

УДК 597.556.253:591.133.2:591.524 (268.46)

УЧАСТИЕ КИСЛЫХ ГИДРОЛАЗ В АДАПТАЦИЯХ МОЛОДИ ТРЕХИГЛОЙ КОЛЮШКИ *GASTEROSTEUS ACULEATUS* L. БЕЛОГО МОРЯ

Р. У. Высоцкая¹, Е. А. Буэй¹, М. Ю. Крупнова¹, Н. Н. Немова¹,
Д. Л. Лайус²

¹ Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск, Россия

² Санкт-Петербургский государственный университет, Россия

Исследована активность лизосомальных ферментов у молоди трехиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* L. из трех биотопов Кандалакшского залива Белого моря (губа Сельдяная, лагуна Колюшковая, пролив Сухая Салма), различающихся температурным режимом, соленостью, интенсивностью водообмена, плотностью водной растительности и другими параметрами. Мальков для исследований отлавливали дважды за летний период: в конце июля и в августе. В пробах определяли активность шести кислых гидролаз (кислой фосфатазы, РНКазы, ДНКазы, β-глюкуронидазы, катепсина В и катепсина D). Выявлены некоторые различия в активности изученных ферментов в тканях развивающейся молоди колюшки из разных биотопов и в зависимости от времени отбора проб. Активность кислой фосфатазы у мальков из всех акваторий практически не зависела от срока отбора проб. При этом достоверно более высоким был ее уровень в пробах из Колюшковой лагуны, отобранных в августе. Активность РНКазы наиболее высокой была у мальков из всех трех биотопов, отловленных в августе, по сравнению с мальками, отобранными в июле, что косвенно свидетельствует об интенсивно происходящих процессах биосинтеза у растущей молоди рыб в этот период. Заметное повышение активности ДНКазы в группе мальков из Сухой Салмы, отловленных в августе, позволяет предположить у них включение более долгосрочных механизмов адаптивных перестроек метаболизма, затрагивающих геном. Судя по размерно-массовым характеристикам, эта группа представлена мальками более поздней генерации по сравнению с группами из других биотопов и у них недавно завершены морфогенетические преобразования, связанные с переходом на мальковый период развития, в которых участвуют ферменты лизосом. У мальков из лагуны Колюшковая, по сравнению с мальками из других биотопов, обнаружена сравнительно более высокая активность β-глюкуронидазы и катепсина В. Оба эти фермента участвуют в процессах синтеза компонентов, регулирующих метаболизм. Можно полагать, что основной фактор, вызывающий необходимость корректировки метаболизма у молоди рыб к августу в лагуне Колюшковая, – обеднение разнообразия и численности пищевых компонентов в этом биотопе. Таким образом, показано активное участие лизосомальных гидролаз в адаптивных перестройках обмена веществ молоди колюшки под влиянием абиотических (температура, соленость, приливно-отливные циклы) и биотических (характер питания) факторов среды.

Ключевые слова: колюшка *Gasterosteus aculeatus* L.; лизосомальные ферменты; раннее развитие; условия среды; Белое море.

R. U. Vysotskaya, E. A. Buoy, M. Yu. Krupnova, N. N. Nemova, D. L. Lajus. PARTICIPATION OF ACID HYDROLASES IN ADAPTATIONS OF JUVENILE THREESPINE STICKLEBACKS *GASTEROSTEUS ACULEATUS* L. IN THE WHITE SEA

We studied the activity of lysosomal enzymes in juveniles of the three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus* L. from three habitats in the Gulf of Kandalaksha, White Sea (Seldyanaya Inlet, Kolyushkovaya Lagoon, Sukhaya Salma Strait), differing in temperature conditions, salinity, water exchange rate, density of aquatic vegetation, and other parameters. Fry for the study were captured twice during the summer period: in the end of July and in August. The samples were analyzed for the activity of six acid hydrolases (acid phosphatase, RNase, DNase, β -glucuronidase, cathepsin B, and cathepsin D). Some differences were revealed in the activity of the studied enzymes in tissues of stickleback fry from different habitats and depending on the time of sampling. The acid phosphatase activity in fry from all water areas was almost independent of the sampling time. Yet, its level was significantly higher in the samples taken from Kolyushkovaya Lagoon in August. The RNase activity in fry from all the three habitats was higher in August samples compared to July, which indirectly indicates the intensive biosynthesis processes in growing juveniles during this period. A noticeable increase in DNase activity in the group of juveniles from Sukhaya Salma captured in August suggests that they employed longer-term mechanisms of adaptive metabolic rearrangements that affect the genome. Judging by the size and weight characteristics, this group was represented by fry of a later generation than in the other localities, and they have recently completed the morphogenetic transformations associated with the transition to the juvenile period of development, in which lysosomal enzymes are involved. Compared to fish from other habitats, juveniles from Kolyushkovaya Lagoon had a relatively higher activity of β -glucuronidase and cathepsin B. Both of these enzymes are involved in the synthesis of components that regulate metabolism. It can be assumed that the main factor for the juvenile fish in Kolyushkovaya Lagoon to adjust its metabolism by August is the diversity and abundance of food items in this habitat. Thus, the study has demonstrated that lysosomal hydrolases actively participate in the adaptive metabolic rearrangements of stickleback fry in response to abiotic (temperature, salinity, tidal cycles) and biotic (feeding patterns) environmental factors.

Keywords: stickleback *Gasterosteus aculeatus* L.; lysosomal enzymes; early development; environmental conditions; White Sea.

Введение

Колюшка трехиглая *Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758 (Gasterosteidae) – обычный для бассейнов северной части Атлантического и Тихого океанов представитель ихтиофауны. Благодаря эвригалинности и высокой пластичности колюшка хорошо приспособилась к жизни в морских, солоноватых и пресных водоемах. В ихтиофауне Белого моря в настоящее время трехиглая колюшка является самым распространенным видом [Ivanova et al., 2016]. Промыслового значения сам по себе вид не имеет, однако, учитывая, что взрослые особи и молодь колюшки составляют существенную часть рациона многих хищных промысловых рыб и некоторых птиц [Bakhvalova et al., 2016], он занимает ключевое положение в экосистемах Белого моря [Лайус и др., 2020].

В ходе жизненного цикла колюшка трехиглая совершает значительные миграции из от-

крытого моря, где проводит основную часть жизни, в прибрежные районы со свойственными им абиотическими и биотическими условиями жизни, к изменению которых организм рыб вынужден постоянно приспосабливаться. Массовый заход колюшки в прибрежье на нерест происходит в мае–июне. Самые большие скопления колюшки во время нереста отмечены в Кандалакшском заливе Белого моря [Лайус и др., 2013]. Для устройства гнезд колюшка предпочитает места с густыми зарослями морской травы zostеры *Zostera marina*. Появляющиеся во второй половине июля личинки, а затем мальки держатся возле гнезда, здесь они находят защиту от хищников, в течение нескольких недель нагуливаются, быстро растут и в конце августа – начале сентября мигрируют из прибрежной части в открытое море [Bakhvalova et al., 2016]. Спектр питания молоди колюшки довольно широк, в рационе мальков отмечены многие планктонные и бентосные организмы [Демчук и др., 2019].

Все сказанное позволяет говорить о том, что трехиглая колюшка играет роль связующего звена между разными трофическими уровнями в экосистеме, а также является переносчиком вещества и энергии между разными районами моря.

Переход организма от одной стадии развития к другой, а также изменения условий в среде обитания обычно сопровождаются адаптивными преобразованиями на всех уровнях, в том числе перестройками метаболизма на внутриклеточном уровне. В адаптивных реакциях на воздействие различных эндогенных и экзогенных факторов значительная роль принадлежит ферментным системам лизосом [Высоцкая, Немова, 2008]. Сведений об участии лизосомальных гидролаз в адаптивных реакциях молоди колюшки в доступной нам литературе не обнаружено. Учитывая, что состояние популяции рыб во многом зависит от их выживаемости и формирования способности адаптироваться к изменению факторов среды на самых ранних этапах развития, в настоящей работе изучили участие ряда ос-

новных ферментов лизосом в этих адаптациях у молоди колюшки из разных биотопов Канда-лакшского залива Белого моря. Биотопы различались температурным режимом, соленостью, интенсивностью водообмена, плотностью водной растительности и другими параметрами.

Материалы и методы

В качестве объекта исследований использовали подростую после выклева молодь колюшки трехиглой *G. aculeatus*, отловленную на тех же станциях в Кандалакшском заливе Белого моря, где производили отбор взрослых особей, приходящих в эти места на нерест [Высоцкая и др., 2019]. Отлов мальков производили дважды за лето: 31.07.2017 г. и 18.08.2017 г., используя для этого равнокрылый мальковый невод или сачок, в прибрежной зоне с глубины 0,5–2,5 м [Демчук и др., 2017]. Географические координаты и некоторые характеристики мест нагула молоди в исследованных биотопах приведены ниже и в таблице 1.

Таблица 1. Характеристика мест отбора проб молоди трехиглой колюшки *G. aculeatus* в Кандалакшском заливе Белого моря

Table 1. Characteristics of the sampling places of the threespine stickleback juveniles *G. aculeatus* in the Gulf of Kandalaksha of the White Sea

Географические координаты Geographical coordinates	Дата отбора проб Date of sampling	Температура, °C Temperature, °C	Соленостный режим Salinity regime
Сельдяная губа Seldyanaya Inlet 66°33'80.66"N, 33°62'25.16"E	31.07.2017 18.08.2017	13 14	Распреснение почти отсутствует Almost no freshening
Колюшковая лагуна Kolyushkovaya Lagoon 66°31'32.62"N, 33°64'59.53"E	31.07.2017 18.08.2017	15 15	Слабое распреснение Weak freshening
Пролив Сухая Салма Sukhaya Salma Strait 66°31'16.96"N, 33°64'73.70"E	31.07.2017 18.08.2017	13 14	Среднее распреснение Average freshening

Губа Сельдяная представляет собой залив треугольной формы с широким входом и интенсивным водообменом. Мелководная вершина имеет пресноводный сток, максимальная глубина составляет 8 м. В губе ярко выражен приливо-отливный цикл, амплитуда сизигийных приливов достигает 2,5 м. В заливе очень густые заросли морской травы зостеры *Zostera marina* на большей части акватории, что делает данный биотоп наиболее предпочитаемым местом для нереста колюшки [Доргам и др., 2018]. В зарослях морской травы обитает появляющаяся

в июле молодь, находя здесь благоприятные условия для откорма и защиту от хищников [Rybkina et al., 2017]. Соленость, как правило, составляет 18–20‰, небольшое распреснение может происходить за счет атмосферных осадков. Зоопланктон и бентос представлены типичными для прибрежной зоны Белого моря видами, такими как копеподы *Temora longicornis* и *Microsetella norvegica*, инфузории *Helicostomella*, моллюски *Hydrobia*, рачки *Amphipoda* и *Isopoda*, присутствуют также олигохеты, ортокладины и другие беспозвоночные [Demchuk et al., 2015].

Лагуна Колюшковая – полузамкнутая акватория, связанная с морем через мелководный пролив, который в теплое лето может пересыхать. Максимальная глубина составляет 4 м. Водообмен с морем слабый, амплитуда сизигийных приливов составляет всего 0,3 м. Акватория до половины представлена мелководьями. От других биотопов лагуна отличается высокой прогреваемостью и слабым распреснением, главным образом за счет атмосферных осадков [Демчук и др., 2018]. Дно илистое, местами очень топкое. Зостеры несколько меньше, чем в Сельдяной губе, много нитчатых водорослей. Эти условия также благоприятны как для нереста, так и для развития молоди колюшки. Из представителей зоопланктона часто преобладает веслоногий рачок *Acartia longiremis*. Другие виды редки и попадают в лагуну во время приливов. Сильное обеднение зоопланктона в Колюшковой лагуне отмечается к концу августа.

Пролив Сухая Салма – типичный для Кандакшского залива илисто-песчаный прибрежный биотоп с быстрым нарастанием глубины. Это открытая акватория с интенсивными приливно-отливными течениями, из-за чего вода в проливе прогревается слабее, чем в первых двух биотопах. На литорали дно каменистое, глубже – песчаное. Водная растительность в проливе представлена фукоидами на каменистой литорали и разреженными зарослями зостеры в мелководной части. Численность колюшки, приходящей на это нерестилище, а соответственно, и выклеывающейся молоди, в несколько раз меньше, чем в Сельдяной губе и лагуне Колюшковой. Так, в начале нереста численность производителей в Сельдяной губе составляла 101,4 экз./м², в лагуне Колюшковой – 44,4 экз./м², а в проливе Сухая

Салма – 4,3 экз./м² [Доргам и др., 2018]. Появляющаяся молодь в первых двух биотопах была также более многочисленной: в Сельдяной губе их число составляло 180 экз./м², в Колюшковой лагуне – 32 экз./м², в то время как в проливе Сухая Салма это были единичные экземпляры – 0,79 экз./м² [Демчук и др., 2019].

Соленость в Сухой Салме обычно составляет 19–20 ‰ и может изменяться в сторону снижения в отливы, сильное влияние на распреснение наряду с атмосферными осадками оказывает сток реки Кереть [Доргам и др., 2018]. Планктонные и бентосные организмы в прибрежной зоне пролива представлены теми же видами, которые отмечены в губе Сельдяной.

Отобранные для исследований пробы молоди колюшки сразу после вылова замораживали в жидком азоте, доставляли в лабораторию и хранили в морозильной камере при температуре –80 °С. На первом этапе аналитических работ пробы размораживали, измеряли общую длину тела мальков и их массу. Размерно-массовые характеристики исследованной молоди колюшки приведены в таблице 2.

Исследования выполнены с использованием научного оборудования Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Мальков для анализов брали целиком. Из навесок исследуемого материала готовили 10 % гомогенаты на 0,25 М растворе сахарозы, содержащем ЭДТА и 0,1 % неионного детергента тритона X-100, который разрушает мембраны внутриклеточных органелл и высвобождает заключенные в них ферменты (гомогенизатор Tyssue Lyser LT, Qiagen, Германия). Пробы подвергали центрифугированию при

Таблица 2. Размерно-массовые показатели молоди колюшки трехиглой *G. aculeatus* из разных биотопов Белого моря ($M \pm m$; $n = 10$)

Table 2. Demension-mass parameters of juvenile three-spined stickleback *G. aculeatus* from different biotopes of the White Sea ($M \pm m$; $n = 10$)

Место отбора проб Places of sampling	Дата отбора проб Date of sampling	Длина, мм Length, mm	Масса, мг Mass, mg
Сельдяная губа Seldyanaya Inlet	31.07.2017	16,50 ± 0,64	27,37 ± 1,76 °
	18.08.2017	20,88 ± 1,0 *	76,28 ± 3,70 *
Колюшковая лагуна Kolyushkovaya Lagoon	31.07.2017	17,93 ± 0,14	50,96 ± 3,18 °
	18.08.2017	20,0 ± 0,4 *	78,16 ± 3,67 *
Пролив Сухая Салма Sukhaya Salma Strait	31.07.2017	21,50 ± 1,43	70,01 ± 5,17 °
	18.08.2017	16,75 ± 0,63 *	37,43 ± 1,67 *

Примечание. * – Различия достоверны по времени отбора проб; ° – различия достоверны между мальками из разных биотопов в тот же период отбора проб; при $p \leq 0,05$.

Note. * – The differences are significant in terms of sampling time; ° – differences are significant between fry from different biotopes in the same sampling period; at $p \leq 0.05$.

10 000 g в течение 30 минут в центрифугах с охлаждением (центрифуга Allegra 64R, Beckman Coulter, США). В надосадочной жидкости определяли активность 6 лизосомальных ферментов (кислой фосфатазы, ДНКазы, РНКазы, β -глюкуронидазы, катепсина В, катепсина D) и содержание белка.

При определении активности кислой фосфатазы (КФ 3.1.3.2) в качестве субстрата использовали раствор β -глицерофосфата натрия на ацетатном буфере (рН 4,8) [Баррет, Хит, 1980]. Активность фермента выражали в микрограммах неорганического фосфора, образующегося в результате гидролиза, количество которого рассчитывали по реакции с хромогенным реактивом [Kaňovcová, Odavič, 1969]. Активность кислых нуклеаз – ДНКазы (КФ 3.1.4.6) и РНКазы (КФ 3.1.4.23) – определяли методами Покровского и Арчакова [1968] и Левицкого с соавторами [1973] соответственно. Субстратами служили растворы дезоксирибонуклеиновой кислоты (рН 5,0) и рибонуклеиновой кислоты (рН 5,2) в ацетатном буфере. Количество продуктов реакции гидролиза определяли спектрофотометрически при 260 нм (спектрофотометр СФ-2000, «ОКБ Спектр», Россия). Активность ферментов выражали в условных единицах ΔD_{260} . Активность β -глюкуронидазы (КФ 3.2.1.31) определяли методом, предложенным Барретом и Хитом [1980]. Субстратом был *пара*-нитрофенил- β , D-глюкуронид на цитратном буфере (рН 5,0). Активность глюкуронидазы выражали в микромолях *пара*-нитрофенола в единицу времени на мг белка. Активность кислых протеаз определяли модифицированными спектрофотометрическими методами: катепсина В (КФ 3.4.22.1) – по расщеплению 0,065 М раствора этилового эфира Na-бензоил-L-аргинина в ацетатном буфере (рН 5,0) [Matsuda, Misaka, 1974], катепсина D (КФ 3.4.23.5) – по гидролизу 1 % бычьего гемоглобина в ацетатном буфере при рН 3,6 [Barrett, Heath, 1977]. Активность протеаз выражали в условных единицах изменения оптической плотности (ΔD) на мг белка: катепсина В – при 525 нм, катепсина D – при 280 нм. Содержание белка в пробах определяли методом Брэдфорда [Bradford, 1976], используя в качестве стандарта бычий сывороточный альбумин.

Полученные данные обработаны методами вариационной статистики и представлены в работе в виде средних значений и их ошибок. Сравнение биохимических показателей в группах исследованной молоди рыб проводили с применением непараметрического

критерия U Вилкоксона – Манна – Уитни [Гублер, Генкин, 1969]. Различия считали достоверными при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты

Проведенные исследования выявили определенные (в большинстве случаев небольшие) различия в активности лизосомальных гидролаз в тканях развивающейся молоди колюшки из разных биотопов и в зависимости от времени отбора проб. Так, активность кислой фосфатазы (фермента – маркера лизосом) у молоди колюшки из всех трех акваторий мало зависела от сроков сбора проб. При этом уровень активности этого фермента у мальков из Колюшковой лагуны, отловленных в августе, был достоверно ($p \leq 0,05$) более высоким по сравнению с аналогичными особями из Сельдяной губы (рис. 1).

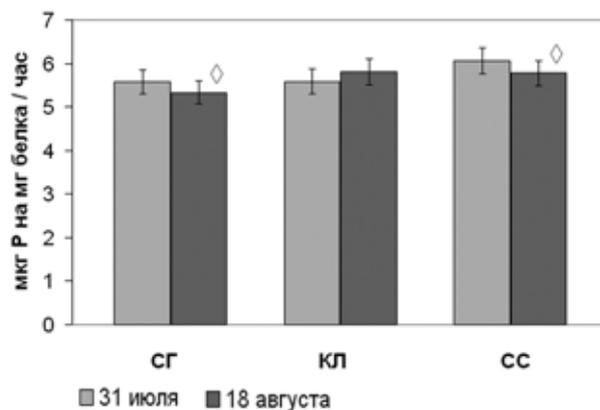


Рис. 1. Активность кислой фосфатазы в ходе раннего развития молоди трехиглой колюшки из разных биотопов Кандалакшского залива Белого моря.

Здесь и далее: (n = 5–7); СГ – Сельдяная губа, КЛ – Колюшковая лагуна, СС – пролив Сухая Салма; * – различия достоверны между группами, взятыми на анализ в разное время; ◇ – различия достоверны по сравнению с мальками из Колюшковой лагуны ($p \leq 0,05$)

Fig. 1. The activity of acid phosphatase during the early development of juvenile sticklebacks from different biotopes in the Gulf of Kandalaksha, the White Sea.

Hereinafter: (n = 5–7); СГ – Seldyanaya inlet, КЛ – Kolyushkovaya lagoon, СС – Sukhaya Salma strait; * – differences are significant between groups differing in time of sampling; ◇ – differences are significant in comparison with juveniles from Kolyushkovaya lagoon

Показательными являются данные по изменению активности РНКазы в тканях молоди колюшки. У мальков, отловленных во всех трех нерестилищах в августе, выявлена заметно более высокая активность РНКазы по сравнению с таковыми, отловленными

в июле. Показаны достоверно ($p \leq 0,05$) более высокие значения активности этого фермента у рыб из биотопа с самыми благоприятными условиями для нереста, роста и развития колюшки – Сельдяной губы (рис. 2).

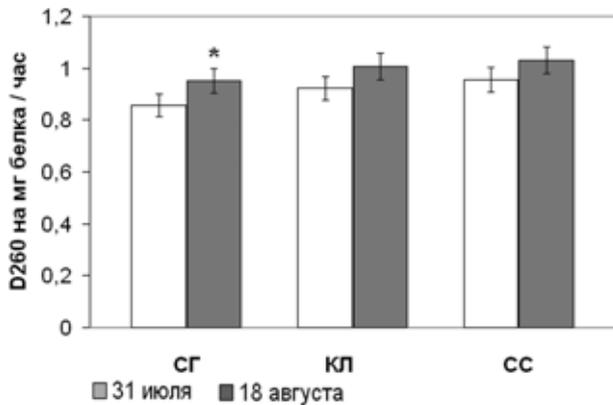


Рис. 2. Активность РНКазы в ходе раннего развития молоди трехиглой колюшки из разных биотопов Кандалакшского залива Белого моря

Fig. 2. The activity of RNase during the early development of juvenile sticklebacks from different biotopes in the Gulf of Kandalaksha, the White Sea

Следует отметить, что изменения в активности ДНКазы в тканях мальков из сравниваемых групп были более заметными и разнонаправленными. Активность этой нуклеазы у молоди из пролива Сухая Салма, отловленной в августе, была намного выше ($p \leq 0,05$), чем у рыб, отловленных в июле (рис. 3).

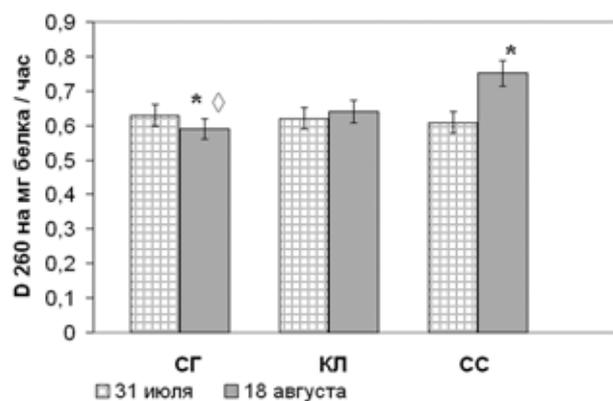


Рис. 3. Активность ДНКазы в ходе раннего развития молоди трехиглой колюшки из разных биотопов Кандалакшского залива Белого моря

Fig. 3. The activity of DNase during the early development of juvenile sticklebacks from different biotopes in the Gulf of Kandalaksha, the White Sea

При сопоставлении данных по уровню активности β -глюкуронидазы у молоди колюшки из разных биотопов Кандалакшского залива было показано, что сравнительно более высокие значения активности этой лизосомальной гидролазы характерны для мальков из лагуны Колюшковая (рис. 4).

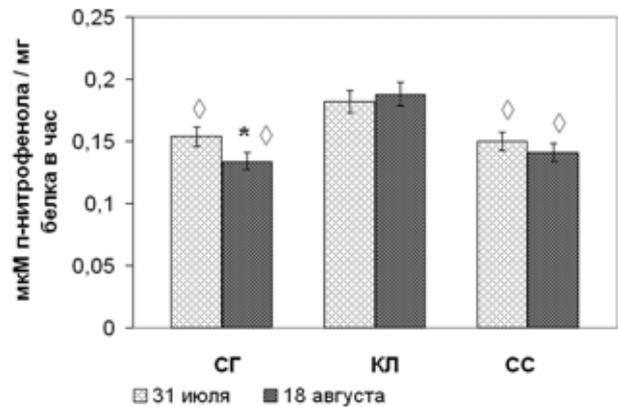


Рис. 4. Активность β -глюкуронидазы в ходе раннего развития молоди трехиглой колюшки из разных биотопов Кандалакшского залива Белого моря

Fig. 4. The activity of β -glucuronidase during the early development of juvenile sticklebacks from different biotopes in the Gulf of Kandalaksha, the White Sea

Еще более ярко эти различия между мальками из разных биотопов Кандалакшского залива проявляются по уровню активности лизосомальной цистеинзависимой протеиназы – катепсина В (рис. 5). В то же время активность

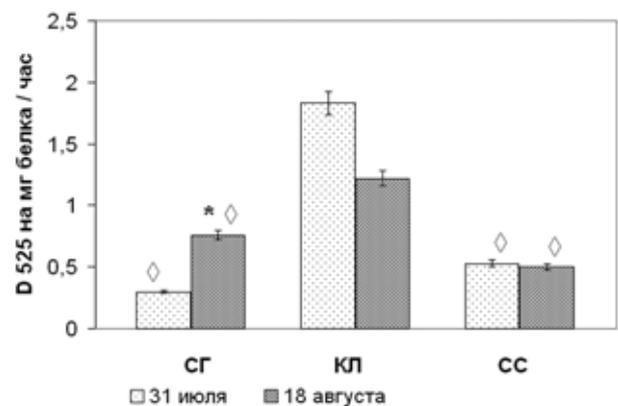


Рис. 5. Активность катепсина В в ходе раннего развития молоди трехиглой колюшки из разных биотопов Кандалакшского залива Белого моря

Fig. 5. The activity of cathepsin B during the early development of juvenile sticklebacks from different biotopes in the Gulf of Kandalaksha, the White Sea

другого протеолитического (аспартатного типа) фермента лизосом – катепсина D – у молоди колюшки из разных биотопов различалась не столь значительно (рис. 6).

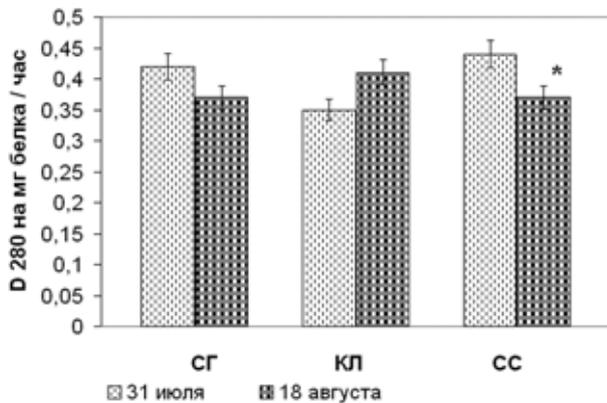


Рис. 6. Активность катепсина D в ходе раннего развития молоди трехиглой колюшки из разных биотопов Кандалакшского залива Белого моря

Fig. 6. The activity of cathepsin D during the early development of juvenile sticklebacks from different biotopes in the Gulf of Kandalaksha, the White Sea

Обращает на себя внимание тот факт, что активность практически всех изученных лизосомальных гидролаз (за исключением β-глюкуронидазы) у молоди из Колюшковой лагуны, отловленной в августе, была выше, чем у мальков, отловленных месяцем ранее (в июле).

Обсуждение

При исследовании биохимических адаптаций у рыб в раннем онтогенезе установлена важная роль лизосомальных ферментов в превращениях, которые претерпевает эмбрион после выклева из икринки [Высоцкая, Немова, 2008]. После вылупления зародышей рыб из яичевых оболочек в процессе их дальнейшего развития наряду с прогрессивным развитием одних органов происходит редукция других. На этих этапах отмечается повышенная активность катепсина D, кислой фосфатазы и нуклеаз. Эти ферменты участвуют в процессах деградации (во вторичных лизосомах) клеток органов, выполнивших свои функции. Продукты гидролиза используются для построения новых специфических компонентов, необходимых на следующих этапах развития, а также для обеспечения растущего организма энергией. Кроме реакций гидролиза отработавших макромолекул протеиназы, гликозидазы и фос-

фатазы могут также выполнять регуляторную функцию, превращая неактивные молекулы-предшественники в активные. Роль ДНКазы в этих случаях может проявляться в процессах деградации отслуживших полинуклеотидов и репарации молекул ДНК [Покровский, Тутельян, 1976; Gillespie, Ryan, 2016].

Кроме внутренних перестроек на динамику активности ферментов значительное влияние оказывают условия окружающей среды [Немова, Высоцкая, 2004]. Личинки и мальки рыб проявляют высокую чувствительность к изменениям внешних абиотических и биотических факторов. Значительная часть приспособительных реакций рыб к колебаниям условий окружающей среды осуществляется с участием лизосом.

У исследованных в настоящей работе мальков колюшки трехиглой выявлен высокий уровень кислой фосфатазы во всех сравниваемых группах, вне зависимости от биотопа. Кислая фосфатаза играет важную роль в обмене углеводов, липидов, нуклеиновых кислот и фосфорных соединений. Неорганическому фосфору принадлежит ключевая роль в регуляции энергетического обмена. Небольшая вариабельность активности этого фермента может косвенно указывать на то, что в исследуемых акваториях не происходило резких изменений условий обитания и обстановка для роста и развития рыб была относительно благоприятной. Об этом же свидетельствуют и данные по более высокой активности кислой РНКазы у мальков, отловленных в августе, по сравнению с отловленными в июле. РНКаза участвует в обмене рибонуклеиновых кислот, и повышение ее активности может указывать на усиление процесса биосинтеза белков у быстро развивающейся молоди рыб. Заметно более высокий уровень активности другой нуклеазы – ДНКазы – выявлен у августовской молоди из пролива Сухая Салма по сравнению с мальками, отловленными в июле. Это, возможно, связано с тем, что данная группа (судя по размерно-массовым характеристикам) была представлена молодью самой поздней генерации, которая выклюнулась из икры в июле. На это нерестилище колюшка заходит позже, чем на так называемые «хорошие» нерестилища, каковыми считаются Сельдяная губа и лагуна Колюшковая [Демчук и др., 2018]. Возможно, у этой группы еще не закончены морфогенетические преобразования, связанные с переходом из этапа поздней личинки в мальковый период. Для реализации этих превращений необходимы биохимические перестройки, обусловленные эволюционно закрепленными генетическими

факторами развития, на что косвенно указывает повышенный уровень ДНКазы, которая, как известно, участвует в деградации молекул ДНК, выполнивших свою функцию. Одной из причин обнаруженных различий в исследуемых биохимических показателях у мальков колюшки, отловленных в августе и июле в проливе Сухая Салма, может быть более поздний выклев из икры мальков, которые были отобраны в августе. Об этом же свидетельствуют опубликованные ранее данные [Смирнов и др., 2019] о снижении уровня глутатиона и активности глутатион-S-трансферазы) у мальков августовской группы из пролива Сухая Салма.

Обнаруженный в данном исследовании более высокий уровень лизосомальной β -глюкуронидазы и катепсина В у молоди рыб из Колюшковой лагуны по сравнению с мальками из других биотопов, вероятно, может отражать условия обитания, складывающиеся в этом биотопе в период летнего нагула мальков. Колюшковая лагуна характеризуется более высокой температурой и менее интенсивным водообменом по сравнению с двумя другими местами отбора проб. При этом главными факторами, вызывающими необходимость корректировки внутриклеточного метаболизма, являются, скорее всего, различия в характере питания мальков. В Колюшковой лагуне в условиях слабовыраженных приливно-отливных явлений спектр питания на протяжении всего цикла меняется мало. К августу (времени основного нагула молоди) отмечается обеднение разнообразия и численности привычных компонентов питания молоди колюшки [Демчук и др., 2019]. Мальки вынуждены переходить на другие доступные кормовые объекты. Важнейшей функцией лизосом, как известно, является внутриклеточное пищеварение [Покровский, Тутельян, 1976], поэтому можно полагать, что гидролитические ферменты лизосом участвуют в адаптациях организма в условиях изменения состава пищи, что в конечном счете обеспечивает быстрый рост и развитие рыб, формирование жизнестойкой, сильной молоди, способной совершать длительные миграции из прибрежья в открытое море.

Заключение

Результаты исследований биохимических адаптаций с участием основных ферментов лизосом (кислой фосфатазы, РНКазы, ДНКазы, β -глюкуронидазы, катепсина В и катепсина D), функция которых связана с реакциями внутриклеточного гидролиза фосфатов, нуклеиновых кислот, углеводов и белков, свидетельствуют

о том, что активность этих ферментов у молоди трехиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* L. из трех биотопов Кандалакшского залива Белого моря разнонаправленно изменяется в зависимости от условий обитания и сроков отбора проб. Высокий уровень активности фермента-маркера лизосом – кислой фосфатазы – у исследуемой молоди колюшки может указывать на активное участие этих органелл в адаптивных реакциях организма к исследуемым факторам.

По мере роста мальков колюшки на нерестилищах в течение месяца (от июля к августу) активность кислой РНКазы, участвующей в обмене рибонуклеиновых кислот, возрастает, что косвенно свидетельствует об активных процессах биосинтеза белков в организме рыб в процессе развития. Особый интерес представляют результаты повышения активности ДНКазы у мальков, отловленных в проливе Сухая Салма в августе, что подтверждает ранее высказанное предположение [Смирнов и др., 2019] о том, что в этом биотопе молодь колюшки представлена более поздней генерацией, которая находится на более раннем этапе малькового периода, обусловленного генетически заложенной программой развития. Следует отметить, что вариабельность активности изученных лизосомальных ферментов у колюшки из разных биотопов была в основном небольшой, за исключением активности ферментов гидролиза углеводов и белков (β -глюкуронидазы и катепсина В) у молоди из лагуны Колюшковая, в которой кроме более высокой температуры в августе отмечены изменения в спектре питания.

Лизосомальные гидролазы выполняют функцию деградации макромолекул, тем самым участвуя в обеспечении организма энергетическими и пластическими материалами, а также в регуляции метаболизма, в реализации генетических программ развития организма. Полученные в исследовании результаты позволяют сделать заключение о том, что лизосомальные гидролазы молоди колюшки, развитие которой происходит на нерестилищах Кандалакшского залива Белого моря, участвуют в адаптивных биохимических перестройках, необходимых для развития в условиях изменяющихся абиотических (температура, соленость, приливно-отливные циклы) и биотических (характер питания) факторов среды.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0218-2019-0076).

Литература

Баррет А. Дж., Хит М. Ф. Лизосомальные ферменты // Лизосомы. Методы исследования. М.: Мир, 1980. С. 25–56.

Высоцкая Р. У., Немова Н. Н. Лизосомы и лизосомальные ферменты рыб. М.: Наука, 2008. 284 с.

Высоцкая Р. У., Буэй Е. А., Лайус Д. Л. Активность лизосомальных ферментов в органах колюшки трехиглой из разных биотопов Кандалакшского залива Белого моря в период нереста // Труды КарНЦ РАН. 2019. № 6. С. 44–56. doi: 10.17076/eb934

Гублер Е. В., Генкин А. А. Применение критериев непараметрической статистики для оценки различий двух групп наблюдений в медико-биологических исследованиях. М.: Медицина, 1969. 29 с.

Демчук А. С., Иванов М. В., Иванова Т. С., Лайус Д. Л. Особенности питания мальков трехиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* (Linnaeus, 1758) в разных биотопах Кандалакшского залива Белого моря // XII съезд Гидробиологического общества при Российской академии наук: Тез. докл., г. Петрозаводск, 16–20 сентября 2019 г. / Отв. ред. Н. В. Ильмаст. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2019. С. 132–134.

Демчук А. С., Иванов М. В., Иванова Т. С., Полякова Н. В., Головин П. В., Лайус Д. Л. Питание беломорской трехиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* (Linnaeus, 1758) на нерестилищах // Труды КарНЦ РАН. 2018. № 4. С. 42–58. doi: 10.17076/them818

Демчук А. С., Полякова Н. В., Иванов М. В., Иванова Т. С., Лайус Д. Л. Питание молоди трехиглой колюшки (*Gasterosteus aculeatus* L.) в течение приливо-отливного цикла // Изучение, рациональное использование и охрана природных ресурсов Белого моря: Матер. XIII Всерос. конф. с междунар. участием. СПб.: ЗИН РАН, 2017. С. 70–73.

Доргам А. С., Головин П. В., Иванова Т. С., Иванов М. В., Савельев П. Д., Лайус Д. Л. Гетерогенность морфологических признаков трехиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* на разных этапах нереста // Труды КарНЦ РАН. 2018. № 4. С. 59–73. doi: 10.17076/them819

Лайус Д. Л., Иванов М. В., Иванова Т. С., Шатских Е. В. «Волны жизни» беломорской колюшки // Природа. 2013. № 4. С. 43–52.

Лайус Д. Л., Головин П. В., Зеленская А. Е., Демчук А. С., Доргам А. С., Иванов А. В., Иванова Т. С., Мурзина С. А., Полякова Н. В., Рыбкина Е. В., Юрцева А. О. Трехиглая колюшка Белого моря: популяционные характеристики и роль в экосистеме // Сибирский экологический журнал. 2020. № 2. С. 167–183. doi: 10.15372/SEJ20200203

Левицкий А. П., Барабаш Р. Д., Коновец В. М. Сезонные особенности активности рибонуклеазы и α -амилазы слюны и слюнных желез у крыс линии Вистар // Биохимическая эволюция. Л.: Наука, 1973. С. 192–195.

Немова Н. Н., Высоцкая Р. У. Биохимическая индикация состояния рыб. М.: Наука, 2004. 216 с.

Покровский А. А., Арчаков А. И. Методы разделения и ферментной идентификации субклеточных фракций // Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1968. С. 5–59.

Покровский А. А., Тутельян В. А. Лизосомы. М.: Наука, 1976. 382 с.

Смирнов Л. П., Суховская И. В., Кочнева А. А. Вариабельность некоторых показателей антиоксидантной защиты и концентрации белка у молоди колюшки трехиглой (*Gasterosteus aculeatus*) Белого моря в летний период // Принципы экологии. 2019. Т. 8, № 2. С. 98–109.

Bakhvalova A. E., Ivanova T. S., Ivanov M. V., Demchuk A. S., Movchan E. A., Lajus D. L. 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. Vol. 17 (3). P. 31–334.

Barrett A. J., Heath M. Lysosomal enzymes // Dingle J. T. (ed.). A laboratory handbook. Amsterdam, 1977. P. 19–27.

Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Analit. Biochem. 1976. Vol. 72. P. 248–254. doi: 10.1006/abio.1976.9999

Demchuk A. S., Ivanov M. V., Ivanova T. S., Polyakova N. V., Mas-Marti E., Lajus D. L. Feeding patterns in seagrass beds of threespined stickleback *Gasterosteus aculeatus* juveniles at different growth stages // J. Marine Biol. Assoc. UK. 2015. Vol. 95 (8). P. 1635–1643. doi: 10.1017/S0025315415000569

Gillespie D. A., Ryan K. M. Autophagy is critically required for DNA repair by homologous recombination // Mol. Cell Oncol. 2016. Vol. 3 (1). e1030538. doi: 10.1080/23723556.20151030538

Ivanova T. S., Ivanov M. V., Golovin P. V., Polyakova N. V., Lajus D. L. The White Sea threespine stickleback population: spawning habitats, mortality, and abundance // Evolut. Ecol. Res. 2016. Vol. 3. P. 301–315.

Kahovcová J., Odavić R. A simple method of the quantitative analysis of phospholipids separated by thin layer chromatography // J. Chromatogr. 1969. Vol. 40. P. 90–96. doi: 10.1016/s0021-9673(01)96622-1

Matsuda K., Misaka E. Studies on cathepsins of rat liver lysosomes. I. Purification and multiple forms // J. Biochem. 1974. Vol. 76, no. 3. P. 639–649. doi: 10.1093/oxfordjournals.jbchem.a130608

Rybkina E. V., Ivanova T. S., Ivanov M. V., Kucheryavyu A. V., Lajus D. L. Habitat preference of three-spined stickleback juveniles in experimental conditions and in wild eelgrass // J. Mar. Biol. Ass. UK. 2017. Vol. 97 (7). P. 1437–1445. doi: 10.1017/S0025315416000825

Поступила в редакцию 18.10.2021

References

- Barrett A. J., Heat M. F. Lizosomalnye fermenty [Lysosomal enzymes]. *Lyzosomy. Metody issledovaniya* [Lysosomes, a Laboratory Handbook]. Moscow: Mir, 1980. P. 25–156.
- Demchuk A. S., Ivanov M. V., Ivanova T. S., Lajus D. L. Osobennosti pitaniya mal'kov trekhigloi kolyushki *Gasterosteus aculeatus* (Linnaeus, 1758) v raznykh biotopakh Kandalakshskogo zaliva Belogo morya [Nutritional features of fry of the stickleback *Gasterosteus aculeatus* (Linnaeus, 1758) in different biotopes of the Kandalaksha Bay of the White Sea]. *XII s'yezd Gidrobiologicheskogo obshchestva pri Rossiiskoi akademii nauk* [XII Congress of the Hydrobiological Society at the Russian Academy of Sciences]: abstracts. Report, Petrozavodsk, September 16–20, 2019. Ed. N. V. Ilmast. Petrozavodsk: KarRC RAS, 2019. P. 132–134.
- Demchuk A. S., Polyakova N. V., Ivanov M. V., Ivanova T. S., Lajus D. L. Pitaniye molodi trekhigloi kolyushki (*Gasterosteus aculeatus* L.) v techenie prilivno-otlivnogo tsikla [Feeding of juvenile three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) during the tidal cycle]. *Izuchenie, ratsional'noe ispol'zovanie i okhrana prirodnikh resursov Belogo morya* [Study, rational use and protection of natural resources of the White Sea]: Mater. XII All-Russian. conf. with int. participation. St. Petersburg: ZIN RAN, 2017. P. 70–73.
- Demchuk A. S., Ivanov M. V., Ivanova T. S., Polyakova N. V., Golovin P. V., Lajus D. L. Pitaniye belomorskoj trekhigloi kolyushki *Gasterosteus aculeatus* (Linnaeus, 1758) na nerestilishchakh [Feeding of the threespine stickleback *Gasterosteus aculeatus* (Linnaeus, 1758) at the spawning grounds]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2018. No. 4. P. 42–58. doi: 10.17076/them818
- Dorgham A. S., Golovin P. V., Ivanova T. S., Ivanov M. V., Saveliev P. D., Lajus D. L. Geterogenost' morfologicheskikh priznakov trekhigloi kolyushki *Gasterosteus aculeatus* na raznykh etapakh neresta [Morphological variation of threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) on different stages of spawning period]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2018. No. 4. P. 59–73. doi: 10.17076/them819
- Gubler E. V., Genkin A. A. Primenenie kriteriev neparаметricheskoj statistiki dlya otsenki razlichii grupp nablyudenii v medico-biologicheskikh issledovaniyakh [Application of criteria of nonparametric statistics for estimating differences between two study groups in biomedical research]. Moscow: Meditsina, 1969. 29 p.
- Lajus D. L., Ivanova T. S., Shatskikh E. V., Ivanov M. V. "Volny zhizni" belomorskoj kolyushki ["Waves of Life" of the White Sea stickleback]. *Priroda* [Nature]. 2013. Vol. 4. P. 43–52.
- Lajus D. L., Golovin P. V., Zelenskaya A. E., Demchuk A. S., Dorgham A. S., Ivanov M. V., Ivanova T. S., Murzina S. A., Polyakova N. V., Rybkina E. V., Yurtseva A. O. Trekhiglaya kolyushka Belogo morya: populyatsionnye kharakteristiki i rol' v ekosisteme [Threespine stickleback of White Sea: population characteristics and role in the ecosystem]. *Sibirskii ekologicheskii zhurnal* [Siberian ecological journal]. 2020. No. 2. P. 167–183. doi: 10.15372/SEJ20200203
- Levitskiy A. P., Barabash R. D., Konovets V. M. Sezonnye osobennosti aktivnosti ribonukleazy i α -amilazy slyuny i slyunnykh zhelez u kryis linii Vistar [Seasonal features of ribonuclease and α -amylase activity of saliva and salivary glands in Wistar rats]. Leningrad: Nauka, 1973. P. 192–195.
- Nemova N. N., Vysotskaya R. U. Biokhimicheskaya indikatsiya sostoyaniya ryb [Biochemical indication of fish state]. Moscow: Nauka, 2004. 216 p.
- Pokrovsky A. A., Archakov A. I. Metody razdeleniya i fermentnoi identifikatsii subkletochnykh fraktsii [Methods of separation and enzymatic identification of subcellular fractions]. *Sovremennyye metody v biokhimii* [Modern methods in biochemistry]. Moscow: Meditsina, 1968. P. 5–59.
- Pokrovsky A. A., Tutelyan V. A. Lizosomy [Lysosomes]. Moscow: Nauka, 1976. 382 p.
- Smirnov L. P., Sukhovskaya I. V., Kochneva A. A. Variabel'nost' nekotorykh pokazatelei antioksidantnoi zashchity i kontsentratsii belka u molodi kolyushki trekhigloi (*Gasterosteus aculeatus*) Belogo morya v letnii period [Variability of some antioxidant defense parameters and concentration of protein in the larvae of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) in White Sea in the summer]. *Printsipy ekologii*. 2019. Vol. 8, no. 2. P. 98–109.
- Vysotskaya R. U., Nemova N. N. Lizosomy i lizosomal'nye fermenty ryb [Fish lysosomes and lysosomal enzymes]. Moscow: Nauka, 2008. 284 p.
- Vysotskaya R. U., Buoy E. A., Lajus D. L. Aktivnost' lizosomal'nykh fermentov v organakh kolyushki trekhigloi iz raznykh biotopov Kandalakshskogo zaliva Belogo morya v period neresta [The activity of lysosomal enzymes in organs of threespine stickleback from different habitats in the gulf of Kandalaksha, White Sea, during the spawning period]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2019. No. 6. P. 44–56. doi: 10.17076/eb934
- Bakhvalova A. E., Ivanova T. S., Ivanov M. V., Demchuk A. S., Movchan E. A., Lajus D. L. 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. Vol. 17 (3). P. 317–334.
- Barrett A. J., Heat M. F. Lysosomal enzymes. *J. T. Dingle (ed.). Lysosomes. A laboratory handbook*. Amsterdam, 1977. P. 19–27.
- Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analit. Biochem.* 1976. Vol. 72. P. 248–254. doi: 10.1006/abio.1976.9999
- Demchuk A. S., Ivanov M. V., Ivanova T. S., Polyakova N. V., Mas-Marti E., Lajus D. L. Feeding patterns in seagrass beds of three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus* juveniles at different growth stages. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 2015. Vol. 95 (8). P. 1635–1643. doi: 10.1017/S0025315415000569
- Gillespie D. A., Ryan K. M. Autophagy is critically required for DNA repair by homologous recombination. *Mol. Cell Oncol.* 2016. Vol. 3 (1). e1030538. doi: 10.1080/23723556.2015.1030538
- Ivanova T. S., Ivanov M. V., Golovin P. V., Polyakova N. V., Lajus D. L. The White Sea threespine stickleback population: spawning habitats, mortality, and abundance. *Evol. Ecol. Res.* 2016. Vol. 3. P. 301–315.

Kahovcová J., Odavić R. A simple method of the quantitative analysis of phospholipids separated by thin layer chromatography. *J. Chromatogr.* 1969. Vol. 40. P. 90–96. doi: 10.1016/s0021-9673(01)96622-1

Matsuda K., Misaka E. Studies on cathepsins of rat liver lysosomes. I. Purification and multiple forms. *J. Biochem.* 1974. Vol. 76, no. 3. P. 639–649. doi: 10.1093/oxfordjournals.jbchem.a130608

Rybkina E. V., Ivanova T. S., Ivanov M. V., Kucheryavyi A. V., Lajus D. L. Habitat preference of three-spined stickleback juveniles in experimental conditions and in wild eelgrass. *J. Mar. Biol. Ass. UK.* 2017. Vol. 97 (7). P. 1437–1445. doi: 10.1017/S0025315416000825

Received October 18, 2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Высоцкая Римма Ульяновна

ведущий научный сотрудник лаб. экологической биохимии, д. б. н., проф.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: vysotskayaru@gmail.com
тел.: (8142) 571879

Буэй Elizaveta Андреевна

младший научный сотрудник лаб. экологической биохимии
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: elizaveta.vdovichenko@gmail.com
тел.: (8142) 571879

Крупнова Марина Юрьевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: mukrupnova@rambler.ru

Немова Нина Николаевна

главный научный сотрудник, чл.-корр. РАН, д. б. н., проф.
Институт биологии КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: nnnemova@gmail.com
тел.: (8142) 571879

Лайус Дмитрий Львович

доцент, к. б. н.
Санкт-Петербургский государственный университет,
кафедра ихтиологии и гидробиологии
16-я линия В.О., 29, Санкт-Петербург, Россия, 199178
эл. почта: dlajus@gmail.com

CONTRIBUTORS:

Vysotskaya, Rimma

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: vysotskayaru@gmail.com
tel.: (8142) 571879

Buoy, Elizaveta

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: elizaveta.vdovichenko@gmail.com
tel.: (8142) 571879

Krupnova, Marina

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: mukrupnova@rambler.ru
tel.: (8142) 571879

Nemova, Nina

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: nnnemova@gmail.com
tel.: (8142) 571879

Lajus, Dmitry

St. Petersburg State University,
29, 16th Line V. O., 199178 St. Petersburg, Russia
e-mail: dlajus@gmail.com