

Взаимосвязь активности ферментов энергетического и углеводного обмена с размерно-весовыми характеристиками некоторых видов сиговых и лососевых рыб

О. В. МЕЩЕРЯКОВА, М. В. ЧУРОВА, Н. Н. НЕМОВА

Институт биологии КарНЦ РАН
185910, Петрозаводск, ул. Пушkinsкая, 11
E-mail: o-mesch@yandex.ru

Статья поступила 23.06.2015

Принята к печати 25.09.2015

АННОТАЦИЯ

Исследована взаимосвязь уровня энергетического и углеводного обмена с длиной и массой для некоторых видов рыб естественных популяций: атлантического лосося *Salmo salar* L., обыкновенного сига *Coregonus lavaretus* L., ряпушки *Coregonus albula* L., а также искусственно выращиваемой радужной форели *Parasalmo mykiss* Walb. Для всех исследованных видов показано, что наиболее крупные и быстрорастущие особи имеют высокую активность ферментов аэробного энергетического обмена – цитохром с-оксидазы, малатдегидрогеназы и анаэробного обмена – лактатдегидрогеназы в мышцах, а также 1-глицерофосфатдегидрогеназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в печени. Обнаруженные возрастные изменения исследуемых параметров обусловлены общей закономерностью снижения уровня аэробного обмена и потребления кислорода в онтогенезе, усилением липидного обмена и степени запасания веществ. Для сигов (4+ и 5+) показано, что при наступлении половой зрелости между самцами и самками возникают различия в характере взаимосвязи активности ферментов цитохром с-оксидазы, 1-глицерофосфатдегидрогеназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы с длиной и массой особей.

Ключевые слова: рыбы, длина и масса, энергетический обмен, углеводный обмен, ферменты, экспрессия миозина, РНК/ДНК, лосось, сиг, ряпушка, радужная форель.

Линейные и весовые показатели, характеризующие размер особи, являются одними из наиболее изменчивых характеристик организма рыб. Особи одной когорты могут значительно отличаться размерами в зависимости от соотношения генетической и негенетической компонент, определяющих их рост, и влияния на этот процесс различных факторов среды [Дгебуадзе, 2001]. Изучение

биохимических и молекулярно-генетических закономерностей и механизмов формирования изменчивости и дифференциации рыб по размерам позволит значительно расширить представления об особенностях процесса роста у рыб и способах его регуляции в различные периоды онтогенеза, на разных стадиях жизненного цикла и при влиянии разнообразных экологических условий.

Важнейшим метаболическим фактором, определяющим функциональную активность клеток различных органов и, соответственно, процессы роста и развития рыб, является уровень энергетического обмена. Достаточный уровень образования АТФ определяет активный рост и развитие организма рыб, особенно в период раннего онтогенеза, когда требуются большие энергетические ресурсы [Озернюк, 1985]. Поэтому в исследованиях взаимосвязи биохимических параметров с размерными характеристиками рыб и темпами их роста большое внимание уделяется изучению активности и экспрессии генов ферментов энергетического обмена, участвующих в процессах аэробного и анаэробного синтеза АТФ. Исследование биохимических и молекулярно-генетических параметров энергетического метаболизма проводится главным образом в белых мышцах рыб, так как они составляют значительную часть тела (около 60 % веса) и, таким образом, во многом определяют особенности метаболизма всего организма и отражают темпы роста рыб [Burness et al., 1999; Davies, Moyes, 2007; Savoie et al., 2008]. Кроме того, активность ферментов гликолиза, цикла трикарбоновых кислот и дыхательной цепи митохондрий, наряду с молекулярно-генетическими показателями – индексом РНК/ДНК и уровнем экспрессии гена тяжелой цепи миозина, могут использоваться как индикаторы темпов роста и состояния рыб в исследованиях по изучению влияния различных условий на рост рыб. Например, эти показатели применяются при изучении влияния на рыб загрязнения окружающей среды, температуры, качества и количества пищи, паразитарной инвазии [Buckley et al., 1999; Overturf, Hardy, 2001; Imsland et al., 2006; Caldarone et al., 2006; Dhillon et al., 2008; Vinagre et al., 2008]. Несмотря на значительное число работ в этой области, ряд вопросов остается неизученным. Так, например, недостаточно данных по оценке взаимосвязи процессов энергетического и пластического обмена в мышцах и печени с размерно-весовыми параметрами рыб (длинной и массой). Таким образом, исследование особенностей и механизмов роста рыб и формирования размерной изменчивости на биохимическом уровне является одним из важ-

ных вопросов биохимии и физиологии рыб, популяционной биологии, экологии.

В данной работе исследовали взаимосвязь между активностью ферментов цитохром с-оксидазы (ЦО), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), малатдегидрогеназы (МДГ), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ), 1-глицерофосфатдегидрогеназы (1-ГФДГ), альдолазы в мышцах и печени, уровнем экспрессии гена тяжелой цепи миозина (*MyHC*), показателем РНК/ДНК в мышцах и размерно-весовыми характеристиками некоторых видов сиговых и лососевых рыб.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили атлантический лосось *Salmo salar* L., обыкновенный сиг *Coregonus lavaretus* L., ряпушка *C. albula* L. и искусственно выращиваемая радужная форель *Parasalmo mykiss* Walb. разных возрастных групп. В зависимости от вида и возраста рыб количество экземпляров в каждой исследованной группе составило от 7 до 30.

Определение активности исследуемых ферментов. Активность ферментов определяли в белых мышцах и печени рыб в расчете на грамм влажной массы. Ткань гомогенизировали в 0,01 М *трис*-HCl буферном растворе (рН 7,5). Активность ферментов лактатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.27), малатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.37), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.49), 1-глицерофосфатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.8) определяли по общепринятым методам [Кочетов, 1980]. Активность альдолазы (КФ 4.1.2.13) определяли по методике Векс в модификации Ананьева и Обуховой [Колб, Камышников, 1976]. Активность указанных ферментов выражали в мкмоль субстрата/мин/г ткани. Активность цитохром с оксидазы (КФ 1.9.3.1.) в мышцах и печени определяли по методу Л. Смита [1955]. Активность ЦО выражали в *k*/г ткани, где *k* – константа реакции первого порядка. Содержание белка в тканях определяли по методу М. М. Бредфорда [1976], используя в качестве стандарта БСА.

Определение концентрации нуклеиновых кислот. Тотальную РНК выделяли из белых мышц по П. Хомчински и Н. Саччи [Chomczynski, Sacchi, 1987] с помощью набора “для вы-

деления тотальной РНК Yellow Solve” (Клоноген, С.-Петербург). ДНК белых мышц выделяли по методу Альанаби и Мартинеса. Концентрации РНК и ДНК определяли спектрофотометрически (спектрофотометр “SmartSpec Plus”, BioRad, США) [Маниатис и др., 1984].

Проведение полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Тотальную РНК обрабатывали ДНКазой (10 ед./мл) (Силекс, Россия). Комплементарную ДНК (кДНК) синтезировали из препарата тотальной РНК с использованием MMLV-обратной транскриптазы и случайных гексонуклеотидов (набор “Синтез первой цепи ДНК”, Силекс). Амплификацию проводили на приборе i-Cycler с оптической приставкой IQ5 (BioRad) с использованием реакционной смеси 2,5× для проведения ПЦР-РВ в присутствии интеркалирующего красителя SYBR Green I (Синтол, Россия). Праймеры к нуклеотидным последовательностям генов тяжелой цепи миозина (*MyHC*) подбирали с помощью программы Beacon Designer 5.01 (“Premier Biosoft”, США). Концентрацию матричной РНК в виде кДНК определяли по стандартной кривой [Gahr et al., 2008]. Данные выражались как отношение концентрации мРНК исследуемого гена к концентрации мРНК референсного гена.

Секвенирование. Для подтверждения того, что продукты амплификации кДНК являются фрагментами исследуемого гена, проводили секвенирование. Реакцию секвенирования ПЦР-продуктов выполняли с использованием наборов реагентов GenomLab™ DTCS-Quick Start Kit (Beckman Coulter, Inc., США) и BigDye version 1.1 (Applied Biosystems, США). Продукты реакции секвенирования очищали от невключенных нуклеотидов с флуорофорами путем осаждения 96%-ным этанолом. Разделение синтезированных фрагментов проводили методом автоматического капиллярного электрофореза в генетическом анализаторе Beckman Coulter CEQ™ 8000 (Beckman Coulter, Inc., США) и ABI 3100 Genetic Analyser (Applied Biosystems, США) на базе ИБ КарНЦ РАН и ВНИРО. Для редактирования полученных последовательностей использовали программу ChromasPro. Полученные последовательности нуклеотидов сравнивали с базой данных NCBI BLAST

(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi>). Гомология полученных фрагментов с последовательностью гена из генетического банка составляла не менее 96 %.

Статистическая обработка данных. В работе использовали общепринятые методы статистической обработки данных с использованием пакетов программ MS Excel и StatGraphics 2.5 for Windows. Сравнение выборок проводили с применением непараметрического критерия Вилкоксона – Манна – Уитни. Степень влияния исследуемых факторов оценивали при помощи многофакторного дисперсионного анализа MANOVA. Взаимосвязь исследуемых показателей с размерами особей и между собой оценивали при помощи линейной регрессии и корреляционного анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Общие закономерности взаимосвязи исследуемых биохимических и молекулярно-генетических показателей с длиной и массой особей изучаемых видов рыб. По результатам анализа взаимосвязи между исследуемыми показателями мышц и печени и размерно-весовыми характеристиками особей рыб разного возраста, выловленных в летний нагульный период, установлены некоторые общие тенденции. Выявлена положительная корреляция активности ферментов мышц аэробного обмена – ЦО – и анаэробного обмена – ЛДГ – с длиной и массой особей внутри одновозрастных групп рыб из естественных водоемов: молоди лосося, сига и ряпушки (табл. 1). Аналогичная закономерность показана и для искусственно выращиваемой форели.

Положительная связь активности этих ферментов с размерами рыб объясняется необходимостью поддержания высокого уровня аэробного и анаэробного энергетического обмена для обеспечения необходимым количеством АТФ основных процессов жизнедеятельности, в том числе процессов синтеза структурных, функциональных и запасных соединений в мышцах, которые интенсивно протекают у активно растущих особей, особенно в раннем онтогенезе [Houlihan et al., 1993; Savoie et al., 2008; Gauthier et al., 2008].

Корреляция активности ЦО (к/г) и ЛДГ (мкмоль субстрата/мин/г) мышц с длиной (ас) и массой особей у разных возрастных групп рыб

Вид рыб	Возраст	Активность ЦО, $M \pm m$	R (ас)	R (масса)	Активность ЛДГ, $M \pm m$	R (ас)	R (масса)
Лосось	0+	1,21 ± 0,03	0,56*	0,55*	98,8 ± 12,03	0,73*	0,67*
	1+	1,88 ± 0,08	0,60*	0,62*	120,4 ± 5,51	0,58*	0,53*
	2+	1,02 ± 0,06	0,69*	0,70*	132,2 ± 3,05	0,79*	0,84*
Сиг	2+	1,55 ± 0,09	0,86*	0,75*	126,5 ± 10,06	0,51*	0,79*
	3+	1,61 ± 0,05	0,71*	0,73*	133,2 ± 4,51	0,46*	0,78*
Ряпушка	1+	2,12 ± 0,08	0,84*	0,75*	453,2 ± 11,8	0,68*	0,73*
	2+	1,83 ± 0,09	0,74*	0,65*	345,1 ± 21,2	0,50*	0,65*
	3+	1,91 ± 0,07	0,44*	0,41	318 ± 19,1	0,31	0,40*
Форель	1+	2,16 ± 0,05	0,65*	0,78*	312,8 ± 12,1	0,45*	0,69*
	2+	1,82 ± 0,04	0,52*	0,51*	369,1 ± 12,6	0,53*	0,64*

* Достоверные значения коэффициента корреляции при $p < 0,05$.

Аналогичная положительная корреляция между массой рыб и активностью ферментов показана для малатдегидрогеназы – фермента цикла трикарбоновых кислот – и альдолазы, характеризующей степень использования углеводов в гликолизе. Полученные результаты свидетельствуют о том, что более крупные особи имеют более высокий уровень аэробного и анаэробного обмена и степень использования углеводов в процессах энергетического метаболизма в мышцах рыб.

Для всех исследуемых видов рыб внутри каждой возрастной группы уровень экспрессии гена тяжелой цепи миозина (*MyHC*) в белых мышцах возрастал с увеличением массы и длины тела (рис. 1).

Миозин является одним из основных белков в мышцах и составляет 50 % от количества всех мышечных белков. Согласно ряду исследовательских работ, уровень экспрессии гена *MyHC* коррелирует с темпами роста радужной форели *Oncorhynchus mykiss* [Overturf, Hardy, 2001], атлантического лосося *Salmo salar* [Hevroy et al., 2006], некоторых других видов рыб [Imsland et al., 2006; Dhillon et al., 2008] и используется как показатель, отражающий темпы прироста мышечной массы и темпы роста рыб в целом. Таким образом, согласно результатам данного исследования, более крупные особи отличаются высокими темпами прироста мышечной массы. Следует также отметить, что у исследованных видов рыб уровень экспрессии *MyHC*

положительно коррелировал с активностью ЛДГ. Это указывает на то, что высокая активность ЛДГ у более крупных особей согласуется с высокими темпами прироста их мышечной массы.

Анализ активности ферментов в печени рыб выявил, что более крупные особи всех четырех исследованных видов рыб – лосося, сига, ряпушки и форели – имеют более высокую активность цитохромоксидазы. Значения коэффициентов корреляции активности ЦО с массой одновозрастных рыб составили для лосося возраста 1+ и 2+ 0,46 и 0,52; для сига 2+ и 3+ – 0,69 и 0,85; для ряпушки 1+, 2+, 3+ – 0,78, 0,56 и 0,86 и для форели 1+ и 2+ – 0,56 и 0,74 соответственно ($p < 0,05$).

Отмечены высокие значения положительной корреляции между активностью ферментов печени 1-ГФДГ, Г-6-ФДГ и длиной и массой особей лосося, сига, ряпушки, форели (табл. 2).

Указанные ферменты печени играют важную роль в процессах пластического обмена, синтезе структурных и запасных липидов. Более высокая активность данных ферментов в печени у крупных особей указывает на более высокий уровень синтеза глицерофосфата из углеводов, который может использоваться для синтеза структурных и запасных липидов, и более высокий уровень окисления углеводов в пентозо-фосфатном пути, в результате которого происходит образование пентоз и генерируется восстановитель в форме НАДФН для

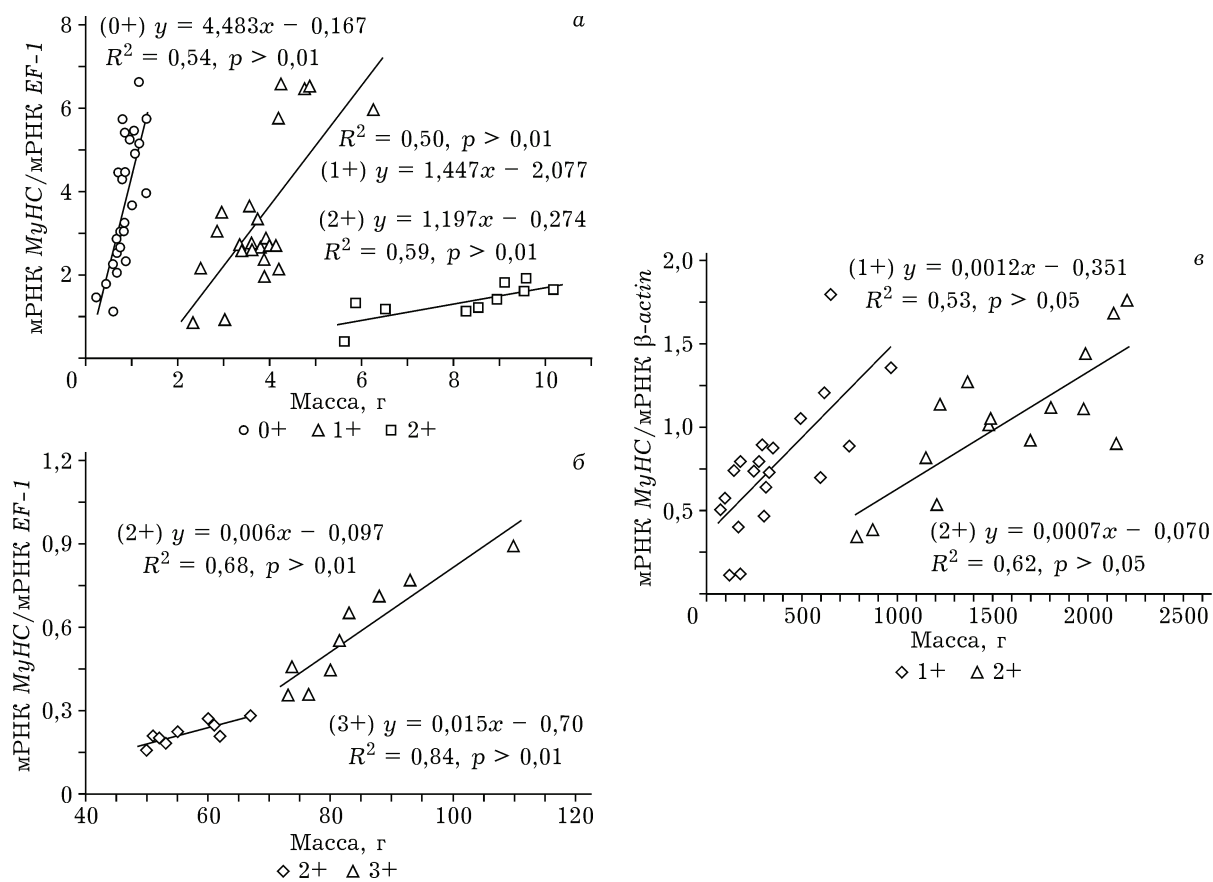


Рис. 1. Зависимость уровня экспрессии гена миозина (MyHC) в белых мышцах от массы тела у лосося (а), сига (б), форели (в)

реакций биосинтеза [Gauthier et al., 2008]. Установленная положительная корреляция активности ферментов 1-ГФДГ и Г-6-ФДГ с размерно-весовыми характеристиками особей,

возможно, косвенно свидетельствует о более высоком уровне использования углеводов в реакциях биосинтеза, в том числе синтеза запасных и структурных липидов.

Т а б л и ц а 2

Корреляция активности Г-6-ФДГ и 1-ГФДГ в печени (мкмоль субстрата/мин/г) с длиной (ас) и массой особей у разных возрастных групп рыб

Вид	Возраст	Активность Г-6-ФДГ $M \pm m$	R (ас)	R (масса)	Активность 1-ГФДГ $M \pm m$	R (ас)	R (масса)
Лосось	1+	16,7 ± 1,3	0,74*	0,73*	71,1 ± 2,2	0,72*	0,73*
	2+	14,1 ± 1,3	0,67*	0,74*	39,2 ± 3,11	0,62*	0,75*
Сиг	2+	9,8 ± 0,9	0,75*	0,82*	17,5 ± 1,1	0,82*	0,64*
	3+	11,4 ± 1,1	0,65*	0,89*	36,2 ± 5,2	0,77*	0,89*
Ряпушка	1+	10,9 ± 0,5	0,55*	0,69*	45,5 ± 2,21	0,50*	0,64*
	2+	13,1 ± 0,9	0,59*	0,73*	56,2 ± 2,3	0,53*	0,65*
	3+	15,5 ± 0,8	0,59*	0,78*	69,1 ± 2,2	0,54	0,69*
Форель	1+	12,1 ± 0,9	0,53*	0,87*	56,8 ± 2,6	0,49*	0,54*
	2+	14,6 ± 1,2	0,34	0,93*	69,3 ± 2,1	0,41	0,75*

* Достоверные значения коэффициента корреляции при $p < 0,05$.

Возрастные особенности взаимосвязи биохимических и молекулярно-генетических показателей с длиной и массой рыб. Для большинства исследуемых видов рыб активность ЦО мышц с возрастом достоверно снижалась, что связано с общей закономерностью снижения уровня аэробного обмена, потребления кислорода, и в целом уровня стандартного обмена в онтогенезе [Озернюк, 1985; Goolish, 1995]. Одинаковой тенденции изменения активности ЛДГ с возрастом у исследованных видов рыб не обнаружено (см. табл. 1), что, вероятно, является следствием видовых особенностей, в том числе различием образа жизни и физической активности. При этом возрастные вариации активности ЛДГ коррелировали с изменением активности альдолазы. Это указывает на то, что изменение в степени использования углеводов с возрастом, скорее всего, связано с изменением уровня анаэробного обмена в мышцах.

Несмотря на существующие возрастные изменения в активности ферментов ЦО и ЛДГ, внутри всех возрастных групп взаимосвязь активности этих показателей с размерами особей оказалась положительной (см. табл. 1). Это указывает на то, что в первые годы жизни, независимо от возраста, более крупные особи характеризуются более высоким уровнем энергетического метаболизма.

Известно, что индекс РНК/ДНК отражает уровень синтеза белков в клетке [Buckley, 1984]. Показано, что значение этого индекса положительно коррелирует с темпами роста лососевых [Peragon et al., 2001] и других видов рыб [Vinagre, 2008]. Согласно результатам нашего исследования, характер взаимосвязи РНК/ДНК с размерами исследованных видов рыб различался в зависимости от вида и их возраста (рис. 2). Поскольку данный показатель отражает уровень синтеза всех белков в клетке, то может значительно варьировать на разных стадиях онтогенеза в зависимости от особенностей экологии вида и типа питания. На значение показателя также может влиять соотношение процессов гипертрофии и гиперплазии мышечных волокон [Peragon et al., 2001].

С возрастом достоверно увеличивается активность ферментов 1-ГФДГ и Г-6-ФДГ, что установлено как для рыб из естествен-

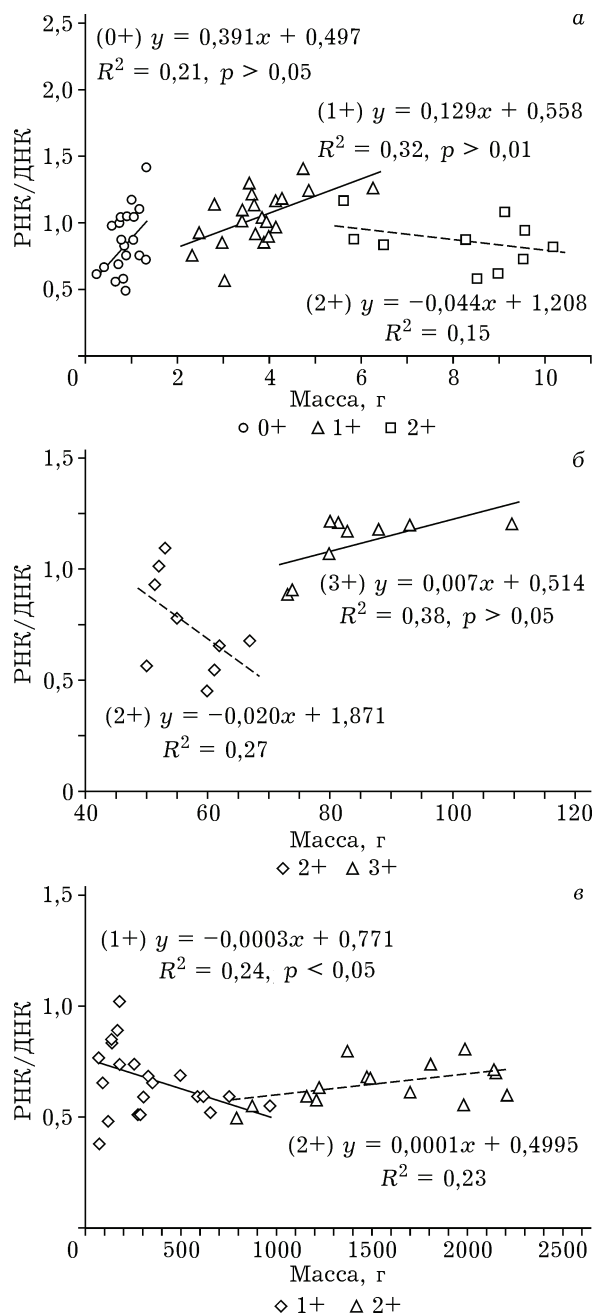


Рис. 2. Зависимость индекса РНК/ДНК в белых мышцах от массы тела у лосося (а), сига (б), форели (в)

ных популяций (ряпушки, сигов), так и для искусственно выращиваемой форели (см. табл. 2). При этом активность этих ферментов в большей степени коррелировала с массой, чем с длиной, особенно в старших возрастных группах, что, возможно, связано с усилением процессов липогенеза с возрастом.

Половые различия во взаимосвязи между активностью ферментов энергетическо-

го и углеводного обмена, уровня экспрессии гена тяжелой цепи миозина, индексом РНК/ДНК и размерно-весовыми характеристиками сига. При исследовании неполовозрелых особей сига (2+ и 3+) различий в характере взаимосвязи изучаемых показателей с длиной и массой особей между самцами и самками не выявлено. У половозрелых особей сига (4+ и 5+) наблюдалось изменение характера и степени взаимосвязи исследуемых показателей с длиной и массой особей. Так, например, обнаруженная у неполовозрелых сига взаимосвязь уровня экспрессии гена тяжелой цепи миозина и индекса РНК/ДНК с длиной и массой особей (см. рис. 1, б) у половозрелых рыб, как у самцов, так и у самок, отсутствовала. Это, вероятно, связано с тем, что на поздних стадиях созревания гонад и в преднерестовый период процессы роста замедляются, что непосредственно связано с большими энергетическими затратами на синтез половых продуктов [Решетников, 1980; Шатуновский, 2001]. Кроме того, в характере взаимосвязи показателей с размерами особей возникают различия между самцами и самками (рис. 3). Для самцов установлена положительная взаимосвязь активности ЦО мышц с длиной особей ($r = 0,59$; $p < 0,05$). У самок взаимосвязь ЦО с длиной особей отсутствует, а с массой – достоверно отрицательна.

В печени сига корреляция активности ЦО с массой особей оказалась положительной для самцов и отрицательной для самок. Таким образом, можно заключить, что крупные половозрелые самки имеют более низкий уровень аэробного обмена в энергообеспечении печени и мышц, что, вероятно, связано с большими энергетическими затратами на генеративный обмен. Для ферментов печени 1-ГФДГ и Г-6-ФДГ установлены различия между самцами и самками в степени взаимосвязи этих показателей с размерами особей. Так, положительная связь активности 1-ГФДГ с массой особей установлена только для самцов ($r = 0,79$; $p < 0,05$). Для самок, в отличие от самцов, показана положительная корреляция Г-6-ФДГ с массой ($r = 0,92$; $p < 0,05$). Таким образом, изменение в характере взаимосвязи исследуемых показателей с размерами рыб при наступлении половой зрелости, а также различия в этой взаимосвязи

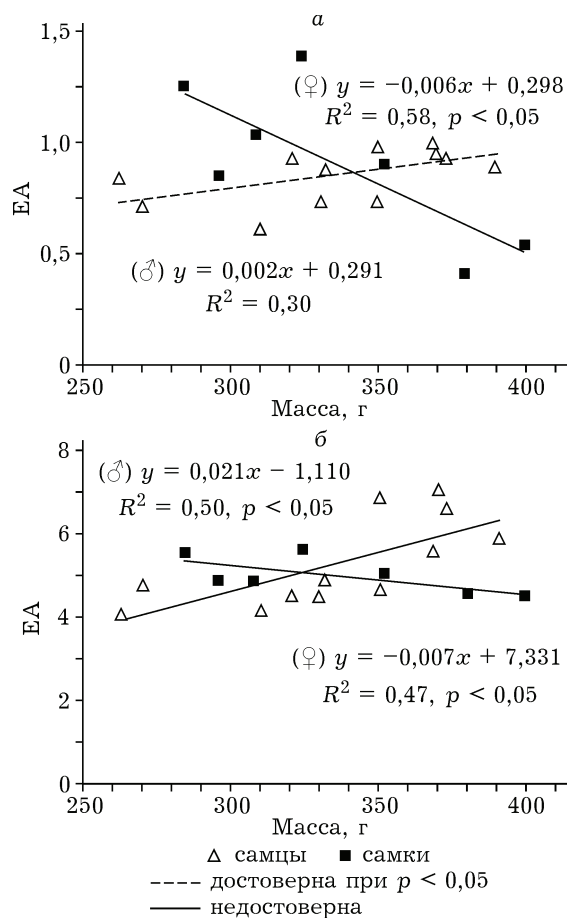


Рис. 3. Зависимость активности ЦО мышц (а) и печени (б) от массы тела половозрелых самцов и самок сига возраста 5+. EA – единицы активности фермента

между самцами и самками связаны со специфичным изменением интенсивности и направления путей энергетического и углеводного метаболизма в период созревания гонад и нерестовый период.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлена положительная взаимосвязь между активностью цитохром с-оксидазы, лактатдегидрогеназы, уровнем экспрессии гена тяжелой цепи миозина в мышцах, активностью ферментов цитохром с-оксидазы, 1-глицерофосфатдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в печени и массой особей одновозрастных групп всех исследованных видов рыб. Такая взаимосвязь характерна как для рыб естественных популяций (ряпушка, лосось, сиг), так и для искусственно

выращиваемой форели в летний нагульный период в первые годы жизни.

Взаимосвязь индекса РНК/ДНК в мышцах с размером и массой особей неоднозначна, она зависит от вида рыб и их возраста.

Для сига взаимосвязь между активностью цитохром с оксидазы, индексом РНК/ДНК, уровнем экспрессии гена тяжелой цепи миозина в мышцах, активностью цитохром с-оксидазы, 1-глицерофосфатдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в печени и размерно-весовыми характеристиками рыб существенно различается у половозрелых и неполовозрелых особей. Для половозрелых особей сига взаимосвязь активности цитохром с-оксидазы мышц и печени с длиной и массой, а также активности 1-глицерофосфатдегидрогеназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы печени с длиной и массой рыб зависит от пола.

Полученные результаты и сделанные на их основании выводы расширяют существующие представления о биохимических и молекулярных механизмах и закономерностях процесса роста у рыб с учетом видового, возрастного, полового и экологического аспектов.

Исследования выполнены с использованием Центра коллективного пользования научным оборудованием ИБ КарНЦ РАН.

Результаты исследования атлантического лосося получены при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-24-00102).

Результаты исследования сиговых рыб получены при частичной поддержке Гранта Президента РФ НШ-1410.2014.4, Программы фундаментальных исследований Президиума РАН на 2012–2014 гг. “Живая природа”, Программы фундаментальных исследований ОБН РАН на 2012–2014 гг. “Биоресурсы”.

Результаты исследования радужной форели получены при поддержке Гранта Президента РФ МК-3025.2014.4.

ЛИТЕРАТУРА

- Дгебуадзе Ю. Ю. Экологические закономерности изменчивости роста рыб. М.: Наука, 2001. 276 с.
- Колб В. Г., Камышников В. С. Клиническая биохимия. Минск: Беларусь, 1976. 311 с.
- Кочетов Г. А. Практическое руководство по энзимологии. М.: Высш. шк., 1980. 272 с.
- Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М.: Мир, 1984. 480 с.
- Озернюк Н. Д. Энергетический обмен в раннем онтогенезе рыб. М.: Наука, 1985. 254 с.
- Решетников Ю. С. Экология и систематика сиговых рыб. М.: Наука, 1980. 301 с.
- Шатуновский М. И. Эколого-физиологические подходы к периодизации онтогенеза рыб // Экологические проблемы онтогенеза рыб: физиолого-биохимические аспекты. М.: Изд-во Моск. гос. ун-та, 2001. С. 13–19.
- Bradford M. M. 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.
- Buckley L., Caldaroni E., Ong T.-L. RNA-DNA ratio and other nucleic acid-based indicators for growth and condition of marine fishes // Hydrobiologia. 1999. Vol. 401. P. 265–277.
- Buckley L. G. RNA-DNA ratio: an index of larval fish growth in the sea // Mar. Biol. 1984. Vol. 80. P. 291–298.
- Burness G. P., Leary S. C., Hochachka P. W., Moyes C. D. Allometric scaling of RNA, DNA, and enzyme levels in fish muscle // Am. Journ. Physiol. 1999. Vol. 277. P. 1164–1170.
- Caldaroni E. M., Clemmesen C. M., Berdalet E., Miller T. J., Falkvord A., Holt G. J., Olivar M. P., Suthers I. M. Intercalibration of four spectrofluorimetric protocols for measuring RNA/DNA ratios in larval and juvenile fish // Limnol. Oceanogr. Methods. 2006. Vol. 4. P. 153–163.
- Chomezynski P., Sacchi N. Single step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction // Anal. Biochem. 1987. Vol. 162. P. 156–159.
- Davies R., Moyes C. D. Allometric scaling in centrarchid fish: origins of intra- and inter-specific variation in oxidative and glycolytic enzyme levels in muscle // J. Exp. Biol. 2007. Vol. 210. P. 3798–3804.
- Dhillon R. S., Wang Y., Tufts B. L. Using molecular tools to assess muscle growth in fish: Applications for aquaculture and fisheries management // Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Toxicol. and Pharmacol. 2008. Vol. 148. P. 452.
- Gahr S. A., Vallejo R. L., Weber G. M., Shepherd B. S., Silverstein J. T., Rexroad C. E. Effects of short-term growth hormone treatment on liver and muscle transcriptomes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // Physiol. Genomics. 2008. Vol. 32. P. 380–392.
- Gauthier C., Campbell P., Couture P. Physiological correlates of growth and condition in the yellow perch (*Perca flavescens*) // Comparative Biochemistry and Physiology: Part A. 2008. Vol. 151. P. 526–532.
- Goolish E. M. The metabolic consequence of body size // Biochemistry and molecular biology of fishes / eds. P. W. Hochachka, T. P. Mommsen. Elsevier, 1995. P. 335–366.
- Hevroy E. M., Jordal A.-E. O., Hordvik I., Espe M., Hemre G.-I., Olsvik P. A. Myosin heavy chain mRNA expression correlates higher with muscle protein accretion than growth in Atlantic salmon, *Salmo salar* // Aquaculture. 2006. Vol. 252. P. 453–461.
- Houlihan D. F., Mathers E. M., Foster A. Biochemical correlates of growth rate in fish // Fish Ecophysiology / eds. J. C. Rankin, F. B. Jensen. London UK, 1993. Chapter 2. P. 45–71.

- Imslund A. K., Francois N. R., Lammare S. G., Ditlecadet D., Sigurosson S., Foss A. Myosin expression levels and enzyme activity in juvenile spotted wolffish (*Anarhichas minor*) muscle: a method for monitoring growth rates // Can. Journ. Fish Aquat. Sci. 2006. Vol. 63. P. 1959–1967.
- Overturf K., Hardy R. Myosin expression levels in trout muscle: a new method of monitoring specific growth rates for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) on varied planes of nutrition // Aquat. Res. 2001. Vol. 32. P. 315–322.
- Peragon J., Barroso J. B., Garcia-Salguero L., Higuera M., Lupianez J. A. Growth, protein-turnover rates and nucleic-acid concentrations in the white muscle of rainbow trout during development // Int. Journ. Biochem. Cell Biol. 2001. Vol. 33. P. 1227–1238.
- Savoie A., François N. R. L., Cahu C., Blier P. U. Metabolic and digestive enzyme activity profiles of newly hatched spotted wolffish (*Anarhichas minor* Olafsen): effect of temperature // Aquaculture Res. 2008. Vol. 39. P. 382–389.
- Smith L. Spectrophotometric assay of cytochrome c oxidase // Methods Biochem. Analysis. 1955. Vol. 2. P. 427–434.
- Vinagre C., Fonseca V., Maia A., Amara R., Cabral H. Habitat specific growth rates and condition indices for the sympatric soles *Solea solea* (Linnaeus, 1758) and *Solea senegalensis* (Kaup, 1858), in the Tagus estuary. Portugal, based on otolith daily increments and RNA-DNA ratio // J. Appl. Ichthyol. 2008. Vol. 24. P. 163–169.

Correlation Between the Activity of Enzymes Involved in Energy and Carbohydrate Metabolism with the Size and Weight Parameters of Some Coregonidae and Salmonidae Fish

O. V. MESHCHERYAKOVA, M. V. CHUROVA, N. N. NEMOVA

*Institute of Biology of Karelian Research Centre, RAS
185910, Petrozavodsk, Pushkinskaya str., 11
E-mail: o-mesch@yandex.ru*

The correlation between the energy and carbohydrate metabolism rate with the length and weight of salmon (*Salmo salar* L.) and whitefish (*Coregonus lavaretus* L., *C. albula* L.) studied in nature, and farmed rainbow trout (*Parasalmo mykiss* Walb.) was investigated. The results of the study showed that the largest and fastest-growing fish had high activity of enzymes involved in aerobic energy metabolism (cytochrome c-oxidase, malate dehydrogenase) and anaerobic metabolism (lactate dehydrogenase in muscles, 1-glycerophosphate and glucose-6-phosphate in liver). Age-related changes of the investigated parameters were caused by general reduction of aerobic metabolism rate and oxygen consumption during ontogenesis, increased lipid metabolism and the amount of stored substances. It was also shown that pubescent male and female whitefish (4+ and 5+) had differences in the correlation between enzyme activity of cytochrome c-oxidase 1-glycerophosphate and glucose-6-phosphate dehydrogenase and the length and weight of individuals.

Key words: fish, growth parameters (length and weight), energy and carbohydrate metabolism, enzymes, myosin expression, RNA/DNA, whitefish, salmon, rainbow trout.