

РГБ ОД

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Биологический факультет

На правах рукописи

ВАРНАВСКИЙ

Владимир Сергеевич

УДК 597.553.2.591.11

ФИКАЦИЯ ТИХООКЕАНСКИХ ЛОСОСЕЙ

03.00.10 - Ихтиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора биологических наук

Санкт-Петербург 1993

Работа выполнена в Камчатском отделении Тихоокеанского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии и Институте биологии моря ДВО РАН

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук

Г. Е. Шульман

доктор биологических наук

Р. В. Казаков

доктор биологических наук

Л. П. Рыжков

Ведущее учреждение:


Институт биологии Карельского филиала РАН

Защита состоится "\_\_\_\_" \_\_\_\_\_ 1993 г. в "\_\_\_\_" часов на заседании специализированного совета Д 063.57. 22 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора биологических наук при Санкт-Петербургском государственном университете по адресу: 199034, С-Петербург, Университетская набережная, 7/9.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке биологического факультета С-ПГУ.

Автореферат разослан "\_\_\_\_" \_\_\_\_\_ 1993 г.

Ученый секретарь

специализированного совета, к.б.н.  Д. К. Обухов

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность тем. Термин "смолтификация" объединяет широкий круг явлений этолого-физиолого-биохимической перестройки организма лососевых рыб, предшествующей и сопутствующей миграции из реки в море. Принято считать, что изменения функциональных систем организма, начинаясь в предмиграционный период под воздействием комплекса внешних циклически изменяющихся факторов, продолжаются при миграции молоди вниз по реке и завершаются у преобладающего числа особей ко времени выхода из устья реки. Несмотря на обилие работ, посвященных вопросам смолтификации лососевых, преобладающее их число ограничивалось изучением функциональных перестроек происходящих в речной период. Ранний морской период жизни лососей до сих пор оставался не исследованным с позиций завершения процесса смолтификации, что не давало возможности оценить масштабы физиологической гетерогенности молоди лососей, выходящих из устья реки в прибрежные солоноватые воды.

Ихтиологические исследования по оценке <sup>и</sup>выживаемости лососевых в различные периоды онтогенеза и их теоретическое обобщение в математических моделях свидетельствуют о том, что в открытом море элиминация лососей идет с постоянной скоростью, которая значительно ниже скорости элиминации молоди в ранний морской период (Mathews, Backley, 1976; Furnel, Brett, 1986). Формирование численности поколения у лососей фактически происходит в короткий пе-

риод прибрежной жизни после выхода молоди из устья реки.

Первоначальные исследования настоящей работы были посвящены изучению некоторых функциональных перестроек, происходящих у молоди лососей при миграции вниз по реке. Позднее основное внимание было уделено анализу физиологической гетерогенности молоди в ранний морской период жизни. Параллельно с анализом дикой молоди проводились исследования особенностей функциональных изменений, связанных с процессом смолтификации при ускоренном подращивании молоди в условиях рыбоводного завода.

Объектом оригинальных исследований данной работы была молодь тихоокеанских лососей, хотя в литературном обзоре проводится анализ и других видов лососевых, прежде всего атлантического лосося, ставшего уже классическим объектом при изучении процесса смолтификации.

Центральным моментом при изучении процесса смолтификации является анализ развития системы водно-солевого обмена по гипоосмотическому типу регуляции. Многочисленными экспериментами отечественных и зарубежных исследователей было показано, что развивающаяся у лососевых на базе гипоосмотического типа регуляции способность к соленостной адаптации может существенно варьировать в зависимости от биотических и абиотических факторов (размеры рыб, режим освещения, температура воды и др.). В большинстве случаев подобные эксперименты проводились по схеме: один фактор - тестирование его влияния на скорость

адаптации. В последние годы такой подход подвергается критике со стороны исследователей (Clarke, Shelbourn, 1985; 1989), считающих, что требуется комплексная многофакторная оценка по схеме: ряд ключевых факторов - тестирование их влияния на скорость адаптации.

В настоящей работе на примере хижуча и горбуши также дается предпочтение анализу развития соленостной адаптации в условиях двух-, трехфакторного эксперимента. Подобный подход дает возможность решать проблему оптимизации условий в "координатах основных факторов" и имеет непосредственный практический выход: разработку биотехнологических нормативов для перевода молоди из речной воды в морскую при интенсивном садковом одращивании лососевых.

Цель и задачи работы. Основной целью работы явилась комплексная оценка морфо-физиологического состояния молоди тихоокеанских лососей в речной и ранний морской период в связи с процессом смолтификации как возможным эндогенным фактором, влияющим на формирование численности поколения у лососей.

Конкретные задачи исследования сводились к следующему:

1. Исследовать способность к соленостной адаптации в речной и эстуарный периоды жизни физиологически гетерогенной (парр, пресмолт, смолт) молоди тихоокеанских лососей с длительным пресноводным периодом (на примере

кижуча и нерки) и провести анализ тестов, применяемых для дифференциации рыб разного физиологического статуса.

2. На примере кижуча исследовать гормональный статус молоди на протяжении всего периода протекания смолтификации - речного и раннего морского.

3. Изучить онтогенетические изменения некоторых функциональных систем, развитие которых прежде связывали с процессом смолтификации (становление фракционного состава гемоглобинов и развитие магний-регулирующей системы).

4. Исследовать способность к соленостной адаптации и физиологическую гетерогенность диких и искусственно подрощенных сеголеток горбуши с позиций протекания у них процесса смолтификации.

5. Провести изучение возможных подходов к проблеме оптимизации условий перевода молоди из пресной в морскую воду.

6. Исследовать способность к соленостной адаптации и характер протекания процесса смолтификации у разных экологических форм (жилой и проходной) тихоокеанских лососей (на примере кижуча и нерки).

7. Исследовать развитие способности к соленостной адаптации при ускоренном подрачивании тихоокеанских лососей.

Научная новизна. Впервые проведена комплексная физиологическая оценка молоди тихоокеанских лососей не только в речной, но и в ранний морской период. Такой подход позво-

автору выдвинуть положение: степень завершенности дифференциации можно рассматривать как эндогенный фактор, регулирующий численность молоди лососей в ранний морской иод.

Анализ гормонального статуса у молоди кижуча в предмиграционный, миграционный и ранний морской периоды позволяет впервые описать явление парр-реверсии у тихоокеанских лососей в природных условиях, выражающееся не только в гипозендокринном состоянии, но и в блокаде путей дифференциации гормона роста. Получены новые данные об активности гормона роста в регуляции водно-солевого обмена независимо от влияния этого гормона на рост.

Благодаря круглогодичным экспериментальным исследованиям в полевых условиях Камчатки, получены данные о времени становления магнийрегулирующего механизма и фракционного состава гемоглобинов у молоди кижуча и нерки. Ранее проводились лишь сезонные исследования, которые не позволяли решить эти вопросы.

Изучена гетерогенность сеголеток горбуши в период половой миграции; впервые было показано, что сеголетки горбуши с остаточным желточным мешком, мигрирующие при высокой температуре, имеют пониженную способность к осморегуляторной адаптации.

Проверена эффективность применения теста Кларка и Макбурна (Clarke, Blackburn, 1977) на дикой молоди разного физиологического состояния и обоснован вывод о том, что

этот тест является показателем развития гипоосмотического типа регуляции, а не тестом на смолтификацию, как полагали авторы.

Практическое значение работы. Предложен способ определения оптимальных режимов подрачивания рыб (авторское свидетельство СССР N 1472014 A 01 K61/00 15.04.89г. Бюл. N14), способ определения оптимальных режимов соленостной адаптации на основе многофакторной схемы эксперимента. Доказана необходимость биомониторинга сеголеток горбуши в период покатной миграции по наличию остаточного желточного мешка; метод может быть рекомендован для стационаров Котинро и Рыбвода. Анализ влияния температуры воды на способность к соленостной адаптации различных экологических форм кижуча позволил предложить жилого кижуча из лагунных озер Камчатки в качестве перспективного объекта марикультуры в регионах с высокими летними температурами воды (18-20°C) (Приморье России, Япония, Франция); в настоящее время продолжаются работы по созданию марикультуры жилого кижуча в рамках совместной программы между Токийским университетом и Котинро.

Апробация работы. Данные работы представлены на IV, V, VI Всесоюзных конференциях по экологической физиологии и биохимии рыб (Астрахань, 1979; Севастополь, 1982; Вильнюс, 1986), Всесоюзном совещании по экологической энергетике животных (Пушино, 1988), III Всесоюзном совещании по лососевидным рыбам (Тольятти, 1988), лекциях на био-

логической станции Нанаймо (Канада, 1989), объединенном коллоквиуме лаборатории физиологии Токийского университета и лаборатории эндокринологии Института океана (Япония, Токио, 1990; 1991), IV Международном симпозиуме по смолтификации в Нью-Брунсуике (Канада, 1992), на коллоквиумах лаборатории лососевых рыб Камчатского отделения ТИНРО (Петропавловск-Камчатский, 1981-84; 1989-93).

Публикации. По теме диссертации опубликована 31 работа в том числе одна монография; 7 статей опубликованы в международных журналах (Can. J. Fish. Aquat. Sci.; Aquaculture; Env. Biol. Fish.).

Объем работы. Диссертация представлена в двух томах, первый из которых состоит из введения, 6 глав обзора литературы и описания методов исследований; объем 150 страниц. Второй том включает три главы результатов и обсуждений собственных данных, а также заключения, выводов и списка литературы, изложенных на 290 страницах. Библиография составляет 773 источника (227 отечественных и 546 зарубежных). 37 таблиц и 49 рисунков помещены в соответствующих частях текста диссертации.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Сбор материала и постановка экспериментов выполнены на Карымайском наблюдательном пункте, озере Дальнем, Паратунской геотермальной станции ТИНРО, экспериментальной

аквариальной отдела лососевых рыб КОТИНРО, в течение круглогодичных исследований, проведенных в период с 1978 по 1992г. Анализ молоди из природных популяций проводился в течение экспедиционных работ на реках Ларатунка и Авача, Авачинской губе в период с 1984 по 1992г. Часть экспериментальной работы осуществлена на биологической станции Нанаймо (Канада, 1989г.) и лаборатории физиологии Токийского университета (Япония, 1990-1992гг.).

Анализ системы водно-солевого обмена и оценка солевого оптимума. Для оценки ионорегуляторной способности молоди тихоокеанских лососей проводили опыты по переводу рыб из пресной воды в морскую. Количество рыб, время выдерживания и условия проведения опыта даны при описании каждого конкретного эксперимента. О способности молоди лососевых к соленостной адаптации судили, принимая во внимание, что ионорегуляторная система развита тем лучше, чем:

- 1) быстрее идет стабилизация концентрации катионов плазмы крови к нормальному уровню,
- 2) меньше индивидуальный разброс значений концентраций от средней величины.

Наиболее часто использовалась схема опыта, предложенная В. К. Кларком и Дж. Блекбурном, согласно которой концентрацию натрия определяли через 7, 16, 24, 48 часов; хотя иногда использовалось и значительно более длительное время выдерживания молоди в морской воде в зависимости от конкретных задач эксперимента. Концентрацию катионов определяли на атомно-абсорбционном спектрофотометре. При работе с сего-

петками горбуши (масса тела 180-200 мг) концентрацию натрия определяли в тотальном мышечном гомогенате. Микрокапилляры строго дозированного объема от 0,5 до 10 мкл фирмы Drammond использовались для отбора плазмы крови.

Тест на определение летальности для 50% рыб солености воды — LC50-тест (Clarke et al., 1989) — также широко использовался в данной работе как при анализе дикой, так и искусственно подращенной молодежи. Этот метод хорошо дифференцирует пресмолтот от смолтот, не требует сложной аппаратуры, но предполагает наличие хорошей аквариальной с большим количеством аквариумов, поскольку рыбы переводятся из пресной воды в воду различной солености с интервалом соленостей 2-3‰. Необходимое условие для этого теста — это наличие широкого спектра соленостей, где наблюдается элиминация рыб в интервале от 0 до 100‰. Логарифмические значения соленостей аппроксимировались пробит-методом, используя пакет статистических программ Систат (Systat, 1988).

Для оценки функциональных возможностей системы регуляции солевого обмена и почек рыб использовали метод интравенных проб с внутримышечной инъекцией растворов солей различных ионов, разработанный в лаборатории профессора Ю. В. Наточина (Наточин и др., 1970). Анализируемую молодежь помещали в садок, им зашивали мочеполовое отверстие и внутримышечно инъецировали 1-2 мл на 100 г веса рыбы раствора хлористого магния или хлористого кальция. Через 3-4 часа у

рыб брали на анализ мочу и кровь. Мочу разводили бидистиллированной водой в соотношении 1:50; кровь - 1:100. О величине секретиции или реабсорбции судили, сравнивая концентрационный показатель для данного катиона с таковым инулина ( $U/P_{in}$ ), который был определен ранее для молоди нерки озера Дальнего (молодь этой популяции была использована в опытах) и равен  $2,5 \pm 0,24$  (Наточин и др., 1970).

При оценке многофакторного влияния на способность к соленостной адаптации использовались различные варианты дисперсионного анализа для расчета значений концентраций натрия и величины  $LC_{50}$  (ANOVA, Systat, 1988). Оценка оптимальности условий при многофакторной схеме эксперимента проводилась с использованием метода поверхностей (Schnute, McKinnell, 1984), представляющим собой один из вариантов нелинейного регрессионного анализа. Компьютерная обработка данных по этому методу была проведена с использованием пакета программ, любезно предоставленного автору доктором МакКиннеллом (McKinnell, PS version of Response Surface Analysis).

Другой подход при определении оптимума по схеме однофакторного эксперимента был основан на принципе минимизации суммарных энергетических затрат в оптимальных условиях (Зиничев, Варнаровский, Зотин, 1989). В качестве оценочной функции использовали зависимость суммарных энергозатрат на прирост единицы массы тела ( $\Sigma Q$ ) от солености воды. Величину  $\Sigma Q$  определяли по формуле:

$\Sigma Q = 4,86 \cdot R \cdot T \cdot W$ , где  $\Sigma Q$  суммарные затраты энергии в калориях;  $R$  - интенсивность потребления кислорода, мл  $O_2$  /г.сут;  $T$  - время, необходимое на прирост 1г массы тела, в сутках;  $W$  - масса тела, г; 4,86 - оксикалорийный коэффициент. Зависимость  $\Sigma Q$  от солености воды ( $S$ ) аппроксимировалась уравнением параболы:  $\Sigma Q = aS^2 + bS + c$ . Экстремум параболы, соответствующий минимальным энергозатратам, рассчитывался по формуле:  $S = b/2a$ . Интенсивность потребления кислорода определяли также одним из вариантов полярографического метода, описанного Л. Б. Кляшторным (1978).

Возможность применения величины электропроводности ( $L$ ,  $ом^{-1} \cdot мм^{-1}$ ) в качестве физиологического теста на готовность молоди к соленостной адаптации исследовали в серии экспериментов, сравнивая эффективность этого показателя с тестом Кларка-Блекбурна. Микрокапилляры с плазмой крови помещали между платиновыми электродами, на концы которых подавался переменный ток со стабилизированным входным напряжением 10-30 В. Электрическое сопротивление плазмы крови определяли, используя метод совмещения (Варнавский, 1990а). Удельную величину электропроводности определяли по формуле:  $L = 1/R \cdot l/S$ , где  $R$  - сопротивление в омах,  $l$  - длина участка капилляра с плазмой в мм,  $S$  - площадь капилляра в  $мм^2$ .

Соленостный преферендум определяли по ранее описанной методике (Хлебович, Львова, 1975). Для опытов был при-

менен простейший градиент-прибор собственной конструкции, описанный в диссертации.

Оценка функциональных изменений в системах белкового и липидного метаболизма, транспортной системе крови и эндокринной системе. Определение содержания РНК и ДНК в гомогенате мышечной ткани проводили по ранее описанной методике (Орехович, 1977). Индекс РНК/ДНК определяли как отношение величин оптических плотностей ( $D$ ) при длине волны 260 нм.

Активность щелочной фосфатазы анализировалась согласно методике (Колб, Камышников, 1962). Активность рассчитывалась в мкг Рн/мг белка в час, где Рн - величина неорганического фосфора, определенная как разность между эндогенной и экзогенной фракциями фосфора. Изменения в системе липидного метаболизма оценивали по определению величины перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой с последующим определением содержания малонового диальдегида (Satoh, 1978). Величина эндогенного малонового диальдегида (МДА) определялась в мкмоль МДА/мг белка. Содержание белка измерялось по методу Лоури (Lowry et al., 1951).

Фракционный состав гемоглобинов определяли методом электрофореза в вертикальном блоке полиакриламидного геля. Методика подробно описана в работе автора (Варнавский, Варнавская, 1984). Денситометрию гелевых пластин, окрашенных кумасси, проводили на приборе фирмы "Hilger &

atts". Относительные концентрации гемоглобиновых фракций определяли по соотношению площадей (площадь под пиком данной фракции к общей площади под кривой денситограммы). Жщее содержание гемоглобина определяли по методу Сали, принятому для анализа крови у молодежи лососевых (Глаголева, 977).

Радиоиммунологическое определение содержания гормонов плазме крови было проведено совместно с доктором Т. Самойтой на базе Токийского университета (лаборатория физиологии - руководитель профессор Т. Хирано). Концентрации гормонов определяли согласно ранее описанным методам для: гормона роста (Bolton et al., 1986), кортизола (Takahashi et al., 1985), тироксина и трийодтионина (Tagawa, Hirano, 1987; 1990).

Ранний морской период (распределение темпа роста, экспериментальный анализ). Ежедекадные неводные отловы на контрольных станциях использовались в качестве основного метода при анализе распределения молодежи в различных зонах солености Авачинской губы. Весьма вероятно, что использование только неводных отловов (без пелагического траления) не дает истинной картины распределения молодежи лососевых в прибрежных солоноватых водах, особенно для такого вида как нерка, молодежь которого очень быстро откочевывает из прибрежья в пелагиаль. Тем не менее использованный метод, по мнению автора, является достаточно эффективным для целей данной работы: установить продолжительность пребы-

вания молоди тихоокеанских лососей в прибрежных солоноватых водах после их выхода из устья реки.

Темп роста рыб во всех случаях рассчитывался по единой формуле:  $G = \log W_2 - \log W_1 / t$  (%), где  $W_1$  и  $W_2$  средняя масса тела особи в выборке во время предыдущего и последующего взвешивания,  $t$  - временной интервал (в сутках) между двумя последовательными взвешиваниями.

Список признаков, использованных при экстерьерном анализе у молоди кижуча, с градацией по степени их выраженности приведен в соответствующем разделе диссертации. За основу экстерьерного анализа взяты признаки, описанные ранее (Gorbman et al., 1982). При обработке материала использован аппарат пошагового дискриминантного анализа. Геометрическая интерпретация степени сходства выборок дана на основе расстояния Махалобиса -  $D^2$  (Афифи, Эйзен, 1982).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Некоторые морфофизиологические изменения у молоди тихоокеанских лососей в предмиграционный и миграционный периоды

Проводился сравнительный анализ молоди кижуча и нерки, различающейся по миграционному статусу и по экстерьерным характеристикам: парр (немигрирующая молодь с характерными у кижуча темными полосами по бокам тела),

пресмолт и смолт (мигрирующая молодь, различающаяся между собой рядом экстерьерных признаков).

Становление магний- и натрийрегулирующего механизмов у лососевых на примере нерки и кижуча. Ранее (Наточин и др., 1970) было показано, что система эффективной секреции магния является функционально зрелой у молоди нерки перед миграцией в море, и почка может функционировать подобно нефрону морских костистых рыб уже в пресной воде. Автором были проведены круглогодичные эксперименты с молодью нерки и кижуча для того, чтобы определить время становления магнийрегулирующего (Варнавский, 1981) и натрийрегулирующего (Варнавский, Варнавская, 1984а; Варнавский, 1984) механизмов и связь со смолтификацией. Концентрационный показатель (отношение концентрации магния в моче к таковой в плазме) магния у парр молоди разных размерных групп (от 6 до 90 г) после инъекции хлористого магния находится в пределах от 6 для парр молоди в октябре, до 9 - для пресмолтов в мае, что значительно выше, чем у инъецированных пресноводных рыб (Лаврова, Наточин, 1973). Максимальной величины (до 13) концентрационный показатель достигает у смолтов, что достоверно ( $P < 0,05$ ) выше, чем у парр молоди.

Для всех исследованных групп смолтов и пресмолтов, мигрирующих вниз по реке, и различающихся между собой экстерьерными признаками, независимо от массы рыб и их возраста, отмечено соответствие тесту Кларка-Блекбурна:

концентрация натрия через 24 часа выдерживания в соленой (30‰) воде становится ниже критической (170 мэкв/л). Смолты и пресмолты хорошо выдерживали перевод в соленую воду - смертность не превышала 5%. У крупной парр молоди, исследованной задолго до покатной миграции, адаптация к соленой воде протекает более успешно (соответствие тесту), чем у мелкой (несоответствие тесту - концентрация натрия выше критической); для парр молоди отмечена достоверная линейная обратная связь ( $r = -0,76$ ;  $P < 0,05$ ) размеров рыб с величиной концентрации  $\text{Na}^+$  (Варнавский, 1985).

В онтогенезе тихоокеанских лососей по мере роста парр молоди происходит становление магниевых и натрийрегулирующих механизмов системы водно-солевого обмена, обеспечивающих способность к ионной регуляции в морской воде и расширяющих эвригалинность. Несоответствие тесту Кларка-Блекбурна определенно свидетельствует о плохой ионной регуляции, однако соответствие тесту не дает гарантии, что молодь завершила процесс смолтификации и готова к жизни в море, поскольку по этому тесту не удастся разделить друг от друга крупную парр молодь, пресмолтов и смолтов. В последующих исследованиях автором было показано, что 96 часовой LC50 тест хорошо дифференцирует между собой вышеописанные морфофизиологические группы, поэтому при анализе молоди в эстуарной зоне чаще применялся этот тест.

Становление фракционного состава гемоглобинов. У годовалой парр молодежи, исследованной летом и осенью, и двухгодовалой парр молодежи в различные сезоны года фракционный состав гемоглобинов сходен с таковым у смолтов и взрослых рыб, выловленных в море. У сеголеток и годовалой парр молодежи ранней весной отсутствует полный спектр фракций (Варнавский, Варнавская, 1984б). Представленные данные позволили сделать вывод, что полный спектр гемоглобиновых фракций, присущий взрослым рыбам, формируется у годовалой парр молодежи в весенне-летний период по достижении определенных размеров тела. У старших возрастных групп молодежи кижуча и нерки, независимо от того, мигрирует ли молодь в море или остается в пресной воде, присутствует весь набор молекулярных форм гемоглобина.

Таким образом, становление фракционного состава гемоглобинов, как и развитие магний- и натрийрегулирующего механизмов, предшествует процессу смолтификации и наряду с развитием других функциональных систем подготавливает его осуществление.

Развитие способности к соленостной адаптации у сеголеток горбуши в период покатной миграции. Исходя из положения, что покатная миграция у лососевых, как с длительным пресноводным периодом, так и мигрирующих сеголетками (горбуша, кета) происходит в связи с процессом смолтификации, мы (Varnavsky et al., 1992) исследовали ге-

терогенность мигрирующих вниз по реке сеголеток горбуши и анализировали их солеустойчивость (LC50 тест) и способность к ионной регуляции (анализ концентрации натрия в тотальном мышечном гомогенате) в зависимости от температуры воды. Выбранные температуры включали весь спектр, который имеет место в период покатной миграции, продолжающейся обычно на протяжении месяца, и в ранний морской период жизни.

Несмотря на то, что сеголетки горбуши, мигрирующие по реке, не дифференцируются по окраске на пресмолтов и смолтов, как это присуще кижучу, они весьма гетерогенны по такому морфологическому признаку как наличие остаточного желтого мешка (ОЖМ). Хорошо выделяются две группы сеголеток: 1 - ОЖМ больше 3% от массы тела (виден невооруженным глазом), 2 - ОЖМ меньше 3% или отсутствует вообще.

Мониторинг гетерогенности сеголеток, проводившийся с 1983 по 1990 гг. в реке Утке (охотоморское побережье Камчатки), позволил показать, что в начале покатной миграции пропорция сеголеток группы 1 варьировала от 0% (1984, 1988 годы) до 75% (1987 год), пропорция таких сеголеток в середине покатной миграции была незначительной, а в конце миграции эта группа рыб вообще отсутствовала.

Анализ концентрации  $\text{Na}^+$  выявил достоверные различия в скорости стабилизации при низкой ( $2^{\circ}\text{C}$ ) и высокой ( $16^{\circ}\text{C}$ ) температурах по сравнению с таковой при средних ( $6, 9, 13^{\circ}\text{C}$ ) значениях температуры воды (рис.1). Дисперсионный анализ

оказал достоверное влияние как сроков покатной миграции ( $P < 0,05$ ), так и температуры воды ( $P < 0,005$ ) на ионорегуляторную способность сеголеток горбуши. Поскольку в начале миграционного хода велика пропорция рыб с остаточным желточным мешком, автор предположил, что именно этот фактор (а не срок покатной миграции) влияет на скорость габилитации  $\text{Na}^+$ . Серия последующих экспериментов подтвердила предположение о плохой адаптации к морской воде

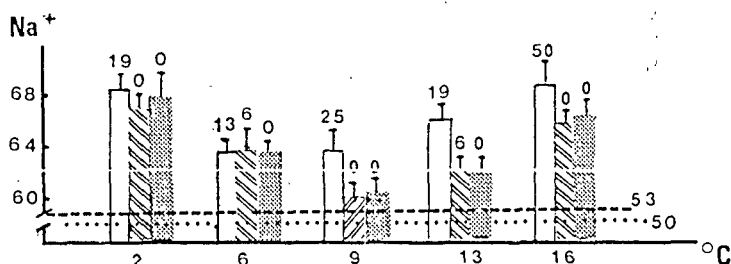


Рис.1. Концентрация  $\text{Na}^+$  (ммоль/л) в тотальном гомогенате мышечной ткани (по вертикали) у сеголеток горбуши после 3 часов выдерживания в морской (30‰) воде различной температуры (по горизонтали: при анализе в начале (□), середине (▨), конце (▩) покатной миграции; числа над столбиками указывают процент рыб с ОЖМ.

- уровни  $\text{Na}^+$  соответственно в пресной (50 ммоль/л) и морской (53 ммоль/л) воде после 144 часов выдерживания при

сеголеток с остаточным желточным мешком по сравнению с

рыбами не имеющими такового; особенно эффект был выражен при низкой температуре.

Ранний морской период как период завершения смолтификации

Первоначальный этап работы включал анализ распределения молоди тихоокеанских лососей в прибрежной солоноватой воде после выхода из устья реки с тем, чтобы дифференцировать рыб на быстро покидающих эстуарий (в дальнейшем эту группу будем называть группа 1) и на рыб, остающихся в прибрежье на более длительное время (группа 2). В Авачинской губе, выбранной в качестве модельного водоема, широко представлены все зоны солености: олиго- (0,5-5‰), мезо- (5-18‰) и полигалинная (18-30‰). Проводилась оценка количества молоди на единицу орудий лова (КМЕОЛ); на станциях отлова, выбранных с учетом того, чтобы осуществлять одновременный контроль за пократной миграцией в реке и различных зонах солености в губе. Ежедекадно облавливались все станции, что давало возможность фиксировать наличие молоди в различных зонах солености, одновременно следя за продолжительностью пократной миграции. Анализ проведен для кижуча, чавычи, кеты и горбуши.

Как показано на рис. 2, на примере кижуча и горбуши: 1) временной разрыв между миграцией по реке и выходом молоди в воду океанической солености отсутствует: по крайней мере часть молоди, выйдя из устья реки, сразу откочевывает в морскую воду (группа 1), 2) молодь встре-

чается в уловах, проводимых в различных по солености участках Авачинской губы, через 1-2,5 месяцев после окончания покатной миграции, а часть молоди кижуча (вероятно, и чавычи) остается зимовать в солоноватой воде. Следующая часть работы включала анализ морфофизиологического статуса выделенных двух групп молоди.

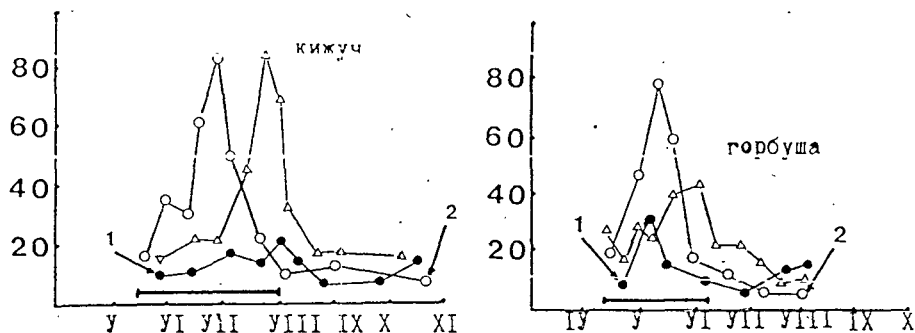


Рис. 2. Сезонные изменения в распределении молоди кижуча и горбуши в олиго (О), мезо (Δ), полигалинной (●) зонах Авачинской губы. По вертикали - число рыб на замет закидного невода; каждая точка соответствует среднему из числа 3-5 заметов. По горизонтали - месяцы. ———— - продолжительность покатной миграции. Время отлова и зона солености для группы 1(1) и группы 2(2) показаны стрелками

Молодь группы 1 обладала значительно более высоким темпом роста (1,42% для кижуча, 1,22-1,66% для горбуши), чем рыбы из группы 2 (0,69 и 0,95% соответственно для кижуча и горбуши) при анализе как в натурных условиях (Varnavsky et al., 1992), так и при экспериментальном подраживании, (Варнавский, 1990б).

Достоверно более высокие значения индекса РНК/ДНК у рыб из группы 1 (рис.3) также свидетельствуют о различиях мгновенного темпа роста у выделенных групп. Ранее группа исследователей (Thorpe et al., 1982) продемонстрировала связь этого показателя с темпом роста у молоди атлантического лосося. Так, явление бимодальности размеров у сигов этого вида в премиграционный период, описанное в ряде работ (Thorpe, 1977; Thorpe et al., 1982), достаточно хорошо выявилось при анализе индекса РНК/ДНК: группа быстрорастущих рыб, составляющих верхнюю моду, имела более высокие значения этого показателя, чем группа медленно-растущих рыб.

Диссертантом в условиях экспериментального подраживания двух групп сеголеток кижуча (группа, которую кормили до насыщения и группа рыб, не получавших корма) было показано, что возрастание индекса РНК/ДНК у интенсивно питавшихся сеголеток происходит за счет увеличения содержания РНК при сравнительно сходных для обеих групп рыб значениях ДНК (рис. 3Б). Так как наши исследования при экспериментальном подраживании сеголеток кижуча, как и

литературные данные, свидетельствуют о том, что значения индекса РНК/ДНК коррелируют с темпом роста, можно предположить, что в выборках молоди из Авачинской губы распределения РНК/ДНК (рис. 3А) отражают изменчивость темпа роста. Недавно (Benfey et al., 1993) появились данные, что весьма эффективным косвенным показателем темпа роста может быть оценка активности фермента орнитин декарбоксилазы (ОДС, ЕС 4.1.1.17). К сожалению, пока нет данных,

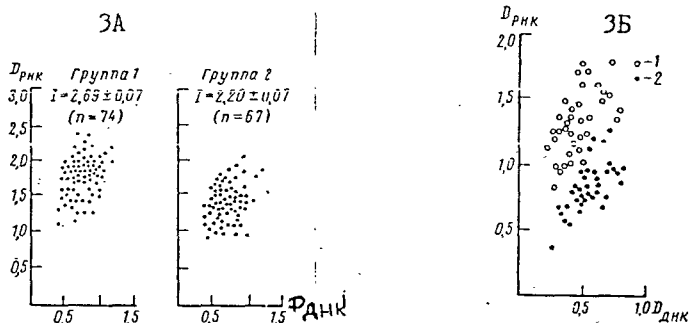


Рис. 3А. Оптические плотности  $D_{РНК}$  и  $D_{ДНК}$  в гомогенатах мышц молоди кижуча, быстро покидающей Авачинскую губу (группа 1), надолго остающейся в эстуарии (группа 2).  $\bar{I}$  - индекс РНК/ДНК.

Рис. 3Б. Оптические плотности  $D_{РНК}$  и  $D_{ДНК}$  в гомогенатах мышц интенсивно питавшихся (1) и голодавших (2) сеголеток кижуча при экспериментальном выдерживании в лабораторных условиях.

сравнивающих эффективность этого показателя с индексом РНК/ДНК.

Молодь обеих групп хорошо выживала при переводе из солоноватой (5-12‰) в морскую (30-35‰) воду и была способна к быстрой стабилизации концентрации  $\text{Na}^+$  как в плазме крови (не различалась по тесту Кларка-Блекбурна), так и в межклеточной жидкости мышечной ткани. Тем не менее LC50 тест достоверно ( $P < 0,05$ ) дифференцирует эти две группы молоди по солеустойчивости.

Наряду с РНК/днк у молоди кижуча и горбуши в Авачинской губе проводился анализ активности щелочной фосфатазы (ЩФ) и малонового диальдегида (МД) ЩФ является важным ферментом при интенсивном склеритообразовании; МД - отражает изменения в пропорции полиненасыщенных жирных кислот. Наиболее значимыми для дифференциации указанных двух групп молоди были РНК/днк и величина МД (рис.4). С целью оценки гетерогенности мигрирующих по реке сеголеток горбуши был проведен дискриминантный анализ (группы 1 и 2, анализированные по вышеуказанным трем признакам, были использованы в качестве "реперов") (Varnavsky et al., 1992a), показавший физиологическую неоднородность сеголеток.

Были получены достоверные различия между рыбами группы 1 и 2 при анализе величины соленостного преферендума у сеголеток горбуши и кеты. У группы 1 как у кеты, так и у горбуши, соленостный преферендум к концу опыта,

продолжавшегося 5-6 суток, превысил 20%, а у группы 2 эта величина осталась ниже 16 % (Варнавский, 19906). Концентрация гемоглобина оказалась не информативной для дифференциации эстуарной молодежи; хотя наблюдалась некоторая тенденция к увеличению количества гемоглобина у группы 1 по сравнению с группой 2.

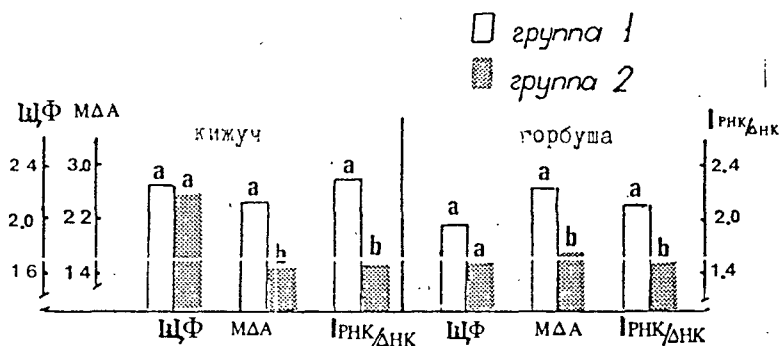


Рис.4. Активность ЩФ, МДА, величины Iгнк/днк у молодежи кижуча и горбуши; быстро покидающих эстуарий (группа 1) и остающихся длительное время в эстуарии (группа 2). Значения, имеющие разные буквенные обозначения достоверно ( $P < 0,05$ ) отличаются между собой.

Помимо описанных критериев проводился экстерьерный анализ эстуарной молодежи и оценка численного соотношения групп 1 и 2 в течение ряда лет: 1) по мере миграции молодежи из реки в воду океанической солености происходит полная замена рыб группы 2 на группу 1, 2) процентное соотношение

представленных групп (на примере кеты) в олигогалинной зоне солености довольно значительно изменяется по годам.

Явление парр-реверсии в природных популяциях кижуча.

Морфофизиологическая неоднородность молоди, мигрировавшей в эстуарий, позволила автору предположить, что часть преждевременно вышедшей в Авачинскую губу молоди может подвергаться изменению, сходным с парр-реверсией, при садковом подрачивании. Среди молоди кижуча, отловленной в полигалинной зоне солености (морских смолтов - МС), встречаются особи с пониженным коэффициентом упитанности и окраской, сходной с таковой у стаунтов, описанных для кижуча из морских садков (Gorbman et al., 1982); доля таких рыб очень незначительна. Мы провели специальную работу (Varnavsky et al., 1992b), когда после массовых неводных отловов в полигалинной зоне солености отбирались особи с значениями коэффициента упитанности ниже 1% и пониженными (по сравнению со средневыворочными) значениями размерно-массовых показателей среди одновозрастной (1+) молоди кижуча (далее эта группа называется стаунт). Для сравнения гормонального статуса была также отловлена типичная парр молодежь из верховий р.Паратунка и мигрирующая вниз по реке молодежь (ММ) из устья этой реки. Концентрация  $\text{Na}^+$  у парр была достоверно ниже, чем у ММ, МС и стаунтов (Табл.1), достоверных различий у трех последних групп по этому показателю не обнаружено. Вероятно, стаунты способны регулировать уровень ионов в плазме крови, находясь в

морской воде. Более высокий уровень как Т4, так и Т3 наблюдается у ММ и МС по сравнению с парр. Это согласуется с ранее полученными данными о роли тиреоидных гормонов в процессе смолтификации лососевых (Young et al., 1989a).

Таблица 1.

Концентрация натрия (ммоль/л) и уровни гормонов (нг/мкл) в плазме крови у кижуча на разных стадиях онтогенеза

Группа	Натрий	GH	T4	T3	Кортизол
Парр	138±15,2 <sup>a</sup> (4)	13,7±2,3 <sup>a</sup> (6)	0,7±0,4 <sup>ab</sup> (3)	0,2±0,1 <sup>a</sup> (2)	5,8±0,8 <sup>a</sup> (6)
ММ	167±7,2 <sup>b</sup> (8)	55,0±8,5 <sup>b</sup> (7)	3,9±1,4 <sup>ac</sup> (8)	1,5±0,5 <sup>b</sup> (8)	64,7±21,5 <sup>b</sup> (8)
МС	169±9,5 <sup>b</sup> (15)	11,7±1,8 <sup>a</sup> (12)	2,3±0,6 <sup>c</sup> (16)	3,9±0,6 <sup>c</sup> (16)	47,9±9,7 <sup>b</sup> (16)
Стаунты	168±5,1 <sup>b</sup> (17)	41,5±9,0 <sup>b</sup> (8)	0,3±0,1 <sup>b</sup> (17)	0,3±0,1 <sup>ab</sup> (17)	42,0±13,6 <sup>b</sup> (17)

Примечание. Значения в скобках число рыб. Значения с разными буквенными обозначениями достоверно ( $P < 0,05$ ) отличаются по t-тесту. ММ - мигрирующая молодь; МС - смолты из морской воды; GH - гормон роста; Т4 - тироксин; Т3 - трийодотиронин.

уровень этих гормонов у диких стаунтов, описанных нами, был достоверно ниже, чем у МС; сходные результаты получены у стаунтов в условиях аквакультуры (Young et al., 1989b).

Концентрация кортизола у стаунтов была несколько ниже, чем у МС и ММ, хотя эти различия не достоверны. Хотя мы не можем полностью исключить возможности влияния стресса, связанного с поимкой рыб, на уровень кортизола, полученные значения соответствуют таковым для нестрессированных рыб (Pickering et al., 1991).

Уровень гормона роста (GH) у ММ был достоверно выше, чем у парр, в то время как у МС он был близок к таковому у парр (Табл. 1). GH у стаунтов достоверно выше, чем у МС и близок к таковому у мигрирующих вниз по реке молоди (ММ). Увеличение числа рецепторов в органах-мишенях при высокой реторной активности гормона гипофизом (Sakamoto et al., 1983) приводит к высокому уровню гормона роста в плазме крови как у диких (наши данные), так и у искусственно выращенных стаунтов (Gray et al., 1990). Обнаруженная в настоящей работе блокада путей утилизации гормона роста у стаунтов протекает на фоне пангипоэндокринного состояния, характерного для этой группы ранее (Nishioka et al., 1982).

К настоящему времени предложены две гипотезы для объяснения явления парр-реверсии:

1. Стаунты - результат нарушений в белковом и углеводном метаболизме, поскольку осмотический и ионный гомеостаз у стаунтов достигается за счет очень высоких энер-

гозатрат. В результате сравнительно незначительная часть энергии, получаемой с пищей, идет на рост (Woo et al., 1978). Недавно (Sumpter et al., 1991) получены данные, подтверждающие эту гипотезу: при длительном голодании в плазме крови у молоди лососей наблюдается сходная, с описанной нами для стаунтов, блокада путей утилизации GH. Можно предположить, что в условиях голодания не может полностью реализоваться ростовой эффект гормона роста, несмотря на его высокую синтетическую активность. Авторы этой гипотезы исходили из того факта, что стаунты выживают в морской воде и способны, как и смолты, стабилизировать концентрацию натрия в плазме крови. На этом основании был сделан вывод, что система водно-солевого обмена функционирует у них по гипоосмотическому типу регуляции, хотя на это и требуются значительные энергозатраты.

2. Несмотря на способность стаунтов регулировать уровень натрия в плазме крови, система водно-солевого обмена у них функционирует со значительными нарушениями (в диссертации приведен ряд фактов, подтверждающих это положение). Поэтому, независимо от того, какая доля энергии, получаемой с пищей, идет на рост организма, эта молодь будет продолжать "чахнуть" (Sakamoto et al., 1993). Автор совместно с японскими коллегами (Т. Хирано и Т. Сакамото) предположили, что смена солености воды должна оказать более сильный эффект на уровень гормона роста у стаунтов, чем режим питания, при условии, если эта гипотеза

верна и GH обеспечивает не только ростовой эффект, но и принимает участие в ионной регуляции.

Был проведен опыт по схеме: 1) парр в пресной воде без кормления, 2) парр в пресной воде при кормлении, 3) парр в соленой (24‰) воде без кормления, 4) парр в соленой воде при кормлении. Уже на третьей неделе эксперимента стали проявляться и сохранились на протяжении последующих недель

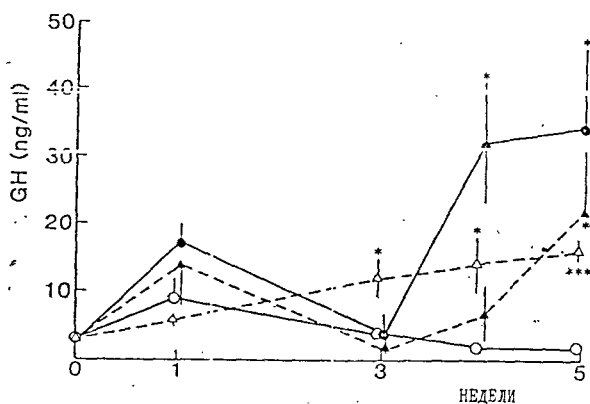


Рис.5. Изменение концентрации гормона роста (GH) при экспериментальном выдерживании парр молоди кижуча в пресной воде с кормлением (○), в пресной воде без кормления (△), в соленой воде (24‰) без кормления (▲) и соленой воде с кормлением (●). \* -  $P < 0,05$ ; \*\*\* -  $P < 0,001$  достоверные отличия от группы (○).

достоверные отличия по коэффициенту упитанности у рыб, которых кормили, по сравнению с голодающими. В это время начали проявляться и существенные отличия в уровне GH: влияние смены пресной воды на соленую оказало значительно более сильный эффект на уровень GH, чем режим питания (рис. 5). Мы предполагаем, что повышение уровня гормона роста в плазме крови у стаунтов обусловлено участием этого гормона в осмо(ионо)регуляции, возможно, независимо от ростового эффекта этого гормона. У стаунтов, вероятно, не происходит утилизация гормона в органах-мишенях: рецепция GH в клетках печени радужной форели при длительном выдерживании в морской воде резко снижалась (Sakamoto et al., 1993); в результате, не идет выработка соматостатина (IGF-1). Инъекции IGF-1 дозозависимо способствовали восстановлению концентрации  $\text{Na}^+$  у радужной форели.

Конкретный механизм блокады GH на пути его утилизации органами-мишенями во многом остается непонятным и требует дальнейших исследований, как, впрочем, и роль GH в ионной регуляции. Для этой работы стаунты лососевых могут быть хорошим модельным объектом.

Все вышеприведенные факты позволяют сделать вывод, что мигрирующая по реке молодь тихоокеанских лососей как с длительным пресноводным периодом, так и с редуцированной пресноводной фазой (горбуша, кета) по своему морфофизиологическому состоянию, связанному с процессом смолтификации, является гетерогенной: вниз по реке мигрируют как

смолты (группа 1), так и пресмолты (группа 2); завершение смолтификации для последних происходит уже в прибрежной солоноватой воде. Данные по темпу роста, индексу РНК/ДНК, тестам, характеризующим состояние системы водно-солевого обмена, а также анализ гормонального статуса молоди на разных этапах покатной миграции - все это свидетельствует, что ранний морской период является исключительно важным для завершения смолтификации. Вероятно, наиболее надежным критерием завершившегося процесса смолтификации является изменение пресноводного темпа роста на морской. Именно поэтому, очевидно, столь рельефными были различия в индексе РНК/ДНК: с увеличением тканевого роста идет интенсивная наработка матричной РНК, в то время как суммарное содержание ДНК не изменяется.

Особенности физиологических изменений у лососевых, связанные процессом смолтификации в условиях искусственного подраживания.

Способность к соленостной адаптации акселерированной молоди.

Эксперименты проводились на акселерированных сеголетках нерки и кижуча (геотермальная вода использовалась в качестве теплоносителя), достигших к лету первого года размеров годовалой покатной молоди. В качестве физиологических критериев были использованы: тест Кларка-Блекбурна, оценка величины элиминации молоди при

перевode из пресной в морскую воду, электропроводность плазмы крови, оценка активности хлоридных клеток жабр.

Наиболее резкое увеличение концентрации катионов отмечено для акселерированных сеголеток групп 2, 4, 7 (рис.6) с массой тела менее 7 г. У этих же групп помимо натрия значительно выше контрольного уровня (на 48-56% и 56-112%) остаются значения концентраций соответственно для кальция и магния через сутки выдерживания в морской (30‰) воде. Сходно с дикими смолтами процесс адаптации протекает у крупных акселерированных сеголеток с массой тела более 9 г (рис.6). От концентрации основных ионных компонентов крови зависят и ее электролитические свойства.

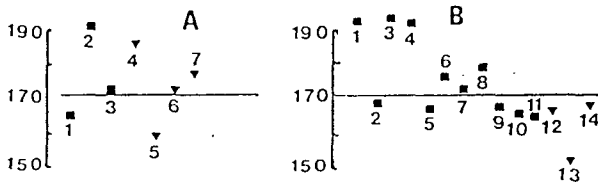


Рис. 6. Оценка способности к поддержанию ионного гомеостаза в соленой (30‰) воде у акселерированной (А) и дикой (В) молоди кижуча (■) и нерки (▲) по тесту Кларка-Блекбурна. По вертикали: концентрация  $\text{Na}^+$  в плазме крови (мэкв/л), по горизонтали: группы рыб.

А - масса тела рыб: группы 1, 3, 5, 6 более 9г; 2, 4, 7 - менее 7г. В - группы 9-13 смолт; остальные парр.

Вопрос о зависимости величины электропроводности (L) времени стабилизации ионного состава и возможность пользования этого показателя в качестве физиологического ста в практике марикультуры исследовался диссертантом в при экспериментов (Варнавский, 1990а). Обе адаптационные звые (по концентрации  $\text{Na}^+$  и по величине L) как у парр, к и у смолт являются высокосопряженными ( $r=0,79$  и  $r=0,81$  и смолт и парр соответственно), поэтому оценка величины L кет быть использована, как и оценка  $\text{Na}^+$ , при тестировании юди на способность к ионной регуляции. Так, акселери- занные сеголетки горбуши и кеты сравнимы по ионорегуля- ной способности (положительный результат на оба теста) смолтами кеты и кижуча из эстуария; мелкие акселери- анные сеголетки нерки дали отрицательный результат как тесту Кларка-Блекбурна, так и по величине L (рис.7).

способность к соленостной адаптации искусственно рошенных сеголеток горбуши. Влияние размеров тела, пературы воды, продолжительности пребывания в пресной е сеголеток горбуши исследовалось по схеме гофакторного эксперимента с оценкой концентрации  $\text{Na}^+$  в альном мышечном гомогенате и солеустойчивости (LC50 г). Дисперсионный анализ показал, что время перевода зличие в месяц) не влияло на ионорегуляторную обность сеголеток, но было отмечено достоверное влияние тературы воды и размеров рыб. Влияние температуры воды

более рельефно выражено у крупных (перерощенных в два раза

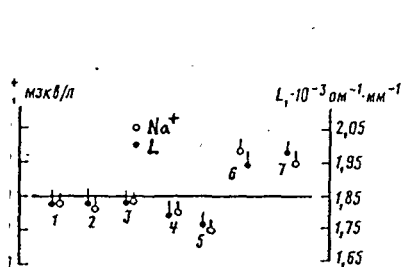


Рис. 7. Оценка ионорегуляторной способности по тесту Кларка-Блекбурна и по величине удельной электропроводности ( $L$ ) у акселерированных сеголеток горбуши (1), кеты (2, 3), нерки (6, 7) с массой тела менее 3 г и у диких смолтов кеты (4), кижуча (5), мигрировавших из реки в эстуарий. Горизонтальная линия соответствует критической величине  $L$  и  $Na^+$ . Каждая точка 6-12 рыб

ки (6, 7) с массой тела менее 3 г и у диких смолтов кеты (4), кижуча (5), мигрировавших из реки в эстуарий. Горизонтальная линия соответствует критической величине  $L$  и  $Na^+$ . Каждая точка 6-12 рыб

по сравнению с размерами дикой поклатной молодежи) сеголеток: перерощенные в пресной воде сеголетки обладают пониженной по сравнению с поклатной молодежью солеустойчивостью, в том случае, если адаптация к соленой воде осуществляется на границе термотолерантного диапазона. В зоне температурного оптимума различия в солеустойчивости, оцененные по LC50 тесту, между двумя исследованными размерными группами были невелики.

Оптимальная зона в пространстве изученных признаков рассчитанная с использованием метода поверхностей (вариант нелинейного регрессионного анализа - Schnute, McKinnell,

1984), наглядно показывает, что перерощенные сеголетки имеют более узкую температурную зону при соленостной адаптации (рис.8).

Диссертант исследовал и другой возможный подход к оценке оптимума, основанный - на - принципе минимизации суммарных энергетических затрат, необходимых для развития в оптимальных условиях (Зиничев, Варнавский, Зотин, авторское свидетельство, 1989). Следует сразу отметить, что этот

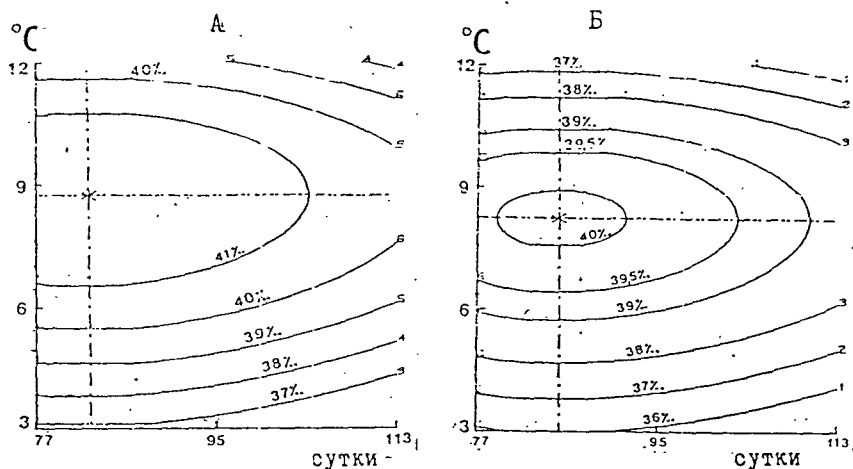


Рис.8. Оценка оптимальности условий - температуры воды ( $^{\circ}\text{C}$ ) и сроков перевода (сутки подращивания, считая от 1 января) в соленую воду, рассчитанная по LC50 тесту для мелких (А) и крупных (Б) сеголеток горбуши с массой тела соответственно 200 и 1400 мг.

подход практически невозможно реализовать при многофакторной схеме эксперимента. Это существенно снижает его ценность по сравнению с вышеописанным методом, поскольку не дает возможность оценить "оптимальное поле" в пространстве основных факторов, влияющих на адаптацию.

Метод поверхностей, использованный диссертантом, в настоящее время успешно применяется для разработки биотехнологических нормативов подращивания молоди лососевых в Канаде (Clarke, Shelbourn, 1985; 1989).

Жилой кижуч из лагунных озер Камчатки как возможный объект садкового подращивания. Солеустойчивость при различных температурах ( $7-18^{\circ}\text{C}$ ) изучалась разными группами исследователей и считается общепринятым, что температура воды  $18^{\circ}\text{C}$  и выше лежит за пределами комфортной зоны для смолтификации и соленостной адаптации молоди кижуча. Между тем молодь жилого кижуча, обитающая в лагунных озерах Камчатки, где температура воды в летние месяцы поднимается до  $20^{\circ}\text{C}$  (Куренков и др., 1982), проявляет внешние признаки смолтификации. Было проведено сравнение солеустойчивости (анализ LC50 теста) при различных температурных режимах у молоди проходного и жилого кижуча (Varnavsky et al., 1993). Молодь жилого кижуча проявляла высокую солеустойчивость при всех анализированных температурных режимах с апреля по ноябрь и достоверно более высокую солеустойчивость при  $18^{\circ}\text{C}$  по сравнению с таковой у молоди проходного кижуча (рис. 9).

Дисперсионный анализ показал, что соленостная адаптация у молоди проходного кижуча зависела как от сезона года, так и от температуры воды; для молоди жилого кижуча было отмечено только достоверное влияние сезона года в интервале исследованных температур.

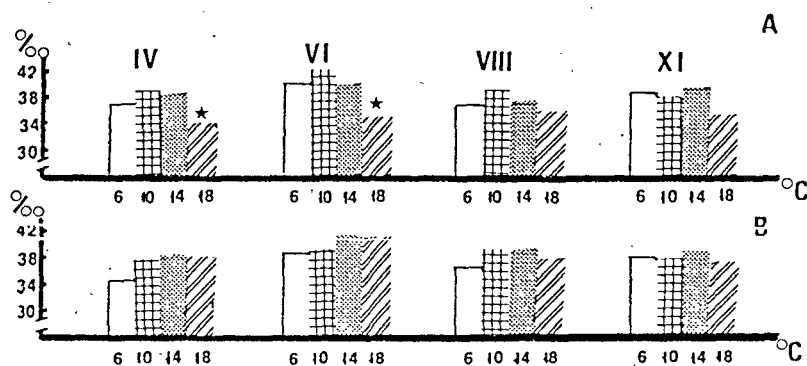


Рис. 9. Солеустойчивость (LC50 тест) молоди анадромного (А) и жилого (В) кижуча. По вертикали соленость (‰), по горизонтали температура воды (°C). \* - достоверные отличия ( $P < 0,05$ ) от других температурных групп, включая таковые у молоди жилого кижуча при 18 °C. Римскими цифрами обозначены календарные месяцы

Выдерживание молоди жилого кижуча в морской воде в течение 19 суток при температуре 18 °C в июле привело к

заметному увеличению концентрации гормона роста в плазме крови по сравнению с рыбами, содержащимися в морской воде не более 5 суток. Контрольный уровень GH у молоди из пресной воды достоверно не изменялся в течение 19 суток эксперимента, хотя индивидуальный разброс значений через 7 суток был очень высоким (рис. 10). Увеличение концентрации GH в плазме крови через несколько недель выдерживания молоди кижуча в морской воде наблюдалось как для стаунтов, полученных при заводском выращивании молоди (Bolton et al., 1987; Young et al., 1989a), так и для стаунтов из природных

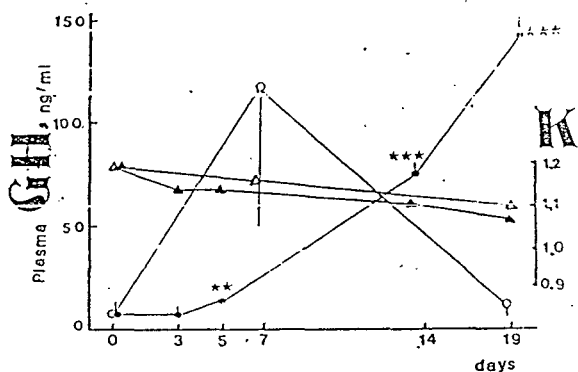


Рис. 10. Изменение концентрации (GH) в плазме крови (●—●) и коэффициента упитанности (▲—▲) у молоди жилого кижуча при выдерживании в морской (30‰, 18°C) воде (●—●) по сравнению с пресной водой (○—○). \*\* -  $P < 0.01$ ; \*\*\* -  $P < 0.001$ . Каждая точка 4 - 13 рыб

популяций (Varnavsky et al., 1992). Возможно, что

увеличение концентрации GN было обусловлено режимом питания в период эксперимента, поскольку наблюдалось достоверное снижение коэффициента упитанности от начала к концу опыта как в пресной (от 1,2% до 1,1%), так и в морской (от 1,2% до 1,05%) воде (рис.10). Между тем нельзя исключить и другое объяснение - парр-реверсию молоди жилого кижуча при длительном выдерживании в морской воде.

Несомненно, требуются дополнительные эксперименты по подращиванию жилого кижуча в морских садках с проточной морской водой и нормальным режимом питания с тем, чтобы оценить возможность появления стаунтов в аквакультуре жилого кижуча в регионах с высокими летними температурами воды. Вышеизложенные опыты, выполненные диссертантом совместно с японскими коллегами на молоди жилого кижуча, позволяют надеяться на положительное решение проблемы с подращиванием кижуча в морских садках при высоких летних температурах. В Японии стратегия подращивания кижуча включает перевод смолтов в морские садки в октябре-ноябре, когда температура воды в море снижается до 17°C (Iwata, larke, 1987; Iwata, 1988), что ограничивает возможности выводов по акселерации процессов роста и смолтификации молоди кижуча. По этой же причине до сих пор не развивается аквакультура кижуча в дальневосточном регионе России (Приморье).

## Выводы

1. На примере молоди нерки и кижуча, исследованных в предмиграционный и миграционный периоды, показаны онтогенетические изменения, преадаптирующие тихоокеанских лососей к жизни в море:

а) доказано наличие потенциально развитой системы секреции магния клетками нефрона у парр молоди нерки задолго до миграции в море; у смолтов уже в пресной воде наблюдается экскреция магния клетками нефрона,

б) у парр молоди кижуча и нерки к весне первого года появляются фракции гемоглобинов, которые присутствуют у немигрирующей молоди старших возрастных групп. Становление фракционного состава гемоглобинов предшествует процессу смолтификации и наряду с развитием других функциональных систем подготавливает его осуществление.

2. Исследована система водно-солевого обмена у молоди лососевых в предмиграционный и миграционный периоды. Доказано, что отрицательный результат по тесту Кларка-Блекбурна определенно свидетельствует о плохой солеустойчивости лососевых, однако положительный результат не дает гарантии, что молодь завершила процесс смолтификации и готова к жизни в море. По этому тесту не удастся также отделить пресмолтов от смолтов.

3. Изучена гетерогенность сеголеток горбуши в период покатной миграции: сеголетки горбуши с остаточным желточным

ком, мигрирующие при низкой температуре, имеют сниженную способность к соленостной адаптации. Предлагается проводить мониторинг качества сеголеток горбуши по наличию остаточного желточного мешка.

4. На примере кижуча, нерки, кеты показано, что вниз по реке мигрирует молодь двух экстерьерных типов: пресмолт и смолт. Продолжительность пребывания в прибрежных солоноватых водах молоди, относящейся к разным типам, различна в каждом случае, если рыбы имеют возможность выбрать оптимальные условия этого периода онтогенеза существования: пресмолты дольше остаются в прибрежье.

5. Между пресмолтами и смолтами отмечены различия по ряду этолого-биохимических показателей (различия в предельной температуре морской воды, в солеустойчивости, в индексе  $\Delta$ /ДНК, в темпе роста. Эти данные дают основание утверждать, что часть молоди завершает процесс смолтификации уже после выхода из реки.

6. Установленный нами факт изменения по годам соотношения пресмолтов и смолтов в выборках молоди из прибрежных солоноватых вод дает основание рассуждать о степени завершения смолтификации как эндогенный фактор, лимитирующий численность тихоокеанских лососей в прибрежный морской период их жизни.

7. Явление парр-реверсии впервые описанное нами для молоди кижуча из эстуарной зоны и выражающееся не только в пангипоэндокринном состоянии, но и в блокаде путей

утилизации гормона роста, также подтверждает вывод о том, что завершение смолтификации можно рассматривать как фактор, лимитирующий численность лососей в ранний морской период.

8. Повышение температуры воды при подраживании в условиях рыбоводного завода обеспечивает не только акселерацию роста сеголеток кижуча и нерки, но и ускоряет становление ряда систем, подготавливающих наступление смолтификации; в частности, происходит развитие гипоосмотического типа регуляции и формируется фракционный состав гемоглобинов, характерный для смолтов. Физиологические особенности становления изученных систем являются предпосылкой для редукции стадии парр и осуществления смолтификации.

9. Перерощенные (по сравнению с размерами диких сеголеток) в пресной воде в условиях рыбоводных заводов сеголетки горбуши обладают пониженной по сравнению с покатной молодью солеустойчивостью в том случае, если адаптация к соленой воде осуществляется на границе термотолерантного диапазона.

10. Молодь жилого кижуча из лагунных озер Камчатки обладает более широким термотолерантным диапазоном (по сравнению со смолтами анадромного кижуча), при котором у рыб отмечена высокая солеустойчивость. Жилой кижуч может быть перспективным объектом садкового подраживания в реги-

х, где температура воды в летние месяцы выше той, что людается в ареале обитания этого вида.

# СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ

## ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Варнавский В. С. Участие почек в ионной регуляции у молодежи нерки (*Oncorhynchus nerka* Walbaum). В кн: "Рыбы в экосистемах лососевых рек Дальнего Востока" Владивосток. 1981. С.161-167.

Варнавский В. С., Варнавская Н. В., Ковековдова Л. Т. К вопросу о роли телец Станниуса в ионной регуляции на примере карликовой красной озера Дальнего. Сб. Института Биол. моря ДВНЦ АН СССР. 1983. С.126-132.

Варнавский В. С., Варнавская Н. В. Особенности фракционного состава гемоглобинов у кижуча и нерки в связи с процессом смолтификации в естественных условиях и при подрачивании на геотермальных водах. Вопросы ихтиологии. 1984. Т. 23. Вып. 6. С. 464-471.

Варнавский В.С., Варнавская Н. В. Оценка некоторых показателей, характеризующих состояние ионорегуляторной системы у молодежи кижуча и нерки в связи с процессом смолтификации в естественных условиях и при подрачивании на геотермальных водах. Вопросы ихтиологии. 1984. Т. 24. Вып. 1. С.122-127.

Варнавский В. С. Некоторые показатели физиологического состояния при смолтификации кижуча и нерки в

естественных условиях и при подрачивании на геотермальных водах. Автореф. диссертации канд. биол. наук. Москва. 1984. 24С.

6. Варнавский В. С. Регуляция ионов натрия молодью нерки и кижуча в процессе смолтификации. Биология моря. 1985. №2. С.49- 54.

7. Варнавский В. С. Оценка 3- $\beta$ -стероидолдегидрогеназы при смолтификации кижуча (*Oncorhynchus kisutch*). VI Всесоюз. конф. экологич. физиологии и биохимии рыб. Вильнюс. 1986. С. 162.

8. Варнавский В. С., Зиничев В. В. Степень завершения смолтификации как эндогенный фактор, влияющий на элиминацию лососевых в период смены среды обитания // III Всесоюз. совещ. по лососевидным рыбам: Тез. докл. Тольятти, 1988. С.25.

9. Зиничев В. В. , Варнавский В. С. Оценка температурного и солевого оптимума у молоди лососевых. Экол. энергетика жив. Тезисы Всесоюз. Сов. Пушино. 1988. С. 67-68.

10. Зиничев В. В., Варнавский В. С., Сараванский О. Н. Влияние солености на энергетический обмен у акселерированных сеголеток кеты и оценка солевого оптимума. III Всесоюз. Сов. по лососевидным рыбам. Тез. докл. Тольятти. 1988. с. 123-124.

11. Варнавский В. С., Калинин С. В. Анализ индекса РНК/ДНК у лососевых в период смены среды обитания и его

связь с темпом роста рыб // III Всесоюз. совещ. по лососевидным рыбам: Тез. докл. Тольятти, 1988. С.53-54.

12. Варнавский В.С., Варнавская Н.В. Некоторые данные по биологии карликовой формы нерки оз. Дальнего (Камчатка)// Биология моря. 1988. N.2. С. 16-23.
13. Зиничев В. В., Варнавский В. С., Зотин А. И. Способ определения оптимальных режимов подраживания рыб. Авторское свидетельство СССР N. 1472014 А 01 К 61/00 15.04.1989. Бюл. 14.
14. Варнавский В.С. Смолтификация лососевых. Владивосток: ДВО АН СССР. 1990а. 180с.(монография)
15. Варнавский В.С. Электропроводность плазмы крови как тест на адаптацию к морской воде у лососей// ДАН СССР. 1990б. Т.311. С.1497-1499.
16. Варнавский В.С., Кинас Н.М. Гетерогенность сеголеток горбуши по способности к соленостной адаптации в период покатной миграции. Тез. докл. конферен. экологич. физиолог. Ленинград. 1990с. С.89.
17. Iwata M., Muto K., Akutsu U., Klyashtorin L.B., Smirnov B.P., Varnavsky V.S., Kurenkov S.I. Growth, maturation and seawater adaptability of Kamchatka Kokanee, *Oncorhynchus nerka*, Implanted in Nikko// Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture. 1990d. n.20. P. 41-51.
18. Варнавский В.С., Варнавская Н.В., Калинин С.В., Кинас

Н.М. Индекс РНК/ДНК как показатель скорости роста в ранний морской период жизни кижуча *Oncorhynchus kisutch*// Вopr. ихтиолор. 1991. Т.31. С.783-789.

19. Varnavsky V.S., Basov Y.S., Rostomova S.A. (Варнавский В.С., Басов Ю.С., Ростомова С.А.) Seawater adaptability of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) fry: effects of size and temperature// Aquaculture. 1991. Vol.99. P.355-363.
20. Varnavsky V.S. (Варнавский В.С.), Sakamoto T., Hirano T. Stunting of wild coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) in seawater: patterns of plasma thyroid hormones, cortisol, and growth hormone// Can. J. Fish. Aquat.Sci. 1992. Vol.49. P.458-461.
21. Varnavsky V.S., Kalinin S.V., Kinas N.M., Rostomova S.A. (Варнавский В.С., Калинин С.В., Кинас Н.М., Ростомова С.А.) The early sealife of coho, *Oncorhynchus kisutch*, and pink salmon, *O. gorbuscha*, as a period of completion of smoltification// Env. Biol. Fish. 1992a. Vol. 34. P. 401-408.
22. Varnavsky V.S., Kinas N.M., Rostomova S.A. (Варнавский В.С., Кинас Н.М., Ростомова С.А.) Development of seawater adaptation in pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha*, during downstream migration: relationships to temperature and residual yolk// Env.Biol.Fish. 1993. Vol. 36. P.373-379.
23. Varnavsky V.S. (Варнавский В.С.), Sakamoto T., Hirano

- T. Seawater adaptability of land-locked coho salmon from lagoon lakes of Kamchatka// Aquaculture. 1993a. Vol. 00.P. 000-000(in press). International Smolt Workshop, New-Brunswick, October 1993.
24. В. В. Зиничев, Варнавский В. С., Сараванский О. Н. Вли-  
солености на потребление кислорода молодью тихооке-  
анских лососей// Вопр. ихтиол. 1993б. Т. 33. Р. 225-  
229.
25. Varnavsky V. S., Vronsky B. B., Zorbidi J. H. (Варнавс-  
кий В. С., Вронский Б. Б., Зорбиди Ж. Х.) Seawater  
adaptability of underyearling coho, chinook and chum  
in estuary of Avacha River (Kamchatka)// Env. Biol.  
Fishes. 1993 c. Vol.00. P. 000-000 (in press).



Варнавский Владимир Сергеевич  
СМОЛТИФИКАЦИЯ ТИХООКЕАНСКИХ ЛОСОСЕЙ

Автореферат

ВД 05052. Подписано к печати 09.93 г.

Формат 60x84/16. Усл. п.л. 2. Уч.-изд. л.2

Тираж 100. Заказ 14

---

Издано и отпечатано КамчатНИРО. Петропавловск-  
Камчатский, Набережная 18.