

УДК 597.552.511.577.15/115(282.247.19)

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ Na^+/K^+ -АТФАЗЫ И ЛИПИДНОГО СОСТАВА ЖАБР ГОРБУШИ *ONCORHYNCHUS GORBUSCHA* (SALMONIDAE) БЕЛОГО МОРЯ В ХОДЕ НЕРЕСТОВОЙ МИГРАЦИИ

© 2024 г. Е. И. Кяйвярйнен¹, Н. Н. Фокина¹, Н. Л. Рендаков^{1,*},
Д. А. Ефремов¹, Н. Н. Немова¹

¹Институт биологии Карельского научного центра РАН – ИБ КарНЦ РАН, Петрозаводск, Россия

*E-mail: nlrend@mail.ru

Поступила в редакцию 16.06.2023 г.

После доработки 17.08.2023 г.

Принята к публикации 25.08.2023 г.

Представлены данные об изменении активности мембраносвязанного фермента осморегуляции Na^+/K^+ -АТФазы и липидного состава в жабрах горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* при нерестовой миграции из Белого моря в речную среду через эстуарий. Компенсаторная реакция горбуши в гипоосмотической среде сопровождается снижением активности Na^+/K^+ -АТФазы и изменением содержания фосфатидилсерина и полиненасыщенных жирных кислот (линолевой, эйкозапентаеновой и докозагексаеновой). Полученные результаты свидетельствуют о позволяющей реализовать репродуктивную стратегию эффективной осморегуляции у горбуши при нерестовой миграции из моря в реку.

Ключевые слова: горбуша *Oncorhynchus gorbuscha*, Na^+/K^+ -АТФаза, липиды, жабры, солёность среды, нерестовая миграция, Белое море.

DOI: 10.31857/S0042875224020083, EDN: GWEQTX

Горбушу *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum, 1792) дальневосточного происхождения интродуцировали в водоёмы Белого моря Кольского п-ова начиная с 1956 г., в настоящее время она успешно адаптировалась к новым условиям обитания (Гордеева и др., 2015; Веселов и др., 2016; Алексеев и др., 2019). Следствием интродукции на северо-западе России стало появление многочисленных естественных популяций горбуши как в России (в реках бассейнов Белого и Баренцева морей), так и в ряде государств Северной Европы – в Норвегии (Sandlund et al., 2019), Исландии и Великобритании¹. Горбуша – самый короткоживущий представитель семейства лососёвых (Salmonidae) – характеризуется двухлетним жизненным циклом и способностью быстро адаптироваться к меняющимся условиям среды. По этой причине горбуша оказалась высоко инвазивным видом (Paulsen, 2022) и хорошо адаптировалась к условиям Арктики.

Нерестовая миграция – это генетически запрограммированный процесс, в ходе которого горбуша после нагула в морской среде мигрирует в пресную воду рек вверх по течению, причём время вхождения в реки зависит от физиологических особенностей, связанных с осморегуляцией рыб (Birnie-Gauvin et al., 2021). Осморегуляторные механизмы горбуши позволяют ей выдерживать значительные изменения солёности среды. Осмотическая регуляция у костистых рыб осуществляется в основном специализированными клетками жабр – ионцитами (Inokuchi et al., 2022). Ключевую роль в работе ионцитов играет мембраносвязанный фермент Na^+/K^+ -АТФаза (NKA) (Folmar, Dickhoff, 1980; Hwang et al., 2011; McCormick, 2013), который состоит из двух субъединиц (α и β), по-разному реагирующих на осмотические и солёностные изменения (Liao et al., 2009; Madsen et al., 2009).

Функционирование NKA обусловлено физико-химическим состоянием мембран, которое в свою очередь в значительной степени определяется особенностями структурной организации липидного бислоя, присутствием в мембра-

¹ Pettit H. 2017. Britain's native salmon are under threat from a pink rival that escaped into the sea from Russian farms (<https://www.dailymail.co.uk/sciencetech/article-4829918/Britain-s-native-salmon-threat-pink-rival.html>). Version 06/2023).

не определённых фосфолипидов (Habeck et al., 2015), особенно фосфатидилсерина (Schuurmans Stekhoven et al., 1994; Haviv et al., 2013), а также количеством холестерина (Cornelius, 2008) и полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) (Biochemistry ..., 2002). Изменение физиологического состояния и гормонального статуса у интродуцированной горбуши в ходе нерестовой миграции из Белого моря в р. Кереть исследовано в работе Павлова с соавт. (2022). В нашей работе основное внимание уделено биохимическим изменениям в жабрах горбуши, выполняющих, как указывалось выше, важную осморегуляторную роль у рыб при смене солёности среды обитания, как это имеет место при нерестовых миграциях.

Цель работы — изучить динамику активности НКА и содержания структурных липидных компонентов мембран в жабрах горбуши в ходе нерестовой миграции из морской среды через эстуарий в пресную воду р. Индёра Кольского п-ова.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследование проведено в преднерестовый период горбуши (10–15.08.2021 г.) на её взрослых особях из трёх различных участков р. Индёра: морской части эстуария (солёная вода температурой 19.2°C, полный прилив), 66°14'12.0" с.ш., 37°08'58.8" в.д.; прибрежной части эстуария (распреснённая вода, 16.8°C, полный прилив), 66°14'28.6" с.ш., 37°08'55.8" в.д.; непосредственно водотока — его предэстуарной зоны в районе пресноводных нерестилищ (16.3°C), 66°14'34.6" с.ш., 37°08'55.8" в.д.

Вылов горбуши в морской и прибрежной частях эстуария осуществляли ставной сетью длиной 30 м, высотой 1.8 м, ячейей 60 мм. От момента

контакта рыбы с сетью и до её помещения в садок проходило не более 1–3 мин. Отлов горбуши в районе нерестилищ на предэстуарных плёсах и порогах р. Индёра проводили кастинговой сетью ячейей 25 мм, контакт рыбы с орудием лова не превышал 1–2 мин.

После вылова рыб помещали в садки до накопления необходимой выборки. Садки располагали в трёх соответствующих локализации поймок точках: в открытом море, западнее эстуария р. Индёра (солёная вода); в прибрежной части эстуария (распреснённая вода); в предэстуарной части реки (пресная вода). Число рыб в каждой группе составляло 11–13 экз. (табл. 1). Гонады извлечённых особей были III и IV стадий зрелости, все рыбы имели признаки нерестовых изменений.

После накопления в проточных садках рыб переносили в три 127-литровые бочки, заполненные водой, солёность которой соответствовала месту вылова: 1) вода из Белого моря (солёность 32‰); 2) смесь пресной и солёной воды в соотношении 1:1; 3) пресная вода. В бочках рыб выдерживали 2–11 ч (одновременно не более 5 экз.), аэрацию осуществляли компрессором Sera air 275R (SERA, Германия). Для усыпления горбушу по одной перемещали на 4–5 мин в 30-литровые ёмкости, наполненные водой соответствующей солёности с добавлением гвоздичного масла (20 капель). Затем рыб умерщвляли, взвешивали на электронных весах URM Astra 3 (URM, Китай) и измеряли их длину мерной лентой, после проводили вскрытие, вырезали жабры, которые помещали в жидкий азот и до начала анализа хранили в лаборатории при – 80°C.

Все манипуляции проводили согласно методическим рекомендациям по использованию

Таблица 1. Длина и масса ($M \pm m$) горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* в выборках из разных участков р. Индёра 10–15.08.2021 г.

Участок	Самцы			Самки		
	SL, см	Масса, г	n	SL, см	Масса, г	n
Эстуарная часть:						
– морская	42.0 ± 1.0 ^а	765 ± 58 ^{б, в, г}	5	42.0 ± 0.9	991 ± 83 ^г	8
– прибрежная	44.7 ± 1.4	1150 ± 150 ^в	6	42.6 ± 1.0	1099 ± 123	6
Предэстуарная зона реки	45.9 ± 0.8 ^{а, д}	1145 ± 155 ^б	5	42.8 ± 0.3 ^а	1067 ± 48	6

Примечание. $M \pm m$ — среднее значение и его ошибка, SL — стандартная длина тела, n — число особей, экз. Одинаковые буквы (^{а–д}) указывают на достоверные различия по U-критерию Манна–Уитни при p : ^{а, в, г} < 0.05, ^{б, д} < 0.01.

рыб при проведении исследований (Guidelines ..., 2014). Вылов производителей горбуши проведён согласно Разрешению № 512021 032021 от 19.06.2021 г., выданному Североморским территориальным управлением Федерального агентства по рыболовству.

Дальнейшие исследования выполняли на базе лаборатории экологической биохимии ИБ КарНЦ РАН и с использованием оборудования Центра коллективного пользования КарНЦ РАН.

Определение активности Na^+/K^+ -АТФазы (КФ 3.6.1.3) проводили в осадке после гомогенизации и центрифугирования образцов (200 мг ткани жаберных лепестков) (Елаев, Семенов, 1974). Осадок ресуспендировали в буфере для гомогенизации в соотношении 1: 3 (г/мл) и добавляли 2%-ный раствор дезоксихолата натрия до конечной концентрации 0.2%. Приготовленный раствор выдерживали на холоде в течение 2 ч. Суспензию центрифугировали 30 мин при 15 000 g (12 800 об/мин). В полученном супернатанте проводили ферментативную реакцию в инкубационной среде (субстратный буфер) и в контрольной среде без Na^+ и K^+ в присутствии ингибитора уабаина (10^{-4} М). Инкубационная среда для определения активности фермента содержала 0.01 М NaCl, 0.02 М KCl, 0.002 М MgCl_2 и субстрат 3 мМ АТФ в буфере *Трис*-HCl (pH 7.55). В контрольный буфер *Трис*-HCl (pH 7.55) без солей добавляли уабаин до конечной концентрации 10^{-3} М. В результате гидролиза АТФ под действием АТФазы накапливается неорганический фосфат. Реакцию проводили 30 мин при 37°C и останавливали добавлением равного объёма 10%-ной трихлоруксусной кислоты. После центрифугирования в течение 20 мин при 6000 g (8000 об/мин) в надосадочной жидкости определяли количество неорганического фосфата (Pi) по величине экстинкции по калибровочной кривой (Kahovcová, Odavić, 1969). Активность НКА в условных единицах оценивали по разности Pi субстратной среды и контрольной среды в присутствии уабаина за 30 мин реакции в расчёте на концентрацию белка (мкг Pi/мг белка).

Анализ содержания белка в исследуемом материале проводили согласно методу Бредфорда (Bradford, 1976). В качестве стандарта для построения калибровочной кривой использовали бычий сывороточный альбумин в физрастворе.

Анализ состава липидов. Липиды экстрагировали по методу Фолча (Folch et al., 1957). Состав липидов отдельных классов определяли с исполь-

зованием высокоэффективной тонкослойной хроматографии. Фракционирование общих липидов проводили на пластинах HPTLC Silicagel 60 F254 (Merck, Германия). В качестве элюента использовали смесь гексан: диэтиловый эфир: уксусная кислота (32.0: 8.0: 0.8 по объёму) (Olsen, Henderson, 1989). Качественное и количественное определение липидных компонентов проводили в денситометре TLC Scanner 4 (CAGAG, Швейцария) на дейтериевой лампе при длине волны 350 нм в режиме адсорбции (Handloser et al., 2008). Идентификацию липидных классов осуществляли по стандартам соответствующих компонентов (Sigma-Aldrich, США).

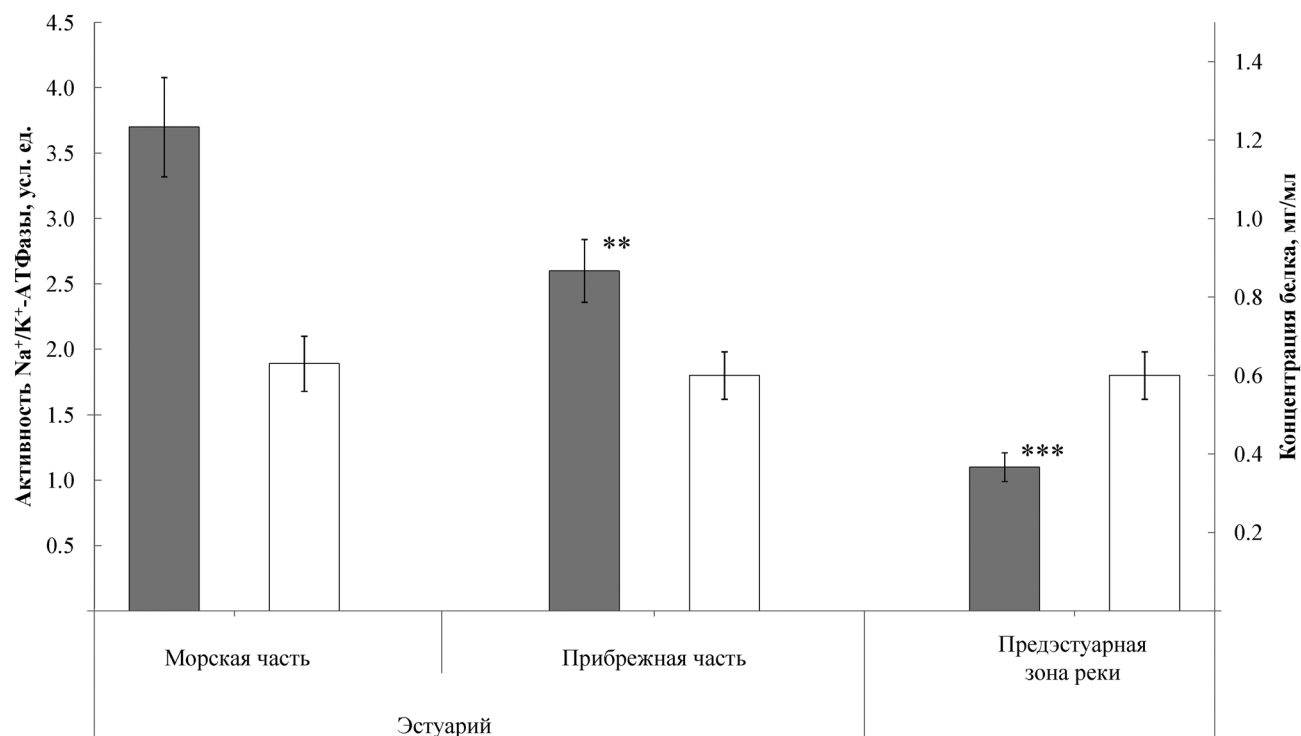
Фракционный состав фосфолипидов определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (Arduini et al., 1996) на хроматографе Стайер ("Аквилон", Россия). В качестве элюента использовали смесь ацетонитрил: метанол: гексан: фосфорная кислота (918.0: 30.0: 30.0: 17.5 по объёму). Для идентификации использовали стандартные растворы фосфолипидов (Sigma-Aldrich, США).

Определение жирнокислотного состава проводили методом газожидкостной хроматографии. Метилловые эфиры жирных кислот (ЖК) получали в результате прямого метанолиза (с метанолом и хлористым ацетилом в качестве катализатора реакции) (Цыганов, 1971). Полученные метилловые эфиры ЖК разделяли на хроматографе Agilent 7890A (Agilent technologies, США) на капиллярной колонке HP-88 (Phenomenex, США), подвижная фаза — азот.

Статистическая обработка результатов. Значения показателей в пробах соответствовали распределению, отличному от нормального: $p < 0.05$ (тест Колмогорова—Смирнова). Для определения различий между группами по изученным показателям использовали *U*-критерий Манна—Уитни, а при определении различий в содержании липидов и их жирных кислот применяли также критерий Краскела—Уоллиса (post-hoc тест Тьюки).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Значения концентраций белка в тканях жабр горбуши в исследованных группах достоверно не различались (рисунок). Активность НКА в жабрах горбуши из речной зоны и из прибрежной части эстуария оказалась достоверно ниже, чем таковая у рыб из морской части эстуария. Межполовые различия по изученным показателям не обнаружены.



Средние значения активности Na^+/K^+ -АТФазы (■) и концентрации белка (□) в жабрах горбуши *Oncorhynchus gorbusha* из разных участков р. Индэра в ходе нерестовой миграции 10–15.08.2021 г.: (I) – стандартная ошибка среднего. Отличия от соответствующего показателя у рыб из морской части эстуария по *U*-критерию Манна–Уитни достоверны при *p*: ** < 0.01, *** < 0.001.

Содержание липидов и жирных кислот в жабрах горбуши приведено в табл. 2. Выявлено повышение содержания моноацилглицеринов (МАГ) и диацилглицеринов (ДАГ), линолевой (ЛК – 18:2n-6) и эйкозапентаеновой (ЭПК – 20:5n-3) кислот, а также снижение содержания фосфатидилсерина (ФС) и величины отношения насыщенных жирных кислот (НЖК) к полиненасыщенным жирным кислотам (ПНЖК) в жабрах горбуши, выловленной в прибрежной части эстуария, по сравнению с морской. В жабрах рыб из пресной воды, по сравнению с таковыми из морской среды, содержание триацилглицеринов (ТАГ), ЛК, ЭПК и докозагексаеновой (ДГК – 22:6n-3) кислоты повышено, а стеариновой (18:0) кислоты и значение соотношения НЖК/ПНЖК снижено.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты показали, что в ходе нерестовой миграции при снижении солёности среды активность НКА в жабрах горбуши снижается. Ранее подобный эффект обнаружен в жабрах кеты *O. keta* из залива о-ва Хонсю в экспериментах, моделирующих нерестовую миграцию

(Uchida et al., 1997). Снижение активности НКА может приводить к уменьшению проницаемости жаберного эпителия для ионов и связано с дифференциальной регуляцией изоформ этого фермента и с изменением числа ионоцитов. Так, субъединица $\alpha 1a$ НКА лососёвых преимущественно экспрессируется в пресной воде, а $\alpha 1b$ – в морской (McCormick et al., 2009). Можно полагать, что изменение активности АТФ-активируемого мембранного ионного насоса при изменении солёности окружающей среды свидетельствует об участии НКА в регуляции промежуточного метаболизма и в поддержании ионного баланса клеток.

Высокую пластичность горбуши и её приспособляемость к изменяющейся солёности окружающей среды ранее мы показали в исследовании происходящей вскоре после выклева пократной миграции ранней молоди вида (Немова и др., 2021). Такая адаптивная реакция горбуши была связана с изменением уровня кортизола – гормона, регулирующего водно-солевой обмен. Горбуша и кета относятся к видам, для которых характерна ранняя смолтификация, они приобретают устойчивость к солёной среде ко времени

Таблица 2. Содержание липидов ($M \pm SD$) в жабрах горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* из разных участков р. Индэра 10–15.08.2021 г.

Показатель	Эстуарная часть		Предэстуарная зона реки
	морская	прибрежная	
Общие липиды и липиды основных классов, % сухой массы			
Общие липиды	9.45 ± 1.92	12.21 ± 3.05*	11.13 ± 2.53
Фосфолипиды	1.93 ± 0.33	2.00 ± 0.21	2.12 ± 0.63
Холестерин	1.48 ± 0.26	1.69 ± 0.18	1.62 ± 0.36
Эфиры холестерина	1.89 ± 0.34	2.30 ± 0.48	2.22 ± 0.65
Моноацилглицерины	0.21 ± 0.06	0.28 ± 0.06*	0.21 ± 0.06
Диацилглицерины	0.25 ± 0.10	0.48 ± 0.25*	0.34 ± 0.17
Триацилглицерины	1.61 ± 0.85	2.91 ± 2.21	2.35 ± 1.28*
Свободные жирные кислоты	1.04 ± 0.22	1.19 ± 0.22	1.11 ± 0.32
Неидентифицированные липиды	1.03 ± 0.25	1.36 ± 0.30	1.15 ± 0.30
Фосфолипиды, % сухой массы			
Фосфатидилинозитол	0.04 ± 0.02	0.03 ± 0.02	0.04 ± 0.03
Фосфатидилсерин	0.09 ± 0.04	0.05 ± 0.03*	0.07 ± 0.04
Фосфатидилэтаноламин	0.09 ± 0.06	0.08 ± 0.06	0.09 ± 0.11
Фосфатидилхолин	1.04 ± 0.30	1.20 ± 0.36	1.36 ± 0.58
Лизофосфатидилхолин	0.62 ± 0.18	0.60 ± 0.32	0.54 ± 0.29
Сфингомиелин	0.04 ± 0.03	0.03 ± 0.03	0.02 ± 0.02
Неидентифицированные фракции	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0
Жирные кислоты, % общей суммы жирных кислот			
14:0	2.75 ± 0.63	2.88 ± 0.74	2.90 ± 0.54
16:0	32.56 ± 4.35	27.54 ± 8.52	29.80 ± 6.64
16:1n-7	4.00 ± 1.01	3.83 ± 0.68	4.57 ± 1.10
18:0	12.61 ± 2.55	9.88 ± 4.12	10.05 ± 2.94**
18:1n-9	25.32 ± 1.38	24.33 ± 3.18	24.73 ± 1.88
18:1n-7	4.64 ± 0.41	4.10 ± 0.65	4.60 ± 0.45
18:2n-6	0.64 ± 0.20	1.02 ± 0.35*	0.85 ± 0.27*
18:3n-6	0.17 ± 0.05	0.24 ± 0.16	0.18 ± 0.09
18:3n-3	0.58 ± 0.11	0.74 ± 0.25	0.60 ± 0.16
20:1n-9	3.16 ± 1.87	5.04 ± 3.88	4.31 ± 2.43
20:1n-7	1.05 ± 0.38	0.96 ± 0.48	0.97 ± 0.35
20:4n-6	0.55 ± 0.19	0.95 ± 0.45	0.79 ± 0.41
20:5n-3	0.60 ± 0.22	1.75 ± 1.45**	1.50 ± 1.37**
22:1n-11	2.09 ± 2.36	4.37 ± 4.32	3.46 ± 2.74
22:1n-9	0.49 ± 0.32	0.86 ± 0.44	0.66 ± 0.40
22:6n-3	1.11 ± 0.67	2.81 ± 2.92	2.29 ± 2.08*
Жирные кислоты основных классов, % общей суммы жирных кислот			
НЖК	50.31 ± 5.77	42.88 ± 12.75	45.17 ± 8.89
МНЖК	44.86 ± 5.63	47.79 ± 9.73	47.18 ± 7.00
n-3 ПНЖК	3.47 ± 1.09	7.12 ± 4.95**	5.83 ± 4.17*
n-6 ПНЖК	1.36 ± 0.27	2.21 ± 0.38**	1.82 ± 0.57*
ПНЖК	4.83 ± 1.23	9.33 ± 5.02	7.65 ± 4.63
Соотношение жирных кислот отдельных классов			
n-3/n-6 ПНЖК	2.60 ± 0.76	3.23 ± 2.24	3.03 ± 1.23
НЖК/ПНЖК	11.11 ± 3.44	5.99 ± 3.61**	7.74 ± 4.23*

Примечание. Отличия от соответствующих показателей у рыб из морской части эстуария достоверны по: *U-критерию Манна–Уитни, **критериям Манна–Уитни и Краскела–Уоллиса; НЖК, МНЖК, ПНЖК – соответственно насыщенные, моновенасыщенные и полиненасыщенные жирные кислоты. Приведены только доминирующие ЖК; содержание неуказанных минорных ЖК (12:0, 15:0, 17:0, 20:0, 22:0, 24:0, 14:1, 15:1, 16:1n-9, 16:1n-11, 18:1n-11, 20:1n-11, 24:1n-9, 20:3n-3, 20:4n-3, 22:5n-3) составляло 0.01–1.40% суммы ЖК, различия в их содержании у рыб из исследуемых мест сбора были не достоверны.

выхода из гнёзд и в основной своей массе вскоре после рассасывания желточного мешка скатываются в море (Sackville et al., 2012; Gallagher et al., 2013; McCormick, 2013). В настоящей работе изучена активность НКА (фермента осморегуляции) у особей горбуши на стадии, предшествующей нересту, после которого происходит гибель производителей (Смирнов, 1975; Heard, 1991). Дегенерация органов у горбуши и её посленерестовая гибель во многом обусловлены избыточной концентрацией кортизола в плазме крови (Cook et al., 2011; Campbell et al., 2021). Известно также, что в начале нерестовой миграции самки нерки *O. nerka* имеют относительно высокие уровни кортизола, которые не меняются в течение репродуктивного периода (Kubokawa et al., 1999; Campbell et al., 2021). Однако полученные в нашем исследовании значения активности НКА близки к выявленным ранее у молоди горбуши (Немова и др., 2021). Это может свидетельствовать о нормальном функционировании осморегуляторной системы у горбуши в процессе нерестовой миграции.

Модуляция активности НКА частично обусловлена также изменениями физико-химических свойств мембраны в результате липидобелковых взаимодействий. Большинство фосфолипидов при формировании бислоя взаимодействуют с интегральными мембранными белками (Contreras et al., 2011). Примечательно, что в кристаллических структурах фермента НКА наблюдаются три места для локализации ФС, фосфатидилэтаноламина и сфингомиелина (Habeck et al., 2015). В своей работе указанные авторы показали также, что стабильность НКА в наибольшей степени зависит от специфического взаимодействия с ФС, в то же время другие авторы (Naviv et al., 2013) установили, что сфингомиелин ингибирует активность НКА, а фосфатидилхолин и фосфатидилэтаноламин дестабилизируют этот фермент.

Содержание ФС в жабрах горбуши достоверно уменьшается при переходе из морской в прибрежную, распреснённую часть эстуарной зоны (табл. 2). Одновременное уменьшение содержания ФС и снижение активности НКА (рисунок) в жабрах горбуши при нерестовой миграции может быть связано со стабилизирующим действием ФС на НКА вследствие уменьшения конформационной подвижности молекул НКА в липидном бислое (Hayashi et al., 1989; Shinji et al., 2003; Habeck et al., 2015). В литературе имеется большое количество информации о влиянии различных сочетаний фосфолипидов с насы-

щенными и ненасыщенными жирными кислотами и холестерина на активность НКА в протеолипосомных системах (Esmann, Marsh, 2006; Cornelius, 2008; Cornelius et al., 2015; Habeck et al., 2015).

Регуляция активности ферментов, встроенных в мембраны, при этом может быть связана с изменением микровязкости мембран, которая в свою очередь обусловлена содержанием НЖК и ПНЖК в составе фосфолипидов (Biochemistry ..., 2002). Морские организмы содержат большое количество ПНЖК, особенно высокополиненасыщенных жирных кислот: ЭПК и ДГК (Tocher, 2003; Murzina et al., 2020, 2022). У рыб основными физиологически активными ПНЖК являются арахидоновая кислота (20:4n-6) и её метаболический предшественник – ЛК, а также ЭПК и ДГК.

Повышение содержания таких физиологически важных ПНЖК, как ЛК, ЭПК и ДГК, в жабрах горбуши при перемещении из морской части эстуария в зону нереста сопровождается снижением активности НКА. Некоторые данные литературы свидетельствуют о подавлении активности НКА при увеличении количества ПНЖК в составе мембранных липидов (Ahmed, Thomas, 1971). К микровязкости липидного окружения чувствительны только те мембранные ферменты, при работе которых происходит изменение их конформации (Kang, Leaf, 1996). Методом электронного парамагнитного резонанса показано влияние спин-меченых липидов на конформационную подвижность или на взаимодействие субъединиц НКА (Esmann, Marsh, 2006).

В составе липидов жабр горбуши из реки и прибрежной части эстуария наряду с повышением физиологически активных ПНЖК (ЛК, ЭПК и ДГК) отмечено повышенное содержание МАГ и ДАГ, а также ТАГ (только у горбуши из пресной воды). МАГ и ДАГ являются метаболическими предшественниками не только для синтеза ТАГ, но и для синтеза фосфолипидов (ФС, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилхолин) (Biochemistry ..., 2002). Повышение уровня ТАГ у горбуши из пресной воды предполагает активацию синтеза этих высокоэнергетических липидов, которые могут расходоваться на энергоёмкие процессы, в том числе на поддержание водно-солевого обмена и двигательную активность при миграциях рыб.

Таким образом, снижение активности НКА и изменение липидного состава клеточных мембран в жабрах являются механизмами, по-

средством которых горбуша адаптируется к изменению солёности среды. Эффективная осморегуляция позволяет горбуше поддерживать осмотическое постоянство внутренней среды при нерестовой миграции из моря в реку и реализовать репродуктивную стратегию.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование профинансировано из средств государственного бюджета, выделенных по государственным заданиям КарНЦ РАН FMEN-2022–0006 и FMEN-2022–0007.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алексеев М. Ю., Ткаченко А. В., Зубченко А. В. и др. 2019. Распространение, эффективность нереста и возможность промысла интродуцированной горбуши (*Oncorhynchus gorbuscha* Walbaum) в реках Мурманской области // Рос. журн. биол. инвазий. Т. 12. № 1. С. 1–13.
- Веселов А. Е., Павлов Д. С., Барышев И. А. и др. 2016. Полиморфизм поклатной молоди горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* в реке Индера (Кольский полуостров) // Вопр. ихтиологии. Т. 56. № 5. С. 571–576. <https://doi.org/10.7868/S0042875216040196>
- Гордеева Н. В., Салменкова Е. А., Прусов С. В. 2015. Динамика биологических и популяционно-генетических показателей у горбуши *Oncorhynchus gorbuscha*, вселённой в бассейн Белого моря // Там же. Т. 55. № 1. С. 45–53. <https://doi.org/10.7868/S0042875215010063>
- Елаев Н. Р., Семенов Е. В. 1974. Изменение активности мембранных АТФаз мозга при воздействии холино- и адреномиметических веществ // Биохимия. Т. 39. № 3. С. 636–640.
- Немова Н. Н., Кяйвяряйнен Е. И., Рендаков Н. Л. и др. 2021. Содержание кортизола и активность Na^+/K^+ -АТФазы при адаптации молоди горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Salmonidae) к изменению солёности среды // Вопр. ихтиологии. Т. 61. № 5. С. 599–606. <https://doi.org/10.31857/S0042875221050131>
- Павлов Е. Д., Ганжа Е. В., Павлов Д. С. 2022. Уровень тиреоидных и половых стероидных гормонов у горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* в морской и пресноводный периоды нерестовой миграции // Там же. Т. 62. № 3. С. 356–363. <https://doi.org/10.31857/S004287522203016X>
- Смирнов А. И. 1975. Биология, размножение и развитие тихоокеанских лососей. М.: Изд-во МГУ, 336 с.
- Цыганов Э. П. 1971. Метод прямого метилирования липидов после ТСХ без элюирования с силикагеля // Лаб. дело. Т. 8. С. 490–493.
- Ahmed K., Thomas B. S. 1971. The effects of long chain fatty acids on sodium plus potassium ion-stimulated adenosine triphosphatase of rat brain // J. Biol. Chem. V. 246. № 1. P. 103–109. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)62538-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)62538-4)
- Arduini A., Pescechera A., Dottori S. et al. 1996. High performance liquid chromatography of long-chain acylcarnitine and phospholipids in fatty acid turnover studies // J. Lipid Res. V. 37. № 3. P. 684–689. [https://doi.org/10.1016/S0022-2275\(20\)37609-4](https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)37609-4)
- Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes. 2002. Amsterdam et al.: Elsevier, 607 p.
- Birnie-Gauvin K., Bordeleau X., Cooke S. J. et al. 2021. Life-history strategies in salmonids: the role of physiology and its consequences // Biol. Rev. V. 96. № 5. P. 2304–2320. <https://doi.org/10.1111/brev.12753>
- Bradford M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. V. 72. № 1–2. P. 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Campbell J. H., Dixon B., Whitehouse L. M. 2021. The intersection of stress, sex and immunity in fishes // Immunogenetics. V. 73. № 1. P. 111–129. <https://doi.org/10.1007/s00251-020-01194-2>
- Contreras F.-X., Ernst A. M., Wieland F., Brugger B. 2011. Specificity of intramembrane protein-lipid interactions // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. V. 3. № 6. Article a004705. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004705>
- Cook K. V., McConnachie S. H., Gilmour K. M. et al. 2011. Fitness and behavioral correlates of pre-stress and stress-induced plasma cortisol titers in pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) upon arrival at spawning grounds // Horm. Behav. V. 60. № 5. P. 489–497. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2011.07.017>
- Cornelius F. 2008. Cholesterol-dependent interaction of polyunsaturated phospholipids with Na, K-ATPase // Biochemistry. V. 47. № 6. P. 1652–1658. <https://doi.org/10.1021/bi702128x>
- Cornelius F., Habeck M., Kanai R. et al. 2015. General and specific lipid-protein interactions in Na, K-ATPase // Biochim. Biophys. Acta – Biomembr. V. 1848. № 9. P. 1729–1743. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2015.03.012>
- Esmann M., Marsh D. 2006. Lipid-protein interactions with the Na, K-ATPase // Chem. Phys. Lipids. V. 141. № 1–2. P. 94–104. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2006.02.018>
- Folch J., Lees M., Sloane Stanley G. H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues // J. Biol. Chem. V. 226. № 1. P. 497–509. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)64849-5)
- Folmar L. C., Dickhoff W. W. 1980. The parr-smolt transformation (smoltification) and seawater adaptation in salmonids // Aquaculture. V. 21. № 1. P. 1–37. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(80\)90123-4](https://doi.org/10.1016/0044-8486(80)90123-4)
- Gallagher Z. S., Bystriansky J. S., Farrell A. P., Brauner C. J. 2013. A novel pattern of smoltification in the most anadromous salmonid: pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) // Can. J. Fish. Aquat. Sci. V. 70. № 3. P. 349–357. <https://doi.org/10.1139/cjfas-2012-0390>
- Guidelines for the use of fishes in research. 2014. Bethesda: Am. Fish. Soc., 90 p.

- Habeck M., Haviv H., Katz A. et al. 2015. Stimulation, inhibition, or stabilization of Na, K-ATPase caused by specific lipid interactions at distinct sites // J. Biol. Chem. V. 290. № 8. P. 4829–4842.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M114.611384>
- Handloser D., Widmer V., Reich E. 2008. Separation of phospholipids by HPTLC – an investigation of important parameter // J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. V. 31. № 13. P. 1857–1870.
<https://doi.org/10.1080/10826070802188940>
- Haviv H., Habeck M., Kanai R. et al. 2013. Neutral phospholipids stimulate Na, K-ATPase activity // Ibid. V. 288. № 14. P. 10073–10081.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M112.446997>
- Hayashi Y., Mimura K., Matsui H., Takagi T. 1989. Minimum enzyme unit for Na^+/K^+ -ATPase is the $\alpha\beta$ -protomer. Determination by low-angle laser light scattering photometry coupled with high-performance gel chromatography for substantially simultaneous measurement of ATPase activity and molecular weight // Biochim. Biophys. Acta – Biomembr. V. 983. № 2. P. 217–229.
[https://doi.org/10.1016/0005-2736\(89\)90237-X](https://doi.org/10.1016/0005-2736(89)90237-X)
- Heard W.R. 1991. Life history of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) // Pacific Salmon life histories. Vancouver: UBC Press. P. 121–232.
- Hwang P.-P., Lee T.-H., Lin L.-Y. 2011. Ion regulation in fish gills: recent progress in the cellular and molecular mechanisms // Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol. V. 301. № 1. P. R28–R47.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00047.2011>
- Inokuchi M., Hiroi J., Kaneko T. 2022. Why can mozambique tilapia acclimate to both freshwater and seawater? Insights from the plasticity of ionocyte functions in the euryhaline teleost // Front. Physiol. V. 13. Article 914277.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2022.914277>
- Kahovcová J., Odavić R. 1969. A simple method for the quantitative analysis of phospholipids separated by thin layer chromatography // J. Chromatogr. A. V. 40. P. 90–96.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)96622-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)96622-1)
- Kang J. X., Leaf A. 1996. Evidence that free polyunsaturated fatty acids modify Na^+ channels by directly binding to the channel proteins // Proc. Natl. Acad. Sci. V. 93. № 8. P. 3542–3546.
<https://doi.org/10.1073/pnas.93.8.3542>
- Kubokawa K., Watanabe T., Yoshioka M., Iwata M. 1999. Effects of acute stress on plasma cortisol, sex steroid hormone and glucose levels in male and female sockeye salmon during the breeding season // Aquaculture. V. 172. № 3–4. P. 335–349.
[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00504-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00504-3)
- Liao B.-K., Chen R.-D., Hwang P.-P. 2009. Expression regulation of Na^+/K^+ -ATPase $\alpha 1$ -subunit subtypes in zebrafish gill ionocytes // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. V. 296. № 6. P. R1897–R1906.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00029.2009>
- Madsen S. S., Küllerich P., Tipsmark C. K. 2009. Multiplicity of expression of Na^+ , K^+ -ATPase α -subunit isoforms in the gill of Atlantic salmon (*Salmo salar*): cellular localisation and absolute quantification in response to salinity change // J. Exp. Biol. V. 212. № 1. P. 78–88.
<https://doi.org/10.1242/jeb.024612>
- McCormick S.D. 2013. Smolt physiology and endocrinology // Fish Physiol. V. 32. P. 199–251.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396951-4.00005-0>
- McCormick S.D., Regish A.M., Christensen A.K. 2009. Distinct freshwater and seawater isoforms of Na^+/K^+ -ATPase in gill chloride cells of Atlantic salmon // J. Exp. Biol. V. 212. № 24. P. 3994–4001.
<https://doi.org/10.1242/jeb.037275>
- Murzina S.A., Pekkoeva S.N., Kondakova E.A. et al. 2020. Tiny but fatty: lipids and fatty acids in the daubed shanny (*Leptoclinius maculatus*), a small fish in Svalbard waters // Biomolecules. V. 10. № 3. Article 368.
<https://doi.org/10.3390/biom10030368>
- Murzina S.A., Voronin V.P., Ruokolainen T.R. et al. 2022. Comparative analysis of lipids and fatty acids in beaked redfish *Sebastes mentella* Travin, 1951 collected in wild and in commercial products // J. Mar. Sci. Eng. V. 10. № 1. Article 59.
<https://doi.org/10.3390/jmse10010059>
- Olsen R.E., Henderson R.J. 1989. The rapid analysis of neutral and polar marine lipids using double-development HPTLC and scanning densitometry // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. V. 129. № 2. P. 189–197.
[https://doi.org/10.1016/0022-0981\(89\)90056-7](https://doi.org/10.1016/0022-0981(89)90056-7)
- Paulsen T. 2022. Marine growth of introduced pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) caught in northern and central Norway: M. Sci. Thesis. Tromsø: UiT, 39 p.
- Sackville M., Wilson J.M., Farrell A.P., Brauner C.J. 2012. Water balance trumps ion balance for early marine survival of juvenile pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) // J. Comp. Physiol. B. V. 182. № 6. P. 781–792.
<https://doi.org/10.1007/s00360-012-0660-0>
- Sandlund O.T., Berntsen H.H., Fiske P. et al. 2019. Pink salmon in Norway: the reluctant invader // Biol. Invasions. V. 21. № 4. P. 1033–1054.
<https://doi.org/10.1007/s10530-018-1904-z>
- Schuurmans Stekhoven F.M.A.H., Tijmes J., Umeda M. et al. 1994. Monoclonal antibody to phosphatidylserine inhibits Na^+/K^+ -ATPase activity // Biochim. Biophys. Acta – Biomembr. V. 1194. № 1. P. 155–165.
[https://doi.org/10.1016/0005-2736\(94\)90215-1](https://doi.org/10.1016/0005-2736(94)90215-1)
- Shinji N., Tahara Y., Hagiwara E. et al. 2003. ATPase activity and oligomerization of solubilized Na^+/K^+ -ATPase maintained by synthetic phosphatidylserine // Ann. NY. Acad. Sci. V. 986. № 1. P. 235–237.
<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2003.tb07168.x>
- Tocher D.R. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish // Rev. Fish. Sci. V. 11. № 2. P. 107–184.
<https://doi.org/10.1080/713610925>
- Uchida K., Kaneko T., Yamaguchi A. et al. 1997. Reduced hypoosmoregulatory ability and alteration in gill chloride cell distribution in mature chum salmon (*Oncorhynchus keta*) migrating upstream for spawning // Mar. Biol. V. 129. № 2. P. 247–253.
<https://doi.org/10.1007/s002270050165>