

УДК 577.175.3

РЕОРЕАКЦИЯ МОЛОДИ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СУРФАГОНА

© 2016 г. Д. С. Павлов, Е. Д. Павлов, В. В. Костин, Е. В. Ганжа

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН
119071 Москва, Ленинский пр-т, д. 33*

E-mail: p-a-v@nxt.ru

Поступила в редакцию 20.08.2015 г.

Окончательный вариант получен 10.09.2015 г.

Изучена реореакция молоди радужной форели в возрасте 2 мес. через 30–40 дней после однократной инъекции синтетического препарата сурфагон (в расчете 15 мкг препарата на 1 кг рыбы). Показано, что гормональный препарат кардинально меняет предпочтение особей к течению как в обычном, так и в миграционном состоянии. Выявлено, что молодь, инъецированная сурфагоном предпочитает двигаться против течения, как в обычном (сытом), так и в миграционном (голодном) состоянии, а контрольные особи – вниз по течению.

Ключевые слова: радужная форель *Parasalmo mykiss* (= *Oncorhynchus mykiss*), сурфагон, реореакция, миграционное поведение.

DOI: 10.7868/S0475145016020075

ВВЕДЕНИЕ

Направленное движение рыб в потоке воды – реореакция – наблюдается у большинства видов и имеет врожденный характер (Павлов, 1979). Она бывает трех типов в зависимости от направления движения особей в потоке воды – положительный тип (движение против течения), отрицательный (движение по течению) и статический (сопротивление потоку без изменений своего положения в пространстве). Многие другие поведенческие реакции в потоке воды, в том числе миграции, питание, размножение и др., осуществляются на фоне проявления реореакции (Павлов, 1979).

Известно (Plate et al., 2003), что гонадотропный релизинг-гормон (ГнРГ) влияет на реореакцию половозрелых лососей, мотивируя их на преодоление потока и водных препятствий (водопадов и порогов) во время нерестовой миграции путем повышения нейромоторной функции. Ряд авторов (Sato et al., 1997; Plate et al., 2002) не исключают, что этот гормон у лососевых является важным регулятором нерестовой миграции. Можно предположить, что ГнРГ и его аналоги, в том числе и сурфагон, оказывают влияние на реореакцию и в раннем онтогенезе лососей. Однако нами не обнаружено сведений в литературе о влиянии ГнРГ или его синтетических аналогов на реореакцию и миграционное поведение лососевых рыб задолго до их созревания.

Цель данной работы – исследовать влияние сурфагона на реореакцию молоди радужной форели *Parasalmo mykiss* (= *Oncorhynchus mykiss*), находящейся в обычном и в миграционном состоянии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материал собран в марте–апреле 2014 г. на экспериментальном рыбноводном хозяйстве Клонг-Кланх (Klong-Klanch) Научно-исследовательского института аквакультуры № 3 (Research Institute of Aquaculture № 3), расположенном в 50 км на северо-восток от г. Далат (Вьетнам) на высокогорном плато высотой 1800 м над уровнем моря. Объект исследования – молодь радужной форели, полученная от производителей, выращенных в хозяйстве Клонг-Кланх из икры, предоставленной из Финляндии (второе поколение).

Молодь содержали в бассейнах размером 1.9 × 0.4 м, при уровне воды 10–20 см и средней плотностью посадки 2000 экз. на 1 м³ воды. Поступление воды в бассейн (0.39 л/с) обеспечивало 9-кратный водообмен за час, скорость течения была в среднем 0.6 см/с. Температура воды составляла 16–18°C, уровень растворенного кислорода – 6–9 мг/л. По ранее проведенной оценке (Павлов и др., 2010б, 2013, 2015) эти условия неблагоприятно влияют на физиологическое состояние форели. Молодь кормили гранулированным кормом Scretting T-3P Stella.

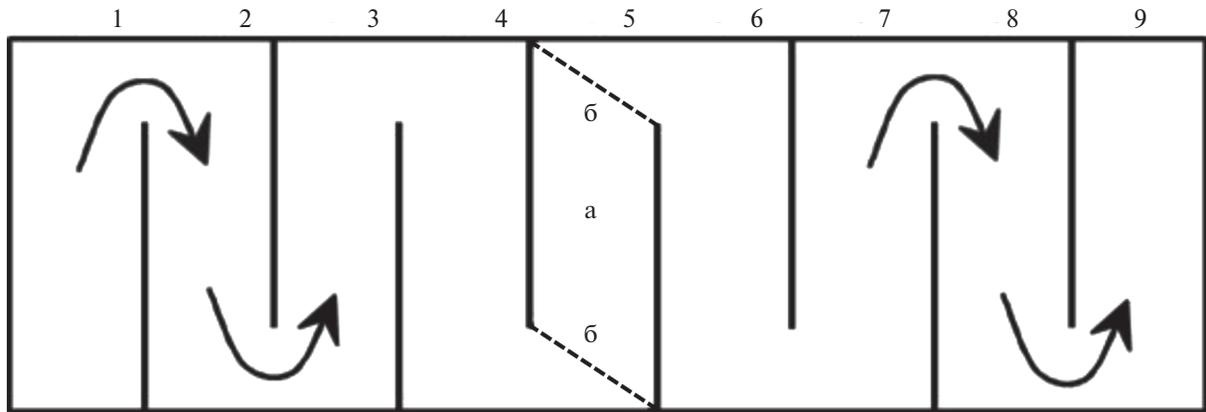


Рис. 1. Схема гидродинамической установки “рыбоход” для определения типа реореакции: а – стартовый отсек, б – заградительные решетки. Стрелками обозначено направление течения, 1–9 – нумерация отсеков установки.

До инъекции сурфагона средняя масса молоди в возрасте 1 мес. составляла 1.3 ± 0.04 г, а длина – 2.8 ± 0.03 см. Спустя 40 дней после гормональной инъекции (30 сут кормления и 10 сут голодания) масса контрольных рыб составляла 2.0 ± 0.06 г, а длина – 6.3 ± 0.06 см. Молодь, получившая инъекцию сурфагона, была достоверно крупнее – масса 2.6 ± 0.07 г, длина – 6.9 ± 0.07 см.

Сурфагон (5 мкг/мл) в водном растворе хлорида натрия инъецировали молоди в возрасте 1 месяца инсулиновым шприцом под грудной плавник из расчета 15 мкг на 1 кг рыбы. Сурфагон был взят в дозировке, которая находится в диапазоне действия на рыб. Для снижения стресса до инъекции рыб выдерживали 1–2 мин в растворе анальгетика (этиленгликоль, 1 : 3000). Опыты по оценке реореакции особей выполнены в период 30–40 дней после инъекции.

Тип реореакции определяли, основываясь на направлении движения рыб в гидродинамической установке “рыбоход” (Pavlov et al., 2010), представляющей собой двухметровый лоток шириной 0.6 м, разделенный на 9 отсеков с длиной поперечных стенок 0.48 м и шириной проходов между отсеками 7 см (рис. 1).

Скорость течения в проходах между отсеками составляла около 16 см/с (2.5 длины тела исследуемых рыб в секунду). Опыты проводили при освещенности около 3–7 тыс. Лк. Контрольных и подопытных рыб поочередно по 10 экз. помещали в стартовый отсек, расположенный в центре установки. Через 20 минут акклимации заградительные решетки, ограждающие стартовый отсек, убирали и еще через 20 минут фиксировали число особей в каждом отсеке “рыбохода”. Рыб, поднявшихся против течения в 1–4 отсеки, считали показавшими положительный тип реореакции (ПТР), рыб, оставшихся в стартовом – статиче-

ский тип реореакции (СТР), а особей, сместившихся в нижние по течению отсеки (№ 5–9) – отрицательный тип реореакции (ОТР) (Павлов и др., 2010а; Pavlov et al., 2010). Молодь в миграционное состояние переводили путем голодания (Павлов и др., 2010а). Для оценки изменения реореакции опыты проводили на сытых рыбах и через 2, 5, 7 и 10 сут их голодания. Для контрольных и подопытных особей выполняли по 6–7 повторностей. При расчетах распределения рыб по отсекам установки число особей суммировали по результатам всех проведенных опытов. Всего исследовано 48 экз. контрольных и 52 экз. подопытных рыб.

По результатам распределения рыб в “рыбоходе” рассчитывали два индекса: индекс контранатантности (движение против течения) и индекс подвижности. Индекс контранатантности указывает, в каком направлении относительно течения в среднем сместилась одна рыба. Он изменяется от 1 (все рыбы поднялись из стартовой камеры в верхний отсек – № 1) до –1 (все рыбы опустились из стартовой камеры в нижний отсек – № 9). Индекс подвижности характеризует на сколько отсеков в среднем переместилась особь относительно стартового независимо от направления ее движения. Он изменяется от 1 (все рыбы в крайних отсеках) до 0 (все рыбы остались в стартовом отсеке). Рассчитывали индексы по формулам:

$$I_k = \frac{\sum (n_i(N_s - i))}{(N_s - 1) \sum n_i},$$

$$I_m = \frac{\sum (n_i |N_s - i|)}{(N_s - 1) \sum n_i},$$

где I_k – индекс контранатантности; I_m – индекс подвижности; n_i – количество рыб в i -м отсеке

установки, экз.; N_s – номер стартового отсека; i – номер отсека установки.

Обработка материала выполнена с использованием дисперсионного анализа и критерия Стьюдента для долей.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В течение акклимации (20 мин) как сытая, так и голодная молодь радужной форели свободно плавала в толще воды стартового отсека рыбохода. После снятия заградительных решеток стартового отсека одни особи ушли в верхние по течению отсеки, а другие – в нижние отсеки или оставались в стартовом.

В процессе голодания реореакция изменялась как у контрольной, так и у подопытной молоди (рис. 2). Дисперсионный анализ показал, что распределение особей в рыбоходе достоверно зависит от продолжительности голодания ($p < 0.001$) и их принадлежности к контрольной или подопытной группе ($p < 0.001$). При этом влияние голодания на распределение контрольных и подопытных рыб достоверно ($p < 0.034$) различалось. Кроме того в некоторых случаях различия оказались достоверными и по менее мощному критерию Стьюдента для долей.

За все время эксперимента ПТР проявляли в большей степени рыбы, инъецированные сурфагоном, различия достоверны при 0 и 5 сут голодания ($p < 0.01$, здесь и далее в скобках указаны уровни значимости различий по критерию Стьюдента для долей). В зависимости от продолжительности голодания число рыб, проявляющих ПТР, варьировало от 35 до 73% у подопытных особей и от 28 до 44% у контрольных.

Число рыб, проявляющих СТР, в значительной степени варьировало как в контроле, так и в опыте. Различия между контрольными и подопытными рыбами, проявляющими СТР, достоверны при 2, 5 и 10 сут голодания ($p < 0.01$). В сытом состоянии большее число особей из контрольной группы проявляли СТР по сравнению с подопытными – 52 и 41% соответственно.

Как в сытом состоянии, так и при голодании ОТР проявляло достоверно ($p < 0.05$) больше контрольных особей, чем подопытных. В зависимости от продолжительности голодания число контрольных рыб, проявляющих ОТР, варьировало от 20 до 59%, а подопытных – от 7 до 10%.

Методом дисперсионного анализа показано, что под влиянием сурфагона у рыб изменяется индекс контрактантности ($p < 0.0001$).

В обеих группах после 2 сут голодания отмечены минимальные значения индекса контрактантности за все время проведения эксперимен-

та. Подобное изменение реореакции является первым признаком смены стереотипа поведения (Павлов и др., 2010а; Костин, Павлов, 2012). Контрольные рыбы предпочитают скатываться, а у подопытных особей наблюдается снижение доли движения против течения – индекс снижается в три раза. Далее на протяжении всего голодания в контрольной группе индекс остается в отрицательной зоне, а у подопытной – остается в положительной.

Достоверного влияния сурфагона и голодания на индекс подвижности не обнаружено. Изменения индекса подвижности в процессе голодания близки у подопытных и контрольных рыб (рис. 4), в обоих случаях при голодании до 7 сут отмечен рост показателя. После 7 суток индекс подвижности у контрольных особей остается на высоком уровне, а у подопытных начинает снижаться. В целом, в конце эксперимента отмечена тенденция к снижению подвижности рыб под действием сурфагона.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных экспериментов свидетельствуют о том, что в сытом и голодном состоянии молодь радужной форели, инъецированная сурфагоном, предпочитает двигаться вверх по течению, а контрольная – вниз. То есть у радужной форели в возрасте 2 мес. сурфагон привел к смене поведения в потоке.

В *обычном состоянии* (сытом) в контрольной группе рыб преобладают особи, проявляющие СТР – сохраняющие свое местоположение в потоке. Рыбы, инъецированные сурфагоном, в основном проявляют ПТР, прежде всего за счет снижения доли особей,двигающихся вниз по течению.

В *миграционном состоянии* (голодном) у контрольных и подопытных особей отмечены как различные так и сходные изменения реореакции. В миграционном состоянии и контрольные и подопытные рыбы в наименьшей степени проявляют СТР. У контрольных особей в миграционном состоянии увеличивается и становится максимальной доля рыб,двигающихся вниз по течению на всем протяжении голодания. При этом изменения реореакции в процессе развития миграционного состояния у этих рыб хорошо согласуются с аналогичными изменениями, полученными ранее при исследовании реореакции у черноморской кумжи (*Salmo trutta labrax*) (Павлов и др., 2010а). У инъецированной сурфагоном молоди радужной форели в миграционном состоянии преобладало движение против течения (ПТР). Следовательно, независимо от того, находится ли

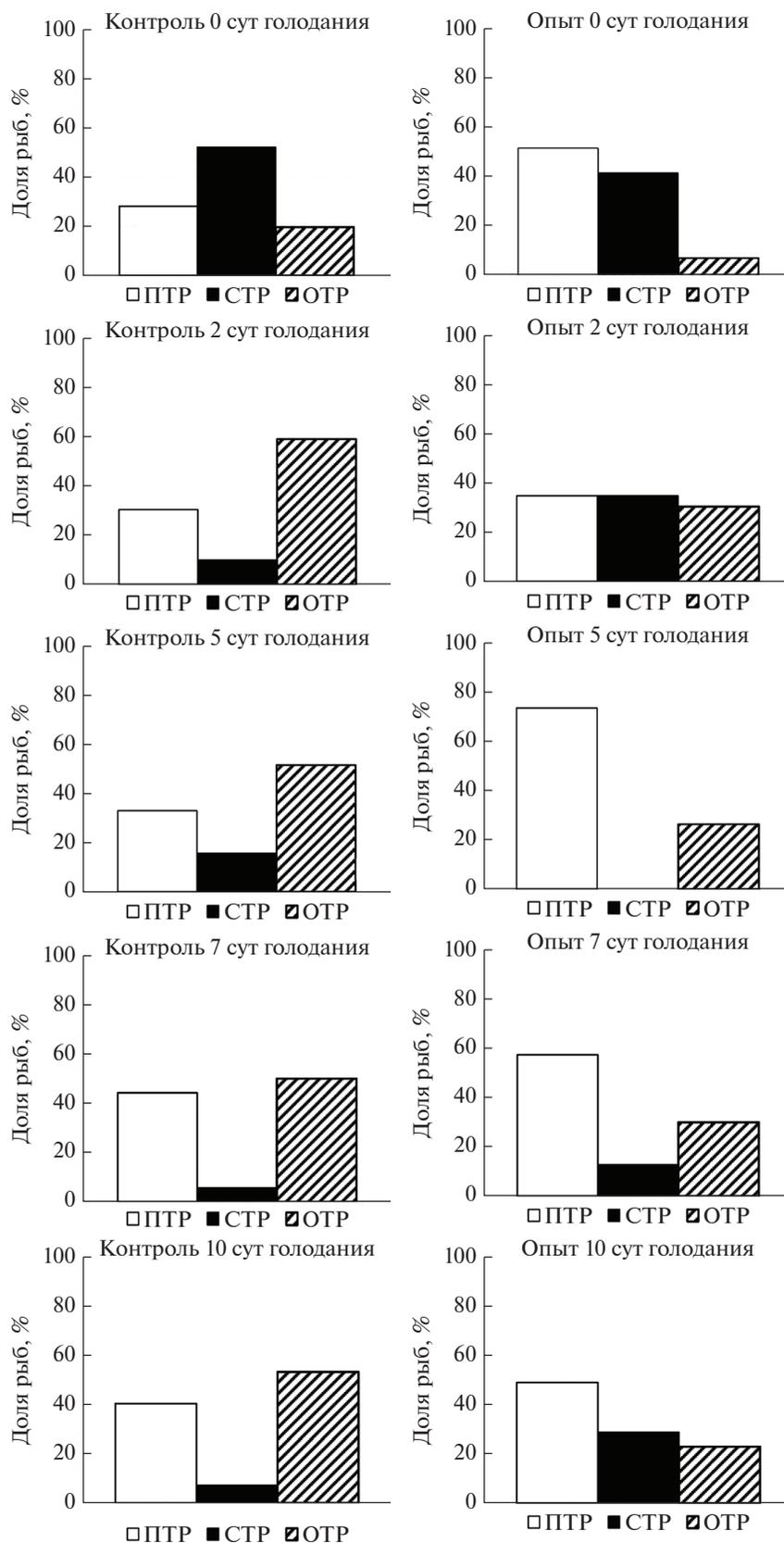


Рис. 2. Изменение суммарных показателей реореакции в разные периоды голодания у молоди радужной форели контрольной и опытной группы: ПТР – положительный тип реореакции, СТР – статический тип реореакции, ОТР – отрицательный тип реореакции.

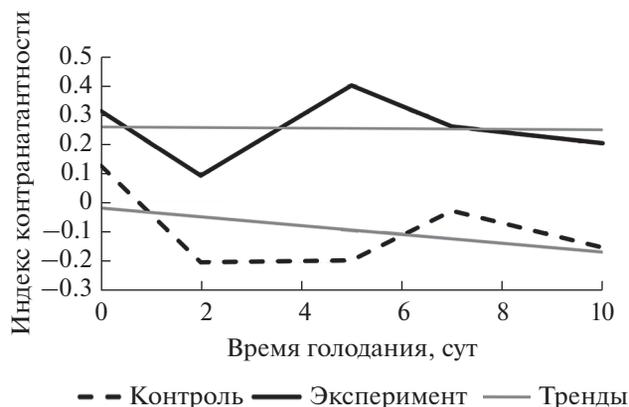


Рис. 3. Динамика индекса контрактантности у контрольной и опытной молодежи радужной форели при голодании.



Рис. 4. Динамика индекса подвижности контрольной и опытной молодежи радужной форели при голодании.

особь в обычном или миграционном состоянии однократная инъекция сурфагона на длительное время изменяет ее реореакцию.

Отметим, что влияние сурфагона сказывается на реореакции радужной форели сильнее, чем влияние голодания в течение 10 сут. У контрольных особей при голодании индекс контрактантности из положительного становится отрицательным. То есть голодание не только снижает значение индекса, но и изменяет его знак. А у инъекцированных рыб индекс остается положительным на всем протяжении опыта — голодание в течение 10 сут не меняло направление движения (преимущественно против течения), характерное для сытых особей.

Механизм влияния сурфагона на реореакцию молодежи лососевых неизвестен. Полученные результаты позволяют предполагать, что, во-первых, действие сурфагона на реореакцию молодежи опосредованное. На это указывает короткий период распада препарата. Синтетический пептид сурфагон в течение 3 часов после введения метаболизируется до аминокислот и выводится из организма. Во-вторых, отсроченное (через 40 дней

после инъекции) действие сурфагона на реореакцию не сопровождается изменением уровня тиреоидных гормонов в крови (Павлов и др., 2015) — индикаторов миграционного поведения молодежи (Павлов и др., 2014). В-третьих, обнаруженное влияние препарата, по-видимому, связано с улучшением физиологического состояния инъекцированных рыб. Вероятно, это происходит за счет стимуляции сурфагоном выделения гонадотропинов гипофиза в кровь, что оптимизирует функционирование гормональной системы в целом.

На черноморской кумже было показано, что рыбы, выращиваемые в менее благоприятных условиях (без доступа к территории), в большей степени предпочитают движение вниз по течению, чем особи, имеющие доступ к территории, то есть обитающие в благоприятных условиях (Павлов и др., 2010а). В то же время молодежь черноморской кумжи, выращенная при нарушениях режима содержания, также предпочитала движение по течению, как и рыбы, испытывающие дефицит территории (Пономарева, 2014). Следовательно, неблагоприятные условия содержания, скорее всего, приводят к ухудшению физиологи-

ческого состояния рыб и тем самым могут стимулировать их миграционное поведение.

После завершения поведенческих экспериментов было проведено исследование влияния сурфагона на физиологическое состояние тех же особей форели. Ранее было показано (Павлов и др., 2015), что неблагоприятные условия содержания (Южный Вьетнам), такие как высокая температура воды и низкий уровень растворенного кислорода отрицательно влияют на физиологическое состояние молоди (Павлов и др., 2010б, 2013, 2015). Было установлено, что сурфагон улучшает рост и стабилизирует развитие половых желез у молоди радужной форели, и таким образом способствует нормализации физиологического состояния рыб в сложившихся условиях их содержания.

В связи с этим, обнаруженное действие препарата на реореакцию рыб может быть также связано с указанной выше нормализацией общего физиологического состояния молоди радужной форели (Павлов и др., 2015). Кроме того, следует также заметить, что обсуждаемый эффект сурфагона на реореакцию был зарегистрирован на 30–40-ой день после инъекции. Это соответствует минимальной длительности воздействия неблагоприятных условий необходимой для изменения миграционного состояния у лососевых рыб (Пономарева, 2014).

Таким образом, действие сурфагона на реореакцию проявляется в усилении статического и положительного типов реореакции. Это влияние наблюдается как в обычном (сытом), так и в миграционном состоянии, индуцированном голоданием. Причем влияние гормона на реореакцию превышает эффект от голодания. Обнаруженный эффект от однократного введения сурфагона на реореакцию молоди радужной форели подтверждает ранее полученные данные, свидетельствующие о положительном влиянии препарата на ее физиологическое состояние.

Авторы выражают глубокую благодарность сотрудникам рыбоводного хозяйства Клонг-Кланх за содействие в проведении исследований; сотрудникам Российско-Вьетнамского тропического научно-исследовательского и технологического центра за всестороннюю помощь; д.б.н., профессорам Биологического факультета МГУ А.О. Касумяну за ценные замечания по тексту рукописи и А.Б. Бурлакову за рекомендации по постановке эксперимента.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-14-01171).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Костин В.В., Павлов Д.С. Стереотипы миграционного поведения молоди рыб в реках // V Всероссийская конференция по поведению животных. Москва 20–23 ноября 2012 г. Сборник тезисов. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2012. С. 99.
- Павлов Д.С., Костин В.В., Пономарева В.Ю. Поведенческая дифференциация сеголеток черноморской кумжи *Salmo trutta labrax*: реореакция в год, предшествующий смолтификации Варзуга // Вопр. ихтиологии. 2010а. Т. 50. № 2. С. 251–261.
- Павлов Д.С. Биологические основы управления поведением рыб в потоке воды. М.: Наука. 1979. 319 с.
- Павлов Д.С., Павлов Е.Д., Ганжа Е.В., Костин В.В., Пономарева В.Ю. Цитологическое состояние гонад и уровень тиреоидных и половых стероидных гормонов у двух фенотипических форм молоди черноморской кумжи *Salmo trutta labrax* // Вопр. ихтиол. 2014. Т. 54. № 4. С. 470–478.
- Павлов Е.Д., Ганжа Е.В., Во Тхи Ха, Нгуен Ан Тиен, Павлов Д.С. Состояние половых желез, уровень тиреоидных и половых стероидных гормонов у сеголеток радужной форели при воздействии сурфагона // Онтогенез. 2015. Т. 46. № 5. С. 338–345.
- Павлов Е.Д., Ганжа Е.В., Нгуен Вьет Туи, Нгуен Ти Хуан Ту. Состояние половых желез годовиков триплоидной радужной форели в высокогорных условиях Южного Вьетнама при воздействии андрогенного гормона // Вопр. ихтиол. 2013. Т. 53. № 6. С. 726–740.
- Павлов Е.Д., Нгуен Вьет Туи, Нгуен Ти Хуан Ту. Состояние половых желез молоди триплоидной форели *Oncorhynchus mykiss* в условиях южного Вьетнама после искусственной инверсии пола // Вопр. ихтиол. 2010б. Т. 50. № 5. С. 675–684.
- Пономарева В.Ю. Поведенческие механизмы внутрипопуляционной дифференциации молоди некоторых лососевых рыб. Автореф. дис. ... кандидата биол. наук. М. 2014. 28 с.
- Pavlov D.S., Kostin V.V., Zvezdin A.O., Ponomareva V.Yu. On methods of determination of the rheoreaction type in fish // J. Ichthyol. 2010. V. 50. № 11. P. 977–984.
- Plate E.M., Adams B.A., Allison W.E., Martens G., Hawryshyn C.W., Eales J.G. The effects of thyroxine or a GnRH analogue on thyroid hormone deiodination in the olfactory epithelium and retina of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* and sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka* // Gen. Comp. Endocrinol. 2002. V. 127. P. 59–65.
- Plate E.M., Wood C.C., Hawryshyn C.W. GnRH affects activity and jumping frequency in adult sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka* // Fish Physiology and Biochemistry. 2003. V. 28. P. 245–248.
- Sato A., Ueda H., Fukaya M., Kaeriyama M., Zohar Y., Urano A., Yamauchi K. Sexual differences in homing profiles and shortening of homing duration by gonadotropin releasing hormone analog implantation in lacustrine sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) in Lake Shikotsu // Zool. Science. 1997. V. 14. P. 1009–1014.
- <http://www.fishbase.org/Summary/speciesSummary.php?ID=239&AT=rainbow+trout>

Rheoreaction of Juvenile Rainbow Trout under Action of Surfagon

D. S. Pavlov, E. D. Pavlov, V. V. Kostin, and E. V. Ganzha

A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution Russian Academy of Sciences, 119071

Moscow, Leninsky pr., 33

e-mail: p-a-v@nxt.ru

Received August 20, 2015; in final form, September 10, 2015

The rheoreaction of juvenile rainbow trout (aged 2 months) was studied 30–40 days after a single injection of surfagon (synthetic analogue of gonadotropin-releasing hormone). Individuals subjected to surfagon preferred to move against the water current both in normal and migratory state, while control (not injected) individuals preferred to move downstream. Surfagon strongly modified the rheoreaction of individuals in normal and migratory state.

Keywords: rainbow trout *Parasalmo mykiss* (= *Oncorhynchus mykiss*), surfagon, rheoreaction, migration behavior