



УДК 597-113.32:577.152.3

МОДИФИКАЦИОННОЕ РЕГУЛИРОВАНИЕ УРОВНЯ АКТИВНОСТИ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ ОСЕТРОВЫХ ВИДОВ РЫБ И ИХ ГИБРИДОВ

© 2010 Д.А. Бедняков, А.Н. Неваленный

Астраханский государственный технический университет.

В работе, проведенной на осетровых видах рыб и их гибридах, были установлены эффекты взаимодействия ферментов с модификаторами различной природы (углеводы, аминокислоты). Для мальтазы и казеинлитических протеиназ продемонстрирован изостерический эффект.

In the work spent on sturgeon kinds of fishes and their hybrids, effects of interaction of enzymes with modifiers of the various nature (carbohydrates, amino acids) have been established. For maltase and caseinlitik proteinase it is shown izosteric effect.

Ключевые слова: модификаторы, осетровые, гибриды, ферменты.

Keywords: Modifiers, sturgeon, hybrids, enzymes.

В последние годы было показано, что практически все собственно кишечные ферменты различных животных являются регулируемыми [1, 2, 3]. При этом было показано, что на каталитические свойства ряда ферментов могут оказывать значительное влияние вещества – модификаторы, как являющиеся субстратами и продуктами гидролиза исследуемой ферментативной реакции, так и не являющейся ими [3, 4].

Регуляторные свойства пищеварительных ферментов, функционирующих у высших позвоночных животных, исследованы довольно подробно [1, 2], однако данные свойства у рыб изучены в меньшей степени [3]. В частности было показано, что многие ферменты, как панкреатического происхождения, так и собственно кишечные у рыб являются регулируемыми [3, 4]. Однако эти данные касаются в основном костистых рыб, в то время как информация, имеющаяся для хрящевых ганоидов фрагментарна [5], а для их гибридов отсутствует практически полностью.

В связи с этим целью данной работы было исследование влияния различных пищевых модификаторов на уровень активности некоторых мембранно-связанных пищеварительных ферментов слизистой оболочки кишечника осетровых видов рыб и их гибридов.

Работа выполнена на годовиках белуги (*HusohusoL.*), стерляди (*AcipenserruthenusL.*) и их гибридах бестере (*HusohusoL. × AcipenserruthenusL.*) и стербеле (*AcipenserruthenusL. × HusohusoL.*). У рыб извлекали пищеварительный тракт и подвергали его быстрой заморозке. Далее пробы доставляли в лабораторию, где проводили биохимический анализ. Уровень активности мальтазы (КФ. 3.2.1.20), щелочной фосфатазы (КФ. 3.1.3.1.) и казеинлитической протеиназы (суммарная активность трипсина КФ. 3.4.21.4., химотрипсина КФ.3.4.21.1. и различных пептидаз) определяли в гомогенатах слизистой оболочки кишечника, приготовленных на растворе Рингера (рН 7,4) для холоднокровных животных. Уровень активности мальтазы определяли модифицированным глюкозооксидазным методом, щелочной фосфатазы по степени гидролиза п-нитрофенилфосфата, активность казеинлитической протеиназы модифицированным методом Ансена [6].

В качестве модификаторов использовали – 10 мМ растворы глюкозы, фруктозы, глицина, L-лейцина, L-глутамина и DL-β-фенил-α-аланина. Модификаторы добавлялись к раствору субстрата и фермента непосредственно перед началом инкубации.

При исследовании уровня активности мальтазы установлено, что присутствие 10 мМ раствора глюкозы в инкубационной среде приводит к достоверному ($p < 0,05$) снижению данного показателя у всех исследованных видов рыб. Так у белуги уровень активности мальта-



зы снизился с $10,47 \pm 0,29$ мкмоль/(г×мин) в контроле до $0,97 \pm 0,07$ мкмоль/(г×мин) в эксперименте, у стерляди – с $11,68 \pm 0,13$ мкмоль/(г×мин) до $4,59 \pm 0,20$ мкмоль/(г×мин), у бестера – с $18,35 \pm 0,12$ мкмоль/(г×мин) до $11,06 \pm 0,15$ мкмоль/(г×мин) и у стербела – с $4,29 \pm 0,03$ мкмоль/(г×мин) до $0,12 \pm 0,01$ мкмоль/(г×мин). Присутствие 10 mM раствора фруктозы в инкубационной среде привело к незначительному но достоверному увеличению уровня активности мальтазы и он составил – $11,04 \pm 0,07$ мкмоль/(г×мин), $12,34 \pm 0,01$ мкмоль/(г×мин), $18,75 \pm 0,12$ мкмоль/(г×мин) и $4,49 \pm 0,03$ мкмоль/(г×мин) у белуги, стерляди, бестера и стербела соответственно. Присутствие 10 mM раствора глицина в инкубационной среде привело к достоверному ($p < 0,05$) ингибированию уровня активности мальтазы слизистой оболочки кишечника белуги (до $11,01 \pm 0,10$ мкмоль/(г×мин) и бестера (до $17,99 \pm 0,21$ мкмоль/(г×мин)). Присутствие 10 mM раствора L-лейцина в инкубационной среде приводило к достоверному ($p < 0,05$) увеличению уровня активности мальтазы у белуги ($12,17 \pm 0,10$ мкмоль/(г×мин), бестера ($19,01 \pm 0,09$ мкмоль/(г×мин) и стербела ($4,79 \pm 0,07$ мкмоль/(г×мин)), 10 mM раствор L-глутамин достоверно ($p < 0,05$) активировал мальтазу слизистой оболочки кишечника белуги ($12,28 \pm 0,13$ мкмоль/(г×мин), стерляди ($12,04 \pm 0,07$ мкмоль/(г×мин) и стербела ($4,55 \pm 0,03$ мкмоль/(г×мин)). DL-β-фенил-α-аланин (10 mM раствор) присутствуя в инкубационной среде вызывал достоверное ($p < 0,05$) увеличение уровня активности мальтазы у белуги ($12,34 \pm 0,14$ мкмоль/(г×мин), бестера ($19,24 \pm 0,09$ мкмоль/(г×мин) и стербела ($5,22 \pm 0,07$ мкмоль/(г×мин)).

При исследовании уровня активности казеинлитической протеиназы установлено, что присутствие в инкубационной среде 10 mM растворов глюкозы и фруктозы не вызывает достоверных изменений в уровне активности данного фермента у всех исследованных видов рыб и их гибридов. В то время как присутствие в инкубационной среде аминокислот всегда приводит к достоверному ($p < 0,05$) ингибированию уровня активности казеинлитической протеиназы. Так у белуги уровень активности данного фермента составил $1,22 \pm 0,06$ мкмоль/(г×мин) в присутствии глицина, $1,20 \pm 0,04$ мкмоль/(г×мин) в присутствии L-лейцина, $1,15 \pm 0,04$ мкмоль/(г×мин) в присутствии L-глутамин, $1,28 \pm 0,04$ мкмоль/(г×мин) в присутствии DL-β-фенил-α-аланина, против $1,49 \pm 0,04$ мкмоль/(г×мин) в контроле. У стерляди уровень активности казеинлитической протеиназы слизистой оболочки кишечника составил $2,99 \pm 0,02$ мкмоль/(г×мин) в присутствии глицина, $2,76 \pm 0,09$ мкмоль/(г×мин) в присутствии L-лейцина, $2,54 \pm 0,06$ мкмоль/(г×мин) в присутствии L-глутамин, $2,59 \pm 0,06$ мкмоль/(г×мин) в присутствии DL-β-фенил-α-аланина, против $3,46 \pm 0,04$ мкмоль/(г×мин) в контроле. У бестера уровень активности данного фермента составил $3,53 \pm 0,07$ мкмоль/(г×мин) в присутствии глицина, $2,89 \pm 0,04$ мкмоль/(г×мин) в присутствии L-лейцина, $3,14 \pm 0,04$ мкмоль/(г×мин) в присутствии L-глутамин, $2,73 \pm 0,04$ мкмоль/(г×мин) в присутствии DL-β-фенил-α-аланина, против $3,85 \pm 0,04$ мкмоль/(г×мин) в контроле. Уровень активности казеинлитической протеиназы стербела составил $4,15 \pm 0,11$ мкмоль/(г×мин) в присутствии глицина, $3,61 \pm 0,11$ мкмоль/(г×мин) в присутствии L-лейцина, $3,72 \pm 0,06$ мкмоль/(г×мин) в присутствии L-глутамин, $3,53 \pm 0,06$ мкмоль/(г×мин) в присутствии DL-β-фенил-α-аланина, против $5,79 \pm 0,13$ мкмоль/(г×мин) в контроле.

При исследовании уровня активности щелочной фосфатазы установлено, что ни один из исследованных нами модификаторов не приводит к достоверному изменению в уровне активности данного фермента у всех исследованных видов рыб и их гибридов.

Таким образом, в наших экспериментах, проведенных на осетровых видах рыб и их гибридов, были установлены эффекты взаимодействия ферментов с модификаторами различной природы (углеводы, аминокислоты). Обращает на себя внимание тот факт, что присутствие глюкозы в инкубационной среде приводит к значительному (от 40 до 95%) ингибированию уровня активности мальтазы у всех исследованных видов рыб и их гибридов. Данное явление, скорее всего, можно объяснить изостерическим эффектом. Поскольку продукт реакции является структурным аналогом субстрата, вследствие чего может присоединиться к активному центру фермента и вызывать ингибирование конкурентного типа [1, 3]. В случае с ингибирующим действием аминокислот на уровень активности казеинлитической протеиназы мы также, скорее всего, имеем дело с изостерическим эффектом, только он выражен гораздо слабее. Отсутствие достоверных изменений в уровне активности щелочной фосфатазы слизистой оболочки кишеч-



ника исследованных видов рыб объясняется по видимому тем, что данный фермент является металозависимым и регуляция его активности может осуществляться ионами металлов, что и было продемонстрировано ранее в ряде работ [3, 4].

Полученные данные важны не только для понимания закономерностей мембранного пищеварения у рыб и их гибридов, но и имеют значение для понимания механизма реализации пищеварительной функции *in situ*.

Библиографический список

1. Уголев А.М. Эволюция пищеварения и принципы эволюций функций: Элементы современного функционализма. -Л.: Наука, 1985 – 544 с.
2. Кушак Р.И. Пищеварительно-транспортная система энтероцитов. – Рига: Зинанте, 1983. – 304 с.
3. Неваленный А.Н., Туктаров А.В., Бедняков Д.А. Функциональная организация и адаптивная регуляция процессов пищеварения у рыб. – Астрахань: ФГОУ ВПО «Астрахан.гос. техн. ун-т», 2003. – 152 с.
4. Бедняков Д.А. Модификационное регулирование уровня активности некоторых пищеварительных ферментов у рыб. Автореф. дис. канд. биол. наук - Астрахань 2004. -24с.
5. Неваленный А.Н., Бедняков Д.А. Взаимодействие ионов металлов с мембранно-связанными ферментами слизистой оболочки кишечника рыб сем. Acipenseridae и Cyprinidae // Вестник Астраханского государственного технического университета. №3(26). 2005, - С. 93-97.
6. Неваленный А.Н., Бедняков Д.А., Держинская И.С. Энзимология. – Астрахань: Изд-во АГТУ, 2005. -92с.

К ВОПРОСУ ОБ ОРГАНИЗАЦИОННОМ И НОРМАТИВНО-ПРАВОВОМ ОБЕСПЕЧЕНИИ РАБОТ ПО ИСКУССТВЕННОМУ ВОСПРОИЗВОДСТВУ ОСЕТРОВЫХ РЫБ В КАСПИЙСКОМ МОРЕ

© 2010 Т.В.Васильева, Е.А. Зюзина, Е.А. Федосеева

Каспийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства,
ФГУП «КаспНИРХ», Астрахань.

В работе дается обзор мероприятий по организационному и нормативно- правовому обеспечению работ по искусственному воспроизводству осетровых рыб в Волго-Каспийском бассейне. Обоснована их актуальность и значимость для решения поставленных задач.

The work reviews actions regarding organization and regulatory support of sturgeons artificial reproduction in Volga-Caspian water area. There has been proved their timeliness and importance for achievement of the set objective.

Ключевые слова: Осетровые, Каспийское море, организационное обеспечение, нормативно-правовое регулирование, межгосударственное сотрудничество

The key words: Sturgeons, Caspian sea, organization provision, regulatory provision, interstate cooperation

Бассейн Каспийского моря характеризуется богатством биологических ресурсов. Здесь обитают свыше 100 видов рыб, из них 40 имеют промысловое значение. Уникальность водоема и в том, что здесь сохранились различные виды осетровых рыб (белуга (*Huso huso*), севрюга (*Acipenser stellatus*), шип (*Acipenser nudiiventris*), русский (*Acipenser gueldenstaedtii*) и персидский (*Acipenser persicus*) осетры). Особенностью Каспийского моря является то, что здесь сосредоточено 70% мирового запаса осетровых рыб. Среди множества видов рыб, обитающих в различных водоемах, осетровые рыбы испокон века привлекали к себе особое внимание. Большую часть жизни эти виды проводят в Каспийском море, на нерест поднимаются в реки. Нагульные миграции –