

УДК 577.15:57.017.64

К ВОПРОСУ О РАЗНОКАЧЕСТВЕННОСТИ ПОЛОВЫХ ПРОДУКТОВ ЛОСОСЕВЫХ РЫБ: ЯЙЦЕКЛЕТКИ ГОРБУШИ (*ONCORHYNCHUS GORBUSCHA*)

Л. А. Лысенко, Н. П. Канцерова, М. Ю. Крупнова,
Д. А. Ефремов, Н. Н. Немова

Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

Исследование, проведенное на неоплодотворенной икре горбуши (*Oncorhynchus gorbuscha*, сем. Salmonidae), было посвящено поиску причин отмеченного ранее феномена дифференциации эмбрионов и ранних личинок лососевых рыб по уровню метаболизма, двигательной активности и особенностям взаимодействия со средой обитания. Для выяснения возможных материнских эффектов было проведено сравнение размерных показателей и уровней активности протеолитических ферментов – лизосомальных катепсинов В и D и кальцийзависимых протеиназ (кальпаинов) – в яйцеклетках разной локализации: из передней, средней и задней третей яичников нерестящихся самок *O. gorbuscha*. Ранее проведенная характеристика протеолитического аппарата рыб показала исключительную важность указанных ферментов в регуляции роста и метаболических процессов в неоплодотворенной и оплодотворенной икре рыб. В нашем эксперименте не была выявлена достоверная индивидуальная вариабельность икринок из разных частей яичника как по массе, так и по уровню активности внутриклеточных протеиназ. Полученные результаты свидетельствуют о том, что причину физиологических и морфологических различий молоди лососевых, проявляющихся на эмбриональном и раннем постэмбриональном этапах ее развития, следует искать, по-видимому, в генетической гетерогенности оплодотворенного материала или его взаимодействиях со средой, но не в различии темпов роста и созревания яйцеклеток в яичниках рыб.

Ключевые слова: кальпаины; катепсины; яйцеклетки; яичник; материнские эффекты; *O. gorbuscha*.

L. A. Lysenko, N. P. Kantserova, M. Yu. Krupnova, D. A. Efremov, N. N. Nemova. ON THE PROBLEM OF REPRODUCTIVE PRODUCTS HETEROGENEITY IN SALMONID FISH: PINK SALMON (*ONCORHYNCHUS GORBUSCHA*) EGGS CASE-STUDY

The study on unfertilized eggs of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*, Salmonidae) was designed to determine the mechanism underlying the previously reported phenomenon of heterogeneity of salmonid embryos and early larvae in terms of the metabolic rate, locomotor activity and their particular relations with the ambient environment. In order to reveal possible maternal effects, a comparison of size parameters and the activities of proteolytic enzymes, such as lysosomal cathepsins B and D and calcium-dependent calpains, in eggs from different locations (from the front, middle and rear thirds of the ovaries of spawning *O. gorbuscha* females) was conducted. Earlier characterization of

the fish proteolytic machinery showed an utter importance of the named enzymes in the regulation of growth and metabolic processes in unfertilized and fertilized eggs. In our experiment no reliable individual variability of eggs from different egg mass parts either in size or in intracellular protease activity levels was detected. The obtained results suggest that the cause for differentiation of young salmonids in physiology and morphology obvious at embryogenesis and early post-embryogenesis should be apparently searched through the genetic variability of fertilized material or its interactions with the environment but not in the difference of growth and maturation rates in fish ovaries.

Key words: calpains; cathepsins; oocytes; ovary; maternal effects; *O. gorbuscha*.

Введение

Внутривидовая фенотипическая разнокачественность молоди лососевых рыб родов *Salmo*, *Oncorhynchus*, *Salvelinus*, особенно ярко проявляющаяся в речной период их жизни в ходе активного расселения личинок по разным биотопам, до сих пор не получила должного объяснения. Согласно наблюдениям [Grant, Noakes, 1988; Веселов, Калюжин, 2001; Павлов и др., 2008, 2012; Nemova et al., 2017], к моменту выбора местообитания среди личинок одной генерации выделяются две фенотипические группировки: первая остается для нагула в основном русле реки, вблизи нерестовых гнезд, вторая мигрирует в мелководные притоки реки. Развиваясь в микробиотопах с разной кормовой базой, скоростями течения, температурой воды и силой внутривидовой конкуренции, субпопуляции лососевых приобретают еще более выраженные различия [Grant, Noakes, 1988; Metcalfe et al., 1988; Erkinaro, Niemelä, 1995; McCarthy, 2001; Павлов и др., 2008; Nemova et al., 2017]. Дифференциация ранних личинок затрагивает их поведенческие, меристические, физиологические и биохимические признаки и обычно имеет бимодальный характер [Nicieza et al., 1994; Utrilla, Lobon-Cervia, 1999]. О механизмах формирования индивидуальной разнокачественности личинок лососевых известно немного [Primmer et al., 2006; Павлов и др., 2010; Пономарева, 2014], а сроки первичной ее манифестации четко не установлены. По Г. В. Никольскому [1974], исходным моментом возникновения индивидуальных различий особей может служить разнокачественность половых продуктов, прежде всего икры, по содержанию белковых и липидных резервов. Можно предположить, что уже на стадии оогенеза яйцеклетки из разных частей яичников самок различаются темпами роста и сроками созревания в силу разной плотности гормональных сигналов и неравномерного их снабжения трофическими веществами [Suter, 2002; Burton et al., 2013]. В итоге самка может выметать икринки, различающиеся размером

и уровнем запасных веществ, обеспечивающих трофику эмбриона и личинки на эмбриональном и раннем постэмбриональном этапах развития, и обладающие, вследствие этого, разными стартовыми возможностями для развития. Внутриклеточная белковая деградация, необходимая для резорбции резервных веществ, обновления клеточных структур и контроля качества синтезируемых белков, является, по существу, процессом, антагонистичным синтезу белка и его накоплению, поэтому интенсивность протеолиза может определять скорость роста и накопления белковой массы как в целом организме, так и в отдельных его тканях и клетках. В растущем организме (ткани, клетке) степень гидролиза белковых компонентов обычно связана прямой зависимостью с интенсивностью процессов биосинтеза, но не превышает последнюю [Fraser, Rogers, 2007]. В ранее проведенных исследованиях было показано, что активность основных ассоциированных с ростовыми процессами внутриклеточных протеиназ – катепсинов В и D, Ca²⁺-зависимых протеиназ (кальпаинов) – достаточно четко коррелирует с темпами роста рыб [Overturf, Gaylord, 2009; Torrissen et al., 2014; Лысенко и др., 2015], их мышечной ткани [Johnston et al., 2011; Немова и др., 2016; Lysenko et al., в печати], а также, вероятно, и таких крупных и богатых белками клеток, как яйцеклетки. С учетом вышесказанного целью настоящей работы был поиск различий – морфологических и по уровню протеолитической активности внутриклеточных протеиназ (кальпаинов, катепсинов В и D) – между яйцеклетками из разных порций икры (передней, средней и задней трети яичников) горбуши, *Oncorhynchus gorbuscha* Walbaum, 1792 (сем. Salmonidae).

Материалы и методы

В работе использовались химические реагенты, ингибиторы и субстраты протеиназ, произведенные Sigma-Aldrich (США); приборы ЦКП ИО ИБ КарНЦ РАН: гомогенизатор Tissue Lyser LT (Qiagen, Германия), микроцентрифуга 5417R

(Eppendorf, Германия), твердотельный термостат CH-100 (BioSan, Латвия), спектрофотометр СФ-2000 (ЗАО «ОКБ-Спектр», Россия).

Объекты исследований. В исследовании использовались гонады (вес $261,87 \pm 9,11$ г, стадия зрелости 4–5, 5), полученные от четырех нерестящихся самок горбуши *O. gorbuscha* (сем. Salmonidae; масса $1240,07 \pm 68,18$ г, длина $48,86 \pm 3,29$ см), выловленных в р. Индера (бассейн Белого моря, Кольский п-ов) в августе 2015 г. Икринки из разных порций (передней, средней, задней третьей яичников) отделялись от соединительнотканной оболочки, взвешивались (табл.), замораживались в жидком азоте и анализировались индивидуально.

Экстракция и анализ протеолитической активности кальпаинов (ЕС 3.4.22.53).

Растворимые и мембраносвязанные белки икринок экстрагировались путем гомогенизации в 20 мМ Трис-НСI-буфере (рН 7,5) с добавлением 150 мМ NaCl, 5 мМ ЭДТА-Na, 20 мМ дитиотреитола (ДТТ), 0,1% неионного детергента тритон X-100, смеси ингибиторов протеиназ (1 мМ PMSF, 1 мкг/мл лейпептина, 1 мкг/мл пепстатина) в соотношении 1:10 (вес/объем) и центрифугирования (20000 г, 20 мин). В надосадочной жидкости тестировалась активность кальпаинов – кальцийзависимая казеинолитическая активность, чувствительная к ингибиторам цистеиновых протеиназ [Enps, Velcastro, 2006]. Реакционная смесь, общим объемом 500 мкл, включала 0,5 мг белкового субстрата (денатурированного щелочью казеина), 20 мМ ДТТ, 200 мкл ферментной фракции и 2,5 мМ CaCl₂ (Ca²⁺-зависимая активность) или хелатора ионизированного кальция ЭДТА-Na (Ca²⁺-независимая активность) в 50 мМ Трис-НСI-буфере (рН 7,5). После 30-мин инкубации (28 °С) в аликвотах объемом 100 мкл определялось содержание остаточного белка по методу Брэдфорд [Bradford, 1976]. За единицу активности (ед. акт.) кальпаинов принималось количество фермента, вызывающее увеличение оптического поглощения при 595 нм на 0,1 ОЕ за 1 ч реакции в указанных условиях. Удельная активность кальпаинов рассчитывалась на 1 мг белка соответствующей фракции.

Экстракция лизосомальных ферментов и определение активности катепсинов В (ЕС 3.4.22.1) и D (ЕС 3.4.23.5).

Тотальные экстракты цитозольных и лизосомальных белков икринок получались путем их гомогенизации в 0,25 М растворе сахарозы (рН 7,4), включавшем 5 мМ ЭДТА и 0,1 % тритона X-100, взятых в соотношении 1:10 (вес/объем), и центрифугирования при 10000 г (+4 °С, 30 мин.). В полученном супернатанте определялась

активность катепсинов и содержание белка. Пептидазная активность катепсина В оценивалась по гидролизу 65 мМ этилового эфира D-бензоил L-Arg гидрохлорида (BAEE) в 200 мМ ацетатном буфере (рН 5,0) при 37 °С, как ранее описано [Лысенко и др., 2015]. Протеолитическая активность катепсина D определялась по степени гидролиза 1%-го раствора бычьего гемоглобина в 100 мМ ацетатном буфере (рН 3,6) за 30 мин инкубации при 37 °С согласно усовершенствованному методу М. Ансона [Anson, 1938; Лысенко и др., 2015]; по истечении заданного времени реакция терминировалась добавлением эквивалентного объема 10%-й трихлоруксусной кислоты. Активность катепсинов В и D (ед. акт.) измерялась в единицах оптической плотности продуктов реакции при 525 и 280 нм соответственно в пересчете на 1 мг белка соответствующей фракции.

Статистическая обработка результатов.

Полученные данные обрабатывались общепринятыми методами вариационной статистики с использованием пакетов программ MS Excel и StatGraphics. Распределение данных отличалось от нормального, поэтому достоверность различий между группами оценивалась с помощью непараметрического критерия U (Вилкоксона – Манна – Уитни).

Результаты и обсуждение

Результаты проведенного анализа массы и биохимических параметров икринок горбуши приведены в таблице. Достоверных отличий по массе икринок из разных порций икры (передней, средней и задней третьей яичников) обнаружено не было. По всей видимости, сходный темп роста яйцеклеток различной локализации достигается за счет равного их снабжения пластическим материалом и сходных возможностей для запасаения трофических веществ.

Также не было найдено достоверных индивидуальных различий между икринками горбуши по уровню активности внутриклеточных протеиназ. В целом активность катепсинов и кальпаинов в растущих яйцеклетках сравнительно невысока, в отличие от других органов, служащих источником пластических веществ для роста гонад [Немова и др., 1980, 2010; Mommsen, 2004]. В яйцеклетках рыб лизосомальный компартмент представлен мультивезикулярными тельцами (МВТ), в которых катепсин В и катепсин D солокализуются с основными запасными белками – вителлогенинами. В период вителлогенеза – роста яйцеклеток и накопления в них резервных белковых и липидных веществ – внутри МВТ поддерживается

Размерно-массовые показатели и активность внутриклеточных протеиназ в яйцеклетках из разных частей яичников горбуши *O. gorbuscha*

Показатель	Часть яичника		
	передняя (n=4)	средняя (n=4)	задняя (n=4)
масса икринки, г	0,121 ± 0,006	0,127 ± 0,009	0,126 ± 0,007
активность катепсина В, ед. акт.	6,9 ± 0,51	6,6 ± 0,80	6,9 ± 0,65
активность катепсина D, ед. акт.	0,9 ± 0,13	0,6 ± 0,15	0,9 ± 0,15
активность кальпаинов, ед. акт.	87,44 ± 34,34	64,60 ± 35,60	45,81 ± 17,75
содержание белка, мг/г ткани	2,1 ± 0,31	1,7 ± 0,18	2,0 ± 0,20

Примечание. Результаты представлены как среднее ± стандартное отклонение. Достоверность различий между группами оценивалась при помощи критерия U Манна –Уитни.

нейтральный pH и протеиназы находятся в неактивной форме. Активация катепсинов В и D, наблюдающаяся на этапе созревания ооцитов и необходимая для гидролиза вителлогенинов и белков желтка [Kwon et al., 2001; Hiramatsu et al., 2002; Raldúa et al., 2006], происходит за счет закисления содержимого MBT [Raldúa et al., 2006]. Кальпаины, локализованные в цитозоле, проявляют гидролизующую способность по отношению к структурным и регуляторным белкам, содействуя поддержанию протеостаза в клетке. Финальный этап оогенеза – созревание яйцеклеток, переход к мейотическим делениям – сопровождается резким подъемом уровня Ca²⁺ и иницируемой им активацией кальпаинов [Santella et al., 2000]. При отсутствии данных об активности катепсинов и кальпаинов на более ранних сроках сложно указать точный этап развития исследованного материала. Вместе с тем, учитывая отсутствие варибельности между яйцеклетками различной локализации по уровню активности протеиназ, можно заключить, что они находятся на одной и той же стадии зрелости, то есть им свойствен синхронный тип созревания.

Сходная активность кальпаинов, катепсина В и катепсина D в исследованных яйцеклетках, несмотря на принадлежность этих протеиназ к разным каталитическим типам (первых двух – к цистеиновому, последнего – к аспаратному), свидетельствует об общих механизмах регуляции кальпаинового и лизосомально-аутофагического протеолитических путей в растущих яйцеклетках. Непосредственными регуляторами скорости роста яйцеклеток (накопления в них белков) и их созревания являются вещества, одновременно воздействующие на интенсивность протеолиза – гормон роста и катехоламины на этапе вителлогенеза [Björnsson et al., 2002; Fuentes et al., 2013] и половые стероиды на этапе созревания [Cleveland, Weber, 2011]. Характерно, что именно уровень катехоламинов и кортикостероидов признан первичным различительным признаком будущих «мигрантов»

и «резидентов» (у первых он выше) среди эмбрионов одной генерации [Нечаев и др., 2000]. По всей видимости, на изученном этапе яйцеклетки горбуши еще не дифференцируются по уровню гормональных регуляторов.

Предпосылкой различий – морфологических, поведенческих – может быть не только генетическая гетерогенность материала (половых продуктов и сформировавшихся после оплодотворения зародышей), но и эпигенетические влияния, включая так называемые «материнские эффекты» [Burton et al., 2013; Torrissen et al., 2014]. Последние заключаются в воздействии факторов среды, которые опосредованно, через влияние на самку, изменяют фенотип ее потомства и могут объяснять преимущество потомства одной самки (более крупной, доминантной) перед другими, например, более крупные и богатые белком яйцеклетки, более благоприятное местоположение образуемого ею нерестового бугра и другие [Hendry, Day, 2003]. Также предполагают, что в процессе выметывания икры определенные преимущества приобретают икринки, первыми отложенные самкой в нерестовые бугры (то есть локализованные в передней части яичника), поскольку они попадают в наиболее благоприятные для развития экологические условия (наблюдения сделаны на атлантическом лососе [Burton et al., 2013]). Тем не менее не вызывает сомнения тот факт, что дифференциация молоди атлантического лосося, отчетливо проявляющаяся у личинок с момента перехода к смешанному питанию до установления территориального образа жизни, обусловлена врожденными механизмами, а внешние условия способствуют более полному проявлению фенотипических различий [Веселов, Калужин, 2001].

Отмеченное для всей выборки нерестящихся самок горбуши сходство размерно-биохимических характеристик зрелых яйцеклеток указывает на сходные сроки их созревания и потенциально равные возможности для их

дальнейшего оплодотворения и развития эмбрионов. Отсутствие индивидуальных различий яйцеклеток в ястыках горбуши свидетельствует о том, что манифестация фенотипической дифференциации происходит на более поздних этапах развития, начиная с этапа выметывания икры и последующих.

Заключение

Результаты нашего исследования, согласно которым зрелые яйцеклетки самок горбуши одинаковы по меристическим и биохимическим признакам (массе и активности ассоциированных с ростовыми процессами внутриклеточных протеиназ) вне зависимости от их локализации в яичнике, свидетельствуют о сходной скорости роста и синхронном типе созревания яйцеклеток в исследованной когорте нерестящихся самок. По всей видимости, индивидуальные различия и дифференциация ранней молодежи проявляются на более поздних этапах развития, начиная с этапа выметывания икры и последующих, что, однако, не исключает возможные материнские эффекты. Вполне вероятно, что самки разного размера и иерархического ранга различаются качеством половых продуктов и возможностями для выбора места для откладывания икры, а их потомство в силу этого имеет разные стартовые возможности; для выяснения этих вопросов необходимы дальнейшие исследования.

Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории экологии рыб и водных беспозвоночных ИБ КарНЦ РАН д. б. н. А. Е. Веселову и М. А. Ручьеву за помощь в сборе и описании ихтиологического материала.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 14-24-00102 «Лососевые рыбы Северо-Запада России: эколого-биохимические механизмы раннего развития». Вылов и исследования горбуши проведены в соответствии с разрешением Федерального агентства по рыболовству Баренцево-Беломорского территориального управления № 51/2015/03/0119.

Литература

Веселов А. Е., Калюжин С. М. Экология, поведение и распределение молодежи атлантического лосося. Петрозаводск: Карелия, 2001. 160 с.

Лысенко Л. А., Канцерова Н. П., Крупнова М. Ю., Веселов А. Е., Немова Н. Н. Внутриклеточная белковая деградация в процессе роста атлантического

лосося *Salmo salar* L. // Биоорг. хим. 2015. Т. 41, № 6. С. 717–724. doi: 10.7868/S013234231506009

Немова Н. Н., Лысенко Л. А., Канцерова Н. П. Деградация белков скелетных мышц в процессах роста и развития лососевых рыб // Онтогенез. 2016. Т. 47, № 4. С. 197–208. doi: 10.7868/S0475145016040066

Немова Н. Н., Лысенко Л. А., Канцерова Н. П. Протеиназы семейства кальпаинов. Структура и функции // Онтогенез. 2010. Т. 41, № 5. С. 381–389.

Немова Н. Н., Сидоров В. С., Рипатти П. О. Лизосомальное переваривание белков органов лосося *Salmo salar* L. при голодании в условиях содержания в садках в преднерестовый период // Вопр. ихтиол. 1980. Т. 120. С. 180–182.

Нечаев И. В., Павлов Д. С., Глухова Е. В. Эффект взаимодействия эмбрионов плотвы в кладке и постэмбриональные последствия этих взаимодействий // ДАН. 2000. Т. 374, № 6. С. 839–842.

Никольский Г. В. Экология рыб. М.: Высш. шк., 1974. 366 с.

Павлов Д. С., Пономарева В. Ю., Веселов А. Е., Костин В. В. Реореакция как один из механизмов формирования фенотипических группировок сеголеток атлантического лосося (*Salmo salar*) // Вопр. ихтиол. 2010. Т. 50, № 4. С. 548–553.

Павлов Д. С., Костин В. В., Пономарева В. Ю. Различия размерных и весовых показателей и особенностей питания заводской молодежи черноморской кумжи (*Salmo trutta labrax* pall.) из двух пространственных группировок // ДАН. 2012. Т. 445, № 4. С. 479–481.

Павлов Д. С., Нефедова З. А., Веселов А. Е., Немова Н. Н., Руоколайнен Т. Р., Васильева О. Б., Рипатти П. О. Липидный статус сеголеток атлантического лосося *Salmo salar* из разных микробиотопов р. Варзуга // Вопр. ихтиол. 2008. Т. 48, № 5. С. 679–685.

Пономарева В. Ю. Поведенческие механизмы внутрипопуляционной дифференциации молодежи некоторых лососевых рыб: дис. ... канд. биол. наук. М., 2014. 136 с.

Anson M. L. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin // J. Gen. Physiol. 1938. Vol. 22. P. 79–89.

Björnsson B. T., Johansson V., Benedet S., Einarsdottir I. E., Hildahl J., Agustsson T., Jonsson E. Growth hormone endocrinology of salmonids: regulatory mechanisms and mode of action // Fish Physiol. Biochem. 2002. Vol. 27. P. 227–242. doi: 10.1023/B:FISH.0000032728.91152.10

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

Burton T., Hoogenboom M. O., Beevers N. D., Armstrong J. D., Metcalfe N. B. Among-sibling differences in the phenotypes of juvenile fish depend on their location within the egg mass and maternal dominance rank // Proc. R. Soc. B. 2013. Vol. 280. P. 2012–2441. doi: 10.1098/rspb.2012.2441

Cleveland B. M., Weber G. M. Effects of sex steroids on indices of protein turnover in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) white muscle // Gen. Comp. Endocrinol. 2011. Vol. 174. P. 132–142. doi: 10.1152/ajpregu.00516.2009

Enns D. L., Belcastro A. N. Early activation and re-distribution of calpain activity in skeletal muscle during hindlimb unweighting and reweighting // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2006. Vol. 84. P. 601–609.

Erkinaro J., Niemelä E. Growth differences between the Atlantic salmon parr, *Salmo salar*, of nursery brooks and natal rivers in the river Teno watercourse in northern Finland // *Environ. Biol. Fish.* 1995. Vol. 42, no. 3. P. 277–287.

Fraser K. P. P., Rogers A. D. Protein metabolism in marine animals: the underlying mechanism of growth // *Adv. Mar. Biol.* 2007. Vol. 52. P. 267–362. doi: 10.1016/S0065-2881(06)52003-6

Fuentes E. N., Valdés J. A., Molina A., Björnsson B. T. Regulation of skeletal muscle growth in fish by the growth hormone – insulin-like growth factor system // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2013. Vol. 192. P. 136–148. doi: 10.1016/j.ygcen.2013.06.009

Grant J. W. A., Noakes D. L. G. Aggressiveness and foraging mode of young-of-the-year brook charr, *Salvelinus fontinalis* (Pisces, Salmonidae) // *Behav. Ecol. Sociobiol.* 1988. Vol. 22. P. 435–445.

Hendry A. P., Day T. Revisiting the positive correlation between female size and egg size // *Evol. Ecol. Res.* 2003. Vol. 5. P. 421–429.

Hiramatsu N., Ichikawa N., Fukada H., Fujita T., Sulivan C. V., Hara A. Identification and characterization of proteases involved in specific proteolysis of vitellogenin and yolk proteins in salmonids // *J. Exp. Zool.* 2002. Vol. 292. P. 11–25.

Johnston I., Bower N., Macqueen D. Growth and the regulation of myotomal muscle mass in teleost fish // *J. Exp. Biol.* 2011. Vol. 214. P. 1617–1628. doi: 10.1242/jeb.038620

Kwon J. Y., Prat F., Randall C., Tyler C. R. Molecular characterization of putative yolk processing enzymes and their expression during oogenesis and embryogenesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Biol. Reprod.* 2001. Vol. 65. P. 1701–1709.

Lysenko L. A., Kantserova N. P., Kaivarainen H. I., Krupnova M. Ju., Nemova N. N. Skeletal muscles protease activities in the early growth and development of wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) // *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* (в печати).

McCarthy I. D. Competitive ability is related to metabolic asymmetry in juvenile rainbow trout // *J. Fish Biol.* 2001. Vol. 59. P. 1002–1014. doi:10.1111/j.1095-8649.2001.tb00167.x

Metcalfe N. B., Huntingford F. A., Thorpe J. E. Feeding intensity, growth rates and the establishment of life-history patterns of juvenile Atlantic salmon *Salmo salar* L. // *J. Anim. Ecol.* 1988. Vol. 57, no. 2. P. 463–474. doi: 10.2307/4918

Mommsen T. P. Salmon spawning migration and muscle protein metabolism: the August Krogh principle at work // *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 2004. Vol. 139. P. 383–400. doi: 10.1016/j.cbpc.2004.09.018

Nemova N. N., Kaivarainen E. I., Krupnova M. Yu., Veselov A. E., Murzina S. A., Pavlov D. S. Intracellular proteolysis in Atlantic salmon *Salmo salar* fingerlings (0+) from different biotopes in an Arctic river (Varzuga River, White Sea Basin) // *Polar Record.* 2017. P. 1–7. doi: 10.1017/S003224741600084X

Nicieza A. G., Reyesgavilan F. G., Brana F. Differentiation in juvenile growth and bimodality patterns between northern and southern populations of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) // *Can. J. Zool.* 1994. Vol. 72. P. 1603–1610. doi: 10.1139/z94-213

Overturf K., Gaylord T. Determination of relative protein degradation activity at different life stages in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 2009. Vol. 152. P. 150–160. doi: 10.1016/j.cbpb.2008.10.012

Primmer C. R., Veselov A. J., Zubchenko A., Poutukin A., Bakhmet I., Koskinen M. T. Isolation by distance within a river system: genetic population structuring of Atlantic salmon, *Salmo salar*, in tributaries of the Varzuga River in northwest Russia // *J. Mol. Ecol.* 2006. No. 15. P. 653–666. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02844.x

Raldúa D., Fabra M., Bozzo M. G., Weber E., Cerdà J. Cathepsin B-mediated yolk protein degradation during killifish oocyte maturation is blocked by an H⁺-ATPase inhibitor: effects on the hydration mechanism // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2006. Vol. 290. P. R456–R466. doi: 10.1152/ajpregu.00528.2005

Santella L., Kyojuka K., Hoving S., Munchbach M., Quadroni M., Dainese P., Zamparelli C., James P., Carafoli E. Breakdown of cytoskeletal proteins during meiosis of starfish oocytes and proteolysis induced by calpain // *Exp. Cell Res.* 2000. Vol. 259. P. 117–126. doi: 10.1006/excr.2000.4969

Suter H. C. The effects of maternal steroids on individual variation in juvenile salmonids: PhD thesis. University of Glasgow, Glasgow, UK, 2002.

Torrissen K. R. Atlantic salmon *Salmo salar* L.: genetic variations in protein metabolism and growth / Eds. P. T. K. Woo, D. J. Noakes. Salmon: biology, ecological impacts and economic importance. New York, NY: Nova Science Publishers, 2014. P. 85–119.

Utrilla C. G., Lobon-Cervia J. Life-history patterns in a southern population of Atlantic salmon // *J. Fish Biol.* 1999. Vol. 55. P. 68–83.

Поступила в редакцию 01.03.2017

References

Lysenko L. A., Kantserova N. P., Krupnova M. Yu., Veselov A. E., Nemova N. N. Vnutrikletchnaya belkovaya degradatsiya v protsesse rosta atlanticheskogo lososya *Salmo salar* L. [Intracellular protein degradation during growth of the Atlantic salmon *Salmo salar* L.]. *Bioorg. khim.* [Russ. Journal of Bioorganic

Chem.] 2015. Vol. 41, no. 6. P. 717–724. doi: 10.7868/S013234231506009

Nemova N. N., Lysenko L. A., Kantserova N. P. Degradatsiya belkov skeletnykh myshts v protsessakh rosta i razvitiya lososevykh ryb [Degradation of skeletal muscle protein during growth and development

of salmonid fish]. *Ontogenez [Russ. Journal of Developmental Biol.]*. 2016. Vol. 47, no. 4. P. 197–208. doi: 10.7868/S0475145016040066

Nemova N. N., Lysenko L. A., Kantserova N. P. Proteinyazy semeistva kal'painov. Struktura i funktsii [Proteases of the calpain family: structure and functions]. *Ontogenez [Russ. Journal of Developmental Biol.]*. 2010. Vol. 41, no. 5. P. 381–389.

Nemova N. N., Sidorov V. S., Ripatti P. O. Lizosomal'noe perevarivanie belkov organov lososya *Salmo salar* L. pri golodanii v usloviyakh sodержaniya v sadkakh v prednerestovyi period [Lysosomal digestion of proteins of the salmon *Salmo salar* L. organs during starvation in cages in the prespawning period]. *Vopr. ikhtiologii. [Journal of Ichthyology]*. 1980. Vol. 120. P. 180–182.

Nechaev I. V., Pavlov D. S., Glukhova E. V. Efekt vzaimodeistviya embrionov plotvy v kladke i postembrional'nye posledstviya etikh vzaimodeistvii [Interaction between roach embryos in a clutch and the postembryonal consequences of this interaction]. *DAN [Dokl. Biol. Sciences]*. 2000. Vol. 374, no. 6. P. 839–842.

Nikol'skii G. V. Ekologiya ryb [Ecology of fish]. Moscow: Vyssh. shk., 1974. 366 p.

Pavlov D. S., Ponomareva V. Yu., Veselov A. E., Kostin V. V. Reoreaktsiya kak odin iz mekhanizmov formirovaniya fenotipicheskikh gruppirovok segoletok atlanticheskogo lososya (*Salmo salar*) [Rheoreaction as a mechanism of phenotypic groups formation of underyearlings of the Atlantic salmon *Salmo salar*]. *Vopr. ikhtiologii. [Journal of Ichthyology]*. 2010. Vol. 50, no. 4. P. 548–553.

Pavlov D. S., Kostin V. V., Ponomareva V. Yu. Razlichniya razmernykh i vesovykh pokazatelei i osobennosti pitaniya zavodskoi molodi chernomorskoi kumzhi (*Salmo trutta labrax* pall.) iz dvukh prostranstvennykh gruppirovok [Differences in length, weight, and feeding characteristics of hatchery-reared juvenile fish of the Black sea trout (*Salmo trutta labrax* pall.) from two spatial groups]. *DAN [Dokl. Biological Sciences]*. 2012. Vol. 445, no. 4. P. 479–481.

Pavlov D. S., Nefedova Z. A., Veselov A. E., Nemova N. N., Ruokolainen T. R., Vasil'eva O. B., Ripatti P. O. Lipidnyi status segoletok atlanticheskogo lososya *Salmo salar* iz raznykh mikrobiotopov r. Varzuga [Lipid status of fingerlings of the Atlantic salmon *Salmo salar* from different microbiotopes of the Varzuga River]. *Vopr. ikhtiologii. [Journal of Ichthyology]*. 2008. Vol. 48, no. 5. P. 679–685.

Ponomareva V. Yu. Povedencheskie mekhanizmy vnutripopulyatsionnoi differentsiatsii molodi nekotorykh lososevykh ryb [Behavioral mechanisms of intrapopulation differentiation of juvenile fish of some salmonids]: DSc (Cand. of Biol.) thesis. Moscow, 2014. 136 p.

Veselov A. E., Kalyuzhin S. M. Ekologiya, povedenie i raspredelenie molodi atlanticheskogo lososya [Ecology, behavior, and distribution of juvenile fish of the Atlantic salmon]. Petrozavodsk: Kareliya, 2001. 160 p.

Anson M. L. The estimation of pepsin, trypsin, pappain and cathepsin with hemoglobin. *J. Gen. Physiol.* 1938. Vol. 22. P. 79–89.

Björnsson B. T., Johansson V., Benedet S., Einarsdottir I. E., Hildahl J., Agustsson T., Jonsson E.

Growth hormone endocrinology of salmonids: regulatory mechanisms and mode of action. *Fish Physiol. Biochem.* 2002. Vol. 27. P. 227–242. doi: 10.1023/B:FISH.0000032728.91152.10

Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976. Vol. 72. P. 248–254.

Burton T., Hoogenboom M. O., Beevers N. D., Armstrong J. D., Metcalfe N. B. Among-sibling differences in the phenotypes of juvenile fish depend on their location within the egg mass and maternal dominance rank. *Proc. R. Soc. B.* 2013. Vol. 280. P. 2012–2441. doi: 10.1098/rspb.2012.2441

Cleveland B. M., Weber G. M. Effects of sex steroids on indices of protein turnover in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) white muscle. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2011. Vol. 174. P. 132–142. doi: 10.1152/ajpregu.00516.2009

Enns D. L., Belcastro A. N. Early activation and redistribution of calpain activity in skeletal muscle during hindlimb unweighting and reweighting. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2006. Vol. 84. P. 601–609.

Erkinaro J., Niemelä E. Growth differences between the Atlantic salmon parr, *Salmo salar*, of nursery brooks and natal rivers in the river Teno watercourse in northern Finland. *Environ. Biol. Fish.* 1995. Vol. 42, no. 3. P. 277–287.

Fraser K. P. P., Rogers A. D. Protein metabolism in marine animals: the underlying mechanism of growth. *Adv. Mar. Biol.* 2007. Vol. 52. P. 267–362. doi: 10.1016/S0065-2881(06)52003-6

Fuentes E. N., Valdés J. A., Molina A., Björnsson B. T. Regulation of skeletal muscle growth in fish by the growth hormone – insulin-like growth factor system. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2013. Vol. 192. P. 136–148. doi: 10.1016/j.ygcen.2013.06.009

Grant J. W. A., Noakes D. L. G. Aggressiveness and foraging mode of young-of-the-year brook charr, *Salvelinus fontinalis* (Pisces, Salmonidae). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 1988. Vol. 22. P. 435–445.

Hendry A. P., Day T. Revisiting the positive correlation between female size and egg size. *Evol. Ecol. Res.* 2003. Vol. 5. P. 421–429.

Hiramatsu N., Ichikawa N., Fukada H., Fujita T., Sullivan C. V., Hara A. Identification and characterization of proteases involved in specific proteolysis of vitellogenin and yolk proteins in salmonids. *J. Exp. Zool.* 2002. Vol. 292. P. 11–25.

Johnston I., Bower N., Macqueen D. Growth and the regulation of myotomal muscle mass in teleost fish. *J. Exp. Biol.* 2011. Vol. 214. P. 1617–1628. doi: 10.1242/jeb.038620

Kwon J. Y., Prat F., Randall C., Tyler C. R. Molecular characterization of putative yolk processing enzymes and their expression during oogenesis and embryogenesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biol. Reprod.* 2001. Vol. 65. P. 1701–1709.

Lysenko L. A., Kantserova N. P., Kaivarainen H. I., Krupnova M. Ju., Nemova N. N. Skeletal muscles protease activities in the early growth and development of wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* (appear).

McCarthy I. D. Competitive ability is related to metabolic asymmetry in juvenile rainbow trout. *J. Fish Biol.* 2001. Vol. 59. P. 1002–1014. doi: 10.1111/j.1095-8649.2001.tb00167.x

Metcalfe N. B., Huntingford F. A., Thorpe J. E. Feeding intensity, growth rates and the establishment of life-history patterns of juvenile Atlantic salmon *Salmo salar* L. *J. Anim. Ecol.* 1988. Vol. 57, no. 2. P. 463–474. doi: 10.2307/4918

Mommsen T. P. Salmon spawning migration and muscle protein metabolism: the August Krogh principle at work. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 2004. Vol. 139. P. 383–400. doi: 10.1016/j.cbpc.2004.09.018

Nemova N. N., Kaivarainen E. I., Krupnova M. Yu., Veselov A. E., Murzina S. A., Pavlov D. S. Intracellular proteolysis in Atlantic salmon *Salmo salar* fingerlings (0+) from different biotopes in an Arctic river (Varzuga River, White Sea Basin). *Polar Record.* 2017. P. 1–7. doi: 10.1017/S003224741600084X

Nicieza A. G., Reyesgavilan F. G., Brana F. Differentiation in juvenile growth and bimodality patterns between northern and southern populations of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Can. J. Zool.* 1994. Vol. 72. P. 1603–1610. doi: 10.1139/z94-213

Overturf K., Gaylord T. Determination of relative protease degradation activity at different life stages in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 2009. Vol. 152. P. 150–160. doi: 10.1016/j.cbpb.2008.10.012

Primmer C. R., Veselov A. J., Zubchenko A., Poututkin A., Bakhmet I., Koskinen M. T. Isolation by distance

within a river system: genetic population structuring of Atlantic salmon, *Salmo salar*, in tributaries of the Varzuga River in northwest Russia. *J. Mol. Ecol.* 2006. No. 15. P. 653–666. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02844.x

Raldúa D., Fabra M., Bozzo M. G., Weber E., Cerdà J. Cathepsin B-mediated yolk protein degradation during killifish oocyte maturation is blocked by an H⁺-ATPase inhibitor: effects on the hydration mechanism. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2006. Vol. 290. P. R456–R466. doi: 10.1152/ajpregu.00528.2005

Santella L., Kyozuka K., Hoving S., Munchbach M., Quadroni M., Dainese P., Zamparelli C., James P., Carafoli E. Breakdown of cytoskeletal proteins during meiosis of starfish oocytes and proteolysis induced by calpain. *Exp. Cell Res.* 2000. Vol. 259. P. 117–126. doi: 10.1006/excr.2000.4969

Suter H. C. The effects of maternal steroids on individual variation in juvenile salmonids: PhD thesis. University of Glasgow, Glasgow, UK, 2002.

Torrissen K. R. Atlantic salmon *Salmo salar* L.: genetic variations in protein metabolism and growth. Eds. P. T. K. Woo, D. J. Noakes. *Salmon: biology, ecological impacts and economic importance*. New York, NY: Nova Science Publishers, 2014. P. 85–119.

Utrilla C. G., Lobon-Cervia J. Life-history patterns in a southern population of Atlantic salmon. *J. Fish Biol.* 1999. Vol. 55. P. 68–83.

Received March 01, 2017

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Лысенко Людмила Александровна

ведущий научный сотрудник лаб. экологической биохимии, к. б. н.

Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910

эл. почта: l-lysenko@yandex.ru

тел.: (8142) 571879

Канцеровва Надежда Павловна

научный сотрудник лаб. экологической биохимии, к. б. н.

Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910

эл. почта: nkantserova@yandex.ru

тел.: (8142) 571879

Крупнова Марина Юрьевна

старший научный сотрудник лаб. экологической биохимии, к. б. н.

Институт биологии Карельского научного центра РАН,
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910

эл. почта: mukrupnova@rambler.ru

тел.: (8142) 571879

CONTRIBUTORS:

Lysenko, Lyudmila

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences

11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia

e-mail: l-lysenko@yandex.ru

tel.: (8142) 571879

Kantserova, Nadezhda

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences

11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia

e-mail: nkantserova@yandex.ru

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

Ефремов Денис Александрович

научный сотрудник лаб. экологии рыб и водных
беспозвоночных, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: denisefremov@list.ru
тел.: (8142) 561679

Немова Нина Николаевна

главный научный сотрудник лаб. экологической биохимии,
чл.-корр. РАН, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: nemova@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 571879

Efremov, Denis

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: denisefremov@list.ru
tel.: (8142) 561679

Nemova, Nina

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