



УДК УДК 577.152.3:591.524.1:597.541(268.46)

КИСЛЫЕ ГИДРОЛАЗЫ ЛИЗОСОМ В ПРИСПОСОБИТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЯХ СЕЛЬДИ *CLUPEA PALLASI MARISALBI* BERG (*CLUPEIDAE*) ИЗ РАЗНЫХ ЗАЛИВОВ БЕЛОГО МОРЯ

ВЫСОЦКАЯ
Римма Ульяновна

ФИЦ Карельский научный центр РАН,
rimma@bio.krc.karelia.ru

БУЭЙ
Елизавета Андреевна

ФИЦ Карельский научный центр РАН,
elizaveta.vdovichenko@gmail.com

МУРЗИНА
Светлана Александровна

ФИЦ Карельский научный центр РАН,
murzina.svetlana@gmail.com

НЕМОВА
Нина Николаевна

ФИЦ Карельский научный центр РАН,
nemova@krc.karelia.ru

Ключевые слова:

сельдь
Clupea pallasii marisalbi Berg
лизосомальные ферменты
заливы Белого моря
биохимическая адаптация

Аннотация: Проведено сравнительное изучение активности лизосомальных ферментов (кислой фосфатазы, РНКазы, ДНКазы, β -глюкозидазы, β -галактозидазы, β -глюкуронидазы) в органах сельди *Clupea pallasii marisalbi* Berg из Канда拉克шского, Онежского и Двинского заливов Белого моря, отличающихся по гидрологическим характеристикам и степени антропогенной нагрузки. Показано, что у исследованных рыб в печени, жабрах и мышцах активность большинства кислых гидролаз была значительно выше у особей, обитающих в Онежском и Двинском заливах. Это может свидетельствовать об участии лизосом органов сельди в адаптивных перестройках метаболизма к воздействию комплекса экологических факторов, сложившихся в данных биотопах. В Онежском заливе такими факторами являются пониженная температура и хозяйственно-промышленные стоки, в Двинском – распреснение, дефицит кислорода и высокая степень загрязнения воды. Основными органами-мишенями влияния вышеуказанных факторов среды на рыб являются жабры, участвующие в процессах дыхания и осморегуляции, а также печень, в которой осуществляются биосинтезы необходимых организму макромолекул и биотрансформация эндогенных метаболитов и ксенобиотиков. Показано, что среди изученных лизосомальных гидролаз сельди наибольший вклад в компенсацию возможного воздействия факторов среды обитания и поддержание гомеостаза рыб вносят кислая фосфатаза, РНКазы и β -глюкуронидаза. В гонадах сельди в отличие от других исследованных органов самая высокая активность лизосомальных ферментов выявлена у рыб из Канда拉克шского залива, что можно в определенной степени объяснить более высокой стадией зрелости у этой группировки рыб по сравнению с представителями других локаль-

ных стад. Незначительные отличия активности ДНКазы у сельдей *C. pallasii marisalbi* Berg из разных заливов свидетельствуют, скорее всего, о слабой вовлеченности генома в адаптивные реакции исследуемых рыб.

© Петрозаводский государственный университет

Рецензент: О. Н. Лукьянова

Получена: 30 мая 2018 года

Подписана к печати: 24 декабря 2018 года

Введение

Обитающая в Белом море малоизвестная сельдь *Clupea pallasii marisalbi* Berg привлекает внимание как исследователей, так и практиков рыболовства, поскольку обладает рядом биологических особенностей и является одним из основных объектов промысла. Представители данного вида распространены по всей акватории Белого моря и в разных районах образуют локальные группировки, различающиеся размерно-весовой структурой, темпом роста, местами и сроком нереста и нагула, плодовитостью, путями миграции и другими характеристиками (Похилук, 1992; Семенова и др., 2013). Различают мелкую, размером от 12 до 20 см, подходящую к побережью на нерест близко к Юрьеву дню (6 мая) и поэтому названную «егорьевской», и крупную, размером от 20 до 34 см, нерест которой происходит около Иванова дня (7 июля), получившую название «ивановской» (Ивантер, Рыжков, 2004). Ивановская сельдь обычно менее многочисленна, это быстрорастущая форма, в одном и том же возрасте она в 4–5 раз превосходит по весу медленно растущую «егорьевскую» сельдь (Лайус и др., 2017). В каждом из больших заливов Белого моря существуют стада мелкой сельди (кандалакшское, онежское, двинское), нерест которых приурочен к данному району. Половой зрелости «ивановская» сельдь достигает в возрасте 3–4 лет, а «егорьевская» в 2 года (Ивантер, Рыжков, 2004). На разных стадиях жизненного цикла «беломорка» проявляет определенную избирательность к тем или иным районам моря. Сезонные миграции сельди связаны с распределением кормовых объектов, температурой, ледовой обстановкой, течениями и другими экологическими факторами, которые в разных районах Белого моря отличаются значительным разнообразием (Стасенкова, 2005; Бергер, 2007). Адаптация тихоокеанских предков *C. pallasii*, пришедших в Северную Европу несколько тысячелетий назад, к условиям обитания в разных участках Белого моря привела к формированию современного комплекса группировок, различающихся по

морфологическим, физиологическим и поведенческим признакам (Лайус, 1995; Лайус и др., 2017).

Для прояснения многих вопросов, связанных с популяционной структурой, репродуктивными взаимоотношениями с группировками своего вида и обитающей рядом атлантической сельдью *C. harengus*, а также адаптационными возможностями беломорской сельди в последнее время стали использовать данные генетических и физиолого-биохимических исследований (Семенова и др., 2013; Пеккоева и др., 2014; Немова и др., 2015; Laakkonen et al., 2015). В перестройках метаболизма и защитных реакциях организма важная роль принадлежит особым субклеточным органеллам – лизосомам, в которых сосредоточено несколько десятков гидролитических ферментов, способных в кислых условиях осуществлять деградацию практически всех компонентов, составляющих живую материю (Покровский, Тутельян, 1976; Высоцкая, Немова, 2008). Кроме участия в основной функции – внутриклеточном пищеварении и в некоторых других физиологических функциях и процессах, лизосомы играют важную роль в защитных реакциях организма при воздействии на него разнообразных факторов среды (Немова, Высоцкая, 2004; Вдовиченко, Высоцкая, 2014; Немова и др., 2016).

Целью настоящей работы являлось сравнительное исследование активности основных групп лизосомальных ферментов в органах беломорской сельди из крупных заливов Белого моря, отличающихся по гидрологическим условиям и степени антропогенной нагрузки.

Материалы

В качестве объекта исследования была использована мелкая («егорьевская») сельдь *Clupea pallasii marisalbi* Berg, отловленная осенью в местах обитания локальных нерестовых стад в Кандалакшском, Онежском и Двинском заливах Белого моря. Некоторые характеристики мест отбора проб приведены в табл. 1.

Таблица 1. Гидрологическая характеристика мест сбора проб беломорской сельди *Clupea pallasii marisalbi* Berg

Table 1. Hydrological characteristics of the sampling places of the White Sea herring *Clupea pallasii marisalbi* Berg

Залив	Температура воды, °C	Соленость, ‰	Растворенное ОВ*, мг С/л	Взвешенное ОВ*, мг С/л	Глубина вылова, м
Кандалакшский	6.66	25.19	7.08–11.3	0.01–0.17	21
Онежский	5.57	27.33	6.01–9.22	0.06–0.52	28
Двинский	8.50	18.84	4.30–22.7	0.03–1.18	13

Примечание. ОВ – органическое вещество, мг углерода /л (Agatova et al., 2003; цит. по: Бергер, 2007).

Кандалакшский залив – самый северный и глубоководный залив Белого моря. В районе мыса Турий глубина достигает 343 м, по мере продвижения к кутовой части залива глубина уменьшается. «Егорьевская» сельдь распространена вдоль Терского берега, от южной части Горла до Кандалакши, и Карельского берега от Кандалакши до губы Чупа. Нерест кандалакшской сельди происходит в конце апреля – начале мая еще под льдом при температуре воды от –0.2 до +0.3 °C. Икру беломорская сельдь откладывает в прибрежной зоне на глубине до 5 м преимущественно на заросли морской травы zostеры. В настоящем исследовании использованы кандалакшские трехгодовики *C. pallasii* средним размером 14.51 ± 0.28 см, массой тела 29.64 ± 2.16 г.

Онежский залив относительно мелководный, максимальные глубины достигают 60 м (Бергер, 2007). Сельдь Онежского залива обитает вдоль Поморского берега, у Соловецких островов и в районе устья реки Онеги. Нерест в этом заливе происходит в мае – июне после таяния льда при температуре 4–5 °C. Для исследований брали двухгодовиков с длиной тела 12.82 ± 0.23 см и массой 23.3 ± 0.42 г.

В Двинском заливе наибольшая глубина, более 100 м, отмечена в его северной части. Сельдь этого залива самая мелкая из представителей данного вида. Большие скопления сельди наблюдаются в предустьевых участках реки Северная Двина и мелких рек Летнего берега. Половой зрелости она может достигать в возрасте 1 года, массовое созревание наступает в двухлетнем возрасте. Нерест двинской сельди происходит в мае – июне при еще более высокой температуре (7–9 °C), чем в других заливах. При проведении данной работы использовали двухгодовиков, имевших размер 12.71 ± 0.28 см и массу тела 21.78 ± 1.03 г.

Методы

Проведение аналитических работ осуществляли с использованием приборов ЦКП Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук». Для биохимического анализа использовали печень, жабры, мышцы и гонады рыб. Навески тканей гомогенизировали в 0.25 М растворе сахарозы, содержащем 0.001 М ЭДТА и 0.1 % неионного детергента тритона X-100, разрушающего внутриклеточные мембраны и высвобождающего содержащиеся в лизосомах ферменты. Гомогенаты осветляли центрифугированием при 10000 g на центрифуге с охлаждением Allegra 64R (Beckman Coulter, США). В надосадочной жидкости определяли активность 6 ферментов (кислой фосфатазы, ДНКазы, РНКазы, β-глюкозидазы, β-галактозидазы, β-глюкуронидазы) и содержание белка.

Активность кислой фосфатазы (КФ 3.1.3.2) определяли по методу Баррета и Хита (1980), используя в качестве субстрата β-глицерофосфат натрия на ацетатном буфере, pH 4.8. Активность фермента выражали в микрограммах неорганического фосфора (P_{in}), образующегося в результате реакции, количество которого рассчитывали после реакции с хромогенным реактивом (Kahovcova, Odavic, 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 0.1 % растворы дезоксирибонуклеиновой кислоты (pH 5) и рибонуклеиновой кислоты (pH 5.2) в ацетатном буфере. Количество низкомолекулярных фрагментов нуклеиновых кислот, образующихся при их гидролизе нуклеазами, определяли спектрофотометрически при

260 нм. Активность ферментов выражали в условных единицах ΔD_{260} .

Определение активности β -глюкозидазы (КФ 3.2.1.21) основано на фотометрическом определении освободившегося в результате реакции *пара*-нитрофенола (Покровский и др., 1971). Субстратом служил раствор *пара*-нитрофенил- β ,D-глюкопиранозид в цитратно-фосфатном буфере (рН 5). Для полноты оценки активности этого мембраносвязанного фермента в реакционную смесь вносили тритон X-100.

Активность β -галактозидазы (КФ 3.2.1.23) и β -глюкуронидазы (КФ 3.2.1.31) определяли методами, предложенными Барретом и Хитом (1980). В качестве субстратов использовали *пара*-нитрофенил- β ,D-галактопиранозид (рН 4) и *пара*-нитрофенил- β ,D-глюкуронид (рН 5) в цитратном буфере соответственно. Активность гликозидаз выражали в микромолях *пара*-нитрофенола, образующегося в ходе реакции. Расчет проводили на мг белка, содержание которого в пробах определяли по методу Лоури.

Полученные результаты обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики, оценивая достоверность отличий по критерию U Вилкоксона – Манна – Уитни (Гублер, Генкин, 1969). Различия считали достоверными при $p \leq 0.05$.

Результаты

Исследования показали, что активность изученных ферментов в органах сельдей из разных заливов Белого моря значительно различалась (табл. 2). В печени, жабрах и скелетных мышцах рыб из Онежского и Двинского заливов она в несколько раз превышала соответствующие показатели в органах особей из Кандалакшского залива. Наиболее значимые отличия обнаружены в активности РНКазы, кислой фосфатазы и β -глюкуронидазы. Так, активность РНКазы в жабрах двинской сельди была более чем в 4 раза, а у онежской – в 7 раз выше, чем у представителей кандалакшской группировки. У двинских сельдей повышенной была и активность β -глюкозидазы по сравнению с кандалакшскими особями. При сравнении между собой двинских и онежских рыб следует отметить, что у последних достоверно более высокими были показатели активности кислой фосфатазы и РНКазы в печени, жабрах и мышцах. У сельдей из Двинского залива в печени и жабрах сравнительно высокой была активность гликозидаз.

Активность кислой ДНКазы у рыб из раз-

ных заливов во всех органах практически не отличалась, за исключением таковой в жабрах сельдей из Онежского залива.

В гонадах беломорских сельдей в отличие от других органов выявлена несколько иная картина распределения активности лизосомальных гидролаз у рыб из разных мест обитания. Более высокий уровень активности всех гликозидаз, кислой фосфатазы и РНКазы отмечен у кандалакшских сельдей по сравнению с рыбами из Онежского и Двинского заливов.

Обсуждение

В Белом море с его резко контрастными гидрологическими и климатическими условиями соседствуют и в горизонтальном направлении, и по вертикали полярные и бореальные зоны и фаунистические комплексы (Похлюк, 1992). В этих условиях бореальный вид сельди должен обладать мощным адаптивным потенциалом, который позволил бы приспособиться к условиям, складывающимся в разных заливах этого приарктического региона. Выявленный в наших исследованиях высокий уровень активности кислой фосфатазы (фермента маркера лизосом), в печени и жабрах сельдей из Онежского и Двинского заливов свидетельствует об активном участии лизосом этих органов в адаптивных перестройках метаболизма рыб в данных акваториях. Температура воды в Онежском заливе на момент взятия проб была на несколько градусов ниже, чем в других заливах. Но даже этой небольшой разницы вполне достаточно, чтобы на нее отреагировали исследуемые ферментные системы рыб, поскольку известно, что сельдь чувствует разницу температуры в 0.2 °C (Яржомбек, 2016). Кислая фосфатаза – фосфомоноэстераза, осуществляющая реакции дефосфорилирования и трансфосфорилирования, имеет отношение к энергетическому и минеральному обмену, регулирует многие стороны внутриклеточного метаболизма, участвует в обмене углеводов, нуклеотидов, фосфолипидов (Покровский, Тутельян, 1976; Bull et al., 2002). В согласии с этим выводом находятся полученные ранее данные о температурных адаптациях онежской и кандалакшской сельди за счет вариации уровня холестерина, мембранных фосфолипидов и их жирнокислотных спектров (Немова и др., 2015).

Важным абиотическим фактором среды, во многом определяющим нормальную жизнедеятельность морских организмов, яв-

Таблица 2. Активность лизосомальных ферментов в органах сельди *Clupea pallasii marisalbi* Berg из разных заливов Белого моря ($M \pm m$, $n = 5-7$)

Table 2. Activity of lysosomal enzymes in the organs of herring *Clupea pallasii marisalbi* Berg from different bays of the White Sea ($M \pm m$, $n = 5-7$)

Залив	Печень	Жабры	Мышцы	Гонады, ♂ ♂
Активность кислой фосфатазы, мкг P _{in}				
Кандалакшский	2.85±0.008* [◊]	2.52±0.04* [◊]	5.09±0.009* [◊]	3.58±0.003 [◊]
Онежский	6.9±0.79	8.34±0.028	9.37±0.033	2.87±0.43
Двинский	3.64±0.12*	3.22±0.13*	6.80±0.009*	2.64±0.11
Активность РНКазы, Δ D ₂₆₀				
Кандалакшский	0.554±0.01* [◊]	0.144±0.002* [◊]	0.141±0.001* [◊]	0.324±0.005*
Онежский	1.68±0.14	0.997±0.009	0.627±0.003	0.270±0.003
Двинский	1.05±0.06*	0.617±0.025*	0.399±0.019*	0.399±0.110
Активность ДНКазы, Δ D ₂₆₀				
Кандалакшский	0.477±0.005	0.656±0.002*	0.468±0.002	0.368±0.00
Онежский	0.587±0.061	0.820±0.09	0.513±0.093	0.400±0.060
Двинский	0.580±0.064	0.681±0.08	0.517±0.046	0.331±0.022
Активность β-глюкозидазы, мкМ п-нитрофенола				
Кандалакшский	0.043±0.001*	0.081±0.002 [◊]	0.018±0.001* [◊]	0.021±0.001* [◊]
Онежский	0.061±0.002	0.085±0.002	0.027±0.002	0.018±0.001
Двинский	0.123±0.004*	0.099±0.004*	0.027±0.002	0.015±0.001*
Активность β-галактозидазы, мкМ п-нитрофенола				
Кандалакшский	0.112±0.002* [◊]	0.081±0.005 [◊]	0.026±0.001* [◊]	0.071±0.003* [◊]
Онежский	0.068±0.003	0.082±0.001	0.041±0.001	0.039±0.002
Двинский	0.067±0.002	0.105±0.005*	0.040±0.001	0.039±0.002
Активность β-глюкуронидазы, мкМ п-нитрофенола				
Кандалакшский	0.264±0.002* [◊]	0.095±0.002*	0.019±0.001* [◊]	0.096±0.001* [◊]
Онежский	0.436±0.003	0.113±0.003	0.048±0.002	0.066±0.001
Двинский	0.481±0.001	0.101±0.007	0.050±0.002	0.062±0,00

Примечание. * – различия достоверны по сравнению с рыбами из Онежского залива, [◊] – различия достоверны по сравнению с рыбами из Двинского залива, при $p \leq 0.05$.

ляется солёность. Беломорские воды сильно опреснены из-за наличия значительного количества впадающих в море рек и ручьёв. На большей части акватории моря среднегодовая солёность составляет 25.5 ‰. В кутовых частях этот показатель снижен до 13–17 ‰ и увеличивается до 32 ‰ по направлению к Баренцеву морю (Бергер, 2007). Наибольшее опреснение испытывают Онежский и

Двинский заливы, в которые приносят пресные воды крупные реки Онега и Северная Двина. В наших исследованиях самой низкой была солёность в Двинском заливе (см. табл. 1). В жабрах, печени и мышцах рыб из этого залива отмечен более высокий уровень кислой фосфатазы и РНКазы по сравнению с соответствующими показателями у рыб из Кандалакшского залива. Высокая ак-

тивность РНКазы может свидетельствовать об интенсификации биосинтетических процессов как в печени, так и в жабрах – органе, который наряду с обеспечением организма кислородом выполняет функции кислотно-щелочного регулирования, выделения, осморегуляции и др. (Evans et al., 2005). Синтез разнообразных компонентов в органах исследованных рыб можно рассматривать как компенсаторную реакцию в ответ на распреснение, к которому морские организмы проявляют большую чувствительность, чем к повышенной солености.

Следует указать, что воды Белого моря хорошо аэрированы и в целом характеризуются высоким содержанием кислорода (Бергер, 2007). Однако в связи с присущей ему высокой турбулентностью Онежский залив отличается более высоким содержанием кислорода в воде по сравнению с водами Двинского залива. Известно, что в условиях нехватки кислорода происходит переключение метаболизма на альтернативные пути обеспечения энергией, в том числе с подключением лизосомальных гликозидаз, поставляющих «материалы» для энергообеспечения и биосинтеза компонентов, регулирующих обмен веществ (Высоцкая, Немова, 2008). Лизосомальные ферменты, участвующие в обмене углеводов, обладают широкой субстратной специфичностью и кроме гидролитического расщепления веществ осуществляют реакции трансгликозилирования, участвуя тем самым в процессах биосинтеза углеводсодержащих регуляторных компонентов, таких, например, как содержащие галактозу гликолипиды и протеогликаны (Winchester, 2005; Наумов, 2011). Это позволяет рассматривать комплекс лизосомальных гликозидаз как универсальный инструмент биохимической адаптации.

Более низкий уровень кислорода в Двинском заливе может быть связан также со значительным его загрязнением, вызванным стоками Северной Двины. Дельта реки является наиболее загрязненным участком, в котором аккумулируются загрязняющие вещества со всего водосборного бассейна (Собко, 2005). По данным многолетних гидрохимических наблюдений воды приустьевой части залива обогащены органическими и биогенными веществами, что подтверждают данные, приведенные в табл. 1. В Двинском заливе обнаруживается максимальное количество как растворенного, так и взвешенного органического вещества. Наибольший дефицит кислорода наблюдается

в участках, подверженных влиянию сточных вод целлюлозно-бумажных комбинатов. Кроме того, в заливе зарегистрировано 2–3-кратное превышение ПДК нефтепродуктов, повышенные концентрации ртути, меди, цинка, метана, выявлены лигносульфонаты и другие экологически опасные вещества. В целом экологическая обстановка в Белом море расценивается как достаточно благополучная. Однако во всех заливах обнаруживаются нефтеуглеводороды, тяжелые металлы, есть локальное загрязнение фенолами и поверхностно-активными веществами. Из всех мест отбора проб Двинский залив характеризуется как максимально загрязненный, минимальное загрязнение выявлено в Кандалакшском заливе, промежуточное положение занимают воды Онежского залива. В Онежский залив со стоками реки Онеги поступают повышенные концентрации нефтепродуктов, соединения меди и никеля, азота, отходы гидролизного завода, взвешенные вещества и другие загрязнители (Белое море..., 2007). Полученные нами данные об активности лизосомальных ферментов в органах сельди соответствуют такой оценке экологической ситуации в разных заливах Белого моря. В частности, у рыб из Двинского и Онежского заливов отмечен значительно более высокий уровень β -глюкуронидазы – фермента, участвующего в обезвреживании и биотрансформации эндогенных метаболитов и ксенобиотиков (Chilke, 2010; Noorbach et al., 2010; Naz et al., 2013). Основной функцией β -глюкуронидазы является защитная. Фермент осуществляет гидролитическое расщепление β ,D-глюкуронидов (полисахаридов, протеогликанов, гликолипидов) с образованием глюкуроновой кислоты, которая посредством глюкуронидной конъюгации приводит к инактивации или повышению растворимости таких веществ, как фенолы, стероиды, ароматические углеводороды, билирубин, металлы и др. В виде конъюгатов эти вещества экскретируются из клетки, а затем из организма. Повышенный уровень активности β -глюкуронидазы в печени и других органах сельдей из Двинского и Онежского заливов является свидетельством ответной реакции организма рыб на комплексное загрязнение этих акваторий Белого моря.

Активность фермента, участвующего в метаболизме ДНК, была несколько повышена в органах рыб из Двинского и Онежского заливов, но достоверные различия обнаружены только в жабрах онежских сельдей по срав-

нению с кандалакшскими. Судя по активности ДНКазы, в приспособительных реакциях слабо используются долговременные виды адаптации, требующие глубоких преобразований с вовлечением генома. Между тем беломорские сельди обладают мощным адаптивным потенциалом, который сформировался в процессе распространения их тихоокеанских предков северным морским путем до морей Северной Европы и приспособления к жизни в суровых условиях Белого моря. Кроме того, несмотря на существование высокой степени репродуктивной изоляции (Похилук, 1992), молекулярно-генетические исследования последних лет позволяют высказать предположение о возможности ограниченных контактов между холодолюбивой беломорской сельдью *C. pallasii* и живущей в тесном географическом контакте с ней теплолюбивой атлантической сельдью *C. harengus* (Стрелков и др., 2016). В результате интрогрессивной гибридизации между двумя видами сельдей «атлантические» гены обнаруживаются у «ивановских» (в большем количестве) и «егорьевских» сельдей Белого моря (Лайус и др., 2017). Поскольку соотношение между «атлантическими» и «тихоокеанскими» генами сельди чувствительно к климатическим изменениям, то, как предполагают авторы, при потеплении будут включаться в адаптивные реакции «теплолюбивые» гены, полученные от атлантической сельди.

Отличающийся от других органов характер распределения активности лизосомальных ферментов в гонадах сельдей из разных заливов в значительной степени объясняется разной стадией их зрелости. Как правило, сельди *C. pallasii* к осени, перед формированием локальных нерестовых стад имеют половые железы II–III и III стадии зрелости (Трофимов, 2006). В Белом море перед зимовкой двухгодовики преобладают в Двинском заливе, в Онежском заливе оседают тугорослые особи того же возраста, а быстрорастущие и упитанные достигают Кандалакшского залива. И только у некоторых из кандалакшских рыб гонады могут быть преднерестовой IV стадии зрелости (Похилук, 1992). По мере созревания половых продуктов в гонадах самцов происходит синтез большого ко-

личества лизосомальных гидролаз, которые затем участвуют в процессе оплодотворения и дальнейшем развитии эмбриона (Высоцкая, Немова, 2008). Более раннее созревание гонад у кандалакшской сельди является, по-видимому, приспособительной реакцией, т. к. нерест у рыб этой группировки происходит весной, раньше, чем у других, еще при минусовой температуре воды.

Заключение

Результаты сравнительных исследований активности основных лизосомальных гидролаз в органах сельди из различных заливов Белого моря свидетельствуют о значительно более высоком уровне активности большинства исследуемых ферментов в органах рыб, обитающих в Двинском и Онежском заливах, по сравнению с аналогичными показателями у кандалакшских сельдей. Это указывает на активное участие лизосом и связанных с ними ферментов в адаптивных перестройках метаболизма рыб в ответ на действие комплекса природных и антропогенных факторов среды в разных акваториях Белого моря. В Онежском заливе ведущими факторами являются пониженная температура и хозяйственно-промышленные стоки, в Двинском – распреснение, дефицит кислорода и высокая степень загрязнения воды. Органами-мишенями в этих условиях являются жабры, участвующие в процессах дыхания и осморегуляции, а также печень – орган, осуществляющий биосинтез различных веществ и биотрансформацию эндогенных метаболитов и ксенобиотиков. Можно полагать, что кислая фосфатаза, РНКазы и β -глюкуронидаза вносят наиболее значительный вклад в поддержание гомеостаза и обеспечение нормального функционирования основных систем организма рыб. Учитывая сравнительно близкие значения активности ДНКазы в органах сельдей из разных заливов, можно считать вероятным, что компенсаторные перестройки метаболизма в соответствии с конкретными экологическими условиями обитания в разных заливах Белого моря осуществляются с использованием быстрых и среднесрочных механизмов адаптации, без глубоких преобразований, затрагивающих геном.

Библиография

- Баррет А. Дж., Хит М. Ф. Лизосомальные ферменты // Лизосомы. Методы исследования. М.: Мир, 1980. С. 25–56.
- Белое море и его водосбор под влиянием климатических и антропогенных факторов / Ред. Н. Н. Филатов и А. Ю. Терзевик. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2007. 335 с.

- Бергер В. Я. Продукционный потенциал Белого моря. Исследования фауны морей . Т. 60 (68). СПб.: ЗИН РАН, 2007. 292 с.
- Вдовиченко Е. А., Высоцкая Р. У. Влияние техногенных вод Костомукшского горно-обогатительного комбината на активность лизосомальных ферментов плотвы // Труды КарНЦ РАН. 2014. № 5. С. 167–173.
- Высоцкая Р. У., Немова Н. Н. Лизосомы и лизосомальные ферменты рыб . М.: Наука, 2008. 284 с.
- 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.
- Ивантер Д. Э., Рыжков Л. П. Рыбы . Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2004. 176 с.
- Лайус Д. Л. О популяционной структуре беломорской сельди // Проблемы изучения, рационального использования и охраны природных ресурсов Белого моря: Материалы докл. Л., 1995. С. 25–27.
- Лайус Д. Л., Лаакконен Х., Стрелков П. П., Киреева М. А., Вайнола Р. Интрогрессивная гибридизация между тихоокеанской сельдью и атлантической сельдью и ее значение для понимания популяционной структуры беломорской сельди // Изучение, рациональное использование и охрана природных ресурсов Белого моря: Материалы XIII Всероссийской конф. с междунар. участием. СПб.: ЗИН РАН, 2017. С. 119–122.
- 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.
- Наумов Д. Г. Иерархическая классификация гликозил-гидролаз // Биохимия. 2011. Т. 76. Вып. 6. С. 764–780.
- Немова Н. Н., Высоцкая Р. У. Биохимическая индикация состояния рыб . М.: Наука, 2004. 215 с.
- Немова Н. Н., Крупнова М. Ю., Мурзина С. А. Активность лизосомальных протеиназ (катепсинов В и D) в органах сельди *Clupea pallasii marisalbi* Berg (*Clupeidae*) из разных заливов Белого моря // Труды КарНЦ РАН. 2016. № 6. С. 74–80.
- Немова Н. Н., Мурзина С. А., Нефёдова З. А., Пеккоева С. Н., Рипатти П. О. Липидный статус молоди и взрослых особей беломорской сельди *Clupea pallasii marisalbi* Berg (*Clupeiformes*, *Clupeidae*) // Доклады академии наук. 2015. Т. 460. № 4. С. 475–479.
- Пеккоева С. Н., Мурзина С. А., Нефёдова З. А., Руоколайнен Т. Р., Рипатти П. О., Немова Н. Н. Липидный статус беломорской сельди *Clupea pallasii marisalbi* Berg Двинского залива Белого моря в осенний сезон // Труды КарНЦ РАН. 2014. № 5. С. 86–94.
- 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.
- Покровский А. А., Кравченко Л. В., Тутельян В. А. Исследование активности ферментов лизосом при действии афлатоксина и митомицина С // Биохимия. 1971. Т. 36. Вып. 4. С. 690–696.
- Похилюк В. В. Экология и промысел беломорской сельди : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.: ВНИРО, 1992. 22 с.
- Семенова А. В., Андреева А. П., Карпов А. К., Строганов А. Н., Рубцова Г. А., Афанасьев К. И. Анализ изменчивости микросателлитных локусов у сельдей (*Clupea pallasii marisalbi*) Белого моря // Генетика. 2013. Т. 49. № 6. С. 751–766.
- Собко Е. И. Эколого-токсикологическая оценка состояния природных вод устьевой области реки Северной Двины // Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского Севера: Сборник материалов IV (XXVII) междунар. конф. Ч. 2. Вологда: ВГПУ, 2005. С. 148–150.
- Стасенкова Н. И. О заходах беломорской сельди (*Clupea pallasii marisalbi* Berg, 1923) в Юго-восточные районы Баренцева моря по материалам 2002–2003 гг. // Проблемы изучения, рационального использования и охраны ресурсов Белого моря: Материалы IX междунар. конф. Петрозаводск: Издательский дом ПИН, 2005. С. 297–300.
- Стрелков П. П., Лайус Д. Л., Вайнола Р. О. В погоне за гибридной сельдью // Природа. 2016. № 10. С. 51–59.
- Трофимов И. К. О плодовитости тихоокеанской сельди *Clupea pallasii* озер Нерпичье, Калыгирь и Вилуй (Восточная Камчатка) // Известия ТИНРО. 2006. Т. 146. С. 158–174.
- Яржомбек А. А. Образ жизни и поведение промысловых рыб . М.: Изд-во ВНИРО, 2016. 200 с.
- Bull H., Murray P. G., Thomas D., Fraser A. M., and Nelson P. N. Acid phosphatases // Mol. Pathology. 2002. Vol. 55. No 2. P. 65–72. DOI: 10.1136/mp.55.2.65.PMC1187150.PMID11950951.
- Chilke A. M. Kinetic study of hepatic β -glucuronidase in the Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton) // Fish. Physiol. Biochem. 2010. Vol. 36. No 4. P. 1145–1149.
- Evans D. H., Piermarini P. M., Choe K. P. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste // Physiol. Rev. 2005.

Vol. 85. P. 97–177.

Kahovcova J., Odavic R. A simple method of the quantitative analysis of phospholipids separated by thin layer chromatography // J. Chromatogr. 1969. Vol. 40. P. 90–96.

Laakkonen H. M., Strelkov P., Lajus D. L., Väinölä R. Introgressive hybridization between the Atlantic and Pacific herrings (*Clupea harengus* and *C. pallasii*) in the north of Europe // Marine Biology. 2015. Vol. 162. P. 39–54.

Naz H., Islam A., Waheed A., Sly W. S., Ahmad F., Hassan M. I. Human β -glucuronidase: structure, function, and application in enzyme replacement therapy // Rejuvenation Res. 2013. Vol. 16. No 5. P. 352–363.

Noorbacha I. A., Khan A. M., Salleh H. M. Molecular dynamics studies of human β -glucuronidase // Am. J. Appl. Sci. 2010. Vol. 7. P. 823–828.

Winchester B. Lysosomal metabolism of glycoproteins // Glycobiol. 2005. Vol. 15. No 6. P. 1R–15R.

Благодарности

Авторы выражают глубокую благодарность сотруднику СевПИПРО к. б. н. А. В. Семушину за консультации при проведении работ по сбору материалов для исследований. Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета РФ на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0221-2017-0050).

ACID HYDROLASES OF LYSOSOMES IN THE ADAPTIVE REACTIONS OF HERRING *CLUPEA PALLASI MARISALBI* BERG (*CLUPEIDAE*) FROM DIFFERENT BAYS OF THE WHITE SEA

VYSOTSKAYA
Rimma Ulyanovna

FITZ Karelian research centre of RAS,
rimma@bio.krc.karelia.ru

BUHEY
Elizaveta Andreevna

FITZ Karelian research centre of RAS,
elizaveta.vdovichenko@gmail.com

MURZINA
Svetlana Aleksandrovna

FITZ Karelian research centre of RAS,
murzina.svetlana@gmail.com

NEMOVA
Nina Nikolaevna

FITZ Karelian research centre of RAS,
nemova@krc.karelia.ru

Key words:

herring
Clupea pallasii marisalbi Berg
lysosomal enzymes
White Sea bays
biochemical adaptation

Summary: The comparative study of the activity of lysosomal enzymes (acid phosphatase, RNase, DNase, β -glucosidase, β -galactosidase, β -glucuronidase) was carried out in the tissues of herring *Clupea pallasii marisalbi* Berg from the Kandalaksha, Onega and Dvina Bays of the White Sea. These are distinct both in hydrological parameters and in anthropogenic impact. It was shown that activity of most acid hydrolases in the liver, gills and muscles was significantly higher in fish from the Onega and Dvina Bays. It may indicate that the herring tissue lysosomes take part in adaptive metabolic rearrangements in response to a variety of environmental factors specific for the studied biotopes. In the Onega Bay these factors are lower temperatures and industrial drains, whereas in the Dvinsky Bay they are freshening, oxygen deficiency and the high degree of water pollution. The main targets are gills involved in the processes of respiration and osmotic regulation, as well as the liver responsible for the biosynthesis of macromolecules necessary for the body and the biotransformation of endogenous metabolites and xenobiotics. According to our data, acidic phosphatase, RNase and β -glucuronidase make the greatest contribution to the compensation of the possible effect of environmental factors and maintenance of fish homeostasis. The highest activity of lysosomal enzymes was detected in fish gonads from the Kandalaksha Bay. It can be explained by the higher maturity of the fish in comparison with the representatives of other local populations. Minor differences in DNase activity in *C. pallasii marisalbi* Berg from different Bays are most likely the evidence of low involvement of the genome in adaptive responses of studied fish.

Reviewer: O. L. Lukyanova

Received on: 30 May 2018

Published on: 24 December 2018

References

- Barret A. Hit M. F. Lysosomal enzymes, Lizosomy. Metody issledovaniya. M.: Mir, 1980. P. 25–56.
Berger V. Ya. Production potential of the White Sea. Study of marine fauna. T. 60 (68). SPb.: ZIN RAN, 2007. 292 p.
Bull H., Murray P. G., Thomas D., Fraser A. M., and Nelson P. N. Acid phosphatases, Mol. Pathology. 2002. Vol. 55. No 2. P. 65–72. DOI: 10.1136/mp.55.2.65.PMC1187150.PMID11950951.
Chilke A. M. Kinetic study of hepatic β -glucuronidase in the Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton),

- Fish. Physiol. Biochem. 2010. Vol. 36. No 4. P. 1145–1149.
- Evans D. H., Piermarini P. M., Choe K. P. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste, *Physiol. Rev.* 2005. Vol. 85. P. 97–177.
- Gubler E. V. Genkin A. A. Application of criteria of nonparametric statistics for estimating differences between two study groups in biomedical research. M.: Medicina, 1969. 29 p.
- Ivanter D. E. Ryzhkov L. P. Fish. Petrozavodsk: Izd-vo PetrGU, 2004. 176 p.
- Kahovcova J., Odavic R. A simple method of the quantitative analysis of phospholipids separated by thin layer chromatography, *J. Chromatogr.* 1969. Vol. 40. P. 90–96.
- Laakkonen H. M., Strelkov P., Lajus D. L., Väinölä R. Introgressive hybridization between the Atlantic and Pacific herrings (*Clupea harengus* and *C. pallasii*) in the north of Europe, *Marine Biology*. 2015. Vol. 162. P. 39–54.
- Layus D. L., Laakkonen H., Strelkov P. P., Kireeva M. A., Vaynola R. Introgressive hybridization between Pacific herring and Atlantic herring and its importance for understanding the population structure of the White Sea herring, *Izuchenie, racional'noe ispol'zovanie i ohrana prirodnih resursov Belogo morya: Materialy XIII Vserossiyskoy konf. s mezhdunar. uchastiem*. SPb.: ZIN RAN, 2017. P. 119–122.
- Layus D. L. On the population structure of the White Sea herring, *Problemy izucheniya, racional'nogo ispol'zovaniya i ohrany prirodnih resursov Belogo morya: Materialy dokl. L.*, 1995. P. 25–27.
- Levickiy A. P., Barabash R. D., Konovec V. M. Seasonal features of ribonuclease and α -amylase activity of saliva and salivary glands in Wistar rats, *Biohimicheskaya evolyuciya*. L.: Nauka, 1973. P. 192–195.
- Naumov D. G. Hierarchical classification of glycoside hydrolases, *Biohimiya*. 2011. T. 76. Vyp. 6. P. 764–780.
- Naz H., Islam A., Waheed A., Sly W. S., Ahmad F., Hassan M. I. Human β -glucuronidase: structure, function, and application in enzyme replacement therapy, *Rejuvenation Res.* 2013. Vol. 16. No 5. P. 352–363.
- Nemova N. N., Krupnova M. Yu., Murzina S. A. Activities of lysosomal proteases (cathepsins B and D) in tissues of the White Sea herring, *Clupea pallasii marisalbi* Berg (*Clupeidae*), inhabiting different bays of the White Sea, *Trudy KarNC RAN*. 2016. No. 6. P. 74–80.
- Nemova N. N., Murzina S. A., Pekkoeva S. N., Ripatti P. O. Lipid status of larvae and adult specimens of the White Sea herring *Clupea pallasii marisalbi* Berg (*Clupeiformes*, *Clupeidae*), *Doklady akademii nauk*. 2015. T. 460. No. 4. P. 475–479.
- Nemova N. N., Vysockaya R. U. Biochemical indication of fish state. M.: Nauka, 2004. 215 p.
- Noorbach I. A., Khan A. M., Salleh H. M. Molecular dynamics studies of human β -glucuronidase, *Am. J. Appl. Sci.* 2010. Vol. 7. P. 823–828.
- Pekkoeva S. N., Murzina S. A., Ruokolainen T. R., Ripatti P. O., Nemova N. N. Lipid status of the White Sea herring *Clupea pallasii marisalbi* Berg from Dvina bay of the White Sea in autumn, *Trudy KarNC RAN*. 2014. No. 5. P. 86–94.
- Pohilyuk V. V. Ecology and fishing of the White Sea herring: Avtoref. dip. ... kand. biol. nauk. M.: VNIRO, 1992. 22 p.
- Pokrovskiy A. A., Archakov A. I. Methods of separation and enzymatic identification of subcellular fractions, *Sovremennye metody v biohimii*. M.: Medicina, 1968. P. 5–59.
- Pokrovskiy A. A., Kravchenko L. V., Tutel'yan V. A. Study of the activity of lysosomal enzymes under the action of aflatoxin and mitomycin C, *Biohimiya*. 1971. T. 36. Vyp. 4. P. 690–696.
- Pokrovskiy A. A., Tutel'yan V. A. Lysosomes. M.: Nauka, 1976. 382 p.
- Semenova A. V., Andreeva A. P., Karpov A. K., Stroganov A. N., Rubcova G. A., Afanas'ev K. I. Analysis of Microsatellite loci variability in herring (*Clupea pallasii marisalbi*) from the White Sea, *Genetika*. 2013. T. 49. No. 6. P. 751–766.
- Sobko E. I. Ecological and toxicological estimation of surface water condition in the Northern Dvina estuary, *Biologicheskie resursy Belogo morya i vnutrennih vodoemov Evropeyskogo Severa: Sbornik materialov IV (XXVII) mezhdunar. konf. Ch. 2*. Vologda: VGPU, 2005. P. 148–150.
- Stasenkov N. I. A note on the appearance of the White Sea herring (*Clupea pallasii marisalbi* Berg, 1923) in the south-eastern regions of the Barents Sea in 2002–2003, *Problemy izucheniya, racional'nogo ispol'zovaniya i ohrany resursov Belogo morya: Materialy IX mezhdunar. konf.* Petrozavodsk: Izdatel'skiy dom PIN, 2005. P. 297–300.
- Strelkov P. P., Layus D. L., Vaynola R. O. In pursuit of a hybrid herring, *Priroda*. 2016. No. 10. P. 51–59.
- The White (Beloe) Sea and their watershed under influences of climate and anthropogenic factors, *Red. N. N. Filatov i A. Yu. Terzhevnik*. Petrozavodsk: KarNC RAN, 2007. 335 p.
- Trofimov I. K. On fecundity of Pacific herring *Clupea pallasii* in Lakes Nerpichye, Kalygyr and Viluy (East Kamchatka), *Izvestiya TINRO*. 2006. T. 146. P. 158–174.
- Vdovichenko E. A., Vysockaya R. U. The effect of wastewater from the Kostomuksha iron-ore mining and concentration mill on lysosomal enzyme activity in roach, *Trudy KarNC RAN*. 2014. No. 5. P. 167–173.

Vysockaya R. U. Nemova N. N. Fish lysosomes and lysosomal enzymes. M.: Nauka, 2008. 284 p.
Winchester B. Lysosomal metabolism of glycoproteins, Glycobiol. 2005. Vol. 15. No 6. P. 1R–15R.
Yarzhombek A. A. The way of life and behavior of commercial fish. M.: Izd-vo VNIRO, 2016. 200 p.