
КРАТКИЕ
СООБЩЕНИЯ

УДК 597-154.31+597.554.3:577.15

КРАТКОВРЕМЕННОЕ ГОЛОДАНИЕ МЕНЯЕТ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ГЛИКОЗИДАЗ КИШЕЧНИКА МОЛОДИ КАРПА *Cyprinus carpio* L. К ПОВЫШЕНИЮ ТЕМПЕРАТУРЫ ВОДЫ

© 2020 г. А. А. Филиппов^а, И. Л. Голованова^{а,*}

^аИнститут биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук,
пос. Борок, Некоузский р-н, Ярославская обл., Россия

*e-mail: golovanova@ibiw.ru

Поступила в редакцию 27.11.2018 г.

После доработки 10.05.2019 г.

Принята к публикации 22.07.2019 г.

Установлено, что активность гликозидаз (мальтаза и амилолитическая активность) в слизистой оболочке кишечника молоди карпа *Cyprinus carpio* (L.) при резком увеличении температуры воды зависит от физиологического состояния (сытость/голод). Рыбы были акклиматизированы к температуре 22°C в летний (сеголетки) и зимний (двухлетки) сезоны. Повышение температуры воды со скоростью 8.0°C/ч приводило к росту амилолитической активности у сытых рыб, активность мальтазы не изменялась. Голодание в течение 3 или 10 сут меняло реакцию гликозидаз на температурный стресс: активность мальтазы росла, амилолитическая активность не изменялась. Кратковременное голодание не влияло на термоустойчивость молоди карпа: значения критического термического максимума у голодных и сытых особей не различались.

Ключевые слова: карп, кратковременное голодание, гликозидазы, мальтаза, амилолитическая активность, повышение температуры воды, критический термический максимум

DOI: 10.31857/S0320965220030031

Глобальное потепление, резкие колебания климата, а также сброс подогретых вод промышленных предприятий, атомных и тепловых электростанций нарушают температурный режим водоемов. Даже кратковременное изменение температуры до значений, лежащих за пределами метаболического оптимума, может приводить к изменению обмена веществ (Константинов, 1993; Озернюк, 2000), интенсивности питания и скорости переваривания пищи, а также инактивации и денатурации ферментов (Голованов, 2013; Уголев, Кузьмина, 1993). Пищеварительные ферменты рыб хорошо адаптированы к условиям функционирования и их активность, как правило, повышается с ростом температуры (Kuz'mina, 2017). Высокая температура (25–30°C) способствует лучшей утилизации углеводов у карпа *Cyprinus carpio* (L.) и превращению их избытка в резервные липиды (Остроумова, 2012). Однако резкое увеличение температуры воды со скоростью 4–50°C/ч снижает активность гликозидаз (ферментов, гидролизующих углеводы) в кишечнике мо-

лоди рыб сем. Cyprinidae в 2–7.5 раз во все сезоны, исключая летний (Golovanova et al., 2013).

Активно растущая молодь, особенно у рыб планкто- и бентофагов, очень чувствительна к недостатку пищи (Ивлев, 1997). Голодание — мощный экологический фактор, способный менять реакцию организма на абиотические (рН, соленость, содержание кислорода, температура, токсиканты) и на биотические (грибковые и паразитарные заболевания, присутствие хищника) факторы (Ивлев, 1997). Ранее установлено, что функциональное состояние пищеварительной системы (сытость/голод) влияет на чувствительность кишечных гликозидаз рыб к действию магнитной бури (Kuz'mina et al., 2014). Однако реакцию гликозидаз на температурный стресс в зависимости от функционального состояния рыб ранее не исследовали.

Цель работы — исследовать влияние кратковременного голодания на активность гликозидаз в слизистой оболочке кишечника молоди карпа при резком повышении температуры воды.

В работе использованы сеголетки (0+) и двухлетки (1+) карпа *Cyprinus carpio* (L.), выращенные в прудах с естественной кормовой базой на стационаре полевых и экспериментальных работ “Сунога”

Сокращения: АА — амилолитическая активность; КТМ — критический термический максимум.

Таблица 1. Активность гликозидаз в кишечнике молоди карпа при нагреве воды со скоростью 8.0°C/ч

Физиологическое состояние	Активность гликозидаз, мкмоль/(г мин)	
	АА	активность мальтазы
Сеголетки		
Сытость	$84.50 \pm 7.95^*$	26.62 ± 0.59
	53.67 ± 0.54	25.80 ± 0.40
Голод	45.83 ± 2.40	$20.82 \pm 0.57^*$
	44.67 ± 0.96	18.24 ± 0.35
Двухлетки		
Сытость	$84.65 \pm 3.81^*$	6.83 ± 0.16
	52.13 ± 0.52	7.31 ± 0.05
Голод	47.87 ± 1.70	$6.46 \pm 0.21^*$
	41.94 ± 1.10	5.57 ± 0.21

Примечание. Над чертой — при нагреве воды со скоростью 8.0°C, под чертой — без нагрева (контроль). $M \pm m$ — средние значения $\pm$ ошибка; АА — амилалитическая активность. Отличия от контроля достоверны при $p < 0.05$.

Института биологии внутренних вод РАН. Сеголетки массой 1.49 ± 0.21 г были отловлены в начале августа при температуре воды 18°C, двухлетки массой 10.6 ± 0.57 г — в конце сентября при температуре воды 13°C. После отлова рыб в течение 1–2 ч доставляли в лабораторию, где помещали в аквариумы объемом 400 л с водой той же температуры и постоянной аэрацией. До начала экспериментов и в период акклимации рыб кормили ежедневно личинками хирономид *Chironomus* sp. в количестве 5–10% массы тела. Сеголетков в течение 10 сут после вылова акклимировали к температуре воды 22°C, затем помещали в два аквариума объемом 60 л по 18 экз. в каждом. В одном аквариуме рыб в течение 3 сут продолжали кормить личинками хирономид в количестве 5–10% массы тела, в другом рыб не кормили. Двухлетков карпа содержали в лабораторных условиях до середины января, затем в течение 10 сут акклимировали к температуре воды 22°C. Схема дальнейшего эксперимента подобна описанной для сеголетков, лишь период голодания у двухлетков был 10 сут. Воду в аквариумах меняли один раз в трое суток, при этом температурный режим и фотопериод (свет/темнота 12/12 ч, свет 07:00–19:00) оставались постоянными.

Затем группу рыб (по 6 экз. в каждой, две повторности) помещали в экспериментальный аквариум объемом 60 л, оборудованный системой нагрева и аэрации. Температуру воды в аквариуме повышали со скоростью 8°C/ч до потери рыбами равновесия (переворот кверху брюхом), сублетальное значение температуры фиксировали как КТМ. Такая скорость повышения температуры может наблюдаться при аварийных сбросах подогретых вод промышленных предприятий, а также часто применяется в качестве стандартной при

определении термоустойчивости рыб (Голованов, 2013; Beitinger et al., 2000). Продолжительность эксперимента не превышала 2 ч. Рыб контрольной группы содержали при температуре акклимации и не подвергали нагреву. Всего в работе использовано по 36 экз. сеголетков и годовиков.

Для определения активности гликозидаз готовили суммарные гомогенаты из слизистой оболочки медиального отдела кишечника от 6 экз. рыб каждой экспериментальной группы, используя раствор Рингера для холоднокровных животных (110 ммоль NaCl, 1.9 ммоль KCl, 1.3 ммоль CaCl₂, pH 7.4). Его же применяли для приготовления растворов субстратов (растворимый картофельный крахмал в концентрации 18 г/л и мальтоза в концентрации 50 ммоль/л). Инкубацию гомогената и субстрата проводили в течение 20–30 мин при температуре 20°C, pH 7.4. Амилалитическую активность, отражающую суммарную активность ферментов, гидролизующих крахмал (α -амилаза КФ 3.2.1.1, глюкоамилаза КФ 3.2.1.3 и мальтаза КФ 3.2.1.20), оценивали модифицированным методом Нельсона (Уголев и др., 1969), активность мальтазы — глюкозооксидазным методом с помощью набора для клинической биохимии “Фото-глюкоза” (ООО “Импакт”, Россия). Активность ферментов определяли в пяти биохимических повторностях и выражали в микромолях продуктов реакции, образующихся за 1 мин инкубации в расчете на 1 г влажной массы ткани с учетом фона (количества глюкозы в исходном гомогенате) (табл. 1). Достоверность различий оценивали с помощью однофакторного анализа (ANOVA, LSD-тест) при $p \leq 0.05$.

Активность гликозидаз у голодных карпов обеих возрастных групп на 17–29% ниже, чем у сытых, $p < 0.05$. Реакция гликозидаз на повыше-

ние температуры воды со скоростью $8.0^{\circ}\text{C}/\text{ч}$ у голодных и сытых карпов различна. У сеголетков при нагреве воды АА возрастает на 57% лишь у сытых, а активность мальтазы на 14% лишь у голодных особей по сравнению с активностью ферментов у рыб контрольной группы. У двухлетков рост температуры воды также приводит к повышению АА на 63% лишь у сытых, активности мальтазы — на 16% лишь у голодных особей. Ранее установлено, что у сытых сеголетков карпа, акклимированных к температуре 3°C зимой, рост температуры воды со скоростью $10.0^{\circ}\text{C}/\text{ч}$ снижает АА на 40% (Golovanova et al., 2013). Очевидно, реакция гликозидаз на резкое повышение температуры воды в зимний период зависит от температуры предварительной акклимации. Адаптивное повышение активности мальтазы в слизистой оболочке кишечника у голодных рыб при резком увеличении температуры воды отмечено впервые. Известно лишь о повышении активности мальтазы в 2.7 раза в целом организме годовиков головешки-ротана *Percottus glenii* Dyb. (акклимированных осенью к температуре 13°C) с ростом температуры воды со скоростью $8.0^{\circ}\text{C}/\text{ч}$, при этом АА снижалась в 1.7 раза (Аминов, 2018). По-видимому, у голодных и у сытых рыб функционируют разные изоформы мальтазы, отличающиеся по температурным характеристикам. Продолжительность голодания (3 сут у сеголетков и 10 сут у двухлетков) не влияла на силу и направленность изменений активности гликозидаз при температурном стрессе. Следует отметить, что АА у карпов, акклимированных к температуре 22°C зимой, и у сеголетков, акклимированных к той же температуре летом, почти одинакова. В то же время, активность мальтазы у двухлетков в ~3 раза ниже, что может быть обусловлено сменой объектов питания и изменением биохимического состава кормовых организмов. Кроме того, эти различия могут быть связаны с большей адаптационной пластичностью панкреатических (α -амилаза) ферментов по сравнению с собственно мембранными (мальтаза), а также различиями температурных характеристик указанных ферментов (Уголев, Кузьмина, 1993).

Адаптации пищеварительной системы рыб к изменению температуры внешней среды реализуются, главным образом, благодаря перестройкам ферментных систем и липидного матрикса мембран (Уголев, Кузьмина, 1993). Регуляция скорости ферментативных процессов осуществляется преимущественно на клеточном и молекулярном уровне посредством изменения концентрации и свойств ферментов (Hochachka, Somero, 2002). В экспериментах *in vivo* изменение активности пищеварительных гидролаз с ростом температуры воды может свидетельствовать как об изменении интенсивности синтеза ферментов, так и условий их функционирования. Поскольку для синтеза

новых пищеварительных ферментов требуется, по крайней мере, несколько суток (Уголев, Кузьмина, 1993; Kuz'mina, 2017), а продолжительность резкого температурного воздействия в наших экспериментах не превышала 2 ч, снижение активности гликозидаз, вероятно, обусловлено изменением свойств существующих ферментов.

Значения КТМ при скорости нагрева $8^{\circ}\text{C}/\text{ч}$ у голодных сеголетков достигали $37.3 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$, у сытых — $37.8 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$, у двухлетков 36.1 ± 0.23 и $35.7 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ соответственно. Отсутствие статистически значимых различий КТМ у голодных и сытых особей каждой возрастной группы показывает, что как трехдневное голодание у сеголетков, так и десятидневное голодание у двухлетков, не влияет на термоустойчивость молоди карпа. При этом в зимний сезон значения КТМ у двухлетков карпа, акклимированных к температуре 22°C , были на 8°C выше, чем у акклимированных к температуре 3°C (Golovanova et al., 2013). Эти результаты подтверждают предположение, что температура акклимации оказывает определяющее влияние на уровень КТМ у неполовозрелых особей (Голованов, 2013). На примере леща *Abramis brama* (L.) и плотвы *Rutilus rutilus* (L.), акклимированных к температуре 22°C , а также пеляди *Coregonus peled* (Gmelin), акклимированной к температуре 16°C летом, показано, что пятисуточное голодание снижает значение верхней летальной температуры (определяемой по прекращению движения жаберных крышек) на $2.1\text{--}3.1^{\circ}\text{C}$. У сытых сеголетков леща оно было 34.6 , плотвы — 31.7 , пеляди — 29.2°C , у голодных 31.8 , 28.6 и 27.1°C соответственно (Голованов, 2013). В то же время, в некоторых случаях голодание не играет существенной роли, а доминирует другой фактор, например, паразитарные заболевания (Ивлев, 1997). Поскольку температурные и трофические условия в значительной мере определяют эффективность питания рыб, изменения активности пищеварительных ферментов при резком повышении температуры позволяют прогнозировать последствия термального загрязнения водной среды.

Выводы. Чувствительность гликозидаз кишечника молоди карпа к повышению температуры воды зависит от физиологического состояния особей. У сытых сеголетков и двухлетков карпа, акклимированных к температуре 22°C , рост температуры со скоростью $8^{\circ}\text{C}/\text{ч}$ снижает АА, у голодных — повышает активность мальтазы. Продолжительность голодания (3 сут у сеголетков и 10 сут у двухлетков) не оказывает влияния на наблюдаемые эффекты. Кратковременное голодание не влияет на термоустойчивость молоди карпа (значения КТМ у голодных и сытых особей не различаются). Эти данные позволяют предположить, что резкий рост температуры воды может изменять скорость ассимиляции углеводов в ки-

шечнике молоди в зависимости от физиологического состояния рыб.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают глубокую благодарность В.К. Голованову и Н.С. Некрутову за проведение экспериментов с нагревом воды.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания № АААА-А18-118012690102-9, а также при частичной поддержке темы Президиума РАН: 0122-2018-0001.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Аминов А.И. 2018. Влияние гербицида Раундап на активность гликозидаз рыб и объектов их питания: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Нижний Новгород: Нижегородский гос. ун-т. 24 с.
- Голованов В.К. 2013. Эколого-физиологические закономерности распределения и поведения пресноводных рыб в термоградиентных условиях // *Вопр. ихтиол.* Т. 53. № 3. С. 286.
<https://doi.org/10.7868/S0042875213030016>
- Ивлев В.С. 1997. Экспериментальная экология питания рыб. Киев: Наук. думка.
- Константинов А.С. 1993. Влияние колебаний температуры на рост, энергетику и физиологическое состояние молоди рыб // *Изв. РАН. Сер. биол.* № 1. С. 55.
- Озернюк Н.Д. 2000. Температурные адаптации. Москва: Изд-во Мос. ун-та.
- Остроумова И.Н. 2012. Биологические основы кормления рыб. Санкт-Петербург: Гос. НИИ озер. и реч. рыб. хоз-ва.
- Уголев А.М., Кузьмина В.В. 1993. Пищеварительные процессы и адаптации у рыб. Санкт-Петербург: Гидрометеоиздат.
- Уголев А.М., Иезуитова Н.Н., Масевич Ц.Г. и др. 1969. Исследование пищеварительного аппарата у человека. Обзор современных методов. Ленинград: Наука.
- Beitinger T.L., Bennet W.A., McCauley R.W. 2000. Temperature tolerances of North American freshwater fishes exposed to dynamic changes in temperature // *Environ. Biol. Fishes.* V. 58. № 3. P. 237.
<https://doi.org/10.1023/A:1007676325825>
- Golovanova I.L., Golovanov V.K., Smirnov A.K., Pavlov D.D. 2013. Effect of ambient temperature increase on intestinal mucosa amylolytic activity in freshwater fish // *Fish Physiol. Biochem.* V. 39. Is. 6. P. 1497.
<https://doi.org/10.1007/s10695-013-9803-9>
- Hochachka P.W., Somero G.N. 2002. Biochemical adaptation. Mechanism and process in physiological evolution. Oxford: Oxford University Press.
- Kuz'mina V.V., Ushakova N.V., Krylov V.V., Petrov D.V. 2014. The effects of geomagnetic storms on proteinase and glycosidase activities in fish intestinal mucosa // *Biol. Bull.* V. 41. Is. 2. P. 154.
<https://doi.org/10.1134/S1062359014020058>
- Kuz'mina V.V. 2017. Digestion in fish. A new view. Balty: LAP Lambert Acad. Publ.

Short Term Starvation of Juvenile Carp *Cyprinus carpio* L. Changes the Sensitivity of Intestinal Glycosidases to an Increase in Water Temperature

A. A. Filippov¹ and I. L. Golovanova^{1, *}

¹*Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences,
Borok, Nekouzskii raion, Yaroslavl oblast, Russia*

**e-mail: golovanova@ibiw.ru*

It has been established that the activity of glycosidases (maltase and amylolytic activity) in the intestinal mucosa of juvenile carp *Cyprinus carpio* (L.) under a sharp increase in water temperature depends on the physiological state (satiety–starvation). The fish were acclimated to a temperature of 22°C during the summer (underyearling) and winter (yearling) seasons. An increase in water temperature at a rate of 8.0°C/h leads to an increase in amylolytic activity in satisfied fish; maltase activity does not change. Fasting for 3 or 10 days changes the response of glycosidase to temperature stress: the maltase activity increases, amylolytic activity does not change. Short-term starvation does not affect the thermal stability of juvenile carp: the values of the critical thermal maximum in hungry and satiated individuals do not differ.

Keywords: carp, short-term starvation, glycosidase, maltase, amylolytic activity, increase in water temperature, critical thermal maximum