

УДК 574.24:597.55

РАЗНОКАЧЕСТВЕННОСТЬ ТРЕХИГЛОЙ КОЛЮШКИ (*GASTEROSTEUS ACULEATUS*) БЕЛОГО МОРЯ В НАЧАЛЕ НЕРЕСТА ПО АКТИВНОСТИ КАЛЬЦИЙЗАВИСИМЫХ ПРОТЕИНАЗ И ПОПУЛЯЦИОННЫМ ХАРАКТЕРИСТИКАМ

Л. А. Лысенко¹, Н. П. Канцерова¹, Е. Д. Тушина²,
Н. В. Полякова³, Д. Л. Лайус³, Н. Н. Немова¹

¹ Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия

² Петрозаводский государственный университет, Россия

³ Санкт-Петербургский государственный университет, Россия

Трехиглая колюшка *Gasterosteus aculeatus* Белого моря подходит для нереста в начале лета с мест зимовки в прибрежную зону. Для описания пространственной гетерогенности нерестовых группировок этого вида мы сравнивали размерные характеристики и биохимические показатели в органах нерестящихся рыб из трех местообитаний в Кандалакшском заливе, расположенных на расстоянии не более нескольких километров друг от друга, но заметно отличающихся температурным режимом, кормовой базой и подводной растительностью. Наши выборки были взяты в пределах недели после начала нерестового подхода колюшки. Мы не выявили размерных различий между выборками из разных биотопов. Активность внутриклеточных кальцийзависимых протеиназ (кальпаинов) статистически достоверно отличалась у рыб из разных местообитаний. Полученные результаты могут объясняться как исходными генетическими отличиями рыб, подходящих на разные нерестилища, так и ответом изначально гомогенной группировки колюшки на разные условия среды. В пользу первого предположения говорит то, что для формирования различий по уровню протеолиза требуется значительное время и того времени, которое прошло с начала нерестовой миграции, может быть недостаточно для их проявления. В пользу второго предположения свидетельствуют наблюдения за распределением колюшки в зимний период. Колюшка отсутствует в прибрежной зоне и зимует на значительном удалении от берегов, что препятствует структурированию популяции. Помимо этого, уровень активности кальпаинов у рыб оказался тем более сходен, чем выше было сходство условий в их местообитаниях. На настоящий момент у нас нет оснований предпочитать то или иное объяснение. Этому может способствовать анализ данных по размерным и биохимическим показателям колюшки на последующих этапах нереста.

Ключевые слова: *Gasterosteus aculeatus*; нерест; кальпаины.

**L. A. Lysenko, N. P. Kantserova, E. D. Tushina, N. V. Poliakova,
D. L. Lajus, N. N. Nemova. THE WHITE SEA THREESPINE STICKLEBACK,
GASTEROSTEUS ACULEATUS, DIFFERENTIATION AT THE BEGINNIG OF
SPAWNING BY THE ACTIVITY OF CALCIUM-DEPENDENT PROTEASES
AND POPULATION CHARACTERISTICS**

Threespine stickleback *Gasterosteus aculeatus* of the White Sea migrate from the wintering areas inshore for spawning in early summer. To describe the spatial heterogeneity

ty of the spawning agglomerations of the stickleback we compared size characteristics and biochemical parameters in different organs of spawners from three locations of the Kandalaksha Bay. The sampling locations are situated within a few kilometers from one another but differ notably in the temperature regime, food resources, and underwater vegetation. The samples were collected within a week after the appearance of fish in the inshore zone. We found no differences between the samples in their size characteristics. The activity of intracellular calcium-dependent proteases (calpains) significantly differed among fish from different sampling locations. The results obtained can be explained both by the initial genetic differences of fish from different spawning grounds and the response of initially homogeneous groups of sticklebacks to different environmental conditions. The first explanation is supported by the fact that quite a long period of living under new conditions is required to result in differences in calpain activity, and the time since the separation of spawners in our sampling locations is hardly sufficient for such a differentiation. The second explanation is supported by studies of the winter distribution of sticklebacks in the area, showing that the wintering areas are quite far from the inshore zone and mixing in wintering locations probably prevents population structuring. Moreover, the patterns of calpain activity are more similar in the fish caught under more similar conditions, which may point to the environmental causes of the observed biochemical differences. At the moment, we have no reason to prefer one explanation to the other. For that, studies on the size and biochemical distribution of sticklebacks at later stages of spawning are needed.

Key words: *Gasterosteus aculeatus*; spawning; calpains.

Введение

Колюшка трехиглая (*Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758, сем. Gasterosteidae) – популярная модель эволюционной биологии и экологии, используемая для изучения адаптаций к изменениям в среде обитания, поведения, генетики внутривидового разнообразия, паразито-хозяйинных отношений [Scharsack et al., 2012; Barber, 2013; Hendry et al., 2013; Gibbons et al., 2017]. Благодаря экологической пластичности, в основе которой лежит генетически обусловленная широта нормы реакции, колюшка широко распространена как в морских, так и в пресных водах Северного полушария. Жизненный цикл *G. aculeatus* включает резкую смену условий обитания, например, в ходе нерестовых миграций из открытого моря в прибрежные биотопы со свойственным им комплексом абиотических (температура, соленость, состав грунта, скорость течений и др.) и биотических (кормовые объекты, хищники, паразиты) факторов. Нерест пресноводных форм колюшки в разных местообитаниях может свидетельствовать о наличии генетически обусловленных предпочтений [Jaenike, Holt, 1991; Armsworth, Roughgarden, 2005]. Популяции колюшки из разных биотопов, особенно изолированных или частично изолированных, успешно адаптируются к разнообразным условиям – составу пищи, воды, температуре и другим факторам среды, что проявляется в морфологических и физиологических различиях [Conover et al.,

2009; Hendry et al., 2009; Jones et al., 2012; Arnegard et al., 2014].

Одним из маркерных показателей скорости роста рыб и развития у них адаптивных ответов на изменение внешних условий признаны кальцийзависимые протеиназы (кальпаины). Ранее проведенные исследования кальпаинов рыб показали их исключительную важность в регуляции ростовых и метаболических процессов на всех стадиях онтогенеза – с момента оплодотворения икры до сенильного периода [Overturf, Gaylord, 2009; Немова и др., 2010, 2016; Johnston et al., 2011; Lysenko et al., 2017], включая развитие компенсаторных и патологических перестроек в ответ на изменения абиотических факторов среды обитания (солености, температуры, загрязнителей и других) [Lysenko et al., 2014, 2015]. Изменчивость внешних условий также может существенно менять характер взаимодействия рыб и их паразитов, оказывая влияние на интенсивность инвазии, видовое разнообразие и обилие паразитов [Wolinska, King, 2009; Scharsack et al., 2016].

Значимость изучения механизмов адаптации трехиглой колюшки Белого моря к различным средовым факторам выходит за рамки использования этого вида как модельного объекта. В настоящее время колюшка – наиболее многочисленный вид рыб в Белом море [Ivanova et al., 2016], причем ее численность значительно возросла за последние два десятилетия, что может быть связано с климатическими изменениями [Лайус и др., 2013]. Естественно, такие

существенные изменения численности массового вида не могут не сказываться на всей беломорской экосистеме. Целью работы было изучение различий между тремя группировками колюшки трехиглой по размерно-массовым, биохимическим (активность внутриклеточных протеиназ), физиологическим (индекс упитанности) показателям и по степени паразитарной инвазии в начале нерестового периода.

Материалы и методы

Сбор и обработка проб. В исследовании использовались половозрелые особи колюшки трехиглой *Gasterosteus aculeatus* обоих полов, отловленные в начале нерестового периода – 28–30 мая 2016 г. Пробы собирались в Кандалакшском заливе Белого моря (места сбора отмечены на рисунке) с помощью малькового невода длиной 7,5 и высотой 1,5 м в прибрежной полосе 30 м. Коэффициент уловистости невода принимался 0,6 [Ivanova et al., 2016].

Сразу после поимки рыбы разделялись по половому признаку, замораживались в жидком азоте и хранились там до начала анализа. После кратковременной разморозки измерялись общая длина тела и масса рыб, анализировались паразиты, отбирались пробы органов (печени, жабр, скелетных мышц), которые впоследствии анализировались индивидуально. Индекс упитанности рыб рассчитывался по формуле Фултона: $I = 100 (M/D^3)$, где I – индекс упитанности, M – масса (г), D – общая длина (см) тела рыбы.

Районы исследования. Для исследования выбрано три достаточно типичных, но в то же время существенно отличающихся условиями среды нерестилища. Температура воды и соленость в изученных биотопах на момент сбора проб составили: 15 °С, 23‰ для губы Сельдяной, 16 °С, 15‰ для лагуны Сухой, 12 °С, 21‰ для Сухой Салмы. Ниже приведена краткая характеристика мест сбора проб.

1. Губа Сельдяная (66°33'80.66"N, 33°62'25.16"E) – залив треугольной формы с широким входом, глубиной 8 м. Водообмен интенсивный (амплитуда прилива до 2,5 м). Вершина мелководная, с небольшим пресным стоком, слабое опреснение за счет атмосферных осадков. На литорали дно каменистое, глубже – илистое. Плотные заросли zostеры на сублиторали, на литорали – фукоиды. Здесь присутствуют организмы, активно потребляемые молодью колюшки, – копеподы *Temora longicornis* и *Microsetella norvegica*, инфузория *Helicostomella subulata*, а также олигохеты и ортокладины [Demchuk et al., 2015].

Такие условия очень благоприятны для нереста и роста молоди колюшки, вместе с тем здесь довольно много хищников-ихтиофагов, потребляющих как взрослых, так и молодь рыб, – треска *Gadus morhua*, керчак *Myoxocephalus scorpius* и навага *Eleginus nawaga* [Bakhvalova et al., 2016].

2. Лагуна Сухая в проливе Сухая Салма (66°31'32.62"N, 33°64'59.53"E) – полуизолированный от моря залив площадью 0,064 км², с глубиной до 4 м и обширными мелководьями, соединяющийся с морем мелководной протокой. Вода в лагуне несколько опреснена за счет слабого берегового стока и атмосферных осадков. Дно илистое. Заросли zostеры на дне менее плотные, чем в губе Сельдяной, обильны зеленые нитчатые водоросли. В отличие от губы Сельдяной здесь имеется одна доминирующая форма планктона – копепода *Acartia longiremis* [Н. В. Полякова, неопубликованные данные].

3. Пролив Сухая Салма (66°31'16.96"N, 33°64'73.70"E). Интенсивные приливно-отливные течения (амплитуда прилива до 2,5 м). Прогревается слабо из-за быстро нарастающей глубины и интенсивного водообмена. В связи с тем, что это достаточно открытая акватория, расположенная на значительном расстоянии от реки Кереть, опреснение за счет атмосферных осадков слабое, за счет речного стока – редкое и непродолжительное. На литорали дно каменистое, глубже – песчаное. Разреженная zostера в мелководной части, фукоиды на камнях на литорали. Это нерестилище, расположенное в непосредственной близости от лагуны, является более холодноводным и проточным и уступает первым двум по численности производителей и молоди [Т. С. Иванова, неопубликованные данные].

Заполнение колюшкой нерестилищ происходит в начале лета, когда она покидает места зимовки. Точное расположение мест зимовки нам неизвестно, по-видимому, они находятся на значительном расстоянии от берега в открытых частях Кандалакшского залива. Такой вывод можно сделать на основании данных об отсутствии колюшки в зимний период в прибрежной зоне района нашего исследования [Т. С. Иванова, М. В. Иванов, Д. Л. Лайус, неопубликованные данные].

Биохимические методы. В работе использовались химические реагенты, ингибиторы и субстраты протеиназ, произведенные Sigma-Aldrich (США); приборы ЦКП НО ИБ КарНЦ РАН: гомогенизатор Tissue Lyser LT (Qiagen, Германия), микроцентрифуга 5417R (Eppendorf, Германия), твердотельный термостат CH-100



Район исследования на карте Белого моря и места сбора проб трехиглой колюшки

(BioSan, Латвия), спектрофотометр СФ-2000 (ОКБ-Спектр, Россия).

Экстракция кальпаинов из тканей. Тотальная фракция растворимых и мембраносвязанных кальпаинов экстрагировалась из тканей колюшки путем их 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 тритона X-100, смеси ингибиторов протеиназ (1 мМ PMSF, 1 мкг/мл лейпептина, 1 мкг/мл пепстатина) в соотношении 1:10 (вес/объем) и центрифугирования (20 000 г, 20 мин). Надосадочная жидкость служила источником изучаемых протеиназ (ферментсодержащая фракция).

Анализ протеолитической активности кальпаинов. В ферментсодержащей фракции тестировалась активность кальпаинов (ЕС 3.4.22.53) – кальцийзависимая казеинолитическая активность, чувствительная к ингибиторам цистеиновых протеиназ [Enns, Belcastro, 2006]. Реакционная смесь, общим объемом 500 мкл, включала 0,5 мг белкового субстрата (денатурированного щелочью казеина), 20 мМ ДТТ, 200 мкл ферментсодержащей фракции и 2,5 мМ CaCl₂ (Ca²⁺-зависимая активность) или хелатора ионов 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 Брэдфорда [Bradford, 1976]. За единицу активности (ед. акт.) кальпаинов принималось количество фермента, вызывающее увеличение оптического поглощения при 595 нм

на 0,1 ОЕ за время реакции в указанных условиях. Удельная активность кальпаинов рассчитывалась на 1 мг белка соответствующей фракции.

Анализ содержания белка. Концентрация растворимого белка определялась по методу Брэдфорда [Bradford, 1976] с использованием бычьего сывороточного альбумина в качестве стандарта.

Статистическая обработка результатов. Полученные данные обрабатывались общепринятыми методами вариационной статистики с использованием пакетов программ MS Excel и Statgraphics. Распределение данных отличалось от нормального, поэтому для оценки достоверности различий использовали непараметрические критерии: для нескольких групп – Краскела – Уоллеса, попарно – *U* Манна – Уитни. Значение $p \leq 0,05$ считалось достоверным. В тексте значения приводятся как среднее \pm стандартное отклонение.

Результаты

Численность, размер и масса *G. aculeatus* из разных биотопов. Плотность колюшки в исследуемых биотопах в момент сбора материала составляла (в экз./м², самцы/самки): губа Сельдяная – 31,9/69,5; лагуна Сухая – 27,9/16,5; Сухая Салма – 1,6/2,7.

Размерно-массовые характеристики трех выборок колюшки приведены в табл. 1. Во всех выборках самки имели более высокие массу и индекс упитанности, чем самцы, в силу более крупных гонад. Достоверных отличий по массе

Таблица 1. Размерно-массовые показатели колюшки трехиглой *G. aculeatus* из разных биотопов (описание биотопов дано в тексте)

Показатель	Место вылова		
	губа Сельдяная ($n=30$), самки/самцы	лагуна Сухая ($n=30$), самки/самцы	пролив Сухая Салма ($n=30$), самки/самцы
Масса, г	$3,97 \pm 0,72 / 2,82 \pm 0,44$	$3,75 \pm 0,50 / 2,92 \pm 0,33^a$	$4,41 \pm 0,72 / 2,81 \pm 0,45^a$
Общая длина, см	$6,97 \pm 0,57 / 6,48 \pm 0,41$	$6,75 \pm 0,49 / 6,64 \pm 0,33$	$7,09 \pm 0,33 / 6,34 \pm 0,40^a$
Индекс упитанности	$1,17 \pm 0,16 / 1,04 \pm 0,20$	$1,22 \pm 0,09 / 1,00 \pm 0,13^a$	$1,24 \pm 0,13 / 1,10 \pm 0,09$

Примечание. ^a Различия достоверны по сравнению с самками из аналогичного биотопа, $p \leq 0,01$, критерий *U* Манна – Уитни.

Таблица 2. Активность кальпаинов (ед. акт.) в тканях колюшки трехиглой *G. aculeatus* из разных биотопов

	Место вылова		
	губа Сельдяная ($n=10$), самки/самцы	лагуна Сухая ($n=10$), самки/самцы	пролив Сухая Салма ($n=10$), самки/самцы
печень	$37,75 \pm 11,70 / 52,48 \pm 11,97$	$36,60 \pm 6,12 / 19,72 \pm 6,97^e$	$33,92 \pm 9,27 / 55,49 \pm 21,64$
жабры	$62,64 \pm 18,68 / 26,98 \pm 4,23$	$13,17 \pm 5,20^a / 41,80 \pm 15,06$	$67,97 \pm 22,40 / 49,86 \pm 14,02$
скелетные мышцы	$38,76 \pm 11,43 / 51,11 \pm 6,68$	$21,40 \pm 6,09 / 40,14 \pm 11,10$	$37,17 \pm 11,39 / 39,65 \pm 10,51$

Примечание. ^a Различия достоверны по сравнению с самками из Сельдяной, ^e различия достоверны по сравнению с самцами из Сельдяной; $p \leq 0,05$, критерий *U* Манна – Уитни.

и длине между особями одного пола из разных биотопов обнаружено не было (табл. 1).

Паразитарная инвазия колюшки из разных биотопов. В трех выборках колюшки наблюдались единичные случаи заражения метацикляриями *Cryptocotyle* spp. (у одной особи из лагуны, у трех из Сухой Салмы) и висцеральными нематодами (ок. 15 % выборки из губы Сельдяной). Достоверных отличий по экстенсивности заражения колюшки, выловленной на разных станциях, не обнаружено.

Активность кальпаинов в органах колюшки из разных биотопов. Анализ массива данных об активности кальпаинов в органах колюшки из разных местообитаний показал, что такие факторы, как пол и орган, не влияют на этот показатель (табл. 2). Вместе с тем в одном случае обнаружено значимое влияние биотопа на активность кальпаинов ($F = 3,79$; $p = 0,025$, MANOVA). Так, у рыб из лагуны Сухой обнаружен в целом более низкий уровень активности кальпаинов по сравнению с рыбами из губы Сельдяная с достоверными отклонениями в печени самцов и жабрах самок ($p \leq 0,05$, *U* Манна – Уитни). Поскольку можно полагать, что различия между выборками по активности кальпаинов являются согласованными для разных систем органов, мы оценили интегральную активность кальпаинов для всех изученных органов самцов и самок путем ранжирования выборок из разных биотопов. Например, для печени самок выборке из губы Сельдяная, где активность выше, чем в других выборках, был присвоен ранг 1, из лагуны – ранг 2, из пролива – ранг 3. Сумма рангов для губы Сельдяная, лагуны Сухая и пролива Сухая Салма

составила соответственно 10, 15 и 11, то есть в целом активность кальпаинов у рыб из лагуны Сухая оказалась несколько ниже, чем в других двух выборках (более высокая сумма рангов соответствует более низкой активности). Хотя эти различия недостоверны, они показывают, что сходство по активности кальпаинов скорее определяется сходством комплекса условий внешней среды, чем расстоянием между выборками.

Сравнение незараженных и зараженных эндопаразитами особей колюшки из губы Сельдяная показало отсутствие влияния фактора «паразитарная инвазия» на уровень кальций-зависимого протеолиза в изученных органах колюшки.

Обсуждение

Размерные показатели колюшки из разных биотопов. Основываясь на полученных данных, можно говорить об однородности изученных выборок в отношении размерных показателей. В целом и в наших более ранних исследованиях мы не отмечали выраженной гетерогенности между использованными в настоящей работе станциями в отношении размерных характеристик колюшки [Т. С. Иванова, М. В. Иванов, Д. Л. Лайус, неопубликованные данные]. Это может говорить об отсутствии гетерогенности местной популяции колюшки по данному показателю.

Паразитарная инвазия колюшки из разных биотопов. Отмеченные в нашем исследовании единичные случаи паразитарной инвазии не позволяют выявить возможные различия

между рыбами из разных биотопов из-за ограниченности материала. Поскольку разделение особей по биотопам произошло недавно (сбор материала осуществлен в пределах недели после миграции колюшки на нерестилища с мест зимовки), можно предположить, что этот срок недостаточен для появления различий по степени зараженности паразитами. При этом такие различия обнаруживаются у колюшки, населяющей рассматриваемые местообитания более длительный срок. В частности, ранее нами была выявлена различная степень зараженности молоди колюшки из разных биотопов эндопаразитами *Brachyphallus* и *Bothriocephalus* spp.: высокая – в губе Сельдяная, низкая – в лагуне. В то же время зараженность метацеркариями *Cryptocotyle* spp. имела обратную зависимость, будучи максимальной у колюшки из лагуны. При этом отмечался накопительный эффект: в течение двух месяцев наблюдений увеличивалось как количество, так и разнообразие обнаруживаемых у колюшки паразитов [Rybkina et al., 2016]. Сходные паттерны отличий в отношении зараженности *Cryptocotyle* spp. наблюдались в прошлые годы и у взрослых особей на более поздних этапах нереста [Е. В. Рыбкина, неопубликованные данные].

В настоящем исследовании мы также не обнаружили отличий в активности кальпаинов зараженных и не зараженных висцеральными паразитами особей. По-видимому, это свидетельствует о том, что для формирования таких отличий прошло недостаточно времени, или о небольшом объеме выборки.

Активность кальпаинов в органах колюшки из разных биотопов. В целом уровень активности кальпаинов в органах колюшки – печени, жабрах, скелетных мышцах – сравнительно невысок и не имеет четких органных различий (табл. 2). Это согласуется с представлениями о кальпаинах как о «белках домашнего хозяйства»; они синтезируются всеми клетками организма в латентном (неактивном) состоянии и в избыточном количестве [Goll et al., 2003], при этом экспрессия их генов регулируется гормональными и метаболическими сигналами [Cottin et al., 1994]. Активность кальпаинов в разных органах зависит прежде всего не от уровня их синтеза и количества ферментного белка, а от локальных особенностей их регуляции, плотности активирующих сигналов. Так, например, относительный вклад кальпаинов в белковую деградацию в скелетных мышцах млекопитающих и рыб значительно выше, чем в других органах, что связано с высокой плотностью кальциевой сигнализации в мышцах [Goll et al., 2008; Seilliez et al., 2014]. К тому же

у рыб, при сходном с другими органами содержания кальпаинов в мышцах, их белок-деградирующая способность превышает таковую других протеолитических систем – протеасомной и лизосомально-аутофагической [Seilliez et al., 2014; Немова и др., 2016]. Уровень кальпаинзависимого протеолиза положительно скоррелирован с темпом обмена клеточных белков и наиболее высок в скелетных мышцах быстрорастущих особей – более молодых (особенно первого года жизни) [Немова и др., 2016; Lysenko et al., 2017] или (при сравнении одновозрастных групп) населяющих более благоприятные для роста биотопы [Lysenko et al., 2017; Nemova et al., 2017].

Обнаруженные нами различия по активности кальпаинов (табл. 2) могут объясняться как исходными генетическими отличиями рыб, подходящих на разные нерестилища, так и ответом изначально гомогенной группировки колюшки на разные условия среды. В пользу первого предположения говорит то, что для формирования различий по уровню протеолиза требуется значительное время и тех нескольких дней, которые прошли с момента начала нерестовой миграции, может быть недостаточно для их проявления. В пользу второго предположения свидетельствуют наши наблюдения за распределением колюшки в зимний период. Колюшка отсутствует в прибрежной зоне [Т. С. Иванова, М. В. Иванов, Д. Л. Лайус, неопубликованные данные] и, очевидно, зимует в скоплениях на значительном удалении от берегов, что препятствует структурированию популяции. Помимо этого, уровень активности кальпаинов у рыб оказался тем более сходен, чем было выше сходство условий в местах взятия проб, говоря о возможности прямого влияния разных условий на активность кальпаинов за столь короткие промежутки времени. На настоящий момент у нас нет оснований предпочитать то или иное объяснение. Этому может способствовать анализ данных по размерным и биохимическим показателям колюшки на последующих этапах нереста.

Обращает на себя внимание также отсутствие половых отличий, при том что роль самцов и самок колюшки во время нереста существенно различается. Самцы в нерестовый период, по-видимому, тратят больше энергии, чем самки, поскольку отвечают за охрану гнезда и вентиляцию икры.

Заключение

В данной работе мы исследовали механизмы адаптации к локальным условиям с помощью изучения биохимических реакций,

проявляющихся, в частности, в изменении активности протеиназ кальпаинов, на признанном модельном объекте эволюционной и популяционной биологии – трехиглой колюшке – виде с высочайшей экологической пластичностью. Нам удалось показать, что уже на начальных этапах нереста у колюшки наблюдается пространственная гетерогенность по активности кальпаинов, что может свидетельствовать как об исходной гетерогенности, так и о результате влияния разных условий. Конечно, это исследование – лишь один из первых шагов в данном направлении. Поэтому оно не позволяет делать выводы о конкретных факторах, вызывающих обнаруженную нами пространственную гетерогенность биохимических параметров. Такие выводы будут делаться в контексте результатов дальнейших исследований протеолиза на других этапах жизненного цикла колюшки, в частности, последующих этапах нереста, а также результатов исследования других биохимических параметров. Важнейшим условием интерпретации результатов будет также накопление информации о жизненном цикле и динамике численности трехиглой колюшки в Белом море.

Авторы выражают благодарность Т. С. Ивановой и М. В. Иванову за помощь в сборе материала.

Исследование выполнялось в рамках госзадания ИБ КарНЦ РАН по теме № 0221-2014-0033.

Литература

- Лайус Д. Л., Иванова Т. С., Шатских Е. В., Иванов М. В. «Волны жизни» беломорской колюшки // *Природа*. 2013. № 4(1172). С. 43–52.
- 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.
- Armsworth P. R., Roughgarden J. E. The impact of directed versus random movement on population dynamics and biodiversity patterns // *Am. Nat.* 2005. Vol. 165. P. 449–465. doi: 10.1086/428595
- Arnegard M. E., McGee M. D., Matthews B., Marchinko K. B., Conte G. L., Kabir S., Bedford N., Bergek S., Chan Y. F., Jones F. C., Kingsley D. M., Peichel C. L., Schluter D. Genetics of ecological divergence during speciation // *Nature*. 2014. Vol. 511. P. 307–311. doi: 10.1038/nature13301
- 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.
- Barber I. Sticklebacks as model hosts in ecological and evolutionary parasitology // *Trends Parasitol.* 2013. Vol. 29(11). P. 556–566. doi: 10.1016/j.pt.2013.09.004
- 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.
- Conover D. O., Duffy T. A., Hice L. A. The covariance between genetic and environmental influences across ecological gradients: Reassessing the evolutionary significance of countergradient and cogradient variation // *Ann. NY Acad. Sci.* 2009. Vol. 1168. P. 100–129. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.04575.x
- Cottin P., Brustis J. J., Poussard S., Elamrani N., Broncard S., Ducastaing A. Ca²⁺-dependent proteinases (calpains) and muscle cell differentiation // *Biochim. Biophys. Acta*. 1994. Vol. 1223. P. 170–178.
- Demchuk A. S., Ivanov M. V., Ivanova T. S., Polaykova N. V., Mas-Marti E., Lajus D. L. Feeding patterns in seagrass beds of three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus* juveniles at different growth stages // *JMBA*. 2015. Vol. 95(8). P. 1635–1643. doi: 10.1017/S0025315415000569
- 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. doi: 10.1139/y06-013
- Gibbons T. C., Metzger D., Healy T. M., Schulte P. M. Gene expression plasticity in response to salinity acclimation in threespine stickleback ecotypes from different salinity habitats // *Mol. Ecol.* 2017. Vol. 26(10). P. 2711–2725. doi: 10.1111/mec.14065
- Goll D. E., Netti G., Mares S. W., Thompson V. F. Myofibrillar protein turnover: The proteasome and the calpains // *J. Anim. Sci.* 2008. Vol. 86. P. 19–35. doi: 10.2527/jas.2007-0395
- Goll D. E., Thompson V. F., Li H., Wei W., Cong J. The calpain system // *Physiol. Rev.* 2003. Vol. 83(3). P. 731–801. doi: 10.1152/physrev.00029.2002
- Hendry A. P., Bolnick D. I., Berner D., Peichel C. L. Along the speciation continuum in stickleback // *J. Fish Biol.* 2009. Vol. 75. P. 2000–2036. doi: 10.1111/j.1095-8649.2009.02419.x
- Hendry A. P., Peichel C. L., Matthews B., Boughman J. W., Nosil P. Stickleback research: the now and the next // *Evol. Ecol. Res.* 2013. Vol. 15. P. 111–141.
- Ivanova T. S., Ivanov M. V., Golovin P. V., Polaykova N. V., Lajus D. L. The White Sea threespine stickleback population: spawning habitats, mortality, abundance // *Evol. Ecol. Res.* 2016. Vol. 17(3). P. 301–315.
- Jaenike J., Holt R. D. Genetic variation for habitat preference: evidence and explanations // *Am. Nat.* 1991. Vol. 137. P. 67–90.
- 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

Jones F. C., Grabherr M. G., Chan Y. F. et al. The genomic basis of adaptive evolution in threespine sticklebacks // *Nature*. 2012. Vol. 484. P. 55–61. doi: 10.1038/nature10944

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.* 2017. doi: 10.1016/j.cbpb.2017.05.001

Lysenko L. A., Sukhovskaya I. V., Borvinskaya E. V., Krupnova M. Y., Kantserova N. P., Bakhmet I. N., Nemova N. N. Detoxification and protein quality control markers in *Mytilus edulis* (Linnaeus) exposed to crude oil: Salinity-induced modulation // *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 2015. Vol. 167, part A. P. 220–227. doi: 10.1016/j.ecss.2015.10.006

Lysenko L., Kantserova N., Käiväräinen E., Krupnova M., Shklyarevich G., Nemova N. Biochemical markers of pollutant responses in macrozoobenthos from the White Sea: Intracellular proteolysis // *Marine Env. Res.* 2014. Vol. 96. P. 38–44. doi: 10.1016/j.marenres.2014.01.005

Nemova N. N., Kaivarainen E. I., Krupnova M. Y., 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 Records*. 2017. Vol. 53(2). P. 153–159. doi: 10.1017/S003224741600084X

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

Rybkina E. V., Demchuk A. S., Lajus D. L., Ivanova T. S., Ivanov M. V., Galaktionov K. V. Dynamics of parasite community during early ontogenesis of marine threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus* // *Evol. Ecol. Res.* 2016. Vol. 17. P. 335–354.

Scharsack J. P., Franke F., Erin N. I., Kuske A., Büscher J., Stolz H., Samonte I. E., Kurtz J., Kalbe M. Effects of environmental variation on host – parasite interaction in three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) // *Zoology*. 2016. Vol. 119(4). P. 375–383. doi: 10.1016/j.zool.2016.05.008

Scharsack J. P., Schweyen H., Schmidt A. M., Dittmar J., Reusch T. B. H., Kurtz J. Population genetic dynamics of three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) in anthropogenic altered habitats // *Ecol. Evol.* 2012. Vol. 2. P. 1122–1143. doi: 10.1002/ece3.232

Seiliez I., Dias K., Cleveland B. M. Contribution of the autophagy-lysosomal and ubiquitin-proteasomal proteolytic systems to total proteolysis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) myotubes // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2014. Vol. 307. P. 1330–1337. doi: 10.1152/ajpregu.00370.2014

Wolinska J., King K. C. Environment can alter selection in host – parasite interactions // *Trends Parasitol.* 2009. Vol. 25(5). P. 236–244. doi: 10.1016/j.pt.2009.02.004

Поступила в редакцию 29.08.2017

References

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(1172). P. 43–52.

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. J. Dev. Biol.]. 2016. Vol. 47, iss. 4. P. 161–172. doi: 10.7868/S0475145016040068

Nemova N. N., Lysenko L. A., Kantserova N. P. Proteinazy semeistva kal'painov. Struktura i funktsii [Proteases of the calpain family: structure and functions]. *Ontogenez* [Russ. J. Dev. Biol.]. 2010. Vol. 41, no. 5. P. 318–325. doi: 10.1134/S1062360410050073

Armsworth P. R., Roughgarden J. E. The impact of directed versus random movement on population dynamics and biodiversity patterns. *Am. Nat.* 2005. Vol. 165. P. 449–465. doi: 10.1086/428595

Arnegard M. E., McGee M. D., Matthews B., Marchinko K. B., Conte G. L., Kabir S., Bedford N., Bergek S., Chan Y. F., Jones F. C., Kingsley D. M., Peichel C. L., Schluter D. Genetics of ecological divergence during speciation. *Nature*. 2014. Vol. 511. P. 307–311. doi: 10.1038/nature13301

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.

Barber I. Sticklebacks as model hosts in ecological and evolutionary parasitology. *Trends Parasitol.* 2013. Vol. 29(11). P. 556–566. doi: 10.1016/j.pt.2013.09.004

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.

Conover D. O., Duffy T. A., Hice L. A. The covariance between genetic and environmental influences across ecological gradients: Reassessing the evolutionary significance of countergradient and cgradient variation. *Ann. NY Acad. Sci.* 2009. Vol. 1168. P. 100–129. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.04575.x

Cottin P., Brustis J. J., Poussard S., Elamrani N., Broncard S., Ducastaing A. Ca²⁺-dependent proteinases (calpains) and muscle cell differentiation. *Biochim. Biophys. Acta*. 1994. Vol. 1223. P. 170–178.

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

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. doi: 10.1139/y06-013

Gibbons T. C., Metzger D., Healy T. M., Schulte P. M. Gene expression plasticity in response to salinity acclimation in threespine stickleback ecotypes from different salinity habitats. *Mol. Ecol.* 2017. Vol. 26(10). P. 2711–2725. doi: 10.1111/mec.14065

Goll D. E., Neti G., Mares S. W., Thompson V. F. Myofibrillar protein turnover: The proteasome and the calpains. *J. Anim. Sci.* 2008. Vol. 86. P. 19–35. doi: 10.2527/jas.2007-0395

Goll D. E., Thompson V. F., Li H., Wei W., Cong J. The calpain system. *Physiol. Rev.* 2003. Vol. 83(3). P. 731–801. doi: 10.1152/physrev.00029.2002

Hendry A. P., Bolnick D. I., Berner D., Peichel C. L. Along the speciation continuum in stickleback. *J. Fish Biol.* 2009. Vol. 75. P. 2000–2036. doi: 10.1111/j.1095-8649.2009.02419.x

Hendry A. P., Peichel C. L., Matthews B., Boughman J. W., Nosil P. Stickleback research: the now and the next. *Evol. Ecol. Res.* 2013. Vol. 15. P. 111–141.

Ivanova T. S., Ivanov M. V., Golovin P. V., Polyakova N. V., Lajus D. L. The White Sea threespine stickleback population: spawning habitats, mortality, abundance. *Evol. Ecol. Res.* 2016. Vol. 17(3). P. 301–315.

Jaenike J., Holt R. D. Genetic variation for habitat preference: evidence and explanations. *Am. Nat.* 1991. Vol. 137. P. 67–90.

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

Jones F. C., Grabherr M. G., Chan Y. F. et al. The genomic basis of adaptive evolution in threespine sticklebacks. *Nature.* 2012. Vol. 484. P. 55–61. doi: 10.1038/nature10944

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.* 2017. doi: 10.1016/j.cbpb.2017.05.001

Lysenko L. A., Sukhovskaya I. V., Borvinskaya E. V., Krupnova M. Y., Kantserova N. P., Bakhmet I. N., Nemova N. N. Detoxification and protein quality control markers in *Mytilus edulis* (Linnaeus) exposed to crude oil: Salinity-induced modulation. *Estuarine, Coastal and*

Shelf Science. 2015. Vol. 167, part A. P. 220–227. doi: 10.1016/j.ecss.2015.10.006

Lysenko L., Kantserova N., Käiväräinen E., Krupnova M., Shklyarevich G., Nemova N. Biochemical markers of pollutant responses in macrozoobenthos from the White Sea: Intracellular proteolysis. *Marine Env. Res.* 2014. Vol. 96. P. 38–44. doi: 10.1016/j.marenvres.2014.01.005

Nemova N. N., Kaivarainen E. I., Krupnova M. Y., 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 Records.* 2017. Vol. 53(2). P. 153–159. doi: 10.1017/S003224741600084X

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

Rybkina E. V., Demchuk A. S., Lajus D. L., Ivanova T. S., Ivanov M. V., Galaktionov K. V. Dynamics of parasite community during early ontogenesis of marine threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Evol. Ecol. Res.* 2016. Vol. 17. P. 335–354.

Scharsack J. P., Franke F., Erin N. I., Kuske A., Büscher J., Stolz H., Samonte I. E., Kurtz J., Kalbe M. Effects of environmental variation on host – parasite interaction in three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*). *Zoology.* 2016. Vol. 119(4). P. 375–383. doi: 10.1016/j.zool.2016.05.008

Scharsack J. P., Schweyen H., Schmidt A. M., Dittmar J., Reusch T. B. H., Kurtz J. Population genetic dynamics of three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) in anthropogenic altered habitats. *Ecol. Evol.* 2012. Vol. 2. P. 1122–1143. doi: 10.1002/ece3.232

Seilliez I., Dias K., Cleveland B. M. Contribution of the autophagy-lysosomal and ubiquitin-proteasomal proteolytic systems to total proteolysis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) myotubes. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2014. Vol. 307. P. 1330–1337. doi: 10.1152/ajpregu.00370.2014

Wolinska J., King K. C. Environment can alter selection in host – parasite interactions. *Trends Parasitol.* 2009. Vol. 25(5). P. 236–244. doi: 10.1016/j.pt.2009.02.004

Received August 29, 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

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

Канцерова Надежда Павловна

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: nkantserova@yandex.ru
тел.: (8142) 571879

Тушина Екатерина Дмитриевна

бакалавр
Петрозаводский государственный университет,
Институт биологии, экологии и агротехнологий
пр. Ленина, 33, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: katya.tushina@gmail.com
тел.: (8921) 5239168

Полякова Наталия Владимировна

старший лаборант
кафедра ихтиологии и гидробиологии
Санкт-Петербургский государственный университет
Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург, Россия, 199034
эл. почта: nvpnataly@yandex.ru
тел.: (812) 3213279

Лайус Дмитрий Львович

доцент, к. б. н.
кафедра ихтиологии и гидробиологии
Санкт-Петербургский государственный университет
Университетская наб., 7/9, С.-Петербург, Россия 199034
эл. почта: dlajus@gmail.com
тел.: (812) 3213279

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

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

Tushina, Ekaterina

Petrozavodsk State University
33 Lenin St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: katya.tushina@gmail.com
tel.: (8921) 5239168

Poliakova, Nataliya

St. Petersburg State University
7/9 Universitetskaya Nab., 199034 St. Petersburg, Russia
e-mail: nvpnataly@yandex.ru
tel.: (812) 3213279

Lajus, Dmitry

St. Petersburg State University
7/9 Universitetskaya nab., 199034 St. Petersburg, Russia
e-mail: dlajus@gmail.com
tel.: (812) 3213279

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