ВОПРОСЫ ИХТИОЛОГИИ, 2023, том 63, № 5, с. 602–607

УДК 597.552.511.577.1

БИОХИМИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ У ЭМБРИОНОВ И ЛИЧИНОК АТЛАНТИЧЕСКОГО ЛОСОСЯ *SALMO SALAR* (SALMONIDAE) И ЕЁ ВОЗМОЖНАЯ СВЯЗЬ С МИГРАЦИОННЫМ ПОЛИМОРФИЗМОМ

© 2023 г. Д. С. Павлов[1], В. В. Костин[1, *], М. А. Ручьев[1, 2]

[1]*Институт проблем экологии и эволюции РАН – ИПЭЭ РАН, Москва, Россия*

[2]*Институт биологии Карельского научного центра РАН – ИБ КарНЦ РАН, Петрозаводск, Россия*

*****E-mail: povedenie@yandex.ru*

Поступила в редакцию 16.03.2023 г.
После доработки 27.03.2023 г.
Принята к публикации 27.03.2023 г.

У эмбрионов и личинок атлантического лосося *Salmo salar* определяли индивидуальные концентрации дофамина, норадреналина, адреналина, свободного трийодтиронина, общего белка, альбумина и активность аланинаминотрансферазы. Выявлена биохимическая дифференциация у эмбрионов и личинок на две группы. Обсуждается связь биохимической дифференциации с миграционным полиморфизмом у атлантического лосося в период первичного расселения молоди.

Ключевые слова: Salmo salar, биохимическая дифференциация, эмбрионы, личинки, миграционный полиморфизм, первичное расселение.

DOI: 10.31857/S0042875223050089, **EDN:** DIWTWM

У многих рыб в разные периоды онтогенеза происходит дифференциация на фенотипические группировки с разной степенью участия в миграции, в результате наблюдается миграционный полиморфизм. В литературе (Jonsson, Jonsson, 1993; Павлов, Савваитова, 2008; Chapman et al., 2012; Dodson et al., 2013) это явление иногда называют частичной миграцией (partial migration). Хорошо известны такие группировки у поздней молоди (возраст 1+ и старше) лососёвых рыб (Salmonidae): смолты, мигрирующие в море, и жилые особи (пестрятки), остающиеся в реке (Jonsson, 1985; Klemetsen, 2003; Cucherousset et al., 2005; Махров и др., 2018). Исследования механизмов миграционного полиморфизма выявили корреляцию физиологического состояния, в том числе и гормонального статуса, с миграционным поведением рыб. Наиболее изучены физиолого-биохимические механизмы покатной миграции молоди лососёвых (Björnsson et al., 1989, 2011; McCormick 2001; Ebbesson et al., 2003; Dolomatov, 2013; Midwood et al., 2014; Choi et al., 2016).

В отличие от хорошо известной индивидуальной биохимической разнокачественности икринок и личинок рыб об их дифференциации на отдельные группы в период первичного расселения с нерестилищ есть единичные публикации. В одних работах отмечены только различия миграционного поведения (Павлов и др., 2010б). В других показана дифференциация личинок рыб по биохимическим показателям. Такие различия выявлены у личинок атлантического лосося *Salmo salar* по кортизолу (Нечаев и др., 2006), а также у ранних личинок окуня *Perca fluviatilis* по катехоламинам (Павлов и др., 2007).

Физиолого-биохимическая дифференциация между мигрантами и резидентами в период первичного расселения известна у личинок плотвы *Rutilus rutilus*, кижуча *Oncorhynchus kisutch* и микижи *Parasalmo mykiss* (Pavlov et al., 2001; Павлов и др., 2007; Павлов и др., 2010а). У мигрантов и резидентов плотвы выявили различия по содержанию катехоламинов и кортикостероидов, а также по активности белкового и углеводного обмена. При этом у плотвы дифференциация по катехоламинам начиналась ещё у эмбрионов. У покатников и резидентов кижуча и микижи выявили различия по липидному статусу. Данные о наличии аналогичной дифференциации (коррелирующей с миграционным полиморфизмом) у эмбрионов и личинок других видов рыб мы в литературе не обнаружили.

У объекта нашего исследования – атлантического лосося – наблюдали группировки молоди, различающиеся по миграционному поведению в период первичного расселения (Павлов и др., 2010б), но исследований биохимических показателей у этой молоди не проводили. Цель настоящей работы – выявить наличие или отсутствие у

эмбрионов и личинок атлантического лосося дифференциации по ряду биохимических показателей, возможно, связанных с миграционным полиморфизмом.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Оплодотворённая икра (~3500 шт.) от производителей атлантического лосося из природных условий была приобретена на Выгском рыбоводном заводе (Карелия). Икру инкубировали на рыборазводном хозяйстве ООО "Янисъярви" (Карелия). Инкубацию проводили на решётке в лотке с проточной водой, поступающей из р. Улмосенйоки. Температура воды в время инкубации зависела от температуры воды в реке и изменялась от 1.5–2.0°С зимой до 5–7°С в конце весны.

Для биохимических исследований использовали икру на стадии глазка (287 градусо-дней, средняя масса 0.8 г) и личинок средней абсолютной длиной 25 мм, средней массой 0.8 г. Отбор проб проводили случайно. Личинок отбирали в период, когда их желточный мешок составлял 10–15% своего исходного объёма (527 градусо-день). Пробы фиксировали в жидком азоте для хранения и перевозки в лабораторию.

Для исследования выбраны вещества, для которых ранее была показана связь с миграционным полиморфизмом у рыб (Павлов и др., 2007): катехоламины (дофамин, норадреналин, адреналин), свободный трийодтиронин и показатели белкового обмена (общий белок, альбумин, аланинаминотрансфераза). Определение уровней содержания/активности всех этих веществ проводили отдельно для каждой икринки или личинки. В лаборатории после разморозки икринки (25 шт.) и личинок (60 экз.) помещали в индивидуальные микропробирки с 250 мкл фосфатного буфера (0.01 М, pH 7.4) ("Sigma-Aldrich", ФРГ). Затем образцы гомогенизировали с использованием стальных 5 мм шариков на приборе TissueLyser LT (ФРГ) со скоростью 50 осцилляций/с. Гомогенизацию икринок проводили 5 мин, личинок – 10 мин. Гомогенаты центрифугировали 5 мин на 14000 об/мин (величина центробежной силы 2.3 g).

Методом иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием тест-наборов производства DRG (ФРГ) на приборе MR 96A ("Mindray", КНР) в супернатанте определяли концентрации дофамина, адреналина и норадреналина (комбинированный тест-набор TriCat), а также концентрацию свободного трийодтиронина. На автоматическом биохимическом анализаторе iMagic-S7 ("iCubio BioMedical Technology", Китай) с использованием тест-наборов ДиаВетТест ("Диакон-ВЕТ", Россия) в супернатанте определяли концентрации общего белка, альбумина и активность аланинаминотрансферазы. Определения проводили в соответствии с предоставляемыми производителями инструкциями к каждому из приборов (анализаторов).

Выборки выявленных значений концентрации для каждого вещества с использованием критериев Колмогорова–Смирнова и Шапиро проверяли на отличия эмпирического частотного распределения от теоретических: унимодального (нормального), би- и тримодального (сумма соответственно двух и трёх нормальных распределений). Для расчёта би- и тримодального распределений выборку разбивали на две или три группы по методу наименьших квадратов (Печеровый, 2005; Borovkov, Savyolova, 2007). Сравнение теоретических частот унимодального, би- и тримодального распределений проводили по функциям правдоподобия распределения частот с использованием критерия χ^2 (Гурский, 1971).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Распределение эмпирических частот концентраций исследованных веществ у эмбрионов (кроме трийодтиронина) и личинок достоверно ($p < 0.05$) отличалось от нормального. Следовательно, возможно наличие нескольких групп во всех выборках, кроме выборки трийодтиронина у эмбрионов. Во всех случаях различия эмпирического и теоретических мультимодальных распределений частот были недостоверны ($0.27 < p < 0.85$). Это указывает на наличие нескольких групп в исследованных выборках. Сравнение теоретических частот в моделях с разной модальностью (табл. 1) показало, что у эмбрионов и личинок би- и тримодальные модели распределения достоверно отличаются от унимодальной. То есть такие модели лучше подходят для описания эмпирических данных, что подтверждает наличие групп. Различия между би- и тримодальными моделями распределения не выявлены. Следовательно, нет оснований считать, что в исследованных выборках эмбрионов и личинок есть более двух групп. Параметры выявленных групп представлены в табл. 2.

Наличие бимодальности частотного распределения концентраций наиболее выражено у эмбрионов для дофамина (рисунок).

Выявленная бимодальность распределения катехоламинов и показателей белкового обмена указывает на наличие дифференциации как у эмбрионов, так и у личинок атлантического лосося. Аналогичные различия были выявлены ранее (Павлов и др., 2007) у эмбрионов и ранних личинок плотвы (этапы развития C_1–D_1 по: Васнецов, 1953). У них была обнаружена бимодальность частотного распределения концентраций катехоламинов и кортикостероидов. По трийодтиронину у атлантического лосося дифференциация выявлена в настоящем исследовании только у личинок, а у личи-

Таблица 1. Уровни значимости различий теоретических распределений исследованных веществ у эмбрионов и личинок атлантического лосося *Salmo salar*

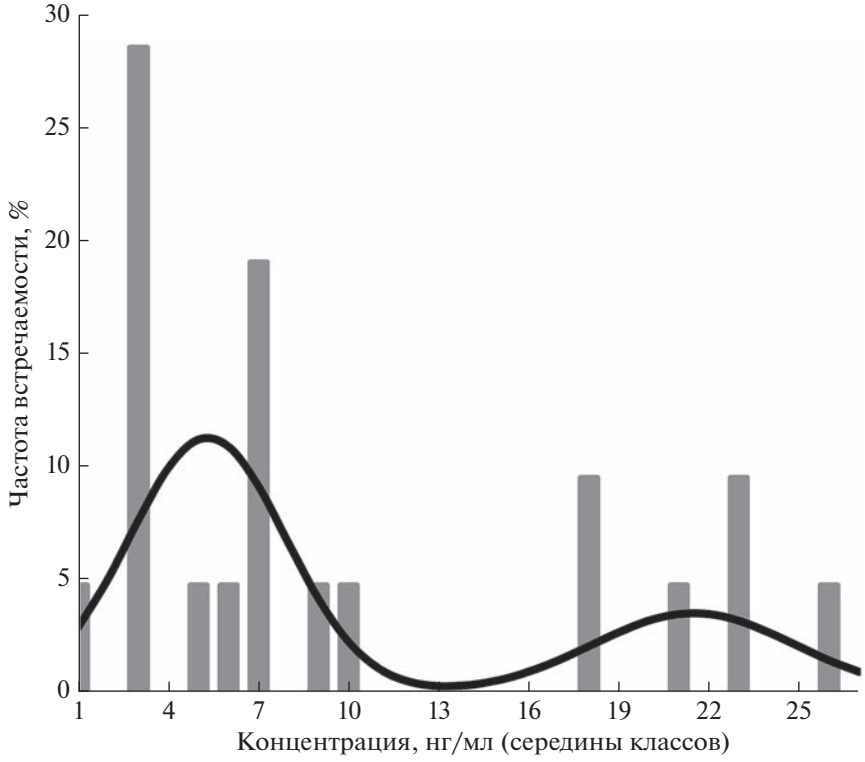
Вещество	Сравниваемые распределения			Выявлено групп
	уни- и бимодальные	уни- и тримодальные	би- и тримодальные	
	Эмбрионы			
Дофамин	**1.60×10^{-4}**	**0.001**	0.966	2
Норадреналин	**3.61×10^{-4}**	**3.36×10^{-4}**	0.607	2
Адреналин	**0.042**	**0.003**	0.100	2
Свободный трийодтиронин	0.758	0.063	0.150	1
Дофамин	**0.012**	**0.011**	0.666	2
	Личинки			
Норадреналин	**8.50×10^{-8}**	**1.57×10^{-8}**	0.156	2
Адреналин	**1.21×10^{-6}**	**5.33×10^{-7}**	0.318	2
Свободный трийодтиронин	**0.003**	**1.45×10^{-4}**	0.067	2
Общий белок	**0.001**	**2.97×10^{-4}**	0.302	2
Альбумин	**3.22×10^{-14}**	**1.25×10^{-13}**	0.909	2
Аланинаминотрансфераза	**0.009**	**0.007**	0.865	2

Примечание. Полужирным шрифтом выделены уровни значимости, указывающие на достоверность различий.

Таблица 2. Концентрация исследованных веществ и активность аланинаминотрансферазы в выделенных группах 1 и 2 в выборках эмбрионов и личинок атлантического лосося *Salmo salar*

Вещество	1			2		
	n	*M*	*SD*	*n*	*M*	*SD*
	Эмбрионы					
Дофамин, нг/мл	16	22.4	7	5	44.91	4.22
Норадреналин, нг/мл	15	10.69	8.23	6	54.30	16.21
Адреналин, нг/мл	14	3.28	0.46	7	5.26	0.82
Свободный трийодтиронин*, пг/мл	21	0.67	0.32			
	Личинки					
Дофамин, нг/мл	16	16.20	2.34	2	28.49	4.40
Норадреналин, нг/мл	36	4.74	3.28	12	22.28	5.45
Адреналин, нг/мл	44	9.68	4.57	13	31.36	7.52
Свободный трийодтиронин, пг/мл	42	1.50	0.26	10	2.36	0.17
Общий белок, мг/мл	7	5.00	1.01	42	11.08	1.74
Альбумин, мг/мл	5	0.20	0.17	49	17.29	3.20
Аланинаминотрансфераза, ед/л	31	188.90	44.20	16	365.28	55.94

Примечание. *n* – число объектов, экз.; *M* – среднее значение, *SD* – среднее квадратичное отклонение; * выявлена только одна группа.



Распределение концентраций дофамина у эмбрионов атлантического лосося *Salmo salar*: эмпирические (▩) и теоретические (—) частоты бимодального распределения (сумма частот двух групп).

нок плотвы ранее (Павлов и др., 2007) она не была обнаружена. Следует отметить, что у плотвы биохимическая дифференциация была связана с миграционным полиморфизмом – разделением поколения на две фенотипические группировки (мигрантов и резидентов). Содержание указанных гормонов у мигрантов плотвы было выше, чем у резидентов. И у сёмги, и у плотвы дифференциация по катехоламинам начиналась в икре (у эмбрионов). Кроме того, показано (Павлов и др., 2007), что у плотвы эта дифференциация заканчивалась на поздних личиночных этапах (*E*, *F*), когда закачивалась их массовая покатная миграция. В исследованиях икры от одной пары производителей плотвы был показан эпигенетический механизм возникновения биохимической дифференциации – она возникала только тогда, когда икринки инкубировали под воздействием метаболитов соседей по кладке икры (Нечаев и др., 2000).

В настоящем исследовании у атлантического лосося при индивидуальных анализах эмбрионов и личинок была обнаружена дифференциация по содержанию общего белка, альбумина и активности аланинаминотрансферазы. Ранее (Павлов и др., 2007) у плотвы при групповых анализах (гомогенаты приготовляли из групп личинок по 50 экз.) показателей белкового обмена были обнаружены достоверные различия между фенотипическими группировками (мигранты и резиденты). У мигрантов, по сравнению с резидентами, были более высокие уровень активности и скорость активации ферментов. По-видимому, групповые различия между мигрантами и резидентами плотвы обусловлены дифференциацией на индивидуальном уровне, как это показано для атлантического лосося.

В целом у эмбрионов и личинок атлантического лосося наблюдается биохимическая дифференциация, сходная с той, которая у плотвы связана с миграционным полиморфизмом в период первичного расселения.

Как было отмечено выше, ранее (Павлов и др., 2010б) мы наблюдали миграционный полиморфизм у атлантического лосося в период первичного расселения. После ската из нерестовых гнёзд к нижней границе речного порога молодь перемещается в прибрежье реки. Далее часть особей уходит в приток, где скорости течения выше, а другая их часть остаётся в прибрежье основной реки, где скорости течения ниже. Для рыб из притока в экспериментах в гидродинамических установках были выявлены повышенные критические скорости течения и отмечено предпочтение к движению против течения. Для рыб из прибрежья основной реки критические скорости течения были пониженные, и наблюдалось предпочтение к движению по течению (Павлов и др., 2010б).

Необходимо отметить, что разделение поколения на две группировки с противоположными стратегиями расселения хорошо известно как для животных, так и для растений (Бигон и др., 1989; Павлов и др., 2007). Оно носит адаптивный характер. Эволюционное преимущество существования таких противоположных стратегий заключается в расширении области обитания поколения. Это расширение уменьшает плотность личинок, снижает конкуренцию за ресурсы, а также уменьшает вероятность уничтожения всего поколения в результате локальных экстремальных изменений внешних условий.

Таким образом, в настоящем исследовании у эмбрионов и личинок атлантического лосося обнаружена биохимическая дифференциация, а ранее (Павлов и др., 2010б) был выявлен миграционный полиморфизм при первичном расселении. Это позволяет выдвинуть гипотезу о связи физиолого-биохимической дифференциации у эмбрионов и личинок атлантического лосося с миграционным полиморфизмом в период первичного расселения молоди. Такая гипотеза должна быть проверена в будущих исследованиях. При этом как при работе с атлантическим лососем, так и с другими видами рыб необходимо учитывать возможность участия эпигенетических механизмов и экологических факторов, определяющих миграционный полиморфизм.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарны А.О. Касумяну (МГУ) и В.Н. Михееву (ИПЭЭ РАН) за ценные комментарии к тексту рукописи, Е.В. Ганже (ИПЭЭ РАН) и директору рыборазводного хозяйства ООО “Янисъярви” Д.А. Ручьеву за помощь и содействие в работе.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Обработка проб, анализ полученных данных, написание статьи выполнены при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 19-14-00015-П.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Бигон М., Харпер Дж., Таусенд К. 1989. Экология. Особи, популяции и сообщества. Т. 1. М.: Мир, 546 с.

Васнецов В.В. 1953. Этапы развития костистых рыб // Очерки по общим вопросам ихтиологии. М.; Л.: Издво АН СССР. С. 207–217.

Гурский Е.И. 1971. Теория вероятностей с элементами математической статистики. М.: Высш. шк., 328 с.

Махров А.А., Артамонова В.С., Мурза И.Г. и др. 2018. Экологические формы черноморской кумжи (*Salmo trutta labrax*) реки Мзымты как проявление пластичности онтогенеза // Онтогенез. Т. 49. № 2. С. 133–144. https://doi.org/10.7868/S0475145018020064

Нечаев И.В., Павлов Д.С., Глухова Е.В. 2000. Эффект взаимодействия эмбрионов плотвы (*Rutilus rutilus*) в кладке и постэмбриональные последствия этих взаимодействий // Докл. РАН. Т. 374. № 6. С. 839–842.

Нечаев И.В., Дихнич А.В., Костин В.В., Романенко В.О. 2006. Динамика кортизола и развитие глюкокортикоидной функции в раннем онтогенезе атлантического лосося *Salmo salar* // Вопр. ихтиологии. Т. 46. № 3. С. 398–411.

Павлов Д.С., Савваитова К.А. 2008. К проблеме соотношения анадромии и резидентности у лососевых рыб (Salmonidae) // Там же. Т. 48. № 6. С. 810–824.

Павлов Д.С., Лупандин А.И., Костин В.В. 2007. Механизмы покатной миграции молоди речных рыб. М.: Наука, 213 с.

Павлов Д.С., Кириллова Е.А., Кириллов П.И. 2010а. Покатная миграция молоди лососевых рыб в р. Утхолок и ее притоках (северо-западная Камчатка). Сообщение 1. Покатная миграция молоди первого года жизни // Изв. ТИНРО. Т. 163. С. 3–44.

Павлов Д.С., Пономарева В.Ю., Веселов А.Е., Костин В.В. 2010б. Реореакция как один из механизмов формирования фенотипических группировок сеголеток Атлантического лосося *Salmo salar* // Вопр. ихтиологии. Т. 50. № 4. С. 548–553.

Печеровый А.В. 2005. К вопросу определения площадей неразделенных пиков в автоматизированных системах обработки хроматограмм // Исследовано в России. Т. 8. С. 366–373 (https://cyberleninka.ru/article/n/k-voprosu-opredeleniya-ploschadey-nerazdelennyh-pikov-v-avtomatizirovannyh-sistemah-obrabotki-hromatogramm. Version 08/03/2023).

Björnsson B.Th., Thorarensen H., Hirano T. et al. 1989. Photoperiod and temperature affect plasma growth hormone levels, growth, condition factor and hypoosmoregulatory ability of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) during parr-smolt transformation // Aquaculture. V. 82. № 1–4. P. 77–91. https://doi.org/10.1016/0044-8486(89)90397-9

Björnsson B.Th., Stefansson S.O., McCormick S.D. 2011. Environmental endocrinology of salmon smoltification // Gen. Comp. Endocrinol. V. 170. № 2. P. 290–298. https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2010.07.003

Borovkov M., Savyolova T. 2007. The computational approaches to calculate normal distributions on the rotation group // J. Appl. Cryst. V. 40. Pt. 3. P. 449–455. https://doi.org/10.1107/S0021889807005626

Chapman B.B., Hulthén K., Brodersen J. et al. 2012. Partial migration in fishes: causes and consequences // J. Fish Biol. V. 81. № 2. P. 456–478. https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2012.03342.x

Choi Y.J., Kim N.N., Choi Y.-U., Choi C.Y. 2016. Changes of physiological rhythms of N-methyl-d-aspartate receptors in the chum salmon *Oncorhynchus keta*: effect of seawater acclimation during the parr-smolt transformation // Biol. Rhythm Res. V. 47. № 1. P. 77–91. https://doi.org/10.1080/09291016.2015.1084155

Cucherousset J., Ombredane D., Charles K. et al. 2005. A continuum of life history tactics in a brown trout (*Salmo trutta*) population // Can. J. Fish. Aquat. Sci. V. 62. № 7. P. 1600–1610. https://doi.org/10.1139/f05-057

Dodson J.J., Aubin-Horth N., Thèriault V., Páez D.J. 2013. The evolutionary ecology of alternative migratory tactics in

salmonid fishes // Biol. Rev. V. 88. № 3. P. 602–625. https://doi.org/10.1111/brv.12019

Dolomatov S.I., Kubyshkin A.V., Kutia S.A., Zukow W. 2013. Role of thyroid hormones in fishes // J. Health Sci. V. 3. № 9. P. 279–296.

Ebbesson L.O.E., Ekström P., Ebbesson S.O.E. et al. 2003. Neural circuits and their structural and chemical reorganization in the light–brain–pituitary axis during parr–smolt transformation in salmon // Aquaculture. V. 222. № 1–4. P. 59–70. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00102-9

Jonsson B. 1985. Life history patterns of freshwater resident and sea-run migrant brown trout in Norway // Trans. Am. Fish. Soc. V. 114. № 2. P. 182–194. https://doi.org/10.1577/1548-8659(1985)114<182:LHPOFR>2.0.CO;2

Jonsson B., Jonsson N. 1993. Partial migration – niche shift versus sexual-maturation in fishes // Rev. Fish Biol. Fish. V. 3. № 4. P. 348–365. https://doi.org/10.1007/BF00043384

Klemetsen A., Amundsen P.-A., Dempson J.B. et al. 2003. Atlantic salmon *Salmo salar* L., brown trout *Salmo trutta* L. and Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.): a review of aspects of their life histories // Ecol. Freshw. Fish. V. 12. № 1. P. 1–59. https://doi.org/10.1034/j.1600-0633.2003.00010.x

McCormick S.D. 2001. Endocrine control of osmoregulation in teleost fish // Am. Zool. V. 41. № 4. P. 781–794. https://doi.org/10.1093/icb/41.4.781

Midwood J.D., Larsen M.H., Boel M. et al. 2014. Does cortisol manipulation influence outmigration behaviour, survival and growth of sea trout? A field test of carryover effects in wild fish // Mar. Ecol. Prog. Ser. V. 496. P. 135–144. https://doi.org/10.3354/meps10524

Pavlov D.S., Lupandin A.I., Kostin W. et al. 2001. Downstream migration and behavior of juvenile roach *Rutilus rutilus* (Cyprinidae) from two phenotypic groups // J. Ichthyol. T. 41. Suppl. 2. P. S133–S179.