

На правах рукописи



ЧУРОВА
Мария Викторовна

**АКТИВНОСТЬ И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ НЕКОТОРЫХ
ФЕРМЕНТОВ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО И УГЛЕВОДНОГО
ОБМЕНА И РАЗМЕРНО-ВЕСОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
РЫБ СЕМЕЙСТВ ЛОСОСЕВЫЕ (*SALMONIDAE*) И
СИГОВЫЕ (*COREGONIDAE*)**

Специальность 03.01.04 – биохимия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Петрозаводск
2012

Работа выполнена в лаборатории экологической биохимии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии Карельского научного центра Российской академии наук

Научный руководитель: член-корреспондент РАН,
доктор биологических наук, профессор
Немова Нина Николаевна

Официальные оппоненты:

Шпаков Александр Олегович, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, заведующий лабораторией молекулярной эндокринологии

Андреева Алла Михайловна, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, заведующая Центром коллективного пользования «Молекулярные технологии» ИБВВ РАН

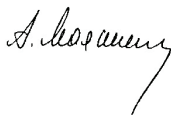
Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Защита состоится 15 марта 2012 года в 15.00 на заседании объединенного диссертационного совета ДМ 212.087.02 при Карельской государственной педагогической академии по адресу: 185680, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 17.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Карельской государственной педагогической академии (185680, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 17).

Автореферат разослан " " февраля 2012 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
к.м.н., доцент



А.И. Малкиель

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы.

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 затраты на синтез структурных, функциональных и запасных соединений. 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, т.к. они составляют значительную часть тела (около 60% веса) и, таким образом, во многом определяют особенности метаболизма всего организма и отражают темпы роста рыб (Goolish, Adelman 1987; Houlihan et al., 1993; 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 and Hardy, 2001; Imsland et al., 2006; Caldarone, 2006; Dhillon R. et al., 2008; Vinagre et al., 2008). Ряд работ в этом направлении посвящен также изучению механизмов регуляции активности ферментов у рыб разного размера, а именно исследованию взаимосвязи уровня экспрессии генов ферментов с активностью этих ферментов и массой тела (Yang, Somero, 1996; Burness et al., 1999; Davies, Moyes, 2007).

Рост рыб представляет собой сложный многофакторный процесс, определяющийся взаимодействием организма с абиотическими и биотическими факторами среды в процессе онтогенеза (Дгебуадзе, 1993, 2001; Павлов, 2010; Huss, 2009). В отличие от млекопитающих, рыбы растут в течение всей жизни. При этом особи одной когорты могут значительно отличаться размерами в зависимости от соотношения генетической и негенетической составляющих процесса их роста и влияния различных факторов среды. В связи с этим, линейные и весовые показатели, характеризующие размер особи, являются одними из наиболее изменчивых характеристик организма

рыб. 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 способов его регуляции в различные периоды онтогенеза, на разных стадиях жизненного цикла и при влиянии экологических условий. Несмотря на значительное число работ в этой области, ряд вопросов остается неизученным. Так, недостаточно данных по оценке взаимосвязи процессов энергетического и пластического обмена в мышцах и печени с размерами (длиной и массой рыб). Не исследован характер взаимосвязи показателей друг с другом, возрастные и половые особенности этой зависимости, влияние антропогенного фактора. Таким образом, исследование особенностей и механизмов роста рыб и формирования размерной изменчивости на биохимическом уровне является одним из важных вопросов биохимии и физиологии рыб, популяционной биологии, экологии.

Цель работы - исследовать взаимосвязь между активностью ферментов энергетического и углеводного обмена белых мышц и печени, уровнем экспрессии ряда генов в белых мышцах и размерно-весовыми характеристиками рыб некоторых видов семейств Лососевые *Salmonidae* и Сиговые *Coregonidae*.

Задачи исследования:

1. Изучить взаимосвязь между активностью ферментов цитохром *c* 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 особей различных видов лососевых и сиговых рыб естественных популяций и искусственно выращиваемой радужной форели.

2. Изучить возрастные и половые особенности взаимосвязи данных показателей с размерно-весовыми характеристиками рыб.

3. Сравнить характер взаимосвязи исследуемых показателей с размерно-весовыми характеристиками сигов, обитающих в водоемах с различной антропогенной нагрузкой.

4. Изучить взаимосвязь между уровнем экспрессии генов лактатдегидрогеназы субъединицы А (*LDH-A*), цитохром *c* оксидазы субъединиц I и IV (*COXI* и *COX4*) и активностью этих ферментов в мышцах у рыб разных размеров.

Положения, выносимые на защиту:

1. Активность исследуемых ферментов энергетического и углеводного обмена, уровень экспрессии генов ферментов и тяжелой цепи миозина в белых мышцах и печени рыб изучаемых видов положительно коррелируют с длиной и массой их тела.

2. Изменение уровня экспрессии генов цитохром *c* оксидазы и лактатдегидрогеназы является одним из возможных механизмов регуляции активности этих ферментов при формировании размерного разнообразия рыб.

Научная новизна. Получены новые данные о взаимосвязи активности некоторых ферментов углеводного и энергетического обмена мышц и печени, уровня экспрессии генов *MyHC*, *COX1*, *COX4*, *LDH-A* и показателя РНК/ДНК мышц и печени с длиной и массой особей различных видов лососевых и сиговых рыб естественных популяций и искусственно выращиваемой форели, с учетом возраста и пола. Впервые проведено комплексное исследование взаимосвязи изучаемых показателей с массой и длиной сигов и при влиянии антропогенного фактора. Впервые определена взаимосвязь между уровнем экспрессии генов двух субъединиц цитохром *c* оксидазы и активностью этого фермента у рыб разных по размеру.

Теоретическая и практическая значимость работы. 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. Знание особенностей процесса роста рыб может служить основой для разработки точных, удобных физиолого-биохимических индикаторов роста рыб и оценки состояния их здоровья, что может быть использовано в мониторинговых исследованиях, определении ресурсного потенциала водоемов и развитии новых технологий аквакультуры. Результаты исследования могут быть использованы для разработки лекционных курсов по физиологии и биохимии рыб, экологической биохимии и эволюции для студентов биологических факультетов ВУЗов.

Апробация работы. Основные результаты диссертации были представлены в виде устных и стендовых докладов на российских и зарубежных конференциях: Всероссийской конференции с международным участием «Водные и наземные экосистемы: проблемы и перспективы исследований» (Вологда, 2008); Международной научной конференции Arctic Frontiers 2009 “Arctic marine ecosystems in an era of rapid climate change” (Tromsø, Norway, 2009); Международном симпозиуме 15th International Symposium on Pollutant Responses in Marine Organisms (Bordeaux, France, 2009); XXVIII Международной конференции «Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов европейского севера» (Петрозаводск, 2009); III Международной конференции с элементами школы для молодых учёных, аспирантов и студентов «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов» (Петрозаводск, 2010); Международной школе-семинаре для молодых ученых «Биологические ресурсы Арктики и Субарктики – потенциал для биотехнологии: исследования и инновации» (Петрозаводск, 2010); I научно-практической конференции молодых

ученых ФГУП «ВНИРО» «Современные проблемы и перспективы изучения мирового океана» (Москва, 2011); V Российском симпозиуме «Белки и пептиды» (Петрозаводск, 2011), Научной конференции и школе молодых ученых, посвященных 65-летию КарНЦ РАН «Фундаментальная и прикладная наука в Республике Карелия: современное состояние и перспективы развития» (Петрозаводск, 2011); Молодежном инновационном конкурсе "МИК - 2011" (Петрозаводск, 2011).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 20 печатных работ, из которых 3 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, 9 статей в других изданиях и 8 тезисов докладов.

Объём и структура диссертации. Диссертация изложена на 193 страницах машинописного текста, содержит 33 таблицы, 62 рисунка и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов исследования, их обсуждения, заключения и выводов. Список цитируемой литературы включает 235 источников, в том числе 186 работ зарубежных авторов.

Благодарности. Автор искренне благодарна научному руководителю член.-корр. РАН Н.Н. Немовой и научному консультанту к.б.н. О.В. Мещеряковой, сотрудникам лаборатории экологической биохимии ИБ КарНЦ РАН за всестороннюю помощь, ценные советы и рекомендации, а также О.П. Стерлиговой, Н.В. Ильмасту и сотрудникам лаборатории экологии рыб ИБ КарНЦ РАН за помощь при получении биологического материала и консультации. Автор выражает огромную благодарность сотрудникам группы молекулярной биологии ИБ КарНЦ РАН Л.В. Топчиевой и лаборатории популяционной биологии ФГУП «ВНИРО» Н.С. Мюге за консультации по методам молекулярно-генетических исследований.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты 08-04-01140-а, 11-04-00167-а), программы Президента РФ «Ведущие научные школы» НШ-306.2008.4, НШ-3731.2010.4, НШ-1642.2012.4, проекта программы ОБН РАН «Биологические ресурсы России: оценка состояния и фундаментальные основы мониторинга», 2009-2011 г. (рег. № 01200955241), гранта Правительства РФ (Постановление 220, ГК №11.634.31.0052, лаборатория молекулярной генетики врожденного иммунитета ПетрГУ, зав. лабораторией А.Н. Полторака).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Обзор литературы

В обзоре литературы рассматривается роль аэробного и анаэробного энергетического обмена в процессах роста и развития рыб. Обобщены данные по взаимосвязи активности ферментов энергетического и углеводного

обмена в органах рыб с темпами роста и размерами особей. Приведены сведения о регуляции активности ферментов на уровне транскрипции их генов при формировании размерного разнообразия. Представлены данные о молекулярно-генетических показателях, используемых в оценке темпов роста рыб. Рассмотрены особенности роста рыб и механизмы формирования размерной изменчивости.

Глава 2. Материал и методы исследования

Материал исследования. В качестве объектов исследования были выбраны рыбы разных возрастных групп четырёх видов двух семейств Сиговые (Coregonidae) и Лососёвые (Salmonidae): естественных популяций, атлантический лосось *Salmo salar* L., обыкновенный сиг *Coregonus lavareus* L., ряпушка *Coregonus albula* L., а также искусственно выращиваемая радужная форель *Parasalmo mykiss* Walb. В зависимости от задач количество экземпляров в одной возрастной группе составило от 7 до 30.

Определение активности исследуемых ферментов. Активность ферментов определяли в белых мышцах и печени рыб. Ткань гомогенизировали в 0,01 М трис-НСl буферном растворе (рН 7,5). Общую активность ферментов лактатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.27), малатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.37), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.49), 1-глицерофосфат-дегидрогеназы (КФ 1.1.1.8) определяли по общепринятым методам (Кочетов, 1980). Активность альдолазы (КФ 4.1.2.13) определяли по методике Веck 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 Смита (Smith, 1955). Активность ЦО выражали в к/г ткани, где k – константа реакции 1-го порядка. Содержание белка в тканях определяли по методу Бредфорд (Bradford, 1976), используя в качестве стандарта БСА.

Определение концентрации нуклеиновых кислот. Тотальную РНК выделяли из белых мышц по Хомчински и Саччи (Chomczynski, Sacchi, 1987) с помощью набора «для выделения тотальной РНК Yellow Solve» (Клоноген, С.-Петербург). ДНК белых мышц выделяли по методу Альнаби и Мартинеса (Aljanabi, Martinez, 1997). 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). Амплифи-

кацию проводили на приборе i-Cycler с оптической приставкой IQ5 (Bio-Rad) с использованием реакционной смеси 2.5 x для проведения ПЦР-РВ в присутствии интеркалирующего красителя SYBR Green I (Синтол, Россия). Праймеры к нуклеотидным последовательностям генов тяжелой цепи миозина (*MyHC*), цитохром *c* оксидазы субъединицы IV (*COX4*) и субъединицы I (*COX1*), лактатдегидрогеназы субъединицы А (*LDH-A*) и референсных генов фактора элонгации (*EF-1*) и *β -actin* 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 исследуемых генов, 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% 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 (<http://www.technelysium.com.au/ChromasPro.html>). Полученные последовательности нуклеотидов сравнивали с базой данных NCBI BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Гомология полученных фрагментов с последовательностью генов из генетического банка была не ниже 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 (Коросов, Горбач, 2007).

Глава 3. Результаты исследований и их обсуждение

1. 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, были установлены некоторые общие тенденции. Установлена 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 была 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., 1995; Savoie et al., 2008; Gauthier et al., 2008). Установлена положительная корреляция массы рыб с активностью МДГ - фермента цикла трикарбоновых кислот, а также активностью альдолазы, характеризующей степень использования углеводов в гликолизе. Полученные результаты указывают на то, что более крупные особи имеют более высокий уровень аэробного и анаэробного обмена и степень использования углеводов в процессах энергетического метаболизма в мышцах рыб.

Таблица 1

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

Вид	Возраст	Активность ЦО, М ± m	г (АС)	г (масса)	Активность ЛДГ, М ± m	г (АС)	г (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*
Сиги	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 $p < 0,05$

** - различия между возрастными группами достоверны при $p < 0,05$

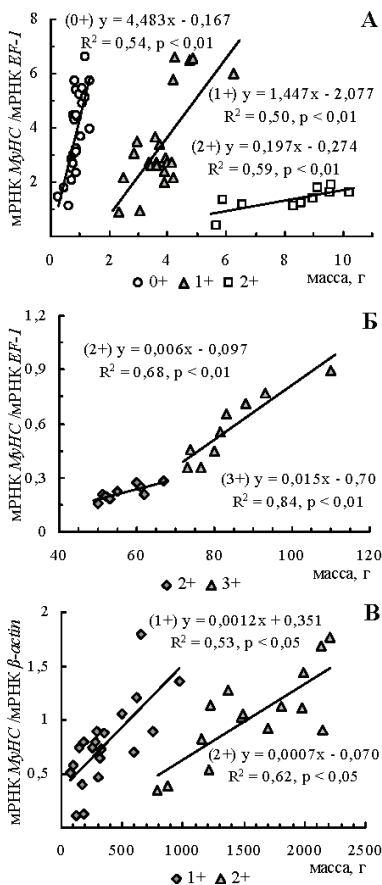


Рис. 1. Зависимость уровня экспрессии гена *MyHC* в белых мышцах от массы тела у лосося (А), сига (Б), форели (В)

Условные обозначения: — зависимость достоверна при $p < 0,05$; - - - - - зависимость недостоверна

рыбы большие по размерам имеют более высокий уровень процессов аэробного обмена в связи с большими энергетическими затратами на поддержание функциональной активности печени на необходимом уровне.

Отмечены высокие значения положительной корреляции между активностью ферментов печени 1-ГФДГ, Г-6-ФДГ и длиной и массой ос-

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 мышце и составляет 50% от количества всех мышечных белков (Watabe, Ikeda, 2006). 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 R. 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.

В печени 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; ряпушки 1+, 2+, 3+: 0,78, 0,56 и 0,86, соответственно ($p < 0,05$). Вероятно,

бей 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 у крупных особей указывает на более высокий уровень синтеза глицерофосфата из углеводов (Harmon, Sheridan, 1992), 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 реакций биосинтеза (Gauthier et al., 2008). Таким образом, отмеченная 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 в реакциях синтеза запасных и структурных липидов.

Таблица 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 ± m	r (АС)	r (масса)	Активность 1-ГФДГ M ± 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*
Сиги	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 $p < 0,05$

** - различия между возрастными группами достоверны при $p < 0,05$

2. Возрастные особенности взаимосвязи биохимических и молекулярно-генетических показателей с длиной и массой рыб

Для большинства исследуемых видов рыб активность ЦО мышц с возрастом снижалась, что связано с общей закономерностью снижения уровня аэробного обмена, потребления кислорода, и, в целом, уровня стандартного обмена в онтогенезе (Озернюк, 1985; Hinterleitner et al.; 1987, Goolish, 1995). Общей тенденции изменения активности ЛДГ с возрастом у исследованных видов рыб не обнаружено (табл. 1), что, вероятно, является следствием видовых осо-

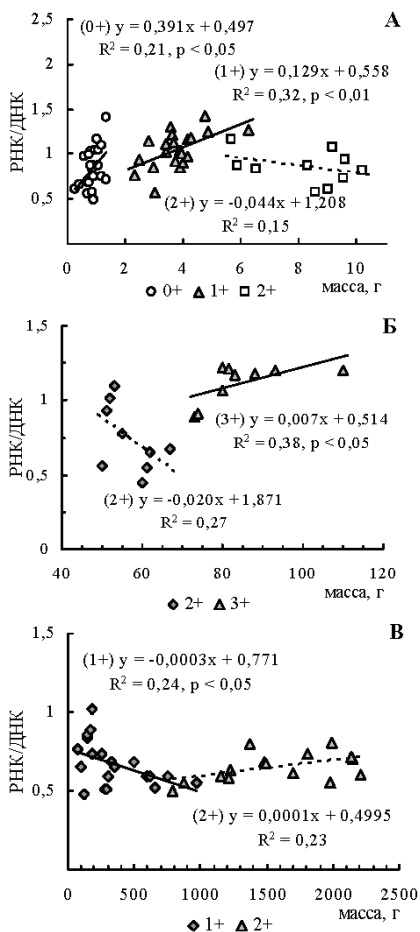


Рис. 2. Зависимость индекса РНК/ДНК в белых мышцах от массы тела у лосося (А), сига (Б), форели (В) Условные обозначения: — зависимость достоверна при $p < 0,05$; - - - - - зависимость недостоверна

жет значительно варьировать на разных стадиях онтогенеза, в зависимости от особенностей экологии вида и типа питания. Значение показателя также может зависеть от соотношения процессов гипертрофии и гиперплазии мышечных волокон (Peragon et al., 2001).

бенностей, в том числе, различием образа жизни и физической активности. При этом возрастные вариации активности ЛДГ коррелировали с изменением активности альдолазы. Это указывало 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 была положительной (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). Ранее было показано, что значение этого индекса положительно коррелирует с темпами роста лососевых (Varnavskiy et al., 1991; Peragon, 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

С возрастом увеличивается активность ферментов 1-ГФДГ и Г-6-ФДГ, что было установлено как для естественных видов рыб - ряпушки, сига, так и для искусственно выращиваемой форели (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.

3. Половые различия во взаимосвязи между активностью ферментов энергетического и углеводного обмена, уровня экспрессии гена тяжелой цепи миозина, индексом РНК/ДНК и размерно-весовыми характеристиками рыб

При исследовании неполовозрелых особей сига (2+ и 3+) различий в характере взаимосвязи изучаемых показателей с длиной и массой особей между самцами и самками выявлено не было. У половозрелых особей сига (возраст 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 (рис. 1Б), у половозрелых рыб, как самцов, так и самок отсутствовала. Это вероятно связано с тем, что на поздних стадиях созревания гонад и 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. Для самцов установлена положительная взаимосвязь активности ЦО мышц только с длиной ($r=0,59$, $p<0,05$). У самок взаимосвязь ЦО с длиной особей не показана, а с массой была отрицательной (рис. 3 А). В печени сига корреляция активности ЦО с массой особей была положительной для самцов и отрицательной для самок (рис. 3 Б). 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-6ФДГ 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 взаи-

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

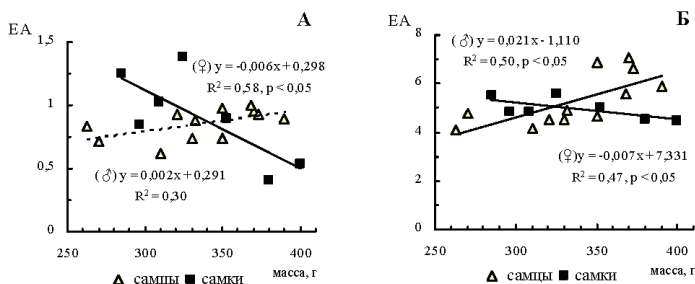


Рис. 3. Зависимость активности ЦО мышц (А) и печени (Б) от массы тела половозрелых самцов и самок сига возраста 5+

Условные обозначения: — зависимость достоверна при $p < 0,05$; - - - - - зависимость недостоверна; EA – единицы активности фермента

4. Сравнение исследуемых показателей и оценка их взаимосвязи с длиной и весом особей сига, обитающих в чистом озере и антропогенно-трансформированном водоеме

Сравнивали сига, обитающих в чистом озере Каменное и озере Костомукшское (Республика Карелия), преобразованном в технологический водоём Костомукшского горно-обогатительного комбината (хвостохранилище). Водоём служит для захоронения отходов производства (хвостов обогащения, которые в виде пульпы поступают в водоём) и обратного водоснабжения. Вода в озере характеризуется высоким содержанием ионов K^+ , Na^+ , Ca^+ , SO_4^{2-} , HCO_3^- , высокой минерализацией (до 645 г/мл), высоким значением pH (около 8,4), большим количеством мелкодисперсной минеральной взвеси (1,34 мг/л) (Состояние природных вод...2007). В белых мышцах сига из хвостохранилища отмечалась более низкая активность ЦО и более высокая активность ЛДГ по сравнению с сигами из оз. Каменное (рис. 4), что указывало на низкий уровень аэробного энергетического обмена и высокий уровень анаэробного процесса синтеза АТФ в этой ткани. Кроме того, у сига из сравниваемых озёр наблюдались различия в корреляции между активностью ЦО и активностью ЛДГ: у сига из чистого озера она была положительной ($r=0,82, p<0,05$), а у сига из хвостохранилища – отрицательной ($r=-0,71, p<0,05$). Это свидетельствовало о том, что в норме аэробный и анаэробный пути синтеза АТФ функционируют однонаправленно, а в неблагоприятных условиях снижением интенсивности аэробного метаболизма частично компенсируется увеличением уровня анаэробного (Richards, 2009). Активность альдолазы в мышцах сига из озера Костомукшское была ниже по сравнению с сигами из относительно чистого

озера (рис. 4). При этом в мышцах сига из чистого водоема была отмечена положительная корреляция активности альдолазы с активностью ЦО и ЛДГ ($r_{\text{ЦО}}=0,88$, $r_{\text{ЛДГ}}=0,82$, $p<0,05$), а для сига из техногенного озера установлена взаимосвязь активности альдолазы только с активностью ЛДГ ($r_{\text{ЛДГ}}=0,76$, $p<0,05$). Это может свидетельствовать о том, что в мышцах сига из озера Костомукшское происходило перераспределение использования углеводов между аэробным и анаэробным энергетическим метаболизмом в сторону усиления их использования в анаэробном синтезе АТФ. Значение показателя РНК/ДНК в белых мышцах сигов, обитающих в хвостохранилище, составило $0,61\pm 0,07$, что было ниже по сравнению с таковым в мышцах рыб из чистого водоема $1,09\pm 0,05$ ($p<0,05$). Это указывает на снижение уровня синтеза белков, ухудшение состояния рыб и снижение темпов их роста (Mohapatra, Noble, 1992; Audet, Couture, 2003; Varo et al., 2007; Mankiewicz-Boczek et al., 2010). Эти выводы подтверждаются и данными по линейно-весовым характеристикам рыб, свидетельствующими о меньших размерах сигов из неблагоприятного водоема. При исследовании взаимосвязи исследуемых показателей с размерами сигов были установлены как общие тенденции, так и различия. В частности, для сигов из обоих озер была характерна положительная взаимосвязь активности ЦО, уровня экспрессии гена миозина и индекса РНК/ДНК белых мышц с размерами особей (рис. 5 А, Б, В). Таким образом, несмотря на снижение темпов роста сига из хвостохранилища, закономерности формирования вариаций по размерам, установленные по перечисленным показателям мышц, аналогичны таковым для сига из чистого водоема.

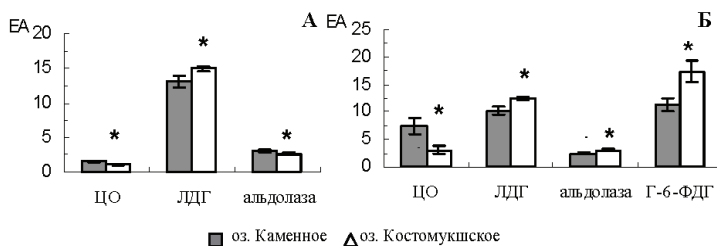


Рис. 4. Активность ферментов (ЕА) мышц (А) и печени (Б) сига из озер Каменное и Костомукшское, (мкмоль субстрата/мин/г (для ЛДГ и альдолазы - $\text{ЕА} \cdot 10^{-1}$), к/г – для ЦО), $m \pm M$

* - различия достоверны при $p < 0,05$

В отличие от сига из озера Каменное, для сига из хвостохранилища не установлена взаимосвязь ЛДГ мышц с размерами особей (рис. 5 Г), что, вероятно, связано с изменением интенсивности путей аэробного и анаэробного синтеза АТФ в общем энергообеспечении клеток мышц и усилением роли анаэробного обмена как компенсаторного механизма.

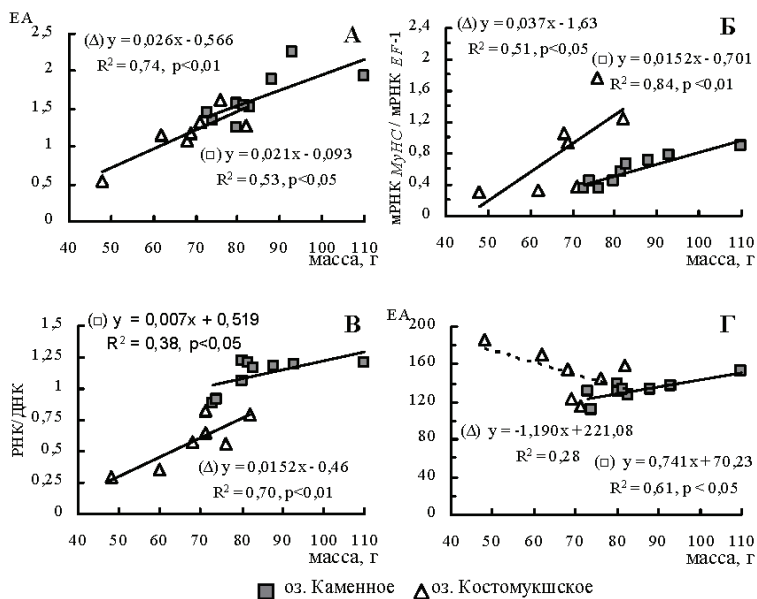


Рис. 5. Зависимость активности ЦО (А), уровня экспрессии гена *MuHC* (Б), индекса РНК/ДНК (В), активности ЛДГ (Г) белых мышц от массы тела особей сига из озера Каменное и Костомукшское
 Условные обозначения: как на рисунке 3

В печени сига из озера Костомукшское установлены более низкие значения активности ЦО и высокие значения альдолазы, ЛДГ, Г-6-ФДГ по сравнению с таковыми у сига из озера Каменное. Это указывает на более низкий уровень аэробного обмена, более высокую степень окисления углеводов в гликолизе и пентозо-фосфатном пути в печени рыб из неблагоприятного водоема. Корреляция активности ЦО, Г-6-ФДГ, 1-ГФДГ печени с размерами сигов из хвостохранилища была положительной, что соответствовало характеру взаимосвязи этих ферментов с длиной и массой сигов из чистого озера.

5. Соотношение активности ферментов ЦО и ЛДГ и уровня экспрессии генов *COX1*, *COX4* и *LDH-A* в белых мышцах при формировании размерного разнообразия рыб исследуемых видов

Исследовали взаимосвязь уровня экспрессии генов цитохром с оксидазы субъединиц I и IV (*COX1* и *COX4*) и лактатдегидрогеназы субъединицы А (*LDH-A*) с размерно-весовыми характеристиками особей и активностью самих

ферментов. У млекопитающих и рыб молекула цитохром *c* оксидазы состоит из 13 субъединиц: 3 основных каталитических, в том числе COX1, кодируемых митохондриальным геномом, и 10 минорных, в том числе COX4, которые кодируются ядерным геномом. Вместе с тем, мало изучен вопрос о том, с какими субъединицами связана регуляция активности фермента ЦО на уровне транскрипции (Davies, Moyes, 2007; LeMonie et al., 2008; Duggan et al., 2011). На примере лосося было показано, что взаимосвязь экспрессии гена ядерной субъединицы *COX4* с размерами особей и активностью ЦО была положительной для всех возрастных групп (рис. 6 А и 7 А). Корреляция уровня экспрессии гена митохондриальной субъединицы *COX1* с размерами особей установлена только для лосося возраста 0+ и 1+, а с активностью ЦО – только для возрастных групп 1+ и 2+ (рис. 6 Б и 7 Б). В целом, степень взаимосвязи гена

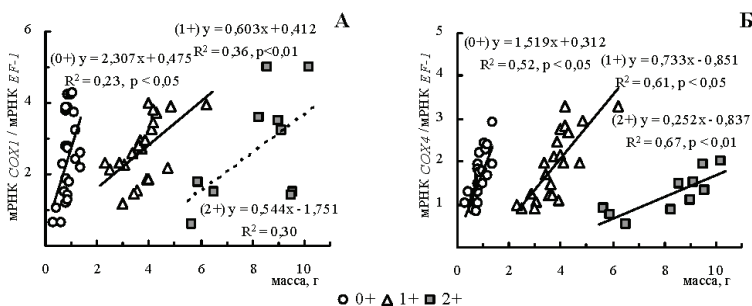


Рис. 6. Зависимость уровня экспрессии генов *COX1* (А) и *COX4* (Б) в белых мышцах от массы особей лосося разных возрастных групп
 Условные обозначения: — зависимость достоверна при $p < 0,05$;
 ---- зависимость недостоверна

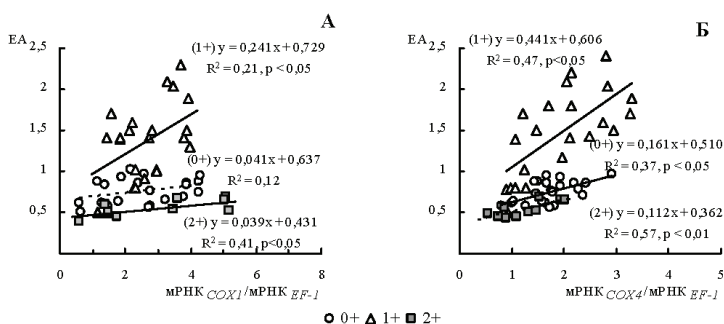


Рис. 7. Зависимость активности цитохром *c* оксидазы от уровня экспрессии генов *COX1* (А) и *COX4* (Б) в белых мышцах лосося разных возрастных групп
 Условные обозначения: как на рисунке 3

Таблица 3

**Уровень экспрессии генов *COX1* и *COX4*
в мышцах лососей
трех возрастных групп**

Возраст	мРНК <i>COX1</i> / мРНК <i>EF-1</i>	мРНК <i>COX4</i> / мРНК <i>EF-1</i>
0+	2,48 ± 0,21	1,62 ± 0,1
1+	2,79 ± 0,19	1,98 ± 0,14*
2+	2,74 ± 0,51	1,24 ± 0,16*

* - различия между возрастными группами достоверно, $p < 0.05$

лю изменению уровня экспрессии гена ядерной субъединицы *COX4* (табл. 3). Как известно, субъединицы, кодируемые митохондриальным геномом, непосредственно принимают участие в катализе и, вероятно, представлены в избыточном количестве (Kadenbach et al., 2000; Duggan, 2010). Возможно, этим и объясняется наблюдаемое нами постоянство уровня экспрессии гена субъединицы *COX1* в исследованных возрастных группах и меньшая степень взаимосвязи с активностью ЦО и размерами особей. Ядерная субъединица *COX4* является регуляторной, имеет аллостерический центр (сайт связывания с АТФ) (Kadenbach et al., 2000; Little, 2010). Можно полагать, что количество *COX4* влияет также на уровень синтеза ЦО, так как она первой из ядерных субъединиц включается в формирование структуры фермента (Duggan, 2010). Видимо, участие субъединицы *COX4* в регуляции активности фермента, а также в формировании структуры фермента и определяет ее более сильную взаимосвязь с активностью ЦО. Поскольку аналогичная взаимосвязь экспрессии гена ЦО субъединицы IV с размерами особей и активностью фермента установлена и для других исследованных видов рыб - сига и форели, то, вероятно, изменение активности ЦО при формировании размерного разнообразия рыб в первые годы жизни регулируется, главным образом, на уровне транскрипции гена ядерной субъединицы *COX4*.

При изучении уровня экспрессии гена *LDH-A* в белых мышцах лосося разного возраста показана положительная корреляция этого показателя как с длиной и массой особей, так и с активностью фермента (рис. 8). Вероятно, различие в активности ЛДГ мышц у рыб разного размера определяются регуляцией на уровне транскрипции гена анаэробной субъединицы А лактатдегидрогеназы, характерной для этой ткани. Такая же взаимосвязь установлена нами и для сига из чистого озера. Полученные результаты согласуются с аналогичными исследованиями механизмов регу-

субъединицы *COX1* с размерами особей была ниже, чем таковая для экспрессии гена *COX4*. Был исследован уровень экспрессии генов *COX1* и *COX4* в разных возрастных группах. Уровень экспрессии гена митохондриальной субъединицы *COX1* во всех возрастных группах лосося оставался на одинаковом уровне. Возрастное изменение активности ЦО (табл. 1) в белых мышцах лосося соответствова-

ляции активности пируваткиназы (ПК, фермента гликолиза), в результате которых была установлена взаимосвязь экспрессии гена ПК с активностью ПК и массой тела годовиков заводской форели (Burness et al., 1999) и четырёх видов морских окуней (Davies, Moys, 2007).

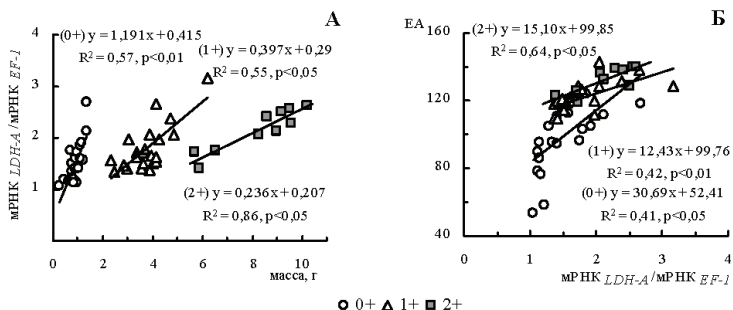


Рис. 8. Зависимость уровня экспрессии гена *LDH-A* от массы особей (А), зависимость активности ЛДГ от уровня экспрессии гена *LDH-A* (Б) лосося разных возрастных групп

Условные обозначения: как на рисунке 3

Следует отметить, что для сигов из хвостохранилища взаимосвязь экспрессии гена *LDH-A* с длиной и массой особей и активностью ЛДГ не обнаружена, что, видимо, связано с изменением регуляции активности фермента и изменением интенсивности и направления реакции, катализируемой ЛДГ.

ВЫВОДЫ

1. Установлена положительная взаимосвязь между активностью цитохром *c* оксидазы, лактатдегидрогеназы, уровнем экспрессии гена тяжелой цепи миозина в мышцах, активностью ферментов цитохром *c* 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.

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

3. Для сига взаимосвязь между активностью цитохром *c* оксидазы, индексом РНК/ДНК, уровнем экспрессии гена тяжелой цепи миозина в мышцах, активностью цитохром *c* 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 *c* 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.

4. Для сига из чистого и техногенного водоемов активность цитохром *c* оксидазы, индекс РНК/ДНК и уровень экспрессии гена тяжелой цепи миозина в мышцах и активность цитохром *c* оксидазы, 1-глицерофосфатдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в печени повышаются с увеличением размера и массы особей. Различия наблюдаются только во взаимосвязи длины и массы особей с активностью лактатдегидрогеназы и альдолазы мышц. Это связано с возрастанием интенсивности анаэробного обмена и его роли в компенсаторных механизмах поддержания энергетического гомеостаза при более низком уровне аэробного обмена, наблюдавшегося у сига в условиях антропогенного воздействия.

5. Для одновозрастных особей сига, лосося, радужной форели уровень экспрессии генов *COX4* и *LDH-A*, также как и активность ферментов цитохром *c* оксидазы и лактатдегидрогеназы в белых мышцах, повышается с увеличением размера и массы. Это свидетельствует о регуляции активности ферментов при формировании размерного разнообразия рыб на уровне транскрипции соответствующих генов. У рыб, обитающих в условиях техногенного водоема, взаимосвязи уровня экспрессии *LDH-A* с активностью фермента лактатдегидрогеназы не выявлено.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

ЦО – цитохром *c* оксидаза

МДГ – малатдегидрогеназа

1-ГФДГ – α -глицерофосфатдегидрогеназа

Г-6-ФДГ – глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа

БСА - бычий сывороточный альбумин

MYHC – (myosin heavy chain) тяжелая цепь миозина

COX – (cytochrome *c* oxidase) цитохром *c* оксидаза

LDH-A – (lactate dehydrogenase - A) лактатдегидрогеназа

EF-1 – (elongation factor-1) фактор элонгации – 1

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. **Чурова М.В.**, Мещерякова О.В., Немова Н.Н., Шатуновский М.И. Соотношение роста и некоторых биохимических показателей рыб на примере микижи *Parasalmo mykiss* Walb. // Известия РАН. Сер. Биол. – 2010. – № 3. – С. 289 – 299.

2. **Чурова М.В.**, Мещерякова О.В., Немова Н.Н. Взаимосвязь активности ферментов энергетического обмена с темпами роста и размерами рыб // Ученые записки ПетрГУ. – 2011. – № 4. – С. 31 – 37.

3. **Чурова М.В.**, Мещерякова О.В., Ильмаст Н.В., Немова Н.Н. Оценка состояния сига *Coregonus Lavaretus* L., обитающих в хвостохранилище горнообогатительного комбината, по некоторым биохимическим и молекулярно-генетическим показателям // Труды КарНЦ РАН. Сер. Экспериментальная биология. – 2011. – №3. – С. 137–145.

4. Мещерякова О.В., **Чурова М.В.**, Немова Н.Н. Биохимические методы оценки роста и развития рыб. Корреляции активности некоторых ферментов метаболизма с показателями веса и длины особей у разных возрастных групп ряпушки оз. Сямозеро (Республика Карелия) // Организмы, популяция, экосистемы: проблемы и пути сохранения биоразнообразия. Матер. всерос. конф. с междунар. участием «Водные и наземные экосистемы: проблемы и перспективы исследования» Вологда, 24–28 ноября 2008 г. – Вологда, 2008. – С. 71–75.

5. Мещерякова О.В., **Чурова М.В.**, Шатуновский М.И., Немова Н.Н. Перспективы использования некоторых биохимических показателей в оценке скорости роста ценных видов лососевых рыб – объектов товарного производства // Высокие технологии, фундаментальные исследования, промышленность. Сборник трудов шестой междунар. научно-практической конф. «Исследование, разработка и применение высоких технологий в промышленности», Санкт-Петербург, 16-17.10.2008. – Санкт-Петербург, 2008. – С. 160–161.

6. Мещерякова О.В., **Чурова М.В.**, Немова Н.Н. Особенности энергетического обмена молоди лосося при заболевании некрозом плавников // Садковое рыбоводство. Технология выращивания. Кормления рыб и сохранения их здоровья. Матер. науч.конф. Петрозаводск, 13-17 октября 2008 г. – Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2008. – С. 73–76.

7. **Мещерякова О.В.**, Унжаков А.Р., Хижкин Е.А., Чурова М.В., Немова Н.Н. Окисление лактата в митохондриях животных: механизм и значение // 4-й Междунар. симпозиум: Современные проблемы и методы экологической физиологии и патологии млекопитающих введенных в зоокультуру. Матер. симпозиума. Петрозаводск. 23-25 сентября 2009 г. – Петрозаводск, 2009. – с.175 – 181.

8. **Чурова М.В.**, Мещерякова О.В., Шатуновский М.И. Корреляция биохимических показателей с линейно-весовыми параметрами особей некоторых видов рыб // Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов европейского севера: матер. XXVIII междунар. конф. Петрозаводск, 5-8 октября 2009 г. – Петрозаводск: изд-во КарНЦ РАН, 2009 – С. 612 – 617.

9. **Чурова М.В.**, Мещерякова О.В., Немова Н.Н. Использование показателя РНК/ДНК и уровня экспрессии гена тяжелой цепи миозина в оценке интенсивности роста некоторых видов рыб // Биология – наука XXI века: 13-я Пушчинская междунар. школа-конф. молодых ученых. Сборник тезисов. Пушино, 28 сентября — 2 октября 2009. – Пушино, 2009. – С. 252

10. **Churova M.V.**, Mescheryakova O.V., Shatunovsky M.I., Nemova N.N. The search of biochemical indicators for estimation of growth and development of fish under anthropogenic influence on water ecosystems of the North-west part of Russia // Arctic marine ecosystems in an era of rapid climate change: abstracts of the internat. scient. conf. «Arctic Frontiers». 18 – 23 January, 2009. – Tromso, 2009 – P.122.

11. **Churova M.V.**, Mescheryakova O.V., Nemova N.N. Energy and carbohydrate metabolism enzymes as bioindicators of fish health under anthropogenic transformation of lake ecosystem // 15th international symposium on Pollutant Responses in Marine Organisms. 17-20 May, 2009. – Bordeaux, France, 2009. – P.113.

12. **Чурова М.В.**, Мещерякова О.В., Немова Н.Н. Влияние сточных вод горно-обогачительного комбината на некоторые ферменты энергетического и углеводного обмена рыб // Природа морской Арктики: современные вызовы и роль науки: Тез. докл. Междунар.науч.конф. (г.Мурманск, 10-12 марта 2010 г.). – Апатиты: Изд-во Кольского научного центра РАН, 2010. – с. 221-223.

13. **Чурова М.В.**, Мещерякова О.В., Немова Н.Н. Изменение уровня экспрессии генов и активности некоторых ферментов углеводного и энергетического обмена у сига (*Coregonus lavaretus* L.), обитающих в хвостохранилище горно-обогатительного комбината // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов: Матер. III Междунар. конф. с элементами школы для молодых учёных, аспирантов и студентов. Петрозаводск, 22 июня – 26 июня 2010 года. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2010. – С. 193 – 195.

14. Мещерякова О.В., **Чурова М.В.**, Немова Н.Н. Изменение активности некоторых митохондриальных ферментов органов рыб при антропогенной нагрузке // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов: Матер. III Междунар. конф. с элементами школы для молодых учёных, аспирантов и студентов. Петрозаводск, 22 июня – 26 июня 2010 года. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2010. – С. 116 – 117.

15. **Чурова М. В.**, Мещерякова О. В., Немова Н. Н. Взаимосвязь линейно-весовых характеристик с активностью некоторых ферментов и молекулярно-генетическими показателями в белых мышцах сига разных возрастных групп из озера Каменное (Республика Карелия) / Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов: сборник научных статей. Том I. Экологическая физиология и биохимия водных организмов: сборник научных статей. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2010. – С. 304 – 312.

16. Мещерякова О. В., **Чурова М. В.**, Немова Н. Н. Митохондриальный лактатокисляющий комплекс и его значение для поддержания энергетического гомеостаза клеток / Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Том I. Экологическая физиология и биохимия водных организмов: сборник научных статей. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2010. 163-172 с.

17. **Churova M.V.**, Mescheryakova O.V., Veselov A.E., Sterligova O.P., Nemova N.N. Myosin expression level in white muscle as a marker of fish growth // Current problems of physiology and biochemistry of aquatic organisms. Vol.II. Arctic and subarctic biological resources – potential for biotechnology: collected scientific papers of the first International seminar and PhD workshop (6-9 september, 2010, Petrozavodsk). – Petrozavodsk: Karelian Research Centre RAS, 2010. – p. 18 – 22.

18. **Чурова М.В.**, Мещерякова О.В., Немова Н.Н. Корреляция биохимических и молекулярно-генетических показателей с размерами сига *Coregonus Lavaretus* L. из оз. Каменное (Республика Карелия) // Современные проблемы и перспективы изучения мирового океана. I Научно-практическая конфер. молодых ученых ФГУП «ВНИРО»: тезисы. – М.: Изд-во «ВНИРО», 2010. – С. 24 – 27.

19. **Чурова М.В.**, Мещерякова О.В., Немова Н.Н. Активность цитохром с оксидазы и уровень экспрессии генов субъединиц *COX1* и *COX4* в белых мышцах атлантических лососей (*Salmo Salar* L.) разного возраста // V Российский симпозиум «Белки и пептиды» Петрозаводск, 8-12 августа, 2011. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2011. – С. 354.

20. **Чурова М.В.**, Мещерякова О.В., Веселов А. Е., Немова Н.Н. Использование некоторых биохимических и молекулярно-генетических показателей в исследовании процессов роста рыб на примере молоди лосося *Salmo salar* L разных возрастных групп из реки Индэра (Кольский полуостров) // Современное состояние биоресурсов внутренних водоемов. Материалы докладов I Всероссийской конференции с международным участием. 12-16 сентября 2011 г., Борок, Россия. – М.: АКВАРОС, 2011. – Том 2. – С. 809 – 816.

Формат 60x84 ¹/₁₆ Бумага офсетная. Гарнитура «Times».
Уч.-изд. л. 1,2. Усл. печ. л. 1,3. Подписано в печать 10.02.12.
Тираж 100 экз. Изд. № 274. Заказ № 27.

Карельский научный центр РАН
Редакционно-издательский отдел
185003, Петрозаводск, пр. А. Невского, 50