно выдерживали тест в воде солёностью 40 ‰.

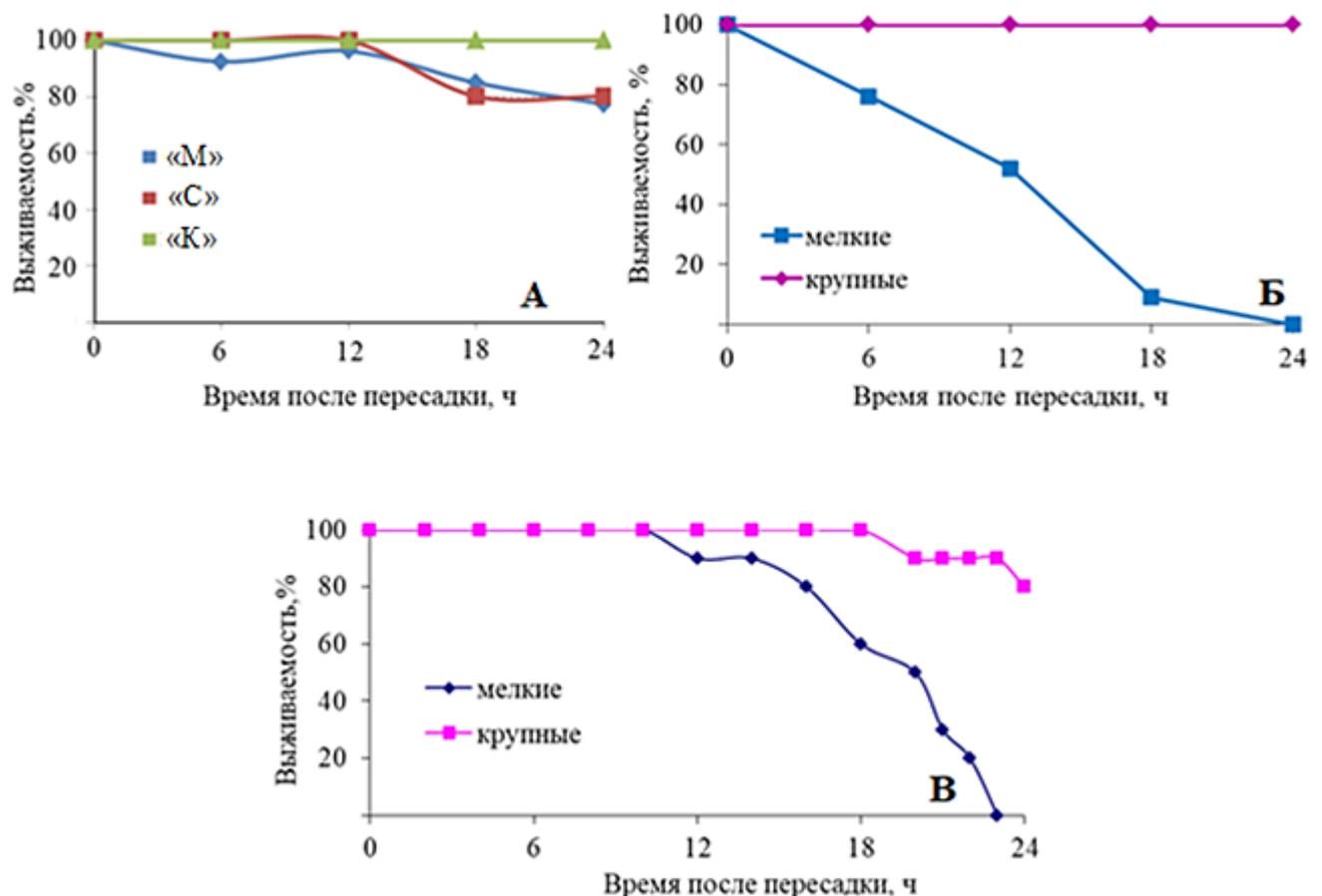


Рисунок 3.2.1 – Усреднённый по годам график выживаемости у разноразмерной заводской молоди чавычи (А), нерки (Б) и кижуча (В) в «солёностном тесте»

Выживаемость случайной выборки молоди чавычи перед выпуском с завода в разные годы в среднем изменялась от 76 до 98 % (рис. 3.2.2). Суточная выживаемость чавычи массой от 7 г («К») в тестах составила 100 %. Молоди массой от 5 до 7 г («С») также хорошо выдерживала «солёностный тест», максимально отмеченный отход составил 19,8 %. Молодь массой <5 г («М») плохо выдерживала «солёностный тест», несмотря на то, что в большинстве проведённых тестов >50% таких особей не погибало (рис. 3.2.2), но было отмечено изменённое поведение и изменение окраски с серебристой на более тёмную. В 2006 г. выживаемость экспериментальной молоди составила 100%, при этом средняя масса выпускаемой чавычи в этот год составила 8,56 г, масса молоди в выборках – 3,5–11,8 г (в среднем  $7,0 \pm 0,55$  г), всего 2 особи было массой <5 г.

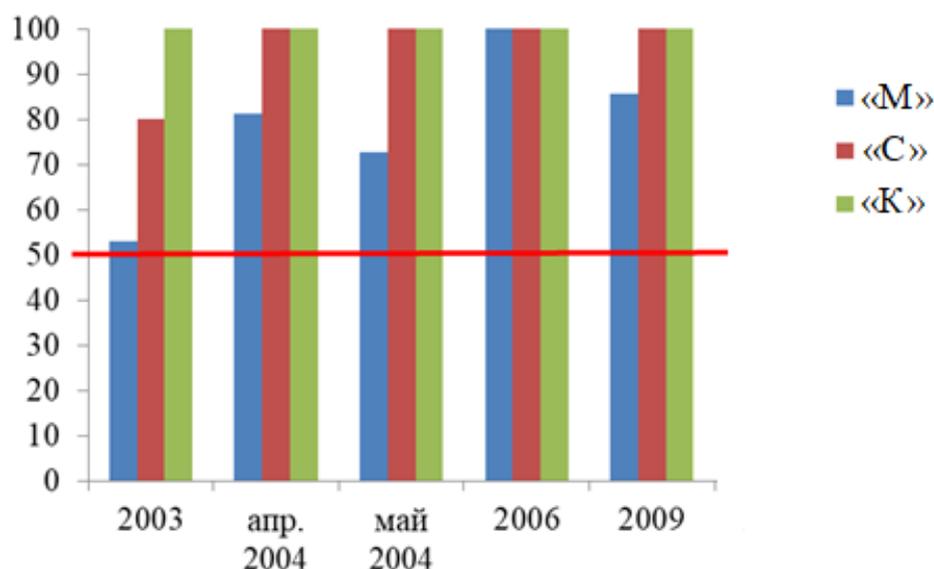


Рисунок 3.2.2 – Суточная выживаемость разноразмерной молоди чавычи в воде солёностью 40 % по годам исследований

Пороговым размером смолта нерки принято считать молодь от 4 г. Эксперименты по выживаемости сеголеток нерки, выращенных на Малкинском ЛРЗ в «солёностном тесте», показали 100% выживаемость у молоди средней массой  $4,1 \pm 0,15$  г (2,6–5,4 г) в 2006 и 2007 гг. Мелкие сеголетки нерки (массой до 2 г) не выдерживали «солёностный тест», смертность превышала 50 %, доходя в некоторых тестах до 100 %.

Рекомендуемый средний размер выпускаемой молоди кижуча 1+ равен 10 г, при такой массе кижуч массово выдерживал «солёностный тест». Тем не менее, в разные годы и периоды наблюдений выживаемость годовиков кижуча навеской больше 10 г изменялась от 0 до 90 %. Так, в июне 2005 и 2006 гг. и во второй половине марта 2007 г. выживаемость годовиков кижуча массой  $>10$  г была выше 80 %, в то время как во второй половине июня была отмечена 100 % смертность годовиков кижуча средней массой 14,2 г. У кижуча массой  $<10$  г отмечалась 100 % смертность в «солёностном тесте» (рис. 3.2.1в), за исключением тестов, проведённых во второй половине июня 2005 г, где выживаемость составила 33,3 %, что все равно меньше критерия готовности молоди к переходу в морскую воду.

У всех рыб, выживших в «солёностном тесте», осмолярность крови была выше пресноводного уровня. Тем не менее, отмечено, что крупные сеголетки чавычи и нерки лучше мелких, регулировали водно-солевой обмен. Молодь кижуча, независимо от размера, не может регулировать гомеостаз при такой солёности воды (рис. 3.2.3).

Дополнительно отмечено, что в экспериментах в воде солёностью 40 ‰ молодь с повреждённым чешуйным покровом тест не выдерживает. Мелкая молодь чавычи, часто выживала сутки в воде с такой солёностью, при этом осмолярность её крови превышала 400 мосм/л, но погибала через чуть больший промежуток времени, в тоже время нерка, не способная поддерживать свой водно-солевой баланс, как правило, погибала в течение суток.

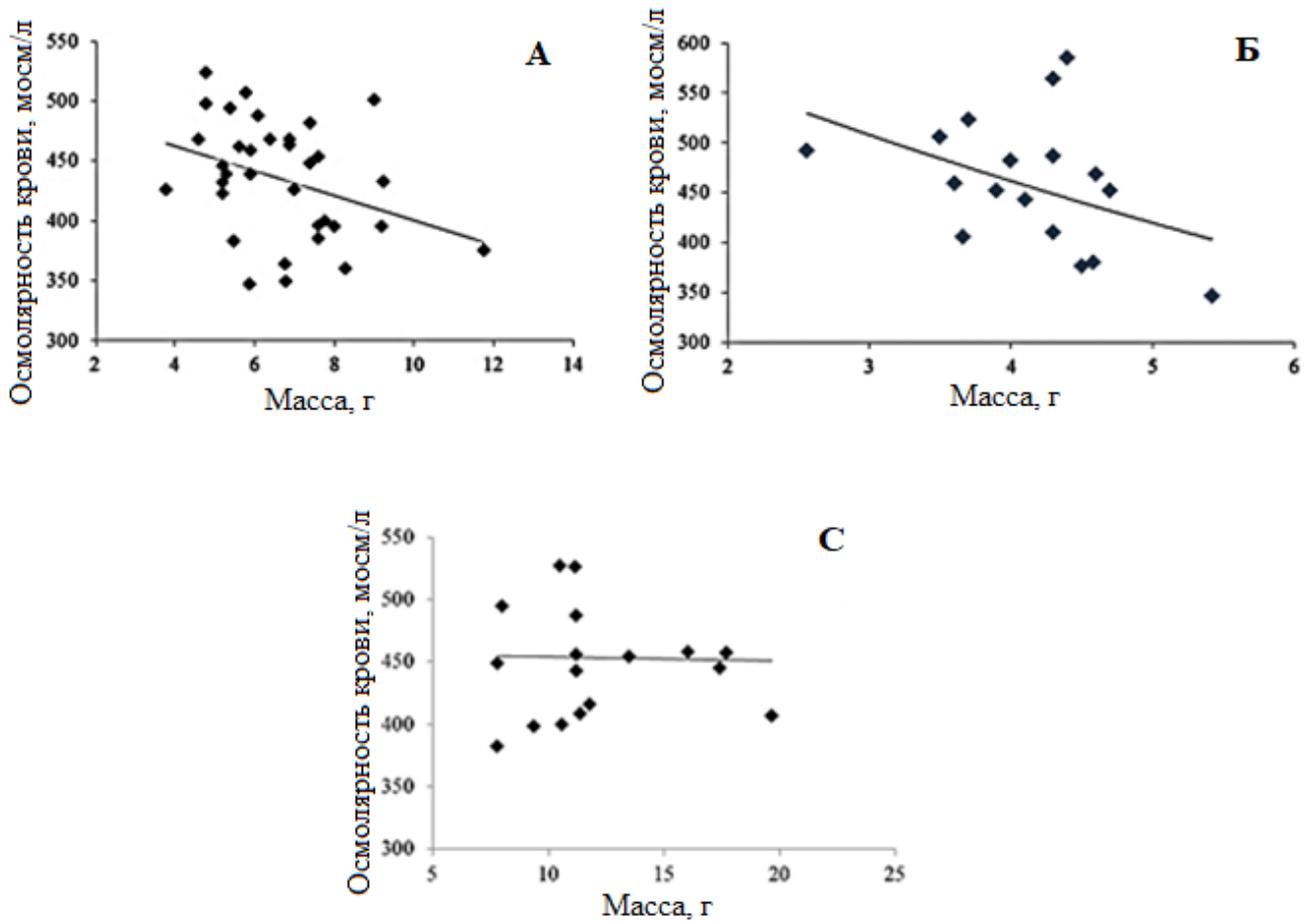


Рисунок 3.2.3 – Зависимость осмолярности крови от массы тела сеголеток чавычи (А) и нерки (Б), двухлеток кижуча (В) после теста в воде солёностью 40 ‰

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

Эксперименты по пересадке заводской молоди чавычи в воду солёностью 30 ‰, проведённые перед выпуском с МЛРЗ, показали зависимость возможности успешно регулировать водно-солевой баланс от размеров тела.

При выдерживании молоди чавычи в воде солёностью 30 ‰ в течение трёх суток установлено увеличение осмолярности крови (рис. 3.2.4), причём достоверно более значимое (t-тест  $p < 001$ ) у мелких особей массой  $< 5$  г (более чем на 10 %) по сравнению с крупной молодью массой  $> 7$  г (на 2–10 %;  $p = 0,540$ ), в то

время как в пресной воде показатели осмолярности крови у молоди чавычи разных размерных групп достоверно не различались.

По мере адаптации крупной молоди к повышенной солёности осмолярность крови в течение трёх суток снижалась до показателей пресноводного уровня (в среднем – 312,3 мосм/л), и у всех была ниже 340 ммоль/л, у некоторых крупных особей повышение этого показателя оказалось совсем незначительным. Существенная часть молоди среднего размера массой 5–7 г (около 35 %, в отдельные годы до 67 %) также успешно изменяла тип солевого обмена с гипер- на гипоосмотический, понижая осмолярность крови до уровня ниже 340 мосм/л.

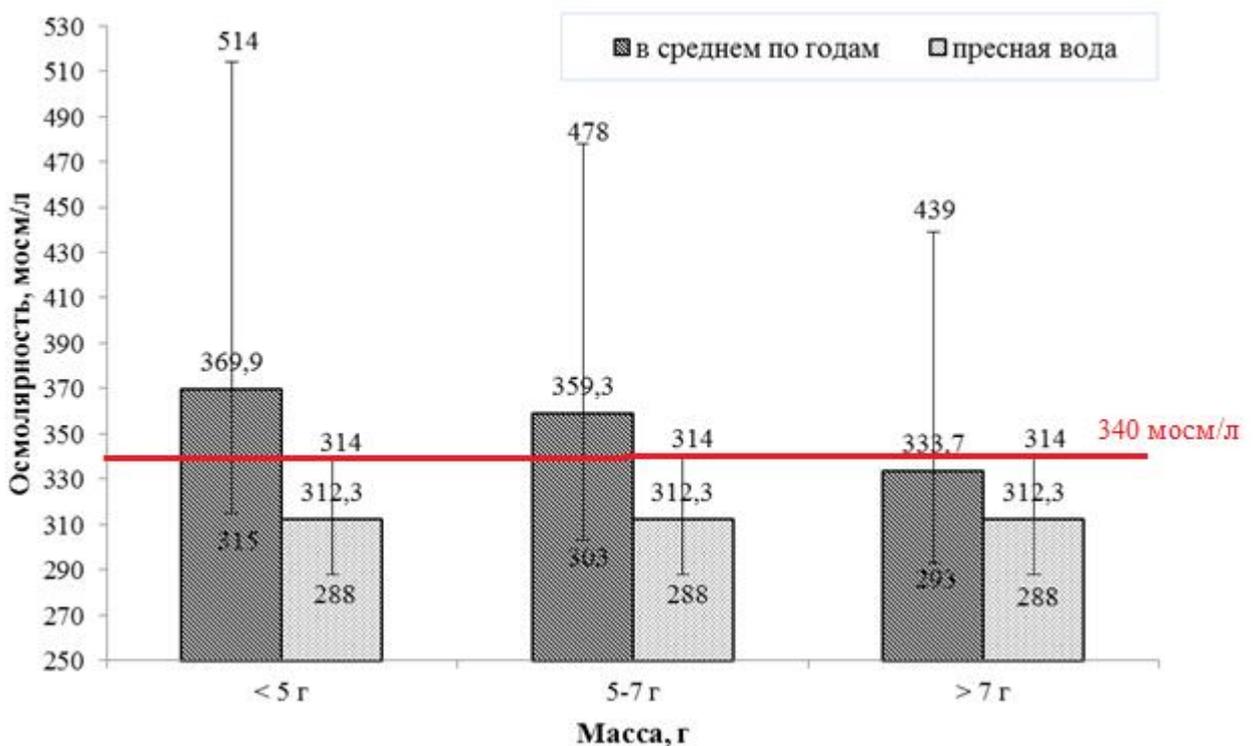


Рисунок 3.2.4 – Осмолярность крови (среднее и пределы варьирования) заводской молоди чавычи разных размерных групп после трёх суток в воде солёностью 30 ‰ в сопоставлении с контролем

Эксперимент с крупной молодью, которую после трёх суток в воде солёностью 30 ‰ пересадили на двое суток в пресную воду, а затем повторно на трое суток – в воду солёностью 30 ‰, показал, что экспериментальные рыбы в

сжатые сроки реверсировали водно-солевой обмен на гипо- или гиперосмотический тип (рис. 3.2.5). После пересадки в пресную воду осмолярность крови снизилась до пресноводного уровня за 12 часов, после обратного перевода в солёную воду осмолярность выросла меньше, чем при первичном переводе в воду солёностью 30 ‰ и уже через 18 часов снизилась до пресноводного уровня.

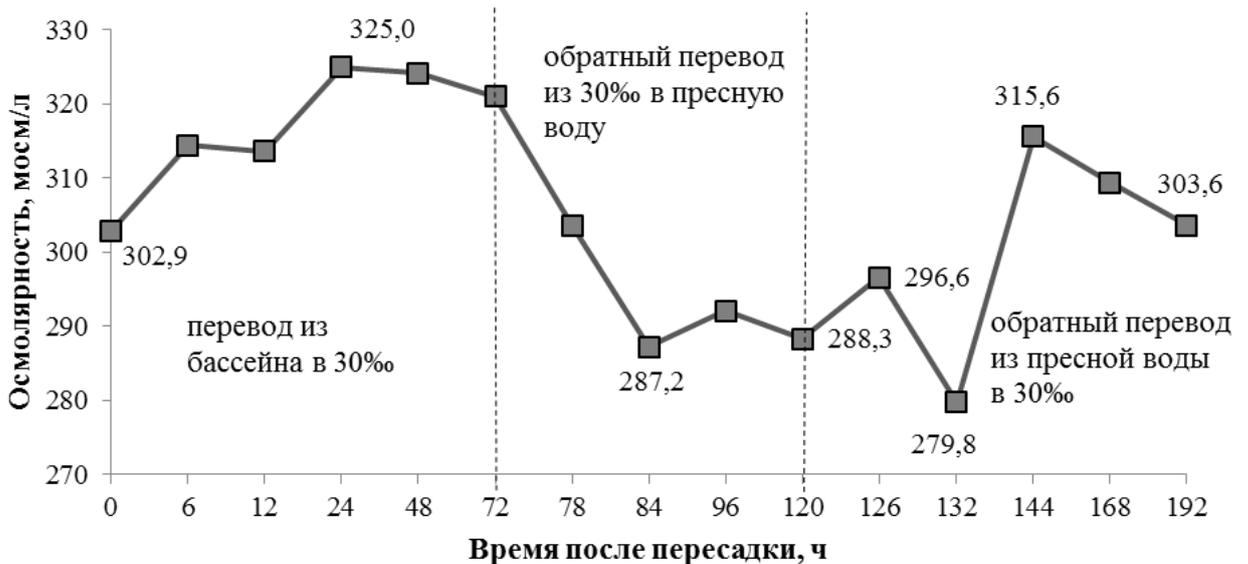


Рисунок 3.2.5 – Динамика осмолярности крови у молоди чавычи массой >7 г при переводе из воды солёностью 30 ‰ в пресную воду и обратно

Эксперимент по пересаживанию на 48 часов в воду солёностью 30 ‰ дикой молоди чавычи средней массой  $4,64 \pm 0,14$  г, выловленной около эстуария, показал её способность к регулированию своего внутреннего гомеостаз и поддерживать осмолярность крови на уровне ниже 340 мосм/л (рис. 3.2.6). Видно, что пик осмолярности крови приходится на 12 часов выдерживания в солёной воде, после чего следует снижение до уровня характерного для смолтов. Что говорит о том, что дикая молодь может смолтифицироваться при меньшей массе тела, чем заводская молодь чавычи.

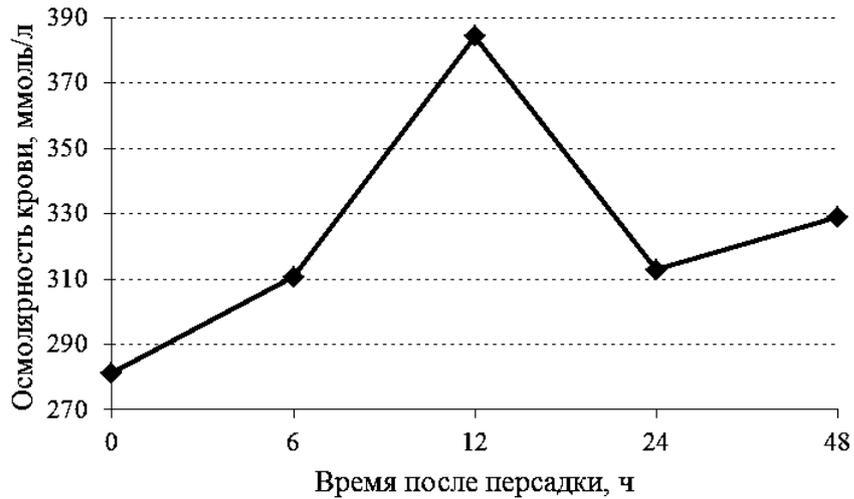


Рисунок 3.2.6 – Динамика осмолярности крови у дикой молоди чавычи при её переводе в воду солёностью 30 ‰

Молодь нерки не разбивали на размерные группы, анализировали рыб средней массой  $5,3 \pm 0,15$  г. Показано, что при таком размере нерка хорошо поддерживала гомеостаз организма, находясь в воде солёностью 30 ‰ (рис. 3.2.7).

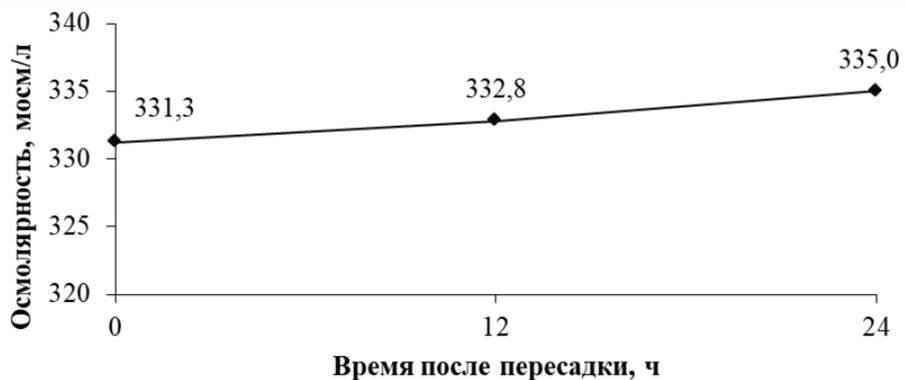


Рисунок 3.2.7 – Динамика осмолярности крови у молоди нерки при переводе в воду солёностью 30 ‰

При выдерживании двухлеток кижуча в воде солёностью 30 ‰ в течение трёх суток показано, что молодь средней массой  $11,4 \pm 0,66$  г, что больше нормативной навески равной 10 г, не может успешно поддерживать внутренний гомеостаз (рис. 3.2.8).

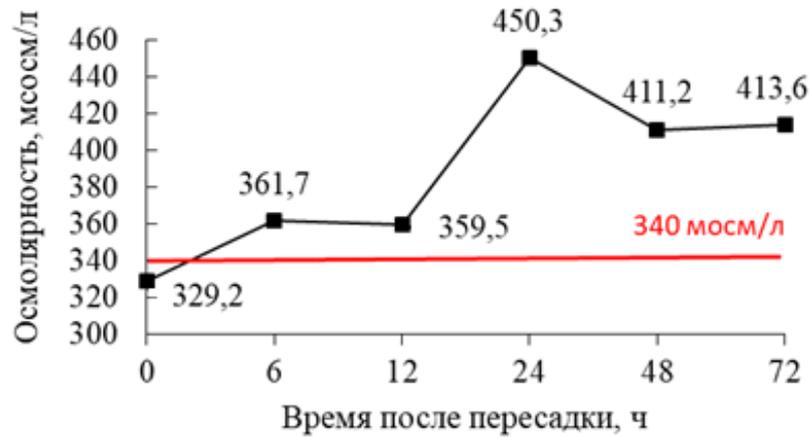


Рисунок 3.2.8 – Динамика осмолярности крови у двухлеток кижуча при переводе в воду солёностью 30 ‰

Отмечено, что у более крупного кижуча через 3-е суток пребывания в солёной воде осмолярность крови была несколько ниже, чем у более мелких особей (рис. 3.2.9). Только у кижуча массой 19,2 г осмолярность крови не превысила показатель 340 мосм/л и составила 338 мосм/л.

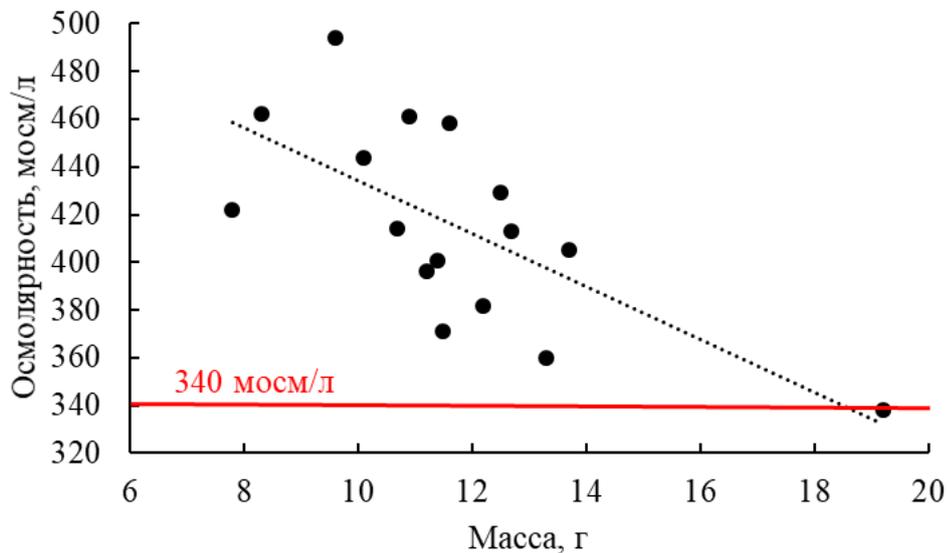


Рисунок 3.2.9 – Зависимость осмолярности крови от массы тела кижуча после 3-х суток в воде солёностью 30 ‰

Сравнение заводской и дикой молоди кижуча показало, что осмолярность крови у дикого кижуча в пресной воде достоверно ниже, чем у заводского кижуча (рис. 3.2.10). У дикого кижуча через сутки после перевода в воду солёностью 30 ‰ чётко прослеживается зависимость изменения осмолярности крови от массы тела. У молоди средней массой 3,44 г осмолярность повысилась до 416,5 мосм/л, а у средней (10,40 г) и крупной (27,72 г) молоди дикого кижуча осмолярность через сутки составила 325,8 и 308,8 мосм/л соответственно, что соответствует показателю характерному для смолтов. У заводской молоди кижуча 1+ массой 11,98 г (рыбоводный стандарт для кижуча 1+, подращиваемого на ВЛРЗ – 10 г) осмолярность через сутки в солёной воде составила 370,3 мосм/л, что не соответствует смолтам.

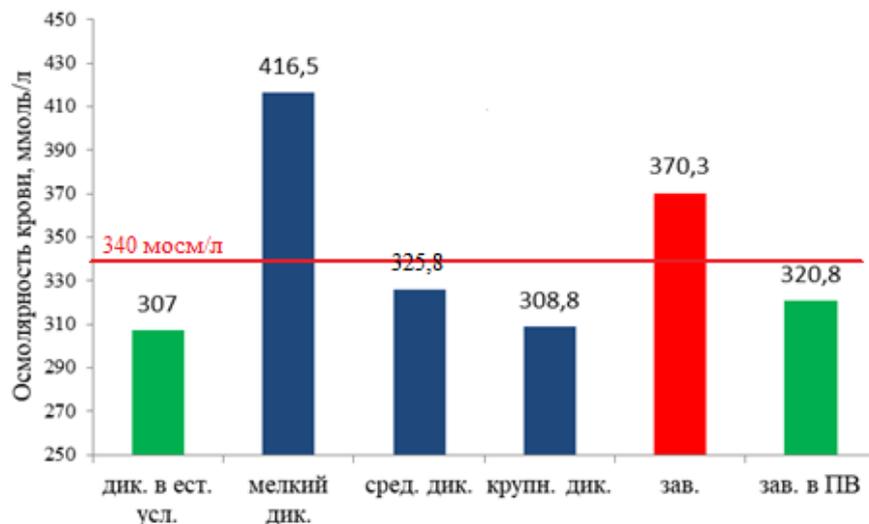


Рисунок 3.2.10 – Осмолярность крови дикой молоди кижуча и заводского кижуча 1+ через 24 часа в воде солёностью 30 ‰

### 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. Показано, что с увеличением размеров экспериментальных рыб снижается процент потери массы тела в солёной воде.

Потеря массы тела (с учётом потери в пресной воде) у крупной молоди чавычи после одних суток, проведённых в солёности 40 ‰, в среднем составляла 8,9 %, а в трёхсуточных опытах при солёности 30 ‰ не превышала 3,4% (рис. 3.2.11). Снижение массы тела при солёности 30 ‰ прекращалось через 8–12 часов, чего не происходило при солёности 40 ‰. В отличие от крупной молоди, мелкие особи в солёной воде теряли в среднем 13,5 % массы тела. Экспериментальная рыба всех размеров, у которой был нарушен чешуйный покров, теряла в тестах более 15% массы тела и погибала (такие экземпляры не учитывались в анализе).



Рисунок 3.2.11 – Потеря массы тела молоди чавычи массой >7 г при переводе в воду разной солёности

Двухлетки кижуча массой около 15 г перед выпуском с ВЛРЗ в экспериментах по изменению массы тела в среднем за сутки в 30‰-й морской воде теряли (с учётом потери в пресной воде) 7,6 % своей массы, в 40‰ – 8,3 % (рис. 3.2.12).

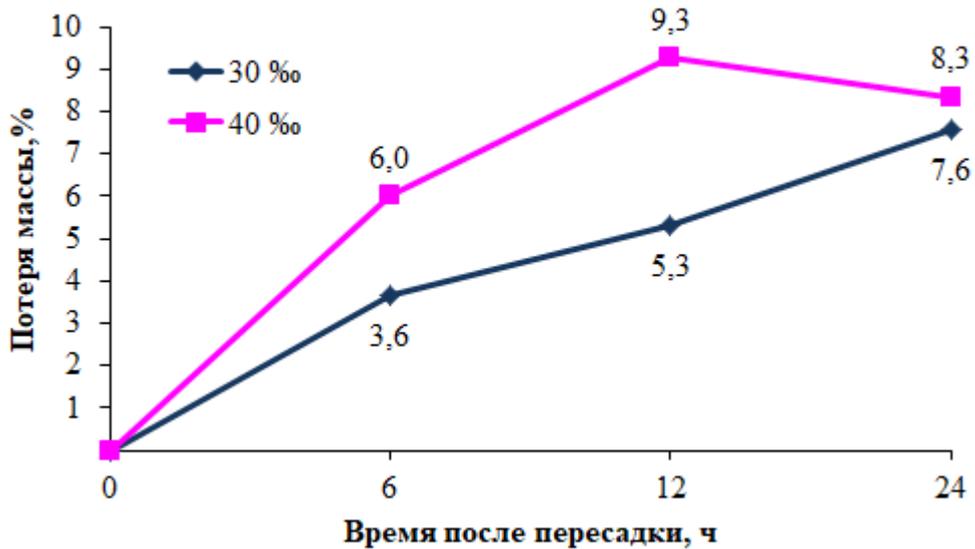


Рисунок 3.2.12 – Потеря массы тела двухлеток кижуча при переводе в воду разной солёности

*Отмеченные сезонные отличия у заводской молоди*

Сезонные изменения гематологических показателей у чавычи исследовали в весенний период (апрель – май) 2004 г., когда проявляются, как правило, их наиболее резкие изменения на фоне процесса смолтификации. Так от апреля к маю отмечается достоверное снижение уровня глюкозы в крови молоди от  $5,1 \pm 0,1$  до  $3,6 \pm 0,2$  ммоль/л (уровень достоверности  $p = 0,006$ ). Таким же образом ведёт себя и гематокрит, чей уровень в апреле был достоверно выше –  $59,2 \pm 1,7$  %, чем в мае –  $44,1 \pm 1,8$  % (U-тест  $p < 0,05$ ). В отличие от этих показателей уровень гемоглобина в апреле ( $70,4 \pm 3,0$  г/л) достоверно не отличался (t-тест  $p = 0,404$ ) от майских значений ( $73,4 \pm 1,9$  г/л).

Сравнение показателей крови у молоди кижуча 1+ взятой в 20-х числах марта и 20-х числах июня (перед выпуском с ВЛРЗ) 2007 г., показали достоверные отличия в показателях крови по гемоглобину и гематокриту. Так, гемоглобин в июле достоверно повысился относительно мартовских показателей с  $63,6 \pm 1,50$  г/л до  $72,2 \pm 1,15$  г/л (t-тест  $p = 0,0001$ ), а гематокрит снизился с  $46,2 \pm 0,74$  % до  $41,5 \pm 1,95$  % (t-тест  $p = 0,01$ ).

Сезонные различия были отмечены по выживаемости молоди в тестах в воде солёностью 40 ‰. Выживаемость молоди чавычи массой до 5 г в апреле (за месяц до выпуска) была выше, чем в мае (непосредственно перед выпуском с завода), – 100 % и 72,7 % соответственно. Сравнение выживаемости одноразмерной молоди нерки (около 4 г) в апреле и мае показало 100 % выживаемость в апреле, в то время как в мае всего 70 %. Выживаемость кижуча 1+ средней массой 10 г в марте составила 90 %, в то время как непосредственно перед выпуском с ВЛРЗ во второй половине июня была отмечена 100 % смертность молоди кижуча средней массой 14,2 г.

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

Данный блок работ был выполнен на молоди реофильной нерки. Результаты изменения солеустойчивости экспериментальной молоди нерки, достигшей в развитии стадии малька, но не достигшей пороговой массы смолта, приведены на рисунке 3.3.1. Гибель мальков в течение шести дней теста регистрировалась в группе № 2 (10 % смертность). Все выполненные манипуляции и терапии оказали позитивный эффект на солеустойчивость молоди проходной нерки. При этом разные воздействия в эксперименте различались по эффективности. Достоверное снижение осмолярности в солёной воде ( $t_{st} p < 0,05$ ) относительно контроля (рисунок 3.3.1, группа 1) зарегистрировано у молоди после интенсивного кормления, увеличения фотопериода, подъёма температуры воды и последующей акклимации в воде солёностью 15 ‰ (группа № 5), а также у молоди после акклимации и терапии щитовидной железы (группа 6). Необходимо подчеркнуть, что полный комплекс подготовительных манипуляций (группа 6) позволил получить рыб ниже порогового размера смолта, способных хронически поддерживать осмолярность крови в солёной воде на уровне смолта.

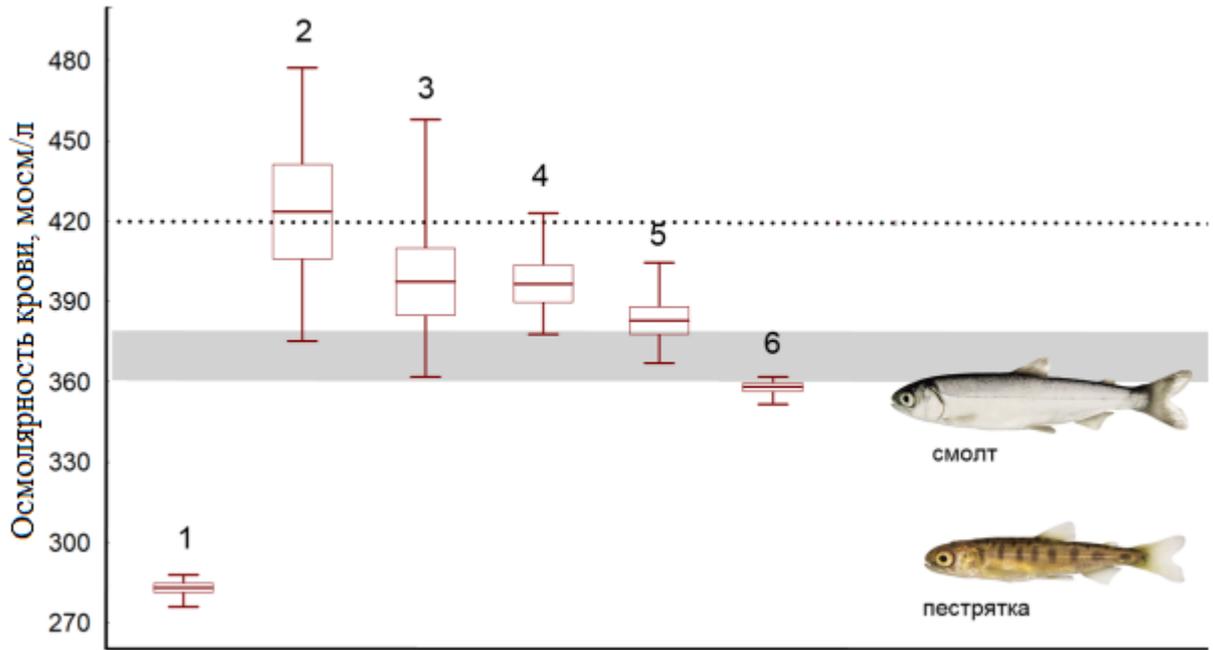


Рисунок 3.3.1 – Значения осмолярности крови молоди нерки массой  $1,3 \pm 0,09$  г спустя шесть суток выдерживания в воде солёностью 30 ‰ в экспериментальных группах (обозначены цифрами). Показаны (–) – среднее, (□) – ошибка среднего, (I) – пределы варьирования. Серая зона 360–375 мосм/л – субоптимальные значения осмолярности крови, которые способна выдерживать смолтифицирующаяся молодь нерки; прерывистая линия – верхняя граница в 420 мосм/л, острые летальные значения осмолярности крови (молодь погибает в течение нескольких суток). Группа № 1 – пестрятки в пресной воде, № 2 – контроль (молодь нерки, не подвергавшаяся перед тестом манипуляциям и терапиям), 3 – молодь нерки после интенсивного кормления, увеличения фотопериода и подъёма температуры воды (оптимизация условий выдерживания), 4 – молодь нерки после оптимизации условий выдерживания и 3–дневной терапии щитовидной железы, 5 – молодь нерки после оптимизации условий выдерживания и 3–дневной акклимации в воде солёностью 15 ‰, 6 – молодь нерки после оптимизации условий выдерживания, 3–дневной терапии щитовидной железы и последующей 3–дневной акклимации в воде солёностью 15 ‰.

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

Данный блок работ был выполнен на мальме. При изысканиях на разных реках Камчатки нами было обнаружено, что фенотип молоди гольцов из разных водоёмов различается. В то время как в чистых реках (таких как Авача, Карымчина) обитают популяции проходных гольцов с быстрорастущей молодью, характеризующейся пёстрой окраской, в рр. Фальшивая, Кишуц, Тройной, Нижне-Кошелевский, стекающих с вулканов, обитает только миниатюрная тугорослая форма гольца с блёклой окраской. Это подтолкнуло нас на дальнейшее изучение адаптационных способностей у мальмы.

Предположили, что основной причиной миниатюризации гольцов может быть адаптация к неблагоприятной среде обитания в водотоках, стекающих по свежеизвергнутым пирокластическим отложениям. В связи с этим у мальмы из разных водотоков был оценён ряд физиологических параметров, и в местах отлова был выполнен химический анализ воды. 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 всем измеряемым ионам тяжёлых металлов (Cu, Fe, Mn, Mo, Pb, Sb, Se, V и Zn). Кратное превышение во всех «вулканических» водотоках было выявлено по меди, цинку и свинцу – именно тем элементам, для которых установлены ПДК минимальной концентрации (<0,01 мг/л). Так ПДК по меди в рр. Фальшивая, Кишуц и Н. Кошелевский превышено в 10 раз, в р. Тройной – в 30 раз; по цинку в этих водотоках отмечено превышения ПДК в 4–10 раз (максимум зафиксирован в р. Н. Кошелевский). По свинцу ПДК превышены в 1,6–5 раз с максимумом в р. Кишуц. Превышения содержания химических элементов в растворах не были связаны с мутностью воды ( $r < 0,4$ ).

Жёсткость, рН и температуры воды характеризовались оптимальными / или субоптимальными значениями для лососевых видов рыб (табл. 3.4.1).

Таблица 3.4.1 – Качество воды в зоне воспроизводства *Salvelinus malma* в августе (средние значения и пределы варьирования)

Водоток	Место отбора проб	Параметр				
		Cu <sup>2+</sup> , мг/л	Zn <sup>2+</sup> , мг/л	Pb <sup>2+</sup> , мг/л	Жёсткость, ррт	рН
		ПДКрх, мг/л			≤ 425	≥ 6,5
Авача	53°12'23.5";	<0,001	<0,005	<0,001	185	7,7
	158°22'57.0"				(170–320)	(7,5–7,8)
Карымчина	52°42'02.9";	0,001	0,005	0,001	355	7,6
	157°23'05.0"				(335–455)	(7,4–7,7)
Фальшивая	52°30.2';	0,01	0,04	0,01	400	7,2
	158°13.5'				(0,01–0,04)	(0,02–0,11)
Кищущ	56°29.5';	0,01 (–)	0,07	0,03	370	7,2
	161°35.5'		(0,04–0,10)	(0,02–0,06)	(300–405)	(7,1–7,3)
Н.Кошелевский	51°22.5';	0,01	0,10	0,02	200	7,7
	156°35.3'		(0,01–0,03)	(0,04–0,13)	(0,00–0,03)	(185–230)
Тройной	55°17.4';	0,03	0,05	0,01 (–)	250	7,1
	157°12.5'		(0,01–0,04)		(0,02–0,10)	(195–270)

На первом этапе для сравнения физиологического состояния гольцов в р. Авача и р. Фальшивая было принято решение проанализировать ряд биохимических показателей у перезимовавшей молоди (возраст 1+) размером 8–11 см. Выборки были собраны таким образом, чтобы статистические показатели размеров рыб не различались.

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

*Биохимические показатели интенсивности метаболизма.* Натурные исследования первого этапа показали, что у молоди миниатюрного гольца, изолированного в р. Фальшивая, выявлены изменения в значениях биохимических маркеров относительно молоди проходного гольца из чистой р. Авача (рисунок 3.4.1).

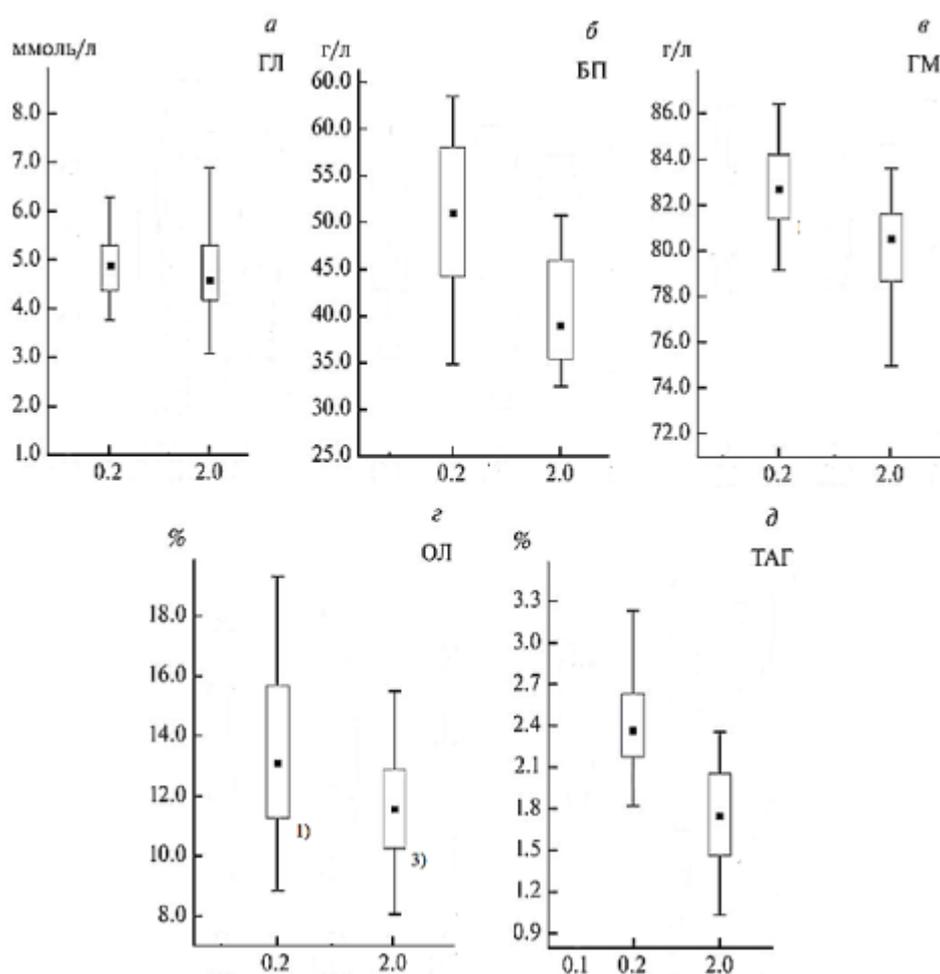


Рисунок 3.4.1 – Концентрация глюкозы в крови, ГЛ (а), белков в плазме крови, БП (б), гемоглобинов в крови, ГМ (в), общих липидов в мышечной ткани, ОЛ (г), триацилглицеридов в мышцах, ТАГ (д) у молоди мальмы *Salvelinus malma*, выловленной в августе в чистой р. Авача (ИКВ = 0,2) и химически загрязнённой р. Фальшивая (ИКВ = 2,0)

На фоне отсутствия различий в содержании глюкозы в крови (t-тест  $p = 0,750$ ; данный показатель мы интерпретировали как показатель текущей накормленности рыб), в условиях загрязнения было обнаружено снижение в крови содержания белков плазмы ( $p = 0,016$ ), гемоглобина ( $p = 0,032$ ), в мышцах – снижение содержания как общих липидов ( $p = 0,041$ ), так и фракций запасующих ТАГ ( $p = 0,026$ ). Величины биохимических показателей не зависели от пола молоди ( $p = 0,351$ ).

*Биохимические показатели окислительного стресса.* Известно, что длительное обитание при избытке тяжёлых металлов в воде вызывает токсикоз у гидробионтов.

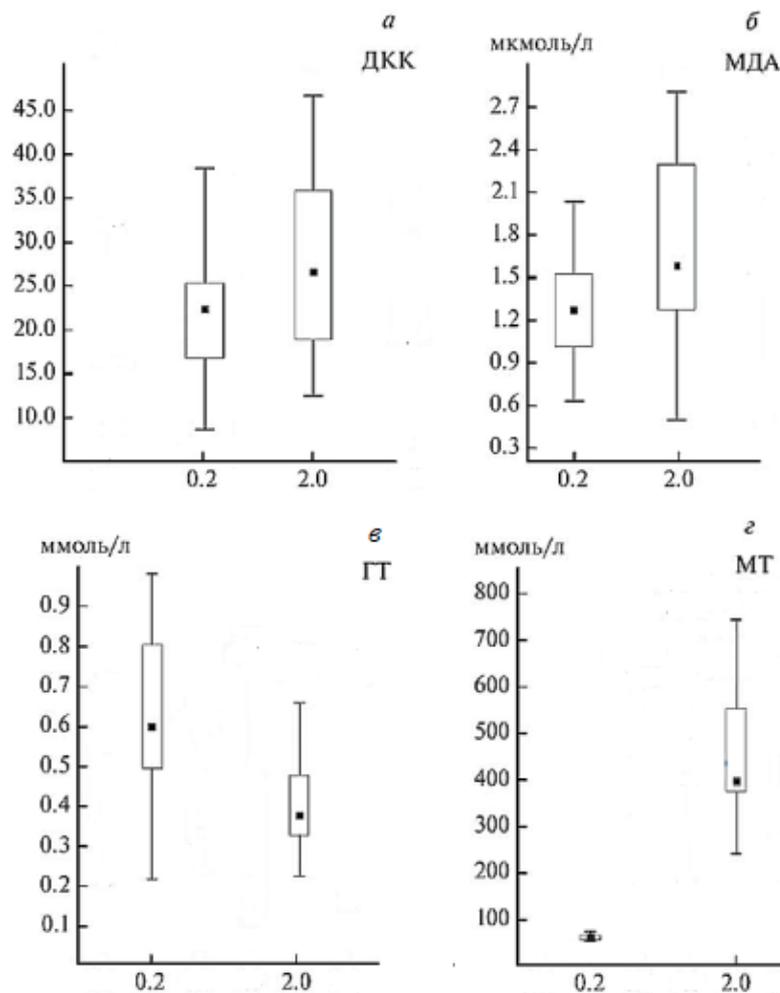


Рисунок 3.4.2 – Концентрация диеновых конъюгатов, ДКК (а) и малонового диальдегида, МДА (б) в крови, а также концентрация пептидов, ГТ (в) и

металтионеинов со свободными тиоловыми основаниями, МТ ( $\epsilon$ ) в клетках печени у молоди камчатской мальмы *Salvelinus malma*. Обозначения, как на рис. 3.4.1.

Было выявлено, что у молоди в загрязнённой р. Фальшивая концентрация диеновых продуктов перекисной деградации липидов выше (t-тест  $p = 0,040$ ), чем в р. Авача. Также достоверно выше оказалась концентрация малондиальдегида ( $p = 0,027$ ). У мальмы из р. Фальшивая оказалась снижена концентрация свободного восстановленного глутатиона в печени ( $p = 0,009$ ), который, очевидно, расходовался на иммобилизацию катионов тяжёлых металлов. В это же время содержание в печени пептидов, обогащённых -SH радикалами (группа металтионеинов) в целом оказалось выше на порядок ( $p < 0,01$ ) (рис. 3.4.2).

*Гормональный статус и биохимические параметры.* Позднее были проведены дополнительные сборы молоди в разных водотоках (табл. 3.4.1) и проведены оценки физиологического состояния рыб в водотоках, различающихся концентрацией токсикантов. Было обнаружено, что уровень кортизола сопоставим во всех проанализированных популяциях, вне зависимости от загрязнения воды (рис. 3.4.3а; ANOVA  $F_{3;23} = 2,4$   $p = 0,085$ ). В тоже время все миниатюрные гольцы из химически загрязнённых местообитаний отличались хроническим гипертиреозом, содержание  $T_3$  было значительно выше у таких рыб (рис. 3.4.3б;  $F_{3;28} = 58,6$   $p < 0,001$ ). При этом тест Тьюки показал сходство в содержании  $T_3$  между молодью, обитающей в вулканических реках ( $p = 0,903$ ), и отдельно – между молодью из чистых рек ( $p = 0,097$ ).

Тканевая антиоксидантная активность была значительно выше у гольцов в сильно минерализованной воде (рис. 3.4.3в, ANOVA  $F_{3;72} = 27,4$   $p < 0,001$ ), а активность ионных насосов АТФаз ниже (рис. 3.4.3г,  $F_{3;67} = 56,3$   $p < 0,001$ ).

Показатели накопления энергетических запасов организмом (триацилглицериды и гликоген) у рыб, обитающих в вулканических реках, были достоверно ниже, чем у рыбы из чистых водоёмов (рис. 3.4.3д, е,  $F_{2;75} = 100,6$   $p < 0,001$  для ТАГ и  $F_{2;73} = 20,7$   $p < 0,001$  для гликогена).

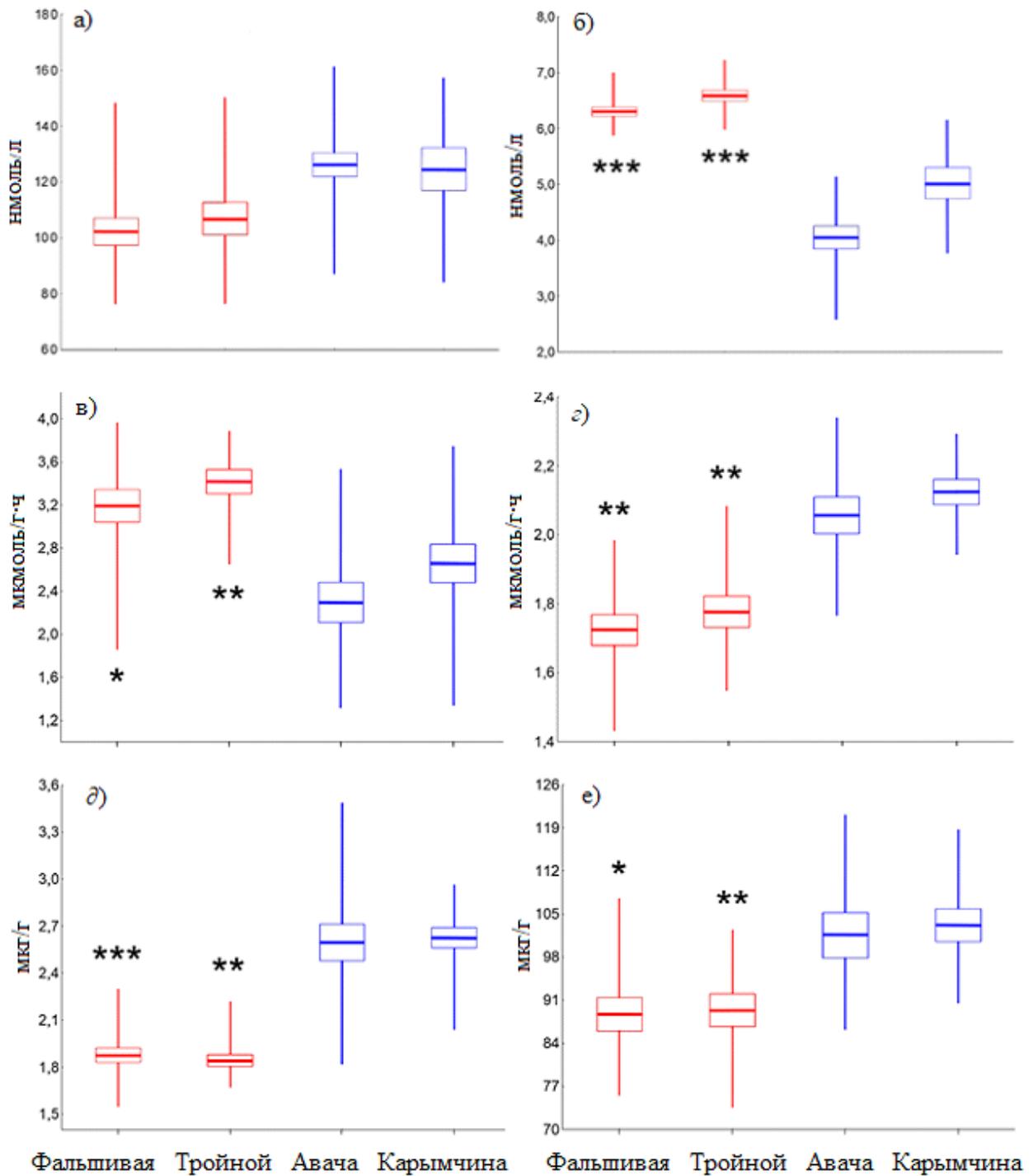


Рисунок 3.4.3 – Гормональный статус и биохимические параметры мальков *Salvelinus malma* из загрязнённых (красным) и чистых (синим) рек; показаны среднее (—), ошибка среднего (□) и пределы варьирования (|); кортизол (а) и T<sub>3</sub> (б) в плазме крови; активность антиоксидантных ферментов (в); АТФазы ионных насосов (г); триацилглицеридов в мышцах, ТАГ (д); гликогена печени (е). Звёздочками отмечен р-уровень отличия (Tukey HSD) от значений, полученных для мальков из чистых рек: \* $\leq 0,05$ , \*\* $\leq 0,01$  и \*\*\* $\leq 0,001$ .

### 3.4.2. Акклимация к загрязнению

Анализ физико-химического состава воды в вулканических ручьях, где воспроизводится миниатюрный фенотип *Salvelinus malma*, а также в местах отлова производителей в рр. Авача и Карымчина, показал, что на фоне умеренной жёсткости и субоптимального pH, средние (и максимальные учтённые) концентрации трёх тяжёлых металлов (Cu, Pb и Zn) в вулканических водотоках кратно превышали ПДК, установленные для рыбохозяйственных водоёмов; вода в рр. Авача и Карымчина химически не загрязнённая (табл. 3.4.1).

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. Результаты тестов были сходны для обеих экспериментальных серий, поэтому их объединили по группам. Было показано, что молодь в этих растворах погибала на всех стадиях развития. Смертность зародышей и молоди в растворах в 7-дневных тестах достигала 5–35%, оставаясь нулевой при содержании в чистой воде. Более 2/3 рыб во всех тестах погибали в течение первых 72 часов. Раствор с максимальным превышением ПДК по Cu (#Тро) в среднем проявлял бóльшую токсичность, чем раствор с максимальным превышением ПДК по Zn (#Кош). В растворе #Макс гибло в 1,5 раза больше особей, чем в #Тро. Тесты показали достоверные скачки смертности во всех растворах на стадиях вылупления и исчезновения провизорных органов (рис. 3.4.4).

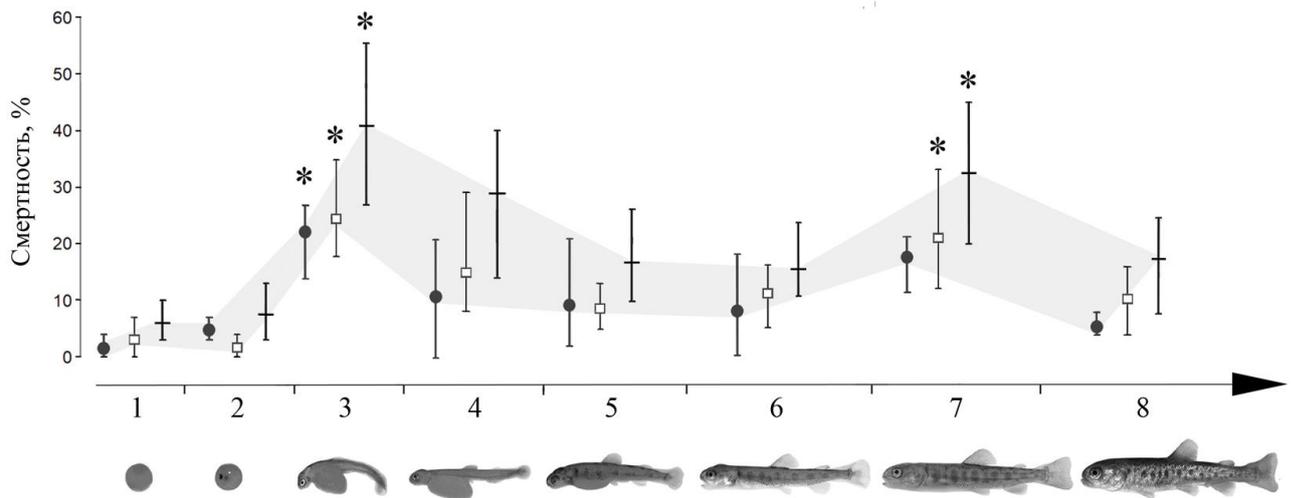


Рисунок 3.4.4 – Изменение смертности контрольной группы *Salvelinus malma* в 7-дневных тестах по мере смены стадий развития. Показаны средние значения для растворов #Кош (●), #Тро (□) и #Макс (-), а также пределы варьирования значений (|). Звёздочки обозначают тесты, в которых смертность достоверно выше (ANOVA тест Тьюки  $p \leq 0.05$ ), чем на ближайших стадиях развития. Стадии: 1 – гастрюляция, 2 – васкуляризация желтка, 3 – вылупление, 4 – свободный зародыш, 5 – переход на внешнее питание, 6 – смыкание стенок тела вокруг остатков желточного мешка, 7 – малёк, 8 – закладка чешуи и дифференциация основного ряда мальковых пятен («пестрятка»)

Убедившись в повышенной смертности гольцов в загрязнённой тяжёлыми металлами воде, попробовали изменить устойчивость экспериментальной молодежи гольцов к токсичности растворов за счёт манипуляций с их эндокринной системой (рис. 2.2.2). Воздействие на эндокринную систему молодежи обеспечило регистрируемый морфофизиологический эффект во всех шести группах. В соответствии с ожидаемым эффектом хронической активации и/или угнетения метаболизма, группы 'PCPA', 'Thio' и 'Sita' продемонстрировали достоверное снижение РПМ (рутинный метаболизм), группы 'НТР', 'Thyr' и 'Insu' – повышение РПМ относительно контроля (рис. 3.4.5а). Для групп 'PCPA' и 'Thio' ('НТР' и 'Thyr') удалось добиться снижения (повышения) тиреоидного статуса (рис. 3.4.5б). В паре 'Situ' – 'Insu' эффект изменения тиреоидной активности был

противоположным и недостоверным. Вероятно, в этой паре имело место компенсаторное изменение активности тиреоидной оси в ответ на терапию. Имея сходный размер на старте терапий (в среднем  $20,0 \pm 0,22$  мм), группы ‘PCPA’ и ‘Sita’ через 12 недель выросли достоверно меньше ‘контроля’, а группы ‘НТР’ и ‘Insu’ – достоверно больше (рис. 3.4.5в). Также обращает на себя внимание достоверно замедленный рост группы ‘Thyr’, отличающейся максимальным тиреоидным статусом и РПМ.

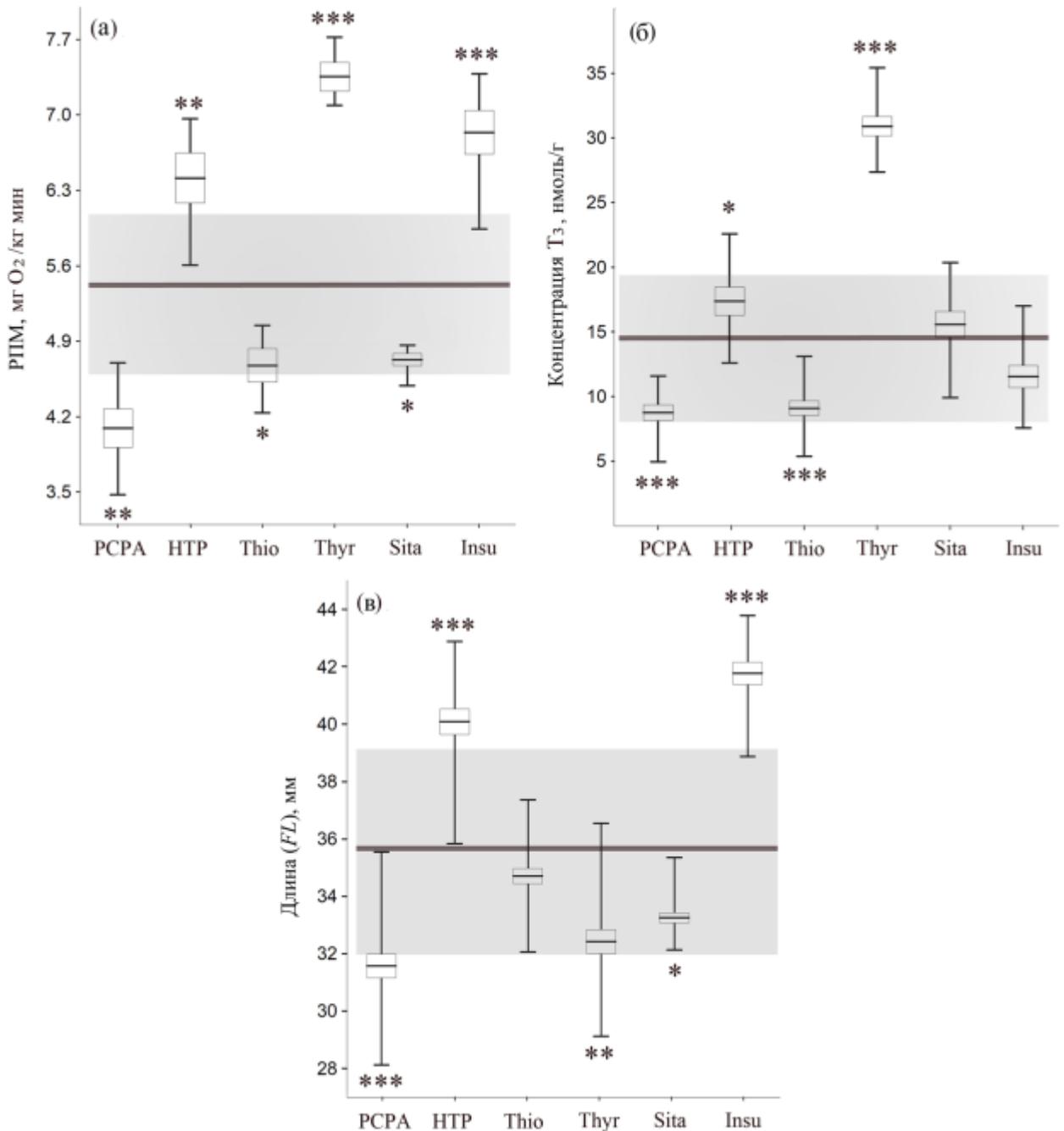


Рисунок 3.4.5 – Показатели эффекта терапий шести экспериментальных групп *Salvelinus malma*: рутинный уровень метаболизма (а), концентрация Т<sub>3</sub> в организме (б) и длина тела (в) относительно контроля (линия – среднее значение, заливка – пределы варьирования). Для экспериментальных групп показаны среднее (-), ошибка среднего (□) и пределы варьирования (|). Звёздочками обозначены группы, достоверно отличающиеся (ANOVA тест Тьюки) от контроля по FL ( $F_{6;159} = 108.8$ ), РПМ ( $F_{6;42} = 46.1$ ) и концентрации Т<sub>3</sub> ( $F_{6;89} = 68.1$ ): \*  $p \leq 0,05$ , \*\*  $0.01 \leq p < 0,05$ , \*\*\*  $p < 0,001$

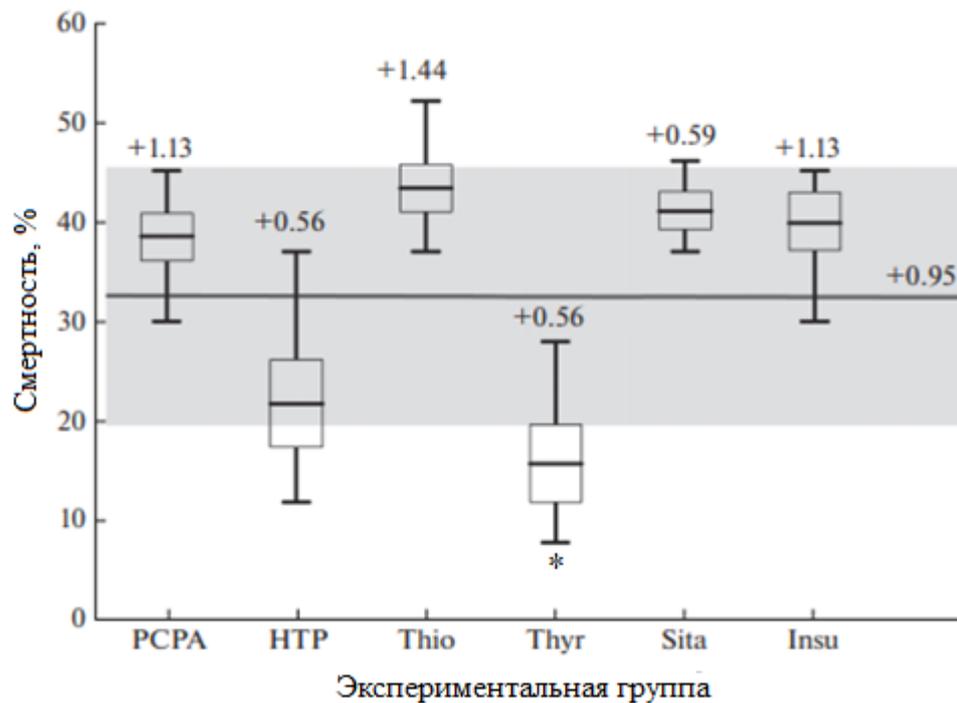


Рисунок 3.4.6 – Смертность в шести экспериментальных группах *Salvelinus malma* в 7-суточных тестах в растворе #Макс после завершения терапевтических манипуляций относительно смертности в контроле: (\*) – группа, достоверно отличающаяся по смертности от контроля (дисперсионный анализ, тест Тьюки,  $p = 0,011$ ). Над диаграммами размаха показаны величины повышения средней концентрации ТБК-активных соединений (мкмоль/л), в тканях мальков, выживших в тестах. Ост. обозначения см. на рис. 3.4.5

*Хронический эксперимент.* В конце 12-недельного хронического эксперимента (рис. 2.2.3) все серии, получавшие фармакологическое воздействие, значительно отличались от контрольной по содержанию  $T_3$  (ANOVA  $F_{11;84} = 18,00$   $p < 0,001$ ; рис. 3.4.7а, см. контрольные группы). Особенно высокий/низкий уровень  $T_3$  в группах, получивших терапии направленные на гипер- и гипотиреоз, соответственно, что подтверждает их эффективность. Акклиматизация в растворе тяжёлых металлов привела к увеличению содержания  $T_3$  относительно контроля, но оно было меньше, чем в гипертиреоидном ряду. Интенсивность перекисного окисления липидов (индикатор окислительного стресса в клетках и тканях), определённая по содержанию продуктов окисления, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, были одинаковыми в серии экспериментов. Только в серии, прошедшей акклиматизацию, уровень этого параметра был немного повышен (рис. 3.4.7b). В 12-недельном хроническом эксперименте в сериях отмечалась различная смертность. В контрольной группе и в серии с гипертиреозом отмечена минимальная смертность (3–5 %). В серии с гипотиреозом зарегистрирована 10 % смертность. В серии, акклиматизированной к тяжёлым металлам, смертность составила 25 % (15 % рыб погибло в первые 2 недели, ещё 10 % – в течение следующих 10 недель. У умирающих особей содержание тканевых ТБК-активных соединений было выше 2,1 мкмоль/л, а содержание  $T_3$  было  $< 10$  нмоль/л, что указывает на развитие необратимого окислительного стресса (контрольные значения приведены на рисунке 3.4.7).

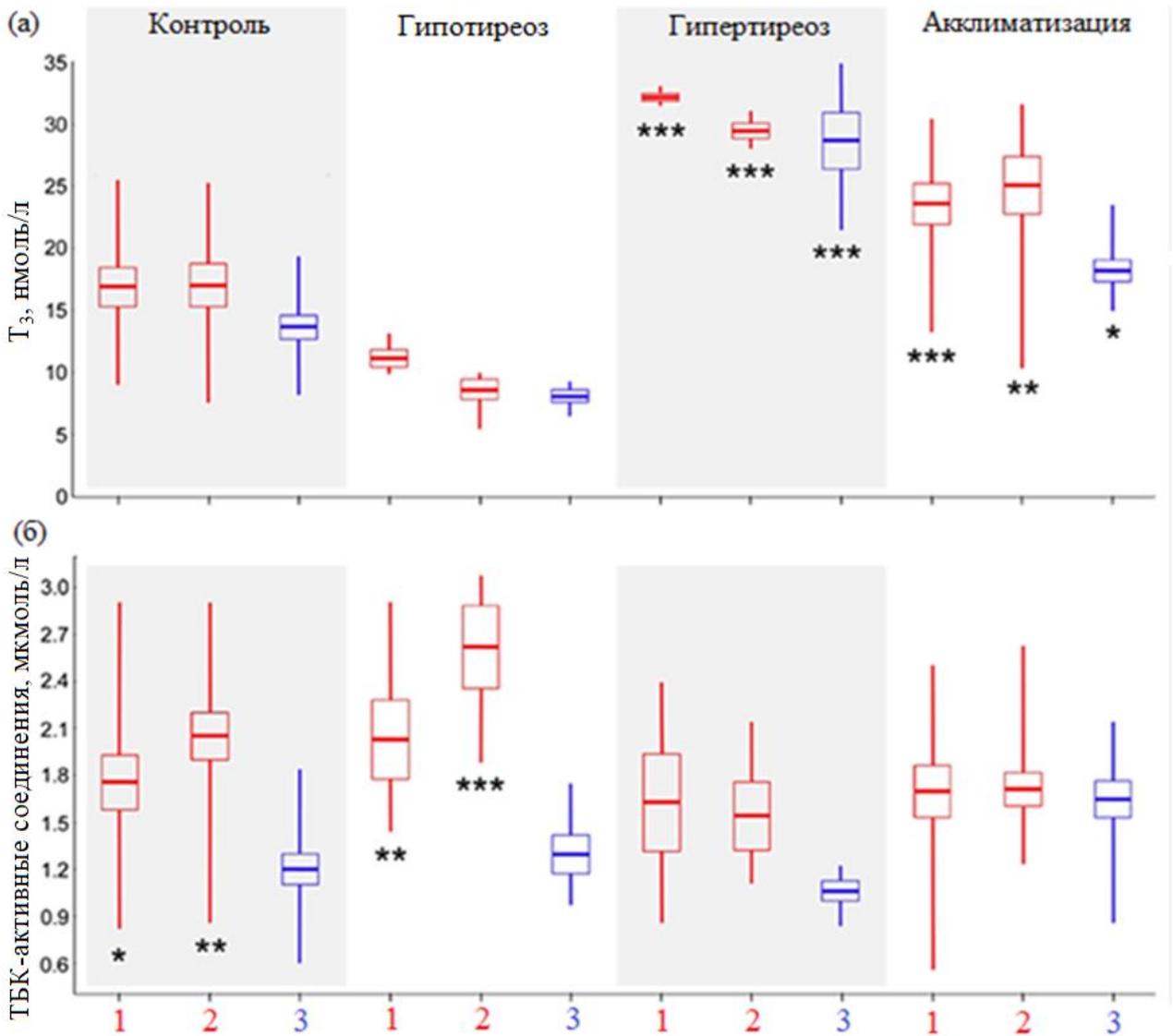


Рисунок 3.4.7 – Содержание Т<sub>3</sub> в тканях (а) и ТБК-активных соединений (б) в экспериментальных сериях мальков *Salvelinus malma* после 7-дневных тестов на устойчивость к тяжёлым металлам. Показаны средние ± стандартная ошибка и минимальные–максимальные значения. Растворы №1 и №2 воспроизводят средние летние концентрации тяжёлых металлов в реках Фальшивая и Тройной соответственно (результаты воздействия показаны в виде графиков в красной рамке). Раствор №3 – чистая вода (графики в синей рамке). Звёздочки указывают на р-уровень отличия (Tukey HSD) от значения, полученные для мальков из контрольной группы с эутиреозом, содержавшихся в чистой воде:

\* $\leq 0,05$ , \*\* $\leq 0,01$  и \*\*\* $\leq 0,001$

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 (№1) и Тройной (№2) (табл. 3.4.1). В ходе 7-дневного теста 8, 16 % контрольных рыб с эутиреозом погибли при концентрациях, повторяющих концентрации в реках Фальшивая и Тройной, соответственно. В 'контроле' вся рыба живая. Ещё более высокая смертность (до 18%) наблюдалась у рыб с гипотиреозом. Напротив, серии с гипертиреозом и акклиматизацией продемонстрировали почти 100% выживаемость в обоих растворах (рис. 3.4.8).

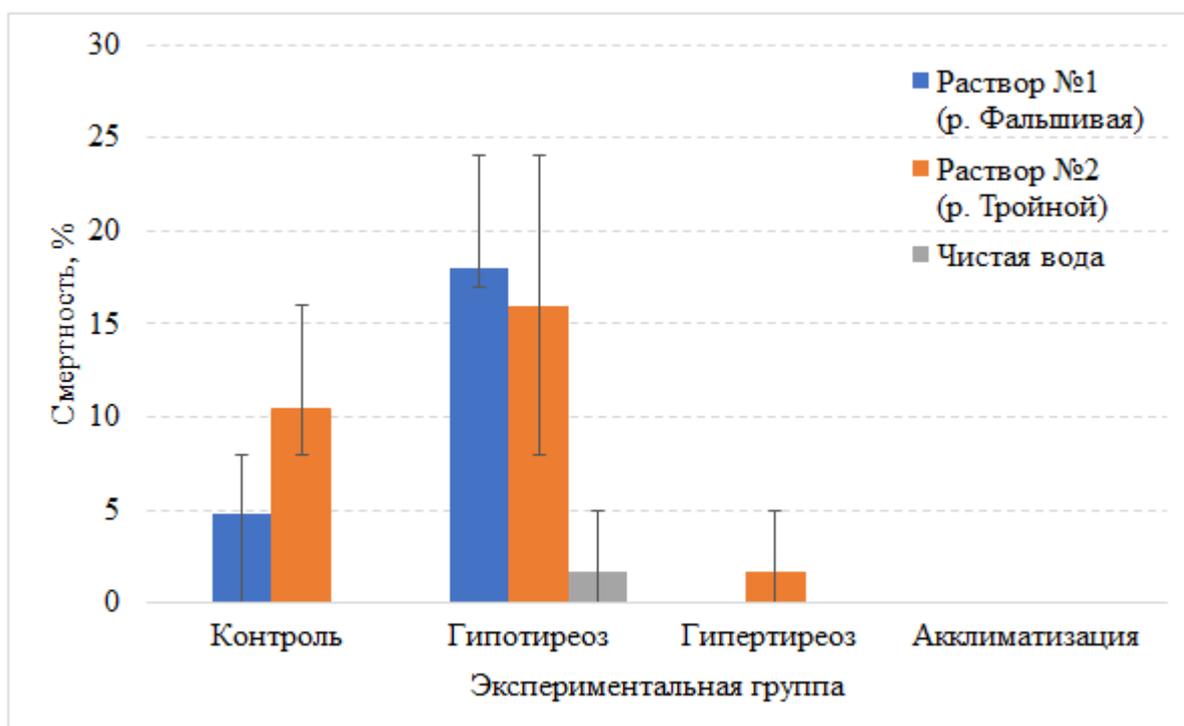


Рисунок 3.4.8 – Смертность (%) в ходе 7-дневного теста на акклимацию *Salvelinus malma* к загрязнению, имитирующему средние летние концентрации тяжёлых металлов загрязнённых вулканическим воздействием ручьёв.

Показаны пределы варьирования (I)

У рыб, участвовавших в 7-дневном тесте, содержание ТБК-активных соединений увеличилось, что указывает на повышенный окислительный стресс (рис. 3.4.78б). В контрольной группе и группе с гипотиреозом повышение содержания ТБК-активных соединений было значительным (ANOVA  $F_{11;84} = 5,64$   $p \leq 0,041$ ), а токсический эффект более концентрированного раствора №2 был более выраженным. В серии с гипертиреозом, которая почти выдержала тест на репликативное состояние, повышение содержания ТБК-активных соединений было незначительным. У акклиматизированных рыб оно было почти незаметным. Интересно, что независимо от исходного состояния щитовидной железы, у всех групп в тесте отмечено увеличение содержания  $T_3$  (см. Рисунок 3.4.7а), что продемонстрировало отрицательную корреляцию с содержанием ТБК-активных соединений (Spearman  $r = -0,77$ ).

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Процесс адаптации лососевых рыб к меняющейся солёности и минерализации воды контролируется сложным набором физиолого-биохимических механизмов, полного понимания которых до сих пор нет. В данной работе рассмотрены два типа адаптаций лососевых с длительным периодом жизни: в первом случае – смена молодью тихоокеанских лососей пресноводной среды обитания на морскую, во втором – выработка механизмов противодействия окислительному стрессу у гольцов в случае изоляции в водоёмах с избыточным содержанием солей тяжёлых металлов. В обоих случаях лососевым рыбам приходится акклиматизироваться к избыточной минерализации воды.

Известно, что акклиматизация молоди тихоокеанских лососей с длительным пресноводным периодом жизни к переходу в море происходит в определённый период, когда складываются подходящие абиотические и биотические факторы среды. У молоди после достижения порогового размера и накопления в организме необходимых запасов запускаются внутренние процессы, которые приводят к возможности молоди выжить в морской среде. Период эффективного ската достаточно короткий и обозначается как «окно смолтификации» (Folmar, Dickhoff, 1980; Hoar, 1988; Хованский, 1994; Варнавский, 2005), молодь лососей в это время наиболее толерантна к морской среде. В разных популяциях одного и того же вида смолтификация происходит при разных размерах, что определяется местными условиями в речных бассейнах – температурным и световым режимом, количеством корма и подходящих местообитаний, плотностью заселения и социальными взаимоотношениями мальков (Koenings et al., 1993). Так, дикая чавыча на Камчатке обычно скатывается при массе 6,4-7,0 г (Вронский, 1972; Карпенко, 1998), но может массово скатываться и сеголетками при меньшей массе (Леман, Чебанова, 2000). Нерка скатывается при размерах от 5,0 до 20,0 см (Henderson, Cass, 1991; Heifets et al., 1989; Rice et al., 1994; Koenings et al., 1993). Размер смолтов кижуча в естественных условиях регистрируемый на Дальнем

Востоке составляет 6,2–16,8 см в длину при массе 2,82–53,6 г (Шунтов, Темных, 2008).

При искусственном воспроизводстве лососей с длительным пресноводным периодом жизни необходимо выпускать смолтов, чтобы избежать конкурентных отношений с дикими лососями и снизить смертность в пресных водотоках. Для лососевых рыбоводных заводов принят ряд нормативов, направленных на эффективную работу предприятий. Важным рыбоводным показателем, в частности, является средняя массы выпускаемой молоди, которая для МЛРЗ по чавыче принята равной 7 г, по нерке – 4 г, для ВЛРЗ по кижучу 1+ – 10 г (Приказ Минсельхоза России от 30 января 2015 г. №25), что соответствует размерам смолтов в базовых водоёмах этих заводов. Фактически же выпускаемая с ЛРЗ молодь при средней массе тела, соответствующей нормативу, имеет значительную амплитуду колебания индивидуальной массы тела. Неоднородность выпускаемой заводской молоди указывает на её физиологическую разнокачественность.

Наши исследования подтвердили прямую зависимость эффективности смолтификации от размеров тела для молоди лососевых с длительным пресноводным периодом жизни. Большинство крупных особей заводских сеголеток чавычи готовы к переходу к морскому образу жизни. В то время как мелкие особи (массой менее 5 г) не адаптируются к воде солёностью 30 ‰, примерно соответствующей поверхностной солёности западной части Охотского моря. Промежуточная группа рыб массой от 5 до 7 г представлена разнокачественными по степени смолтификации особями. На Малкинском ЛРЗ особи с признаками начинающейся смолтификации регистрировались в разные годы при массе от 4 г.

У молоди, не готовой к миграции в море, осмолярность крови при попадании в морскую воду остаётся на высоком уровне, что подтверждается и литературными данными (Смирнов, Запорожец, 1992, Шульгина, Смирнов, 2015; Шульгина и др., 2023). Такая молодь обнаруживается не только среди мелких рыб с массой менее 5 г, но и у средней по размерам молоди, которая не вся способна

поддерживать водно-солевой гомеостаз, что проявляется в резком росте осмолярности крови сразу после перевода в солёную воду. Доля таких рыб в некоторые годы может достигать заметных значений от общего объёма выпуска. В то же время остальная молодь этой же размерной группы способна регулировать водно-солевой обмен. Для этой группы характерен рост осмолярности крови после перевода в солёную воду, а затем снижение осмолярности до уровня, характерного для смолтов. Так, через сутки в воде солёностью 30 ‰ у 67 % особей массой 5–7 г осмолярность крови опускается ниже 340 мосм/л, а через 72 часа – по мере адаптации к солёной воде – у 78 % особей. В то же время у крупных особей массой более 7 г этот показатель почти у всех рыб опускается до уровня 340 мосм/л и ниже в течение суток выдерживания в солёной воде. Эти результаты говорят о том, что молодь чавычи массой даже меньше принятого рыбоводного стандарта (7 г) может успешно смолтифицироваться.

Нерка при навеске более 4 г хорошо регулирует гомеостаз. Почти не попадаются особи, которые не могут снизить осмолярность крови ниже 340 мосм/л. Часть молоди массой меньше 4 г также может успешно смолтифицироваться.

Что касается заводских двухлеток кижуча, то при нормативной навеске и даже выше они не могут инвертировать водно-солевой обмен с пресноводного на морской тип без существенных потерь в жизнеспособности, в то время как дикая молодь кижуча при таких размерах успешно смолтифицируется.

До сих пор актуален вопрос выбора способов оценки готовности молоди лососевых видов рыб к переходу к морскому образу жизни. В данной работе представлены методы, где критериями оценки являются: выживаемость рыб, изменение уровня осмолярности плазмы крови, а также ряда физиологических параметров при переводе молоди из пресной в солёную воду.

Проанализировав результаты теста в воде солёностью 40 ‰, в котором критерием готовности молоди лососей к обитанию в морской воде является выживаемость 50 % особей в течение одних суток, пришли к выводу, что тест

может давать ошибочный как ложноположительный, так и ложноотрицательный результаты. Так, из-за нарушения чешуйного покрова, отмечалась повышенная смертность рыб и в наших экспериментах, и у других исследователей (Wedemeyer et al., 1980; Bouck, Smith, 1979; Zydlewski et al., 2010); с другой стороны, сutki в тесте может выживать молодь, не готовая к скату море, что подтверждается по показателям осмолярности крови.

Эксперименты по выдерживанию в течение трёх суток в воде солёностью 30 ‰ исследуемой молоди лососей, показали, что у «истинных» смолтов осмолярность крови должна восстанавливаться до исходного уровня через одни–трие суток после перевода в 30 ‰-морскую воду и не превышать 340 мосм/л. Рыбы с более высокой осмолярностью крови в итоге погибают. Сходные выводы получены, в том числе, и на других видах лососей (Clarke, Blackbourn, 1977, 1978; Смирнов, Кляшторин, 1989; Кляшторин, Смирнов, 1990; Манухов и др., 2012; Шульгина, Смирнов, 2015; Шульгина и др., 2023). Стоит отметить, что чем на более поздней стадии смолтификации находится молодь, тем менее выражено увеличение (вплоть до его отсутствия) осмолярности крови при её переводе в солёную воду и, тем быстрее, показатель снижается до 340 мосм/л и даже до пресноводного уровня.

Метод оценки степени смолтификации молоди по потере массы тела не является оптимальным. Вся молодь, попавшая в солёную воду, включая смолтов, теряет массу при выравнивании осмотического давления. Более того, смолты чавычи отличаются легко опадающей чешуёй, и манипуляции с ними при взвешивании приводят к нарушению целостности чешуйных покровов, что влечёт за собой увеличение проницаемости покровов и повышение концентрации электролитов в крови (Wedemeyer et al., 1980, Bouck, Smith, 1979). Такая рыба погибает в экспериментах, что вызывает статистические смещения показателей выживаемости. Потеря чешуи отмечается, как при индивидуальном, так и групповом взвешивании. Тем не менее, в работе показано, что в воде солёностью 30 ‰ потеря массы тела у молоди чавычи массой более 7 г прекращалась через 8–12 часов и составляла в среднем 3,4 ‰, что говорит о возможности молоди чавычи

массой  $>7$  г поддерживать при такой солёности свой гомеостаза, в то время как при солёности воды 40 ‰ потеря массы тела постоянно нарастала (рис. 3.2.11). Более мелкая молодь за сутки в солёной воде теряла в среднем 13,5 % массы тела, что говорит о невозможности нормального функционирования таких рыб в морской воде.

Некоторыми авторами рассматриваются изменения гематологических показателей при смолтификации (Варнавский, Варнавская, 1984; Хованский, 2004, Wendt, Saunders, 1973, Blackburn, Clarke, 1987, Zaugg, McLain, 1986). Эти данные противоречивы. В данной работе также была проведена попытка понять закономерности изменений таких показателей крови, как содержание глюкозы, гемоглобина и уровень гематокрита в процессе смолтификации. Работы велись несколько лет и на разных видах лососей и показали, что сами показатели изменчивы и зависят от температуры, уровня стресса, голодания, периода исследования (у чавычи и кижуча было отмечено достоверное снижение гематокрита к периоду предполагаемой смолтификации). При переводе молоди в солёную воду достоверных и закономерных изменений концентраций глюкозы, гемоглобина и уровня гематокрита отмечено не было.

Анализ активности  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы в наших исследованиях не позволил выделить этот параметр, как самостоятельный метод для оценки готовности изучаемой молоди к скату в море. Отмечено достоверное отличие между пестрятками и серебристой молодью лососей, но разделить среди последней группы смолтов от не смолтов не представляется возможным даже статистическими методами.

Анализ молоди по содержанию жирных кислот в мышцах (ЖК) показал достоверное отличие между разными стадиями развития молоди и в паре сравнения 'заводская – дикая молодь'. Соотношение разных ЖК в теле рыбы зависит, прежде всего, от состава её пищи (Torstensen et al., 2004; Физиология ..., 2017; Гладышев и др., 2018), поэтому различия в липидном составе дикой и заводской молоди закономерны. Пестрятки из реки отличались более сбалансированным ЖК составом, в их мышцах была выше доля биологически

активных C22:6(n-3) и C20:5(n-3) кислот, а также структурных C15:0, C15:1, C17:0, C17:1 кислот. У заводской рыбы было больше энергозапасующих моноеновых кислот C18:1-C21:1; жирность мышечной ткани была выше.

Смолтификация сопровождалась достоверным изменением состава ЖК. Это энергозатратный физиологический процесс, в ходе которого накопленные ЖК расходуются в цикле Кребса и для биосинтеза гормонов и тканевых медиаторов. Обмен веществ при смолтификации интенсифицируется, в связи с чем эссенциальные и энергозапасующие полиненасыщенные ЖК замещаются моноеновыми и насыщенными цепочками. Нами было обнаружено, что у полноценных смолтов чавычи на заводе, по сравнению с пестрятками, общая жирность мышечной ткани была снижена почти в два раза, и достоверно снизилось содержание физиологически активных омега-3 докозагексаеновой и эйкозапентаеновой кислот. Таким образом, соотношение некоторых ЖК может быть использовано как индикатор степени смолтификации молоди с длительным пресноводным периодом жизни. Методика по определению ЖК трудо- и времязатратная, подразумевает серьёзную лабораторную работу, также обязательно наличие групп сравнения, в том числе и рыб после содержания в морской воде. Резюмируя сказанное, предлагается применение этого метода только при необходимости комплексной оценки готовности молоди к скату, а не как экспресс тест.

В подтверждение тезисов, выдвинутых исследователями о влиянии гормональной регуляции на смолтификацию лососей, нами был оценён пресноводный уровень ряда гормонов у разноразмерной заводской и дикой молоди чавычи, и на разных этапах её смолтификации; поставлены эксперименты в морской воде на заводской молоди. В результате работ были отмечены чёткие достоверные различия гормонального фона на разных стадиях смолтификации, а также влияние на него попадания рыбы в морскую среду. Также отмечаются достоверные различия между заводской и дикой молодью на схожих этапах развития.

К ключевым регуляторам гормонально-физиологических каскадов относятся тропные гормоны передней доли гипофиза. Они представляют собой пептидные соединения, секретирующиеся порциями много раз в сутки; период их полураспада на этапе циркуляции по организму не превышает одного часа (Носарёва и др., 2021). В результате, концентрация тропных гормонов в крови подвержена естественным скачкообразным изменениям. Судя по полученным данным, верхняя граница концентрации соматотропинов и пролактина в крови заводской молодежи чавычи, достигшей порогового размера смолта, в 2 раза выше, чем у более мелких особей. Стимуляция солёной водой провоцировала рост содержания тропных гормонов у молодежи, способной регулировать водно-солевой баланс. У дикой молодежи чавычи уровень гормонов передней доли гипофиза в крови заметно выше, чем у заводской. Так, у диких пестряток он соответствует показателям крупной заводской чавычи массой больше 7 г до стимуляции морской водой, а у диких смолтов почти в 2 раза выше, чем у крупной заводской молодежи, поддерживающей гомеостаз в солёной воде.

По тиреоидному статусу обнаружены существенные различия между дикими пестрятками и смолтами с одной стороны, и между дикой и заводской чавычей – с другой. У диких рыб, идентифицированных по окраске как ‘пестрятки’, концентрация  $T_3$  в крови в середине мая составляла в среднем 3,42 нг/г. Дикие смолтифицирующиеся особи находились на ранних стадиях серебрения, т.е. на пике секреции тиреоидных гормонов (Lorgen et al., 2015). Содержание  $T_3$  в их крови составляло 9,5–13,0 нг/г. В это же время у заводской чавычи всех выделенных подгрупп концентрация  $T_3$  в крови была в среднем на порядок ниже, что можно связать только со специфическими условиями выращивания на ЛРЗ. Только у 60 % среднеразмерных заводских рыб массой 5–7 г пресной воды и тех, которые поддерживали уровень осмолярности крови до 340 мосм/л при попадании в солёную воду, уровень  $T_3$  был достоверно выше 0,06 нг/г – границы обнаружения, заявленной производителем для аналитического набора. Вероятно, эти особи находились на ранних стадиях смолтификации. Более низкий уровень гормона у крупных особей можно связать с переходом на более

поздние стадии смолтификации, когда тиреоидный статус естественным образом падает. Стресс-условия выдерживания в воде с солёностью 30 ‰ не приводили к изменению содержания  $T_3$  в крови заводской молоди чавычи.

Тиреоидные гормоны имеют плеiotропный физиологический эффект, и у рыб являются ключевыми регуляторами метаболизма, участвуя в адаптациях организма к изменяющимся условиям среды (Lema, 2014; Denver, 2017; Birnie-Gauvin et al., 2021; Gairin, 2022). Обнаруженные различия по тиреоидному статусу у заводской и дикой молоди имеют значимый практический интерес для искусственного воспроизводства лососей и возможного повышения его эффективности. Существенные аномалии в профиле секреции тиреоидных гормонов у заводских рыб не могут не влиять на эффективность её смолтификации.

Кроме того, было показано положительное влияние на выживаемость в морской воде молоди, не достигшей «порогового» размера смолта, в среде, содержащей 1,0 нг/мл активной формы трийодтиронина, что также говорит о ключевом влиянии гормонов на процесс смолтификации.

Кортизол имеет стероидную природу и поддерживается в крови на стабильном уровне, рост его концентрации соответствует переходу в стрессовое состояние, сопровождающееся интенсификацией активности ферментов и ростом энергозатрат. Как и в случае с гипофизарными тропными гормонами, у мелких пестряток из пресной воды, средних рыб из пресной воды и средних рыб, не способных удерживать осмолярность крови при выдерживании в солёной воде был зарегистрирован близкий и сравнительно низкий уровень кортизола. Схожий уровень кортизола в крови бы также зарегистрирован у диких мальков и пестряток в середине мая. Стимуляция солёной водой вызывала скачок концентрации кортизола в среднем на 20 % у части среднеразмерной заводской молоди чавычи, способной удерживать осмолярность крови при попадании в солёную воду и у крупной молоди. Особенно заметен рост концентрации был у крупной молоди, способной регулировать водно-солевой баланс в солёной воде. У

диких смолтов уровень кортизола в крови был близок к таковому в подгруппе крупных заводских смолтов.

Наши данные также подтвердили, что активность секреции двух пептидных гормонов-регуляторов кальциевого обмена – кальцитонина и паратгормона – обратно скоррелирована. Было установлено, что в пресной воде разноразмерная молодь заводской чавычи характеризовалась сходным низким уровнем кальцитонина и высоким уровнем паратгормона в крови, что соответствует пресноводному типу метаболизма. При этом у дикой молоди уровень кальцитонина был в среднем в 1,5 раза выше. Стимуляция солёной водой привела к достоверному росту концентрации кальцитонина и падению концентрации паратгормона в крови у части среднеразмерной чавычи, способной удерживать осмолярность крови при выдерживании в солёной воде и у крупных рыб заводских рыб, особенно тех, которые способны удерживать осмолярность крови при выдерживании в солёной воде (при сравнении с крупными рыбами из пресной воды), при этом концентрация кальцитонина всё равно осталась ниже средних показателей у диких смолтов на 20 %.

У диких смолтов чавычи уровень кальцитонина значительно выше, чем у заводской крупной молоди, у пестряток отличия незначительные. В тоже время уровень паратгормона у диких смолтов наоборот на 3 порядка ниже, чем у заводских смолтов.

Важнейшим практическим следствием из полученных результатов является актуальность задачи по поиску оптимальных способов стимуляции смолтификации у молоди лососей с длительным пресноводным периодом жизни с массой тела меньше нормативной навески, что позволит повысить эффективность ЛРЗ, занимающихся воспроизводством этой группы тихоокеанских лососей.

Подтвердив роль гормонов в акклиматизации к меняющейся солёности воды, в том числе и экспериментами по успешной стимуляции мелкой молоди нерки к смолтификации тиреоидными гормонами, нам удалось провести параллель с гормонально-физиологическими механизмами акклиматизации гольцов к обитанию в воде с избыточным содержанием солей тяжёлых металлов.

Фактически, этот вариант акклиматизации молоди к переходу в среду с повышенной минерализацией соответствует выработке гормонально зависимых механизмов противодействия хроническому токсикозу (окислительному стрессу тканей внутренних органов). В отличие от смолтификации, которая является естественным и обратимым этапом жизненного цикла проходных видов лососевых рыб, акклиматизация к противодействию токсикоза вынуждена, запускается в результате изоляции в экстремальной среде, а её инверсия, вероятнее всего, приведёт к быстрой гибели.

В ходе полевых исследований удалось обнаружить, что миниатюрные гольцы из химически загрязнённых местообитаний отличаются хроническим гипертиреозом, в то время как уровень стрессовых гормонов у них снижен (Esin et al., 2023). Живя в экстремальной среде, гольцам приходится перестраивать свой метаболизм, чтобы защититься от окислительного стресса. Стресс мальков подтверждает увеличенная по сравнению с рыбами из чистых рек концентрация диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в организме – известных продуктов перекисной деградации липидов (Hochachka, Somero, 2002; Lushchak, 2011). У мальмы из загрязнённых водотоков обнаружили сниженную концентрацию свободного восстановленного глутатиона в печени, который, очевидно, расходуется на иммобилизацию катионов тяжёлых металлов. Результаты, полученные в работе, также подтверждают активное противостояние организма мальков токсическому воздействию. У рыб из вулканических водотоков в сравнении с одноразмерными рыбами из чистых рек отмечены повышенные антиоксидантная активность крови (вероятно, за счёт антиоксидантных ферментов) концентрация альбуминов (вероятно, участвующих в хранении, транспорте или обезвреживании ионов металлов переменной валентности), содержание в печени пептидов, обогащённых -SH радикалами (группа металтионеинов, участвуют в связывании ионов тяжёлых металлов). По всей видимости, противодействие стрессу оказывается энергетически затратным – у мальков из загрязнённых водотоков снижены запасы триглицеридов в мышцах и гликогена в печени.

Примечательной особенностью физиологической адаптации к хроническому токсикозу оказалось снижение активности  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы. Т.е. имеет место противоположное изменение активности основных ионных помп в сравнении со смолтами, адаптирующимися к солёной морской воде. По всей видимости, такой вариант является защитой от воздействия тяжёлых металлов через снижение ионной проводимости тканей. В пользу такого сценария также говорит увеличение вязкости клеточных мембран у мальмы из загрязнённых ручьёв за счёт изменения соотношения фосфолипидов и холестерина в сравнении со смолтами (Есин и др., 2018).

В сравнении с рыбой из чистых рек у мальмы из вулканических водотоков наблюдается двух-трехкратное превышение уровня тиреоидных гормонов, в то время как соматотропная и адренокортикотропная активности гипоталамо-гипофизарной оси и уровень стрессовых кортикостероидов снижены.

Экспериментальная акклимация к растворам тяжёлых металлов у потомков крупного мигрантного фенотипа также сопровождалась хроническим ростом активности тиреоидной оси. Тиреоидные гормоны являются одними из ключевым факторов регуляции и переключения каналов развития у позвоночных. Они имеют мощный плеiotропный эффект на все системы тканей и органов (Deal, Volkoff, 2020; Lema, 2020), регулируя у рыб скорость метаболизм и эффективность ассимиляции пищи (Gairin et al., 2022), контролируя рост и поведение (Birnie-Gauvin et al., 2021), участвуя в биохимической детоксикации и поддержании гомеостаза организма (Esin et al., 2021). Таким образом, вероятно, что тиреоидные гормоны способны регулировать формирование адекватного адаптивного фенотипа из генетически запрограммированного набора в ответ на воздействие данного сочетания факторов среды.

Мобилизация организма к противодействию стрессу сопровождается торможением соматического роста и педоморфозом. У гольцов тормозится и упрощается морфологическое строение. Созревание происходит раньше (на 3-4 год жизни), чем у проходных гольцов, при очень маленьких размерах

производителей (до 25 г). Нерест однократный, брачный наряд у производителей отсутствует. Продолжительность жизни обычно не превышает 5 лет.

Из выше сказанного следует, оба варианта адаптаций лососевых рыб – смолтификация для перехода к обитанию в морской воде и изменение метаболизма для обитания в воде с избыточным содержанием тяжёлых металлов – запускаются гипофизарно-тиреоидной осью, энергетически обеспечиваются интенсивным липолизом запасённых жиров, провоцируются общей интенсификацией метаболизма. Гормональный контроль метаболизма в первом случае сопровождается кратковременным повышением активности щитовидной железы на ранних этапах смолтификации, с дальнейшим поддержанием механизмов акклиматизации за счёт активности передней доли гипофиза и желёз нижнего иерархического ранга. Второй вариант метаболизма поддерживается постоянным гипертиреозом. 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.

## 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 акклиматизация к тяжёлым металлам 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 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 ЛРЗ 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 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 «солённом 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 Виллюйском лососевом рыбноводном заводе, при массе 10–15 г не в состоянии смолтифицироваться. Однако молодь дикого кижуча из оз. Большой Виллюй при массе 10 г успешно смолтифицируется.

5. В условиях хронического загрязнения среды тяжёлыми металлами у молоди 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 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 СОКРАЩЕНИЙ**

- ААП – общей антиоксидантной активности плазмы крови;
- АТФ – аденозинтрифосфорная кислота;
- БП – белок;
- ВЛРЗ – Вилуйский лососевый рыболовный завод;
- ГЛ – глюкоза;
- ГМ – гемоглобин;
- ГТ – глутатион;
- ДКК - диеновые конъюгаты и кетоны;
- ЖК – жирные кислоты;
- ИКВ - индекс валового загрязнения воды;
- ЛРЗ – лососевый рыболовный завод;
- МДА - малоновый диальдегид;
- МЛРЗ – Малкинский лососевый рыболовный завод;
- МНЖК – ненасыщенные жирные кислоты;
- МТ – металлотионеины;
- НЖК – насыщенные жирные кислоты;
- ОЛ – общие липиды;
- ПДК - предельно допустимая концентрация;
- ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты;
- РПМ – рутинный метаболизм;
- Т<sub>3</sub> – трийодтиронин;
- ТБК - продуктов окисления, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой;
- УФ – ультрафиолет.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

Авдеева, Н.А. Оценка методов определения концентрации гемоглобина, применяемых в клиничко-диагностических лабораториях /Н.А. Авдеева // Лаб. дело. – 1987. – № 10. – С. 786–788.

Амиров, Д.Р. Клиническая гематология животных / Д.Р. Амиров, Б.Ф. Тамимдаров, А.Р. Шагеева. – Казань: Центр информационных технологий КГАВМ, 2020. – 134 с.

Анисимова, Н.М., Лавровский В.В. Ихтиология / Н.М. Анисимова, В.В. Лавровский. – М., 1991. – 287с.

Антонов, Н.П. Промысловые рыбы Камчатского края: биология, запасы, промысел / Н. П. Антонов; Федеральное агентство по рыболовству, Всероссийский научно–исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии. – Москва: Всероссийский научно–исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, 2011. – 244 с.

Афанасьева, Л.С. Экологическая химия: учебник для студ. сред. проф. учеб. заведений / Л.С. Афанасьева – М.: Издательский центр «Академия», 2006. – 224 с.

Бабкин, В.И., Вуглинский В.С. Водный баланс речных бассейнов / В.И. Бабкин, В.С. Вуглинский. – Л.: Гидрометеиздат, 1982. – 191 с.

Баранникова, И.Л. Функциональные основы миграции рыб / И.Л. Баранникова. – Л.: Наука, 1975. – 210 с.

Берг, Л.С. Рыбы пресных вод СССР и сопредельных стран / Л.С. Берг. – М., 1948. – Л. – Ч. 1. – 466 с.

Бирман, И.Б. Морской период жизни и вопросы динамики стада тихоокеанских лососей / И.Б. Бирман. – М.: Нацрыбресурсы, 2004 – 172 с.

Большая российская энциклопедия = Энциклопедический словарь [Текст]: энциклопедический словарь / [отв. ред. С. Л. Кравец]. – Москва: Большая российская энциклопедия, 2011. – 1517 с.

Бугаев, В.Ф. Азиатская нерка–2 (биологическая структура и динамика численности локальных стад в конце XX – начале XXI вв.): монография / В.Ф. Бугаев. – Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс, 2011. - 380 с.

Варнавский, В.С. Некоторые показатели физиологического состояния при смолтификации кижуча и нерки в естественных условиях и при подрачивании на геотермальных водах: автореф. дис. ... канд. биологических наук: 03.00.10. – Москва, 1984. – 24 с.

Варнавский В.С. Оценка некоторых показателей, характеризующих состояние ионорегуляционной системы у молоди кижуча *Oncorhynchus kisutch* (Walb.) и нерки *Oncorhynchus nerka* (Walb.) (Salmonidae) в связи с процессом смолтификации в естественных условиях и при подрачивании на геотермальных водах / В.С. Варнавский, Н.В. Варнавская // Вопр. ихтиологии. 1984.– Т. 24. – Вып. 1. – С. 122–127.

Варнавский, В.С. Регуляция ионов натрия молодью нерки и кижуча в процессе смолтификации / В.С. Варнавский // Биология моря. – 1985. – Т. 11. – № 2. – С. 49–54.

Варнавский, В.С. Смолтификация лососевых / В.С. Варнавский; АН СССР, Дальневост. отд-ние, Ин-т биологии моря, – Владивосток: ДВО АН СССР, 1990. – 177 с.

Варнавский, В.С. Смолтификация тихоокеанских лососей / В.С. Варнавский // Популяционная биология, генетика и систематика гидробионтов: сборник научных трудов. – 2005. – Т. 1. – С. 315–332.

Варнавский, В.С. Смолтификация тихоокеанских лососей: автореф. дис. ... д-ра биологических наук: 03.00.10 / Варнавский Владимир Сергеевич; С-ПГУ. – Санкт-Петербург, 1993. – 50 с.

Введенская, Т.Л. Некоторые черты биологии пресноводного кижуча оз. Дальнего (Камчатка) / Т.Л. Введенская, И.В. Куренков // Тез. докл. III Всесоюз. совещ. “Современное состояние исследований лососевидных рыб”. – Тольятти, 1988. – С. 54–55.

Волобуев, В.В. О зимовке молоди кеты в родном нерестовом водоеме / В.В. Волобуев // Биологические проблемы Севера: Тезисы X Всесоюзного симпозиума, Магадан, 18–19 апреля 1983 года. Том Часть 2. – Магадан: Институт биологических проблем Севера ДВО РАН. – 1983. – С. 158.

Волобуев, В.В. Систематика и экология нейвы *Salvelinus neiva* Taranetz оз. Уегинского (бассейн р. Охоты) / В.В. Волобуев // Вопр. ихтиологии. – 1976. – Т. 16. – Вып. 6. – С. 989–999.

Волобуев, В.В. Эколого-морфологическая характеристика кижуча *Oncorhynchus kisutch* (Walb.) (Salmonidae) материкового побережья Охотского моря / В.В. Волобуев, А.Ю. Рогатных // Вопр. ихтиологии. – 1982. – Т. 22. – Вып. 6. – С. 974–980.

Воловик, С.П. Об одной особенности осенней кеты из бассейна р. Томь (Северо-Восточный Сахалин) / С.П. Воловик, О.Ф. Гриценко // Изв. ТИНРО. – 1968. – Т. 65 – С. 266–267.

Вронский, Б.Б. Материалы о размножении чавычи *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum) р. Камчатки / Б.Б. Вронский // Вопр. Ихтиологии. – 1972. – Т. 12. – Вып. 2 (73). – С. 293–308.

Вронский, Б.Б. Нерестовые станции, гидрологический режим и выживание потомства в гнездах чавычи *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum) в бассейне р. Камчатка / Б.Б. Вронский, В.Н. Леман // Вопр. ихтиол. – 1991. – Т. 31. – Вып. 2. – С. 282–291.

Вронский, Б.Б. Сезонные расы чавычи *Oncorhynchus tshawytscha* Walb. в бассейне р. Камчатки / Б.Б. Вронский // Биол. пробл. Севера: Тез. докл. X всесоюз. симпозиума (Магадан, октябрь 1983 г.). Ч. 2. Магадан: ИБПС, 1983 – С. 159.

Вронский, Б.Б. Чавыча / Б.Б. Вронский // Состояние биол. ресурсов Северо-Западной Пацифики. – Петропавловск-Камчатский: КамчатНИРО, 2003 – С. 87–89.

Гаврилов, В.Б. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой / В. Б. Гаврилов, Л. М. Мажуль // Вопр. мед. химии. – 1987. – № 1. — С. 118–121.

Гаврилов, В.Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В.Б. Гаврилов, М.И. Мишкорудная // Лабораторное дело. – 1983. – № 3. – С. 33–36.

Гладышев, М.И. Сравнительный анализ содержания омега-3 полиненасыщенных жирных кислот в пище и мышечной ткани рыб из аквакультуры и природных местообитаний / М.И. Гладышев, Л.А. Глущенко, О.Н. Махутова [и др.] // Сибирский экологический журнал. – 2018. – Т. 25, № 3. – С. 325–339.

Голованова, И.Л. Влияние тяжёлых металлов на физиолого-биохимический статус рыб и водных бес позвоночных / И.Л. Голованова // Биология внутр. вод. – 2008. – № 1. – С. 99–108.

Грибанов, В.И. Кижуч (*Oncorhynchus kisutch* (Walb.)) (биологический очерк) / В.И. Грибанов // Изв. Тихоокеан. НИИ рыб. хоз-ва и океанографии. – 1948. – Т. 28. – С. 43–101.

Есин, Е.В. Атлас-определитель рыб Камчатки и сопредельных территорий [Текст] / Е.В. Есин, С.Л. Горин, С.Р. Чалов; Всероссийский научно-исследовательский ин-т рыбного хоз-ва и океанографии. – Москва: Изд-во ВНИРО, 2015. – 144 с.

Есин, Е.В. Гольцы рода *Salvelinus* азиатской части Северной Пацифики: происхождение, эволюция и современное разнообразие / Е.В. Есин, Г.Н. Маркевич. – Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс, 2017. – 188 с.

Есин, Е.В. Гольцы рода *Salvelinus* азиатской части Северной Пацифики: происхождение, эволюция и современное разнообразие / Е.В. Есин, Г.Н. Маркевич. – Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс, 2017. – 188 с.

Есин, Е.В. Роль тиреоидных гормонов в адаптации гольцов рода *Salvelinus* (Salmonidae) к вулканическому загрязнению местообитаний / Е.В. Есин, Е.В. Шульгина, Н.С. Павлова, Д.В. Зленко // Вопросы ихтиологии. – 2023. – Т. 63. – № 6. – С. 731–739.

Животовский, Л.А. Генетическая дифференциация популяций жилой и проходной нерки полуострова Камчатка: эволюционный сценарий

происхождения жилой нерки озера Кроноцкое / Л.А. Животовский, С.Д. Павлов, М.Ю. Ковалев [и др.] // Биология моря. – 2019. – Т. 45, № 6. – С. 412–421.

Зикунова, О. В. Основные аспекты биологии и принципы рационального использования запасов чавычи *Oncorhynchus tshawytscha* Камчатки: дис. ... канд. биологических наук: 1.5.13 / Зикунова Ольга Владимировна; науч. рук. А.В. Бугаев; ФГБОУ ВО «КамчатГТУ». – Петропавловск-Камчатский, 2022. – 182 с.

Зорбиди, Ж.Х. Сезонные расы у кижуча // Ж.Х. Зорбиди // Вопр. Ихтиологии, 1990. – Т. 30. – Вып. 1. – С. 31–41.

Зорбиди, Ж.Х. Кижуч азиатских стад / Ж.Х. Зорбиди. – Петропавловск-Камчатский: КамчатНИРО, 2010. – 306 с.

Зорбиди, Ж.Х. Промысловое значение и динамика некоторых биологических показателей кижуча *Oncorhynchus kisutch* Walbaum (Salmonidae) Камчатки / Ж.Х. Зорбиди // Изв. ТИНРО. – 2004. – Т. 137. – С. 241–252.

Зуева, К.Д. Наличие процесса смолтификации у горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum) при отсутствии стадии «parr» / К.Д. Зуева // Вопросы ихтиологии. – 1965. – Т. 5. – Вып. 2 (35). – С. 324–330.

Иванков, В.Н. О посленерестовых неотенических самцах симы / В.Н. Иванков, С.Н. Падецкий, В.С. Чикина // Вопр. ихтиологии. – 1977. – Т. 17. – Вып. 4. – С. 753–755.

Казаков, Р.В. Биологические основы разведения атлантического лосося / Р.В. Казаков. – М.: Лег. и пищ. пром-сть, 1982. – 144 с.

Карпенко, В.И. Морской период жизни тихоокеанских лососей / В.И. Карпенко; [М-во сел. хоз-ва и продовольствия Рос. Федерации (Минсельхозпрод России). Деп. по рыболовству, Всерос. НИИ рыб. хоз-ва и океанографии (ВНИРО), Камчат. НИИ рыб. хоз-ва и океанографии (КамчатНИРО)]. – М.: Изд-во ВНИРО, 1998. – 165 с.

Кейтс, М.. Техника липидологии: Выделение, анализ и идентификация липидов / Пер. с англ. д-ра хим. наук В. А. Вавера. — Москва: Мир, 1975. — 322 с.

Кириллова, Е.А. Жилой кижуч *Oncorhynchus kisutch* в азиатской части ареала. К вопросу о пресноводной компоненте в структуре вида / Е.А. Кириллова, П.И. Кириллов, А.М. Малютин [и др.] // Вопросы ихтиологии. – 2021. – Т. 61, № 5. – С. 553–575.

Кловач, Н.В. Особенности структуры стада производителей чавычи *Oncorhynchus tshawytscha* р. Апука (Северо-Восточная Камчатка) / Н.В. Кловач, М.А. Седова, А.Н. Ельников // Труды ВНИРО. – 2015. – Т. 158. – С. 35–40.

Кляшторин, Л.Б. Оценка готовности к морской миграции у искусственно выращиваемой молоди нерки / Л.Б. Кляшторин, Б.П. Смирнов // Рыбное хозяйство. – 1990. – № 2. – С. 42–45.

Кляшторин, Л.Б. Получение полноценного смолта-сеголетка нерки при ускоренном подращивании / Л.Б. Кляшторин, Б.П. Смирнов, Т.И. Толстяк // Рыбное хозяйство. – 1990. – № 11. – С. 30–32.

Королюк, М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

Крыжановский, С.Г. Экологические группы рыб и закономерности их развития / С.Г. Крыжановский // Изв. Тихоокеан. НИИ рыб. хоз-ва и океанографии. – 1948. – Т. 27. – С. 3–114.

Кузицин, К.В. Закономерности изменений внешней морфологии и осевого скелета у молоди лососёвых рыб (*Salmonidae*) в связи со смолтификацией / К.В. Кузицин, М.А. Груздева, М.Ю. Пичугин, Д.С. Павлов // Вопросы ихтиологии. – 2019. – Т. 59. – № 5. – С. 531–546.

Куликова, Н.И. Естественная и промысловая смертность амурской кеты / Н.И. Куликова, Ю.С. Рослый // Исслед. по биологии рыб и промысл. океанографии. – Владивосток: ТИНРО. – 1978. – Вып. 9. – С. 134–139.

Куренков, И.И. Воздействие вулканизма на речную фауну / И.И. Куренков // Природа. – 1957. – № 12. – С. 49–54.

Куренков, С.И. Результаты интродукции кокани в озера Камчатки / С.И. Куренков // Проблемы охраны и рационального использования биоресурсов

Камчатки: Доклады областной научно-практической конференции. – Петропавловск-Камчатский: ОАО «Камчатский печатный двор», 1999. – С. 30–38.

Леванидов, В.Я. Экологические параллели внутри рода *Oncorhynchus* / В.Я. Леванидов // Экология и систематика лососевидных рыб. Л.: ЗИН АН СССР. – 1976. – С. 69–73.

Леванидов, В.Я. О гидрологическом режиме нерестилищ кеты и горбуши / В.Я. Леванидов // Известия ТИНРО. – 1968. – Т. 64. – С. 101–125.

Леман, В.Н. Новые сведения об экологии молоди западнокамчатской чавычи *Oncorhynchus tshawytscha* в речной и эстуарный периоды жизни / В.Н. Леман, В.В. Чебанова // Вопросы ихтиологии. – 2005. – Т. 45. – № 3. – С. 395–404.

Леман, В.Н. Иллюстрированный определитель лососеобразных рыб Камчатки / В.Н. Леман, Е.В. Есин; Всерос. научно-исслед. ин-т рыбного хоз-ва и океанографии. – М.: изд-во ВНИРО, 2008. – 100 с.

Леман, В.Н. О факте массовой миграции сеголеток чавычи в эстуарии р. Большой (Западная Камчатка) / В.Н. Леман, В.В. Чебанова // Вопросы рыболовства. – М.– 2000. – Т.1. – Вып. 2–3. – Ч.2. – С. 34–36.

Леман, В.Н. Типизация нерестилищ лососей рода *Oncorhynchus* по фильтрационному и термическому режиму в речном грунте бассейна реки Камчатки / В.Н. Леман // Вопр. Ихтиологии. – 1988. – Т. 28. – Вып. 5. – С. 754–763.

Леман, В.Н. Экологическая и видовая специфика нерестилищ тихоокеанских лососей р. *Oncorhynchus* на Камчатке / В.Н. Леман // Чтения памяти Владимира Яковлевича Леванидова, 2003. – Вып. 2. – С. 12–34.

Лозовик, П.А. Методические подходы к оценке загрязнения водных объектов в зоне действия предприятий горнодобывающей промышленности / П.А. Лозовик, Н.Е. Кулакова // Водные ресурсы. – 2014. – № 4. – С. 429–438.

Лукьяненко, В.И. Общая ихтиотоксикология / В.И. Лукьяненко. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Лег. и пищ. пром-сть, 1983. – 320 с.

Лычкова, А.Э. Нервная регуляция функции щитовидной железы / А.Э. Лычкова // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2013. – Т. 68. – № 6. – С. 49–55.

Макеева, А. П. Эмбриология рыб / А.П. Макеева. – Москва: Изд-во МГУ, 1992. – 215 с.

Максимов, В.А. Экология популяций камчатской микижи *Salmo mykiss* Walbaum р. Большой (Западная Камчатка) / В.А. Максимов // Вопр. ихтиологии. – 1976. – Т.16. – Вып. 1. – С. 16–20.

Манухов, А.И. Сезонная динамика степени выраженности смолтификационных изменений и её зависимость от размера тела у заводской молоди нерки *Oncorhynchus nerka* из бассейна реки Большая (западная Камчатка) / А.И. Манухов, В.Н. Леман, Е.В. Басевич // Вопросы ихтиологии. – 2012. – Т. 52, № 1. – С. 50.

Маркевич Г.Н. Речные дериваты эндемичных форм гольца *Salvelinus malma* (Salmonidae) оз. Кроноцкое (Россия, Камчатка) / Г.Н. Маркевич, Е.В. Есин // Nature Conservation Research. Заповедная наука. – 2018. – Т. 3(3). С. 61–69.

Маркевич, Г. Н. Явление посленерестового выживания у озерной нерки *Oncorhynchus nerka* (Walb.) / Г.Н. Маркевич, Е.Г. Ивашкин, Е.Д. Павлов // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. – 2011. – № 5. – С. 619–624.

Марченко, С.Л. Жизненные стратегии тихоокеанских лососей. Сообщение 1. Разнообразие жизненных форм. Известия ТИНРО. – 2023. – Т. 203. – № 4. – С. 770–786.

Методика определения элементного состава природных и питьевых вод методом МС-ИСП. НСАМ № 480-Х. – М.: Ин-т проблем технологии микроэлектроники и особочистых материалов РАН, 1998. – 9 с.

Мешков, М.М. Строение икринок Teleostei (к вопросу о филогении) /М.М. Мешков, О.А. Лебедева // Эколого-морфологические исследования раннего онтогенеза позвоночных. М. – 1984. – С. 62–70.

Мешкова, М.Г. Ихтиофауна озера Большой Виллой / М.Г. Мешкова, Б.П. Смирнов // Материалы IV науч. конф. «Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей». – Петропавловск-Камчатский, 18–19 ноября 2003 г. – С. 71–76.

Моисеенко, Т.И. Водная экотоксикология. Теоретические и прикладные аспекты / Т.И. Моисеенко; Российская акад. наук, Ин-т водных проблем. – Москва: Наука, 2009 – 400 с.

Мурзина, С.А. Показатели липидного обмена у сеголеток атлантического лосося *Salmo salar*, в условиях аквакультуры в южном регионе РФ при разных режимах освещения и кормления / С.А. Мурзина, Д.С. Провоторов, В.П. Воронин [и др.] / Известия Российской академии наук. Серия биологическая. – 2023. – №2. – С. 134–148.

Немова, Н.Н. Особенности белкового метаболизма в скелетных мышцах костистых рыб / Н.Н. Немова, Н.П. Канцерова, Л.А. Лысенко // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2021. – Т. 107, № 6–7. – С. 730–754.

Нормативы качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения. – М.: Всерос. НИИ рыб. хоз-ва и океанол., 2011. – 257 с.

Носарёва, О. Л. Биохимические функции гормонов: учебное пособие / О.Л. Носарёва, Е.А. Степовая, Е.В. Шахристова. – Томск: Изд-во СибГМУ, 2021. – 73 с.

Павлов, Д.А. Лососевые (Биология развития и воспроизводство) / Д.А. Павлов. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 213 с.

Павлов, Д.С. Липидный статус и характер питания молоди лососевых (*Salmonidae*) в год, предшествующий миграции в море, как факторы, определяющие их будущую смолтификацию / Д.С. Павлов, Н.Н. Немова, П.И. Кириллов [и др.] // Вопросы ихтиологии. – 2007. – Т. 47, № 2. – С. 247–252.

Павлов, Д.С. Разнообразие мигрантной жизненной стратегии мальмы *Salvelinus malma* (Walbaum) Камчатки на основе анализа соотношения ионов  $Sr^{2+}/Ca^{2+}$  в отолитах / Д.С. Павлов, М.А. Груздева, К.В. Кузицин [и др.] //

Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей: Материалы XIII международной научной конференции, посвященной 75-летию со дня рождения известного отечественного специалиста в области лесоведения, ботаники и экологии д.б.н. С.А. Дыренкова, Петропавловск-Камчатский, 14–15 ноября 2012 года. – Петропавловск-Камчатский: ООО "Камчатпресс", 2012. – С. 98–101.

Приказ Минсельхоза России от 30.01.2015 г. № 25 «Об утверждении Методики расчёта объёма добычи (вылова) водных биологических ресурсов, необходимого для обеспечения сохранения водных биологических ресурсов и обеспечения деятельности рыболовных хозяйств, при осуществлении рыболовства в целях аквакультуры (рыбоводства)» [Электронный ресурс]. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/420253563> (дата обращения 02.09.2024 г.).

Промысловые рыбы России. В 2 томах / под ред. О.Ф. Гриценко, А.Н. Котляра, Б.Н. Котенева. – Москва: Изд-во ВНИРО, 2006. – Т. 1. – 656 с.

Райт, Р.Х. Наука о запахах / Р.Х. Райт – Пер. с англ. Л.Г. Булавина и Т.А.Никольской. Под ред. Н.П.Наумова. – М.: Мир, 1966. – 224 с.

Рыбы реки Камчатка / В.Ф. Бугаев, Б.Б. Вронский, Л.О. Заварина [и др.]; Камчатский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии. – Петропавловск-Камчатский: Издательство Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Камчатский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии», 2007. – 459 с.  
Бугаев, В.Ф. Азиатская нерка / В.Ф. Бугаев. – М.: Колос, 1995. – 464 с.

Савваитова, К.А. Арктические гольцы (структура популяционных систем, перспективы хозяйственного использования) / К.А. Савваитова. – Москва: Агропромиздат, 1989. – 224 с.

Синяков, С.А. Рыбная промышленность и промысел лососей в сравнении с другими отраслями экономики Дальнего Востока / С.А. Синяков. – Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс, 2006. – 64 с.

Смирнов, А.И. Биология, размножение и развитие тихоокеанских лососей / А.И. Смирнов. – Москва: Изд-во Моск. ун-та, 1975. – 335 с.

Смирнов, Б.П. Осморегуляторные способности молоди кеты *Oncorhynchus keta* при длительном выращивании в пресной воде / Б.П. Смирнов, Л.Б. Кляшторин // Вопросы ихтиологии. – 1989. – Т. 29. – Вып 4. – С. 617–623.

Смирнов, Б.П. Осморегуляторные способности у сеголеток и годовиков кижуча *Oncorhynchus kisutch* / Б.П. Смирнов, О.М. Запорожец // Вопросы ихтиологии. – 1992. – Т. 32. – Вып. 2. – С. 186–189.

Смирнов, Б.П. Ускоренное выращивание смолта–сеголетка чавычи / Б.П. Смирнов, Л.Б. Кляшторин // Рыбное хоз-во. – 1991. – №5. – С. 28–30.

Сорокин, Ю. В. Реакция речной бентофауны на изменение температуры и химизма воды в ходе долговременного эксперимента по сбросу геотермальных вод (р. Фальшивая, Юго-Восточная Камчатка) / Ю. В. Сорокин // Чтения памяти Владимира Яковлевича Леванидова. – 2008. – № 4. – С. 66–75.

Справочник биохимика / Р. Досон, Д. Эллиот, У. Эллиот, К. Джонс; Пер. с англ. В. Л. Друцы, О. Н. Королевой. – Москва: Мир, 1991. – 543 с.

Стыгар, В.М. К биологии кижуча *Oncorhynchus kisutch* Северных Курильских островов. / В.М. Стыгар, Л.С. Ковнат, Е.Н. Ведищева // Промысловобиологические исследования рыб в тихоокеанских водах Курильских островов и прилежащих районах Охотского и Берингова морей в 1992–1998 гг.: Сборник научных трудов. – М.: ВНИРО, 2000. – С. 161–172.

Темных, О.С. Азиатская горбуша в морской период жизни: биология, пространственная дифференциация, место и роль в пелагических сообществах: дис. ... д-ра биол. наук. – Владивосток: ТИНРО-центр, 2004. – 466 с.

Темурьянц, Н.А. Влияние экзогенного мелатонина на развитие внутри- и межвидовой агрессивности крыс при умеренном электромагнитном экранировании / Н.А. Темурьянц, К.Н. Туманянц, Е.Н. Чуян [и др.] // Учёные записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия. – 2016. – 2 (68). – № 1. – С. 97–107.

Тиллер, И.В. Материалы по биологии молоди проходной мальмы р. Хайлюля (Камчатка) / И.В. Тиллер // Чтения памяти Владимира Яковлевича Леванидова. – 2003. – № 2. – С. 469–477.

Токранов, А.М. Где крупнее лососи?: справочное пособие / А.М. Токранов, В.Ф. Бугаев. – Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс, 2011. – 72 с.

Фадеев, Н.С. Справочник по биологии и промыслу рыб северной части Тихого океана / Н.С. Фадеев. – Владивосток: ТИНРО, – 2005. – 366 с.

Физиология рыб. Книга 2. Питание и пищеварение / В.Г. Скопичев, Л.Ю. Карпенко, И.О. Боголюбова [и др.]. – Санкт-Петербург: Квадро, 2017. – 344 с.

Филов, В.А. Вредные химические вещества: неорганические соединения элементов 1-4 групп; справочное издание / А.Л. Бандман, Г.А. Гудзовский, Л.С. Дубейковская; под ред. В.А. Филова. – Ленинград: Химия, 1988. – 512 с.

Хованский, И.Е. Влияние различных факторов на смолтификацию лососевых рыб и разработка методов повышения солеустойчивости молоди / И.Е. Хованский // Сб. науч. трудов Гос. НИИ озер, и реч. рыб. хоз-ва, 1994. – Вып. 308. – С. 185–199.

Черешнев, И.А. Лососевидные рыбы Северо-Востока России / И.А. Черешнев, В.В. Волобуев, А.В. Шестаков, С.В. Фролов. – Владивосток: Дальнаука, 2002. – 496 с.

Шершнева, А.П. Рост молоди кеты и горбуши в ранний морской период жизни / А.П. Шершнева // Изв. ТИНРО. – 1973. – Т.91. – С.37–47.

Шульгина, Е.В. Определение готовности к покатной миграции заводской и дикой молоди кижуча *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum, 1792) / Е.В. Шульгина, Б.П. Смирнов // Труды ВНИРО. – 2015. – Т. 158. – С. 41–47.

Шульгина, Е.В. Оценка готовности к обитанию в морской воде молоди чавычи при её тепловодном подращивании на Малкинском рыбноводном заводе (Камчатка) / Е.В. Шульгина, В.Н. Леман, Е.В. Есин // Труды ВНИРО. – 2023. – Т. 194. – С. 155–164.

Шунтов, В.П. Тихоокеанские лососи в морских и океанических экосистемах: монография / В.П. Шунтов, О.С. Темных; под общ. ред. В.П. Шунтова; Тихоокеанский науч.-исслед. рыбохозяйственный центр (ТИНРО-центр). Т. 1. – Владивосток: ТИНРО-центр, 2008. – 479 с.

Эндокринология: [руководство] / [Р. Ялоу, М. Геффнер, Д. Леви и др.]; под ред. Н. Лавина; пер с. англ. В. И. Кандрора и др.; ред. пер. А.В. Тимофеев]. – [2-е изд.]. – Москва: Практика, 1999. – 1128 с.

Ágústsson, T. Pituitary gene expression of somatolactin, prolactin, and growth hormone during Atlantic salmon parr-smolt transformation / T. Ágústsson, K. Sundell, T. Sakamoto, M. Ando, Björnsson, B.T. // *Aquaculture*. – 2003. – V. 222 (1–4). – P. 229–238.

Alexander, G. The Shift in Visual Pigment Dominance in the Retinae of Juvenile Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*) / G. Alexander, R.M. Sweeting, B. Mckeown. // an Indicator of Smolt Status. *The Journal of experimental biology*. – 1994. – V. 195 (1). – P. 185–197.

Altman, P.L. Growth, including reproduction and morphological development / P.L. Altman, D.S Dittmer. – Washington: Federation of American Societies for Experimental Biology, 1962. – 608 p.

Balon, E. The theory of saltatory ontogeny and life history models revisited / E. Balon // In book: Early life histories of fishes: New developmental, ecological and evolutionary perspectives, 1985. – P. 13–30.

Ban, M. Effects of cortisol and growth hormone on the seawater tolerance of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) / M. Ban // *Bulletin of the National Salmon Resources Center*. – 2002. – № 5. – P. 27–31.

Ban, M. Participation of thyroxine in smoltification of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) / M. Ban // *Bulletin of the National Salmon Resources Center*. – 2004. – № 6. – P. 13–21.

Ban, M. Synergistic effects of thyroxine and cortisol on the seawater tolerance of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) / M. Ban // *Bulletin of the National Salmon Resources Center*. – 2005. – № 7. – P. 117–121.

Barron, M.G. Endocrine control of smoltification in anadromous salmonids / M.G. Barron // *J. Endocrinol.* – 1986. – V. 108. – P. 313–319.

Beckman, B. R. Upstream migration of minijack (age-2) Chinook salmon in the Columbia River: behavior, abundance, distribution, and origin / B.R. Beckman, D.A.

Larsen // Transactions of the American Fisheries Society. – 2005. – V. 134. – P.1520–1541.

Bern, H.A. Endocrinological studies on normal and abnormal salmon smoltification / H.A. Bern // In P.J. Gaillard and H.H. Boer (editors). Comparative endocrinology. Elsevier. North-Holland Biomedical Press. – Amsterdam, 1978. – P. 97–100.

Bernier, N. Repeat sexual maturation of precocious male chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) transferred to seawater / N. Bernier, D.D. Heath, D.J. Randall, D.K. Iwama // Canadian Journal of Zoology. – 1993. – V. 71. – P. 683–688.

Birnie-Gauvin, K. Life history strategies in salmonids: the role of physiology and its consequences / K. Birnie-Gauvin, X. Bordeleau, S.J. Cooke [et al.] // Biol. Rev., 2021. – V. 96. – № 5. – P. 2304–2320.

Björnsson, B.T. Is salmon smoltification an example of vertebrate metamorphosis? Lessons learnt from work on flatfish larval development / B.T. Björnsson, I.E. Einarsdottir, D. Power // Aquaculture. – 2012. – V. 28. – P. 264–272.

Björnsson, B.T. The biology of salmon growth hormone: from daylight to dominance / B.T. Björnsson // Fish Physiol. Biochem. – 1997. – V. 17. – P. 9–24.

Blackburn, J. Revised procedure for the 24 hour seawater challenge test to measure adaptability of juvenile salmonids / J. Blackburn, W.S. Clarke // Canadian technical report of fisheries and aquatic sciences. – 1987. – № 1515. – 35 p.

Blanton, M.L. The hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis in fish and its role in fish development and reproduction / M.L. Blanton, J.L. Specker // CRC Critical Reviews in Toxicology. – 2007. – V. 37. – № 1–2. – P. 97–115.

Boeuf, G. Measurements of gill (Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>)-ATPase activity and plasma thyroid hormones during smoltification in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) / G. Boeuf, P. Prunet // Aquaculture. – 1985. – V. 45 (1–4) – P. 111–119.

Boeuf, G. Salmonid smolting: a pre-adaptation to the oceanic environment / G. Boeuf // In Fish ecophysiology. Springer. – Dordrecht, 1993. – P. 105–135

Boeuf, G. Salmonid smolting: A pre-adaptation to the oceanic environment / G. Boeuf // Fish ecophysiology. – 1993. – P. 105–135.

Bolnick, D.I. Sympatric speciation: models and empirical evidence / D.I. Bolnick, B.M. Fitzpatrick // *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* – 2007. – V. 38. – P. 459–487.

Bouck, G.R. Mortality of experimentally descaled smolts of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) in fresh and salt water / G.R. Bouck, S.D. Smith // *Trans. Amer. Fish. Soc.* – 1979. – V. 108. – P. 67–69.

Breves, J. Prolactin and teleost ionocytes: New insights into cellular and molecular targets of prolactin in vertebrate epithelia / J. Breves, S.D. McCormick, R. Karlstrom // *General and comparative endocrinology.* – 2014. – V. 203. – P. 21–28.

Brown, M.S. The physiology of saltwater acclimation in large juvenile Atlantic salmon *Salmo salar* / M.S. Brown, P.L. Jones, J.J. Tromp [et al.] // *Journal of Fish Biology.* – 2018. – V. 93. – P. 540–549.

Burgner, R.L. Life History of Sockeye Salmon (*Oncorhynchus nerka*) / R.L. Burgner // In *Pacific salmon life histories*. Edited by C. Groot and L. Margolis. University of British Columbia Press. – Vancouver: UBC., 1991. – P. 1–118.

Campinho, M.A. Teleost metamorphosis: The role of thyroid hormone / M.A. Campinho // *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. – 2019. – V. 10. – Art. 383.

Cheng, C.L. Hormone Induces a Time-Dependent Opsin Switch in the Retina of Salmonid Fishes / C.L. Cheng, R.J. Gan, I.N. Flamarique // *Investigative ophthalmology & visual science.* – 2009. – V. 50 (6). – P. 3024–3032.

Clarke, W.C. A seawater challenge test to measure smolting of juvenile salmon / W.C. Clarke, J. Blackburn // *Fish.Mar.Serv.Res.Dev.Tech.Rep.* – 1977. – № 705. – P. 1–11.

Clarke, W.C. Evaluation of seawater challenge test as an index of marine survival / W.C. Clarke, // *Aquaculture.* – 1982 – V.28 – N 1–2 – P. 177–184.

Clarke, W.C. Seawater Challenge Tests Performed on Hatchery Stocks of Chinook and Coho Salmon in 1977 / W.C. Clarke, J. Blackburn // *Fisheries & Marine Service Technical Report № 761.* – 1978. – 25 p.

Cogan, E.B. A robotics-based automated assay for inorganic and organic phosphates / E. Cogan, G.B. Birrell, O.H. Griffith // *Anal. Biochem.* – 1999. – V. 271 (1). – P. 29–35.

Connor, W.P. Two alternative juvenile life history types for fall Chinook salmon in the Snake River basin / W.P. Connor, J.G. Sneva, K.F. Tiffan [et al.] // Transactions of the American Fisheries Society. – 2005. – V. 134. – P. 291–304.

Conte, F.P. Development of osmotic and ionic regulation in juvenile coho salmon *Oncorhynchus kisutch* / F.P. Conte, H.H. Wagner, J. Fessler, C. Gnose // Comp. Biochem. Physiol. – 1966. – V. 18. – P. 1–15.

Conte, F.P. Development of osmotic and ionic regulation in juvenile steelhead trout *Salmo gairdneri* / F.P. Conte, H.H. Wagner // Comparative Biochemistry and Physiology. – 1965. – V. 14. – P. 603–620.

D’Cotta, H. Synthesis of gill Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase in Atlantic salmon smolts: differences in -mRNA and -protein levels / H. D’Cotta, C. Valotaire, F. Le Gac, P. Prunet // Am. J. Physiol. – 2000. – V. 278. – P. 101–110.

Deal, C.K. The Role of the Thyroid Axis in Fish / C.K. Deal, H. Volkoff // Frontiers in Endocrinology. – 2020. – V. 11. – Article 596585.

Denver, R.J. Proximate mechanisms of phenotypic plasticity in amphibian metamorphosis // Am. Zool. – 1997. – V. 37. – P. 172–184.

Dickhoff, W.W. Fish and amphibian models for developmental endocrinology / W.W. Dickhoff, C.L. Brown, C.V. Sullivan, H.A. Bern, // The Journal of Experimental Zoology. – 1990. – V. 256. – P. 90–97.

Dickhoff, W.W. Involvement of the thyroid gland in smoltification, with special reference to metabolic and developmental processes / W.W. Dickhoff, C. Sullivan // Amer. Fish. Soc. Symp. – 1987. – V. 1. – P. 197–210.

Dickhoff, W.W. Methods of measuring and controlling the par to smolt transformation (smoltification) of juvenile salmon / W.W. Dickhoff, C. Sullivan, C.V.W. Mahnken // Proc. 11th Amer.–Jpn. Meet. Aquaculture, Salmon Enhancement. NOAA Tech. Rept. NMFS, 1985. – № 27. – P. 5–9.

Discovering Kamchatka: Terrestrial and aquatic fauna. The Royal Geographical Society, 2008.

Dodd, J.M. Comparative aspects of thyroid function / J.M. Dodd, A.J. Matty // In: R. Pitt-Rivers and W.R. Trotter (eds.), *Thyroid gland*, – London: Butterworths, 1964. – V. 1. – P. 303–356.

Duston, J. Effects of increases in freshwater temperature on loss of smolt characteristics in Atlantic salmon (*Salmo salar*) / J. Duston, R.L. Saunders, D.E. Knox // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* – 1991. – V. 48. – P. 164–169.

Eales, J.G. Measurement and regulation of thyroidal status in teleost fish / J.G. Eales, S.B. Brown. // *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. – 1993. – V. 3. – P. 299–347.

Ebbesson, L.O.E. Neural circuits and their structural and chemical reorganization in the lightbrain-pituitary axis during parr-smolt transformation in salmon / L.O.E. Ebbesson, P. Ekstrom, S.O.E. Ebbesson [et al.] // *Aquaculture*. – 2003. – V. 222. – P. 59–70.

Edwards, S.L. Principles and patterns of osmoregulation and euryhalinity in fishes / S.L. Edwards, W.S. Marshall // *Fish Physiology*. – 2013. – V. 32. – P. 1–44.

Eliason, E.J. Oxygen uptake in Pacific salmon *Oncorhynchus* spp.: When ecology and physiology meet / E.J. Eliason, A.P. Farrell // *Journal of Fish Biology*. – 2015. – Special Issue.

Ellman, G.L. Tissue sulfhydryl groups / G.L. Ellman // *Archives of Biochemistry and Biophysics journal*. – Elsevier, 1959. – V. 82 (1). – P. 70–77.

Elson, P.F. The Importance of Size in the Change from Parr to Smolt in Atlantic Salmon / P.F. Elson // *Can. Fish Cult.* – 1957. – V. 21. – P. 1–6.

Esin E.V. Interaction among morphological, trophic and genetic groups in the rapidly radiating *Salvelinus* fishes from Lake Kronotskoe / E.V. Esin, E.S. Bocharova, E.A. Borisova, G.N. Markevich // *Evolutionary Ecology*. – 2020. – V. 34. – P. 611–632.

Esin, E.V. Natural toxic impact and thyroid signaling interplay orchestrates riverine adaptive divergence of salmonid fish / E.V. Esin, G.N. Markevich, N.O. Melnik [et al.] // *J. Anim. Ecol.* – 2021. – V. 90 (4). – P. 1004–1019.

Esin, E.V. On the Dolly Varden's *Salvelinus malma* (Salmonidae) biology in Kamchatkan spawning rivers of the volcanic areas / E.V. Esin // Journal of Ichthyology. – 2017. – V. 57 (2). – P. 265–275.

Esin, E.V. Stream resident Dolly Varden *Salvelinus malma* of Kamchatka Peninsula / E.V. Esin // Journal of Ichthyology. – 2015. – V. 55. – № 2. – P. 224–239.

Esin, E.V. Sympatric Diversification of Dolly Varden *Salvelinus malma* (Salmonidae) in an Extremely Small Ecosystem / E.V. Esin, N.O. Mel'nik, F.N. Shkil' [et al.] // Journal of Ichthyology. – 2019. – V. 59, No. 6. – P. 958–961.

Esin, E.V. Unspecific histological and hematological alterations in anadromous and resident *Salvelinus malma* induced by volcanogenic pollution / E.V. Esin, A.I. Nikiforova, E.V. Shulgina [et al.] // Hydrobiologia. – 2018. – V. 822. – P. 237–257.

Ewing, R.D. Criteria for parr-smolt transformation in juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) / R.D. Ewing, E.K. Birks // Aquaculture. – 2018. – V. 28. P. 185–194.

Eyckmans, M. Exposure to waterborne copper reveals differences in oxidative stress response in three freshwater fish species / M. Eyckmans, N. Celis, N. Horemans [et al.] // Aquat. Toxicol. – 2011. – V. 103 (1–2) – P. 112–120.

Eyckmans, M. Exposure to waterborne copper reveals differences in oxidative stress response in three freshwater fish species / M. Eyckmans, N. Celis, N. Horemans [et al.] // Aquat. Toxicol. — 2011. — V. 103. — P. 112–120.

Falcon, J. Photoperiodism in fish / J. Falcon, Y. Zohar // In: M. Skinner (Eds.), Encyclopedia of reproduction; 2nd edn. Oxford: Academic Press, 2018. – P. 400–408.

Farmer, G.J. Seawater adaptation and parr-smolt transformation of juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar* / G.J. Farmer, J.A. Ritter, D. Ashfield // J. Fish. Res. Bd Can. – 1978. – V.35 – P. 93–100.

Finstad, D. Factors influencing the yield of smolt releases in Norway / D. Finstad, N. Jonsson // Nordic Journal of Freshwater Research. – 2001. – V. 75. – P. 37–55.

Flamarique, I.N. Foraging and prey-search behaviour of small juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under polarized light / I.N. Flamarique, H. Browman // The Journal of experimental biology. – 2001. – V. 204 (14). – P. 2415–2422.

Folch, J. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues / J. Folch, M. Lees, G.H. Sloan-Stanley // J. Biol. Chem. – 1957. – V. 226. – № 1. – P. 497–509.

Folmar, L.C. Evaluation of some physiological parameters as predictive indices of smoltification / L.C. Folmar, W.W. Dickhoff // Aquaculture. – 1981. – V. 23 (1–4). – P. 309–324.

Folmar, L.C. Some physiological changes during smoltification of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) / L.C. Folmar, W.W. Dickhoff // Am. Zool. – 1978. – V.18 – P. 606.

Folmar, L.C. Stunting and parr-reversion during smoltification of coho salmon *Oncorhynchus kisutch* / L.C. Folmar, W.W. Dickhoff, C.V.W. Mahnken, F.W. Waknitz // Aquaculture. – 1982. – V. 28. – P. 91–104.

Folmar, L.C. The parr-smolt transformation (smoltification) and seawater adaptation in salmonids – a review of selected literature / L.C. Folmar, W.W. Dickhoff // Aquaculture. – 1980. – V. 21. – № 1. – P. 1–37.

Fontaine, M. Du determinisme physiologique des migrations / M. Fontaine // Biol. Rev. – 1954. – V. 29. – P. 390–418.

Fontaine, M. Variations de la teneur du foie en glycogène chez jeune salmon (*Salmo salar* L.) au cours de la "smoltification" / M. Fontaine, J. Hatey // Compt. Rend. Soc. Biol. Paris. – 1950. – V.144 – P. 953–955.

Gairin, E. Harbours as unique environmental sites of multiple anthropogenic stresses on fish hormonal systems / E. Gairin, M. Dussenne, M. Mercader [et al.] // Mol. Cell. Endocrinol. – 2022. – V. 555. – Article 111727.

Goth, L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range / L. Goth // Clin. Chimica Acta. – 1991. – V. 196. – P. 143–152.

Groot, C. Pacific salmon life histories / C. Groot, L. Margolis. – Vancouver: UBC Press, 1991. – 564 p.

Gustafson, R.G. Status review of sockeye salmon from Washington and Oregon / R.G. Gustafson, T.C. Wainwright, G.A. Winans [et al.] // U.S. Dept. Commer., NOAA Tech. Memo. NMFS–NWFSC, 1997 – 33. – 282 p.

Hasler, A.D. Olfactory imprinting and homing in salmon: investigations into the mechanism of the imprinting process / A.D. Hasler, A.T. Scholz – N.Y.: Springer-Verlag, 1983. – 137 p.

Healey, M.C. Life history of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) / M.C. Healey // In: Margolis C, Groot L, editors. Pacific salmon life histories. Vancouver, BC: University of British Columbia Press., 1991. – P. 311–394.

Heifetz, J. Migration timing, size and salinity tolerance of sea\_type sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) in an Alaska estuary / J. Heifetz, S.W. Johnson, K.V. Koski, M.L. Murphy // Can. J. Fish. Aquat. Sci. – 1989. – V. 46. – № 4. P. – 633–637.

Henderson, M.A. Effect of smolt size on smolt-to-adult survival of Chilko Lake sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) / M.A. Henderson, A.J. Cass // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. – 1991. – V. 48. – P. 988–994.

Hoar, W.S. Control and timing of fish migration / W.S. Hoar // Biol. Rev. – 1953. – V. 28. – P. 437–452.

Hoar, W.S. Smolt transformation: evolution, behavior and physiology /W.S. Hoar// Journal of the fisheries research board of Canada. – 1976 – V. 33. – P. 1234–1252.

Hoar, W.S. The endocrine system as a chemical link between the organism and its environment / W.S. Hoar // Transactions of the Royal Society of Canada. – 1965. – V. 3. – P. 175–200.

Hoar, W.S. The physiology of smolting salmonids / W.S. Hoar // Fish physiology. – 1988. –V. XIB. – P. 275–343.

Hochachka, P.W. Biochemical adaptation: Mechanism and process in physiological evolution / P.W. Hochachka, G.N. Somero. – New York: Oxford University Press, 2002. – 466 p.

Høgåsen, H.R. Physiological Changes Associated with the Diadromous Migration of Salmonids / H.R. Høgåsen // Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences; 127: Ottawa: NRC Research Press, 1998. – 128 p.

Holzer, G. Fish larval recruitment to reefs is a thyroid hormone-mediated metamorphosis sensitive to the pesticide chlorpyrifos / Holzer G., Besson M., Lambert A. [et al.] // Elife. – 2017. – e27595.

IGFA, 2001. Database of IGFA angling records until 2001. IGFA, Fort Lauderdale, USA.

Ikuta, K. Effects of thyroxine and methyltestosterone on smoltification of masu salmon (*Oncorhynchus masou*) / K. Ikuta, K. Aida, N. Okumoto, I. Hanyu // Aquaculture. – 1985. – V. 45. – Iss. 1–4. – P. 289–303.

Iwata, M. Effects of thyroid hormones on phototaxis of chum and coho salmon juveniles / M. Iwata, Y. Takeshi, T. Masatomo [et al.] // Aquaculture. – 1989. – 82 (1–4). – P. 329–338.

Johnson, J. Defining life histories of precocious male parr, minijack, and jack Chinook salmon using scale patterns / J. Johnson, T. Johnson, T. Copeland // Trans. Am. Fish. Soc. – 2012. – V. 141 (6). – P. 1545–1556.

Johnston, C. Parr-smolt transformation of yearling Atlantic salmon (*Salmo salar*) at several rearing temperatures / C. Johnston, R. Saunders // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. – 1981. – V. 38. – P. 1189–1198.

Kitano, J. Adaptive divergence in the thyroid hormone signaling pathway in the stickleback radiation / J. Kitano, S.C. Lema, J.A. Luckenbach [et al.] // Current Biology. – 2010. – V. 20 (23). – P. 2124–2130.

Klemetsen, A. The most variable vertebrate on Earth / A. Klemetsen // J. Ichthyol. – 2013 – V. 53 (10). – P. 781–791.

Knicht, J.A. Chemical basis of the sulfo-phospho-vanillin reaction for estimating total serum lipids / J.A. Knicht, S. Anderson, J.M. Rawle // Clin. Chem. – 1972. – V. 18. – № 3. – P. 199–202.

Knutsson, S. Seawater adaptation in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) at different experimental temperatures and photoperiods / S. Knutsson, T. Grav // *Aquaculture*. – 1976. – V.8 – P. 169–187.

Koenings, J.P. Smolt-to-adult survival patterns of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*): Effects of smolt length and geographic latitude when entering the sea / J.P. Koenings, H.J. Geiger, J.J. Hasbrouck // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* – 1993. – V. 50. – P. 600–611.

Kristjánsson, B.K. Fine-scale parallel patterns in diversity of small benthic Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) in relation to the ecology of lava/groundwater habitats / B.K. Kristjánsson, S. Skúlason, S.S. Snorrason, D.L.G. Noakes // *Ecology and Evolution*. - 2012. – V. 2 (6). – 1099–1112.

Kudo, H. Detection of thyroid hormone receptors in the olfactory system of brain of wild masu salmon, *Oncorhynchus masou* (Brevoort), during smolting by in vitro autoradiography / H. Kudo, Y. Tsuneyoshi, M. Nagae, H. Uedo // *Aquacult. Fish. Manag.* – 1994. – V. 25 (2). – P. 171–182.

Kudo, H. Ultrastructural demonstration of salmon-type gonadotropin-releasing hormone (sGnRH) in the olfactory system of masu salmon (*Oncorhynchus masou*) / H. Kudo, H. Ueda, H. Kawamura [et al.] // *Neurosci Lett.* – 1994. – V. 166. – P. 187–190.

Langdon, J.S. Effects of cortisol and ACTH on gill Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, SDH and chloride cells in juvenile Atlantic salmon *Salmo salar* L. / J.S.Langdon, J.E. Thorpe, R.J Roberts // *Comp. Biochem. Physiol.* – 1984. – V. 77A – P. 9–12.

Langdon, J.S. The ontogeny of smoltification: developmental patterns of gill Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, SDH, and chloride cells in juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar* L. / J.S.Langdon, J.E. Thorpe // *Aquaculture*. – 1985. – V.45 – № 1–4 – P. 83–95.

Larsen, D.A. Assessment of high rates of precocious male maturation in a spring Chinook salmon supplementation hatchery program / D.A. Larsen, B.R. Beckman, K.A. Cooper // *Transactions of the American Fisheries Society*. – 2004. – V. 133. – P. 98–120.

Lema, S.C. Exogenous vasotocin alters aggression during agonistic exchanges in male Amargosa River pupfish (*Cyprinodon nevadensis amargosae*) / S.C. Lema, G.A. Nevitt // *Horm. Behav.* – 2004. – V. 46. – P. 628–637.

Lema, S.C. Hormones and phenotypic plasticity in an ecological context: linking physiological mechanisms to evolutionary processes / S.C. Lema // *Integr. Comp. Biol.* – 2014. – V. 54. – P. 850–863.

Lema, S.C. Hormones, developmental plasticity, and adaptive evolution: endocrine flexibility as a catalyst for “plasticity-first” phenotypic divergence / S.C. Lema // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2020. – V. 502. – Article 110678.

Lorgen, M. Functional divergence of type 2 deiodinase paralogues in the Atlantic salmon / M. Lorgen, E. Casadei, E. Krol [et al.] // *Curr. Biol.* – 2015. – V. 25 (7). – P. 936–941.

Lushchak, V.I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. / V.I. Lushchak // *Aquatic toxicology.* – 2011. – V. 101 № 1 – P. 13–30.

Markevich, G.N. Evolution of the Charrs, Genus *Salvelinus* (Salmonidae). 2. Sympatric Inner-lake Diversification (Ecological Peculiarities and Evolutionary Mechanisms Illustrated by Different Groups of Fish) / G.N. Markevich, E.V. Esin // *Journal of Ichthyology.* – 2018. – V. 58, No. 3. – P. 333–352.

Mathews, S.B. Marine mortality of Puget Sound coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) / S.B. Mathews, R. Buckley // *Journal of the Fisheries Research Board of Canada.* – 1976. – V. 33. – P. 1677–1684.

Mathews, S.B. Marine Mortality of Puget Sound Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*). / S.B. Mathews, R. Buckley // *Journal of the Fisheries Research Board of Canada.* – 2011. – V.33. – P. 1677–1684.

Mayer, I. Plasma-levels of insulin and liverglycogen contents in one-year and 2-year old Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) during the period of parr–smolt transformation / I. Mayer, B.org, E.M. Plisetskaya // *Fish Physiol. Biochem.* – 1994. – V. 13. – P. 191–197.

McCormick, S. D. Smolt physiology and endocrinology / S.D. McCormick // *Fish physiology.* – 2012. – V. 32. – P. 199–251.

McCormick, S. D. Smolt physiology and endocrinology / S.D. McCormick // In Euryhaline Fishes (eds McCormick, S. D., Farrell, A. P. & Brauner, C. J.): Academic Press, 2013. – P. 199–251.

McCormick, S. D. The evolutionary consequences for seawater performance and its hormonal control when anadromous Atlantic salmon become landlocked / S.D. McCormick, A.M. Regish, W.R. Ardren // scientific reports, 2019, V. 9 (1). – P. 968–976.

McCormick, S.D. Differential regulation of sodium-potassium pump isoforms during smolt development and seawater exposure of Atlantic salmon / S.D. McCormick, A.M. Regish, A.K. Christensen, B.T. Björnsson // J. Exp. Biol. – 2013. – V. 216. – P. 1142–1151.

McCormick, S.D. Effects of growth hormone and insulin-like growth factor I on salinity tolerance and gill Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase in Atlantic salmon (*Salmo salar*): interaction with cortisol / S.D. McCormick // General and comparative endocrinology. – 1996. – V. 101. – P. 3–11.

McCormick, S.D. Endocrine control of osmoregulation in teleost fish / S.D. McCormick // Am. Zool. – 2001. – V. 41. – P. 781–794.

McCormick, S.D. Evolution of the hormonal control of animal performance: insights from the seaward migration of salmon /S.D. McCormick // Integr. Comp. Biol. – 2009. – V. 49. – P. 408–422.

McCormick, S.D. Increased daylength stimulates plasma growth hormone and gill Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase in Atlantic salmon (*Salmo salar*) / McCormick, S.D., Björnsson BTh, Sheridan M. [et al.] // J Comp Physiol B. –1995. – V. 165 (4) – P. 245–254.

McCormick, S.D. Methods for nonlethal gill biopsy and measurement of Na, K-ATPase activity / S.D. McCormick // Can. Fish. Aquat. Sci. – 1993. – V.50. – P. 656–658.

McCormick, S.D. Movement, migration, and smolting of Atlantic salmon (*Salmo salar*) / S.D. McCormick, L.P. Hansen, T.P. Quinn, R.L. Saunders // Canadian Journal of Fisheries & Aquatic Sciences. – 1998. – V. 55. – P. 77–92.

McCormick, S.D. Temperature effects on osmoregulatory physiology of juvenile anadromous fish / S.D. McCormick, J.M. Shrimpton, J.D. Zydlewski // In C.M. Wood and D.G. McDonald, editors. *Global warming: implications for freshwater and marine fish*. Cambridge University Press, 1997. – P. 279–301.

McLeese, J.M. Seasonal changes in osmoregulation, cortisol, and cortisol receptor activity in the gills of parr/smolt of steelhead trout and steelhead-rainbow trout hybrids, *Oncorhynchus mykiss* / J.M. McLeese, J. Johnsson, F.M. Huntley [et al.] // *General and comparative endocrinology*. – 1994. – V. 93. – P. 103–113.

Mcmenamin, S. Metamorphosis in Teleosts / S. Mcmenamin, D. Parichy // *Current topics in developmental biology*. – 2013. – V. 103. – P. 127–165.

Mecklenburg, C.W. *Fishes of Alaska* / C.W. Mecklenburg, T.A. Mecklenburg, L.K. Thorsteinson. – American Fisheries Society: Bethesda. Maryland, 2002. – 1037 p.

Migaud, H. Current knowledge on the photoneuroendocrine regulation of reproduction in temperate fish species / H. Migaud, A. Davie, J.F. Taylor // *J Fish Biol.* – 2010. – V. 76. – P. 27–68.

Miwa, S. Effects of L-thyroxine and ovine growth hormone on smoltification of amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*) / S. Miwa, Y. Inui // *Gen Comp Endocrinol.* – 1985. – V. 58. – P. 436–442.

Miwa, S. Effects of thyroxine and thiourea on the parr-smolt transformation of amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*) / S. Miwa, Y. Inui // *Bulletin of the National research institute of aquaculture*. – 1983. – V. 4. – P. 41–52.

Moore, A. The effects of a small hydropower scheme on the migratory behaviour of Atlantic salmon *Salmo salar* smolts / A. Moore, L. Privitera, M.J. Ives [et al] // *Journal of fish Biology*. – 2018. – V. 93. – P. 469–476.

Morera, F.J. Role of ion channels in salt secretion by Atlantic salmon gills during acclimation to seawater / F.J. Morera, D. Baez-Nieto, Y. Lorenzo-Ceballos // *Physiological Mini-Reviews*. – 2015. – V. 8 (1). – P. 1–11.

Nagahama, Y. Some endocrine factors affecting the development of seawater tolerance during parr-smolt transformation of the amago salmon (*Oncorhynchus*

*rhodurus*) / Y. Nagahama, S. Adachi, F. Tashiro, E.G. Grau // *Aquaculture*. – 1982. – V. 28. – P. 81–91.

Nelson, A.J.D. Anterior thalamic nuclei, but not retrosplenial cortex, lesions abolish latent inhibition in rats / A.J.D. Nelson, A.L. Powell, L. Kinnavane, J.P. Aggleton // *Behavioral Neuroscience*. – 2018. – 132(5). – P. 378–387.

Nevitt, G.A. A new model for olfactory imprinting in salmon / G.A. Nevitt, A.H. Dittman // *Integr. Biol.* – 1999. – V. 1. – P. 215–223.

Nevitt, G.A. Evidence for a peripheral olfactory memory in imprinted salmon / G.A. Nevitt, A.H. Dittman, T.P. Quinn, W.J. Moody // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 1994. – V. 91. – P. 4288–4292.

Nisembaum, L.G. Melatonin and osmoregulation in fish: A focus on Atlantic salmon *Salmo salar* smoltification / L.G. Nisembaum, P. Martin, F. Lecomte, J. Falcón // *J. Neuroendocrinol.* – 2021 – V. 33 (3) – e12955.

Ojima D. The relationship between thyroxine surge and onset of downstream migration in chum salmon *Oncorhynchus keta* fry / D. Ojima, M. Iwata // *Aquaculture*. – 2007. – V. 273 (2–3) – P. 185–193.

Olsson P.-E. Mechanisms of heavy metal accumulation and toxicity in fish / P.-E. Olsson, P. Kling, C. Hogstrand // *Metal metabolism in aquatic environments*. Boston: Springer. – 1998. – P. 321–350.

Østbye K. “And if you gaze long into an abyss, the abyss gazes also into thee”: four morphs of Arctic charr adapting to a depth-gradient in Lake Tinnsjøen / K. Østbye, M.H. Hassve, A.-M.T. Peris Tamayo [et al.] // *Evol. Appl.* – 2020. – V. 13 (6). – P. 1240–1261.

Patiño, R. Sexual dimorphism of plasma sex steroid levels in juvenile coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, during smoltification / R. Patiño, C.B. Schreck // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 1986. – V. 61. – P. 127–133.

Pichugin, M. Yu. “New Data on the Trout *Salvelinus leucomaenis* and Its Relationships with Dolly Varden Trout *S. malma* curilisin Fresh Waters of the Southern Kuril Islands” / M.Yu. Pichugin, L.K. Sidorov, O.F. Gritsenko // *Vopr. Ikhtiol.* – 2006. – V. 46 (3). – P. 356–369.

Plisetskaya, E.M. Isolation and structure of adult lamprey (*Petromyzon marinus*) insulin / E.M. Plisetskaya, P.C.Andrews, H.G. Pollock [et al.] // Gen. Comp. Endocrinol. – 1988. – P. 6946–6955.

Prunet, P. Plasma prolactin levels during smolting in Atlantic salmon, *Salmo salar* / P. Prunet, G. Boeuf // Aquaculture. – 1989. – V. 82. – P. 297–305.

Prunet, P. Smoltification and seawater adaptation in Atlantic salmon (*Salmo salar*): plasma prolactin, growth hormone, and thyroid hormones / P. Prunet, G. Boeuf, J.P. Bolton, G. Young // Gen Comp Endocr. – 1989. – V. 74 (3). – P. 355–364.

Randall, C.F. Melatonin rhythms in Atlantic salmon (*Salmo salar*) Randall, C.F., Bromage, N., Thorpe, J., Miles, M., Muir, J. maintained under natural and out-of-phase seasonal photoperiods / C.F. Randall, N. Bromage, J. Thorpe [et al.] // Gen Comp Endocrinol. – 1995. – V. 98. – P. 73–87.

Rice, S.D. Physiological and growth differences in three stocks of underyearling sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) on early entry into seawater / S.D. Rice, R.E. Thomas, A. Moles // Can. J. Fish. Aquat. Sci. – 1994. – V. 51. – P. 974–980.

Richman III, N.H. Effects of cortisol and growth hormone on osmoregulation in pre- and desmoltified coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) / N.H. Richman III, W.S. Zaugg // General and comparative endocrinology. – 1987. – V. 65. – P. 189–198.

Robertson, O.H. Production of the silvery smolt stage in rainbow trout by intramuscular injection of mammalian thyroid extract and thyrotropic hormone / O.H. Robertson // J.exp.Zool. – 1948. – V. 110 – P. 337–355.

Rousseau, K. Salmonid Secondary Metamorphosis: Smoltification / K. Rousseau, P. Martin, G. Boeuf, S. Dufour // CRC Press. – 2012. – P. 167–215.

Sakamoto, T. Prolactin and growth hormone in fish osmoregulation / T. Sakamoto, S.D. McCormick // General and Comparative Endocrinology. – 2006. – V. 147. – P. 24–30.

Salisbury, S.J. Genetic causes and consequences of sympatric morph divergence in Salmonidae: a search for mechanisms / S.J. Salisbury, D.E. Ruzzante // Annu. Rev. Anim. Biosci. – 2022. – V. 10. P. 81–106.

Sandercock, F.K. Life history of Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*) / F.K. Sandercock // In Pacific Salmon Life Histories. Edited by C. Groot and L. Margolis. UBC Press. – Vancouver, BC., 1991. – P. 397–445.

Saunders, R.L. Precocious sexual maturation and smoltification in male Atlantic salmon (*Salmo salar*) / R.L. Saunders, E.B. Henderson, B.D. Glebe // Aquaculture. – 1982. – V. 28. – P. 211–229.

Schlenk, D. Biomarkers / D. Schlenk, R. Handy, S. Steinert [et al.] // in The toxicology of fishes. Eds. Di Giulio R. T., Hinton D. E. – Boca: CRC Press, 2008. – P. 683–731.

Schluter, D. The ecology of adaptive radiation / D. Schluter. – Oxford: OUP, 2000. – 296 p.

Scott, W.B. Freshwater fishes of Canada / W.B. Scott, E.J. Crossman // Fish. Res. Board Can. Bull. – 1973. – V. 184. – 966 p.

Seear, P.J. Differential gene expression during smoltification of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): A first large-scale microarray study / P.J. Seear, S.N. Carmichael, R. Talbot [et al.] // Marine Biotechnology. – 2010. – V. 12 (2). – P. 126–140.

Seehausen O. Speciation in freshwater fishes / O. Seehausen, C.E. Wagner // Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. – 2014. – V. 45. – P. 621–651.

Seidelin, M. Effects of insulin-like growth factor-I and cortisol on Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase expression in osmoregulatory tissues of Brown trout, *Salmo trutta* / M. Seidelin, S.S. Madsen, A. Bryjalsen, K. Kristiansen // General and comparative endocrinology. – 1999. – V. 113. – P. 331–342.

Shrimpton, J.M. Seasonal differences in plasma cortisol and gill corticosteroid receptors in upper and lower mode juvenile Atlantic salmon / J.M. Shrimpton, S.D. McCormick / J.M. Shrimpton, S.D. McCormick // Aquaculture. – 1998. – V. 168. – P. 205–219.

Skúlason, S. A way forward with eco evo devo: an extended theory of resource polymorphism with postglacial fishes as model systems / S. Skúlason, K.J. Parsons, R. Svanbäck [et al.] // Biol. Rev. – 2019. – V. 94 (5). – P. 1786–1808.

Smith, R. Migration timing and marine space use of an anadromous Arctic fish (Arctic Char, *Salvelinus alpinus*) revealed by local spatial statistics and network analysis / R. Smith, E. Hitkolok, T. Loewen, [et al.] // *Mov Ecol.* – 2024. – V. 12 (12).

Sower, A.S. Changes in plasma thyroxine, estradiol-7b, and 17a,20b-dihydroxy-4-pregnen-3-one during smoltification of coho salmon / A.S. Sower, K.H. Karlson, R.S. Fawcett // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 1992. – V. 85. – P. 278–285.

Soyano, K. Effects of orally administered thyroid powder on seawater adaptability in hatchery-reared underyearling masu salmon (*Oncorhynchus masou*) smolt / K. Soyano, H. Yamada, M. Tateno // *Bulletin of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University.* – 1988. – V. 39. – P. 86–95. (In Japanese with English summary).

Specker, J.L. Interrenal function and smoltification / J.L. Specker // *Aquaculture*, 1982. – V. 28. – P. 59–66.

Stefansson, S.O. Changes in seawater tolerance and gill Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase activity during desmoltification in Atlantic salmon kept in freshwater at different temperatures / S.O. Stefansson, Å.I. Berge, G.S. Gunnarsson // *Aquaculture.* – 1998. – V. 168 (1–4). P. 271–277.

Stefansson, S.O. Smoltification / S.O. Stefansson, B.T. Björnsson, L.O.E. Ebbesson, S.D. McCormick // *Fish Larval Physiology.* – 2008. – P. 639–681.

Stefansson, S.O. The effect of spectral composition on growth and smolting in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and subsequent growth in sea cages / S.O. Stefansson, T. Hansen // *Aquaculture.* – 1989. – V. 82. P. 155–162.

Sullivan, C.V. Changes in the hemoglobin system of the coho salmon *Oncorhynchus kisutch* during smoltification and triiodothyronine and propylthiouracil treatment / S.V. Sullivan, W.W. Dickhoff, C.V.W. Mahnken, W.K. Hersberger // *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Physiology.* – 1985. – V. 81 (4). – P. 807–813.

Takayama, M. A new enzymatic method for determination of serum choline-containing phospholipids / M. Takayama, S. Itoh, T. Nagasaki, I. Tanimizu // *Clin. Chem. Acta.* – 1977. – V. 79. – P. 93–98.

Taylor, E.B. Precocial male maturation in laboratory-reared populations of chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha* / E.B. Taylor // Canadian Journal of Zoology. – 1989 – V. 67 (7). – P. 1665–1669.

Taylor, E.B. Variation in body morphology among British Columbia populations of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* / E.B. Taylor, J.D. McPhail // Can. J. Fish. Aquat. Sci. – 1985. – V. 42 (12). – P. 2020–2028.

Thorpe J.E. Diel and seasonal changes in resting plasma cortisol levels in juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar* L. / J.E. Thorpe, M.G. McConway, M.S. Miles, J.S. Muir // General and comparative endocrinology. – 1987. – V. 65. – P. 19–22.

Thorpe J.E. Downstream movements of juvenile salmonids: a forward speculative view / J.E. Thorpe // In: Mechanisms of Migration in Fishes (ed. by J.D. McCleave, G.P. Arnold, J.J. Dodson, W.H. Ncill). – 1984. – P. 387–396.

Thorpe J.E. Modelling the proximate basis of salmonid life-history variation, with application to Atlantic salmon, *Salmo salar* L. / J.E. Thorpe, M. Mangel, N.B. Metcalfe, F.A. Huntingford // Evol. Ecology. – 1998. – V. 12. – P. 581–599.

Tipsmark, C.K. Claudin-15 and -25b expression in the intestinal tract of Atlantic salmon in response to seawater acclimation, smoltification and hormone treatment / C.K. Tipsmark, K.J. Sørensen, K. Hulgard, S.S. Madsen // Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular & integrative physiology. – 2010. – V. 155 (3). – P. 361–370.

Torstensen B.E. Replacing dietary fish oil with increasing levels of rapeseed oil and olive oil—effects on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) tissue and lipoprotein lipid composition and lipogenic enzyme activities / B.E. Torstensen, L. Froyland, O. Lie // Aquac Nutr. – 2004. – V. 10 – P. 175–92.

Tsiger V.V. Life history form of male masu salmon (*Oncorhynchus masu*) in South Primore Russia / V.V. Tsiger, V.I. Skirin, N.I. Krupyanko [et al.] // Can. J. Fish. Aquat. Sci. – 1994. – V. 51. – P. 197–208.

Uchida, K. Localization of cortisol receptor in branchial chloride cells in chum salmon fry / K. Uchida, T. Kaneko, M. Tagawa, T. Hirano // General and comparative endocrinology – 1998. – V. 109. – P. 175–185.

Unwin, M.J. Exceptions to semelparity: postmaturation survival, morphology, and energetics of male chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) / M.J. Unwin, M.T. Kinnison, T.P. Quinn // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. – 1999. – V. 56 (7). – P. 1172–1181.

Watson R.A. Evolutionary connectionism: algorithmic principles underlying the evolution of biological organisation in evo-devo, evo-eco and evolutionary transitions / R.A. Watson, R. Mills, C.L. Buckley [et al.] // Evol. Biol. – 2016 – V. 43 (4). – P. 553–581.

Wedemeyer, G.A. Environmental factors affecting smoltification and early marine survival of anadromous salmonids / G.A. Wedemeyer, R.L. Saunders, W.C. Clarke // Marine Fish Review. – 1980. – V. 42 (6). – P. 1–14.

Wendt, C. Changes in carbohydrate metabolism in young Atlantic salmon in response to various forms of stress / C. Wendt, R.L. Saunders // Int. Atl. Salmon Found. Spec. Publ. Ser. – 1973. – №4 – P. 55–82.

Winans, G.A. A multivariate description of change in body shape of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) during smoltification / G.A. Winans, R.S. Nishioka // Aquaculture. – 1987. – V. 66. – P. 235–245.

Wollenberg, V.K.S. Patterns, mechanisms and genetics of speciation in reptiles and amphibians / V.K.C. Wollenberg, J.C. Marshall, E. Bastiaans [et al.] // Genes. 2019. – V. 10. – № 9. – Article 646.

Yamada, H. Serum thyroxine, estradiol-17b, and testosterone profiles during the parr-smolt transformation of masu salmon, *Oncorhynchus masou* / H. Yamada, H. Ohta, K. Yamauchi // Fish Physiol. Biochem. – 1993. – V. 12. – P. 1–9.

Zaugg, W.S. A simplified preparation for adenosine triphosphatase determination in gill tissue / W.S. Zaugg // Can. J. Fish. Aquat. Sci. – 1982. V. 39. – P. 215–217.

Zaugg, W.S. Changes in blood levels of nucleoside triphosphates, hemoglobin, and hematocrits during parr-smolt transformation of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) / W.S. Zaugg, L.R. McLain // Comp. Biochem. Physiol. – 1986. – V. 84A (3). – P. 487–493.

Zaugg, W.S. Some changes in smoltification and seawater adaptability of salmonids resulting from environmental and other factors / W.S. Zaugg // *Aquaculture*. – 1982. – V. 28. P. 143–151.

Zydlewski J. Descaling Injury Impairs the Osmoregulatory Ability of Atlantic Salmon Smolts Entering Seawater / J. Zydlewski, G. Zydlewski, G.R. Danner // *Transactions of the American Fisheries Society*. – 2010. – V. 139 (1). – P. 129–136.

Zydlewski, G. Photoperiod control of downstream movements of Atlantic salmon *Salmo salar* smolts / G. Zydlewski, D.S. Stich, S.D. McCormick // *Journal of Fish Biology*. – 2014. – V. 85 (4). – P. 1023–1041.