

**РАЗНООБРАЗИЕ ЖИЗНЕННОЙ СТРАТЕГИИ МАЛЬМЫ *SALVELINUS MALMA* (WALBAUM) (SALMONIDAE, SALMONIFORMES) КАМЧАТКИ:
ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕКОНСТРУКЦИИ ПО ДАННЫМ
РЕНТГЕНОФЛУОРЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА МИКРОЭЛЕМЕНТНОГО
СОСТАВА РЕГИСТРИРУЮЩИХ СТРУКТУР**

© 2013 г. Академик Д. С. Павлов, К. В. Кузищин, М. А. Груздева,
М. П. Поляков, Л. А. Пельгунова

Поступила в редакцию

DOI: 10.7868/S0869565213140260

Изучение особенностей жизненного цикла и формирования разнообразия типов жизненной стратегии у рыб в настоящее время имеют важное значение в связи с необходимостью оптимизации подходов в использовании биоресурсов. В последние годы для решения вопросов ретроспективной расшифровки жизненного цикла анадромных рыб применяются методы микрохимического анализа отолитов, позволяющие достаточно точно определить наличие морского, эстуарного или пресноводного периодов в онтогенезе особи [1–4]. Эти методы основаны на том, что накопление ионов элементов в отолитах рыб непосредственно зависит от их содержания во внешней среде, например, в морских водах существенно больше стронция по сравнению с пресными. Эффективность методов “микрохимии отолитов” была неоднократно подтверждена на разных группах костистых рыб [2–9]. В то же время большинство методов анализа отолитов, позволяющих расшифровать жизненную историю рыб, требуют применения сложных методик, длительной процедуры обработки; в ряде случаев, в ходе анализа регистрирующая структура разрушается. Поэтому представляется важным применение современного поколения приборов-анализаторов, разработка новых и модификация существующих методик, что позволяет повысить эффективность фундаментальных и прикладных ихтиологических исследований.

Гольцы рода *Salvelinus* из водоемов Российской Федерации такому виду анализа ранее не

подвергались. В то же время известно, что мальма *S. malma* (Walbaum) – один из типичных “проблемных” видов лососевых рыб: в пределах единой популяции сосуществуют особи с разной степенью выраженности анадромии и резидентности, кроме того, особенности биологии мальмы в морской период жизни практически не изучены [10, 11]. Целью настоящей работы стало изучение жизненного цикла и разнообразия типов жизненной стратегии мальмы в реках Камчатки. Задачи исследования включали 1) отработку методики микрохимического анализа отолитов мальмы с помощью новых инструментов; 2) определение массового соотношения двухвалентных атомов (прежде всего кальция Ca и стронция Sr) в отолитах мальмы; 3) оценку изменчивости жизненной стратегии мальмы по данным микрохимического анализа отолитов.

Исследованы популяции мальмы из двух рек п-ова Камчатка: Коль (западное побережье) и Кронцкая (восточное побережье). Для анализа выбраны половозрелые особи, в качестве регистрирующей структуры использованы отолиты (сагитта). Отолит – высокоминерализованная структура, он состоит из белкового матрикса армированного солями угольной кислоты (CaCO_3 , SrCO_3 , BaCO_3 , MgCO_3 и др.) в форме арагонита [12]. Отолит формируется еще на стадии эмбриона, эту его часть называют “зоной примордиумов” [1–3]. На отолите различается серия широких матово-белых (непрозрачных или опаковых) и узких темных (более прозрачных или гиалиновых) колец (рис. 1). Обычно в течение года образуется одно опаковое и одно гиалиновое кольцо, причем опаковое кольцо формируется в период сезона нагула и интенсивного роста рыбы, а гиалиновое – в зимний период, когда рост рыб существенно замедляется [12]. Всего исследовано

Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова

Институт проблем экологии и эволюции Российской
Академии наук им. А.Н. Северцова, Москва

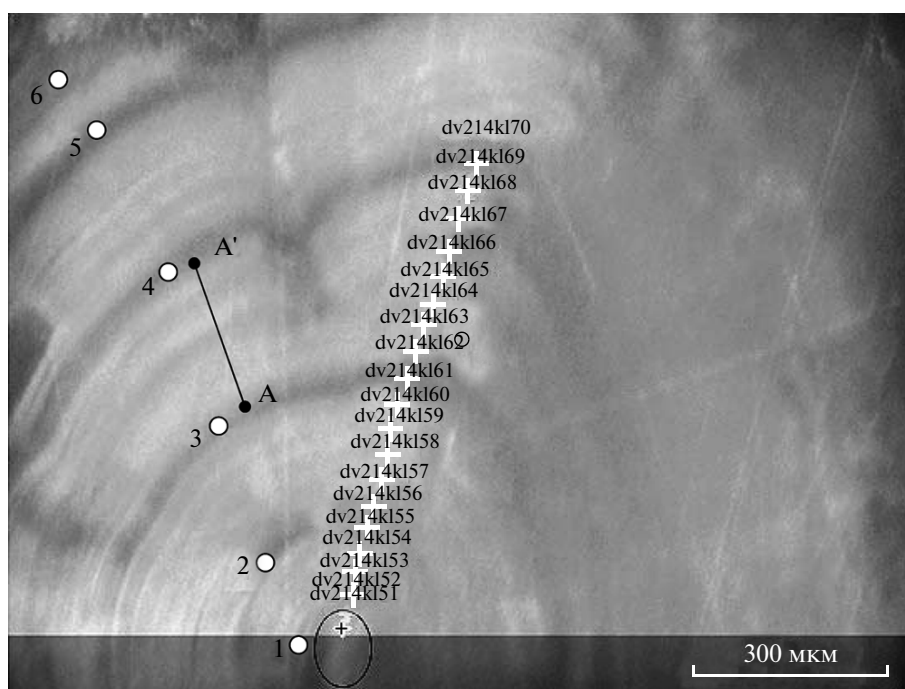


Рис. 1. Участок трансекты от центра к краю препарата отолита (увел. 100×). Цифрами обозначены годовые кольца. Белые кружки обозначают гиалиновые зоны, отрезок А–А' – опакую зону. Эллипсом обведен центр отолита (зона расположения примордиумов) и начало трансекты.

23 отолита мальмы из р. Коль и 22 отолита из р. Кроноцкая. Для сравнения было изучено соотношение Sr/Ca в одном отолите белого гольца *Salvelinus albus*. Белый голец – представитель эндемичной ихтиофауны оз. Кроноцкое, ведет пресноводный образ жизни [10].

Для проведения количественного анализа микроэлементов в отолите впервые использован метод рентгенофлуоресцентного (РФА) микроанализа с помощью энергодисперсионного спектрометра Tornado M4 (“Bruker AXS”, Германия). РФА – метод элементного анализа, основанный на взаимодействии вещества образца с высокоэнергетическим рентгеновским излучением, которое приводит к испусканию вторичного рентгеновского излучения (рентгеновская флуоресценция). Вторичное излучение является характеристическим, так как атомы каждого химического элемента излучают фотоны со строго определенной энергией, которую фиксирует прибор [13]. Данный метод позволяет проводить неразрушающий анализ образца и за короткое время может анализировать значительные по объему выборки.

Для изготовления препаратов отолитов обычно применялась методика шлифовки одной стороны отолита до уровня примордиумов [2–6]. В настоящей работе мы применили модифицированную методику шлифовки отолита с обеих сторон (макулярной и антимакулярной) до получе-

ния ровного тонкого шлифа толщиной не более 50 мкм, таким образом, чтобы зона примордиумов соприкоснулась с обеими поверхностями шлифа. Это позволило существенно увеличить точность получаемых измерений.

Спектрометр Tornado M4 предназначен для определения содержания в образце химических элементов с атомной массой более 23. Органические материалы, не содержащие таких элементов, не влияют на конечный результат измерений элементного состава образца, поэтому при изготовлении препаратов и проведении измерений использовали пластиковую подложку. Препараты отолитов изготавливали путем ручной шлифовки на тканевых абразивных материалах с последовательным переходом размера зерна от 600 до 12000 единиц шкалы ANSI-74. Шлифованный с обеих сторон препарат помещали на пластиковое предметное стекло в каплю нагретого до 93...95°C жидкого полимера “Crystal Bond 509”, далее стекло охлаждали до затвердевания полимера. Полученный препарат промывали дистиллированной водой и протирали салфеткой, смоченной в 96%-м этиловом спирте.

Измерения проводили в вакууме и в воздушной среде при напряжении 50 кВ, силе тока 200 мкА, диаметр рентгеновского луча составлял 20 мкм. На экранном изображении отолита вручную намечали трансекту из точек, в которых в дальней-

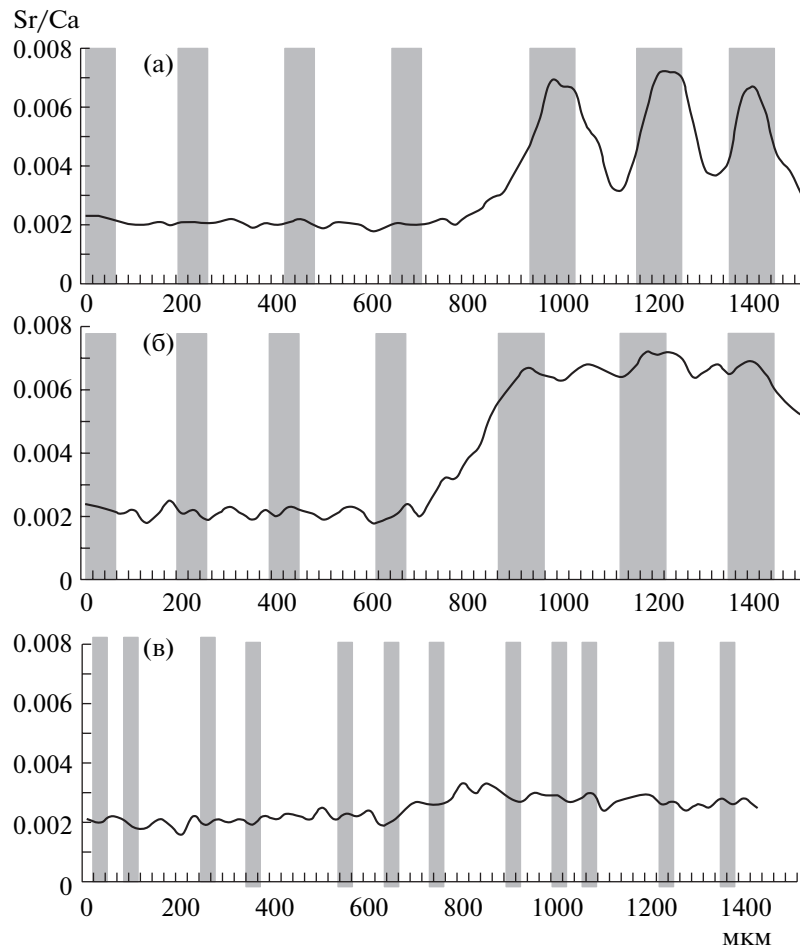


Рис. 2. Трансекта жизненной истории мальмы р. Коль. а – отолит типа I. В пресноводной зоне отолита (расстояние 0–800 мкм от центра отолита) – низкие значения Sr/Ca, в морской зоне отолита (расстояние 900–1500 мкм от центра отолита) – ряд последовательных пиков в области опаковых колец (выделены серыми столбцами). б – отолит типа II. Высокий уровень соотношения Sr/Ca в морской зоне отолита сохраняется таковым до момента возврата особи в реку. в – отолит пресноводного белого гольца. Уровень соотношения Sr/Ca в отолите низкий в течение всей жизни особи.

шем проводили измерение содержания ионов Ca^{2+} и Sr^{2+} , от примордиума к краю отолита, в направлении нарастания колец, как это показано на рис. 1. Содержание ионов Ca^{2+} и Sr^{2+} вдоль трансекты измеряли по прямой от примордиума (нуклеарной зоны отолита) к краю отолита. На фотографии отолита расстояния от точек трансекты и от границ опаковых и гиалиновых колец до примордиума рассчитывали в программе “Image J”, версия 1.4.3.67 (Broken Symmetry Software), по полученным расстояниям в Microsoft Excel 2007 строили профили соотношения Sr/Ca от примордиумов нуклеарной зоны к краю отолита. В результате для каждого отолита выстраивали трансекты, в которой через равные промежутки в точках с интервалом 20 мкм определяли массовое соотношение Sr/Ca. В трансектах отолитов мальмы содержится от 85 до 101 точки.

Среди проходной мальмы в выборках из обеих рек по содержанию ионов Ca^{2+} и Sr^{2+} в отолитах

выявлена сложная картина миграций в течение жизни особей. Трансекты на отолитах половозрелых особей мальмы характеризуются колеблющимися, но в целом низкими значениями соотношения Sr/Ca в зонах отолитов, соответствующих первым двум-трем годам жизни особей в пресных водах: среднее соотношение Sr/Ca в отолитах мальмы из р. Коль варьировалось в пределах от $2.63 \cdot 10^{-3}$ до $5.67 \cdot 10^{-3}$ и из р. Кронцкая от $1.90 \cdot 10^{-3}$ до $2.19 \cdot 10^{-3}$. После зоны пресноводных лет жизни особей с низким уровнем соотношения Sr/Ca по направлению к краю отолита происходит повышение уровня содержания стронция, что соответствует периоду пребывания их в море. В то же время соотношение Sr/Ca в зоне морского периода жизни неодинаково у разных особей. В связи с этим установлены два типа строения отолитов.

На отолитах типа I в зоне морского периода жизни наблюдалось резкое повышение доли стронция с достижением пика в области первого

опакового кольца, а затем его значительное снижение в области следующего гиалинового кольца и далее следовали новые пики в области следующих опаковых колец (рис. 2а). На некоторых отолитах снижение уровня соотношения Sr/Ca могло соответствовать не гиалиновому, а опаковому кольцу, так что гиалиновое кольцо оказывалось “сдвинутым” относительно спада уровня соотношения Sr/Ca. При этом характер пиков и спадов оставался периодическим, соответствующим количеству краевых опаковых и гиалиновых зон. На отолитах типа II после зоны пресноводного периода жизни наблюдалось значительное повышение уровня соотношения Sr/Ca, однако пики отсутствовали или были выражены слабо. Снижение уровня соотношения Sr/Ca в гиалиновой зоне также было плавным или его не было. Таким образом, по достижении максимума в отолите зоны морского периода жизни соотношение Sr/Ca сохранялось или медленно снижалось в течение двух-трех лет (рис. 2б).

Отолиты обоих типов обнаружены в выборках мальмы из р. Коль и р. Кроноцкая. В каждой реке число особей мальмы с отолитами разного типа было примерно одинаковым. Значимых различий по длине и массе тела одновозрастных рыб с разными типами отолитов не выявлено. Ранее [14] нами не были обнаружены различия и по меристическим признакам.

Отолит белого гольца *S. albus* характеризовался низкими значениями соотношения Sr/Ca по всей трансекте (от 1.88 до $3.31 \cdot 10^{-3}$ – рис. 2в), что полностью подтверждает резидентный образ жизни этого гольца.

Полученные нами данные позволяют расширить представления о разнообразии жизненной стратегии мальмы Камчатки. Впервые выявленная неоднородность микрохимической структуры отолитов мальмы отражает разные типы ее морских миграций. Мальма с отолитами типа I после ската из реки нагуливается в море меньше года, на зимовку возвращается в реку, следующей весной вновь выходит в море и осенью снова возвращается в реку. Ее жизненный цикл состоит из нескольких последовательных выходов в море, при этом заход в реку из моря на зимовку не обязательно связан с половым созреванием. Наши данные хорошо соответствуют представлениям о “тысячниках” – неполовозрелых гольцах, которые поднимаются в реки в конце лета и осенью [10, 11]. Мальма с отолитами типа I не уходит далеко от морских берегов, что подтверждают данные, имеющиеся в литературе [11, 15]. По аналогии с другими видами рыб, у которых тип морских миграций (кумжа – *Salmo trutta*, лосось Кларка – *Parasalmo clarkii clarkii*) подобный, мальму с отолитами типа I мы предлагаем называть “прибрежной проходной”.

Мальма с отолитами типа II, наоборот, нагуливается в море в течение нескольких последовательных лет и заходит в реки только после достижения половой зрелости, что соответствует жизненному циклу типично проходных лососевых рыб, например, тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus*. Поэтому мальму с отолитами типа II мы предлагаем называть “типично проходной”. Такой тип отолитов с “типично проходной” мигрантной стратегией у мальмы Камчатки выявлен впервые.

Сосуществование в популяции мальмы рыб с разными типами жизненной стратегии и отсутствие достоверных различий между ними по морфологическим признакам [14] указывает на эпигенетический характер такого рода изменчивости.

Таким образом, применение метода РФА-анализа позволяет с высокой точностью восстанавливать жизненный цикл особи – пресноводный, морской и эстуарный периоды жизни. Особым преимуществом этого метода является возможность в короткие сроки анализировать массовый материал и тем самым выявлять разнообразие жизненной стратегии в популяциях у такого сложного по структуре популяции вида, как мальма. Более того, одновременное измерение содержания большого числа элементов в отолите – металлов и неметаллов, позволяет выявлять не только варианты анадромной жизненной стратегии, но и открывает широкие возможности расшифровки миграционных циклов разных видов рыб в пределах пресных вод.

Работа поддержана грантом “Ведущие научные школы” (НШ-2104.2008.4), Федеральным агентством по науке и инновациям в рамках ФЦП “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России” (госконтракты 02.740.11.0461, 14.740.11.0633, 14.740.11.0165 15) и грантом РФФИ 12-04-01358/12.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Radtke R.L. // *Comp. Biochem. Physiol.* 1989. V. 92A. P. 189–193.
2. Radtke R.L., Dempson J.B., Ruzicka J. // *Polar Biol.* 1998. V.19. P. 1–8.
3. Volk E.C., Blakley A., Schroder S.L., Kuehner S.M. // *Fish. Res.* 2000. V. 46. P. 251–266.
4. Зиммерман К.Е., Кузицин К.В., Груздева М.А. и др. // *ДАН.* 2003. Т. 389. № 2. С. 274–278.
5. Kalish J. M. // *Fish Bull US.* 1990. V. 88. P. 657–666.
6. Rieman B.E., Myers D.L., Nielsen R.L. // *Canad. J. Fish. Aquat. Sci.* 1994. V. 51. P. 68–77.
7. Meyer-Rochow V.B., Cook I., Hendy C.H. // *Comp. Biochem. and Physiol.* 1992. V. 103A. № 2. P. 333–335.
8. Otake T., Ishii T., Nakahara M., Nakamura R. // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 1994. V. 113. P. 189–193.
9. Otake T., Uchida K. // *Fish. Sci.* 1998. V. 64. P. 517–521

10. *Савваитова К.А.* Арктические гольцы. М.: Агропромиздат, 1989. 223 с.
11. *Тиллер И.В.* // Исслед. водн. биол. ресурсов Камчатки сев.-зап. части Тихого океана. 2007. В. 7. С. 79–95.
12. *Дгебуадзе Ю.Ю.* Экологические закономерности изменчивости роста рыб. М.: Наука, 2001. 278 с.
13. http://www.brucker-axs.de/fileadmin/user_upload/xr-fintro/author.html
14. *Павлов Д.С., Груздева М.А., Кузищин К.В. и др.* Материалы XIII Междунар. науч. конф. “Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей”. Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс, 2012. С. 98–101.
15. *Armstrong R.H., Morrow I.E.* The Dolli Varden char, *Salvelinus malma*. In: Charrs. Salmonid fishes of the genus *Salvelinus*. The Hague: Junk Publ., 1980. P. 99–141.