

## ОСМОТИЧЕСКАЯ И ИОННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ У ТРЕХИГЛОЙ КОЛЮШКИ *GASTEROSTEUS ACULEATUS* LINNAEUS, 1758 (GASTEROSTEIDAE) ИЗ БЕЛОГО МОРЯ И ПРЕСНОВОДНОГО ОЗЕРА КРИВОЕ

© 2021 г. В. И. Мартемьянов\*

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, пос. Борок 152742, Россия

\*e-mail: martem@ibiw.ru

Поступила в редакцию 20.08.2020 г.

После доработки 02.03.2021 г.

Принята к публикации 01.04.2021 г.

У особей трехиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758, отловленных в Белом море и акклиматизированных к условиям пресноводного оз. Кривое, определены значения осмоляльности, обусловленной неорганическими ионами ( $Osm_{inorg}$ ), а также содержание натрия и калия, общей, свободной и связанной фракций воды в сыворотке крови, спинномозговой жидкости, эритроцитах, мышцах, печени и мозге. Установлено, что  $Osm_{inorg}$  в эритроцитах, мышцах, печени и мозге трехиглой колюшки была достоверно ниже, чем во внутренней среде. Дефицит ионов в тканях компенсировался накоплением органических осмолитов ( $Osm_{org}$ ). Показано, что трехиглая колюшка имеет пресноводный и морской типы осмотической и ионной регуляции, что характерно для эвригаллиных видов. В пресной и морской воде  $Osm_{inorg}$  и содержание натрия в сыворотке крови рыб поддерживались в диапазонах, характерных для морских видов. Данные признаки указывают на морское происхождение *G. aculeatus*.

**Ключевые слова:** регуляция клеточного объема, сыворотка крови, спинномозговая жидкость, эритроциты, мышцы, печень, мозг, осмоляльность, ионы

DOI: 10.31857/S0134347521060097

Основа жизнедеятельности любого организма – способность поддерживать объем клеток на стабильном уровне в широких диапазонах того или иного фактора среды. Это создает оптимальные условия для функционирования клеток разных тканей и органов организма независимо от внешних условий. Клеточный объем зависит от поддержания осмотического равновесия между внутренней средой и внутриклеточной жидкостью органов и тканей организма.

Осмотической активностью обладают неорганические ионы и органические осмолиты. Общая осмоляльность ( $Osm_{total}$ ) состоит из осмоляльности, обусловленной неорганическими ионами ( $Osm_{inorg}$ ), и осмоляльности, связанной с органическими осмолитами ( $Osm_{org}$ ):  $Osm_{total} = Osm_{inorg} + Osm_{org}$ . В норме при стабильных условиях осмоляльность сыворотки крови ( $Osm_{total\ serum}$ ), а также межклеточной ( $Osm_{total\ extra}$ ) и внутриклеточной ( $Osm_{total\ intra}$ ) жидкостей уравновешены между собой:  $Osm_{total\ serum} = Osm_{total\ extra} = Osm_{total\ intra}$ . На основе уравнения  $Osm_{total} = Osm_{inorg} + Osm_{org}$  следует:  $Osm_{inorg\ serum} + Osm_{org\ serum} = Osm_{inorg\ extra} + Osm_{org\ extra} = Osm_{inorg\ intra} + Osm_{org\ intra}$ .

$Osm_{total}$  внутренней среды организма определяется, как правило, методом криоскопии, который позволяет оценить общий вклад неорганических электролитов и органических осмолитов ( $Osm_{inorg} + Osm_{org}$ ). Однако этот метод не удается применить для измерения  $Osm_{total}$  в разных органах и тканях организма. Поэтому исследования механизмов регуляции объема клеток к изменению осмоляльности внутренней среды организма связаны с определением концентрации отдельных осмолитов в той или иной ткани. Предложено использовать метод кондуктометрии для определения  $Osm_{inorg}$  в плазме/сыворотке крови, эритроцитах и разных тканях пресноводных (Мартемьянов, 2014; Мартемьянов, Васильев, 2018), морских (Мартемьянов, 2020) и эвригаллиных (Мартемьянов и др., 2021) видов рыб.

Трехиглая колюшка *Gasterosteus aculeatus* широко распространена по всему среднеширотному Северному полушарию. Различные аспекты эволюции, экологии и поведения этих рыб обсуждаются во многих статьях (Arnold et al., 2003; Demchuk et al., 2015; Bakhvalova et al., 2016; Golovin et al., 2019; Murzina et al., 2019), обзорах (Baker, 1994; Kitano et al., 2012; Lajus et al., 2019, 2020) и книгах (Wootton, 1976, 1984). Трехиглая колюшка

*G. aculeatus* образует морские (Golovin et al., 2019; Lajus et al., 2020) и пресноводные популяции (Krokhin, 1970; Ершов и др., 2015; Lugert et al., 2017). В опытах *in vitro* показано, что при изменении осмоляльности физиологического раствора клетки мышц трехиглой колюшки способны регулировать объем за счет изменения количества внутриклеточных осмолитов (Lange, Fugelli, 1965).

Механизмы адаптации клеток организма к изменению осмоляльности в экспериментах *in vitro* и *in vivo* существенно различаются (Martemyanov, 2017; Мартемьянов, Васильев, 2018; Martemyanov, Poddubnaya, 2019, 2020). Поэтому для адекватного понимания процессов, происходящих при приспособлении разных типов клеток организма к изменению осмоляльности внеклеточной жидкости, необходимы данные, полученные *in vivo*.

Цель настоящей работы – определить *in vivo*  $Osm_{inorg}$ , содержание натрия, калия и воды (общей, свободной и связанной фракций) в сыворотке крови, спинномозговой жидкости (СМЖ), эритроцитах, мышцах, печени и мозге трехиглой колюшки *G. aculeatus*, отловленной в Белом море и акклимированной к условиям пресного оз. Кривое.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материал для исследования был собран 24.06–03.07.2018 г. на Беломорской биостанции “Картеш” Зоологического института РАН. В период исследования в устье ручья, вытекающего из оз. Кривое и впадающего у пристани в море, наблюдали большую стаю самок колюшки с гонадами IV стадии зрелости. Рыболовной снастью “паук” 24.06.2018 г. за один прием быстро отловили около 300 рыб.

Колюшек, помещенных в две емкости, доставили на пристань, расположенную на оз. Кривое (около 50 м от моря), и рассадили в два садка для акклимации к пресной воде. Рыбы находились в садках до 03.07.2018 г. Все колюшки без каких-либо внешних проявлений беспокойства перенесли прямой перенос из моря в пресную воду. После акклимации у рыб брали пробы, как описано ниже.

В день помещения колюшек в садки брали пробы у рыб из морской воды. Самок колюшки быстро извлекали из морской воды снастью “паук” и из каудального сосуда рыб отбирали кровь в пластиковые пробирки, находящиеся в поролоновом штативе, помещенном в термос со льдом. Процедура отбора крови у одной особи длилась не больше минуты. Мы стремились взять пробу быстро, чтобы исключить влияние стресса на исследуемые показатели. В каждую пробирку собирали кровь от 6–8 особей. После отбора крови рыб складывали в полиэтиленовый пакет, чтобы исключить удаление влаги из тела. Пробирки с кровью в термосе и рыб в полиэтиленовом пакете до-

ставили в лабораторию для последующей обработки.

Кровь центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин. После этого пипеткой брали определенный объем сыворотки и помещали в чистые пластиковые пробирки. Остальную часть сыворотки вместе с верхним слоем фибриногена, лейкоцитов и эритроцитов отбрасывали. Эритроциты дополнительно промокали фильтровальной бумагой для удаления остаточной жидкости. Пробы эритроцитов (90–120 мг) помещали на плотную обеззоленную бумагу и взвешивали. Для взятия проб сыворотки крови и спинномозговой жидкости использовали полоски обеззоленной фильтровальной бумаги размером 5 × 10 мм. Полоску фильтровальной бумаги, подвешенную на крючке, окунали в пробирку с сывороткой. После насыщения бумаги жидкостью полоску подвешивали на крючок специально изготовленной стойки с подножкой, установленной на столик электронных весов марки HR-150AZ (A & Co. Ltd., Japan) с точностью измерения 0.1 мг.

После вскрытия черепа рыбы полоску фильтровальной бумаги, подвешенную на крючке, окунали в СМЖ и взвешивали. После взвешивания пробу сыворотки крови и СМЖ снимали с весов и подвешивали на растянутую проволоку, закрепленную с двух сторон за стойки.

С помощью ножниц мозг (26–60 мг) извлекали из черепа, помещали на плотную обеззоленную бумагу и взвешивали. Пробы мышечной ткани (42–86 мг), взятые в области второго-четвертого ребер, и пробы печени (30–92 мг) помещали на плотную обеззоленную бумагу и взвешивали. Для анализа использовали 86 самок колюшки общей длиной 61–75 мм и массой 2.6–5.0 г.

Высушенные на воздухе пробы поместили в пластиковые пробирки и доставили в Институт биологии внутренних вод РАН. Пробы сушили в сушильном шкафу при температуре 105°C. Через неделю пробы по очереди доставали из сушильного шкафа и быстро взвешивали в горячем состоянии. Затем пробы не менее 3 нед. находились в помещении, впитывая влагу до определенной постоянной массы (влажная проба).

Разные фракции воды (тотальную, свободную и связанную) в организме и тканях рыб определяли по ранее предложенной методике (Мартемьянов, 2014). Содержание разных фракций воды в тканях выражали в процентах. Фракция свободной воды в биологических жидкостях является растворителем для осмотически активных веществ, поэтому  $Osm_{inorg}$  выражали в мОсм/кг свободной воды, а содержание натрия и калия – в ммоль/кг свободной воды.

Сухие пробы помещали в пластиковые пробирки, в которые приливали бидистиллированную воду так, чтобы достичь разведения для плазмы и СМЖ в 500 раз, для мышц и мозга в 200 раз, а для эритроцитов и печени в 100 раз. Через сутки

пробы встряхивали и определяли общую концентрацию ионов кондуктометрическим методом (Хлебович, 1974) с использованием платиновых электродов (две пластины по 1 см<sup>2</sup> с расстоянием между ними 1 см), соединенных с реохордным мостом Р-38, питаемым переменным током. Этот метод особенно ценен при анализе очень слабых растворов. Затем измеряли концентрацию натрия и калия на пламенном спектрофотометре Flapho-4 (фирма Carl Zeiss, Jena, Германия).

В научной литературе соленость внешней среды выражена в разных единицах. Для адекватного сравнения осмотических взаимодействий между организмом рыб и внешней средой литературные данные по солености среды, выраженные в разных единицах, пересчитывали в мОсм/кг раствора на основе таблицы изоосмотических концентраций разных сред (см.: Хлебович, 1974).

Данные обрабатывали статистически. Средние значения и их стандартные ошибки рассчитывали с помощью программы Microsoft Excel 10. Для определения значимости различий с вероятностью  $p \leq 0.05$  применяли t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони, используя программу STATISTICA 10.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В сыворотке крови трехиглой колюшки, отловленной в Белом море,  $Osm_{inorg}$  была ниже, чем во внешней среде, на 280.4 мОсм, а содержание натрия было меньше на 187.5 ммоль (табл. 1). В сыворотке крови рыб из оз. Кривое, акклимированных к пресной воде,  $Osm_{inorg}$  по отношению к внешней среде была выше в среднем на 433 мОсм, а концентрация натрия – на 208 ммоль.

В сыворотке крови, а также СМЖ рыб из моря и пресной воды  $Osm_{inorg}$  достоверно не различалась. По сравнению с  $Osm_{inorg}$  СМЖ морских рыб,  $Osm_{inorg}$  СМЖ пресноводной группы рыб поддерживалась на достоверно более низком уровне (табл. 2). Содержание натрия в сыворотке крови и СМЖ морской и пресноводной выборки рыб достоверно не различалось. Однако в СМЖ трехиглой колюшки из моря и пресной воды содержание натрия было достоверно ниже на 22.2–24.6%, а калия выше в среднем в 5 раз, чем в сыворотке крови (табл. 2). При перемещении трехиглой колюшки из морской воды в пресную, достоверные различия наблюдались только для  $Osm_{inorg}$  в СМЖ.

Содержание разных фракций воды в СМЖ морских рыб по сравнению с таковым в сыворотке крови достоверно различалось, а у пресноводной выборки трехиглой колюшки данные различия отсутствовали. Уровни общей и свободной фракций воды в сыворотке крови пресноводной выборки рыб были достоверно выше, чем в таковой морской колюшки. Все три фракции воды в

СМЖ пресноводной выборки рыб достоверно отличались от таковых морских рыб (табл. 2).

По отношению к сыворотке крови  $Osm_{inorg}$  в мозге, мышцах, печени и эритроцитах трехиглой колюшки из моря была достоверно ниже на 11, 20, 16.2 и 18.2% соответственно. В мозге, мышцах и эритроцитах трехиглой колюшки, акклимированной к пресной воде,  $Osm_{inorg}$  была достоверно ниже, чем в сыворотке крови, соответственно на 9.6, 17.7 и 15.1% (табл. 2).

При перемещении трехиглой колюшки из морской воды в пресную достоверные различия наблюдались только в  $Osm_{inorg}$ , содержании натрия и калия в печени. При акклимации трехиглой колюшки к пресной воде достоверные различия наблюдались для общей и свободной фракций воды в мозге и для связанной воды в печени (табл. 2).

## ОБСУЖДЕНИЕ

В сыворотке крови (табл. 1) трехиглой колюшки, отловленной в море,  $Osm_{inorg}$  и содержание натрия были значительно ниже, чем во внешней среде. Трехиглая колюшка осуществляет в морской среде гипоосмотический и гипонатремический типы регуляции, которые характерны для морских видов рыб (Мартемьянов, 2013). Основой такой регуляции является наличие в жаберном эпителии рыб ионоцитов морского типа, отвечающих за трансэпителиальный перенос ионов из крови во внешнюю среду.

В сыворотке крови рыб (табл. 1), акклимированных к пресной воде оз. Кривое,  $Osm_{inorg}$  и содержание натрия были гораздо выше, чем во внешней среде. Трехиглая колюшка в пресной воде осуществляет гиперосмотический и гипернатремический типы регуляции. Такие типы осмотической и ионной регуляции характерны для пресноводных видов рыб (Мартемьянов, 2013). Основой подобной регуляции является наличие в жаберном эпителии рыб ионоцитов пресноводного типа, которые выполняют трансэпителиальный перенос ионов из внешней среды в кровь.

Таким образом, в зависимости от солености среды тип осмотической и ионной регуляции у трехиглой колюшки может быть пресноводным или морским. Основой регуляции является наличие у каждого эвригалинного вида в жаберном эпителии ионоцитов, функционирующих по пресноводному и морскому типам (Wu et al., 2003; Horng et al., 2009; Shen et al., 2011; Hiroi, McCormick, 2012; Hsu et al., 2014). Следовательно, трехиглая колюшка, обитающая в Белом море, по отношению к солености среды является эвригалинным видом.

У трехиглой колюшки, акклимированной к пресной воде,  $Osm_{inorg}$  внутренней среды в среднем составляла 435 мОсм/кг (14.3 г/л), а у рыб из моря – 453 мОсм/кг (14.9 г/л). Эти результаты

**Таблица 1.** Показатели осмольности, обусловленной неорганическими ионами ( $Osm_{inorg}$ ), содержание натрия, калия и общей, свободной и связанной фракций воды в тканях трехиглой колючки *Gasterosteus aculeatus*, отловленной в Белом море и акклиматизированной к условиям оз. Кривое

Характеристики среды обитания	л, экз.	Проба	$Osm_{inorg}$ , мОсм/кг свободной воды	Концентрация ионов, ммоль/кг свободной воды		Вода, %		
				натрий	калий	общая	свободная	связанная
Белое море:	10	Сыворотка	452.6 ± 8.9	222.5 ± 5.8	9.8 ± 0.7	89.1 ± 0.4	86.1 ± 0.5	2.99 ± 0.13
осмольность 753 мОсм/л (25.5 г/л)	6	СМЖ	456.7 ± 8.0	173.1 ± 5.0	52.7 ± 3.4	86.2 ± 0.9	82.0 ± 1.1	4.00 ± 0.25
содержание натрия 410 ммоль/л	6	Мозг	402.8 ± 9.1	106.2 ± 4.5	90.2 ± 3.2	81.3 ± 0.1	80.3 ± 0.2	1.05 ± 0.08
содержание калия 4 ммоль/л	8	Мышцы	362.3 ± 7.4	59.9 ± 5.2	121.3 ± 3.0	81.0 ± 0.5	79.3 ± 0.6	1.80 ± 0.12
температура 10–11°C	8	Печень	379.1 ± 8.2	59.0 ± 5.4	130.6 ± 1.9	76.0 ± 0.2	73.8 ± 0.2	2.21 ± 0.04
	6	Эритроциты	370.4 ± 9.8	99.7 ± 4.8	93.8 ± 4.7	77.7 ± 1.1	75.2 ± 1.2	2.29 ± 0.07
Оз. Кривое:	7	Сыворотка	435.4 ± 4.1	208.1 ± 1.7	9.5 ± 0.7	94.0 ± 0.2	91.2 ± 0.3	2.62 ± 0.17
осмольность 2.2 мОсм/л (0.065 г/л)	8	СМЖ	407.7 ± 9.0	156.9 ± 4.5	45.1 ± 3.3	93.3 ± 0.4	90.6 ± 0.4	2.68 ± 0.09
содержание натрия 0.48 ммоль/л	8	Мозг	393.8 ± 5.3	112.0 ± 1.9	84.8 ± 1.0	82.5 ± 0.2	81.4 ± 0.2	1.08 ± 0.05
содержание калия 0.029 ммоль/л	8	Мышцы	358.2 ± 5.4	61.2 ± 2.9	117.9 ± 4.7	82.1 ± 0.3	80.8 ± 0.3	1.45 ± 0.10
температура, 17°C	8	Печень	413.5 ± 7.0	86.3 ± 4.0	117.2 ± 3.5	75.8 ± 1.2	74.2 ± 1.1	1.69 ± 0.12
	6	Эритроциты	369.7 ± 9.0	90.9 ± 2.8	95.6 ± 5.4	77.6 ± 1.2	75.6 ± 1.3	2.02 ± 0.17

Примечание. СМЖ – спинномозговая жидкость.

**Таблица 2.** Результаты статистического анализа по t-критерию Стьюдента с поправкой Бонферрони

Показатель	<i>p</i> A–B	<i>p</i> a–b	<i>p</i> A–a	<i>p</i> B–b
$Osm_{inorg}$	1	0.08	0.592	0.008*
Na	0.0003*	0.000001*	0.248	0.136
К	0.0000001*	0.0000001*	1	0.548
Вода общая	0.012*	0.94	0.0000001*	0.00002*
Вода свободная	0.004*	1	0.000004*	0.000016*
Вода связанная	0.004*	1	0.424	0.0004*
	<i>p</i> A–C	<i>p</i> A–D	<i>p</i> A–E	<i>p</i> A–F
$Osm_{inorg}$	0.008*	0.000004*	0.00008*	0.00016*
	<i>p</i> a–c	<i>p</i> a–d	<i>p</i> a–e	<i>p</i> a–f
$Osm_{inorg}$	0.0002*	0.000004*	0.09	0.00008*
	<i>p</i> C–c	<i>p</i> D–d	<i>p</i> E–e	<i>p</i> F–f
$Osm_{inorg}$	1	1	0.028*	1
Na	0.828	1	0.004*	0.584
К	0.408	1	0.02*	1
Вода общая	0.002*	0.376	1	1
Вода свободная	0.004*	0.196	1	1
Вода связанная	1	0.176	0.004*	0.676

Примечание. \*Достоверные различия;  $Osm_{inorg}$  – осмоляльность, обусловленная неорганическими ионами; сравниваемые показатели для сыворотки (A, a), спинномозговой жидкости (B, b), мозга (C, c), мышц (D, d), печени (E, e) и эритроцитов (F, f). Прописными буквами обозначены данные для морской трехиглой колюшки, строчными – для пресноводной.

указывают на то, что у трехиглой колюшки в диапазоне солёности от пресной воды до 14.3 г/л функционируют ионоциты пресноводного типа регуляции, поддерживающие более высокие  $Osm_{inorg}$  и содержание натрия в сыворотке крови по сравнению с таковыми во внешней среде. При солёности 14.9 г/л и выше функционируют ионоциты морского типа регуляции, поддерживающие более низкие показатели  $Osm_{inorg}$  и содержание натрия в сыворотке крови по сравнению с таковыми во внешней среде. Переход с одного типа регуляции на другой у трехиглой колюшки происходит в диапазоне солёности 14.3–14.9 г/л.

Ранее было показано, что дальневосточная крупночешуйная красноперка *Tribolodon hakonensis* – это эвригалинный вид, обладающий как пресноводным, так и морским типом осмотической и ионной регуляции. При этом переход с пресноводного типа регуляции на морской наблюдается у рыб в диапазоне солёности 11.6–13.6 г/л (Мартемьянов и др., 2021). Следовательно, зона солёности, при которой происходит переход с одного типа регуляции на другой, различается у разных видов эвригалинных рыб.

Сыворотка крови и СМЖ составляют внутреннюю среду организма. У трехиглой колюшки, отловленной в море и акклиматизированной к пресной воде, содержание натрия в СМЖ по сравнению с таковой в сыворотке крови было достоверно ниже, а калия – выше, чем в сыворотке крови (табл. 2).

Сходные закономерности отмечены у пресноводного карася *Carassius auratus* (см.: Мартемьянов, Васильев, 2018) и у отловленной в Белом море морской трески *Gadus morhua* (см.: Мартемьянов, 2020). Вероятно, такой паттерн регуляции характерен для позвоночных животных.

По сравнению с внутренней средой,  $Osm_{inorg}$  в мозге, мышцах, печени и эритроцитах трехиглой колюшки, отловленной в море и после акклиматизации к пресной воде, была достоверно ниже (табл. 1). У трехиглой колюшки из морской и пресной воды осуществляется сходный паттерн регуляции:  $Osm_{inorg\ serum} > Osm_{inorg\ brain}, Osm_{inorg\ muscle}, Osm_{inorg\ liver}$  и  $Osm_{inorg\ erythrocytes}$ . Клетки этих тканей для обеспечения осмотического равновесия с внутренней средой компенсируют недостаток неорганических ионов за счет накопления органических осмолитов.

Различия между трехиглой колюшкой из морской и пресной воды проявились следующим образом. Содержание общей и свободной фракций воды в сыворотке и СМЖ трехиглой колюшки из моря существенно ниже, а количество сухого остатка – выше, чем у рыб из пресной воды (табл. 1, 2). Сухой остаток включает преимущественно органические вещества. Следовательно, доля участия органических веществ в  $Osm_{org}$  сыворотки крови и СМЖ морской трехиглой колюшки больше, чем у рыб, акклиматизированных к пресной воде. На эвригалинных видах показано, что в морской сре-

де доля участия органических осмолитов в компенсации  $Osm_{org}$  в разных тканях рыб также больше, чем в пресной.

В ходе акклимации тилапии *Oreochromis mossambicus* к морской воде наблюдали усиление экспрессии гена, кодирующего переносчик таурина в разных тканях организма. Это приводило к увеличению количества молекул белка-переносчика на мембранах и к активации поглощения таурина из внутренней среды в клетки (Takeuchi et al., 2001, 2002). У особей этого вида, акклимированных к морской среде, содержание свободных аминокислот в мышцах, печени, жабрах, сердце и почках увеличивалось в среднем в 2 раза за счет распада белков (Venkatachari, 1974). При адаптации к морской воде угря *Anguilla anguilla* (см.: Huggins, Colley, 1971), камбалы *Platichthys flesus*, трехиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* (см.: Lange, Fugelli, 1965), мозамбикской тилапии *Sarotherodon mossambicus* (см.: Assem, Hanke, 1983) и фундулюса *Fundulus diaphanus* (см.: Ahokas, Sorg, 1977) в мышцах рыб существенно повышалась концентрация свободных аминокислот. Клеточный объем сердечной мышцы эвригалинной камбалы *P. flesus* в гиперосмотических условиях регулируется путем увеличения внутриклеточной концентрации ионов калия и аминокислоты таурина (Vislie, Fugelli, 1975). При перемещении эвригалинных рыб бородачатой кефали *Crenimugil labrosus* и камбалы *Paralichthys lethostigma* из пресной воды в морскую содержание аминокислот в мышцах увеличивалось соответственно на 82 и 66% (Lasserre, Gilles, 1971).

Эволюционные аспекты биологии трехиглой колюшки интенсивно изучаются генетическими методами. С их помощью удается реконструировать степень родства между существующими популяциями и другими видами рыб. Систематическое положение и степень родства трехиглой колюшки по отношению к другим видам семейства Gasterosteidae описаны в обзоре (Foster, 2019). Происхождение трехиглой колюшки по отношению к солености среды на основе каких-либо объективных критериев не определено. Полагают, что около 12 500 лет назад после последнего таяния ледников пресноводные места обитания были повторно заселены морскими предками трехиглой колюшки (Walker, Bell, 2000; Gow et al., 2006; Mäkinen et al., 2006; Caldera, Bolnick, 2008; Wund et al., 2008; Foster, 2019).

В пресной и морской воде  $Osm_{inorg}$ , содержание натрия и калия в сыворотке крови трехиглой колюшки достоверно не различались (табл. 2, А–а), что свидетельствует о морском происхождении трехиглой колюшки Белого моря. Исходная материнская популяция этого вида формировалась в морской воде, стабилизируя показатели водно-солевого гомеостаза, характерные для морской среды. Затем, осваивая пресные воды, популяция

формировала структуры и системы пресноводного типа регуляции, стремясь при этом сохранить параметры осмотического и ионного гомеостаза на оптимальных для функционирования клеток организма уровнях.

Пресноводная популяция трехиглой колюшки морского происхождения, сформировав пресноводный тип регуляции и имея в наличии “исходный морской тип”, возвратилась в Белое море. Если бы исходная морская популяция трехиглой колюшки не осваивала пресные воды, не сформировался бы пресноводный тип осмотической и ионной регуляции. В этом случае трехиглая колюшка Белого моря имела бы лишь морской тип осмотической и ионной регуляции. Если предположить, что предками трехиглой колюшки Белого моря были пресноводные популяции, которые, осваивая море, сформировали морской тип осмотической и ионной регуляции, то  $Osm_{inorg}$  и содержание натрия в сыворотке крови рыб, акклимированных к пресной воде, поддерживались бы на уровнях, характерных для пресноводных видов.

У эвригалинных видов рыб пресноводного происхождения осмоляльность и содержание натрия в плазме крови в пресной воде не отличаются от таковых у пресноводных видов. У эвригалинной камбалы *P. flesus*, акклимированной к пресной воде, осмоляльность и содержание натрия в плазме поддерживались на уровне  $275.9 \pm 4.5$  мОсм/кг и  $133.8 \pm 1.2$  ммоль/л соответственно (Macfarlane, 1974). По сравнению с показателями у трехиглой колюшки из пресной воды (табл. 1), осмоляльность и содержание натрия в плазме крови камбалы было существенно ниже – в среднем на 159.5 мОсм и 74.3 ммоль соответственно.

В недавно колонизированных водоемах трехиглая колюшка образовала такие экотипы, как озерная и ручьевая формы (Thompson et al., 1997), в пределах озер – лимнетические и придонные формы (Baker et al., 2005) или иловые и лавовые формы (Hendry et al., 2009; Ólafsdóttir, Snorrason, 2009). Если эти пресноводные популяции трехиглой колюшки сформированы морскими предками, то у них должен сохраниться морской тип осмотической и ионной регуляции. Чтобы проверить это, необходимо провести сходные эксперименты по влиянию солености среды на показатели осмотической и ионной регуляции у трехиглой колюшки, обитающей в пресноводных водоемах.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания тема № 121050500046-8 и при частичной поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 16-04-00120 а).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ершов П.Н., Иванова Т.С., Иванов М.В. Изменчивость меристических признаков у трехглазой колюшки из малого озера Карельского побережья Белого моря // Тр. ЗИН РАН. 2015. Т. 319. № 4. С. 504–507.
- Мартемьянов В.И. Оценка статуса рыб по отношению к солёности среды на основе типов осмотической и ионной регуляции // Тр. ЗИН РАН. 2013. Приложение № 3. С. 175–181.
- Мартемьянов В.И. Методы определения общей, свободной и связанной фракций воды в организме и тканях гидробионтов // Вода: химия и экология. 2014. № 2. С. 86–95.
- Мартемьянов В.И. Показатели осмотической и ионной регуляции у рыб Белого моря // Вопр. ихтиологии. 2020. Т. 60. № 2. С. 209–218.
- Мартемьянов В.И., Васильев А.С. Регуляция объема эритроцитов, мышц, печени и мозга у карася *Carrasius auratus* (Cyprinidae) в ответ на повышение осмотической концентрации в плазме крови // Вопр. ихтиологии. 2018. Т. 58. № 4. С. 478–485.
- Мартемьянов В.И., Ламаш Н.Е., Андреева А.М. Осмотическая и ионная регуляция у дальневосточной крупночешуйной краснопёрки *Tribolodon hakonensis* (Günther, 1877) (Cypriniformes: Cyprinidae) в море и реках // Биол. моря. 2021. Т. 47. № 3. С. 153–159.
- Хлебович В.В. Критическая солёность биологических процессов. Л.: Наука. 1974. 236 с.
- Ahokas R.A., Sorg G. The effect of salinity and temperature on intracellular osmoregulation and muscle free amino acids in *Fundulus diaphanous* // Comp. Biochem. Physiol. Part A: Mol. Integr. Physiol. 1977. V. 56. P. 101–105.
- Arnold K.E., Adam A., Orr K.J. et al. Sex-specific survival and parasitism in three-spined sticklebacks: seasonal patterns revealed by molecular analysis // J. Fish. Biol. 2003. V. 63. P. 1046–1050.
- Assem H., Hanke W. The significance of the amino acids during osmotic adjustment in teleost fish-I. Changes in the euryhaline *Sarotherodon mossambicus* // Comp. Biochem. Physiology. 1983. V. 74A. P. 531–536.
- Baker J.A. Life history variation in female threespine stickleback. In: The evolutionary biology of the threespine stickleback. New York: Oxford University Press. 1994. P. 144–187.
- Baker J.A., Cresko W.A., Foster S.A., Heins D.C. Life-history differentiation of benthic and limnetic ecotypes in a polytypic population of threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) // Evol. Ecol. Res. 2005. V. 7. P. 121–131.
- Bakhvalova A.E., Ivanova T.S., Ivanov M.V. et al. Long-term changes in the role of threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) in the White Sea: predatory fish consumption reflects fluctuating stickleback abundance during the last century // Evol. Ecol. Res. 2016. V. 17. P. 317–334.
- Caldera E.J., Bolnick D.I. Effects of colonization history and landscape structure on genetic variation within and among threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) populations in a single watershed // Evol. Ecol. Res. 2008. V. 10. P. 575–598.
- Demchuk A., Ivanov M., Ivanova T. et al. Feeding patterns in seagrass beds of three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus* juveniles at different growth stages // J. Mar. Biol. Assoc. UK. 2015. V. 95. P. 1635–1643.
- Foster S.A. Threespine stickleback. In: Encyclopedia of Animal Behavior (Second Edition) Academic Press, Elsevier Ltd. 2019. P. 214–220.
- Golovin P.V., Bakhvalova A.E., Ivanov M.V. et al. Sex-biased mortality of marine threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) during their spawning period in the White Sea // Evol. Ecol. Res. 2019. V. 20. P. 279–295.
- Gow J.L., Peichel C.L., Taylor E.B. Contrasting hybridization rates between sympatric three-spined sticklebacks highlight the fragility of reproductive barriers between evolutionarily young species // Mol. Ecol. 2006. V. 15. P. 739–752.
- Hendry A.P., Bolnick D.I., Peichel D.B. Along the speciation continuum in sticklebacks // J. Fish Biol. 2009. V. 75. P. 2000–2036.
- Hiroi J., McCormick S.D. New insights into gill ionocyte and ion transporter function in euryhaline and diadromous fish // Respir. Physiol. Neurobiol. 2012. V. 184. P. 257–268.
- Hornig J.L., Hwang P.P., Shin T.H. et al. Chloride transport in mitochondrion rich cells of euryhaline tilapia (*Oreochromis mossambicus*) larvae // Am. Physiol. Cell Physiol. 2009. V. 297. C845–C854.
- Hsu H.H., Lin L.Y., Tseng Y.C. et al. A new model for fish ion regulation: identification of ionocytes in freshwater- and seawater-acclimated medaka (*Oryzias latipes*) // Cell Tissue Res. 2014. V. 357. P. 225–243.
- Huggins A.K., Colley L. The changes in the non-protein nitrogenous constituents of muscle during the adaptation of the eel *Anguilla anguilla* L. from fresh water to sea water // Comp. Biochem. Physiol. 1971. V. 38B. P. 537–541.
- Kitano J., Ishikawa A., Kume M., Mori S. Physiological and genetic basis for variation in migratory behavior in the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* // Ichthyol. Res. 2012. V. 59. P. 293–303.
- Krokhin Y.M. Estimation of the biomass and abundance of the threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) in Lake Dal'neye based on the food consumption of plankton-feeding fishes // J. Ichthyol. 1970. V. 10. P. 471–475.
- Lajus D.L., Golovin P.V., Yurtseva A.O. et al. Fluctuating asymmetry as an indicator of stress and fitness in stickleback: a review of the literature and examination of cranial structures // Evol. Ecol. Res. 2019. V. 20. P. 83–106.
- Lajus D.L., Golovin P.V., Zelenskaia A.E. et al. Threespine stickleback of the White Sea: population characteristics and role in the ecosystem // Contemp. Probl. Ecol. 2020. V. 13. P. 132–145.
- Lange R., Fugelli K. The osmotic adjustment in the euryhaline teleosts, the flounder, *Pleuronectes flesus* L. and the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. // Comp. Biochem. Physiol. 1965. V. 15. P. 283–292.
- Lasserre P., Gilles R. 1971. Modification of the amino acid pool in the parietal muscle of two euryhaline teleosts

- during osmotic adjustment // *Experientia*. 1971. V. 27. № 12. P. 1434–1435.
- Lugert V., Meyer E.I., Kurtz J., Scharsack J.P. Effects of an anthropogenic saltwater inlet on three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) (Teleostei: Gasterosteidae) and their parasites in an inland brook // *Europ. Zool. J.* 2017. V. 84. P. 444–456.
- Macfarlane N.A.A. Effect of hypophysectomy on osmoregulation in the euryhaline flounder, *Platichthys flesus* (L.) in seawater and in fresh water // *Comp. Biochem. Physiol. A: Physiol.* 1974. V. 47. P. 201–217.
- Mäkinen H.S., Cano J.M., Merila J. Genetic relationships among marine and freshwater populations of the European three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) revealed by microsatellites // *Mol. Ecol.* 2006. V. 15. P. 1519–1534.
- Martemyanov V.I. Mechanisms of regulation of erythrocyte volume in common carp *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) at increase in the osmotic concentration of blood plasma within the zone of critical water salinity // *J. Ichthyol.* 2017. V. 57. P. 306–312.
- Martemyanov V.I., Poddubnaya N.Y. Volume regulation of muscle cells in the carp *Cyprinus carpio* in response to hypernatremia // *Bratisl. Lek. Listy*. 2019. V. 120. № 1. P. 52–57.
- Martemyanov V.I., Poddubnaya N.Y. Regulation ranges and patterns of adaptation to hyponatremia by cells of various organs and tissues of vertebrate animals // *Bratisl. Med. J.* 2020. V. 121. P. 218–224.
- Murzina S.A., Nefedova Z.A., Pekkoeva S.N. et al. Lipid and fatty acid status of the liver and gonads of the three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus* (Gasterosteidae) from different spawning grounds in the White Sea // *Biol. Bull. Russ. Acad. Sci.* 2019. V. 46. P. 82–91.
- Olafsdottir G.A., Snorrason S.S. Parallels, nonparallels, and plasticity in population differentiation of threespine stickleback within a lake // *Biol. J. Linn. Soc.* 2009. V. 98. P. 803–813.
- Shen W.P., Horng J.L., Lin L.Y. Functional plasticity of mitochondrion-rich cells in the skin of euryhaline medaka larvae (*Oryzias latipes*) subjected to salinity changes // *Am. J. Physiol. Regul. Integ. Comp. Physiol.* 2011. V. 300. R858–R868.
- Takeuchi K., Toyohara H., Kinoshita M., Sakaguchi M. Ubiquitous increase in taurine transporter mRNA in tissues of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) during high-salinity adaptation // *Fish. Physiol. Biochem.* 2001. V. 23. P. 173–182.
- Takeuchi K., Toyohara H., Kinoshita M., Sakaguchi M. Role of taurine in hyperosmotic stress response of fish cells // *Fish. Sci.* 2002. V. 68. P. 1177–1180.
- Thompson C.E., Taylor E.B., McPhail J.D. Parallel evolution of lake-stream pairs of threespine sticklebacks (*Gasterosteus*) inferred from mitochondrial DNA variation // *Evolution*. 1997. V. 51. P. 1955–1965.
- Venkatachari S.A.T. Effect of salinity adaptation on nitrogen metabolism in the freshwater fish *Tilapia mossambica*. I. Tissue protein and amino acid levels // *Mar. Biol.* 1974. V. 24. P. 57–63.
- Vislie T., Fugelli K. Cell volume regulation in flounder (*Platichthys flesus*) heart muscle accompanying and alteration in plasma osmolality // *Comp. Biochem. Physiol.* 1975. V. 52A. P. 415–418.
- Walker J.A., Bell M.A. Net evolutionary trajectories of body shape evolution within a microgeographic radiation of threespine sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) // *J. Zool.* 2000. V. 252. P. 293–302.
- Wootton R.J. The biology of the stickleback. London: Academic Press. 1976. 387 p.
- Wootton R.J. A functional biology of sticklebacks. London: Croom Helm. 1984. 265 p.
- Wu Y.C., Lin L.Y., Lee T.H. Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, 2Cl<sup>-</sup>-cotransporter: A novel marker for identifying freshwater- and seawater-type mitochondria-rich cells in gills of the euryhaline tilapia, *Oreochromis mossambicus* // *Zool. Studies*. 2003. V. 42. P. 186–192.
- Wund M.A., Baker J.A., Clancy B. et al. A test of the “Flexible stem” model of evolution: ancestral plasticity, genetic accommodation, and morphological divergence in the threespine stickleback radiation // *Am. Nat.* 2008. V. 172. P. 449–462.

## Osmotic and Ionic Regulation in the Three-Spined Stickleback *Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758 (Gasterosteidae) from the White Sea and Freshwater Lake Krivoe

V. I. Martemyanov

*Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, Borok 152742, Russia*

Several three-spined sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758, were live captured in the White Sea and acclimated to the conditions of freshwater Lake Krivoe. Then they were subjected to measurements of osmolality caused by inorganic ions ( $Osm_{inorg}$ ), levels of sodium and potassium, and also levels of total, free, and bound water fractions in serum, cerebrospinal fluid (CSF), red blood cells, muscles, liver, and brain. The  $Osm_{inorg}$  value in red blood cells, muscles, liver, and brain of the experimental fish was found to be significantly lower compared to that in the internal environment. The deficiency of ions in tissues was compensated by the accumulation of organic osmolites ( $Osm_{org}$ ). It has been shown that three-spined sticklebacks have both the freshwater and marine types of osmotic and ion regulation, which is typical of euryhaline species. In fresh and sea water, the  $Osm_{inorg}$  value and the sodium level in fish serum were maintained within ranges typical of marine species. These features indicate the marine origin of *G. aculeatus*.

**Keywords:** regulation of cell volume, serum, cerebrospinal fluid, red blood cells, muscles, liver, brain, osmolality, ions