

УДК 597.552.51.574.52.577.175.443

РОЛЬ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ В АДАПТАЦИИ ГОЛЬЦОВ РОДА *SALVELINUS* (SALMONIDAE) К ВУЛКАНИЧЕСКОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ МЕСТООБИТАНИЙ

© 2023 г. Е. В. Есин¹, *, Е. В. Шульгина², Н. С. Павлова³, Д. В. Зленко¹

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

²Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии – ВНИРО, Москва, Россия

³Московский государственный университет, Москва, Россия

*E-mail: evgesin@gmail.com

Поступила в редакцию 16.06.2023 г.

После доработки 03.07.2023 г.

Принята к публикации 03.07.2023 г.

Баланс между фенотипической пластичностью и адаптивной специализацией популяций при изменении внешнего воздействия остаётся актуальным вопросом эволюционной биологии. Для рыб мощнейшим фактором воздействия является химическое загрязнение мест обитания. В попытке оценить последствия масштабного загрязнения пресных вод для оседлых рыб мы исследовали камчатских гольцов *Salvelinus malma*, для которых характерен пedomорфоз в случае изоляции в ручьях на территории активного вулканизма с избыточным содержанием в воде тяжёлых металлов. Провели тесты на устойчивость гольцов к воздействию смесей металлов: в процессе нормального развития и в шести экспериментальных группах, в которых разными терапевтическими манипуляциями изменяли интенсивность обмена веществ и активность синтеза тиреоидных гормонов. Вода загрязнённых ручьёв оказалась токсична для зародышей и молоди неадаптированных гольцов, вызывая их гибель в семидневных тестах. Успешность акклимации к воздействию была скоррелирована с ростом секреции тиреоидных гормонов. В экспериментах только группа с гипертиреоидным статусом показала достоверное снижение смертности и ослабление окислительного стресса в растворах тяжёлых металлов. В условиях природного загрязнения гипертиреоидизм провоцирует у пedomорфных гольцов перераспределение ресурсов организма с соматического роста и морфологической дифференциации на противодействие стрессу и ускоренное половое созревание, необходимые для длительного выживания популяции в условиях увеличившихся рисков индивидуальной гибели. Эксперименты подчёркивают роль тиреоидных гормонов в быстрой ответной реакции рыб на загрязнение среды и последующей адаптации популяций к хроническому ухудшению условий воспроизводства.

Ключевые слова: загрязнение, вулканизм, нейроэндокринная регуляция, физиология, окислительный стресс, лососёвые.

DOI: 10.31857/S0042875223060036, **EDN:** ANAQJF

Анализ механизмов запуска и реализации разных каналов онтогенеза в ответ на воздействия внешних факторов представляет большой интерес для эволюционной биологии развития (Watson et al., 2016; Skúlason et al., 2019; Müller, 2021). Показано, что незначительные, но своевременные изменения в экспрессии отдельных генов или регуляторных факторов могут катализировать автокаскадные процессы развития, приводящие к контрастным фенотипическим вариантам, в том числе имеющим адаптивное значение (Nosil, Feder, 2012; Salisbury, Ruzzante, 2021). Например, у позвоночных изменение скорости дифференцировки соединительных тканей в голове по мере

развития приводит к искажению формы костей и в итоге – к изменению формы рта, что обеспечивает возможность эффективного потребления ранее недоступных кормов и генетическую фиксацию адаптаций (Skúlason et al., 2019). Близкородственные группы с разным размером тела и формой (анатомией) рта, которые разделяют доступные ресурсы экосистемы, описаны для рыб, рептилий, птиц и млекопитающих (Bolnick, Fitzpatrick, 2007; Seehausen, Wagner, 2014; Wollenberg Valero et al., 2019).

Модельным объектом для анализа механизмов регуляции развития у анамний традиционно выступают лососёвые рыбы. Для этой группы из-

вестны сотни случаев параллельного образования нескольких адаптивных фенотипов (Schluter, 2000). В частности, гольцы рода *Salvelinus* способны дивергировать в локальном нерестовом бассейне на формы, различающиеся размерами в 50–70 раз (Klemetsen, 2013; Маркевич, Есин, 2018). В ультраолиготрофных и особо глубоких озёрах для гольцов характерно образование популяций чрезвычайно тугорослых особей с пedomорфными признаками и анатомической редукцией (Østbye et al., 2020). В Исландии и на Камчатке миниатюрные короткоголовые гольцы, отличающиеся крайним вариантом проявления пedomорфоза, обнаружены в верховьях рек территорий активной вулканической деятельности (Kristjánsson et al., 2012; Есин, 2017).

Камчатские популяции миниатюрных гольцов во всех случаях населяют верховья химически загрязнённых “вулканических” ручьёв, изолированных от нижнего течения завалами и дамбами (Есин, 2017). Ниже преград, в зоне разбавления вулканического стока, воспроизводятся родительские популяции крупных мигрантных (в том числе анадромных) гольцов. Для миниатюрного фенотипа показана глубокая специализация метаболизма в ответ на хроническое загрязнение среды растворёнными тяжёлыми металлами, прежде всего, медью, цинком и свинцом (Есин и др., 2018). Энергозатратный физиологический сдвиг обеспечивает противодействие окислительному стрессу и сопровождается ускоренным половым созреванием в ущерб соматическому росту и морфологической дифференциации (Esin et al., 2020). Примечательно, что сходный тип метаболизма имеют популяции, изолированные в удалённых “вулканических” ручьях, различающихся концентрацией металлов и сроками изоляции (Есин и др., 2018).

В ходе полевых исследований удалось обнаружить, что миниатюрные гольцы из химически загрязнённых местообитаний отличаются хроническим гипертиреозом, в то время как уровень гормонов стресса у них снижен (Приложение). Акклимация к растворам тяжёлых металлов у потомков особей крупного мигрантного фенотипа также сопровождалась хроническим ростом концентрации тиреоидных гормонов в организме. Тиреоидные гормоны являются одними из ключевых факторов регуляции и переключения каналов развития у позвоночных. Они имеют мощный плейотропный эффект на все системы тканей и органов (Deal, Volkoff, 2020; Lema, 2020), регулируя у рыб скорость метаболизма и эффективность ассимиляции пищи (Gairin et al., 2022), контролируя рост и поведение (Birnie-Gauvin et al., 2021), участвуя в биохимической детоксикации и поддержании гомеостаза организма (Esin et al., 2021b). Таким образом, вероятно, что тиреоидные гормоны способны регулировать форми-

рование адекватного адаптивного фенотипа из генетически запрограммированного набора в ответ на воздействие определённого сочетания факторов среды.

Продолжая исследования адаптаций гольцов к вулканическому загрязнению местообитаний, мы провели серию экспериментов для подтверждения роли гипертиреозидизма в противодействии окислительному стрессу и в пedomорфной миниатюризации. Мы предполагаем, что растворы металлов в местах обитания популяций рыб миниатюрного фенотипа вызывают гибель молоди предковой мигрантной формы. После изоляции потомства мигрантных гольцов молодь массово гибнет от нарушения физиологических функций в течение нескольких поколений. Адаптация популяций происходит за счёт изменения типа развития и сдвига активности специфических метаболических каскадов функций в выжившей части потомства. Это переключение запускается ростом секреторной активности щитовидной железы. Мобилизация организма к противодействию стрессу сопровождается торможением соматического роста и пedomорфозом.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Подготовка молоди гольцов для экспериментов

В августе 2021 г. на нерестилище в бассейне р. Авача выловили производителей *Salvelinus malta* быстрорастущего мигрантного фенотипа. Путём искусственного оплодотворения получили две серии зародышей (в каждой смесь икры от трёх разных самок, осеменённая смесью спермы от шести самцов с эффективностью >95%). Через 40 ч после оплодотворения икру поместили в аквариальную установку; дальнейшие инкубацию и подращивание осуществляли в 250-литровых ёмкостях при стандартных контролируемых условиях: фильтрация и УФ-стерилизация с интенсивностью 900 л/ч (фильтры со встроенной помпой e902, лампы UV-C 11 Вт, “JBL”, Германия), общая жёсткость воды 2.5 ммоль/л, pH 7.8: концентрация кислорода ≥ 11 мг/л, температура $3.0 \pm 0.03^\circ\text{C}$, освещённость < 100 лк. После вылупления молодь рассаждали в сетчатые садки, свободно плавающие в ёмкостях, с плотностью 100 особей на 0.004 м^3 . Суммарная смертность к этому периоду не превысила 20%.

На 15-й неделе выращивания, когда молодь начала проявлять пищевую активность и заглатывать науплиусов *Artemia salina*, плотность посадки снизили в два раза, суточный режим освещения поменяли на 2000 лм в течение 10 ч и 100 лм ночью (лампы Sun-Glo, “Hagen”, Канада), температуру воды подняли до $4.2 \pm 0.06^\circ\text{C}$. Рыб кормили сбалансированным гранулированным кормом

Таблица 1. Качество воды в местах обитания *Salvelinus malma* в августе

Параметр	ПДК _{рх}	Водоток (географические координаты мест отбора проб — с.ш., в.д.)				
		Р. Авача (53°9.1', 157°55.4')	Руч. Фальшивый* (52°30.2', 158°13.5')	Руч. Кишуш* (56°29.5', 161°35.5')	Руч. Нижне- Кошелевский** (51°22.5', 156°35.3')	Руч. Тройной** (55°17.4', 157°12.5')
Cu ²⁺ , мг/л	0.001	<0.001	$\frac{0.013}{0.01-0.04}$	0.012	$\frac{0.014}{0.01-0.03}$	$\frac{0.033}{0.01-0.04}$
Zn ²⁺ , мг/л	0.010	<0.005	$\frac{0.042}{0.02-0.11}$	$\frac{0.069}{0.04-0.10}$	$\frac{0.102}{0.04-0.13}$	$\frac{0.048}{0.02-0.10}$
Pb ²⁺ , мг/л	0.006	<0.001	$\frac{0.008}{0.00-0.01}$	$\frac{0.033}{0.02-0.06}$	$\frac{0.019}{0.00-0.03}$	0.010
Жёсткость, ммоль/л	≤4.25	$\frac{1.85}{1.70-3.20}$	$\frac{4.00}{2.95-6.00}$	$\frac{3.70}{3.00-4.05}$	$\frac{2.00}{1.85-2.30}$	$\frac{2.50}{1.95-2.70}$
pH	≥6.5	$\frac{7.7}{7.5-7.8}$	$\frac{7.2}{7.1-7.8}$	$\frac{7.2}{7.1-7.3}$	$\frac{7.7}{7.7-7.9}$	$\frac{7.1}{7.0-7.3}$

Примечание. Популяции изолированы: *в течение десятилетий, **нескольких веков. ПДК_{рх} — предельно допустимое значение для рыбохозяйственных водоёмов; над чертой — среднее значение, под чертой — пределы варьирования показателя.

(“Corpens Vital”, Германия) — 5% массы тела в сутки.

Оценка токсичности воды в местах обитания популяций миниатюрных гольцов для экспериментальных особей

В ходе предварительных обследований ручье-вой сети территорий активного вулканизма на Камчатке были обнаружены четыре изолированные популяции миниатюрных гольцов. Все они населяют верховья порожистых ручьёв с межени-ным расходом менее 1.5 м³/с, протекающих по пирокластическим толщам галогенового возраста. Другие виды рыб, кроме *S. malma*, в “вулканиче-ских” ручьях не отмечены. Изоляция популяций гольцов в ручьях Фальшивый и Кишуш обуслов-лена сходом селей во второй половине XX в.; в ручьях Нижне-Кошелевский и Тройной гольцы на-селяют участки выше древних задернованных завалов и выходов термальных высокоминерализованных вод. В четырёх местах обитания рыб миниатюр-ного фенотипа, а также в местах отлова произво-дителей в р. Авача ежегодно в августе с 2017 по 2021 гг. отбирали пробы воды. После фильтрова-ния (гидрофильные мембранные фильтры с раз-мером пор 8 мкм, “Millipore”, Германия) воды из-меряли pH, общую жёсткость, а также concentra-цию ионов Cu, Pb и Zn на масс-спектрометре (Elan-6100, “Perkin Elmer”, США; чувствитель-ность ±0.1 мкг/л). На фоне умеренной жёсткости и субоптимального pH средние (и максимальные учтённые) концентрации трёх тяжёлых металлов в “вулканических” ручьях кратно превышали

предельно допустимые (ПДК), установленные для рыбохозяйственных водоёмов¹; вода в р. Авача оставалась химически не загрязнённой (таблица).

На основе данных о природном составе воды “вулканических” водотоков (таблица) в лабора-тории подготовили растворы, повторяющие сред-ние концентрации Cu, Zn и Pb в наиболее загряз-нённых ручьях Нижне-Кошелевский и Тройной. Для получения раствора #Кош на литр воды об-щей жёсткостью 2.25 ммоль/л растворяли 0.044 мг CuSO₄·5H₂O, 0.415 мг ZnCl₂·4H₂O и 0.050 мг Pb(CH₃COO)₂·3H₂O. Раствор #Тро получали рас-творением на литр воды той же жёсткости указан-ных веществ в количестве соответственно 0.133, 0.375 и 0.025 мг. Также подготовили третий рас-твор (#Макс) с концентрациями металлов, соот-ветствующими максимальным зарегистриро-ванным среди средних значений в августе в че-тырёх водотоках: 0.133 мг CuSO₄·5H₂O, 0.415 мг ZnCl₂·4H₂O и 0.066 мг Pb(CH₃COO)₂·3H₂O на литр. Концентрации металлов в растворах одно-кратно верифицировали масс-спектрометрически.

Токсичность трёх растворов для эксперимен-тальных гольцов относительно контроля (в чи-стой воде) была оценена по смертности в 7-суточ-ных тестах на восьми стадиях развития особей

¹ Нормативы качества воды водных объектов рыбохозяй-ственного значения, в том числе нормативы предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах вод-ных объектов рыбохозяйственного значения. Приложение к приказу Министерства сельского хозяйства РФ от 13.12.2016 г. № 552 (с изменениями от 12.10.2018 г., 10.03.2020 г.). <https://docs.cntd.ru/document/420389120>. Ver-sion 06/2023.

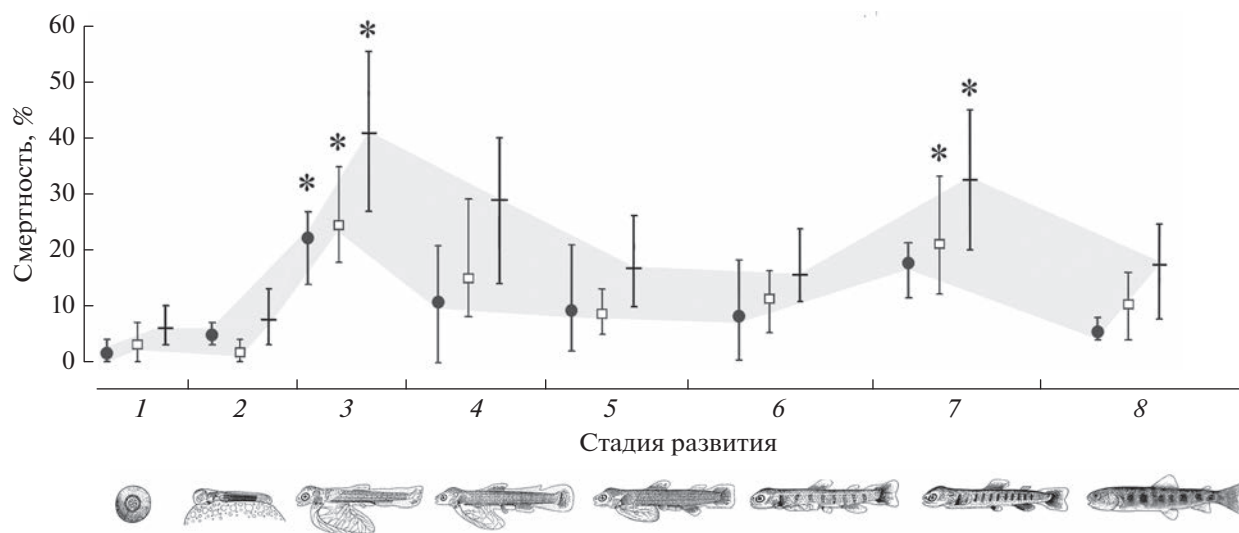


Рис. 1. Изменение смертности в контрольной группе *Salvelinus malma* в 7-суточных тестах по мере смены стадий развития (по: Gorodilov, 1996): 1 — гастрюляция, 2 — васкуляризация желтка, 3 — вылупление, 4 — свободный зародыш, 5 — переход на внешнее питание, 6 — смыкание стенок тела вокруг остатков желточного мешка, 7 — малёк, 8 — закладка чешуи и дифференциация основного ряда мальковых пятен (пестрятка). Средние значения для растворов, мг/л: (●) — #Кош (0.014 Cu, 0.102 Zn, 0.019 Pb), (□) — #Тро (0.033 Cu, 0.048 Zn, 0.010 Pb), (—) — #Макс (0.033 Cu, 0.102 Zn, 0.033 Pb); (▮), (■) — пределы варьирования и диапазон средневзвешенных значений; (*) — тесты, в которых смертность достоверно выше (дисперсионный анализ, тест Тьюки, $p \leq 0.05$), чем на ближайших стадиях развития.

(рис. 1), которые определяли согласно критериям, предложенным Есиным с соавторами (Esin et al., 2021a. Table S1. Fig. S5). Каждый тест проводили в трёх повторностях для каждой экспериментальной серии, которые не смешивали в течение всего периода работ. Использовали 2-литровые ёмкости с интенсивностью фильтрации 100 л/ч и принудительной аэрацией. В каждом тесте участвовало по 20 экз. (питающуюся молодь за сутки до тестов прекращали кормить). Смертность в группах сравнивали Post Hoc-тестами дисперсионного анализа в программе Statistica 10.

Манипуляции по изменению устойчивости экспериментальных гольцов к токсичности растворов

С момента перехода на внешнее питание молодь обеих серий была разделена на семь экспериментальных групп, которых далее при разных терапиях эндокринной системы выращивали 12 нед. (~350 градусо-дней) до полного исчезновения провизорных органов. Стимулирующие и тормозящие воздействия были проведены на трёх уровнях регуляции метаболизма.

1) Анаболизм и общий обмен веществ активировали (группа Insu) путём интенсивного кормления (+30% к рациону) и микроинъекций (1 мкл каждые 4 сут пневмоинъектором МРПИ-3, “ASI”, Япония) суспензией, содержащей 7.2 мкмоль монокомпонентного инсулина (“Медсинтез”, Рос-

сия; интенсификация гликолиза) и 2.0 нг ипаморелина (cas 170851-70-4, “Sigma”, США; стимулятор секреции грелина и факторов роста). Угнетение анаболизма (группа Sita) достигали путём ограничения подачи корма (–30% рациона), добавления в воду 33 мг/л ситаглиптина (cas 486460-32-6, “Акрихин”, Россия; ингибитор дипептидилпептидазы, деградирующей инсулиноподобные глюкагоновые пептиды) и микроинъекций каждые 4 сут по 2.0 нг сунитиниба (cas 341031-54-7, “Pfizer”, США; неспецифический ингибитор тирозинкиназ, обеспечивающих сродство факторов роста к рецепторам).

2) Активность тиреоидной регуляции обмена веществ повышали (группа Thyр) путём постоянного содержания молоди в растворе 1.0 мкг/л трийодтиронина (T_3) (cas 6893-02-3, “Sigma”; биологически активная форма тиреоидных гормонов) и дополнительно добавления в воду иопановой кислоты (cas 96-83-3, “Sigma”; ингибитор дейодиназ) из расчёта 2.0 мкг на 1 г рыбы. Угнетение активности щитовидной железы (группа Thio) проводили добавлением в воду 0.2 г/л тиомочевины (cas 62-56-6, “Solins”, Россия; неспецифический гойтроген).

3) Активность нейроэндокринной стимуляции щитовидной железы повышали (группа НТР) добавлением в воду 75 мг/л гидрокситриптофана (“Эвалар”, Россия; прямой предшественник серотонина, стимулирует тубероинфундибулярный путь (Лычкова, 2013)). Угнетение регуляторов пе-

редней доли гипофиза (группа РСРА) достигали добавлением в воду 1.7 мг/л параклорфенилаланина (cas 7424-00-2, “Sigma”; ингибитор триптофангидроксилазы, тормозит синтез серотонина).

Прочие условия выращивания были стандартными. Полную замену воды с действующими веществами выполняли каждые семь дней. Концентрации действующих веществ были подобраны исходя из результатов предварительных экспериментов и предписаний для лечения человека; все препараты в используемых концентрациях показали отсутствие острой токсичной реакции для молоди гольца.

Седьмую группу (контроль) содержали в чистой воде без терапевтических манипуляций.

Наличие эффекта терапевтических манипуляций проверяли через 12 нед. по изменению (относительно контроля) скорости роста рыб, показателя рутинного метаболизма (РПМ) и концентрации T_3 в теле. Длину тела по Смитту (FL) измеряли линейкой у 10–15 экз. каждой группы обеих серий. РПМ оценивали в середине светового дня по потреблению кислорода в покое у рыб, голодающих сутки (Eliason, Farrell, 2015). Для этого по четыре–пять мальков известной массы каждой серии дважды помещали в герметичную ёмкость объёмом 350 мл без пузырьков воздуха на 30 мин и измеряли падение концентрации кислорода в воде (датчик HI 9146-04, “Hanna Inst.”, Канада). Экстракцию T_3 из тела 5–6 экз. каждой серии выполняли, соблюдая общепринятый протокол (Holzer et al., 2017). Содержание гормона оценивали методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческого набора (“Monobind”, США) в соответствии с инструкцией производителя. Статистические сравнения выборок проводили Post Нос-тестами дисперсионного анализа.

Через неделю после завершения терапевтических манипуляций во всех группах провели стандартные 7-суточные тесты на выживаемость в растворе #Макс (в трёх повторностях для каждой группы обеих серий). Дополнительно из всех групп первой серии перед тестами и сразу по их завершении отобрали по 5 экз. без явных нарушений поведения для анализа интенсивности перекисного окисления липидов (показатель силы окислительного стресса (Schlenk et al., 2008; Eyskens et al., 2011)). Содержание продуктов окисления, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активные продукты), определяли спектрофотометрически (RT-2100C, “Rayto”, Китай) в супернатантах (2900 г 5 мин, Velocity-6μ, “Dynamica”, Великобритания), полученных из тел мальков с головой и жабрами без полостных органов, подвергшихся гомогенизации с добавлением фосфатно-солевого буфера в массовом отношении с пробой 1 : 1 (“Tissuelisser LT, Quagen”, Германия). Для определения количества ТБК-актив-

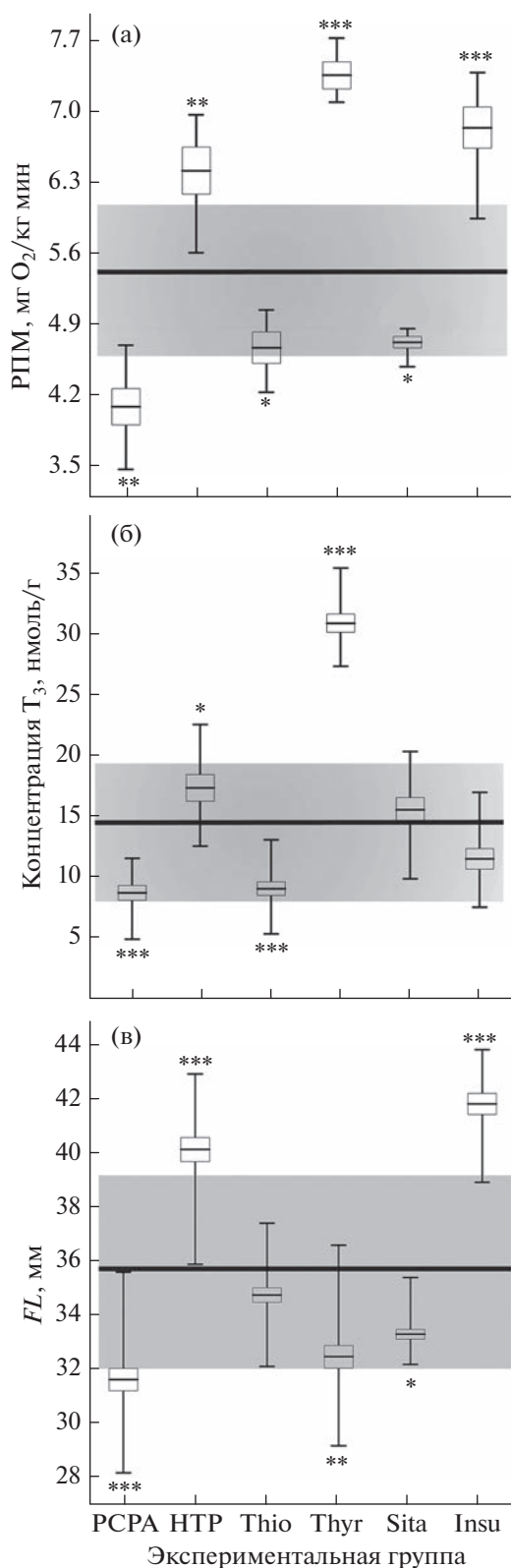
ных соединений использовали коммерческие наборы реагентов (“Агат-мед”, Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Содержание в растворах, повторяющих средние августовские концентрации Cu, Zn и Pb в ручьях Нижне-Кошелевский и Тройной, оказалось летальным для экспериментальной молоди *S. malma* быстрорастущего мигрантного фенотипа на всех стадиях развития. Поскольку результаты тестов были сходны для обеих экспериментальных серий, в анализе их объединили по стадиям развития. Смертность зародышей и молоди в растворах в 7-суточных тестах достигала 5–35%, оставаясь нулевой при содержании в чистой воде. Более 2/3 рыб во всех тестах погибали в течение первых 72 ч. Раствор с максимальным превышением ПДК по меди (#Тро) в среднем проявлял большую токсичность, чем раствор с максимальным превышением ПДК по цинку (#Кош). В растворе #Макс, повторяющем максимальные средние концентрации меди, цинка и свинца в ручьях, гибло в 1.5 раза больше особей, чем в #Тро. Тесты показали достоверные скачки смертности особей на стадиях вылупления и исчезновения провизорных органов во всех растворах (рис. 1).

Терапевтические манипуляции молоди обеспечили регистрируемый морфофизиологический эффект во всех шести группах. В соответствии с ожидаемым эффектом хронической активации и/или угнетения метаболизма группы РСРА, Thio и Sita продемонстрировали достоверное снижение РПМ, группы НТР, Thyг и Insu — повышение РПМ относительно контроля (рис. 2а). Для групп РСРА и Thio (НТР и Thyг) удалось добиться снижения (повышения) тиреоидного статуса (рис. 2б). В паре Situ—Insu эффект изменения тиреоидного статуса был противоположным и недостоверным. Вероятно, в этой паре имело место компенсаторное изменение активности гипоталамо-тиреоидной оси в ответ на терапию. Имея сходный размер (в среднем 20.0 ± 0.22 мм), рыбы из групп РСРА и Sita через 12 нед. прибавили в росте достоверно меньше контрольных, а из групп НТР и Insu — достоверно больше (рис. 2в). Также обращает на себя внимание достоверное замедление роста особей группы Thyг, отличающейся максимальным тиреоидным статусом и РПМ.

В 7-суточных тестах в растворе #Макс с самыми высокими концентрациями металлов экспериментальные группы после терапевтических манипуляций показали изменение выживаемости относительно контроля. Результаты тестов были сходны для обеих экспериментальных серий, и их объединили по группам. Группы со сниженным тиреоидным статусом РСРА — Thio, а также Insu — и угнетённым метаболизмом Sita характеризовались повышенной смертностью. Группы с повы-



шенным тиреоидным статусом НТР, особенно Thyр, продемонстрировали лучшую устойчивость к воздействию, чем контроль (рис. 3). Для групп НТР и Thyр была зарегистрирована не только лучшая выживаемость, но и минимальный рост средней концентрации ТБК-активных соединений в 7-суточных тестах, свидетельствующий о сравнительно слабом развитии окислительного стресса у выживших особей.

ОБСУЖДЕНИЕ

Камчатские гольцы *S. malma* поднимаются на нерест в верховья водотоков, дренирующих территории активного вулканизма, где размножаются в воде с многократным превышением ПДК меди, цинка и свинца для рыбохозяйственных водоёмов. Смеси этих металлов в избыточных концентрациях вызывают окислительный стресс, нарушения биохимических циклов и расходование резервов организма на поддержание гомеостаза (Olsson et al., 1998; Голованова, 2008; Eysckmans et al., 2011). Природные концентрации металлов “вулканических” ручьёв не препятствуют нересту производителей гольцов, которые сразу после размножения мигрируют вниз по течению в зону разбавления вулканического стока (наши наблюдения). В это же время зародыши и ранняя молодь гольцов высокочувствительны к воздействию и гибнут от окислительного стресса, особенно на стадии вылупления. К моменту достижения следующей критической стадии, т.е. окончательному переходу на внешнее питание, молодь в норме скатывается из зоны загрязнения. Судя по результатам наших тестов, во время раннего развития на нерестилищах в “вулканических” ручьях гибнет более половины поколения. Природные условия близки к границе предела выносливости вида. По всей видимости, в случае нереста в ручье с концентрациями металлов, соответствующими раствору #Макс (0.03 мг/л Cu, 0.10 мг/л Zn и 0.03 мг/л Pb), погибли бы все зародыши. Безрыбные, сильно загрязнённые (так называемые кислые) ручьи обнаружены вблизи всех мест обитания миниатюрных гольцов (Чалов, Есин, 2015).

Рис. 2. Показатели эффекта терапевтических манипуляций в шести экспериментальных группах *Salvelinus malma* относительно контроля: а – рутинный уровень метаболизма (РПМ), б – концентрация трийодтиронина (Т₃) в организме, в – длина тела по Смитту (FL); (—) – среднее, (□) – ошибка среднего, (▮) – пределы варьирования; (—), (■) – среднее значение и пределы варьирования в контрольной группе; (*) – группы, достоверно отличающиеся (дисперсионный анализ, тест Тьюки) от контроля по РПМ ($F_{6;42} = 46.1$), FL ($F_{6;159} = 108.8$) и концентрации Т₃ ($F_{6;89} = 68.1$) при p : * ≤ 0.05 , ** ≤ 0.01 и *** ≤ 0.001 . Условия выращивания экспериментальных групп (РСРА, НТР, Thio, Thyр, Sita, Insu) и описание терапевтических воздействий см. в рубрике “Материал и методика”.

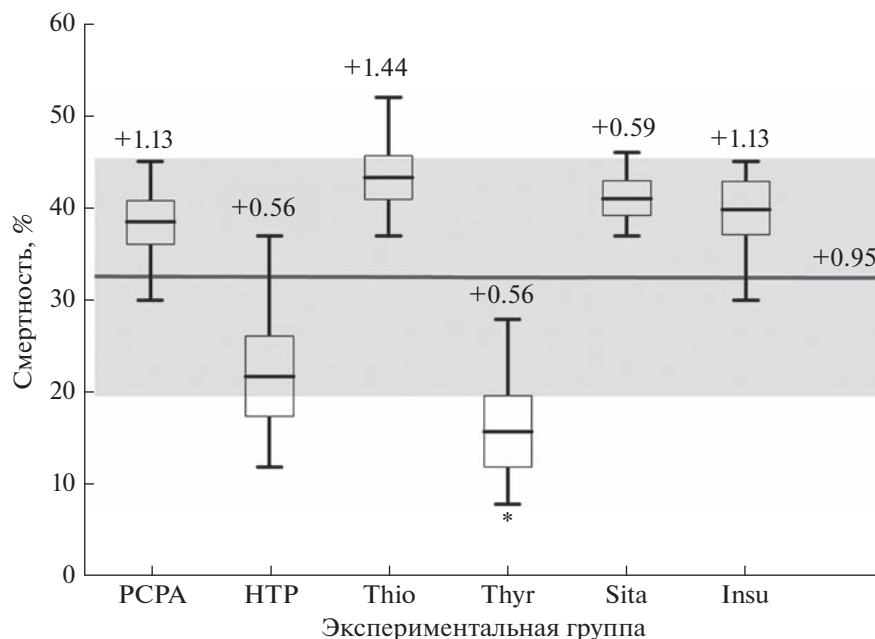


Рис. 3. Смертность в шести экспериментальных группах *Salvelinus malma* в 7-суточных тестах в растворе #Макс после завершения терапевтических манипуляций относительно смертности в контроле: (*) — группа, достоверно отличающаяся по смертности от контроля (дисперсионный анализ, тест Тьюки, $p = 0.011$). Над диаграммами размаха показаны величины повышения средней концентрации продуктов перекисного окисления липидов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (мкмоль/л), в тканях у мальков, выживших в тестах. Ост. обозначения см. на рис. 2.

Тем не менее в части “вулканических” ручьёв без непреодолимых преград происходит ежегодный нерест *S. malma* мигрантного фенотипа.

Выживание молоди гольцов происходит на фоне роста её тиреоидного статуса (собственные данные). Тиреоидные гормоны не только участвуют в регуляции гомеостаза организма (McAninch, Bianco, 2014; Lema, 2020), но также способствуют антиоксидантной активности тканей и защите от перекисного окисления липидов (Sreejith, Oommen, 2008; Deal, Volkoff, 2020; Esin et al., 2021b). В ходе экспериментов удалось получить шесть групп с разными вариантами метаболизма и активности щитовидной железы. Проведённые опыты показывают, что сама по себе интенсификация метаболизма (группа Insu) не приводит к повышению устойчивости к воздействию тяжёлых металлов и гибель рыб в тестах остаётся на уровне экспериментальных групп с подавленной интенсивностью обмена веществ (Sita). При этом группы с угнетённым тиреоидным статусом (PCPA, Thio) максимально чувствительны к токсическому воздействию, в то время как терапевтические манипуляции, позволившие разными способами повысить тиреоидный статус (стимуляцией активности гипофиза и щитовидной железы в группах соответственно HTP и Thyr), обеспечили снижение остроты стресса и рост выживаемости в растворах тяжёлых металлов. Именно группа с самым высоким уровнем тиреоидных гормонов

(Thyr) в тестах показала достоверное снижение смертности относительно контроля (рис. 3). Наши результаты также согласуются с данными о повышении уровня тиреоидных гормонов в организме *Oncorhynchus mykiss* и *Perca fluviatilis* в ответ на загрязнение воды тяжёлыми металлами (Hontela et al., 1995; Bleau et al., 1996).

В литературе имеются отрывочные сведения о том, что тяжёлые металлы вызывают дисфункции щитовидной железы (Jancic, Stosic, 2014; Kar et al., 2021) и в некоторых случаях подавляют тиреоидную активность (Brown et al., 2004). В связи с этим рост тиреоидного статуса у рыб, обитающих в местах хронического загрязнения воды тяжёлыми металлами, может являться компенсаторной реакцией организма на окислительный стресс и может запускать специфический физиологический ответ.

Протекающие по склонам вулканов ручьи нередко оказываются перегорожены селями и обвалами. Мы обнаружили четыре водотока, в которых потомки мигрантных гольцов были заперты выше преград и стали созревать и размножаться в зоне максимального химического загрязнения. Популяции различаются сроками изоляции (от десятков лет до, вероятно, тысячи лет) и интенсивностью загрязнения местообитаний, при этом для всех них характерны сильный гипертиреозидизм, высокая антиоксидантная активность тканей (Есин и др., 2018), а также пedomорфная ми-

ниатюризация фенотипа. В то время как средняя масса нерестящихся самок мигрантной *S. malma* из нижнего течения водотоков территорий активного вулканизма достигает 500–700 г, у гольцов, изолированных в химически загрязнённых местообитаниях, этот показатель составляет 22–26 г (Есин, 2017). Нерест смещается с возраста 5–6 лет на третий–четвёртый годы жизни (Esin et al., 2020). Многолетние исследования гольцов из руч. Фальшивый, оказавшихся изолированными в 1996 г. (Esin et al., 2020), позволили подтвердить, что в течение нескольких первых поколений такие популяции проходят этап катастрофического сокращения численности, после чего возникает миниатюрная форма с канализированным развитием и сниженной дисперсией всех морфологических признаков.

У рыб, которые не скатились с нерестилищ ранними мальками, химическое загрязнение, вероятно, провоцирует максимальную активность щитовидной железы на протяжении всей жизни. Эта активность оказывается под позитивным давлением отбора, и гипертиреозидизм быстро фиксируется в популяции (этому также способствует эффект “бутылочного горлышка” сразу после изоляции). Постоянная высокая концентрация тиреоидных гормонов вызывает ускоренное развитие, раннее созревание и педоморфоз на фоне торможения соматического роста. Замедление роста рыб с повышенным тиреоидным статусом удалось зафиксировать даже в ходе 12-недельного эксперимента. Ускорение жизненного цикла позволяет снизить риски гибели популяции в неблагоприятной среде. В случае исчезновения преград для миграции особей крупного фенотипа к нерестилищам в верховьях “вулканических” ручьёв гибридизация миниатюрных и крупных гольцов должна приводить к обогащению генофонда популяционной системы аллельными вариантами устойчивости к отравлению тяжёлыми металлами. С большой вероятностью генетическая фиксация канала развития миниатюрного фенотипа неоднократно происходила у *S. malma* на Камчатке.

Таким образом, тиреоидные гормоны участвуют у *S. malma* в формировании специфического адаптивного фенотипа в ответ на неблагоприятное воздействие внешних факторов. Как регуляторный фактор развития тиреоидные гормоны выполняют и экологическую функцию контроля эволюционной специализации. Длительное выживание миниатюрных гольцов с гипертиреозидным статусом в нескольких загрязнённых водотоках указывает на универсальный характер данной адаптации. Сходные реакции, вероятно, стоит ожидать в многочисленных популяциях пресноводных рыб, оказавшихся в условиях прогрессирующего антропогенного загрязнения среды обитания.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы работы выражают благодарность за помощь в сборе материалов, обработке и осмыслении данных своим коллегам Ф.Н. Шкилю, Г.Н. Маркевичу (ИПЭЭ РАН) и Ю.В. Сорокину (ВНИРО).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено за счёт Российского научного фонда, проект № 22-24-00724.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Приложение доступно онлайн по адресу: <https://doi.org/10.31857/S0042875223060036>.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Голованова И.Л. 2008. Влияние тяжелых металлов на физиолого-биохимический статус рыб и водных беспозвоночных // Биология внутр. вод. № 1. С. 99–108.
- Есин Е.В. 2017. Особенности биологии камчатской мальмы *Salvelinus malma* (Salmonidae) из нерестовых рек вулканических районов // Вопр. ихтиологии. Т. 57. № 2. С. 190–200.
<https://doi.org/10.7868/S0042875217010064>
- Есин Е.В., Шульгина Е.В., Широков Д.А. и др. 2018. Физиологическая адаптация молоди гольца *Salvelinus malma* (Salmonidae) к обитанию в загрязнённых реках вулканических территорий Камчатки // Биология внутр. вод. № 2. С. 57–69.
<https://doi.org/10.7868/S0320965218020079>
- Лычкова А.Э. 2013. Нервная регуляция функции щитовидной железы // Вестн. РАМН. Т. 68. № 6. С. 49–55.
<https://doi.org/10.15690/vramn.v68i6.673>
- Маркевич Г.Н., Есин Е.В. 2018. Эволюция гольцов рода *Salvelinus* (Salmonidae). 2. Симпатрическая внутриозёрная диверсификация (экологические черты и эволюционные механизмы с примерами из разных групп рыб) // Вопр. ихтиологии. Т. 58. № 3. С. 292–312.
<https://doi.org/10.7868/S0042875218030074>
- Чалов С.Р., Есин Е.В. 2015. Принципы экологической классификации рек районов современного вулканизма // География и природ. ресурсы. № 1. С. 80–87.
- 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>
- Bleau H., Daniel C., Chevalier G. et al. 1996. Effects of acute exposure to mercury chloride and methylmercury on plasma cortisol, T3, T4, glucose and liver glycogen in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // Aquat. Toxicol. V. 34. № 3. P. 221–235.
[https://doi.org/10.1016/0166-445X\(95\)00040-B](https://doi.org/10.1016/0166-445X(95)00040-B)
- Bolnick D.I., Fitzpatrick B.M. 2007. Sympatric speciation: models and empirical evidence // Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. V. 38. P. 459–487.
<https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095804>
- Brown S.B., Adams B.A., Cyr D.G., Eales J.G. 2004. Contaminant effects on the teleost fish thyroid // Environ. Tox-

- icol. Chem. V. 23. № 7. P. 1680–1701.
<https://doi.org/10.1897/03-242>
- Deal C.K., Volkoff H. 2020. The role of the thyroid axis in fish // Front. Endocrinol. V. 11. Article 596585.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2020.596585>
- Eliason E.J., Farrell A.P. 2015. Oxygen uptake in Pacific salmon *Oncorhynchus* spp.: when ecology and physiology meet // J. Fish Biol. V. 88. № 1. P. 359–388.
<https://doi.org/10.1111/jfb.12790>
- Esin E.V., Markevich G.N., Shkil F.N. 2020. Rapid miniaturization of *Salvelinus* fish as an adaptation to the volcanic impact // Hydrobiologia. V. 847. № 13. P. 2947–2962.
<https://doi.org/10.1007/s10750-020-04296-w>
- Esin E.V., Markevich G.N., Melnik N.O. et al. 2021a. Ambient temperature as a factor contributing to the developmental divergence in sympatric salmonids // PLoS ONE. V. 16. № 10. Article e0258536.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0258536>
- Esin E.V., Markevich G.N., Melnik N.O. et al. 2021b. Natural toxic impact and thyroid signaling interplay orchestrates riverine adaptive divergence of salmonid fish // J. Anim. Ecol. V. 90. № 4. P. 1004–1019.
<https://doi.org/10.1111/1365-2656.13429>
- Eyckmans M., Celis N., Horemans N. et al. 2011. Exposure to waterborne copper reveals differences in oxidative stress response in three freshwater fish species // Aquat. Toxicol. V. 103. № 1–2. P. 112–120.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.02.010>
- Gairin E., Dussenne M., Mercader M. et al. 2022. Harbours as unique environmental sites of multiple anthropogenic stresses on fish hormonal systems // Mol. Cell. Endocrinol. V. 555. Article 111727.
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2022.111727>
- Gorodilov Y.N. 1996. Description of the early ontogeny of the Atlantic salmon, *Salmo salar*, with a novel system of interval (state) identification // Environ. Biol. Fish. V. 47. № 2. P. 109–127.
<https://doi.org/10.1007/BF00005034>
- Holzer G., Besson M., Lambert A. et al. 2017. Fish larval recruitment to reefs is a thyroid hormone-mediated metamorphosis sensitive to the pesticide chlorpyrifos // eLife. V. 6. Article e27595.
<https://doi.org/10.7554/eLife.27595>
- Hontela A., Dumont P., Duclos D., Fortin R. 1995. Endocrine and metabolic dysfunction in yellow perch, *Perca flavescens*, exposed to organic contaminants and heavy metals in the St. Lawrence River // Environ. Toxicol. Chem. V. 14. № 4. P. 725–731.
<https://doi.org/10.1002/etc.5620140421>
- Jancic S.A., Stosic B.Z. 2014. Cadmium effects on the thyroid gland // Vitam. Horm. V. 94. P. 391–425.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800095-3.00014-6>
- Kar S., Sangem P., Anusha N., Senthilkumaran B. 2021. Endocrine disruptors in teleosts: evaluating environmental risks and biomarkers // Aquac. Fish. V. 6. № 1. P. 1–26.
<https://doi.org/10.1016/j.aaf.2020.07.013>
- Klemetsen A. 2013. The most variable vertebrate on Earth // J. Ichthyol. V. 53. № 10. P. 781–791.
<https://doi.org/10.1134/S0032945213100044>
- Kristjánsson B.K., Skúlason S., Snorrason S.S., Noakes D.L. 2012. Fine-scale parallel patterns in diversity of small ben-thic Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) in relation to the ecology of lava/groundwater habitats // Ecol. Evol. V. 2. № 6. P. 1099–1112.
<https://doi.org/10.1002/ece3.235>
- Lema S.C. 2020. Hormones, developmental plasticity, and adaptive evolution: endocrine flexibility as a catalyst for “plasticity-first” phenotypic divergence // Mol. Cell. Endocrinol. V. 502. Article 110678.
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2019.110678>
- McAninch E.A., Bianco A.C. 2014. Thyroid hormone signaling in energy homeostasis and energy metabolism // Ann. N. Y. Acad. Sci. V. 1311. № 1. P. 77–87.
<https://doi.org/10.1111/nyas.12374>
- Müller G.B. 2021. Evo-devo’s contributions to the extended evolutionary synthesis // Evolutionary developmental biology. Cham: Springer. P. 1127–1138.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-32979-6_39
- Nosil P., Feder J.L. 2012. Genomic divergence during speciation: causes and consequences // Phil. Trans. R. Soc. B. V. 367. № 1587. P. 332–342.
<https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0263>
- Olsson P.-E., Kling P., Hogstrand C. 1998. Mechanisms of heavy metal accumulation and toxicity in fish // Metal metabolism in aquatic environments. Boston: Springer. P. 321–350.
https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2761-6_10
- Østbye K., Hassve M.H., Peris Tamayo A.-M.T. et al. 2020. “And if you gaze long into an abyss, the abyss gazes also into thee”: four morphs of Arctic charr adapting to a depth-gradient in Lake Tinnsjøen // Evol. Appl. V. 13. № 6. P. 1240–1261.
<https://doi.org/10.1111/eva.12983>
- Salisbury S.J., Ruzzante D.E. 2022. Genetic causes and consequences of sympatric morph divergence in Salmonidae: a search for mechanisms // Annu. Rev. Anim. Biosci. V. 10. P. 81–106.
<https://doi.org/10.1146/annurev-animal-051021-080709>
- Schlenk D., Handy R., Steinert S. et al. 2008. Biomarkers // The toxicology of fishes. Boca Raton: CRC Press. P. 683–733.
- Schluter D. 2000. The ecology of adaptive radiation. Oxford: OUP, 296 p.
- Seehausen O., Wagner C.E. 2014. Speciation in freshwater fishes // Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. V. 45. P. 621–651.
<https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-120213-091818>
- Skúlason S., Parsons K.J., Svanbäck R. et al. 2019. A way forward with eco evo devo: an extended theory of resource polymorphism with postglacial fishes as model systems // Biol. Rev. V. 94. № 5. P. 1786–1808.
<https://doi.org/10.1111/brv.12534>
- Sreejith P., Oommen O.V. 2008. Tri-iodothyronine alters superoxide dismutase expression in a teleost *Anabas testudineus* // Indian J. Biochem. Biophys. V. 45. № 6. P. 393–398.
- Watson R.A., Mills R., Buckley C.L. et al. 2016. Evolutionary connectionism: algorithmic principles underlying the evolution of biological organisation in evo-devo, evo-eco and evolutionary transitions // Evol. Biol. V. 43. № 4. P. 553–581.
<https://doi.org/10.1007/s11692-015-9358-z>
- Wollenberg Valero K.C., Marshall J.C., Bastiaans E. et al. 2019. Patterns, mechanisms and genetics of speciation in reptiles and amphibians // Genes. V. 10. № 9. Article 646.
<https://doi.org/10.3390/genes10090646>