

МОСКОВСКИЙ ОРДЕНА ЛЕНИНА, ОРДЕНА ОКТЯБРЬСКОЙ  
РЕВОЛЮЦИИ И ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ  
УНИВЕРСИТЕТ им. М. В. ЛОМОНОСОВА

---

Биологический факультет

На правах рукописи

НЕВАЛЕННЫЙ АЛЕКСАНДР НИКОЛАЕВИЧ

УДК 591.132:597.5

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ  
ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ТРАНСПОРТНЫХ СИСТЕМ  
КИШЕЧНИКА РЫБ

03.00.10- Ихтиология

03.00.13- Физиология чело-  
века и животных

Автореферат

диссертации на соискание ученой  
степени кандидата биологических наук

г. Москва

1987г.

Работа выполнена в Институте биологии внутренних вод АН СССР.

Научные руководители: доктор биологических наук, профессор

А.Г. Поддубный

академик АН СССР А.М. Уголев

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор

М.Н. Маслова

кандидат биологических наук

К.Ф. Сорвачев

Ведущее учреждение - Институт эволюционной морфологии и

экологии животных АН СССР (ИЭМЭЖ АН СССР,

г. Москва)

Защита диссертации состоится " " \_\_\_\_\_ 198 г.

в \_\_\_\_\_ часов на заседании Специализированного совета

Д.053.05.71 в Московском государственном университете им. М.В. Ло-

моносова по адресу: 119899, Москва, Ленинские Горы, МГУ, Биологи-

ческий факультет.

С

кого

г.

Ученн

канди

В. Белова

## В В Е Д Е Н И Е

Актуальность темы. Теоретическое обоснование интенсификации рыбного хозяйства во внутренних водоемах возможно лишь при изучении влияния на динамику численности и экстерьерные признаки популяции промысловых видов комплекса биотических и абиотических факторов. Одним из важнейших факторов являются обеспеченность рыб пищей, а также их способность эффективно переваривать и усваивать корма. Однако вопросы, касающиеся закономерностей функционирования пищеварительной системы промысловых рыб из естественных водоемов СССР, до последнего времени были исследованы крайне слабо. Изучение процессов пищеварения приобрело особую актуальность в связи с увеличивающимся антропогенным воздействием на внутренние водоемы, в частности с развитием теплоэнергетики, особенно сети тепловых и атомных электростанций, 40-45% производимого тепла которых поступает в водоемы-охладители. Изменение термального режима водоемов и рациональное использование получаемого тепла требует разностороннего исследования естественных и искусственных экосистем (Вербицкас, 1984), в том числе и влияния температуры на различные звенья процессов пищеварения у рыб.

Как известно, важнейшими звеньями сложного процесса экзотрофии являются пищеварение (гидролиз биополимеров) и всасывание (транспорт) пищевых веществ. Закономерности процессов пищеварения у рыб исследованы достаточно подробно (обзоры: Уголев, 1972; Kapoor et al., 1975; Лав, 1976; Кузьмина, 1978; Fänge, Grove, 1979; Сорвачев, 1982 и мн. др.), закономерности транспорта питательных веществ изучены недостаточно (обзоры: Smith, 1983; Шербина, 1984; Ferraris, Ahearn, 1984 и др.). Особо следует отметить, что объектами исследования большинства работ были виды, не являющиеся промысловыми для внутренних водоемов СССР, а предметом изучения, как правило, - транспорт мономеров (гексоз, пентоз, аминокислот и др.). Сведения о сопряженном гидролизе и транспорте ди- и полисахаридов в кишечнике рыб в литературе до последнего времени отсутствовали, хотя при исследовании высших позвоночных животных установлены различия в скорости транспорта свободных мономеров, образующихся при гидролизе ди-, олиго- и полимеров, позволяющих высказать гипотезу о существовании пищеварительно-транспортных ансамблей или конвейеров (Уголев,



1972, 1985; Уголев, Смирнова, 1977 и др.).

Поскольку интенсивность физиологических и биохимических процессов у пойкилостермных животных, в том числе рыб, в значительной мере зависит от температуры, для решения ряда теоретических и прикладных проблем питания и пищеварения рыб, в частности их пищевого поведения при изменении термального режима водоема, необходимо получение сведений об изменчивости характеристик транспорта в широком диапазоне температур.

Основные задачи исследования. Работа посвящена изучению влияния температуры на интенсивность аккумуляции различных углеводов в кишечнике рыб на примере леща *Abramis brama* (L.). Были поставлены следующие задачи: 1. Изучение интенсивности аккумуляции в слизистой кишечника леща моносахаридов и продуктов гидролиза ди- и полисахаридов в различные сезоны года. 2. Исследование влияния температуры акклимации рыб на уровень аккумуляции кишечными препаратами моносахаридов и продуктов гидролиза ди- и полисахаридов. 3. Исследование влияния температуры инкубационного раствора на уровень аккумуляции кишечными препаратами леща моносахаридов и продуктов гидролиза ди- и полисахаридов. 4. Анализ закономерностей сопряженного гидролиза и транспорта углеводов в кишечнике рыб.

Научная новизна работы. Впервые в строго сравнимых экспериментальных условиях исследована интенсивность транспорта некоторых углеводов в различные сезоны года, а также изучено влияние температуры акклимации и температуры инкубационного раствора на аккумуляцию моносахаридов и продуктов гидролиза ди- и полисахаридов в кишечнике леща - основного промыслового вида ряда важных в экономическом отношении внутренних водоемов СССР. Проведено сопоставление интенсивности аккумуляции кишечными препаратами рыб химических чистых препаратов моносахаридов и моносахаридов, освобождающихся в результате гидролиза ди- и полисахаридов.

Продemonстрировано усиление интенсивности аккумуляции глюкозы и продуктов гидролиза крахмала, сахарозы и мальтозы в зимний период по сравнению с другими сезонами года. Показано, что при понижении температуры акклимации уровень аккумуляции моносахаридов и продуктов гидролиза ди- и полисахаридов в слизистой кишечника достоверно возрастает. Установлено, что у рыб во все сезоны

года имеет место как активный, так и пассивный транспорт углеводов, при этом, в отличие от высших позвоночных животных, значительна доля пассивного компонента. Обнаружено, что свободные моносахариды аккумулируются с большей скоростью, чем моносахариды, освобождающиеся в результате гидролиза ди- и полисахаридов.

Теоретическая и практическая значимость. Установленные факты позволяют более полно охарактеризовать закономерности ассимиляции углеводов и приблизиться к пониманию механизмов адаптивных перестроек пищеварительной системы рыб при изменении термального режима водоемов. На основании полученных результатов, свидетельствующих о том, что транспортные системы кишечника леща способны эффективно функционировать на протяжении всего годового цикла, сделано заключение о том, что при интенсивных формах рыбозаведения необходима регуляция процессов пищеварения не на уровне транспортных, а на уровне гидролитических функций кишечника.

Результаты работы использованы в "Руководстве по физиологии. Физиология адаптационных процессов" (1986), а также включены в курс лекций по ихтиологии в Астраханском техническом институте рыбной промышленности и хозяйства.

Апробация работы. Материалы работы докладывались и представлялись на 4-ом Всесоюзном совещании "Вид и его продуктивность в ареале" (Свердловск, 1984), на Всесоюзном совещании по лимнологии горных водоемов (Севан, 1984), на научно-практической конференции молодых ученых и специалистов "Проблемы рыбохозяйственных исследований внутренних водоемов северо-запада Европейской части СССР" (Петрозаводск, 1984), на VI Всесоюзной конференции по экологической физиологии и биохимии рыб (Вильнюс, 1985), на XXXVII научно-методической конференции профессорско-преподавательского состава АТИРПИХ (1986), на УП конференции молодых ученых-биологов "Изучение, рациональное использование и охрана природных ресурсов" (Саласпилс, 1987) и расширенном заседании лаборатории ихтиологии ИБВВ АН СССР (ноябрь, 1984), опубликованы в 10 работах.

Объем работы. Диссертация изложена на 209 страницах машинописного текста, из которых 27 страниц занимают таблицы и рисунки, 28 страниц - список литературы, включающий работы 119 отечественных и 126 иностранных авторов, 35 страниц - приложения.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена в лабораторных условиях на 345 экз. половозрелого леща *Abraamis brama* (L.) Рыбинского водохранилища\*. Рыб, выловленных тралом или неводом, в течение нескольких дней выдерживали в аквариумах объемом 4 м<sup>3</sup> с проточной, хорошо аэрируемой водой. Температура воды в аквариумах соответствовала: зимой - 1-5°C, весной - 17-18°C, летом - 20-21°C, осенью - 19-20°C. При исследовании влияния температуры акклимации на интенсивность аккумуляции углеводов в кишечнике рыб выдерживали при температуре 14°C - зимой и не превышающей 5°C - осенью.

Эксперименты проводили в условиях *in vitro* - использовали метод прошитых полосок (Гощина, 1981; Смирнова, 1981). Отрезки среднего отдела кишки, предварительно промытого 20 мл охлажденного раствора Рингера для холоднокровных животных (рН 7,3), длиной 3,5-4,0 см делили на продольные полоски, которые прошивали с одного конца и подвешивали в сосуды таким образом, чтобы весь отрезок был погружен в раствор, содержащий субстрат. Все опыты проводили в условиях оксигенации.

При исследовании влияния температуры на интенсивность аккумуляции углеводов инкубацию осуществляли при температуре 5, 15, 25, 35°C, при изучении воздействия ингибиторов активного транспорта - при температуре 20°C.

В качестве субстратов использовали полимер глюкозы - растворимый крахмал (1,8 и 18 г/л), димеры - сахарозу (10 и 50 мМ) и мальтозу (5 и 10 мМ), а также мономеры - свободную глюкозу (10 мМ) и галактозу (10 мМ). В качестве ингибиторов активного транспорта - флоридзин ( $5 \times 10^{-5}$  М), строфантин К ( $5 \times 10^{-5}$  и  $10^{-4}$  М) и фтористый натрий (0,02%).

Интенсивность аккумуляции глюкозы отрезками кишки леща определяли при помощи глюкозооксидазного метода В.К. Городецкого в модификации А.М. Уголева и Н.Н. Иезуитовой (1969), гексоз - методом Н. Нельсона в модификации А.М. Уголева и Н.Н. Иезуитовой (1969).

\* Результаты, касающиеся других видов рыб в работе подробно не анализируются, однако в ряде случаев для сравнения использованы данные, полученные при исследовании щуки и плотвы.

Результаты обрабатывали методом вариационной статистики (Урбах, 1964). Достоверность различий определялась с помощью критерия "t". Для всех данных принята вероятность, равная или меньшая 0,05.

### ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### I. Влияние сезона и температуры инкубационного раствора на уровень аккумуляции углеводов.

Сезонную динамику уровня аккумуляции глюкозы (10 мМ), а также продуктов гидролиза крахмала (18 г/л), сахарозы (50 мМ) и мальтозы (10 мМ) исследовали при температуре инкубационного раствора 25°C, рекомендованной Международной комиссией по ферментам (рис. 1), и температуре близкой природной: 5°C (зима), 10°C (весна и осень), 20°C (лето) (рис. 2).

Как видно из рисунков, максимальные значения интенсивности аккумуляции глюкозы, а также продуктов гидролиза крахмала, сахарозы и мальтозы при указанных выше температурных условиях наблюдаются в зимний период. Весной, летом и осенью интенсивность аккумуляции моносахаридов и продуктов гидролиза ди- и полисахаридов достоверно ниже ( $p < 0,001$ ). При инкубации кишечных препаратов леща в растворе крахмала и сахарозы при температуре инкубационного раствора 25°C интенсивность аккумуляции глюкозы в зимний период превышает таковую в летний в 2,2 и 2,7 раза соответственно, при инкубации кишечных препаратов в растворе мальтозы и глюкозы - в 1,7 раза. При температуре инкубационного раствора, близкой природной, диапазон изменчивости показателя для тех же субстратов несколько ниже (1,6-2,1 раза). Статистически значимые различия в интенсивности аккумуляции моносахаридов, а также продуктов гидролиза ди- и полисахаридов весной, летом и осенью, как правило, отсутствуют.

Сведения по влиянию температуры на процессы всасывания питательных веществ в кишечнике рыб достаточно противоречивы. В частности, при исследовании температурной зависимости абсорбции некоторых моносахаридов в кишечнике рыб разных видов, установлено увеличение скорости транспортного процесса с увеличением температуры инкубационного раствора (Carlinsky, Huang, 1962; Herrera, Iordana, 1973 и др.). Однако в ряде работ влияния температуры ин-

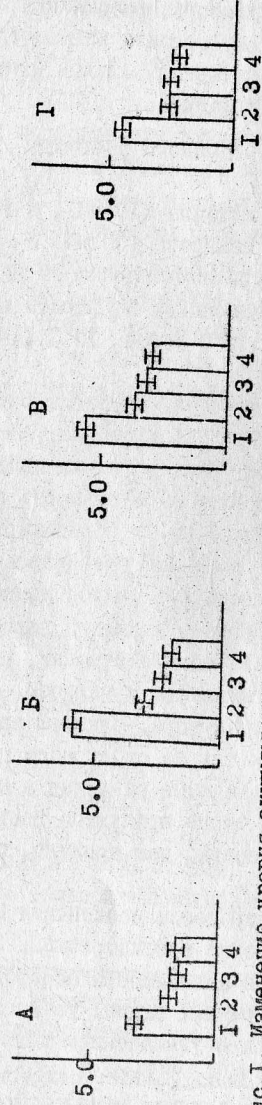


Рис.1. Изменение уровня аккумуляции глюкозы при инкубации кишечных препаратов леща в растворе крахмала (А), сахарозы (Б), мальтозы (В) и глюкозы (Г) в различные сезоны года (температура инкубационного раствора 25°С).

Обозначения: по вертикали - концентрация глюкозы, мм. 1-зима, 2-весна, 3-лето, 4-осень.

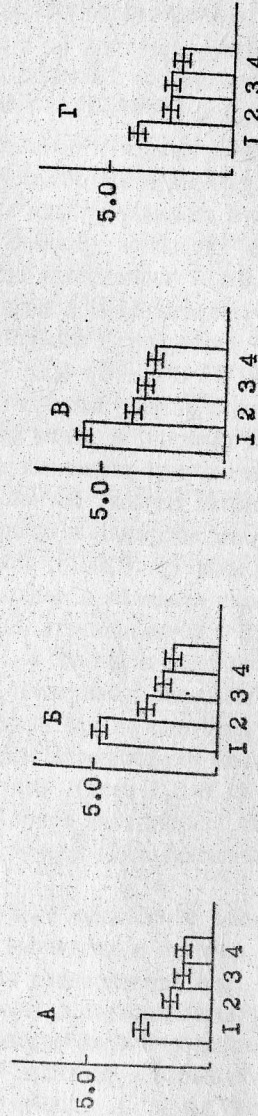


Рис.2. Изменение уровня аккумуляции глюкозы при инкубации кишечных препаратов леща в растворе крахмала (А), сахарозы (Б), мальтозы (В) и глюкозы (Г) в различные сезоны года (температура инкубационного раствора близкая природной).

Обозначения: по вертикали - концентрация глюкозы, мм. 1-зима, 2-весна, 3-лето, 4-осень.

кубационного раствора на интенсивность всасывания ряда моносахаридов (Gordier et al., 1954; Musacchia et al., 1964) и аминокислот (Smith, 1969) в кишечнике рыб не обнаружено. Данные о влиянии температуры инкубационного раствора на интенсивность всасывания продуктов гидролиза ди- и полимеров ранее в литературе отсутствовали.

Эксперименты по влиянию температуры инкубационного раствора на уровень аккумуляции глюкозы, а также продуктов гидролиза крахмала, сахарозы и мальтозы проведены в различные сезоны года в диапазоне температур от 5 до 35°С. Установлено, что возрастание температуры инкубационного раствора от 5 до 35°С приводит во все сезоны года к незначительному усилению аккумуляции глюкозы, а также продуктов гидролиза крахмала, сахарозы и мальтозы (табл. 1, 2). При этом увеличение температуры инкубационного раствора на 10°С в исследуемом диапазоне температур, как правило, не вызывает статистически достоверного изменения уровня аккумуляции углеводов (коэффициент  $Q_{10}$  скорости процесса близок единице). Аналогичные данные получены при исследовании плотвы и щуки. В частности, при возрастании температуры инкубации от 5 до 35°С уровень аккумуляции глюкозы, а также продуктов гидролиза крахмала и сахарозы кишечными препаратами щуки варьирует в пределах  $2,63 \pm 0,30 - 3,44 \pm 0,43$  мм,  $0,69 \pm 0,13 - 0,96 \pm 0,09$  мм,  $1,04 \pm 0,05 - 1,20 \pm 0,15$  мм соответственно.

При исследовании леща установлено, что весной, летом и осенью в том же интервале температур инкубационного раствора интенсивность аккумуляции глюкозы, а также продуктов гидролиза крахмала, сахарозы и мальтозы находится на одном уровне, в диапазоне  $2,12 - 2,70$  мм,  $1,14 - 1,77$  мм,  $1,77 - 3,34$  мм и  $2,90 - 3,85$  мм (при инкубации кишечных препаратов в растворах указанных субстратов соответственно). В зимний период отмечено статистически достоверное, приблизительно двукратное, усиление уровня аккумуляции для всех исследуемых углеводов.

Анализ вышеприведенных данных свидетельствует о том, что характер изменения аккумуляции глюкозы при возрастании температуры инкубационной среды у всех исследованных видов рыб не зависит от формы, в которой углеводы поступают в пищеварительный тракт (моно-, ди- или полимерной).

Таблица 1  
Влияние температуры инкубационного раствора на интенсивность аккумуляции  
глюкозы (мМ) при инкубации кишечных препаратов леща в растворе крахмала  
и сахарозы

| Сезон | Крахмал           |                   |                   |                   | Сахароза          |                   |                   |                   |
|-------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|       | 5°                | 15°               | 25°               | 35°               | 5°                | 15°               | 25°               | 35°               |
| Зима  | 2.86±0.21<br>(14) | 3.10±0.26<br>(14) | 3.29±0.24<br>(13) | 3.62±0.32<br>(10) | 4.89±0.35<br>(14) | 5.51±0.38<br>(14) | 6.17±0.43<br>(13) | 5.87±0.53<br>(10) |
| Весна | 1.21±0.18<br>(8)  | 1.57±0.15<br>(13) | 1.66±0.13<br>(11) | 1.77±0.17<br>(7)  | 2.82±0.28<br>(11) | 3.34±0.32<br>(15) | 3.18±0.35<br>(14) | 2.95±0.37<br>(12) |
| Лето  | 1.27±0.12<br>(11) | 1.17±0.09<br>(10) | 1.50±0.21<br>(7)  | 1.22±0.10<br>(9)  | 1.77±0.18<br>(16) | 2.30±0.25<br>(12) | 2.25±0.23<br>(10) | 2.52±0.19<br>(11) |
| Осень | 1.14±0.09<br>(22) | 1.36±0.10<br>(22) | 1.59±0.10<br>(21) | 1.57±0.21<br>(11) | 1.78±0.21<br>(15) | 2.11±0.32<br>(16) | 2.14±0.28<br>(15) | 2.28±0.31<br>(11) |

Примечание. В скобках указано количество опытов.

Таблица 2  
Влияние температуры инкубационного раствора на интенсивность аккумуляции  
глюкозы (мМ) при инкубации кишечных препаратов леща в растворе мальтозы  
и глюкозы

| Сезон | Мальтоза          |                   |                   |                   | Глюкоза           |                   |                   |                   |
|-------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|       | 5°                | 15°               | 25°               | 35°               | 5°                | 15°               | 25°               | 35°               |
| Зима  | 5.79±0.45<br>(13) | 5.82±0.40<br>(14) | 5.87±0.38<br>(13) | 7.54±0.56<br>(10) | 4.01±0.28<br>(14) | 4.40±0.38<br>(13) | 4.63±0.40<br>(13) | 5.07±0.52<br>(10) |
| Весна | 3.09±0.33<br>(12) | 3.51±0.27<br>(17) | 3.76±0.28<br>(14) | 3.85±0.40<br>(11) | 2.12±0.21<br>(13) | 2.33±0.18<br>(17) | 2.65±0.16<br>(15) | 2.70±0.26<br>(12) |
| Лето  | 2.90±0.17<br>(21) | 3.11±0.18<br>(19) | 3.32±0.24<br>(15) | 3.36±0.22<br>(15) | 2.30±0.11<br>(22) | 2.47±0.12<br>(20) | 2.65±0.14<br>(14) | 2.63±0.18<br>(15) |
| Осень | 2.76±0.14<br>(21) | 3.13±0.20<br>(21) | 3.17±0.17<br>(21) | 3.85±0.14<br>(12) | 2.18±0.14<br>(23) | 2.44±0.13<br>(23) | 2.37±0.12<br>(23) | 2.42±0.15<br>(12) |

Примечание. В скобках указано количество опытов.

Сопоставление полученных нами данных с результатами изучения влияния температуры на гидролитические функции кишечника у тех же видов рыб *in vitro* и в разные периоды годового цикла свидетельствует о меньшей зависимости транспортных процессов от этих факторов. В частности, при изучении температурных функций ферментов было показано, что в зоне низких температур (от 0 до 10°C) активность  $\alpha$ -амилазы леща составляет 10-20%, сахаразы - 40% от максимальной активности при 40°C (Кузьмина, Морозова, 1977; Кузьмина, 1985). В наших опытах интенсивность аккумуляции различных форм глюкозы при температуре 5°C, как правило, составляет 80-90% от максимальных значений при 35°C, в ряде случаев (крахмал) различия отсутствуют.

Незначительное влияние температуры инкубационной среды на интенсивность аккумуляции углеводов в кишечнике рыб может свидетельствовать либо о наличии гомеостатирующих механизмов, позволяющих транспортной системе рыб функционировать при низких температурах, либо о преобладании процессов пассивной диффузии.

При изучении сезонной динамики ферментативной активности было установлено, что уровень активности  $\alpha$ -амилазы у леща, при температуре инкубационного раствора, близкой природной, в зимний период на 2 порядка ниже, чем в июле - периоде наиболее интенсивного питания (Кузьмина, 1980). В наших экспериментах уровень аккумуляции углеводов в кишечнике этого вида рыб в зимний период, напротив, в 2-2,5 раза выше, чем в летний. Несовпадение характера сезонной динамики интенсивности питания, гидролитических и транспортных функций кишечника дает возможность предположить, что возрастание уровня транспортных процессов в зимний период, когда экзогенное питание ослаблено или отсутствует, играет определенную роль в процессах эндогенного питания рыб.

Таким образом, нами установлено достоверное усиление уровня аккумуляции глюкозы, а также продуктов гидролиза крахмала, сахаразы и мальтозы кишечными препаратами леща зимой, по сравнению с другими сезонами года во всем исследованном диапазоне температур. Различия в интенсивности аккумуляции моносахаридов и продуктов гидролиза ди- и полисахаридов весной, летом и осенью, как правило, статистически недостоверны. Значительное влияние температуры на уровень аккумуляции углеводов кишечными препаратами леща в один и

тот же период годового цикла не выявлено.

## 2. Влияние температуры акклимации на уровень аккумуляции углеводов в кишечнике леща

Поскольку сезонные изменения пищеварительно-транспортных функций кишечника являются интегративной реакцией, обусловленной комплексом абиотических и биотических факторов, для выяснения влияния температуры на интенсивность аккумуляции пищевых субстратов используются различные экспериментальные подходы. Одним из них является акклимация животных к различным факторам среды, в том числе температуре (Smith, 1983; Kitchin, Morris, 1971; Groot et al., 1983 и др.).

При исследовании влияния температуры акклимации на уровень аккумуляции глюкозы (10 мМ), а также продуктов гидролиза крахмала (18 г/л), сахаразы (50 мМ) и мальтозы (10 мМ) было проведено 2 цикла экспериментов - осенний и зимний. Рыб выдерживали в течение 3-10 суток при низкой (не превышающей 5°C) и более высокой температуре (зимой - 14°C, осенью близкой к 20°C).

В обеих сериях экспериментов в большинстве случаев установлено статистически достоверное усиление аккумуляции глюкозы, а также продуктов гидролиза крахмала, сахаразы и мальтозы в диапазоне температур инкубационного раствора от 5 до 35°C ( $P < 0,002-0,05$ ) при понижении температуры акклимации. Так, зимой (рис. 3) при температуре акклимации 5°C уровень аккумуляции глюкозы, продуктов гидролиза крахмала и мальтозы (при температуре инкубационного раствора 5°C) в 1,4 раза, а продуктов гидролиза в 1,2 раза выше, чем при температуре 14°C. Осенью при снижении температуры акклимации от 20 до 5°C (при той же температуре инкубационного раствора) интенсивность аккумуляции глюкозы и продуктов гидролиза крахмала возрастает в 1,7 и 1,5 раза соответственно, а продуктов гидролиза сахаразы и мальтозы в 1,4 раза. Аналогичные результаты получены и при других значениях температуры инкубационного раствора в обеих сериях экспериментов.

Подобная закономерность была отмечена рядом авторов при исследовании влияния температуры акклимации на интенсивность всасывания в кишечнике рыб некоторых аминокислот (Mepham, Smith, 1966; Smith, 1983; Kitchin, Morris, 1971).

Таким образом, нами установлено, что акклимация к более низ-

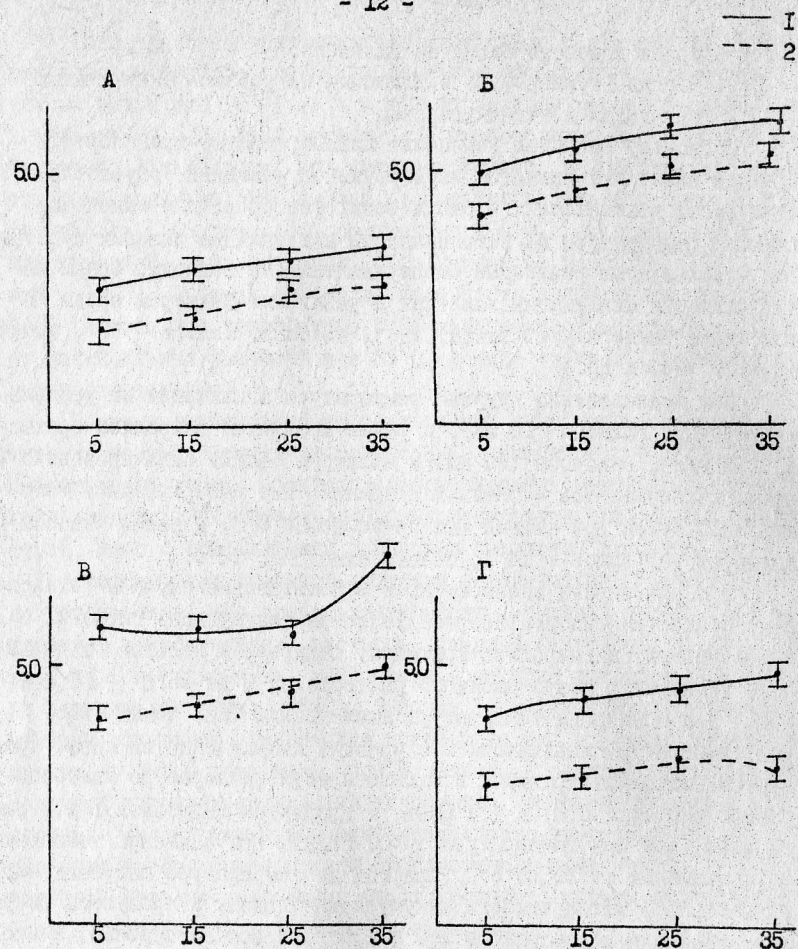


Рис 3. Влияние температуры акклимации на уровень аккумуляции глюкозы при инкубации кишечных препаратов леща в растворе крахмала (А), сахарозы (Б), мальтозы (В) и глюкозы (Г).

Обозначение: по оси абсцисс - температура инкубационного раствора, °С; по оси ординат - концентрация глюкозы, мм.  
 1 - акклимация к температуре 5°С.  
 2 - акклимация к температуре 14°С.

кой температуре приводит к достоверному усилению интенсивности аккумуляции глюкозы, а также продуктов гидролиза крахмала, сахарозы и мальтозы в кишечнике леща по сравнению с рыбами, акклимированными к более высокой температуре.

### 3. Влияние флоридзина, строфантина К и фтористого натрия на уровень аккумуляции углеводов в кишечнике леща

Известно, что проникновение нутриентов через апикальную мембрану энтероцитов осуществляется с помощью нескольких механизмов, в том числе простой и облегченной диффузии, а также активного транспорта. Сведения, касающиеся соотношения отдельных компонентов транспорта в кишечнике рыб, достаточно противоречивы (обзор: Ferraris, Ahearn, 1984 и др.).

Для выяснения вопроса о роли отдельных компонентов транспорта в аккумуляции различных углеводов слизистой кишечника леща при разной температуре исследовали влияние на этот процесс ингибиторов активного транспорта и метаболических ядов (флоридзин, строфантин К и фтористый натрий). Как известно, флоридзин является специфическим ингибитором транспорта глюкозы, строфантин К, подавляя активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы, блокирует транспорт ионов  $\text{Na}^+$  и сопряженный с ним активный транспорт глюкозы, фтористый натрий участвует в различных реакциях, в том числе в подавлении процессов гликолиза.

Нами установлено, что у рыб, в отличие от высших позвоночных животных, флоридзин и строфантин К в концентрации  $5 \times 10^{-5}$  М не вызывает достоверных изменений уровня аккумуляции глюкозы, галактозы, а также продуктов гидролиза крахмала, сахарозы и мальтозы. Так, в контроле уровень аккумуляции глюкозы соответствует  $2,31 \pm 0,21$  мм (n=12), продуктов гидролиза мальтозы -  $3,83 \pm 0,33$  мм (n=12). При добавлении в инкубационную среду флоридзина ( $5 \times 10^{-5}$  М) интенсивность аккумуляции глюкозы составляет  $2,42 \pm 0,22$  мм, продуктов гидролиза мальтозы -  $3,66 \pm 0,29$  мм. В связи с этим была использована более высокая концентрация ингибиторов -  $10^{-4}$  М. При инкубации кишечных препаратов леща в растворе глюкозы (10 мм) и мальтозы (5 мм) интенсивность аккумуляции составляет  $2,27 \pm 0,37$  мм (n=7) и  $1,91 \pm 0,23$  мм (n=5) соответственно. В присутствии строфантина К в указанной концентрации уровень аккумуляции свободной глюкозы снижается до  $1,55 \pm 0,33$  мм (n=7), продуктов гидролиза



мальтозы - до  $1,21 \pm 0,26$  мМ ( $n=5$ ).

Фтористый натрий (0,02%) вызывает статистически достоверное повышение уровня аккумуляции всех исследуемых углеводов (табл.3).

Таблица 3

Влияние фтористого натрия (0,02%) на уровень аккумуляции гекозов (мМ) кишечными препаратами леща

| Субстрат         | Контроль                | Опыт                    | P         |
|------------------|-------------------------|-------------------------|-----------|
| Крахмал, 1,8 г/л | $0,95 \pm 0,14$<br>(11) | $1,88 \pm 0,09$<br>(11) | $< 0,001$ |
| Сахароза, 10 мМ  | $1,30 \pm 0,25$<br>(7)  | $2,70 \pm 0,35$<br>(7)  | $< 0,01$  |
| Мальтоза, 10 мМ  | $3,90 \pm 0,33$<br>(8)  | $4,75 \pm 0,28$<br>(8)  | $< 0,10$  |
| Глюкоза, 10 мМ   | $2,98 \pm 0,16$<br>(13) | $4,18 \pm 0,25$<br>(13) | $< 0,001$ |
| Галактоза, 10 мМ | $3,60 \pm 0,21$<br>(13) | $4,33 \pm 0,22$<br>(13) | $< 0,05$  |

Примечание. В скобках указано количество опытов.

Результаты этих серий опытов свидетельствуют о том, что у леща имеет место как активный, так и пассивный компоненты транспорта, при этом значительна доля пассивного. Форма (мономерная или димерная), в которой находится глюкоза, практически не влияет на величину активного ( $Na^+$ -зависимого) компонента. Отсутствие эффекта низких концентраций ингибиторов активного транспорта на аккумуляцию углеводов в кишечнике леща, по-видимому, обусловлено их меньшим сродством к транспортным системам рыб, по сравнению с высшими позвоночными животными. Кроме того, заслуживает внимания достоверное усиление аккумуляции углеводов в присутствии фтористого натрия. Форма поступления углеводов (моно-, ди- или полимерная) также не имеет значения. Поскольку известно, что фториды являются ингибиторами гликолиза в его начальной стадии (Рэкер, 1967), можно предположить, что возрастание уровня аккумуляции исследуемых углеводов связываю преимущественно с торможением этих процес-

сов. Высказанное предположение хорошо согласуется с известными данными о том, что процессы гликолиза у водных позвоночных животных, в частности рыб, играют значительно большую роль, чем у высших позвоночных животных (Шилов, 1985).

Таким образом, у леща, как и у других видов рыб, механизмы активного транспорта углеводов развиты значительно слабее, чем у высших позвоночных животных. Однако, реакции гликолиза, по всей вероятности, играют большую роль в энергообеспечении этого процесса.

#### 4. Соотношение уровня аккумуляции различных форм углеводов в кишечнике леща

Как указывалось выше, при исследовании высших позвоночных животных установлено, что продукты гидролиза олигомеров всасываются с такой же или несколько большей скоростью, чем свободные мономеры. Последнее возможно, если продукты гидролиза олигомеров, образующиеся в результате действия ферментов мембранного пищеварения, непосредственно передаются на вход транспортной системы, с помощью которой осуществляется их перенос внутрь энтероцитов (обзоры: Уголев, 1972, 1985; Уголев, Смирнова, 1977; Ugolev, Tezuitova, 1982 и др.).

Данные по сопоставлению уровня аккумуляции продуктов гидролиза крахмала, сахарозы и мальтозы кишечными препаратами леща с таковыми свободной глюкозы при концентрации субстратов, эквивалентных 10 мМ раствору глюкозы, представлены в табл. 4.

Таблица 4

Интенсивность аккумуляции кишечными препаратами леща глюкозы и продуктов гидролиза крахмала, сахарозы и мальтозы (мМ)

| Крахмал, 1,8 г/л       | Сахароза, 10 мМ        | Мальтоза, 5 мМ         | Глюкоза, 10 мМ         |
|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| $0,83 \pm 0,13$<br>(8) | $1,27 \pm 0,12$<br>(6) | $2,24 \pm 0,26$<br>(8) | $3,09 \pm 0,27$<br>(8) |

Примечание. В скобках указано количество опытов.

Как видно из таблицы, интенсивность аккумуляции свободной глюкозы достоверно выше по сравнению с аккумуляцией глюкозы, образующейся в результате гидролиза дисахаридов мальтозы ( $P < 0,05$ )

и сахарозы ( $P < 0,001$ ), а также полисахарида крахмала ( $P < 0,001$ ). Аналогичные данные получены при исследовании плотвы и щуки.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что при указанных экспериментальных условиях у исследованных видов рыб не наблюдается преимуществ олигомерного транспорта над мономерным, что позволяет предположить слабое развитие механизма пищеварительно-транспортного конвейера на данном уровне филогенеза.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные материалы подтверждают данные о том, что свободные моносахариды и конечные продукты гидролиза углеводов, входящих в состав биополимеров пищи рыб, способны всасываться в их кишечнике (обзоры: Сорвачев, 1982; Smith, 1983; Щербина, 1984; Ferraris, Ahearn, 1984 и др.).

Интенсивность транспорта углеводов в кишечнике леща, плотвы и щуки в широком диапазоне температур инкубации изменяется незначительно (коэффициент  $Q_{10}$  процесса близок единице). Длительное воздействие низких температур (в зимний период или в результате акклимации рыб) приводит к значительному усилению интенсивности анализируемых процессов. Эти данные сопоставимы с результатами, полученными при исследовании влияния температуры акклимации на интенсивность всасывания в кишечнике рыб некоторых аминокислот (Merham, Smith, 1966; Kitchin, Morris, 1971; Smith, 1983).

Важно отметить, что большинство экспериментов проведено в условиях, включающих диапазон температур обитания рыб в Рыбинском водохранилище. Причем, температура  $5^{\circ}\text{C}$  соответствует состоянию эндогенного питания леща. При этом интенсивность транспортных процессов в этой зоне выше, чем при температуре активного питания, что свидетельствует об участии пищеварительного тракта рыб в перераспределении энергетических субстратов.

Увеличение интенсивности всасывания углеводов в кишечнике рыб при воздействии низких температур может быть объяснено значительной адаптированностью жирнокислотного состава липидов плазматических мембран кишечного эпителия к функционированию при низких температурах (Miller et al., 1976; Хочачка, Сомеро, 1977; Крепе, 1981; Кузьмина, 1984 и др.), которая способствует проник-

новению в энтероциты различных гидрофильных компонентов (Smith, 1983).

Тот факт, что у леща характер сезонных изменений интенсивности транспортных процессов подобен наблюдаемому при понижении температуры акклимации, может свидетельствовать о том, что механизмы отмеченных явлений сходны в обоих случаях, причём перестройка транспортных систем осуществляется в течение короткого интервала времени (несколько суток).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что углеводы, поступающие в пищеварительный тракт леща в различной форме (моно-, ди- и полимеры), способны всасываться в кишечнике на протяжении всего годового цикла. При понижении температуры окружающей среды интенсивность аккумуляции углеводов увеличивается. Изменение температуры *in vitro* в диапазоне температурных границ активного питания леща не вызывает значительных изменений интенсивности транспортных процессов. Механизмы транспорта углеводов в кишечнике леща близки таковым других позвоночных животных, однако относительно низка доля активного компонента, а также процессов сопряженного гидролиза и транспорта. Увеличение проницаемости мембран энтероцитов в зимний период, по-видимому, играет важную роль в перераспределении глюкозы и других компонентов в условиях выключенного экзогенного питания леща. Транспортные процессы не лимитируют скорости поступления углеводов и, видимо, других нутриентов во внутреннюю среду организма рыб, обитающих в естественных условиях. Следовательно, для увеличения эффективности пищеварительных процессов необходима регуляция процессов пищеварения на уровне гидролитических, а не транспортных функций кишечника.

#### ВЫВОДЫ

1. Аккумуляция углеводов на протяжении годового цикла леща непостоянна. В зимний период аккумуляция глюкозы, а также продуктов гидролиза крахмала, сахарозы и мальтозы при стандартной температуре ( $25^{\circ}\text{C}$ ) и при температуре, близкой природной, в 1,5-2,5 раза выше, чем в другие сезоны года. Весной, летом и осенью различия в уровне аккумуляции исследуемых углеводов, как правило, не наблюдалось.

2. Аккумуляция глюкозы, а также продуктов гидролиза крахмала, сахарозы и мальтозы в кишечнике исследованных видов рыб при из-

менении температуры *in vitro* меняется незначительно (коэффициент  $Q_{10}$  процесса близок единице).

3. При акклимации леща к низким температурам аккумуляция моносахаридов, а также продуктов гидролиза ди- и полисахаридов в кишечнике увеличивается приблизительно в 1,5 раза.

4. Строфантин К в концентрации  $10^{-4}$  М/л вызывает снижение аккумуляции свободной глюкозы и продуктов гидролиза мальтозы, что свидетельствует о наличии как активного, так и пассивного компонентов транспорта углеводов в кишечнике леща. В отличие от высших позвоночных животных значительна доля пассивного компонента транспорта. Флоридзин и строфантин К в концентрациях, используемых при исследовании транспортных характеристик кишечника высших позвоночных животных ( $5 \times 10^{-5}$  М/л), не приводит к изменению аккумуляции глюкозы, галактозы, а также продуктов гидролиза крахмала, сахарозы и мальтозы в кишечнике леща. Фтористый натрий вызывает приблизительно двукратное увеличение аккумуляции всех исследуемых углеводов, что вероятно связано с торможением процесса гликолиза.

5. Глюкоза аккумулируется в кишечнике рыб с большей (в 1,5 + 3,5 раза) скоростью, чем моносахариды, освобождающиеся в результате гидролиза дисахаридов (сахароза и мальтоза) и полисахаридов (крахмал), что может быть обусловлено меньшим развитием, по сравнению с высшими позвоночными животными, ферментативно-транспортных комплексов, реализующих ферментативно-зависимый транспорт у рыб.

6. Полученные результаты свидетельствуют о слабой зависимости интенсивности транспорта питательных веществ у исследованных видов рыб от температуры окружающей среды, что важно для оценки влияния естественных и антропогенных изменений термального режима водоёмов на транспортные процессы в кишечнике.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Кузьмина В.В., Неваленный А.Н., Температурные адаптации ферментативных и транспортных систем кишечника пресноводных рыб. - В кн.: Лимнология горных водоёмов. Ереван, Изд-во АН Арм.ССР, 1984, с. II 8.
2. Кузьмина В.В., Поддубный А.Г., Неваленный А.Н. Влияние температуры на гидролиз и транспорт углеводов в кишечнике рыб разных экологических групп. - В кн.: Вид и его продуктивность в ареале. Свердловск, 1984, 1984, ч. 3, с. 30-31.
3. Неваленный А.Н. Влияние температуры акклимации на интенсивность всасывания углеводов в кишечнике леща *Abramis brama*. - Ж. эвол. биох. физиол., 1984, т. 20, № 4, с. 448-449.
4. Неваленный А.Н. Сезонная динамика интенсивности всасывания некоторых углеводов в кишечнике леща *Abramis brama*. - В кн.: Проблемы рыбохозяйственных исследований внутренних водоёмов северо-запада Европейской части СССР. Петрозаводск, 1984, с. 70-72.
5. Неваленный А.Н. Влияние ингибиторов на процессы всасывания углеводов в кишечнике пресноводных рыб. - В кн.: Экологическая физиология и биохимия рыб. Вильнюс, 1985, с. 496-497.
6. Уголев А.М., Кузьмина В.В., Голованова И.Л., Неваленный А.Н. Видовые и индивидуальные адаптации гидролитических и транспортных функций кишечника рыб. - В кн.: Экологическая физиология и биохимия рыб. Вильнюс, 1985, с. 529-530.
7. Неваленный А.Н. Влияние температуры на интенсивность всасывания углеводов в кишечнике леща в различные сезоны года. - Биол. внутр. вод. Инф. бюл., 1985, № 67, с. 55-58.
8. Неваленный А.Н. Влияние флоридзина, строфантина К и фтористого натрия на интенсивность всасывания некоторых углеводов в кишечнике леща *Abramis brama*. - Биол. внутр. вод. Инф. бюл., 1985, № 68, с. 50-53.
9. Кузьмина В.В., Неваленный А.Н. Температурные адаптации. - В кн.: Физиология адаптационных процессов. Руководство по физиологии. М., Наука, 1986, с. 394-403.
10. Неваленный А.Н. Механизмы влияния температуры на транспортные процессы в кишечнике рыб. - В кн.: Изучение, рациональное использование и охрана природных ресурсов. Рига, 1987, с. 178-179.

А.В.А.