

А.М. УГОЛЕВ
В.В. КУЗЬМИНА

**Пищеварительные
ПРОЦЕССЫ
И АДАПТАЦИИ
У РЫБ**

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК

ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ВНУТРЕННИХ ВОД им. И. Д. ПАПАНИНА

А.М. УГОЛЕВ

В.В. КУЗЬМИНА

Пищеварительные ПРОЦЕССЫ И АДАПТАЦИИ У РЫБ

Ответственный редактор
А. Г. ПОДДУБНЫЙ



Санкт-Петербурге Гидрометеоздат 1993

A. M. Ugolev, V. V. Kuz'mina

Digestion processes and adaptations in fish

Edited by A. G. Poddubny

УДК 591.132.05 : 597

Рецензенты: М. Н. Маслова, В. Е. Матей

На основе последних достижений физиологии, биохимии и биологии в целом анализируются закономерности процессов пищеварения у рыб разных таксономических и экологических групп. Особое внимание уделено рассмотрению механизмов деполимеризации пищевых субстратов, исследованных в последние годы (мембранный гидролиз, симбионтное пищеварение, индуцированный аутолиз). Охарактеризованы видовые особенности полисубстратного пищеварения. Описаны адаптации ферментных систем пищеварительного тракта рыб к характеру питания, температуре и другим экологическим факторам.

Настоящая книга является первой попыткой систематизации с позиций современной гастроэнтерологии и трофологии сведений о процессах пищеварения и их адаптациях у рыб разных таксономических и экологических групп. Как известно, рыбы благодаря исключительному разнообразию видового состава (около 630 видов хрящевых, 45 видов ганоидных и около 20 000 видов костистых), среды обитания, особенностей питания и анатомического строения пищеварительного тракта начиная с конца XVIII в. были предметом многочисленных сравнительно-физиологических исследований. Последние десятилетия характеризуются усилением интереса к эволюционным и экологическим аспектам пищеварительных и транспортных функций у рыб разных таксономических групп. Следует отметить, что не только эволюционный, но и экологический подходы являются традиционными для отечественной физиологии, у истоков которой стоял И. М. Сеченов, подчеркивающий важную роль среды обитания организмов.

До недавнего времени наибольшее внимание уделялось изучению полостного гидролиза пищи, а также вопросам нервной и гуморальной регуляции процессов пищеварения у рыб. Уже в первой половине XX в. были получены убедительные доказательства сходства фундаментальных закономерностей пищеварения у этой и других групп позвоночных животных. Оказалось, что, несмотря на разнообразие структурно-функциональной организации пищеварительного тракта у рыб разных таксономических групп, а также отсутствие некоторых структур, в частности слюнных желез, основные принципы химической обработки пищевых субстратов, нейро-гуморальной регуляции процессов пищеварения, транзита химуса и поступления нутриентов во внутреннюю среду организма у низших и высших позвоночных в значительной мере близки.

После открытия в 1958 г. (Уголев, 1960) механизма мембранного пищеварения ряд исследовательских коллективов, в том числе и наши, сосредоточили усилия на анализе различных характеристик мембранного пищеварения, а также выяснения роли этого механизма в системе гидролитических и транспортных процессов, происходящих в желудочно-кишечном тракте рыб. В начале 60-х годов было продемонстрировано, что у рыб мембранное пищеварение играет такую же важную роль, как и у высших

У 1903040000-040
069(02)-93 Без объявл.

© Институт биологии внутренних вод им.
И. Д. Папанова, 1993 г.

ISBN 5—286—01133—0

позвоночных животных. Исследование различных характеристик этого процесса позволило пересмотреть и уточнить представления об участии ферментов слизистой кишечника рыб в реализации основных типов пищеварения (полостное, мембранное, внутриклеточное). Поскольку монографическое описание мембранного пищеварения у рыб отсутствует, рассмотрению этого механизма будет уделено особое внимание, тем более что мембранные гидролазы являются удобной моделью для изучения адаптаций ферментных систем энтероцитов.

Благодаря использованию сравнительно-физиологического, эволюционного и экологического подходов удалось проанализировать адаптации ферментативного спектра рыб разных видов к характеру питания, состоянию кормовой базы водоемов, температурным условиям функционирования пищеварительной системы и т. д. Были охарактеризованы механизмы температурных, особенно холодовых, адаптаций ферментов. На примере щеточнокаемных гидролаз, обеспечивающих процессы мембранного пищеварения, продемонстрировано участие в реализации температурных адаптаций как различных доменов амфифильной молекулы ферментов, так и липидного матрикса мембран энтероцитов.

Большое внимание уделено проблемам взаимодействия пищевых субстратов в процессе пищеварения, а также влияния температуры на регуляторные свойства ферментов. Наконец, следует отметить, что анализ закономерностей пищеварения и адаптивных перестроек отдельных звеньев процесса экзотрофии, проводимый на уровне элементарных функциональных блоков, сочетается с анализом биоценологических аспектов физиологии питания рыб. При этом значительное внимание уделено вопросам, касающимся симбионтного пищеварения и механизма индуцированного аутолиза, роль которых рассматривается с позиций новой парадигмы питания. Сочетание в рамках одной книги столь разных подходов к изучению процессов пищеварения (молекулярный и биоценологический) не должно удивлять читателя. Многоуровневый анализ проблемы питания человека и животных характерен для современной трофологии, поскольку в основе трофических процессов лежат единство структуры пищевых субстратов и единство механизмов экзотрофии, благодаря которым возможно существование не только отдельных организмов, но и жизни как планетарного явления.

В заключение необходимо отметить, что большая часть иллюстративного материала получена авторами и их коллегами из Института физиологии им. И. П. Павлова АН и Института биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН, с именами которых читатель будет постоянно встречаться на страницах этой книги. Авторы выражают самую глубокую признательность и благодарность всем коллегам, способствовавшим проведению этой работы и ее изданию, особенно Л. П. Жилиной и Г. Н. Серegiной, оказывавших техническую помощь на всех ее этапах.

Функционирование различных систем животных, относящихся к разным таксономическим группам, возможно лишь при условии поступления во внутреннюю среду организма органических веществ, обеспечивающих их энергетические и пластические потребности. Органические вещества поступают в организм животных с пищей, начальные этапы ассимиляции которой включают три основных процесса — питание, пищеварение и всасывание. Существует тесная взаимосвязь между этими процессами, позволяющая обозначать поступление пищевых веществ из окружающей среды термином «экзотрофия» (Уголев, 1985, 1987).

1.1. Античная и классическая парадигмы питания

Наблюдения, касающиеся закономерностей питания животных, относятся к глубокой древности. Однако первую научную парадигму питания принято связывать с достижениями античных натурфилософов. Согласно представлениям Аристотеля, Галена и их последователей, пища, поступающая в желудочно-кишечный тракт животных, в результате сложных процессов неизвестной природы преобразуется в кровь, которая и обеспечивает питание всего организма.

Вторая классическая парадигма питания начала формироваться в конце XVIII в. одновременно с развитием аналитических методов исследования. Главным достижением основополагающих экспериментов Л. Спалланцани, Р. Реомюра и А. Лавуазье было понимание необходимости растворения пищи перед поступлением ее во внутреннюю среду организма. В результате выдающихся достижений химии, физиологии и энзимологии уже во второй половине XIX в. были сформулированы основные принципы, позволившие разработать теорию сбалансированного питания. Согласно этой теории, в организм животных должны поступать пищевые вещества, в количественном и качественном отношении близкие веществам, израсходованным в процессе жизнедеятельности. При этом начальные этапы ассимиляции пищи осуществляются за счет двух типов пищеварения (полостного и внутриклеточного) и последующего всасывания полезных пищевых веществ — нутриентов.

Помимо нутриентов, поступающих во внутреннюю среду организма в результате гидролиза белков, углеводов, жиров и других соединений, классические концепции питания рассматривали в качестве нежелательных балластных и вредные вещества, входящие в состав пищи.

В конце XIX—начале XX в. появились представления о необходимости усовершенствования не только технологии питания, но и жизнедеятельности организма. В частности, возникла идея отбрасывания балластных веществ и формирования максимально обогащенной оптимизированной пищи, состоящей из нутриентов. Многие ученые до последнего времени полагали, что можно создать идеальную пищу, которая в виде питательных смесей вводилась бы в желудочно-кишечный тракт (обзоры: Несмеянов, Беликов, 1965; Покровский, 1974; Haepel, 1979, 1980; Уголев, 1980, и др.).

В рамках классической парадигмы питания к середине XX в. были описаны важнейшие закономерности, касающиеся всех звеньев сложного процесса экзотрофии. Вместе с тем в последующие десятилетия в различных областях биологии, в том числе и в науке о питании, были сделаны столь важные открытия, что потребовался пересмотр многих представлений.

На базе классических концепций и достижений современной науки в настоящее время формируется новая, третья по счету, парадигма питания, (Уголев, 1980, 1985, 1987 и др.). Поскольку современная парадигма существенно отличается от предшествующих, а многие ее положения позволяют существенно пересмотреть не только теоретические, но и практические аспекты питания человека и животных, ниже будут проанализированы наиболее значительные различия между классическими и современными представлениями.

Одним из основных достижений классической парадигмы питания являлось осознание эссенциальной роли не только энергетически емких основных компонентов пищи, таких как белки, жиры и углеводы, но и минорных, таких как витамины, гормоны, нуклеиновые кислоты и др. Особое внимание при этом уделялось биохимическому элементному составу пищи, в частности соотношению заменимых и незаменимых аминокислот, насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, различных гексоз и пентоз, витаминов, минеральных солей и т. д. Согласно данной парадигме, нутриенты, поступающие в пищеварительный тракт в форме полимеров, в процессе пищеварения гидролизуются до уровня мономеров главным образом за счет механизма полостного пищеварения. При этом схема потоков различных веществ из желудочно-кишечного тракта во внутреннюю среду организма представлялась исключительно простой (рис. 1). Предполагалось, что роль балластных веществ, токсинов и микрофлоры в будущем должна снижаться за счет создания элементных диет, содержащих нутриенты в форме мономеров. На базе этих представлений разрабатывались и продолжают разрабатываться многочисленные диеты для че-

ловека и рационы для домашних животных (Несмеянов, Беликов, 1965; Покровский, 1974).

Однако, несмотря на важную роль теории сбалансированного питания, в научном обосновании пищевых потребностей человека и животных в настоящее время не вызывает сомнения ошибочность некоторых старых представлений. Более того, балансный подход и вытекающая из него идея рафинированной (безбалластной) пищи, по-видимому, принесли определенный вред. Действи-

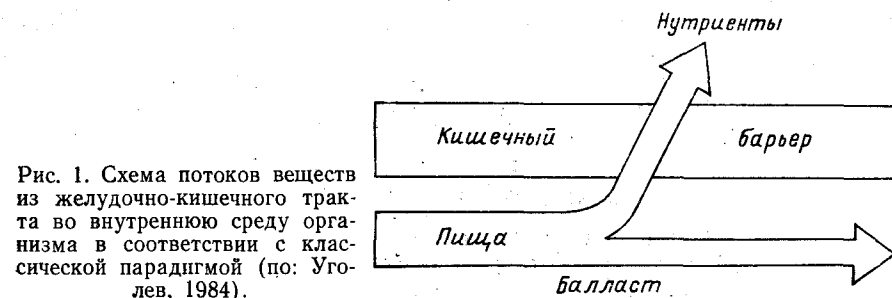


Рис. 1. Схема потоков веществ из желудочно-кишечного тракта во внутреннюю среду организма в соответствии с классической парадигмой (по: Уголев, 1984).

тельно, широкое использование рафинированной пищи способствовало развитию так называемых болезней цивилизации, таких как ожирение, гипертония, атеросклероз, инфаркт миокарда, диабет, гастрит, холецистит, рак, парадонтоз и т. д. (Haepel, 1979, 1980; Уголев, 1985, и др.). Эти факты наряду с открытием новых механизмов пищеварения и транспорта, углублением представлений об энтеринной гормональной системе, анализом различных характеристик безмикробных и контрольных животных, а также данными по влиянию элементных диет на различные системы организма человека и животных обусловили пересмотр ряда основополагающих положений теории сбалансированного питания и классической парадигмы питания в целом.

1.2. Теория адекватного питания

Как указывалось выше, в настоящее время формируется новая парадигма питания, центральное положение в которой занимает теория адекватного питания (Уголев, 1985, 1987, и др.), включающая в себя как важную составную часть теорию сбалансированного питания. Эта теория содержит ряд новых основополагающих постулатов: 1) питание поддерживает молекулярный состав организма и возмещает его энергетические и пластические расходы на основной обмен, внешнюю работу и рост (это положение является общим для классической и новой теорий питания); 2) необходимыми компонентами пищи служат не только нутриенты, но и балластные вещества; 3) нормальное питание обусловлено не одним потоком нутриентов из желудочно-кишечного

тракта, а несколькими потоками нутритивных и регуляторных веществ, имеющих жизненно важное значение; 4) в метаболическом и особенно трофическом отношении ассимилирующий организм рассматривается как надорганизм; 5) существует эндоэкология организма-хозяина, образуемая микрофлорой и простейшими кишечника; 6) баланс пищевых веществ достигается в результате освобождения нутриентов из структур пищи при ферментативном расщеплении ее макромолекул за счет полостного и мембранного пищеварения (в ряде случаев внутриклеточного), а также вследствие синтеза новых веществ, в том числе незаменимых (Уголев, 1987).

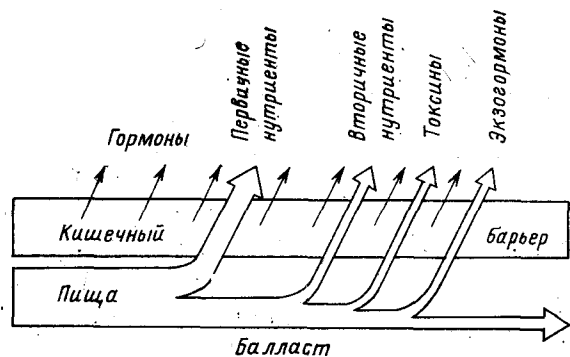


Рис. 2. Схема потоков веществ из желудочно-кишечного тракта во внутреннюю среду организма в соответствии с новой парадигмой (по: Уголев, 1984).

Рассмотрим более подробно некоторые новые положения этой теории. Согласно современным представлениям, помимо основного потока нутриентов, учитываемого теорией сбалансированного питания, во внутреннюю среду организма из пищеварительного тракта поступает еще ряд важных потоков (рис. 2). Прежде всего, это поток вторичных нутриентов, образующихся из балластных веществ в результате деятельности микрофлоры, в состав которого входят витамины, незаменимые аминокислоты, углеводы, жиры и т. д. Кроме того, существуют потоки нутриентов, модифицированных микрофлорой, а также поток продуктов жизнедеятельности бактерий (Caspary et al., 1981). Исключительно важную роль играют потоки гормонов и других физиологически активных веществ. Известно, что эндокринные клетки желудочно-кишечного тракта продуцируют около 30 гормонов и гормоноподобных субстанций, контролирующих не только функции пищеварительного аппарата, но и важнейшие эндокринные и метаболические функции всего организма (Уголев, 1978; Larsson, 1979; Климов, 1983, и др.). Предполагается, что эндокринная система пищеварительного аппарата наряду с этим участвует в регуляции аппетита (Уголев, 1978). В последние годы появились сведения о продуци-

ровании клетками тонкой кишки эндорфинов и энкефалинов (Corder, Rees, 1981, и др.), а также об образовании при гидролизе молока и пшеницы морфиноподобных веществ, получивших название экзорфинов (Chang et al., 1981; Nazum et al., 1981). Эти данные свидетельствуют о существовании потоков как эндогенных, так и экзогенных гормонов и других физиологически активных веществ.

Особую роль в формировании структурных и ряда функциональных характеристик пищеварительного тракта играет поток бактериальных метаболитов. В частности, у безмикробных животных снижена масса стенки тонкой и толстой кишок, редуцированы эпителий, снижена митотическая активность эпителиальных клеток, недоразвита иммунная система и увеличена скорость миграции эпителиоцитов из области крипт к вершине ворсинок (Fretter, 1974; Levin, 1979; Чахава и др., 1982, и др.). Кроме того, бактериальные метаболиты влияют на кишечную проницаемость и активность пищеварительных гидролаз (Siddons, Coates, 1972; Кушак и др., 1975; обзор: Vanwell, 1984). Существенное воздействие на пищеварительную и другие системы животных оказывает гистамин бактериального происхождения. Гиперпродукция этого амина, образующегося при декарбоксилировании аминокислот, вызывает язвы желудка, аллергии, повышенную чувствительность к нарушению гипоталамо-гипофизарных функций (Вайсфельд, Кассиль, 1981).

В связи с усилением антропогенного загрязнения среды обитания увеличился поток веществ, попадающих в желудочно-кишечный тракт человека и животных с водой и пищей (Уголев, 1985).

Таким образом, во внутреннюю среду организма поступает не один, а семь или более энтеральных потоков различных веществ, которые участвуют как в обмене веществ, так и в регуляции метаболизма.

Помимо большего числа потоков нутриентов теория адекватного питания учитывает ранее неизвестные механизмы начальных этапов ассимиляции пищи и транспорта нутриентов, которые будут подробно изложены во второй главе, а также эволюционно сложившиеся потребности организмов в составе и структуре традиционной пищи. В свете этих представлений балластные вещества являются не только полезными, но и необходимыми компонентами пищи, так как служат основой для продукции кишечной микрофлорой исключительно важных веществ, способных компенсировать недостающие компоненты (Trowell, 1972, 1978; Cummings, 1973; Connel, 1981; обзор: Уголев, 1985, и др.). Более того, у некоторых животных, в частности у тертинов и жвачных, ассимилируются не столько первичные, сколько вторичные нутриенты, образовавшиеся за счет микрофлоры (Prosser, 1977; Schmidt-Nielsen, 1982; Уголев, 1985). Эти факты, а также важная роль микрофлоры в формировании защитных сил различных животных и человека позволяют рассматривать ее в качестве обязательного компонента энтеральной среды.

Последнее позволяет сделать заключение о том, что в метаболическом отношении все животные представляют собой надорганизмы. Поскольку наличие кишечной микрофлоры является эволюционно закрепленной формой существования большинства животных, сложные взаимоотношения между микрофлорой и макроорганизмом необходимо учитывать при оценке различных аспектов жизнедеятельности животных.

Новая парадигма питания и ассимиляции пищи придает большое значение защитным функциям пищеварительного тракта. Как известно, с пищей в организм поступают аллергены и токсины. Попаданию многих из них во внутреннюю среду препятствует прежде всего ограниченная проницаемость эпителия для макромолекул, в число которых входят белки, мукополисахариды и другие соединения, обладающие антигенными свойствами (Wilson, 1962; Физиология всасывания, 1977; Ferguson, 1979; Walker, 1979, и др.). Кроме того, в тонкой кишке функционирует иммунная система, представленная пейеровыми бляшками, содержащими В-, М- и Т-клетки (Owen, Jones, 1974; Ferguson, 1979). Помимо этого существует мощный лейкоцитарный слой (Ferguson, Muggau, 1971), причем некоторая часть лимфоцитов обнаружена внутри энтероцитов. Наконец, на поверхности энтероцитов обнаружены иммуноглобулины А и Е, создающие в области гликокаликса дополнительный защитный слой (Елецкий, Цибулевский, 1979; Ferguson, 1979, Walker, 1979 и др.). Описаны также защитные функции внутриклеточных пептидаз (Уголев и др., 1977б) и системы антиоксидантных реакций, в значительной мере связанные с активностью цитохромов Р₄₅₀. Эти данные свидетельствуют о существовании разнообразных защитных механизмов в пищеварительном тракте, который наряду с печеночным барьером выполняет важные функции по устранению антигенной и токсической агрессии.

Вместе с тем в настоящее время признается, что небольшие дозы токсинов и аллергенов необходимы для поддержания пищеварительной и иммунной системы организма в функционально активном состоянии.

Выше были перечислены основные положения теории адекватного питания, касающиеся организменного уровня организации материи. Однако новая парадигма питания охватывает все звенья трофических отношений, включая популяционный, биоценотический и биосферный. Прежде чем перейти к их анализу, необходимо кратко охарактеризовать основные классификации типов питания животных.

1.3. Типы питания животных

Ранее вся биота планеты по типу питания делилась на 2 группы: 1) аутотрофы, использующие в качестве пищевых субстратов неорганические вещества, 2) гетеротрофы, потребляющие

помимо неорганических органические вещества, синтезируемые преимущественно аутотрофами. Однако эта широко распространенная классификация оказалась не вполне корректной (Уголев, 1985, 1987, 1989). В последние годы были предложены классификации, учитывающие источник энергии или физическое состояние пищи (Prosser, 1977), источник энергии, а также источник углерода, азота и других органических и неорганических соединений (Stanier et al., 1979a—1979c).

Согласно Станиеру и соавторам (Stanier et al., 1979a—1979c), существуют 4 группы организмов: 1) фотоаутотрофы (водоросли, высшие растения и многие фотосинтезирующие бактерии), использующие свет как источник энергии, а СО₂ как источник углерода; 2) фотогетеротрофы (пурпурные и зеленые бактерии), использующие свет в качестве энергии и какое-либо органическое вещество в качестве источника углерода; 3) хемоаутотрофы, использующие химический источник энергии, освобождаемой при окислении ряда восстановленных неорганических соединений (NH₃, NO₂, H₂), восстановленных форм серы (H₂S, S, S₂O₃), или закисное железо (только бактерии). Эти организмы иногда называют хемолитотрофами, так как они способны к росту в минеральной среде в отсутствие источника света; 4) хемогетеротрофы (все многоклеточные животные, простейшие, грибы и подавляющее большинство бактерий), использующие химический источник энергии и органические вещества в качестве источника углерода.

Поскольку корректное определение процессов питания подразумевает ассимиляцию всех веществ, поступающих извне, а живые организмы являются экзотрофами и, следовательно гетеротрофами, была предложена натуральная классификация биоты (Уголев, 1980). Согласно ей все живые организмы распределяются по шкале, на одном полюсе которой находятся полные абитрофы, на другом — полные биотрофы. В настоящее время полных абитрофов практически не существует (известны лишь литотрофы). Полная биотрофия присуща некоторым монофагам, симбионтам и эмбрионам. Хищники близки к полным биотрофам, однако в их пищу входят соли неорганического происхождения и вода. К биотрофии относится также эндотрофия в период голодания животных и темного питания растений.

Натуральная классификация оказывается исключительно полезной при анализе трофических цепей, в частности перехода от одного участка трофической цепи к другому. Важно отметить, что биотрофия существует в нескольких вариантах: естественная, или витальная, экзотрофия (питание живыми организмами и их элементами), поствитальная биотрофия, сапрофитизм (питание продуктами жизнедеятельности других организмов), а также эндотрофия.

Способы питания различных животных могут существенно различаться (Jennings, 1972; Schmidt-Nielsen, 1982). В связи с этим сохраняет свое значение традиционное деление животных по типу питания, базирующееся на анализе спектра кормовых объектов,

в частности моно- и эврифагов, фито- и зоофагов, хищников и «мирных», бенто- и планктофагов и т. д.

Вместе с тем в процессе эволюции сложилось не только принципиальное сходство животных разных видов по молекулярному составу, но и сходство систем, осуществляющих подготовку сложных органических, как правило, высокомолекулярных соединений к последующей ассимиляции. Эти системы состоят из многочисленных гидролаз, разрушающих биополимеры до уровня моно- и олигомеров, пригодных к всасыванию и ассимиляции.

1.4. Трофические цепи и биогеоценозы

В настоящее время принято считать, что синтезы различных биологических веществ возникали в процессе эволюции постепенно, по мере выживания организмов, способных осуществлять те или иные процессы. Построение пищевой цепи, по-видимому, базировалось на редуцентах и завершалось фото- и минерал-зависимыми абитрофами, так как системы фото- и хемосинтеза, необходимые для абитрофии, в эволюционном отношении являются сравнительно молодыми (Вернадский, 1967; Bergal, 1969; Уголев, 1980; 1985; Folsome, 1982, и др.).

Предполагается, что первичные бионты получали основные органические материалы в виде мономеров из небиологических источников. При этом первичная гетеротрофия возникла на основе использования молекул, обеспечивающих функции внутриклеточного гидролиза, связанного с перестройкой и мобилизацией собственных полимерных структур. Эти древние гидролазы, служившие основой для формирования эндотрофии, впоследствии стали использоваться для реализации процессов экзотрофии (Уголев, 1961, 1985, 1990 и др.). Древность происхождения и первичность эндотрофии позволяют понять сходство механизмов эндо- и экзотрофии у столь значительно различающихся по уровню филогенетического развития организмов, как бактерии, высшие растения, беспозвоночные и позвоночные животные.

Благодаря принципиальному сходству молекулярного состава и механизмов усвоения пищевых веществ с помощью ферментативных систем, обеспечивающих деполимеризацию органических соединений, оказывается возможным изменение не только спектра питания, но и места животных в трофической цепи. Это фундаментальное свойство живых систем позволяет им адаптироваться к изменению условий питания и тем самым полнее использовать кормовую базу. Это же свойство позволяет видам, относящимся к различным типам и даже царствам, занимать аналогичные трофические ниши.

Одним из наиболее важных для биологии выводов новой парадигмы питания является то, что процветание любого вида в значительной мере определяется его положением в трофической цепи. Иными словами, существование отдельных видов и популяций за-

висит не только от наличия пищи, но и от их способности быть источником питания для следующих звеньев трофической цепи (Уголев, 1980, 1985, 1987 и др.). Этот, на первый взгляд парадоксальный, вывод был подготовлен многочисленными данными экологических работ, свидетельствующих о том, что главной побудительной причиной активности всех животных является необходимость поиска пищи, количество, качество и доступность которой влияют как на распределение, так и на численность различных популяций животных (Odum; 1975; Ricklefs, 1979; Whittaker, 1980, и др.).

Полезными для анализа трофических отношений различных животных оказались понятия фагичности и трофичности организмов (Уголев, 1980). Первый термин означает доступность объектов питания для потребляющих их консументов, второй — питательность и способность быть ассимилированными. Именно сочетание фагичности и трофичности видов обеспечивает их процветание, а также взаимные адаптации трофических партнеров. Из упомянутой выше экологической литературы хорошо известно, что численность и другие характеристики популяций хищника и жертвы находятся в строгой взаимозависимости. Так, уменьшение численности популяции жертвы может вызвать уменьшение или даже исчезновение популяции хищника, в той или иной мере отражающееся на состоянии популяций консументов более высокого порядка.

При благоприятных условиях питания численность популяции потенциальной жертвы может увеличиваться и вызвать увеличение популяции хищника. Однако при значительном увеличении популяции хищника возможны нарушение структуры и снижение темпа воспроизводства популяции жертвы, которые приводят к депрессии популяции хищника. Эти факты свидетельствуют о важной роли не только источника пищи, но и механизма обратной связи, регулирующего состав и численность животных, входящих в экосистему. Не вызывает сомнения высокая эффективность такой регуляции, а также вытекающая из этого необходимость крайне осторожного воздействия на различные экосистемы извне.

Существуют многочисленные примеры печальных последствий вмешательства человека в функционирование экосистем, когда поголовье хищников истреблялось или искусственно увеличивалось в результате специальных мероприятий. Кроме того, описаны механизмы регуляции трофических отношений животных, заключающиеся в изменении интенсивности питания хищников. Так, офиуры и морские звезды, питающиеся пластиножабберными моллюсками, голодают в течение 1—2 мес, пока личинки объектов питания не увеличат массу на 2—3 порядка, и таким образом сохраняют популяцию жертвы (Torgson, 1955, цит. по: Уголев, 1980). Исключительный интерес в этом плане представляют взаимоотношения паразит—хозяин, которые в процессе эволюции приобрели более нейтральные формы и приблизились в ряде случаев к симбионтным отношениям (Куперман, 1988). Ясно, что уменьшение вред-

ных для хозяина последствий паразитизма приводит к улучшению состояния его популяции и тем самым способствует сохранению паразитов.

В заключение этого раздела следует подчеркнуть схематичность описанных выше примеров трофических отношений животных. В естественных условиях, когда в состав экосистем входят многочисленные звенья, трофические взаимоотношения животных представляют собой не трофические цепи, а трофические сети. При этом и фагичность, и трофичность объектов питания зависят не только от биотических, но и абиотических факторов среды. Так, доступность экотермных животных для гомойотермных хищников увеличивается по мере снижения температуры окружающей среды. Интенсивность процессов экзотрофии у пойкилотермных хищников при уменьшении температуры, напротив, снижается. Значительное влияние на фагичность и трофичность жертвы оказывает также газовый состав среды обитания, давление, доступность и качество воды, состав почв, грунтов и т. д. Это делает понятной значительную зависимость трофических отношений различных животных от структуры биогеоценозов.

Таким образом, в основе трофических взаимоотношений животных лежит принципиальное сходство молекулярного состава биоты, а также единство механизмов экзотрофии. Трофические цепи, или сети, большинства современных организмов исключительно сложны и в значительной мере зависят не только от биотических, но и абиотических компонентов биогеоценозов.

1.5. Биосфера как трофосфера

Несмотря на то что носителями жизни являются отдельные организмы, а универсальным элементом — клетка, жизнь на Земле возможна лишь как планетарное явление. Необходимым условием сохранения жизни в планетарном масштабе является поддержание равновесия между скоростью синтеза и деструкции вещества. Известно, что ежегодно на Земле образуется приблизительно 230 млрд тонн органических веществ, которые разрушаются различными биотрофами. При этом в каждом следующем трофическом звене масса органического вещества уменьшается, как правило, на порядок.

Для понимания трофических взаимоотношений организмов в планетарном масштабе исключительно полезной оказалась концепция биосферы. Как известно, значение этого термина существенно изменилось под влиянием работ Зюсса (Suess, 1875) и особенно представлений В. И. Вернадского (1967). Согласно Зюссу, биосфера — особая оболочка Земли, образованная живыми организмами. Большой заслугой Вернадского было не только введение в понятие биосферы области распространения жизни на Земле (населенную организмами поверхность суши, толщу вод и нижнюю часть атмосферы), а также включение наряду с орга-

низмами среды их обитания, но и постулирование изменения в процессе эволюции как биотических, так и абиотических компонентов биосферы.

Динамическое единство биосферы возможно лишь в том случае, когда строительные и функциональные блоки универсальны. Если доказательства универсальности строительных блоков (аминокислоты, моносахариды, жирные кислоты и т. д.) были получены давно, то доказательства универсальности функциональных блоков появились лишь в последнее время (Уголев, 1982, 1985, 1987, 1990 и др.). Согласно концепции универсальных функциональных блоков, различные физиологические функции, выполняемые клетками разных тканей и органов, складываются из элементарных функций, реализуемых определенными функциональными блоками, число которых ограничено. Функциональная специализация тканей обеспечивается благодаря различному сочетанию и количественному соотношению стандартных блоков, а изменение функциональных эффектов обусловлено их перераспределением. Единство функциональных блоков у бионтов всех 5 царств обеспечивает как усвоение пищи (живое вещество предыдущего трофического звена), так и ресинтезы в следующем трофическом звене. Это обстоятельство делает понятным удивительное сходство важнейших характеристик пищеварительных ферментов, обеспечивающих процессы экзогенного питания, у организмов, находящихся на разных этапах филогенетического развития (обзоры: Мосолов, 1971; Dixon; Webb, 1982a; Уголев, 1985, 1990; Meiseer, Gumicio, 1986, и др.). Еще более поразительным сходством характеризуются транспортные системы различных организмов, как простейших, так и высших позвоночных животных, обеспечивающие перенос через мембраны клеток молекулы аминокислот и сахаров (Handbook..., 1968; Физиология..., 1977). Поскольку биосфера существует благодаря круговороту вещества и потокам энергии, важную роль в которых играют гидролазы, разрушающие органические вещества продуцентов и консументов разного порядка, можно полагать, что жизнь на Земле сохраняется благодаря единству биосферы на уровне трофических взаимодействий в пределах биотических циклов (Уголев, 1985, 1987, 1989 и др.).

Имеющиеся факты позволяют рассматривать единство механизмов экзотрофии не как результат стабилизирующего действия естественного отбора, направленного на поддержание определенного признака в определенном состоянии, а как результат сближения признаков у разных групп организмов. Эта конвергирующая функция позволяет сохранять существовавшее при формировании жизни единство и возможность взаимодействия различных звеньев трофических цепей между собой (Уголев, 1990). Вышесказанное позволяет рассматривать биосферу как трофосферу, функционирующую по принципу трофостата, функции обратной связи в котором играют гидролазы, обеспечивающие деструкцию органического вещества (Уголев, 1985, 1987, 1990 и др.).

Итак, благодаря важным открытиям в области физиологии, биохимии, цитологии и биологии в целом стала очевидной необходимость пересмотра ряда положений классической парадигмы, в частности теории сбалансированного питания. Новая парадигма питания, не утрачивая точности физико-химических подходов, свойственных классической парадигме, обладает универсальностью, позволяющей анализировать все аспекты трофологии, за счет привлечения современных данных о неизвестных ранее механизмах начальных этапов ассимиляции пищи, о многообразии происходящих в пищеварительном тракте животных процессов, увеличивающих число потоков нутриентов и биологически активных веществ во внутреннюю среду организма, а также использования эволюционных и экологических подходов.

Как подчеркивалось ранее (Уголев, 1980, 1985, 1987 и др.), рассмотрение в пределах одной науки микроскопических и планетарных процессов обусловлено единством механизмов экзотрофии в многоуровневой системе трофических связей. На одном полюсе этой системы стоит трофика как необходимое условие жизни, на другом — превращение и перемещение огромных масс веществ и энергии в биосфере в результате трофической иерархии и взаимосвязанности организмов в масштабах планеты. Это и позволяет воспринимать биосферу в определенном смысле как трофосферу, где пищевые связи образуют замкнутый контур. Грандиозность и различия масштабов, которыми оперирует трофология, не должны удивлять. Хотя носителями жизни служат отдельные организмы, в основе ее лежат элементарные процессы на молекулярном и клеточном уровнях, а в целом жизнь возможна лишь как планетарное явление. При этом на всех уровнях организации живых систем начальным звеном жизненного цикла является ассимиляция, служащая предметом трофологии.

Как указывалось ранее, ассимиляция пищи у большинства организмов становится возможной лишь после ее деструктурирования и деполимеризации. Эти процессы у хордовых и некоторых беспозвоночных животных осуществляются в пищеварительных органах под воздействием различных ферментов, реализующих поэтапный гидролиз биополимеров до уровня мономеров, которые поступают во внутреннюю среду организма и участвуют в метаболизме.

В зависимости от источника ферментов и условий их функционирования в настоящее время различают три основных типа «собственного» пищеварения (внеклеточное, внутриклеточное и мембранное), а также симбионтное и аутолитическое пищеварение. Общими закономерностями для большинства животных и человека, по-видимому, являются первоначальное переваривание пищи в кислой среде, последующий гидролиз и всасывание — в нейтральной. У некоторых групп беспозвоночных животных это достигается за счет изменения рН в пищеварительных вакуолях, у животных с развитой пищеварительной системой — за счет транзита пищи через отделы, значительно различающиеся по ряду параметров, в том числе и рН среды (Коштоянц, 1950; Уголев, 1961, 1967, 1972, 1985, 1987; Prosser, Brown, 1967; Jennings, 1972; Barnard, 1977a; Schmidt-Nielsen, 1982a, и др.).

2.1. Характеристика ферментных систем, обеспечивающих деполимеризацию органических компонентов пищи

Большинство пищеварительных ферментов является гидролазами, расщепляющими химические связи при участии воды. У разных групп животных спектр и соотношение активности различных пищеварительных гидролаз значительно варьируют в зависимости от таксономических особенностей, а также характера питания животных (Barnard, 1977c).

По механизму действия на субстраты пищеварительные ферменты принято условно делить на две группы — эндо- и экзогидролазы (Dixon, Webb, 1982a). Эндогидролазы, функционирующие в основном в растворе, воздействуя на центральные участки поли-

мерных молекул субстрата, образуют олигомеры, экзогидролазы отщепляют концевые остатки мономеров (аминокислот, гексоз и т. д.).

Гидролиз белков. У позвоночных животных гидролиз белков пищи, как правило, начинается в желудке благодаря денатурирующему действию соляной кислоты и кислых карбоксильных протеиназ (Prosser, Brown, 1967; Коротько, 1974; Barnard, 1977c). Основной протеиназой является пепсин, синтезируемый главными клетками желудка в виде зимогена. Под влиянием ионов водорода или протеиназ в результате ограниченного протеолиза при рН 2.0—5.0 происходит превращение пепсиногена в пепсин (Мосолов, 1971; Fersht, 1980; Dixon, Webb, 1982a; Веремеенко и др., 1988, и др.). Активация зимогена связана с отщеплением от N-конца 44 аминокислотных остатков, что приводит к образованию пепсина, после конформационных изменений молекулы которого образуется активный центр (Fersht, 1980). Существуют несколько молекулярных форм пепсина (у человека до 7). Помимо пепсина в желудочном соке содержатся парапепсин, гастринсин, реннин, или химозин (табл. 1). Молекулярная масса зимогенов протеиназ составляет около 40 000, активных ферментов — около 35 000. В желудке гидролизуется около 10 % всех пептидных связей (Мосолов, 1971).

Дальнейшее переваривание белков, как правило, происходит под воздействием протеиназ панкреатического происхождения: трипсина, химо трипсина А, В и С, эластазы, а также карбоксипептидазы А и В (Физиология ..., 1974). Панкреатические протеиназы, так же как и желудочные, выделяются в виде зимогенов, которые в результате ограниченного протеолиза, осуществляемого при помощи каскадного механизма, превращаются в активные формы. Трипсиноген активируется кишечной энтерокиназой (энтеропептидазой) и трипсином, остальные протеиназы — только трипсином. Процессы активации панкреатических протеиназ близки таковым желудочных ферментов. Первые 3 фермента относятся к группе сериновых протеиназ и являются эндогидролазами. Трипсин преимущественно расщепляет связи между основными аминокислотами, химо трипсин — между ароматическими, эластаза — между алифатическими (Мосолов, 1971; Fersht, 1980; Антонов, 1983, и др.). Несмотря на различия в структуре трех сериновых протеиназ (молекула бычьего химо трипсиногена А состоит из 245 аминокислотных остатков и имеет 5 дисульфидных мостиков, трипсиногена — из 229 аминокислотных остатков и 6 дисульфидных мостиков, эластаза I свиньи — из 240 аминокислотных остатков и 4 дисульфидных мостиков), ключевую роль в катализе играют 3 аминокислотных остатка, входящих в состав активного центра: серина — 195, гистидина — 57, аспарагина — 102 (Walsh et al., 1964; Bode, Hubner, 1986; Егорова, Уголев, 1989). Указанные ферменты помимо этого обладают амидазной и эстеразной активностью. Причем сложные эфиры гидролизуются в 60 раз быстрее, чем амиды (Веремеенко и др., 1988).

Большинство нативных белков слабо расщепляются трипсином и химо трипсином, но становятся чувствительными к их действию после денатурации белков, видимо, за счет изменения вторичной и третичной структур молекулы субстрата (Dixon, Webb, 1982a; Антонов, 1983; Веремеенко и др., 1988, и др.). Протеиназы различных животных, по-видимому, являются продуктом дивергенции и происходят от общей сериновой «пропротеазы», возникшей на ранних этапах эволюции. Протеиназы микробов по отношению к протеиназам животных принято рассматривать как пример конвергентной эволюции (Антонов, 1983).

Прокарбоксипептидаза А получена из поджелудочной железы в 2 формах: молекулы с молекулярной массой 87 000 состоят из 3 субъединиц, с молекулярной массой 64 000 — из 2. Прокарбоксипептидаза В получена только в мономерной форме (Веремеенко и др., 1988). Первая отщепляет от С-конца пептидной цепи ароматические, вторая — основные аминокислоты.

Благодаря желудочным и панкреатическим ферментам белки расщепляются до олигопептидов, состоящих из 2—6 аминокислотных остатков. Завершают гидролиз белковых компонентов пищи кишечные пептидазы. Наибольшую роль в этом процессе играет аминокислотная пептидаза М, или аланин-аминопептидаза. Фермент у некоторых животных представлен в форме мономера, у большинства исследованных животных — в форме симметричного димера. Этот фермент отщепляет основные аминокислоты от естественных и синтетических субстратов. Помимо аминокислотной пептидазы М в кишечнике обнаружена аминокислотная пептидаза А, отщепляющая остатки аспарагиновой и глутаминовой кислот, а также дипептидилпептидаза IV (Уголев, 1985). Молекулярная масса аминокислотной пептидазы у разных животных колеблется от 112 000 до 350 000 (Кушак, 1983). Дипептидазы обладают специфичностью к определенным субстратам. Некоторые из них являются металлоферментами и ингибируются ЭДТА. Для дипептидаз характерна способность к спонтанной солибилизации, позволяющая предположить их принадлежность к периферическим интегральным белкам (Уголев и др., 1974, 1977; Peptide transport..., 1977; Кушак, 1983; Уголев, 1985, и др.).

Помимо вышеназванных экзогидролаз мембрана щеточной каймы содержит эндогидролазы (упоминавшуюся выше энтерокиназу и нейтральную эндопептидазу), выполняющие особые функции. Энтерокиназа строго избирательно отщепляет N-концевые пептиды от цепи трипсиногена, эндопептидаза, напротив, имеет широкую специфичность по отношению к пептидным связям гидрофобных остатков, что особенно важно для деградации различных биологически активных пептидов. Щеточнокаемная γ -глутамилтранспептидаза, по-видимому, является трансмембранным интегральным белком и участвует в транспорте пептидов (Уголев, 1985).

Гидролиз углеводов. Углеводы пищи относятся к трем основным группам: 1) структурные полисахариды (целлюлоза, лигнин, агар, хитин и другие), которые в большинстве случаев ферментами

Т а б л и ц а 1
Ферменты, участвующие в гидролизе основных групп пищевых веществ (по: Уголев, 1985)

Фермент	Зимоген	Молекулярная масса	Место синтеза	Место действия	Гидролизуемые связи и субстраты	Тип гидролиза
Пепсин, 3.4.23.1	+	35000	Желудок	Желудок	Пептидные связи белков и пептидов, рН 3.3—4.0	Внеклеточный
Гастриксин, 3.4.23.3	+	35000	»	»	Те же, рН 3.3—4.0	»
Химозин, 3.4.23.4	+	35000	»	»	Те же, рН 3.7	»
α-Амилаза, 3.2.1.1	—	45000—50000	Поджелудочная железа	Полость кишки, гликокаликс	α-1,4-Глюкозидные связи крахмала и гликогена	Внеклеточный, мембранный
Трипсин, 3.4.21.4	+	25000	То же	То же	Пептидные связи между основными аминокислотами (Arg-Lys)	То же
Химотрипсин, 3.4.21.1	+	25000	»	»	Пептидные связи между ароматическими аминокислотами (Phe-Tyr)	»
Эластаза, 3.4.21.11	+	25000	»	»	Те же	»
Карбоксипептидаза А, 3.4.17.1	+	35000	»	»	С-концевые ароматические аминокислоты пептидов	»
Карбоксипептидаза В, 3.4.17.2	+	35000	»	»	С-концевые основные аминокислоты пептидов	»
Липаза, 3.1.1.3	—	—	»	»	Триглицериды (до моноглицеридов и жирных кислот)	»
γ-Амилаза, 3.2.1.3	—	200000	Тонкая кишка	Апикальная мембрана энтероцита (трансмембранный белок)	Концевые остатки α-D-глюкозы полисахаридов	Мембранный
Изомальтаза, 3.2.1.10	—	100000	То же	То же	α-1,6-Глюкозидные связи в изомальтозе и декстринах	»
Мальтаза, 3.2.1.20	—	240000	»	»	α-1,4-Глюкозидные связи нередуцирующего конца олигосахарида	»
Сахараза (инвертаза), 3.2.1.48	—	140000	»	»	Сахароза, мальтоза (реакция по типу α-глюкозидазы)	»
Лактаза, 3.2.1.23	—	300000	»	»	β-Галактозиды, лактоза	»
Трегаллаза, 3.2.1.28	—	240000 96000	»	»	α,α-Трегалоза	»
Щелочная фосфатаза, 3.1.3.1	—	120000 —150000 (до 200000)	»	»	Моноэфиры ортофосфата	»
Аминопептидаза М, 3.4.11.2	—	280000	»	»	Пептиды (отщепляет α-аминокислоты, преимущественно аланин); амиды	»
Дипептидазы, 3.4.13.1—3.4.13.11	—	100000	»	Апикальная мембрана энтероцита (периферический интегральный белок), цитозоль	Специфические дипептиды	Мембранный, внутриклеточный
Моноглицеридлипаза, 3.1.1.23	—	—	»	Апикальная мембрана энтероцита	Моноглицериды	Мембранный

позвоночных не гидролизуются; 2) легко гидролизуемые универсальные пищевые полисахариды (в основном гликоген и крахмал); 3) олиго- и дисахариды, а также моносахариды, не нуждающиеся в расщеплении перед поступлением во внутреннюю среду организма.

Гидролиз универсальных пищевых полисахаридов у животных с развитой пищеварительной системой начинается в ротовой полости под действием α -амилазы слюны и продолжается в полости тонкой кишки под влиянием панкреатической α -амилазы. α -Амилаза является эндогидролазой и действует на 1,4- α -глюкозидные связи в молекулах этих полисахаридов. После гидролиза глюкозидной связи фермент-субстратный комплекс не распадается полностью — десорбируется лишь одна из частей субстрата, в то время как другая может скользить вдоль активного центра, периодически расщепляясь и образуя короткие мальтоолигосахариды (Hutny, Ugorski, 1981).

Молекулярная масса фермента некоторых млекопитающих и человека составляет 45 000—55 000 (Loyter, Schramm, 1966; Thoma et al., 1971; Sheele, 1975; Kluh, 1979, и др.). Молекула фермента представлена одной полипептидной цепью, состоящей из 460—465 аминокислотных остатков (Kluh, 1979) или 2 равных по величине субъединиц (Dixon, Webb, 1982b). При исследовании фермента свиньи показано, что с субстратом в щели активного центра взаимодействуют остатки гистидина — 222, лизина — 209, гистидина — 210, глутамина — 230 и аспарагина — 297 (Payan et al., 1980). Для человека описаны 8 изоферментов амилазы (Kaczmarek, Rozenmund, 1977), однако сходство кинетических характеристик различных амилаз скорее свидетельствует о существовании множественных молекулярных форм фермента (Lorentz, 1982). Большинство амилаз стабильно при pH 5.5—8.0, максимальная активность наблюдается при нейтральных значениях pH (Thoma et al., 1971), оптимум pH фермента человека — 6.8 (Уголев и др., 1969). Активируют амилазу ионы хлора, брома, иода (Dixon, Webb, 1982a—1982c), ингибируют — различные соединения: молибдат аммония, аскорбиновая кислота, соли Hg, Ag, Cu, Pb, NaCl в концентрации, превышающей 10 мМ, высокие концентрации крахмала и т. д. (Thoma et al., 1971). При удалении Ca^{2+} , входящего в состав молекулы фермента, наблюдаются инактивация и потеря термостабильности (Hain et al., 1964; Thoma et al., 1971, и др.). Ферменты слюны и поджелудочной железы, обладая одинаковым механизмом действия, значительно различаются по свойствам и, по-видимому, являются изоферментами (Wettendorf et al., 1968).

Исследование амилаз из различных источников показало, что все они имеют участки с высокой степенью гомологии аминокислот, особенно в области активного центра. Это дает основание предполагать, что амилазы бактерий, растений и животных имеют общего предшественника (Meiseer, Gumicio, 1986). Кроме того, углеводы этой же группы может гидролизовать γ -амилаза, кото-

рая в отличие от α -амилазы является экзогидролазой и последовательно отщепляет остатки глюкозы от конца молекул поли- и олигосахаридов. Молекулярная масса фермента человека — 210 000. Выявлено 2 изоформа γ -амилазы, обладающих идентичными каталитическими свойствами (Kelly, Alpers, 1973). γ -Амилаза функционирует в составе макромолекулярных комплексов с мальтазой, а также с мальтазой и сахаразой (Колтушкина и др., 1975, и др.).

Олигосахариды, освобождаемые α -амилазой, а также поступающие с пищей, подвергаются действию собственно кишечных карбогидраз — мальтазы, γ -амилазы, изомальтазы, сахаразы, лактазы и трегалазы, которые гидролизуют их до мономеров, транспортируемых во внутреннюю среду организма. Наличие большого числа собственно кишечных ферментов обусловлено их высокой специфичностью к определенному моносахаридному кольцу и определяется конфигурацией каждой СНОН-группы (Dixon, Webb, 1982a). Все карбогидразы, осуществляющие заключительные этапы гидролиза углеводов, прочно связаны с апикальной мембраной энтероцитов. Эти ферменты синтезируются в клетках, транслоцируются к апикальной мембране и, встраиваясь в нее функционируют как интегральные гликопротеины мембраны (Уголев, Иезуитова, 1982). Как правило, они являются олигомерами с молекулярной массой более 200 000, существующими в виде макромолекулярных комплексов: мальтаза— γ -амилаза (одна или две), мальтаза—сахараза, мальтаза—изомальтаза. Два последних встречаются как субъединицы ферментного комплекса, так называемой сахаразы — изомальтазы (Gray, 1981; Semenza, 1981; Уголев, 1985, и др.).

Помимо α -глюкозидаз в кишке функционируют β -глюкозидазы — лактаза, гидролизующая лактозу, гетеро- β -глюкозидаза, расщепляющая флоридзин, и трегалаза, разрушающие трегалозу. Первые 2 фермента выделены в виде комплекса. У человека и крысы он состоит из 2 субъединиц, имеющих одинаковую молекулярную массу — 160 000 (Semenza, 1980; Skovbjerg et al., 1981). Трегалаза выделена как в олигомерной (240 000), так и в мономерной форме (96 000) (Уголев, 1985).

Гидролиз жиров. Пищевые жиры представлены в основном триглицеридами животного и растительного происхождения. Начальные этапы гидролиза жиров осуществляются в полости кишечника под действием панкреатической липазы (Brockerhoff, 1971). В результате гидролиза триглицеридов образуются 2-моноглицериды и жирные кислоты. Активируют процесс соли желчных кислот. Панкреатическая фосфолипаза (КФ3.1.1.4) секретируется в виде профермента, который активируется трипсином. Фермент гидролизует эфирную связь глицерина и жирной кислоты, превращая лецитин в изолецитин и жирную кислоту. Кроме того, описана желудочная липаза, гидролизующая эмульгированные жиры (Barnard, 1977c).

Заключительные этапы гидролиза триглицеридов происходят на внешней поверхности щеточной каймы энтероцитов под действием моноглицеридлипазы, которая расщепляет эфирные связи 2-моноглицеридов. В этой зоне обнаружены эстеразы, липазы, а также ферменты, расщепляющие эфиры холестерина и ретинола (Уголев, 1985).

Другие гидролазы. Помимо вышеперечисленных основных групп пищеварительных гидролаз важную роль в процессах деструктурирования пищи играют щелочная фосфатаза, нуклеазы (РНКаза и ДНКаза), нуклеотидазы, нуклеозидазы и другие, расщепляющие эфиры ортофосфорной кислоты, полинуклеотиды и нуклеиновые кислоты пищи до фосфата, пуринов, пиримидинов, рибозы, дезоксирибозы (Dixon, Webb, 1982a—1982c).

Наиболее подробно исследованы характеристики щелочной фосфатазы, имеющей оптимум pH в зоне 9—10. Помимо гидролиза моноэфиров ортофосфорной кислоты фермент гидролизует пиродифосфат и катализирует реакции трансфосфорилирования. Молекулярная масса фермента у разных животных колеблется от 120 000 до 130 000. Так, из слизистой кишечника телят выделен гомогенный препарат щелочной фосфатазы с молекулярной массой 120 000, содержащей 2 идентичные субъединицы. Фермент является гликопротеидом, состоящим из 977 аминокислотных остатков и 70 углеводных остатков, содержит по 4 атома Zn и Mg, 2 фосфата, 2 свободных SH-группы и 4 дисульфидных связи (Portmann et al., 1982). Характеристики фермента в значительной мере зависят от вида, возраста животного, используемого субстрата и т. д. Наблюдаемые изменения обусловлены сменой изоформ щелочной фосфатазы, которая прослеживается не только в онтогенезе животных, но и при изменении локализации энтероцитов в системе крипта-ворсинка, причем изоформы не синтезируются *de novo*, а трансформируются из существующих (Moog, 1965; Moog et al., 1969, и др.). Помимо интегральных ферментов, прочно связанных со структурами мембраны энтероцитов, существует растворимая форма щелочной фосфатазы (Young et al., 1981).

2.2. Основные механизмы начальных этапов ассимиляции пищи

По механизму действия ферментов на субстраты, а также их поступления к месту функционирования, по отношению процессов пищеварения к клеточным мембранам и транспортным системам в настоящее время различают три основных типа пищеварения — внеклеточное дистантное (полостное), внутриклеточное и мембранное. Первый из названных типов был описан в конце XVIII в. (Spallanzani, 1783), второй — в конце XIX в. (Мечников, 1880), третий — в 1958 г. (Уголев, 1960).

2.2.1. Внеклеточное дистантное пищеварение

Этот тип пищеварения характеризуется тем, что гидролитический эффект синтезированных секреторными клетками ферментов реализуется во внеклеточной среде (рис. 3). Секреция гидролаз в пищеварительные полости появилась у кишечнополостных и гребневиков (Prosser, Brown, 1967; Jennings, 1972; Barnard, 1977a). У позвоночных и других высокоорганизованных животных

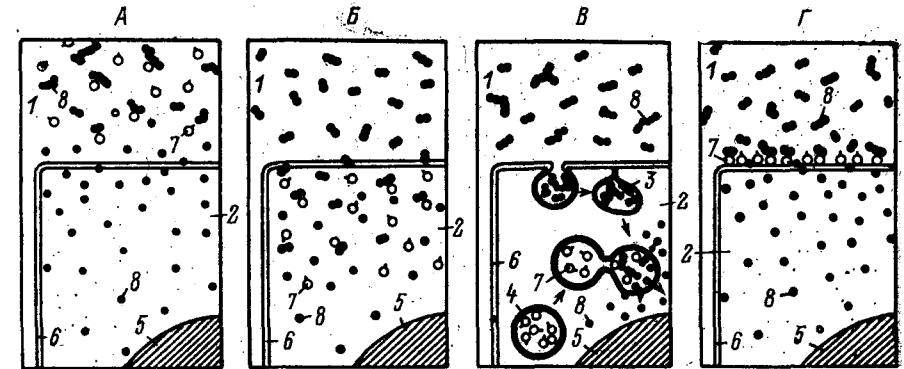


Рис. 3. Основные типы пищеварения (по: Уголев, 1985).

А — внеклеточное дистантное пищеварение; Б — внутриклеточное цитоплазматическое пищеварение; В — внутриклеточное вакуолярное, или внеплазматическое пищеварение, связанное с эндоцитозом (фаго- или пиноцитозом); Г — мембранное пищеварение. 1 — внеклеточная среда; 2 — внутриклеточная среда; 3 — внутриклеточная пищеварительная вакуоль; 4 — лизосома; 5 — ядро; 6 — мембрана; 7 — ферменты; 8 — субстраты и продукты их гидролиза.

внеклеточное пищеварение происходит в специальных полостях далеко от секреторных клеток и обозначается как дистантное, или полостное (Коштоянц, 1950; Павлов, 1951; Buddenbrock, 1956; Бабкин, 1960; Уголев, 1961, 1963, 1967, 1972, 1985; Jennings, 1972; Holdsworth, Sladen, 1979, и др.). За счет этого механизма осуществляются начальные этапы деструктурирования биополимеров при помощи эндогидролаз. Основными особенностями дистантного пищеварения являются функционирование ферментов в водной фазе, произвольная ориентация их активных центров по отношению к субстратам, вероятностный характер распределения различных ферментов. Перечисленные особенности делают понятными высокую эффективность этого механизма в отношении гидролиза макромолекул, а также низкую эффективность в отношении гидролиза олигомеров и передачи продуктов гидролиза к транспортным системам.

2.2.2. Внутриклеточное пищеварение

Существуют два типа внутриклеточного пищеварения. Первый реализуется за счет транспорта небольших молекул через клеточные мембраны и последующего их гидролиза ферментами цито-

золя. Этот тип пищеварения продемонстрирован для пептидов (Peptide transport. . ., 1977; Ugolev, Iezuitova, 1982; Кушак, 1983, и др.). Второй тип связан со специализированными вакуолями, существующими постоянно или образующимися при фагоцитозе (феномен Мечникова), пиноцитозе (феномен Льюиса), а также микропиноцитозе. В большинстве случаев деструктурирование пищевых субстратов происходит при участии лизосомальных ферментов (фосфатаз, протеаз, пептидаз, гликозидаз, липаз и др.), характеризующихся низким оптимальным рН — 3,5—5,5 (De Duve 1963, 1971; Покровский, Тутельян, 1976; Лизосомы, 1980, и др.). Гидролизу пищевых субстратов предшествует соединения фаго- и пиноцитозных вакуолей с лизосомами. Механизмы взаимодействия ферментов и субстратов в образованных таким образом фагосомах близки описанным для дистантного пищеварения, поэтому этот тип может быть охарактеризован как микрополостной. Так как внутренняя поверхность мембран фагосом содержит гидролазы, микрополостной гидролиз может дополняться мембранным (Уголев, 1985, 1987, и др.). После завершения пищеварения остатки фагосом путем эндоцитоза выбрасываются за пределы клетки.

Поскольку внутриклеточное пищеварение лимитировано проницаемостью мембраны и процессами эндоцитоза (пино- и фагоцитоза), оно не играет существенной роли в процессах пищеварения у высших животных. Однако эндоцитоз является одним из основных механизмов ассимиляции пищи в период раннего постнатального развития, а также проникновения в клетку некоторых уникальных веществ, в частности иммуноглобулинов (Immunology. . ., 1977; Ferguson, 1979; Walker, 1979, и др.).

2.2.3. Мембранное пищеварение

Пристеночное (контактное), или мембранное, пищеварение осуществляется ферментами, локализованными на внешней поверхности клеточной мембраны (рис. 3). Нутриенты, преимущественно олигомеры, поступая в зону мембранного пищеварения, вначале атакуются гидролазами панкреатического происхождения, функционирующими на разных уровнях гликокаликса, затем — собственно кишечными ферментами, входящими в состав липопротеиновых мембран энтероцитов. Таким образом реализуются последовательная деградация пищевых субстратов и подготовка их к входу в транспортные системы (Уголев, 1963, 1967, 1972, 1985, Уголев и др., 1991 и др.). Большое значение в осуществлении деградации ряда биополимеров может иметь пристеночный слой слизи (Гальперин, Лазарев, 1986; Морозов и др., 1988).

Поскольку подробные характеристики структур, а также ферментального аппарата, обеспечивающего протекание процессов мембранного пищеварения приведены в упомянутых выше фундаментальных обзорах, а также в ряде других работ (Уголев и др., 1974, 1977, 1983, 1986; Кушак, 1983; Озол, 1984; Рахимов, Демидова, 1986, и др.), в данном разделе будут охарактеризованы наи-

более важные особенности этого механизма. Прежде всего следует отметить своеобразие структурной организации апикальной мембраны энтероцитов, образующей многочисленные выросты-микроворсинки, совокупность которых создает щеточную кайму. Размеры микроворсинок у разных животных могут колебаться от 0,55 до 2,2 мкм, диаметр — от 0,08 до 0,2 мкм, расстояние между ними — от 10 до 50 нм (Уголев, 1972). У одного и того же вида размеры микроворсинок также могут варьировать в зависимости от возраста и функционального состояния, что принято связывать

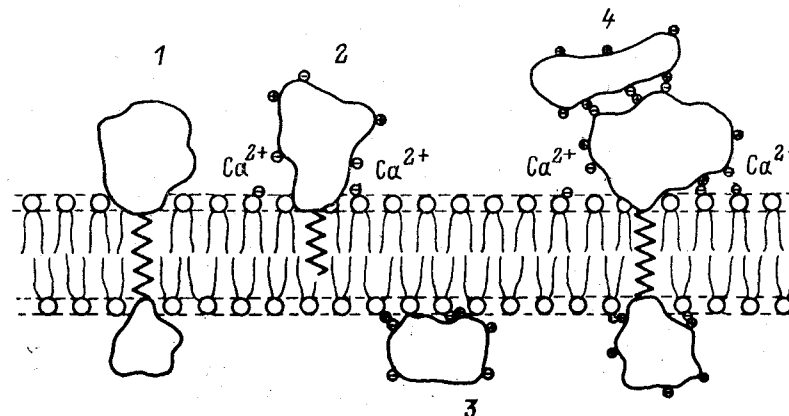


Рис. 4. Схема различных типов локализации интегральных белков в мембране (по: Zwaal, 1978).

1, 4 — трансмембранные интегральные белки; 2 — периферический интегральный белок; 3 — периферический белок.

с наличием контрактильных белков — актина, миозина, тропомиозина и α -актинина (Mooseker, Tilney, 1975; Bretscher, Weber, 1978; Coudrier et al., 1981).

Мембрана микроворсинок имеет типичное для плазматических мембран строение (рис. 4). Основным компонентом ее являются липиды, образующие вязкий двумерный растворитель, в который погружены белки как периферические, так и интегральные. Последние имеют гликопротеиновую природу. Углеводные компоненты гликопротеинов, входящих в состав некоторых мембран, достигают большого развития и образуют особый слой — гликокаликс. Электронограммы щеточной каймы энтероцитов млекопитающих позволяют видеть как 3-слойную ламинарную, так и глобулярную структуру, по-видимому, отражающую различное физиологическое состояние мембран (Комиссарчик, Уголев, 1970).

В последние десятилетия большое значение придается ассиметричному строению мембран (Kotyk, Japaček, 1980; Крепс, 1981; Нам, Согмак, 1982, и др.), разнообразию углеводных компонентов гликопротеинов и липидов, создающих характерную архитектуру клеточной поверхности (Cook, 1979), а также способности к латеральной диффузии всех компонентов мембран (Бергельсон,

1982). При исследовании мембран энтероцитов было установлено, что гликокаликс образуют гликопротеиды, углеводными компонентами которых являются глюкозаминогликаны или слабосульфатированные мукополисахариды (Комиссарчик, Уголев, 1970; Кулик, Шалыгина, 1977) и гликолипиды. Мукополисахаридные нити связаны между собой кальциевыми мостиками, которые периодически разрушаются, способствуя прохождению крупных молекул в глубь гликокаликса (Комиссарчик, Уголев, 1970). Толщина гликокаликса мембран энтероцитов может достигать 100—500 нм (Уголев, 1972). Замена гликокаликса у млекопитающих происходит в течение 4—10 ч (Ito, 1969).

Многочисленные данные свидетельствуют о том, что в зоне гликокаликса функционируют различные гидролазы, адсорбированные из полости кишечника (α -амилаза, липаза, трипсин, химотрипсин, карбоксипептидаза А и В, эластаза, рибонуклеаза), а также некоторая часть собственно кишечных ферментов, большинство из которых прочно связано с мембраной микроворсинок (олиго-, тетра- и трисахаридазы, мальтаза, сахараза, изомальтаза, γ -амилаза, лактаза, щелочная фосфатаза, моноглицеридлипаза, тетра-, три- и дипептидазы, аминопептидазы, карбоксипептидазы, дипептидиламинопептидаза, γ -глутамилтранспептидаза, холестеролэластаза, и др.). Сопоставление этих данных с приведенными в разделе 2.1 свидетельствует о том, что молекулярная масса ферментов, входящих в состав мембран энтероцитов, в 3—10 раз выше по сравнению с адсорбированными ферментами. По-видимому, именно насыщенность мембран энтероцитов крупномолекулярными белками обуславливает большую толщину мембран микроворсинок (10—12 нм) по сравнению с другими мембранами энтероцитов (Уголев и др., 1974). Определенную роль при этом играет расположение молекулы фермента. Так, инвертаза может быть удалена от поверхности мембран микроворсинок на несколько нанометров (Gitzelmann et al., 1970). Кроме того, есть сведения о том, что молекулы сахаразно-изомальтазного комплекса выступают над поверхностью липидного матрикса мембраны почти на 15 нм (Nishi, Takesue, 1978). При этом гидрофильная часть этого комплекса может быть удалена от поверхности липидного матрикса более чем на 1 нм и связана с ней посредством «ножки» (Brunner et al., 1979). Этот факт особенно важен, так как в последние годы установлено, что некоторые собственно кишечные ферменты, подобно другим интегральным белкам, имеют амфипатическую структуру и состоят из гидрофильной и гидрофобной частей. Это касается щелочной фосфатазы (Louvard et al., 1975a; Colbeau, Maroux, 1978, и др.), олигосахаридаз (Maroux et al., 1975; Frank et al., 1978; Semenza, 1980, и др.) и аминопептидаз (Louvard et al., 1975a, 1975b; Maroux et al., 1975; Desnuelle, 1979; Feracci, Maroux, 1980; Hütter et al., 1980, и др.). При изучении аминопептидазы было показано, что гидрофобная часть молекулы фермента, предположительно состоящая из 40—50 аминокислотных остатков, может проникать в цитоплазму (Louvard et al.,

1976; Desnuelle, 1979; Maroux et al., 1979). При этом гидрофильная часть, составляющая 90—95 % от массы фермента, выполняет каталитические функции, гидрофобная — якорные (Louvard et al., 1975b; Benajiba, Maroux, 1980). Последняя также выполняет важные функции по поддержанию оптимальной конформации целого фермента и регуляции свойств гидрофильной, ферментативно активной части (Егорова и др., 1975; Уголев и др., 1979; Егорова, Уголев, 1989). Кроме того, предполагается ее участие в реакции на действие различных энзимотропных факторов (например, Ca^{2+} , ЭДТА и др.) и, возможно, в транслировании сигналов (Хюттер и др., 1982).

Помимо двух хорошо доказанных типов локализации щеточноклаемных ферментов — «наружного» периферического и трансмембранного — описан третий тип — «внутренний» периферический, когда часть молекулы фермента обращена к цитоплазме (Isselbacher, 1974).

Важно отметить, что мембранные ферменты являются регулируемы. Известно несколько механизмов регуляции активности ферментов: 1) ретронингибирование, когда конечный продукт реакции ингибирует фермент, катализирующий начальный этап процесса (Novick, Szilard, 1954, и др.); 2) индуцирующее соответствие, когда субстрат вызывает изменение геометрии фермента, влияющее на конформацию его активного центра (Koshland, 1958, 1970; Koshland, Neet, 1968, и др.); 3) аллостерическое регулирование, когда субстрат-регулятор (модулятор, или модификатор), не будучи стерическим аналогом субстрата данного фермента, может связываться с ферментом в центре, пространственно не совпадающем с его активным центром, вызывая изменение конфигурации, а, следовательно, и активности последнего (Jacob, Monod, 1961; Monod et al., 1965, и др.). Это обстоятельство особенно важно для процессов мембранного пищеварения.

Своеобразие строения щеточной каймы энтероцитов и свойств гидралаз, функционирующих на ее структурах, создает особые физико-химические условия для протекания процессов мембранного пищеварения. Прежде всего следует отметить полифункциональность гликокаликса: 1) благодаря гликокаликсу поддерживается определенная жесткость систем микроворсинок; 2) осуществляется физическая и химическая защита плазматической мембраны микроворсинок энтероцита от повреждающего действия химуса; 3) создается перичеселлюлярная среда с гомеостатируемыми условиями; 4) придается селективный и векторный характер переноса различных веществ к мембране; 5) облегчается транспорт некоторых веществ к поверхности мембраны вследствие возникновения капиллярного эффекта; 6) регулируется эффективность просачивания молекул воды через мембрану путем связывания некоторых катионов; 7) реализуется феномен сложной адсорбции ферментов (градиент адсорбции); 8) обеспечивается последовательная деградация субстратов благодаря пространственной разобщенности субстратов разного размера и ферментов одной цепи; 9) изме-

няются свойства свободных ферментов (K_m , V_{max} , термостабильность); 10) объединяются конечные этапы пищеварения и начальные этапы транспорта; 11) исключается присутствие полостных бактерий; 12) обеспечивается иммунологическая функция тонкой кишки; 13) осуществляется очистка щеточной каймы от загрязнения.

Особенно важным для процессов мембранного пищеварения оказывается то обстоятельство, что и собственно кишечные, и адсорбированные ферменты локализованы на структурах щеточной каймы энтероцитов и их активные центры определенным образом ориентированы по отношению к субстратам, взаимодействию с которыми происходит при относительно стабильных условиях микро-среды (Уголев, 1963, 1967, 1972, 1985; Елецкий, Цибулевский, 1979; Смирнов, Уголев, 1981; Кушак, 1983, и др.). Связи ферментов с мембраной возникают в значительной мере благодаря их амфипатической структуре, причем особую роль играют пептидные мостики и гидрофобные взаимодействия. При исследовании адсорбированных ферментов показано, что помимо физической важную роль играет химическая адсорбция (Уголев, 1972). Также большое значение имеет быстрая элиминация продуктов гидролиза нутриентов за счет интеграции процессов гидролиза и всасывания, т. е. существования пищеварительно-транспортного конвейера (Уголев, 1963, 1967, 1972, 1985; Смирнов, Уголев, 1981; Кушак, 1983, и др.).

Итак, особенности строения щеточной каймы и гликокаликса не только препятствуют поступлению в зону мембранного пищеварения крупных молекул и надмолекулярных агрегаций, но и создают особые физико-химические условия, в значительной мере меняющие характеристики ферментов. При этом пищевые субстраты вначале взаимодействуют с адсорбированными ферментами, затем по мере продвижения по гликокаликсному пространству к мембране претерпевают деполимеризацию и на поверхности последней подвергаются действию три- и димергидролаз, которые, гидролизуя субстраты до уровня мономеров (или других активно транспортируемых молекул), передают их на транспортные системы микроворсинок.

2.2.4. Транспорт нутриентов

Транспортные системы, обеспечивающие перенос нутриентов во внутреннюю среду, сходны у представителей всех царств живых существ. Согласно современным представлениям (Физиология всасывания, 1977; Уголев, 1985, 1987, и др.), существуют два типа транспорта — макромолекулярный и микромолекулярный. Первый обеспечивает перенос крупных молекул и надмолекулярных агрегаций через слой эпителиоцитов по межклеточным каналам и щелям. Основным механизмом макромолекулярного транспорта является эндоцитоз, тесно связанный с внутриклеточным пищеварением. Однако в большинстве случаев доминирует микро-

молекулярный транспорт, обеспечивающий транспорт мономеров и олигомеров с небольшой молекулярной массой. При этом виде транспорта нутриенты проникают через мембрану эпителиоцитов с помощью трех механизмов: пассивного транспорта, облегченной диффузии и активного транспорта.

Пассивный транспорт, объединяющий процессы диффузии и осмоса, реализуется благодаря существованию концентрационного градиента, а также пор, радиус которых для переноса сахаров должен составлять более 0.4 нм (Никольский, Трошин, 1973). Облегченная диффузия реализуется при помощи специальных переносчиков — белковых молекул, облегчающих проникновение нутриентов через мембрану без затраты энергии.

Активным транспортом обозначается процесс переноса веществ через плазматическую мембрану клеток против электрохимического градиента, который требует затрат энергии. Активный транспорт нутриентов осуществляется при помощи специальных транспортных систем, которые функционируют по типу мобильных и конформационных переносчиков, или каналов (Физиология..., 1977; Уголев, 1985; Hopfer, 1987, и др.).

В клетках высших организмов, в том числе кишечных, существуют транспортеры многих типов. К ним относятся переносчики глюкозы, аминокислот и др. Каждое такое устройство переносит один или ограниченное число типов органических молекул через мембрану, либо по электрохимическому градиенту, либо благодаря сопряжению с механизмом транспорта другого вещества, движение которого по градиенту концентраций служит источником энергии. Для вторичной энергизации используются многие ионные градиенты, но преимущественно градиент Na^+ без участия АТФ.

Мобильный переносчик, представляющий собой, как правило, белковую молекулу, движется от одной поверхности мембраны к другой, совершая вертикальные или вращательные движения, с тем чтобы связывать транспортируемые субстраты на одной поверхности мембраны и освобождать на другой. Канал характеризуется наличием постоянной или индуцированной поры, через которую проходит транспортируемое вещество.

Наряду с Na^+ -зависимым транспортом существует Na^+ -независимый. Последний обнаружен при изучении переноса через мембрану клеток кишечного эпителия моносахаридов, аминокислот и других мономеров, образующихся в результате мембранного гидролиза соответствующих олигомеров.

Благодаря распространению Na^+ -зависимых транспортеров на апикальной мембране, а натриевых насосов — на базолатеральной создается транзитный перенос нутриентов. По современным представлениям, при Na^+ -зависимом транспорте глюкозы через плазматическую мембрану клеток эукариотов происходит образование тройного комплекса: Na^+ — глюкоза — транспортер. Однако более адекватной представляется модель транспортера, характеризующаяся наличием двух параллельно взаимодействующих каналов (для Na^+ и для глюкозы) и поверхностного (воротного) белка, свя-

зывающего глюкозу на входе в транспортную систему (Метельский и др., 1983). Транспортный цикл такой модели состоит в следующем: 1) исходно глюкозный и натриевый каналы неактивны; 2) при связывании глюкозы с аллостерическим центром на воротном белке натриевый канал активизируется и Na^+ движется из экстра- в интрацеллюлярную жидкость; 3) на определенном этапе движения Na^+ по каналу происходит аллостерическая активация глюкозного канала; 4) через активированный канал транспортируется молекула глюкозы, первоначально фиксированная в воротном устройстве; 5) освобождение воротного устройства сопровождается дезактивацией натриевого канала. Реактивация последнего происходит при связывании с аллостерическим центром следующей молекулы глюкозы. По-видимому, существует еще один специальный транспортный механизм — подвижная адсорбция, или транссорбция (Уголев, 1987). Транссорбция осуществляется благодаря движению молекул по активным поверхностям и центрам по градиенту концентраций, который может создаваться либо за счет транспортных систем, локализованных в определенных точках и активно переносящих вещество из одного компартмента в другой, либо за счет ферментных систем, трансформирующих это вещество.

Особо следует отметить сходство не только механизмов транспорта нутриентов у организмов, находящихся на разных уровнях эволюционной лестницы, но и принципов построения и функционирования транспортных систем эпителиоцитов. В частности, процессы активного транспорта у разных представителей биоты осуществляются при помощи одного и того же источника энергии — АТФ, транспорт глюкозы и аминокислот сопряжен с переносом ионов натрия и протонов. Кроме того, обнаружены идентичные механизмы влияния на транспортные системы далеких друг от друга организмов активаторов и ингибиторов транспорта (Prosser, 1977; Schmidt-Nielsen, 1982; Hopfer, 1987, и др.).

2.3. Роль индуцированного аутолиза в системе гидролитических процессов, обеспечивающих начальные этапы ассимиляции пищи

Абсолютное большинство биотрофных организмов питается живыми или умерщвленными объектами. Поскольку все организмы-жертвы обладают мощными гидролитическими системами, естественно ожидать, что они могут вовлекаться в процессы аутодеградации. Однако механизмы аутолиза до последнего времени оставались неясными. Раскрытию механизма переваривания нативных структур способствовало сопоставление скорости гидролиза различных тканей под влиянием неденатурированного и денатурированного желудочного сока, а также соляной кислоты (Уголев, 1980, 1985, 1987; Уголев, Цветкова, 1984).

В этих экспериментах сопоставлялось переваривание естественным желудочным соком человека, собаки или лошади нативной лягушки и лягушки, подвергнутой термической обработке, вызывающей денатурацию ферментов. В первые несколько часов было получено подтверждение общепринятых взглядов — гидролиз сухожилий происходил быстрее в тех случаях, когда объект был подвергнут термической обработке. В течение последующих 2—3 сут наблюдалось полное растворение нативной лягушки, в том числе ее скелета, который еще сохранялся у термически обработанной лягушки. В результате полное расщепление структур нативного пищевого объекта происходит значительно быстрее, чем соответствующих структур, подвергнутых тепловой денатурации. Эти результаты свидетельствуют о важной роли ферментных систем объекта питания в процессах аутодеградации. Действительно, если бы пребывание в кислой среде сводилось лишь к умерщвлению объекта и денатурации его структур, то переваривание термически обработанных структур должно было бы быть более эффективным.

Детальное биохимическое исследование переваривания брюшной мышцы крысы (как нативной, так и денатурированной) под действием натурального или денатурированного желудочного сока лошади, а также соляной кислоты показало, что расщепление нативной мышцы под действием натурального желудочного сока происходит примерно в 2 раза быстрее, чем под действием денатурированного сока. При этом, вероятно, около 50 % гидролиза определяется ферментами не желудочного сока, а самой аутолизующей ткани. Этот вывод подтверждается фактом интенсивного расщепления нативной мышцы под действием денатурированного желудочного сока и раствора соляной кислоты, не обладающих собственной ферментативной активностью (рис. 5). Механизм индуцированного аутолиза, по-видимому, реализуется не только у хищных, но и у растительных организмов.

Таким образом, организм-ассимилятор индуцирует расщепление структур пищевого объекта его собственными ферментами, активируя последние и создавая для них оптимальные условия среды, в том числе рН. Представляется, что особую роль при этом играют ионы H^+ . Действительно, ферменты пищеварительных соков осуществляют свой эффект только поверхностно, причем скорость диффузии внутрь пищевого объекта даже при низком диффузионном сопротивлении тканей лимитирована сравнительно большой молекулярной массой ферментов. Скорость диффузии ионов H^+ , по современным представлениям, примерно в 1000 раз и более выше. При этом в каждой клетке возникает множество центров гидролиза, реализуемого преимущественно ферментативным аппаратом лизосом. К этому следует добавить, что в кислых секретах организма-ассимилятора содержатся главным образом протеиназы, тогда как ферментный спектр лизосом практически универсален.

Поскольку белки соединительной ткани и жировые депо, а также полисахаридные депо в тканях растений лишены лизосом и не подвергаются аутолизу, можно предположить, что ферменты пищеварительных соков консументов особенно важны для утили-

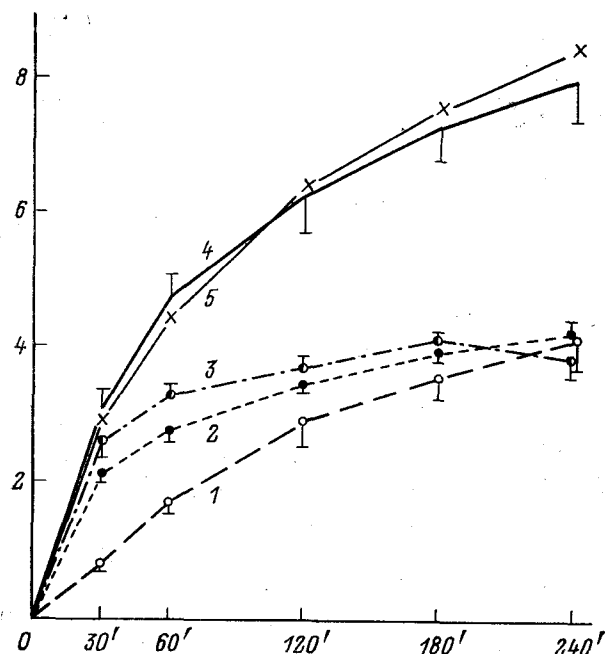


Рис. 5. Гидролиз мышечной ткани желудочным соком и ее аутолиз при различных условиях (по: Уголев, Цветкова, 1984).

1 — денатурированная мышца + натуральный желудочный сок (вариант опыта позволяет оценить относительную роль кислых протеаз желудочного сока в протеолизе, классическом механизме, который принято рассматривать как доминирующий или единственный, так как денатурация приводит к повышению атакуемости ферментами белковых субстратов); 2 — нативная мышца + раствор соляной кислоты (вариант опыта позволяет исследовать индуцирующее влияние соляной кислоты на аутолитические процессы в интактной ткани); 3 — нативная мышца + денатурированный желудочный сок (вариант опыта в сопоставлении с другими дает возможность установить относительную роль индуцированного аутолиза в процессах протеолиза); 4 — нативная мышца + натуральный желудочный сок (моделирование естественного процесса); 5 — суммарный прирост аминокислоты (вариант 1 + вариант 3). По оси абсцисс — время от начала инкубации (мин); по оси ординат — прирост свободного аминокислоты (эквивалентные количества глицина, мМ).

зации указанных структур жертвы (Уголев, 1985). Не исключено, что в инициации процессов распада клеточных структур участвует кальций, активирующий растворимую протеиназу, а также гормоны, аминокислоты, гуанозинтетрафосфат и другие соединения, регулирующие процессы распада в живых клетках, (Dean, 1981).

2.4. Симбионтное пищеварение. Роль бактериальной флоры в гидролизе и трансформации пищевых субстратов

Этот тип пищеварения, реализуемый за счет микроорганизмов, занимает особое место в системе гидролитических процессов (Vag-pard, 1977с; Schmidt-Nielsen, 1982, и др.). Симбионтный тип пищеварения, широко распространенный у беспозвоночных и позвоночных животных, наиболее подробно изучен у растительноядных жвачных. Пищеварительный тракт животных, как правило, заселен бактериями и простейшими, которые обеспечивают организм хозяина необходимыми органическими веществами, такими как витамины, незаменимые аминокислоты и т. п. Симбионтами некоторых беспозвоночных (моллюски, актинии, кораллы) могут быть водоросли, в частности зооксантеллы и зоохлореллы. В колониях некоторых кораллов биомасса симбионтов в 3 раза превышает их собственную биомассу (Prosser, Brown, 1967). Различные формы и модификации симбионтного пищеварения имеют два фундаментальных механизма: 1) бактерии и простейшие поставляют ферменты, а образующиеся продукты гидролиза используются преимущественно хозяином; 2) бактерии и простейшие не только гидролизуют органические вещества, но и утилизируют их, в то время как хозяин потребляет вторичную пищу, состоящую из структур симбионтов. Первый механизм является исключительно пищеварительным, второй представляет собой сочетание симбионтного питания и пищеварения. По-видимому, существование растительноядных животных в значительной мере базируется на использовании симбионтных процессов, которые в значительной мере определяют использование экзотических трофических ниш.

Наиболее значительные структурные и функциональные перестройки желудочно-кишечного тракта в процессе эволюции растительноядных животных наблюдаются у жвачных. Жвачные могут считаться растительноядными лишь по качеству потребляемой пищи. По существу эти организмы должны быть отнесены к микробио- и протозооядным. В процессе адаптации к малопитательным, но обильным растительным кормам эта группа животных приспособилась к присутствию в начальных отделах пищеварительной трубки симбионтов, способных утилизировать клетчатку.

Желудок у жвачных животных многокамерный, состоит из книжки, сетки, рубца и сычуга (собственно желудка). Переработка грубой растительной пищи в нутриенты, готовые к всасыванию и ассимиляции, происходит в рубце (преджелудке) в основном при участии анаэробной микрофлоры. Микроорганизмы непрерывно поступают в сычуг, имеющий кислую среду. В этом отделе начинается процесс их переваривания, заканчивающийся в кишечнике. Значительную часть энергетических и пластических материалов макроорганизму поставляют сами простейшие и бактерии, которые непрерывно расщепляются пищеварительными ферментами хозяина (Уголев, 1961; Prosser, Brown, 1967;

Schmidt-Nielsen, 1982, и др.). Таким образом, сначала микробы превращают вещества растений в структуры своего тела, а затем сами становятся важным источником питания жвачных. В отличие от других позвоночных, жвачные благодаря активности своих бактерий эффективно используют в качестве источника белка мочевины (McDonald, 1968; Hatfield, 1970; Barnard, 1977с). В 1 мл содержимого рубца и сетки — 10^{11} бактерий и 10^6 простейших. Общая масса микрофлоры может достигать $1/7$ массы тела животного. Среда рубца и рефлекторная регуляция его pH (например, во время пищеварения у овец pH составляет 5.5—6.8) благоприятствуют размножению микробов, что, по-видимому, является приспособлением, выработанным в процессе эволюции. Содержимое желудка у большинства других млекопитающих, напротив, обладает антисептическими свойствами (Barnard, 1977с; Stanier et al., 1979с, и др.).

Микрофлора рубца участвует в переваривании целлюлозы, ксилана, пектина, лигнина, белков и липидов, а продукты реакции сбраживает до летучих жирных кислот, углекислого газа и метана. Уксусная и масляная кислоты окисляются с выделением энергии, пропионовая кислота используется для синтеза гексоз и жиров. Однако целлюлазной активностью обладают лишь 1—5 % бактериальных клеток. Прodуцируют целлюлазу бактерии, являющиеся облигатными анаэробами.

Важным свойством микрофлоры как источника питания является ее способность синтезировать аминокислоты из мочевины, а также важнейшие витамины (Вальдман, 1972; Barnard, 1977с; Stanier et al., 1979а—1979с, и др.). В результате действия микроорганизмов образуются пищевые вещества, не нуждающиеся в дальнейшем гидролизе (аминокислоты, глюкоза, жирные кислоты и т. д.). Возможно, этим обусловлена меньшая ферментативная активность секретов жвачных по сравнению с соками пищеварительных органов других животных (Уголев, 1961). Некоторые приматы (колобиды и тонкотелы) также имеют многокамерный желудок со значительной микрофлорой. У ряда травоядных грызунов (например, у золотистого хомяка) и других животных, таких как древесные (*Neotoma*) и гамбийские крысы, симбионтное пищеварение дополняет обычное (Уголев, 1985). Среди насекомых широко распространены эндосимбионты — микробы локализованные внутри специализированных клеток. Однако при примитивных формах эндосимбиоза симбионты могут быть обнаружены не только внутриклеточно в слепых выростах, но и внеклеточно в полости кишечника.

После целлюлозы наиболее распространенным трудноперевариваемым полисахаридом является хитин. У дождевых червей и некоторых ракообразных секретруется хитиназа, которая отчасти может быть эндогенной. Однако многие хищные беспозвоночные имеют хитиназу только бактериального происхождения. Кератин перьев и шерсти, обычно неперевариваемый, гидролизует в средней кишке личинок ряда насекомых — кожеедов и пухоедов

(Barnard, 1977с). Стерилизация желудочно-кишечного тракта антибиотиками, как правило, сопровождается развитием полиавитаминозов. По-видимому, между организмом хозяина и симбионтами существуют 4 варианта взаимоотношений. Симбионты осуществляют: 1) деграцию пищевых материалов, поглощаемых хозяином, до ассимилируемых элементов, например расщепление клетчатки в преджелудке жвачных до летучих жирных кислот; 2) превращения органических материалов первичной пищи в белки и другие компоненты собственных тел (бактериальных и протозойных), которые становятся источником окончательной пищи. Этот процесс также выражен в преджелудке жвачных; 3) синтез органических веществ *de novo*, продемонстрированный для водорослей, таких как зоохлореллы и зооксантеллы, которые являются симбионтами ряда животных. Предполагается также синтез *de novo* органических азотсодержащих веществ, например у термитов; 4) синтез некоторых полезных веществ, витаминов, незаменимых аминокислот и т. д., увеличивающих пищевую ценность и до некоторой степени поддерживающих пищевой гомеостаз. Подобная классификация, возможно, не является исчерпывающей, однако она полнее отражает трофические аспекты симбиозов, чем другие существующие классификации (Уголев, 1985).

2.5. Заключительные замечания

Приведенные в данной главе материалы свидетельствуют о значительном пересмотре в последние десятилетия представлений о механизмах пищеварения. Это относится не только к описанию новых типов пищеварения, таких как мембранное и лизосомальное, но и к расшифровке тонких механизмов взаимодействия ферментов и субстратов. Не менее важным является осознание тесного взаимодействия всех типов пищеварения в процессе последовательной деполимеризации субстратов. В настоящее время не вызывает сомнения то, что эффективность пищеварительной функции в значительной мере базируется на интегральной деятельности ее отдельных элементов (Уголев, 1985). Этот принцип основан на том, что элементы, порознь дающие небольшой эффект, вместе реализуют значительно больший, чем их арифметическая сумма (Bancroft, 1937; Ухтомский, 1954).

Для позвоночных животных характерно сочетание полостного пищеварения как основного механизма начальных этапов гидролиза биополимеров и мембранного пищеварения, как основного механизма промежуточных и заключительных этапов гидролиза и перехода к процессам всасывания. Между полостным и мембранным пищеварением существует сложная функциональная взаимосвязь. Размеры пор щеточной каймы и сети гликокаликса делают невозможным быстрое проникновение крупных молекул и надмолекулярных агрегаций из зоны полостного в зону мембранного пищеварения. Для реализации мембранного гидролиза и транспорта

Глава 3

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА РЫБ

необходима предварительная обработка пищевых веществ в полости тонкой кишки. Предполагается, что максимальные молекулы углеводов, способные проникать в зону щеточной каймы, состоят из 10—20 глюкозидных остатков, протеинов — из 10—80 аминокислотных остатков. Однако при определенных условиях мембранное пищеварение становится единственным или доминирующим механизмом гидролиза пищи. Это, в частности, наблюдается у млекопитающих в период молочного питания (Уголев, 1972, 1985 и др.). Благодаря непрерывному элиминированию промежуточных продуктов гидролиза в зону мембранного пищеварения происходит интенсификация полостного пищеварения.

Значение внутриклеточного пищеварения у высших позвоночных животных в настоящее время дискутируется для мелких пептидов, в том числе ди- и олигопептидов (Peptide transport. . ., 1977; Holdsworth, Sladen, 1979; Кушак, 1983). У беспозвоночных животных, особенно у простейших, внутриклеточное пищеварение, напротив, является основным механизмом, обеспечивающим процессы ассимиляции пищи. Наконец, практически все биотрофы используют бактерии и другие симбионты в качестве дополнительного источника гидролаз, что существенно увеличивает пул полостных ферментов. Аналогичную роль играет механизм индуцированного аутолиза.

Как известно, рыбы являются уникальной группой позвоночных животных не только по необычайно высокому количеству видов, но и по разнообразию объектов питания, а также структурно-функциональной организации пищеварительной системы. По характеру пищи рыб принято делить на несколько основных групп: травоядные и детритофаги, всеядные, потребляющие мелких беспозвоночных, хищные, потребляющие рыб и крупных беспозвоночных животных. При этом существенным оказывается разнообразие объектов питания. По этому признаку рыб делят на эврифагов со смешанной пищей, стенофагов с ограниченным видовым составом пищи, монофагов, потребляющих только один вид пищи. Кроме того, в соответствии с условиями питания различают экологические группы, например пелагические планктофаги, бентофаги и др. (Barrington, 1957; Никольский, 1974; Kapoor et al., 1975; Fänge, Grove, 1979, и др.). Особенности питания рыб в значительной мере обуславливают особенности анатомического строения их пищеварительной системы, причем степень зависимости строения пищеварительного тракта от пищи варьирует (Kapoor et al., 1975).

3.1. Структурная и ультраструктурная организация пищеварительного тракта

Пищеварительный тракт рыб состоит из головной кишки (рот, ротовая полость и глотка) и туловищной кишки (остальная часть тракта). Анатомическое и гистологическое строение рта и ротовой полости, в наибольшей степени зависящее от типа питания рыб, детально описано в ряде работ (Al-Hussaini, 1949a, 1949b; Gohar, Latif, 1959; Строганов, 1962; Alexander, 1970; Kapoor et al., 1975; Веригина, Жолдасова, 1982, и др.). Однако эти вопросы не будут нами рассматриваться подробно, поскольку процессы пищеварения у рыб проходят в разных отделах туловищной кишки.

3.1.1. Особенности морфологии пищеварительного тракта рыб

Морфология пищеварительного тракта в значительной мере зависит от формы тела рыб. Так, у сома он имеет мешкообразный вид и помещается в относительно небольшом пространстве в пе-

редней части тела. У угря, наоборот, пищеварительный тракт вытянут почти по всей длине тела (Строганов, 1962). В зависимости от строения и расположения отдельных частей Г. Г. Вундш (1937) предложил различать пять типов пищеварительной системы рыб: 1 — лососевый (стенка желудка тонкая, имеется от 80 до 400 пилорических придатков); 2 — окуневый (толстостенная глотка, цилиндрический желудок, 3 пилорических придатка); 3 — шуковый (толстостенный пищевод, удлинённый желудок, печень вытянута в направлении продольной оси тела); 4 — карповый (пищеварительный тракт имеет вид трубки, которая делает несколько петель, передняя часть кишки расширена, желудка нет); 5 — угревый (узкий мускульный пищевод, печень окружает пищевод).

Гистологическое строение рото-глоточной стенки характеризуется наличием стратифицированного эпителия, снабженного многочисленными мукозными клетками и вкусовыми рецепторами, а также рядом специализированных структур для механической обработки пищи (Кароог et al., 1975). Пищевод, состоящий из обычных слоев (слизистая, подслизистая, мышечная и серозная оболочки), имеет стратифицированный эпителий, часто с ресничками, богатый мукозными клетками и вкусовыми рецепторами, и кроме того содержит кубические и грушевидные клетки.

Задний отдел пищевода (эзогастр) у некоторых видов имеет железы желудочного типа. Для некоторых видов рыб в разных участках пищевода описаны простые альвеолярные, а также простые или разветвленные трубчатые железы. Пищевод у разных видов рыб выполняет различные функции — респираторную, депонирующую, а также первичной механической обработки пищи, но у большинства — является транзитной трубкой для поглощаемой пищи (Кароог et al., 1975). Для некоторых видов рыб описан сфинктер (Barrington, 1957), отделяющий пищевод от желудка.

По типу пищеварения рыбы делятся на две группы — желудочные (преимущественно хищники) и безжелудочные. Те и другие могут встречаться в пределах одного семейства и даже рода (Кароог et al., 1975; Веригина, Жолдасова, 1982). Однако морфология желудка и присутствие желудочных желез не всегда связаны с природой питания (Barrington, 1957). Для разных видов рыб описана различная степень развития мышечного слоя и слизистой оболочки, а также различное расположение простых трубчатых или ветвящихся желез (Al-Hussaini, 1949a, 1949b; Barrington, 1957; Bishop, Odense, 1966; Кароог et al., 1975; Kayanja et al., 1975). Эпителий желудка простой, цилиндрический, имеющий щеточную кайму, с мукозными клетками, отличающимися по строению от истинных бокаловидных клеток. У примитивных рыб встречаются реснитчатые клетки (Barrington, 1957). В желудочных железах костистых рыб идентифицируется только один тип секреторных клеток, связанных и с секрецией пепсина, и с секрецией соляной кислоты (Barrington, 1957; Western, Jennings, 1970; Кароог et al., 1975; Fange, Grove, 1979, и др.).

Сведения о строении кишечника у круглоротых и рыб приведены в ряде обзоров (Al-Hussaini, 1949a; Пучков, 1954; Barrington, 1957; Andrew, 1959; Строганов, 1962; Халилов, 1969; Кароог et al., 1975; Fange, Grove, 1979; Веригина, Жолдасова, 1982, и др.). Кишечник у примитивных рыб представлен в простейшей форме и является трубкой, площадь внутренней поверхности которой увеличивается за счет продольной складки, называемой спиральным клапаном. Количество оборотов спирали может быть от 2—3 до 50 (Barrington, 1957; Fange, Grove, 1979, и др.). У костистых рыб площадь поверхности кишечника увеличивается за счет продольных петель и пилорических придатков, а также различных по величине и форме складок слизистой оболочки. У большинства рыб длина кишечника близка длине тела, однако у бентофагов и макрофитофагов может превышать длину тела в 2—5 и даже 15 раз. При голодании длина кишечника может уменьшаться на 30—45 %. Количество пилорических придатков может варьировать от 1 до 1000 и более (Al-Hussaini, 1949a, 1949b; Пучков, 1954; Халилов, 1969, Кароог et al., 1975; Веригина, Жолдасова, 1982, и др.).

Гистологическое строение кишечника довольно простое. Стенка кишечника состоит из 4 ранее описанных слоев. У некоторых видов, в частности у представителей семейства карповых, подслизистая оболочка отсутствует (Noaillac-Dereyue, Gas, 1973; Веригина, Жолдасова, 1982). Степень развития мышечного слоя у рыб разных видов различна, причем у хищников он развит сильнее, чем у так называемых мирных рыб (Коровина, Васильева, 1971, 1976; Веригина, Жолдасова, 1982). Слизистая оболочка кишечника питающихся рыб выстлана однослойным цилиндрическим эпителием, обладающим щеточной каймой. У голодающих рыб может наблюдаться ложная многорядность (Васильева, Мельникова, 1965; Васильева, Коровина, 1968; Васильева, 1970; Суворова, Трещук, 1973). Помимо цилиндрических клеток (энтероцитов) в состав эпителия входят бокаловидные клетки, грушевидные и кубические клетки, лишенные щеточной каймы, а также клетки-мигранты (лимфоциты и различные гранулоциты). Кишечные железы у большинства видов отсутствуют (Al-Hussaini, 1949a, 1949b; Barrington, 1957; Кароог et al., 1975; Fange, Grove, 1979, и др.). Для некоторых видов костных рыб описан реснитчатый эпителий, который по строению близок таковому круглоротых (Ishida, 1936). Наличие ресничек считается признаком примитивной организации (Purkerson et al., 1975; Fange, Grove, 1979). Терминальную часть кишечника рыб обычно называют прямой, или задней, кишкой. У некоторых видов рыб этот отдел отграничен от основной части кишечника клапаном. Для окуня описан гладкомышечный рудиментарный сфинктер, разделяющий среднюю кишку на два отдела, различающихся ультраструктурно (Noaillac-Dereyue, Gas, 1979). Эпителий различный: у эласмобранхий — стратифицированный, у костистых — однослойный, имеющий строение, близкое таковому среднего отдела, но отличающийся у большинства видов обилием

мукозных клеток (обзоры: Barrington, 1957; Karoor et al., 1975; Fange, Grove, 1979).

Для круглоротых описаны три типа эпителиальных клеток: реснитчатые, зимогенные и всасывающие — энтероциты (Picking, Morris, 1973; Грасгоф, 1976, и др.). Кроме того, описаны эндокринные клетки, по строению не отличающиеся от энтероцитов (Ostberg, Voquist, 1976). Бокаловидные клетки у круглоротых отсутствуют (Грасгоф, 1976, и др.). Строение пилорических придатков близко таковому кишечника (Al-Hussaini, Kholi, 1953; Andrew, 1959; Халилов, 1969, и др.). Однако складки слизистой, как правило, уже, выше и расположены более часто, чем в кишечнике. Помимо цилиндрических встречаются бокаловидные, а у некоторых видов — реснитчатые клетки (Khanna, Mehrotra, 1971, и др.). В отношении зависимости количества, расположения и строения придатков от особенностей питания, а также их функции единого мнения нет, хотя большинство исследователей связывают их роль с увеличением всасывающей поверхности кишечника, особенно при резорбции жиров и восков (обзоры: Karoor et al., 1975; Fange, Grove, 1979).

Не касаясь строения печени и поджелудочной железы, отметим, что у большинства видов рыб продукт экзокринной секреции печени (желчь) резервируется в желчном пузыре, проток которого открывается в области переднего отдела кишечника или пилорических придатков. У многих рыб желчный проток связан с панкреатическим протоком, а его устье снабжено сфинктером Одди. У многих видов рыб помимо основного панкреатического протока имеется множество мелких протоков, открывающихся в кишечник или пилорические придатки (Fange, Grove, 1979). Кроме того, тяжи панкреатической ткани могут глубоко проникать в кишечные ткани (Yamane, 1973a, 1973b), что затрудняет решение вопроса о происхождении ряда ферментов, функционирующих в кишечнике (Barrington, 1957).

3.1.2. Влияние характера питания рыб на морфологию пищеварительного тракта

Характер питания оказывает значительное влияние на структурную организацию пищеварительной системы рыб. Как указывалось выше, наибольшей адаптивной изменчивостью характеризуются производные головной кишки, (рот, ротовая полость, глотка). Однако производные туловищной кишки также способны изменяться под влиянием диеты и пищевого поведения, сформировавшегося в ходе эволюции (Никольский, 1963). Наиболее характерным признаком большинства видов хищных рыб является наличие хорошо развитого желудка и связанного с ним пепсинокислого пищеварения. Существуют несколько гипотез, объясняющих исчезновение желудка. Ряд авторов связывают это явление с адаптацией к потреблению кормовых организмов, обладающих известковой раковиной, так как подщелачивание нейтрализует

кислое содержимое желудка. В некоторых работах исчезновение желудка рассматривается как следствие потребления пищи, содержащей высокий процент балласта (песок, ил, клетчатка и пр.). Кроме того, есть сведения о зависимости степени развития желудочных желез, варьирующих от простых до сложных и комплексных типов, от длительности пищеварения, связанного с характером питания рыб (Karoor et al., 1975).

Качество корма также оказывает большое влияние на длину кишки и площадь поверхности кишечной слизистой (Al-Hussaini, 1949a; Siankova, 1966, и др.). Наибольшая относительная длина кишечника характерна для микрофитофагов и травоядных видов, пища которых содержит большое количество трудноперевариваемых и непереваживаемых компонентов, наименьшая — для хищников. При этом, однако, определенное влияние на морфологию пищеварительного тракта могут оказывать филогенетические особенности рыб разных видов. Кроме того, на длину кишечника влияет обеспеченность пищей: у локальных групп, удовлетворительно обеспеченных пищей, длина кишки и вариабельность меньше, чем у рыб, кормовая база которых неудовлетворительна (Karoor et al., 1975).

Анализ морфологических особенностей пищеварительной системы многих видов костистых рыб, проведенный И. А. Веригиной и И. М. Жолдасовой (1982), показал, что адаптацию различных отделов пищеварительного тракта следует рассматривать не изолированно, а комплексно. При этом важно подчеркнуть, что у рыб со сходным типом питания, но не связанных родством, наблюдаются частые случаи параллелизма, реже — конвергентные вариации в строении тех или иных отделов пищеварительного тракта. По мнению данных авторов, широкое распространение параллелизма в строении пищеварительной системы костистых рыб может быть результатом относительной бедности гистологических элементов при большом таксономическом разнообразии и богатом видовом составе этой группы.

3.2. Ультраструктура эпителия пищеварительного тракта

Ультраструктура эпителия желудка исследована лишь у немногих видов рыб. При изучении пресноводных костистых рыб обнаружено три-четыре типа клеток: 1) слизистые клетки, клетки, выстилающие внутреннюю поверхность желудка и ямки, а также кислотнопепсиновые, составляющие железы (Giraund, Jeomans, 1982); 2) поверхностный эпителий, эпителий дна крипт, клетки, секретирующие соляную кислоту, а также эндокринные клетки (Noaillac-Dereuge, Gas, 1978). Особое внимание уделялось строению желудочных желез. Установлено, что на апикальном конце клеток, формирующих железы, имеется компактная система канальцев, сходных с аналогичными структурами клеток, секретирующих кислоту у различных позвоночных животных. В базаль-

ной части этих клеток обнаружены секреторные гранулы, содержащее которых высвобождается в апикальной части путем экзоцитоза (Ling, Tap, 1975; Noaillac-Depeyre, Gas, 1978). Тонкое строение желудочных желез у костистых рыб подтверждает предположение о том, что входящие в их состав клетки продуцируют и зимогены, и кислоты.

Аналогичный вывод был сделан при изучении ультраструктуры секретирующих клеток желудочных желез у пластиножаберных рыб. Интересно, что цитоплазма этих клеток делится на две зоны — светлую апикальную и темную, занимающую основную часть клетки. При этом хорошо развитый гранулярный ретикулум, комплекс Гольджи и зимогеноподобные гранулы напоминают главные желудочные железы млекопитающих, в то время как тубовезикулярная система, митохондрии и базальные уплотнения клеточной мембраны — париетальные клетки (Rebolledo, Vial, 1979). В ряде гистологических работ (Medeiros et al., 1970a, 1970b; Western, Jennings, 1970, и др.) для желудочных желез также был отмечен лишь один тип клеток, которые помимо пепсиногена вырабатывают и кислоту.

Тонкое строение кишечного эпителия изучено значительно подробнее. Особое внимание при этом уделялось щеточкокаемным клеткам. Интересно, что наличие у рыб структур, идентифицированных позднее как микроворсинки, было зафиксировано в конце XIX в., когда ряд исследователей (см. Jansson, Olsson, 1960; Odense, Bishop, 1966, и др.) описали реснички на эпителиальных клетках пилорических придатков у рыб разных видов. Вопрос о том, являются ли структуры, описанные для некоторых видов рыб как «реснички», микроворсинками или нет, нуждается в дополнительной проверке (Ishida, 1936; Al-Hussaini, 1949a, 1949b; Andrew, 1959; Fange, Grove, 1979, и др.). В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что энтероциты кишечника рыб обладают щеточной каймой, так как эта структура описана для многих видов, различающихся как по систематическому положению, так и по экологии (Dawes, 1929; McVay, Kaap, 1940; Al-Hussaini, 1949a; Weinreb, Bilstad, 1955; Ikeda, 1959; Bullock, 1961 [цит. по Халилов, 1969]; Prakash, 1961; Bishop, Odense, 1966; Васильева, Коровина, 1968, 1969; Шмальгаузен, 1968; Халилов, 1969; Чукаловская, 1971; Goel, Sastry, 1973; Суворова, Трещук, 1973; Kapoor et al., 1975, и мн. др.).

Электронно-микроскопические исследования подтвердили наличие микроворсинок (рис. 6), форма которых близка таковой других животных (Jansson, Olsson, 1960; Odense, Bishop, 1966; Yamamoto, 1966; Iwai, 1969; Халилов, 1969; Чукаловская, 1971; Gauthier, Landis, 1972; Уголев, 1972; Noaillac-Depeyre, Gas, 1973, 1974, 1979; Kayanja et al., 1975; Kremenz, Chapman, 1975; Purkerson et al., 1975; Stroband, 1977; Huebner, Chee, 1978; Ezeasor, Stokoe, 1981; Куперман, Кузьмина, 1984; Куперман и др., 1985, и др.). Размеры микроворсинок у рыб различных видов варьирует (табл. 2), количество микроворсинок у них в разных отде-

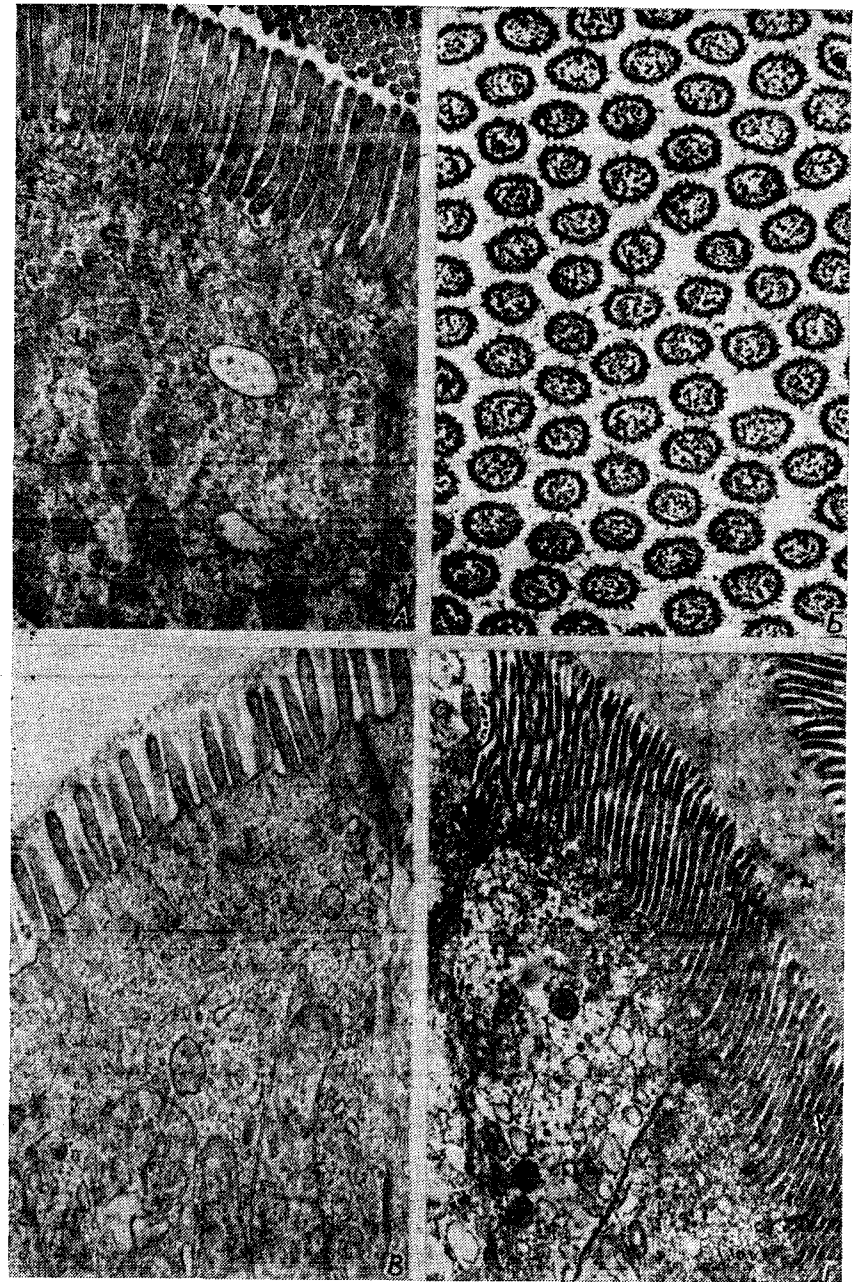


Рис. 6. Ультраструктура эпителия слизистой оболочки кишечника у некоторых видов пресноводных рыб.

А — апикальная часть энтероцита из краниального участка заднего отдела кишечника щуки ($\times 8300$); Б — поперечное сечение микроворсинок энтероцитов из кишечника щуки ($\times 50000$); В — апикальная часть энтероцита из заднего отдела кишечника налима ($\times 13000$); Г — щеточная кайма энтероцита из среднего отдела кишечника леща ($\times 8300$).

Характеристика микроворсинок щеточной каймы энтероцитов у некоторых видов рыб

Вид	Характеристика микроворсинок			Локализация энтероцитов	Литературный источник
	высота, мкм	диаметр, мкм	количество, шт.		
Многояречная (<i>Lamprolaima fluviatilis</i> L.)	—	0,08—0,11	—	Средний отдел кишки	Pickering, Morriss, 1973
Треска (<i>Gadus morhua</i> L.)	3,1	0,12	—	Пилорические придатки	Odense, Bishop, 1966
Тот же	1,8	0,11	—	Средний отдел кишки	Тот же
» »	2,3	0,12	—	Задний отдел кишки	» »
Радужная форель (<i>Salmo gairdnerii</i> Rich.)	1,5—2,0	0,13	—	Средний отдел кишки	Уголев, 1972
Карп чешуйчатый (<i>Cyprinus carpio</i> L.)	0,9	0,3	600	Та же	Халилов, 1969
Тот же	1,0	—	—	» »	Чукаловская, 1971
» »	1,2	0,12	—	» »	Noailles-Dereure, Gas, 1974
Золотая рыбка (<i>Carassius auratus</i> (L.))	0,9—1,1	0,10	Около 1000	» »	Yamamoto, 1966
Белый амур (<i>Steopharyngodon idella</i>)	0,9	0,09	700	» »	Stroband, 1977
Американский сом (<i>Ictalurus punctatus</i>)	1,25	0,11	—	» »	Krementz, Sharpman, 1975
Тот же	1,0	0,11	—	Задний отдел кишки	Тот же
Окунь (<i>Perca fluviatilis</i> L.)	1,3	0,08	—	Пилорические придатки	» »
Бычок-кругляк (<i>Neogobius melanostomus</i>)	1,0	0,10	—	Средний отдел	Уголев, 1972
Рыба-жаба (<i>Opsanus tau</i>)	Около 1,0	0,1	—	Та же	Farmanfarman et al., 1972
Щука (<i>Esox lucius</i> L.)	0,60	0,14	52,7	Передний отдел кишки	Кулерман, Кузьмина, 1984
Тот же	0,79	0,11	62,3	Краниальная часть зад- него отдела кишки	Тот же
» »	0,92	0,10	20,8	Каудальная часть зад- него отдела кишки	» »
Налим (<i>Lota lota</i> (L.))	0,50	0,12	32,4	Передний отдел кишки	Кулерман и др., 1985
Тот же	1,22	0,12	46,0	Средний отдел кишки	Тот же
» »	1,08	0,13	35,2	Задний отдел кишки	» »
Лещ (<i>Abramis brama</i> (L.))	1,88	0,09	48,0	Передний отдел кишки	Кулерман, Кузьмина (неопуб- ликованные данные)
Тот же	1,98	0,12	48,8	Средний отдел кишки	Тот же
» »	0,94	0,13	45,7	Задний отдел кишки	» »

Примечание. Прочерк означает отсутствие данных.

лах кишечника также различно (Куперман, Кузьмина, 1984; Куперман и др., 1985). При голодании размер микроворсинок может значительно уменьшаться. Так, для молоди карпа отмечено двукратное уменьшение их длины (Iwai, 1969). Мембрана микроворсинок имеет типичную трехслойную структуру.

На апикальной поверхности микроворсинок у ряда видов рыб обнаружены фибриллы, которые, по мнению многих авторов (Odense, Bishop, 1966; Yamagishi et al., 1969 [цит. по: Karoog et al., 1975]; Krementz, Chapman, 1975), являются мукополисахаридными образованиями, сходными с гликокаликсом млекопитающих. У золотой рыбки и карпа выявлен гликокаликс, подобный описанному для млекопитающих (Ozaki, 1965; Noaillac-Depeyre, Gas, 1974). Кроме того, гликокаликс обнаружен на энтероцитах верхней части кишечника костистой рыбы *Hoplosternum thoracatum* (Huebner, Chee, 1978) и кишке налима (Куперман и др., 1985).

Цитоплазма энтероцитов слизистой кишечника рыб содержит те же органеллы, что и аналогичные клетки млекопитающих, — ядро, митохондрии, комплекс Гольджи, лизосомы, эндоплазматический ретикулум (гранулярный и агранулярный), а также терминальную сеть, везикулы и трубочки. Особый интерес для понимания процессов пищеварения представляют сведения об организации апикальной части энтероцитов. Количество и расположение различных органелл варьируют в зависимости от вида рыб, части кишечника и, видимо, функционального состояния пищеварительной системы. В значительной мере это относится и к структурной организации щеточной каймы. Так, в ряде работ (Iwai, 1969; Noaillac-Depeyre, Gas, 1973, 1976, 1979; Stroband, 1977, и др.) установлено, что высота микроворсинок в заднем отделе кишки ниже, а расположение менее регулярно, чем в переднем и среднем. Кроме того, во втором сегменте средней кишки отмечены многочисленные инвагинации апикальной мембраны между микроворсинками в зоне терминальной сети, которые отсутствуют в вышеуказанных участках (Yamamoto, 1966; Gauthier, Landis, 1972; Noaillac-Depeyre, Gas, 1973, 1979; Kavanja et al., 1975; Куперман, Кузьмина, 1984, и др.).

Апикальная часть цитоплазмы энтероцитов обычно свободна от органелл (Gas, Noaillac-Depeyre, 1974). В этой зоне можно видеть тонкий волокнистый комплекс (терминальную сеть), который, по-видимому, является продолжением внутренних структур микроворсинок.

Однако иногда могут встречаться гладкие везикулы, трубочки и вакуоли, количество которых зависит от интенсивности и характера питания (Yamamoto, 1966; Gauthier, Landis, 1972; Noaillac-Depeyre, Gas, 1979; Ezeasor, Stokoe, 1981, и др.). Близость инвагинаций апикальной плазматической мембраны к везикулам и вакуолям апикальной цитоплазмы энтероцитов дистальной половины кишечника рыб обычно связывают с наличием пиноцитоза (Yamamoto, 1966; Iwai, 1969; Gauthier, Landis, 1972; Noaillac-Depeyre, Gas, 1973, 1979; Куперман и др., 1985).

При этом в ряде работ (Gauthier, Landis, 1972; Noaillac-Depeyre, Gas, 1979; Ezeasor, Stokoe, 1981) показано, что описанные явления вызывают введение жира и белка (обычно пероксидаза из хрена), причем жиры транспортируются в более проксимальных, белки — в более дистальных участках кишечника. Эксперименты с предварительным 6-месячным голоданием карпа показали, что наличие структур, включенных в транспорт белка, не зависит от интенсивности экзогенного питания (Noaillac-Depeyre, Gas, 1973).

В зоне, лежащей между терминальной сетью и ядром, иногда наблюдаются супрануклеарные тела с очень плотным содержанием, расположенные упорядоченно в ряд поперек энтероцитов и, по-видимому, связанные с внутриклеточным пищеварением (Gauthier, Landis, 1972; Noaillac-Depeyre, Gas, 1979). Здесь же находятся многочисленные митохондрии, особенно обильные в верхних отделах кишечника (Jansson, Olsson, 1960; Pickering, Morris, 1973; Kavanja et al., 1975). Часто большое количество митохондрий встречается в инфрануклеарной зоне (Gas, Noaillac-Depeyre, 1974). Характерным для рыб является образование пластинчатых структур, которые являются необычной разновидностью агранулярного эндоплазматического ретикулума, расположенного вдоль клетки и сконцентрированного главным образом в инфрануклеарной цитоплазме. Полости пластин содержат более или менее плотный гомогенный материал, а трехслойные мембраны разделены расстоянием от 25 до 35 нм. Электронная плотность этих мембран несколько выше, чем у эндоплазматического ретикулума. Важно отметить, что ламеллярные структуры никогда не бывают связаны с рибосомами и не имеют анастомозов. Функция этих пластин точно не установлена. По мнению некоторых исследователей (Karoog et al., 1975), она связана с концентрацией солей, а также транспортом воды и нутриентов.

Эндоплазматический ретикулум, расположенный ниже терминальной сети, в разных клетках может иметь различное строение (Yamagishi et al., 1969 [цит. по: Karoog et al., 1975]). В инфрануклеарной зоне могут встречаться многочисленные рибосомы (Noaillac-Depeyre, Gas, 1973). Рядом с комплексом Гольджи можно наблюдать мультивезикулярные тела и плотные тела лизосомальной природы (Noaillac-Depeyre, Gas, 1979).

Латеральные мембраны энтероцитов содержат различного рода контакты, осуществляющие связь между соседними клетками. При этом обычны простые контакты, десмосомы, а также плотные и промежуточные контакты (Karoog et al., 1975; Куперман, Кузьмина, 1984; Куперман и др., 1985). Также описаны терминальный простой и мультидесмосомальные контакты на уровне терминальной сети (Yamamoto, 1966). По-видимому, количество и соотношение контактов различного типа обусловлено физиологическим состоянием исследуемых животных.

Подробное исследование ультраструктуры кишечного эпителия у рыб, значительно различающихся по характеру питания, проведенное совместно с Б. И. Куперманом, показало, что экологические

особенности вида оказывают значительное влияние не только на характеристики щеточной каймы энтероцитов, но и на состояние цитоплазмы. Наиболее отчетливые различия обнаружены в зимний период (рис. 6). При этом у бентофага леща, который в отличие от хищников (щука и налим) не питается в этот период, отмечены деструктивные изменения кишечного эпителия. В частности, возникает многорядность, уменьшается электронная плотность различных органелл, особенно митохондрий.

Таким образом, имеющиеся данные свидетельствуют о значительной зависимости ультраструктуры кишечного эпителия от типа питания рыб, которая наиболее отчетливо проявляется в период физиологического голодания.

3.3. Функциональная топография пищеварительного тракта

Известно, что в функциональном отношении кишечник рыб неоднороден. У рыб разных видов описаны несколько зон, различающихся по физиологической функции. У костистых рыб, не имеющих желудка (карповый тип по Вундшу), кишечник принято делить на четыре зоны: 1 — передний отдел кишечника (верхняя расширенная часть в районе желчного протока); 2 и 3 — длинный и тонкий сегмент, состоящий из двух частей (первой средней части и второй средней части); 4 — короткий задний отдел кишечника, или ректум, заканчивающийся анальным отверстием. Установлено, что в первых двух отделах происходит абсорбция липидов, в третьем — белков, в четвертом — воды (Yamamoto, 1966; Iwai, 1969; Gauthier, Landis, 1972; Noaillac-Depeyre, Gas, 1973, 1976; Stroband, Debets, и др.). Для рыб, имеющих желудок, описаны три зоны: 1 — длинный проксимальный отдел, включающий в ряде случаев полирические придатки; 2 — средний (у некоторых видов короткий) сегмент; 3 — расширенный дистальный, заканчивающийся анальным отверстием (Kayanja et al., 1975; Noaillac-Depeyre, Gas, 1979). На соотношение длины этих отделов, по-видимому, влияет диета на первых этапах развития рыб. Так, показано, что у сеголеток амура, питающихся пищей животного происхождения, длина кишечника короче, чем у растительноядных рыб, в основном за счет первого отдела (Stroband, 1977).

3.3.1. Протеазы

Данные, свидетельствующие о неравномерном распределении ферментов, обеспечивающих гидролиз белковых компонентов корма, вдоль пищеварительного тракта рыб, появились в конце XIX — начале XX в. (Пегель, 1950). Так, было известно о более высокой активности кислых протеиназ в желудке рыб, щелочных протеиназ — в кишечнике. При этом в различных частях кишечника также отмечался разный уровень ферментативной активности. К. Кнауте (Knaute, 1907) обнаружил у карповых рыб наиболь-

шую активность в среднем отделе кишечника, а Л. Е. Бейлисс (Bayliss, 1935), исследуя активность экстрактов слизистой камбалы, не нашел значительных различий между активностью переднего и каудально расположенных отделов, хотя в ряде случаев он мог наблюдать ее уменьшение в абсорбционном направлении. Аналогичная закономерность установлена для миксины (Nilsson, Fange, 1970), причем в двух верхних отделах обнаружена одинаковая активность трипсина, а в заднем — вдвое меньшая, в то время как активность химотрипсина последовательно снижалась в дистальном направлении. В работе Н. С. Строганова и Н. С. Бузиновой (1969) приводятся данные, анализ которых свидетельствует о различиях в проксимо-дистальном распределении активности трипсина у белого амура в зависимости от возраста (состава корма) и степени накормленности рыб. Так, у годовиков, питающихся планктоном, максимальная активность обнаруживалась в среднем отделе кишечника. У 2- и 3-леток, питающихся высшей водной растительностью, проксимо-дистальный градиент отсутствовал. У голодных рыб всех возрастных групп максимальная активность обнаруживалась в переднем отделе кишечника.

В некотором противоречии с этими данными находятся результаты, полученные на нескольких видах костистых рыб (Al-Hussaini, 1949; Al-Hussaini, Kholu, 1953; Трофимова, 1974), свидетельствующие о большей протеолитической активности в задней трети кишечника. Нами совместно с Е. Г. Кузьминой при исследовании слизистой пищеварительного тракта стерляди установлено последовательное снижение активности кислых протеиназ при одновременном увеличении активности щелочных протеиназ в каудальном направлении.

Так, активность первых в пищевом тракте в 14 раз выше, чем в дистальном отделе кишечника, вторых — в 8 раз ниже. При исследовании пептидаз представления о функциональной неоднородности слизистой кишечника рыб были подтверждены. При этом еще А. Полиманти (Polimanti, 1912) у исследованных им акулы, морского угря и других рыб отметил большую активность передних отделов кишечника по сравнению с задними. Позднее были обнаружены различия в распределении разных дипептидазных активностей, локализованных в слизистой кишечника карпа (Schmitt et al., 1966). Так, если глицил-L-лейцилдипептидазная активность одинакова в двух передних отделах и ниже в дистальном, то активность по глицил-L-треонину выше в медиальном отделе, а активность по L-аланилглицину, L-лейцилглицину и L-серилглицину выше в проксимальном отделе (активности двух последующих участков близки по значениям). Однако при исследовании глицил-L-лейцилдипептидазной активности в слизистой тонкой кишки у карпа, бычка-кругляка и радужной форели (Кушак, 1967, 1968; Щербаков, 1969) достоверной разницы в активности проксимальных и дистальных участков не обнаружено. В. А. Пегель (1973) при изучении участия пептидаз в полостном и мембранном гидролизе пептона показал, что у рыб, предпочи-

тающих животную пищу, активность ферментов, осуществляющих пристеночное пищеварение, выше, чем у растительноядных рыб (видовых различий в уровне полостного пищеварения не обнаружено). У всех исследованных рыб наблюдалось убывание активности кишечных пептидаз краниокаудально.

Таким образом, имеющиеся данные не позволяют однозначно охарактеризовать топографию гидролиза белковых компонентов корма, что, по-видимому, обусловлено не только видовыми особенностями питания рыб, но и методическими различиями, а также наличием неконтролируемых факторов.

3.3.2. Липазы

Липазы являются одной из наименее изученных групп гидролаз. Активность ферментов была обнаружена в желудке, пилорических придатках и кишечнике у рыб разных видов (Al-Hussaini, 1949a; Sastry, 1974; Goel, 1975; Patton et al., 1975; Swarup, Goel, 1975a, 1975b; Lie, Lambertsen, 1985, и др.). При исследовании плотвы, пескаря и карпа наиболее высокая активность была обнаружена в передних отделах кишечника (Al-Hussaini, 1949a). Однако есть сведения о большей активности фермента в пилорических придатках (Sastry, 1974). Эти данные, а также результаты исследования топографии абсорбции жиров (Barrington, 1957; Халилов, 1969; Кароог et al., 1975, и др.) свидетельствуют о том, что процессы гидролиза этих компонентов пищи наиболее интенсивно протекают в передних отделах пищеварительного тракта, в том числе и пилорических придатках и желудке рыб.

3.3.3. Карбогидразы

Распределение ферментов этой группы вдоль кишечника изучено наиболее подробно. Особое внимание уделялось амилазе, осуществляющей начальные этапы гидролиза углеводов. В ряде работ было установлено, что максимум активности амилазы у тилапии, пескаря, плотвы, белого амура и толстолобика приходится на передний отдел кишечника (Al-Hussaini, 1949a, 1949b; Fish, 1960; Берман, 1964; Берман, Салениеце, 1966; Пегель, Реморов, 1967; Пегель и др., 1968, 1971), у тилапии, щуки и окуня (Nagase, 1964; Бузинова, 1973; Пегель, 1973) — на средней отдел, у калатомуса, рыбы-шара, тилассомы, солярии, нильской тилапии, нильского сомика и саргуса (Ishida, 1936; Al-Hussaini, Kholy, 1953) — на задний. Противоречивость приведенных данных нетрудно заметить на примере окуня, щуки и тилапии, фигурирующих в трех перечисленных группах рыб. Источником таких противоречий могут быть произвольное и не во всех работах совпадающее деление кишечника на отделы, различный биохимический состав пищи и разное состояние исследуемых рыб, а также различия в методах определения амилолитической активности (Кузьмина, 1978).

Определения, охватывающие пластиножаберных, хрящевых га-ноидов и костистых рыб, показали, что характер градиента также в значительной степени зависит от систематического положения, функционального состояния и способа выражения ферментативной активности (расчет на единицу массы слизистой, единицу длины или единицу площади кишечника). У пластиножаберных рыб карбогидразы распределены вдоль кишечника достаточно равномерно (Кузьмина, 1990г). При изучении активности α -амилазы у костистых рыб установлено, что в зимний период у типичных и факультативных хищников проксимо-дистальные градиенты слабо выражены или доминирует градиент с максимумом в проксимальном отделе кишечника, у бентофагов характер градиента может быть различным, однако чаще доминирует градиент с максимумом в среднем и заднем отделах. Летом значительные различия в уровне активности α -амилазы в разных участках кишечника у бенто- и планктофагов отсутствуют, у хищников — наблюдается недостоверный максимум в дистальном отделе. При этом характер распределения активности фермента в полости и слизистой кишечника может быть различным не только у рыб разных видов и экологических групп, но и у рыб одного и того же вида (Кузьмина, 1984, 1986).

В специальных экспериментах была выявлена зависимость между характером проксимо-дистального градиента активности α -амилазы и способом расчета уровня ферментативной активности. При расчете на 1 г влажной массы слизистой отчетливый максимум активности наблюдается в дистальном отделе кишечника, при расчете на 1 см длины — в проксимальном отделе, при расчете на единицу площади (1 см²) статистически достоверные различия не наблюдаются (Кузьмина, 1979б).

Таким образом, активность α -амилазы обнаружена на протяжении всего желудочно-кишечного тракта рыб. Характер распределения и особенности проксимо-дистальных градиентов α -амилазы в значительной мере зависят от способа выражения ферментативной активности.

При исследовании общей амилолитической активности в различных участках кишечника у пресноводных костистых рыб показано, что характер проксимо-дистальных градиентов у различных видов различен. Так, для щуки характерен нисходящий, для плотвы — восходящий проксимо-дистальный градиент активности ферментов, функционирующих в 1 г слизистой (для леща и карпа не отмечено значительных изменений активности). При исследовании активности всей слизистой тех же участков кишечника у всех видов рыб обнаружен нисходящий градиент с максимумом в проксимальном отделе. Определенное влияние на характер проксимо-дистальных градиентов общей амилолитической активности оказывает функциональное состояние рыб (Кузьмина, 1985).

Данных о топографии дисахаридаз в кишечнике рыб крайне мало. При исследовании карпа большая активность мальтазы обнаружена в проксимальном отделе (Vopk, 1927), бычка-кругляка и

форели — в медиальном отделе кишечника (Щербаков, 1969). Также есть данные о максимальной активности мальтазы в дистальных отделах слизистой кишечника у карпа, айю и красного паргуса (Kawai, Ikeda, 1971). Детальное исследование проксимодистальных градиентов дисахаридаз у рыб разных видов позволило предположить их более сложную зависимость от различных факторов, чем считалось ранее (Кузьмина, 1984). Было показано, что активность сахаразы у щуки максимальна в дистальном участке кишечника, у леща, плотвы и карпа — в медиальном (чаще в каудальном участке медиального отдела). У леща и карпа наблюдается двувершинный, у плотвы — одновершинный градиент (рис. 7).

Эти результаты свидетельствуют о том, что на характер градиента дисахаридаз влияют не только особенности морфологической организации пищеварительного тракта, но также спектр питания и, видимо, другие, не контролируемые нами факторы. При расчете активности с учетом массы всей слизистой исследованных отрезков увеличивается роль проксимальных отделов в гидролизе сахарозы, однако характер градиента в ряде случаев (щука, карп) сохраняется.

Значительные различия в уровне активности ферментов группы мальтаз не выявлены: у щуки максимум отмечен в медиальном, у леща — в проксимальном и медиальном отделах. При расчете активности на массу всего отрезка характер градиента изменяется на нисходящий. При этом проксимодистальные градиенты двух дисахаридаз оказываются разнонаправленными. На долю проксимального отдела, аналогичного двенадцатиперстной кишке млекопитающих, приходится более 50 % активности мальтазы и лишь 25 % активности сахаразы. Столь высокая относительная активность первого фермента может быть связана не только с большей активностью собственно кишечных ферментов, но и с большим количеством мальтазы, адсорбированной из полости вследствие близости панкреатического протока. С задним отделом кишечника щуки (медиальный и дистальный участки) связано $\approx 45\%$ активности мальтазы и $\approx 75\%$ активности сахаразы (Кузьмина, 1984). Вместе с тем характер распределения исследованных дисахаридаз, особенно мальтазы, в слизистой различных отделов кишечника рыб может значительно варьировать. Поскольку при исследовании рыб, обитающих в естественных водоемах, трудно контролировать интенсивность и спектр их питания, в настоящее время невозможно однозначно ответить на вопрос о причинах наблюдаемой индивидуальной варибельности распределения дисахаридаз в различных отделах кишечника. Вместе с тем не вызывает сомнения тот факт, что высокий уровень ферментативной активности последних отделов обусловлен относительно небольшой длиной кишечника рыб (особенно у хищников).

Таким образом, несмотря на некоторые различия проксимодистальных градиентов дисахаридаз у рыб разных видов, для сахаразы и мальтазы характерна высокая активность в медиальных

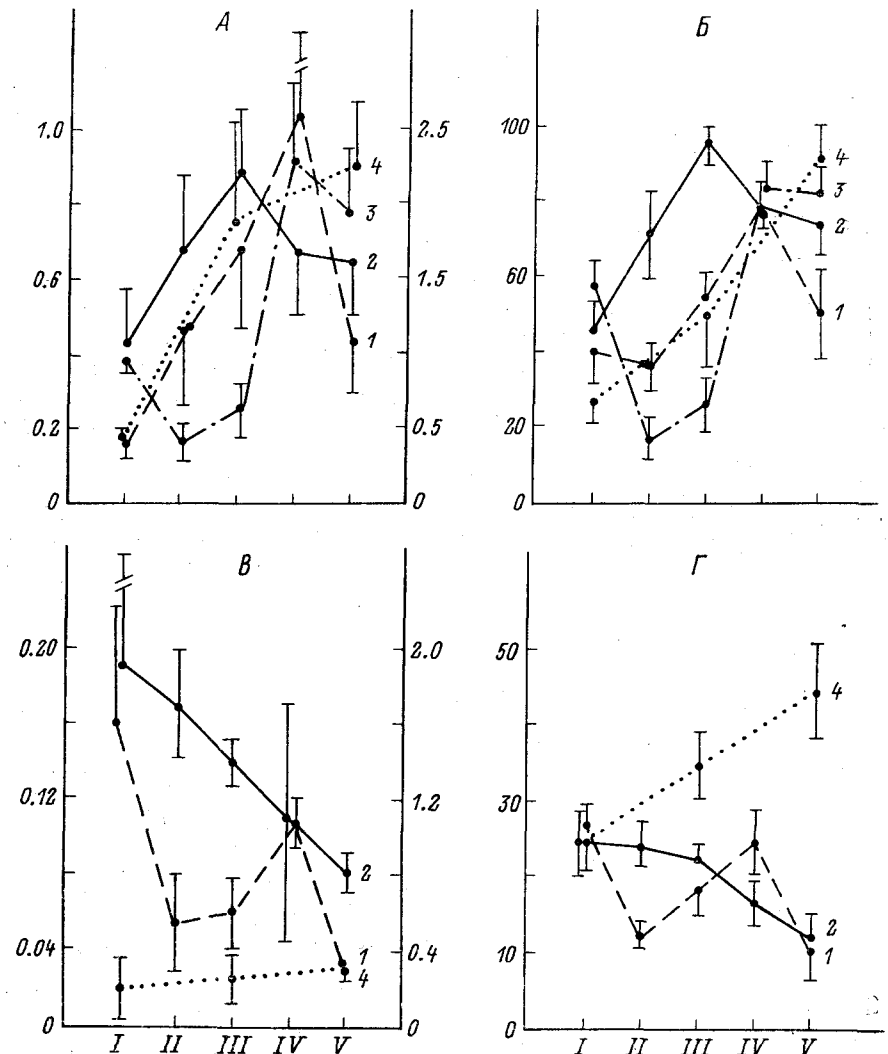


Рис. 7. Распределение активности сахаразы вдоль кишечника карпа (1), плотвы (2), леща (3) и щуки (4).

А: для 2—4 — ось ординат слева; для 1 — ось ординат справа. В: для 1, 4 — ось ординат слева; для 2 — ось ординат справа. По оси абсцисс — отдел кишечника; по оси ординат — активность фермента, $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ (А), относительная активность фермента, % от максимальной, принятой за 100 (Б), активность всей слизистой исследованных отрезков, $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ (В), относительная активность фермента, % от суммарной активности, принятой за 100 (Г).

и дистальных участках, которая в ряде случаев сохраняется даже при оценке реальной активности исследуемых отделов.

3.3.4. Фосфатазы

Распределение активности фосфатаз вдоль кишечника исследовано у многих видов рыб. Изучение пресноводных рыб показало, что максимальная активность наблюдается в передних отделах кишечника (Rode et al., 1964; Халилов, Инюшин, 1964; Srivastava, 1966; Халилов, 1966; 1969; Sivadas, Govindan, 1970; Берман, 1972; Goel, Sastry, 1973). При изучении пластиножаберных рыб эта закономерность была подтверждена исследованиями (Кузьмина, 1990).

У стерляди минимальная щелочнофосфатазная активность обнаружена в пищеводе, несколько большая — в желудке и дистальном отделе кишечника, максимальная — в проксимальном отделе кишечника, незначительно уступающая ей — в пилорических придатках (Кузьмина, Кузьмина, 1991).

Вместе с тем у некоторых видов, в частности у налима, недоуверный максимум активности может наблюдаться в медиальном участке кишечника (рис. 8). При этом даже в случае четких нисходящих градиентов соотношение активности фермента в различных участках кишечника может быть различным. Так, у щуки 58 % ферментативной активности связано с проксимальным отделом, около 30 % — с медиальным и 11.5 % — с дистальным; у налима — соответственно 32, 47 и 21 %. У карпа относительная активность в проксимальном отделе составляет более 60 %, в дистальном — менее 4 % от суммарной активности щелочной фосфатазы; относительная активность в медиальных участках колеблется от 10 до 16 % от суммарной фосфатазной активности.

У леща почти половина всей щелочнофосфатазной активности в кишечнике приходится на первый расширенный участок. Около 20 % ферментативной активности связано с первым участком среднего отдела и приблизительно по 10 % — с двумя последующими участками, 6.5 % — с дистальным отделом.

Для плотвы отмечено несколько иное соотношение активности фермента: приблизительно по 35 % в двух первых, около 15, 10 и 2.5 % в трех последующих участках. В результате на средний отдел кишечника у леща и карпа приходится около 40 % общей активности щелочной фосфатазы, у плотвы и щуки — приблизительно 60 %, у налима — 47 %.

При голодании рыб различия в уровне щелочнофосфатазной активности слизистой в различных отделах уменьшаются в результате снижения активности фермента в проксимальных участках кишечника (Кузьмина, 1986).

Таким образом, в большинстве случаев у питающихся рыб разных видов наблюдается четкий нисходящий проксимо-дистальный градиент активности щелочной фосфатазы. У голодающих рыб активность в проксимальных отделах кишечника снижается.

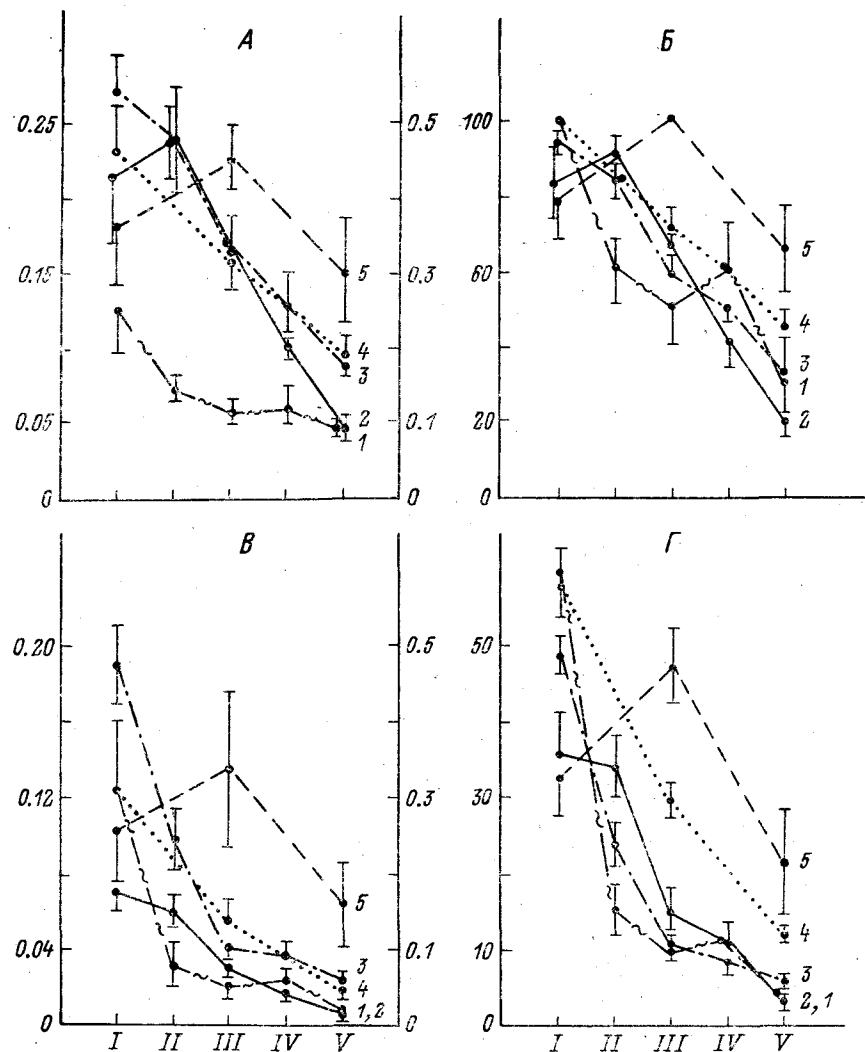


Рис. 8. Распределение щелочно-фосфатазной активности вдоль кишечника карпа (1), плотвы (2) леща (3), щуки (4) и налима (5).

А, В: для 3 — ось ординат слева; 1, 2, 4, 5 — ось ординат справа. По оси абсцисс отделы кишечника; по оси ординат — активность фермента, $\text{мкмоль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ (А), относительная активность фермента, % от максимальной, принятой за 100 (Б), активность всей слизистой отрезков, $\text{мкмоль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ (В), относительная активность фермента, % от суммарной активности, принятой за 100 (Г).

3.4. Заключительные замечания

Сопоставление имеющихся данных свидетельствует как о значительной общности структурно-функциональной организации пищеварительного тракта у рыб и других позвоночных животных, так и о существовании особенностей, характерных не только для классов хрящевых и костных рыб в целом, но и для отдельных таксономических и экологических групп. Наибольшее сходство характеристике обнаруживается на уровне ультраструктур кишечного эпителия. Действительно, если структурная организация кишечника рыб менее сложна, чем у млекопитающих (как правило, значительно более короткий и менее дифференцированный кишечник, не имеющий ворсинок, крипт, а у некоторых таксономических групп и подслизистой оболочки (Пучков, 1954; Barrington, 1957; Karoo et al., 1975; Веригина, Жолдасова, 1982, и др.), то ультраструктурная организация, в частности строение щеточной каймы энтероцитов, исключительно близка. Особенно важно подчеркнуть сходство в размере микроворсинок (обзор: Кузьмина, 1978; Куперман, Кузьмина, 1984; Куперман и др., 1985), уплотнений на верхушке (Krementz, Chapman, 1975; Куперман, Кузьмина, 1984) и гликокаликса (обзор: Кузьмина, 1978; Huebner, Chee, 1978; Куперман, Кузьмина, 1984; Куперман и др., 1985).

Действительно, у щуки средняя высота микроворсинок в разных отделах изменяется от 0,92 до 1,25 мкм, у налима — от 0,50 до 1,22, у леща — 0,94 до 1,89 мкм. Амплитуда колебаний индивидуальных значений длины микроворсинок в среднем отделе кишечника для тех же видов соответствует 0,55—2,02, 0,92—1,55, 1,66—2,08 мкм (Куперман, Кузьмина, 1984; Куперман и др., 1985; Кузьмина, 1986). Для крыс, собак и человека приводятся следующие средние значения: 0,4—1,0, 1,2—2,0, 0,67—1,36 мкм соответственно (Brown, 1962; Скляр, Яремко, 1968). Диаметр микроворсинок у рыб и млекопитающих варьирует в меньшей степени — от 0,10 до 0,14 и от 0,08 до 0,13 соответственно. Сопоставление этих и других данных показывает, что у исследованных представителей типа хордовых за счет микроворсинок достигается приблизительно одинаковое увеличение пищеварительно-транспортной поверхности кишки. Расчеты, произведенные для млекопитающих свидетельствуют о 30—60-кратном увеличении поверхности кишки по сравнению с гладкой мембраной (Wilson, 1962; Уголев, 1972). Более точно оценить вклад микроворсинок в увеличение поверхности различных участков кишки рыб не представляется возможным, поскольку, как было установлено нами, размеры микроворсинок энтероцитов, находящихся в разных частях складок, различны (Куперман, Кузьмина, 1984; Куперман и др., 1985).

Вместе с тем уже сейчас ясно, что характер питания влияет не только на величину складок слизистой и длину кишечника, но и на размер и особенности расположения микроворсинок. Однако у хищников кишечник короче, чем у так называемых мирных рыб, но размеры и характер расположения микроворсинок в дис-

тальных отделах кишки не претерпевают существенных изменений.

Изменение размера микроворсинок в разных отделах кишечника важно учитывать не только при оценке пищеварительно-транспортной поверхности кишечника рыб, связанной с процессами мембранного гидролиза пищи, но и с процессами пенетрации. Эффект пенетрации (проникновение молекул воды через гидрофобную область липидной фазы мембраны) оказывается возможным в участках искривленной мембраны, когда радиус кривизны составляет 40—80 нм и менее, т. е. на верхушках и у устьев микроворсинок (Елецкий, Цибулевский, 1979). Отсюда ясно, что узкие и часто расположенные микроворсинки оказываются более эффективными структурами, чем толстые и редко расположенные.

Кроме того, заслуживает внимания наличие инвагинаций апикальной мембраны энтероцитов, отмеченное для ряда видов рыб (Yamamoto, 1966; Bergot, Flechon, 1970a, 1970b; Gauthier, Landis, 1972; Noaillac-Depeyre, Gas, 1973, 1979; Kavanja et al., 1975; Куперман, Кузьмина, 1984; Куперман и др., 1985, и др.) и на ранних стадиях онтогенеза млекопитающих (Кушак, 1983), которые могут свидетельствовать о возможности транспорта некоторых нутриентов путем эндоцитоза. При этом особого внимания заслуживает тот факт, что становление пищеварительной функции в фило- и онтогенезе проходит через этап достаточно интенсивного поглощения интактных макромолекул. Последнее свидетельствует о том, что, несмотря на определенное сходство структур и особенно ультраструктур эпителия пищеварительного тракта рыб и высших позвоночных животных, у рыб наблюдаются черты более примитивной организации. В то же время различия в структуре и ультраструктуре кишечного эпителия рыб, обусловленные характером питания, дают возможность считать его достаточно адаптированным для эффективного осуществления процессов пищеварения, особенно мембранного.

При этом для многих видов рыб отмечены различия в характере распределения активности отдельных ферментов в различных участках пищеварительного тракта. Степень изменчивости уровня ферментативной активности у рыб разных таксономических групп различна. Если у пластиножаберных рыб пищеварительные гидролазы распределяются вдоль кишечника достаточно равномерно, то у костистых, как правило, наблюдаются отчетливые проксимодистальные градиенты активности. Эти факты хорошо согласуются с данными о функциональной неоднородности кишечника позвоночных животных (Уголев, 1963, 1967, 1972; Уголев и др., 1974; Смирнов, Уголев, 1981; Кушак, 1983, и мн. др.). При исследовании костистых рыб выявлены различия градиентов разноименных гидролаз. Так, активность α -амилазы отмечена во всех отделах кишечника, включая заднюю кишку. В то же время активность фермента в медиальном отделе кишечника рыб, соответствующем тощей кишке млекопитающих, сегменте, обладающем максимальной активностью «мембранной» α -амилазы у млекопитающих (Уголев, 1967, 1972), не всегда превышает таковую в проксимальном и

Глава 4

ОСНОВНЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ГИДРОЛИЗА ПИЩЕВЫХ СУБСТРАТОВ В ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОМ ТРАКТЕ РЫБ

дистальном участках. Последнее свидетельствует о большей роли в полостном и мембранном гидролизе углеводов дистального отдела кишечника рыб, чем у млекопитающих.

Несмотря на значительную видовую и индивидуальную вариабельность характера проксимо-дистальных градиентов, максимум активности ферментов группы мальтаз чаще наблюдается в медиальном отделе кишечника, сахаразы — в медиальном и дистальном. Указанные явления, в частности отсутствие четко выраженного проксимо-дистального градиента активности α -амилазы, могут быть обусловлены относительно меньшей длиной кишечника рыб, позволяющей ферментам, поступающим через панкреатический проток, довольно равномерно распределяться в полости и затем адсорбироваться в соответствующих сегментах кишечной трубки, а также проникновением в ткани кишечника диффузно расположенных вдоль него тканей поджелудочной железы (Yamané, 1973a, 1973b). Вместе с тем необходимо отметить влияние способа расчета активности на данные о проксимо-дистальном распределении ферментов, а также существование проксимо-дистальных градиентов массы слизистой, которые у рыб разных видов и экологических групп могут существенно различаться.

При этом важно отметить, что при оценке уровня ферментативной активности во всей ткани исследованных отделов у всех видов рыб выявляется нисходящий проксимо-дистальный градиент. Эти результаты хорошо согласуются с данными, полученными ранее при исследовании ряда видов пресноводных костистых рыб методом перфузии или при оценке ферментативной активности в расчете на 1 см длины кишечника (Берман, 1964; Берман, Саленнице, 1966; Пегель, Реморов, 1967; Пегель и др., 1968, 1971, и др.). По-видимому, это связано с тем, что в указанных экспериментах учитывается градиент площади и массы слизистой, который у рыб выражен ярче, чем у многих млекопитающих.

Данные, касающиеся распределения вдоль кишечника рыб щелочной фосфатазы, в наибольшей степени близки полученным для других позвоночных животных. Действительно у всех исследованных видов, включая пластиножаберных рыб, как и у высших позвоночных животных, в большинстве случаев отмечен четкий градиент щелочно-фосфатазной активности с максимумом в проксимальных участках кишки. При этом так же, как в случае дисахаридаз, характер проксимо-дистальных градиентов активности щелочной фосфатазы, рассчитанной с учетом массы слизистой в исследованных отделах кишечника, у рыб разных видов выражен отчетливее, чем при оценке уровня ферментативной активности 1 г ткани.

Сопоставление представленных данных дает основание считать, что наблюдаемые отличия проксимо-дистальных градиентов активности ряда пищеварительных гидролаз от таковых высших позвоночных животных обусловлены меньшей длиной и анатомо-гистологической дифференцированностью кишечника рыб.

Как подчеркивалось во второй главе, представления об основных закономерностях гидролиза пищевых субстратов у биотрофов в последние десятилетия были существенно пересмотрены. В некоторой степени эта ревизия коснулась и пищеварения у рыб. Было детально охарактеризовано мембранное пищеварение (Пегель и др., 1971; Уголев, 1972, 1985; Кузьмина, 1978, 1984, 1986; Уголев и др., 1981, 1983, 1986; Кузьмина, Смирнова, 1990, и мн. др.). Кроме того, обсуждался вопрос об участии экзоферментов жертвы в процессах пищеварения у рыб (Dabrowski, Glogowski, 1977a, 1977b; Lauff, Hofer, 1984; Ильина, 1986; Кузьмина, Перевозчикова, 1989a, 1989b), в том числе и за счет механизма индуцированного аутолиза (Уголев, Кузьмина, 1988). Однако до последнего времени основное внимание исследователи уделяли изучению закономерностей полостного и внутриклеточного пищеварения у рыб (Кожтоянц, 1950; Пегель, 1950; Пучков, 1954; Buddenbrock, 1956; Vargington, 1957; Строганов, 1962; Краюхин, 1963; Fange, Grove, 1979, и др.). Учитывая относительно слабую освещенность в литературе, касающейся физиологии питания рыб, механизмов пищеварения, открытых в последние десятилетия, в данной главе основное внимание будет уделено именно этим вопросам.

4.1. Краткая характеристика пищеварительных гидролаз

Несмотря на то что изучение различных характеристик пищеварительных ферментов у рыб имеет столетнюю историю (Fick, Murisier, 1873; Норре—Seyler, 1877; Luchau, 1878, и др.), имеющиеся сведения в значительной мере фрагментарны. Вместе с тем известно (см. главу 2) о том, что структура, особенности взаимодействия с субстратами и кинетические характеристики ферментов, выделенных из пищеварительных органов животных, различающихся по таксономии, в значительной мере близки. В связи с этим отсутствие или недостаток сведений о тех или иных гидролазах рыб могут до некоторой степени компенсировать данные о характеристиках одноименных ферментов других животных.

Гидролиз белков. Белковые компоненты пищи гидролизуются в желудке и кишечнике у рыб, имеющих желудок или только в кишечнике у безжелудочных. Как известно, в желудке осуществляется пепсино-кислое пищеварение. Однако рН желудочного сока у рыб значительно колеблется (от 1,6—2,0 до щелочных значений), что, по-видимому, обусловлено не только и не столько видовыми особенностями рыб, сколько характером питания и стадией пищеварения (Пегель, 1950; Barrington, 1957; Fange, Grove, 1979; Сорвачев, 1982, и др.).

В желудочном соке рыб содержатся различные протеазы, о чем косвенно свидетельствуют четыре пика активности при значениях рН 2,0, 3,0, 5,0 и 8,5 (Creach, 1963). Из слизистой оболочки куней акулы выделены четыре различных пепсина (Merret et al., 1969). Молекулярная масса пепсина, выделенного из слизистой желудка кошачьей акулы, равна 36 000. Из слизистой желудка трески выделены три протеазы с молекулярной массой зимогена 42 434, 41 751 и 45 320, энзима — 36 898 и 37 970 (Squires et al., 1986). Эти данные исключительно близки аналогичным значениям фермента млекопитающих. У европейского анчоуса обнаружены два пика протеолитической активности при рН 1,8—2,0 (предположительно пепсин) и при рН 3,0—3,4 (предположительно катепепсин). Указанные протеиназы обладали разной термостабильностью (Establier, Gutiérrez, 1978). Нами при исследовании желудочных протеиназ у ряда видов пресноводных костистых рыб при рН 3,0 выявлена зависимость формы кривых t° -функции от природы субстрата. Важно отметить относительно высокую активность протеиназ по гемоглобину в зоне 0—30 °С (до 70—90 % от максимальной, принятой за 100 %), в то время как аналогичные значения для казеина, белков плазмы крови и высушенных мышц рыб колебались, как правило, от 5 до 60 %. Кроме того, выявлены некоторые видовые различия t° -функции ферментов (Кузьмина, 1990б).

Протеиназы, функционирующие в кишечнике, изучены более подробно. В работах последних лет исследована субстратная специфичность трипсина и химотрипсина для многих видов рыб: акулы (Prahl, Neurath, 1966), сельди, мойвы (Kaláč, 1978), форели (Croston, 1960, 1965), карася (Janu, 1976), карпа (Jonas et al., 1983; Хаблюк, Проскуряков, 1983; Хаблюк, 1984; Ильина, 1986), толстолобика (Jonas et al., 1983), сомов (Jonas et al., 1983; Yoshinaka et al., 1984) и др. Рядом авторов отмечается сходство сериновых эндопептидаз у рыб и других позвоночных животных. Так, молекулярная масса анионного трипсина амурского сома, имеющего аминокислотный состав, сходный с таковым бычьего катионного трипсина, равна 2600, изоточка — при рН 5,4 (Yoshinaka et al., 1984); для фермента карпа указывается несколько меньшая величина — 21 400 (Хаблюк, Проскуряков, 1983; Хаблюк, 1984). При этом у карпа выделены две изоформы трипсина с изоточками при рН 4,7 и 9,2. Трипсины карпа, подобно ферментам других животных, обладают амидазной и эстеразной актив-

ностью. Молярная активность трипсина карпа в 2,5—7 раз выше по сравнению с ферментом млекопитающих (Хаблюк, Проскуряков, 1983).

Эти же авторы выделили у карпа две изоформы химотрипсина с изоточками при рН 6,2 и 6,8, а также четыре протеиназы, сходные с химотрипсином (изоточки при 5,1, 5,4, 7,5 и 8,4), но не гидролизующие специфические синтетические субстраты. Молекулярная масса названных протеиназ — 21 400. Оптимум рН трипсина и химотрипсина у рыб разных видов варьирует от 7,5 у сельди (Kaláč, 1978) до 9,5 и 10,0 у карпа (Хаблюк, Проскуряков, 1983).

Помимо этих ферментов в поджелудочной железе у цельноголовых, пластиножаберных, двоякодышащих и костистых рыб обнаружена эластаза (Fange, Grove, 1979), а в кишечнике 19 видов костистых — коллагеназа (Yoshinaka et al., 1978). У некоторых рыб выделены эластаза, коллагеназа и карбоксипептидаза А (Yoshinaka et al., 1978; Хаблюк, Проскуряков, 1983; Хаблюк, 1984; и др.). Молекулярная масса первых 2 ферментов — 21 400 (изоточка при рН 6,8), карбоксипептидазы — 26 000 (изоточка при рН 8,3). Оптимум рН карбоксипептидазы А — 7,2 (Хаблюк, Проскуряков, 1983). Карбоксипептидазы А и В, по происхождению являющиеся панкреатическими экзопептидазами, были выявлены в кишечнике как пластиножаберных (Prahl, Neurath, 1966a, 1966b), так и костистых рыб (Zendzian, Barnard, 1967; Oochiro, 1971; Alliot et al., 1974; и др.).

Заключительные стадии гидролиза белка реализуют многочисленные пептидазы слизистой кишечника и пилорических придатков. У ряда видов костистых рыб выявлены дипептидазы (Кушак, 1969; Щербаков, 1969; Ash, 1979, 1980; Wyban, 1982), а также лейцинаминопептидаза (Fraise et al., 1981; Hirji, Courtney, 1982) и аланинаминопептидаза (Plantikow, 1985; Егорова и др., 1986).

Молекулярная масса лейцинаминопептидазы карпа около 200 000, рН 3,9. Оптимум рН по лейцин-п-нитроанилину 7,4, оптимум устойчивости в диапазоне рН от 5 до 9. Фермент активируется марганцем, но не активируется магнием (Хаблюк, Проскуряков, 1983). Близкие значения молекулярной массы получены для фермента трески (Overnell, 1973). Молекулярная масса протеазной формы аланинаминопептидазы форели соответствует 310 000, детергентной — 1 млн (Егорова и др., 1986). Высокие значения в последнем случае, по мнению авторов, были вызваны агрегацией молекул фермента.

Гидролиз жиров. Липаза, гидролизующая жиры, также выявлена у многих видов рыб (Brockhoff, 1966; Leger et al., 1979; Кузьмина, 1978; Buddington, 1985; Lie, Lambertsen, 1985, и др.).

Гидролиз липидов завершают щеточнокаемные экстеразы, обнаруженные у многих видов костных рыб (Al-Hussaini, 1949b; Ха-

лилов, 1969; Goel, 1975; Sastry, 1974a, 1974b; Mitchell et al., 1986; Ferraris et al., 1987, и др.).

Карбогидразы. Ферменты этой группы изучены наиболее полно (Пегель, 1950; Barrington, 1957; Phillips, 1969; Кузьмина, 1978; Fange, Grove, 1979; Уголев и др., 1983, 1986, и др.). При этом большинство работ касается характеристик амилазы.

Свойства очищенных ферментов рыб практически не изучены. Есть сведения лишь о том, что молекулярная масса 2 ферментов, выделенных из поджелудочной железы протоптеруса и карпа и обладающих амилотической активностью, близка 20 000 (Reesk et al., 1970; Хаблюк, Проскуряков, 1983). Ферменты карпа имеют изоточки при pH 3,8 и 4,9, оптимум стабильности — при 5—9, оптимум активности — при pH 7,5 для обоих ферментов (Хаблюк, Проскуряков, 1983).

При изучении влияния pH на активность амилазы рыб были получены следующие результаты. Для японского угря в качестве оптимальных найдены значения, близкие к 6,5 (Oya et al., 1927 [цит. по: Кузьмина, 1978]), для щуки — 6,5—7,0, для карпа — 6,5 (Vonk, 1927), для тиляпии — 6,7 (Nagase, 1964), для рыбы-жабы — 7,2 (Chesley, 1934), для леща, судака и налима — 7,0—7,5 (Ананьев, 1959). Эти данные свидетельствуют о близости pH-функции амилазы рыб таковой фермента млекопитающих. Особняком стоят работы Бейлиса (Bayliss, 1935), который нашел оптимум pH для амилазы камбалы соответствующим 7,5—8,0, и Ушиямы с соавторами (Ushiyama et al., 1965), установивших для ряда видов рыб оптимум pH 8,5, а также Чиу и Бенитеца (Chiu, Benitez, 1981), показавших, что оптимальная активность амилазы растительноядной рыбы ханоса наблюдается в диапазоне pH 5,5—7,5.

Поскольку эти различия могут быть обусловлены не только видовыми особенностями рыб, но и спецификой методических подходов, в специальной работе были сопоставлены характеристики фермента, функционирующего в различных средах (Кузьмина, Неваленный, 1983). Действительно, было установлено, что применение буферных растворов, в частности фосфатного, может искажать представления об эффективности функционирования пищеварительных ферментов, так как уменьшение концентрации ряда ионов часто вызывает смещение оптимума pH влево и сужение зоны оптимальных значений. Так, если у большинства из исследованных 9 видов оптимум pH α -амилазы, функционирующей в фосфатном буфере, находится в зоне 6,5—7,0, то оптимум фермента, функционирующего в эквilibрированном солевом растворе (раствор Рингера), находится в зоне pH 7,0—8,0, причем, как правило, при pH 6,0 и 9,0 сохраняется достаточно высокий уровень ферментативной активности.

Работами последних лет показано наличие γ -амилазы в слизистой кишечника карпа (Гредин, 1975a, 1975b; 1977, 1979; Уголев и др., 1976; Элер, Пегель, 1979; Элер, 1981) и сибирского ельца (Элер, Пегель, 1979). Продемонстрировано, что глюкоамилаза рыб обладает не только каталитическими, но и регулятор-

ными свойствами (Гредин, 1975a, 1975b; Уголев и др., 1976), причем уровень активности фермента находится под гормональным контролем (Элер, Пегель, 1979; Элер, 1981).

Долгое время активность мальтазы обнаруживалась не у всех исследованных рыб. Так, Фонк (Vonk, 1927) сообщил о наличии мальтазной активности в экстрактах слизистой кишечника карпа и об отсутствии ферментативной активности в кишечнике щуки. Ишида (Ishida, 1936) также обнаружил мальтазную активность только у 3 из 4 изученных им видов рыб — калатомуса, талласомы и собаки-рыбы. Позднее мальтаза была обнаружена в слизистой кишечника золотой рыбки (Sarbahi, 1951), бычка и форели (Щербаков, 1969) и ханоса (Chiu, Benitez, 1981). Недавно данные о наличии этого фермента в слизистой кишечника карпа были подтверждены (Kawai, Ikeda, 1971; Элер, Пегель, 1979; Элер, 1981). Кроме того, появились сведения о присутствии фермента в слизистой кишечника хищников айю и красного паргуса (Kawai, Ikeda, 1971), а также в пилорических придатках кеты (Ushiyama et al., 1965).

Оптимум pH мальтазы у бычка-кругляка — 6,0—8,0, у форели — 7,0 (Щербаков, 1969), у плотвы и леща — 7,0—8,0, у щуки — 8,0 (Кузьмина, Неваленный, 1983). Кроме того, установлено, что существенное влияние на pH-функцию фермента оказывает его структурирование. Действительно, солибилизация мальтазы при помощи тритона X-100 приводит к сужению зоны оптимальных значений pH (Кузьмина, Неваленный, 1983). При изучении температурного оптимума мальтаз показано, что и у бычка-кругляка, и у радужной форели имеются два пика активности (при 20 °C и 60 °C для первого вида и 20 °C и 40 °C — для второго), причем при 20 °C активность фермента у форели выше, чем при более высокой температуре. В зоне постмаксимальных температур у форели по сравнению с бычком-кругляком отмечено более значительное снижение уровня ферментативной активности (Щербаков, 1969; Уголев, 1972; Егорова и др., 1974, и др.).

Данных об активности сахаразы у рыб мало. Кенион (Kenion, 1925) установил активность этого фермента в пилорических придатках и в кишечнике у ушастого окуня, карпа и молодых щук. Недавно данные о наличии активности сахаразы в кишечнике взрослых карпов были подтверждены (Kawai, Ikeda, 1971). Ишида (Ishida, 1936) обнаружил инвертазу в кишечнике 3 видов костистых рыб — салариса, талласомы и каталомуса. Также есть сведения о содержании ее в слизистой кишечника у скумбрии, кефали (Воля, 1966) и в пилорических придатках кеты (Ushiyama et al., 1965).

Поскольку в большинстве работ данные о субстратной специфичности фермента рыб отсутствуют, а термины «сахараза» и «инвертаза» употребляются как синонимы, нами сохранена терминология авторов. Вместе с тем не исключено, что в кишечнике некоторых видов рыб помимо сахаразы (КФ 3.2.1.48) функционирует инвертаза (β -фруктофуранозидаза, КФ 3.2.1.26). Однако собст-

венно кишечным ферментом рыб, как и у млекопитающих, по-видимому, является сахараза.

У рыб разных видов рН-функция сахаразы различна. Так, для плотвы отмечена широкая зона оптимальных значений рН (6,0—8,0), для леща и щуки — узкая. При этом у леща оптимум находится при рН 7,0, у щуки — рН 6,0. В результате отторжения фермента от мембран эритроцитов при помощи тритона X-100 у плотвы наблюдается резкое сужение зоны оптимальных значений (максимум при рН 8,0), у щуки не отмечено существенных изменений кривой рН-зависимости в зоне рН 5,0—7,0, однако в зоне щелочных рН выявлено резкое снижение уровня ферментативной активности (Кузьмина, Неваленный, 1983). В этой же работе показано, что в ряде случаев на характер рН-функции сахаразы может влиять температура инкубационной среды.

Щелочная фосфатаза (фосфатаза моноэфиров ортофосфорной кислоты). В ряде исследований установлено, что слизистая кишечника рыб обладает щелочнофосфатазной активностью (Rode et al., 1964; Адуц, Саркисян, 1966; Кандюк, 1967а, 1967б; Noda, 1967а, 1967б; Utida, 1967; Utida, Isono, 1967; Уголев и др., 1968, 1976а, 1981; Берман, 1972; Егорова, 1972; Туляганова, 1972; Whitmore, Goldberg, 1972; Егорова и др., 1974; Goel, 1975; Evans, Ford, 1976; Salem, Jafri, 1976; Bose, Mishra, 1977; Jara et al., 1977; Morisava, Hirano, 1978; Chakravorty, Sinha, 1982; Srivastava, Pandey, 1982; Уголев и др., 1983; Гельман и др., 1989, и др.).

Оптимум рН фермента у рыб разных видов находится в районе 10,0. У планктофагов зона оптимальных значений несколько шире, чем у представителей других экологических групп. Активность щелочной фосфатазы в зоне физиологических значений рН зависит от температуры в большей степени, чем в зоне оптимальных значений (Кузьмина, 1984).

При изучении температурной зависимости щелочной фосфатазы у миног установлено, что температурный оптимум соответствует 40 °С, а ферментативный катализ одинаково эффективен и в зоне высоких, и в зоне низких температур — величина $E_{\text{акт}}$ соответствует 9,3 ккал/моль (Егорова, 1972; Туляганова, 1972). Температурный оптимум щелочной фосфатазы у 7 видов черноморских костистых рыб соответствует 35—40 °С (Кандюк, 1967а, 1967б). Молекулярная масса протеазной формы щелочной фосфатазы — 46 000, детергентной — 2—3 млн. Последние значения, по мнению авторов (Егорова и др., 1986), обусловлены агрегацией молекул фермента.

В ряде гистохимических работ при исследовании морских и пресноводных рыб, относящихся к разным таксономическим группам и различающихся по типу питания, показано, что щелочная фосфатаза локализуется в щеточной кайме эритроцитов (Zozzoli, 1947; Al-Hussaini, 1948; Prakash, 1960, 1961; Sivadas, Govindan, 1970; Western, 1971; Mester et al., 1972, 1977; Goel, Sastry, 1973; Dalela et al., 1976; Goel, 1977; Dutta, Dasgupta, 1982, и др.).

4.2. Соотношение отдельных механизмов гидролиза нутриентов

Поскольку процессы пищеварения у многих видов рыб реализуются в желудке, отметим, что в этом органе доминирует механизм полостного гидролиза пищевых субстратов, главным образом белковой природы, а также, как будет показано ниже, механизм индуцированного аутолиза. По всей вероятности, помимо этого в желудке могут всасываться некоторые компоненты пищи, поступающие в достаточной простейшей, преимущественно мономерной форме (см. Barrington, 1957).

Наибольший интерес в этом плане представляет кишечник, так как именно здесь реализуются все известные в настоящее время типы пищеварения. До последнего времени в физиолого-биохимических работах основное внимание уделялось соотношению двух механизмов деградации пищевых субстратов — полостного и мембранного. Так, при изучении мальтазной активности в кишечниках бычков-кругляков и радужной форели показано, что уровень ферментативной активности в гомогенатах слизистой много выше, чем в содержимом кишечника (Щербаков, 1969).

Аналогичная закономерность выявлена при исследовании распределения щелочной фосфатазы в кишечнике карпа (Берман, 1972). Как упоминалось выше, щелочная фосфатаза у рыб разных видов локализуется в щеточной кайме эритроцитов (Кароог et al., 1975; Кузьмина, 1978, и др.).

Фрагментарность вышеприведенных данных вызвала необходимость специального изучения локализации гидролаз у рыб разных видов на примере ферментов одной цепи (Кузьмина, 1984).

Данные, полученные при исследовании активности α -амилазы, функционирующей в кишечнике рыб, приведены на рис. 9, А, В. У рыб разных видов различаются уровень ферментативной активности и соотношение активности фермента, обеспечивающего процессы полостного и мембранного пищеварения. Нетрудно заметить, что у налима, щуки и судака уровень активности α -амилазы в слизистой несколько выше, чем в полости кишечника. У окуня, леща, синца, плотвы и карпа, напротив, активность полостного фермента выше, чем мембранного.

Соотношение активности α -амилазы в полости и в слизистой кишечника, видимо, достаточно хорошо отражает пищевую активность рыб, о чем свидетельствуют данные о сезонных изменениях отношения мембранных и полостных ферментов (М/П) (табл. 3). Увеличение абсолютных значений этого параметра совпадает с периодом ослабленного или выключенного экзогенного питания, уменьшение — с периодом активного питания (Кузьмина, 1980).

Более высокий уровень активности мальтазы, напротив, у всех исследованных видов рыб обнаружен в слизистой кишечника (рис. 9 Б, Г). Вычисление относительной активности фермента показало, что со слизистой кишечника связано от 75 (налим) до 89 % (лещ) активности мальтазы.

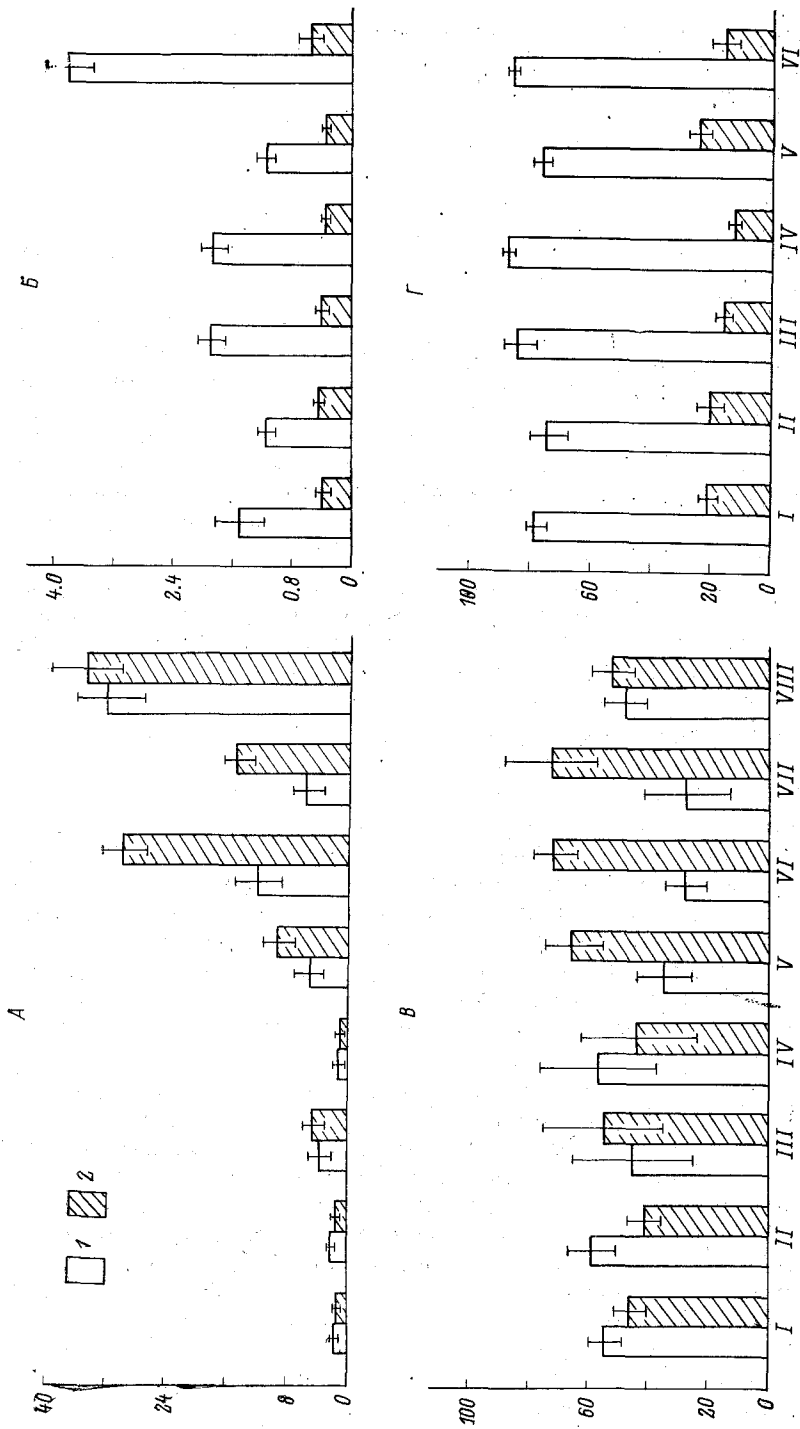


Рис. 9. Активность α -амилазы (А, В) и мальтазы (Б, Г) в полости и слизистой кишечника у рыб разных видов. А, В: I — налима; II — щука; III — окунь; IV — плотва; V — лещ; VI — синец; VII — карп; VIII — щука; I — налима; II — окунь; III — плотва; IV — лещ; V — карась; VI — карась; I — слизистая кишечника; 2 — полость кишечника. По оси ординат — активность α -амилазы, мг·л⁻¹·мин⁻¹, (А) и мальтазы, мкмоль·л⁻¹·мин⁻¹ (Б), относительная активность ферментов, % от суммарной активности (В и Г).

Таблица 3

Отношение мембранных (М) и полостных (П) ферментов для некоторых видов рыб в разные сезоны года (медиальный отдел кишечника)

Вид	Значения отношения М/П в разные сезоны года			
	зима	весна	лето	осень
Налим	2,65 ± 0,14 (5)	13,47 ± 6,32 (10)	1,42 ± 0,11 (21)	4,20 ± 1,53 (5)
Щука	3,51 ± 0,48 (8)	4,96 ± 1,05 (10)	1,19 ± 0,06 (12)	1,79 ± 0,32 (5)
Окунь	1,37 ± 0,46 (4)	8,00 ± 2,45 (10)	0,82 ± 0,17 (12)	1,02 ± 0,25 (4)
Лещ	2,64 ± 1,06 (5)	3,20 ± 0,57 (10)	0,53 ± 0,05 (15)	1,32 ± 0,23 (10)
Синец	—	2,10 ± 0,13 (10)	0,39 ± 0,03 (21)	—
Плотва	—	2,11 ± 0,22 (10)	0,38 ± 0,16 (12)	—
Карась	1,74 ± 0,17 (5)	1,64 ± 0,85 (10)	—	2,19 ± 0,40 (5)
Карп	1,30 ± 0,15 (6)	2,30 ± 0,57 (8)	0,92 ± 0,07 (15)	1,16 ± 0,20 (5)

Примечание. В скобках указано количество исследованных рыб. Прочерк означает отсутствие данных.

Активность сахаразы в полости рыб практически не встречается. У большинства видов она связана исключительно со слизистой кишечника. У бенто- и планктофагов в полости может быть обнаружено до 5 % суммарной активности сахаразы (Кузьмина, 1984). Активность щелочной фосфатазы также преимущественно (83—97 %) связана со слизистой кишечника рыб.

Соотношение активности эндо- и экзогидролаз в полости и слизистой кишечника рыб различно. Относительная активность эндогидролаз (α -амилаза) в полости выше, чем экзогидролаз (особенно сахаразы), что согласуется с данными, полученными при исследовании млекопитающих (Уголев, 1972). Вместе с тем установлено, что у рыб разных видов соотношение мембранных и полостных ферментов, гидролизующих один и тот же субстрат (крахмал, мальтоза или сахароза), также может быть различным. При этом существенную роль могут играть не только структурные особенности пищеварительного тракта у рыб разных видов и систематических групп, но и особенности пищевого поведения рыб, влияющие на его функциональное состояние (интенсивность синтеза, транслокации и деструкции соответствующих ферментов, изменение адсорбционных свойств щеточной каймы энтероцитов, различный уровень десквамации энтероцитов и т. д.). Однако эти различия не затуманивают общей для рыб и млекопитающих тенденции — относительно более высокой активности эндогидролаз

в полости, экзогидролаз в слизистой кишечника, свидетельствующей о том, что у рыб, как и у других позвоночных животных, существует последовательная деполимеризация пищевых субстратов, причем заключительные этапы этого процесса осуществляются преимущественно за счет механизма мембранного пищеварения.

Таким образом, соотношение активности ферментов в полости и слизистой кишечника в значительной мере зависит от его места в ферментативной цепи. Активность α -амилазы, осуществляющей начальные этапы гидролиза углеводов, как правило, выше в полости, чем в слизистой кишечника. Активность собственно кишечных ферментов связана преимущественно (сахаразы исключительно) со слизистой оболочкой кишечника рыб. При этом могут наблюдаться некоторые видовые и сезонные различия в соотношении активности различных гидролаз. Так, минимальные значения отношения мембранной и полостной α -амилазы у большинства видов рыб наблюдаются в летний период.

4.3. Локализация и прочность фиксации ферментов на структурах щеточной каймы энтероцитов

При исследовании млекопитающих установлена различная локализация гидролаз на структурах щеточной каймы энтероцитов, причем для адсорбированных ферментов предполагается наличие трех фракций — поверхностной, внутрислизистой и связанной с мембраной (Уголев, 1972).

Для уточнения локализации ферментов рыб на структурах слизистой оболочки возможно использование нескольких методических подходов. Так, о градиенте адсорбции ферментов можно судить по данным кинетики их десорбции с отрезков кишки рыб (Кузьмина, 1977). Оказалось, что время, требующееся для полной десорбции α -амилазы с отрезка кишки, у разных видов рыб при идентичных методических условиях различно. У типичных хищников (щука) фермент десорбируется со слизистой за 15—20 мин, у хищников — факультативных бентофагов (налим, окунь) — за 40 мин, у «мирных» рыб полная десорбция, как правило, требует 120—150 мин. Несмотря на различную активность фермента у рыб разных видов, прослеживается одна общая закономерность: фракция адсорбированной на поверхности кишки амилазы у «мирных» рыб по активности превышает фракцию смываемой амилазы и особенно фракцию гомогената (рис. 10). У хищных рыб, напротив, фракция гомогената по активности выше таковой десорбируемой амилазы. Вычисление отношения активности десорбируемой амилазы к недесорбируемой — фракции гомогената (Д/Г) показало, что для «мирных» рыб значения $Д/Г > 1$, для хищных — < 1 . Для налима отношение $Д/Г$ соответствует 0,4, щуки — 0,6, окуня — 0,3, в то время как для леща — 7,2, карпа — 9,5. Описанная закономерность характерна для всех отделов пищеварительного тракта исследованных рыб. Активность гомогенатов слизистой у налима во

всех отделах кишки одинакова и составляет 50 % от общей активности, у щуки и окуня — около 40 % (в дистальном отделе — 51—52 %), у «мирных» рыб — около 10 %.

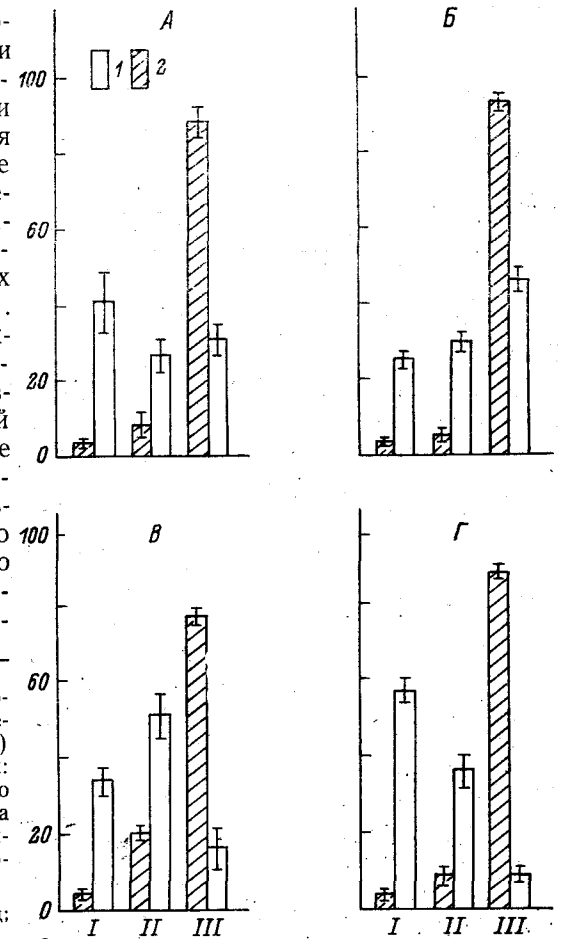
Выявленная закономерность, несмотря на сезонные различия в уровне ферментативной активности, прослеживается на протяжении всего годового цикла рыб. Однако у некоторых видов, в частности у окуня, на фоне одинакового уровня активности фермента наблюдаются различия в характере десорбционных характеристик α -амилазы (части особей присущи характеристики хищных рыб, части — «мирных»). Контрольные эксперименты показали, что наблюдаемые различия обусловлены разной кинетикой десорбции фермента, а не разной десквамацией энтероцитов. Действительно, основное количество клеточного материала, о котором судили по количеству нуклеиновых кис-

Рис. 10. Соотношение активности α -амилазы (I) и количества нуклеиновых кислот (2) в трех основных фракциях: смыва (I), десорбируемого фермента (II) и гомогената (III) в медиальном отделе кишечника рыб (% от суммарной активности).

А — окунь; Б — налим; В — лещ; Г — карп.

лот, содержится независимо от типа питания рыб в фракции гомогената (Кузьмина, 1977).

Кроме того, исследована кинетика десорбции собственно кишечных ферментов (Кузьмина, Куперман, 1984). Оказалось, что у типичных хищников (щука) большая часть ферментов, обеспечивающих гидролиз крахмала, десорбируется в течение первых 30 мин, в последующие 15 мин — лишь около 7 % ферментов, обуславливающих общую амилитическую активность отрезка. С фракцией гомогената остаются связанными лишь 35 % фермента-



тивной активности. Половина ферментов, обладающих щелочно-фосфатазной активностью, также десорбируется в течение 30 мин. Во фракции гомогената обнаружено 47 % щелочнофосфатазной активности. У налима ферменты, обеспечивающие гидролиз полисахаридов, десорбируются в течение 60 мин, однако основная часть (41 %) десорбируется в течение 45 мин. Щелочная фосфатаза десорбируется в течение 45 мин. При этом большая часть щелочнофосфатазной активности (64 %) связана с фракцией гомогената (табл. 4).

Таблица 4

Десорбционные характеристики собственно кишечных ферментов налима

Фракция	Активность ферментов		
	сахараза	общая амилолитическая активность	щелочная фосфатаза *
П	0	$0,05 \pm 0,01$	$68,1 \pm 13,2$
	0	$11,2 \pm 1,8$	$16,9 \pm 2,2$
Д ₁	0	$0,03 \pm 0,04$	$16,9 \pm 2,9$
	0	$7,8 \pm 1,8$	$4,3 \pm 0,3$
Д ₂	0	$0,06 \pm 0,02$	$29,6 \pm 9,2$
	0	$12,0 \pm 1,2$	$7,2 \pm 1,8$
Д ₃	0	$0,05 \pm 0,001$	$30,5 \pm 10,2$
	0	$10,2 \pm 1,4$	$7,4 \pm 2,0$
Д ₄	0	$0,02 \pm 0,004$	0
	0	$4,5 \pm 1,4$	0
Г	$0,07 \pm 0,01$	$0,26 \pm 0,07$	$248,7 \pm 4,3$
	100	$54,2 \pm 4,4$	$64,4 \pm 5,6$

Примечание. П — полостные ферменты; Д₁ — Д₄ — десорбируемые ферменты; Г — фракция гомогената. *Над чертой* — активность ферментов, мкмоль · г⁻¹ · мин⁻¹; *под чертой* — относительная активность, % от суммарной активности отрезка, принятой за 100 %.

* Активность фермента, мкмоль · г⁻¹ · мин⁻¹ · 10⁻³.

У леща ферменты, обеспечивающие гидролиз полисахаридов, десорбируются за 90 мин, причем около половины — в течение первых 15 мин (49,5 %). С фракцией гомогената связано около 20 % общей амилолитической активности отрезков кишки. Ферменты, обладающие щелочнофосфатазной активностью, десорбируются слабо — около 86 % активности связано с фракцией гомогената.

Сопоставление представленных данных свидетельствует о том, что собственно кишечные ферменты значительно более прочно

связаны со структурами щеточной каймы, чем α-амилаза. Действительно, во фракции гомогената обнаруживается до 86 % активности щелочной фосфатазы и 100 % активности сахаразы, в то время как относительная активность α-амилазы в этой фракции у рыб разных видов составляет лишь 10—50 % от общей активности отрезка кишки. Данные, касающиеся общей амилолитической активности, близки полученным для α-амилазы, что обусловлено важной ролью α-амилазы, в значительной мере определяющей скорость гидролиза углеводов.

Эту же закономерность подтверждают результаты определения активности некоторых гидролаз в слизистой и отделенном от нее апикальном гликокаликсе (табл. 5). При помощи метода «реплик» (Уголев и др., 1978), позволяющего отделять апикальный гликокаликс, было установлено, что уровень активности одноименных ферментов в гомогенате слизистой кишечника и реплике соответствующих отделов различен. Особенно характерно отсутствие сахаразной активности в реплике всех исследованных участков кишки. Этот факт хорошо согласуется с данными, полученными при исследовании млекопитающих и птиц о том, что сахараза, будучи прочно связанной с мембранами энтероцитов, не содержится в апикальном гликокаликсе. Активность щелочной фосфатазы связана преимущественно со слизистой — в реплике обнаруживается лишь 10—13 % активности этого фермента. Различия в уровне ферментативной активности указанных отделов кишечника статистически недостоверны. Уровень общей амилолитической активности также выше в слизистой кишечника. Однако в реплике относительное содержание ферментов, участвующих в гидролизе крахмала, приблизительно в 2 раза выше по сравнению с щелочной фосфатазой (около 20 %). Особого внимания заслуживает относительно более высокая по сравнению с вышшими позвоночными животными активность мальтазы в зоне апикального гликокаликса, а также значительно более низкая активность α-амилазы (порядка 30—40 %). В основе наблюдаемых различий может лежать более высокий, чем у высших позвоночных животных, уровень активности α-амилазы в латеральном гликокаликсе, а также меньшая активность различных олиго-, тетра- и трисахаридаз.

Правомочность первого предположения подтверждается данными о том, что у рыб тяжи панкреатической ткани на протяжении большей части кишечника могут глубоко проникать в ткани слизистой оболочки (Yamane, 1973a, 1973b).

Таким образом, у рыб, как и у высших позвоночных животных, прочность фиксации различных ферментов на структурах щеточной каймы энтероцитов различна. Наименее прочно с апикальной поверхностью энтероцитов связана α-амилаза, наиболее прочно сахараза. Вместе с тем, несмотря на значительную общность исследованных характеристик у рыб разных видов, отмечены некоторые видовые различия, обусловленные, по всей вероятности, особенностями их питания.

Распределение активности ферментов между энтероцитами и апикальным гликокаликсом в кишечнике леща
(по: Кузьмина, Смирнова, 1990)

Фермент	Проксимальный отдел		Медальный отдел		Дистальный отдел	
	слизистая	реплика	слизистая	реплика	слизистая	реплика
Сахараза	$\frac{0,19 \pm 0,13}{100}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0,28 \pm 0,13}{100}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0,44 \pm 0,19}{100}$	$\frac{0}{0}$
Мальтаза	$\frac{0,58 \pm 0,16}{68,7 \pm 6,0}$	$\frac{0,24 \pm 0,03}{31,3 \pm 6,1}$	$\frac{0,86 \pm 0,30}{64,0 \pm 17,9}$	$\frac{0,18 \pm 0,06}{35,9 \pm 17,9}$	$\frac{0,40 \pm 0,05}{62,0 \pm 9,6}$	$\frac{0,24 \pm 0,09}{37,9 \pm 9,5}$
α -Амилаза *	$\frac{1,18 \pm 0,20}{69,4 \pm 9,5}$	$\frac{0,39 \pm 0,07}{30,6 \pm 9,5}$	$\frac{1,13 \pm 0,36}{69,4 \pm 8,8}$	$\frac{0,59 \pm 0,06}{30,5 \pm 8,9}$	$\frac{0,83 \pm 0,21}{57,7 \pm 2,3}$	$\frac{0,50 \pm 0,18}{42,3 \pm 2,3}$
Общая амилалитическая активность	$\frac{1,17 \pm 0,23}{79,8 \pm 7,1}$	$\frac{0,24 \pm 0,05}{20,2 \pm 7,1}$	$\frac{0,98 \pm 0,22}{79,0 \pm 6,8}$	$\frac{0,26 \pm 0,10}{21,0 \pm 9,0}$	$\frac{0,71 \pm 0,18}{81,5 \pm 6,9}$	$\frac{0,17 \pm 0,08}{18,5 \pm 6,9}$
Щелочная фосфатаза	$\frac{0,24 \pm 0,03}{89,7 \pm 2,3}$	$\frac{0,03 \pm 0,01}{10,3 \pm 2,3}$	$\frac{0,27 \pm 0,06}{88,5 \pm 3,9}$	$\frac{0,03 \pm 0,02}{11,5 \pm 3,9}$	$\frac{0,07 \pm 0,03}{86,9 \pm 10,0}$	$\frac{0,02 \pm 0,01}{13,1 \pm 10,0}$

Примечание. Над чертой — абсолютные значения активности, мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹; под чертой — % от суммарной активности ферментов в слизистой и реплике.

* Активность фермента, мг·г⁻¹·мин⁻¹.

4.4. Роль микрофлоры в гидролизе и трансформации пищевых субстратов

В последние годы усилился интерес к микрофлоре пищеварительного тракта рыб (Yoshimizu et al., 1976; Lésel, Péringer, 1981; Sugita et al., 1981; Kamei et al., 1985; Lindsay, Gooday, 1985; Kono et al., 1987; Rimmer, Wiebe, 1987; Лубянскене и др., 1989, и мн. др.). Благодаря этим исследованиям утвердилось представление о том, что микрофлора кишечника необходима для нормального роста и развития рыб. Причем взаимоотношения макро- и микроорганизмов кишечника рассматриваются с позиций облигатного симбиоза. В обстоятельной монографии В. Н. Лубянскене с соавторами (Лубянскене и др., 1989) анализируется поступление микроорганизмов в кишечник рыб, роль микрофлоры, как поставщика ферментов, а также в трансформации органических веществ первичной пищи в белки и другие компоненты их собственного организма. Ниже приведены наиболее важные результаты этой работы.

Общее количество бактерий в пищеварительном тракте находится в прямой зависимости от интенсивности питания рыб. Наибольшее их количество установлено в июле—августе, когда наблюдается и самое интенсивное питание рыб. Значительное влияние на микрофлору оказывает состав пищи. Так, наибольшее число бактерий в 1 г содержимого кишечника ($1,29 \cdot 10^{12}$ кл.) отмечено в период интенсивного питания в пищеварительном тракте линей, выросших на естественной пище, значительно меньше их в кишечниках белого амура и линя, выращенных на комбикорме.

На примере карпа установлено, что с возрастом число бактерий в пищеварительном тракте рыб увеличивается.

При исследовании различных видов рыб (карп, белый амур, линь, карась) установлено, что выделенные из пищеварительного тракта бактерии принадлежат к родам *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Bacterium*, *Pseudobacterium*, *Azotobacter*, *Sarcina*, среди которых явно доминируют представители рода *Pseudomonas*. При этом известно, что различные виды бактерий, принадлежащих к роду *Pseudomonas*, характеризуются высокой протеолитической активностью, в том числе активностью внеклеточных и внутриклеточных гидролаз. Есть сведения о нейтральной и щелочной протеиназах, а также эластазе.

При изучении секреции свободных аминокислот микрофлорой (в основном рода *Pseudomonas*) в кишечнике рыб (карп, белый амур и линь) установлено, что она способна синтезировать до 13 свободных аминокислот: лизин, аргинин, гистидин, аспарагиновую кислоту, треонин, аланин, метионин, валин, фенилаланин, лейцин, серин и глютаминовую кислоту. Продукция свободных аминокислот кишечными микроорганизмами изменяется в зависимости от возраста рыб: наибольшая у сеголеток, меньшая — у двухлеток, минимальная — у трехлеток. Количество общих свободных аминокислот и отдельных аминокислот в обменном фонде клетки меняется в течение ее развития. При различных условиях

питания и при голодании рыб кишечные микроорганизмы секретируют до 17 свободных аминокислот (кроме указанных выше цистеин, аспарагин, тирозин и триптофан). Кроме того, установлена важная роль микрофлоры в фиксации молекулярного азота. В условиях интенсивного питания рыб самая высокая нитрогеназная активность во всем пищеварительном тракте установлена у толстолобика — до 3,648 нмоль C_2H_4 /(мг белка · ч).

У карпа, леща и плотвы при интенсивном питании в природных условиях в пищеварительном тракте азотфиксация происходит слабее, чем у растительноядного толстолобика, но сильнее чем у хищника щуки.

Велика роль бактерий и в продуцировании витаминов. Так, до 50 % потребляемых рыбами витаминов продуцируется микрофлорой их пищеварительного тракта. Кроме того, существенна роль бактерий в синтезе антибиотических веществ, подавляющих рост патогенной микрофлоры (Лубянскене и др., 1989).

Вышеприведенные данные свидетельствуют о том, что у рыб, как и у других животных, микрофлора пищеварительного тракта играет исключительно важную роль в деполимеризации и трансформации первичной пищи. Это обстоятельство дает основание считать, что у рыб существует вторичный поток нутриентов. Последнее имеет большое значение для анализа механизмов пищеварения и эффективности питания рыб из естественных ихтиоценозов, а также для контроля и коррекции питания прудовых популяций рыб.

4.5. Роль механизма индуцированного аутолиза в процессах пищеварения

Возможность участия индуцированного аутолиза в процессах пищеварения у рыб была продемонстрирована лишь недавно (Уголев, Кузьмина, 1988; Кузьмина, 1990а, 1990б). Однако вопрос о вовлечении в процессы пищеварения экзоферментов жертвы, в частности протеиназ кормовых объектов рыб, находящихся на ранних этапах онтогенеза, широко дискутировался до последнего времени (Dabrowski, Glogowski, 1977а, 1977b; Lauff, Hofer, 1984; Ильина и др., 1986). На основании детального анализа различных протеиназ зоопланктона и кишечника молоди карпа И. Д. Ильина (1986) сделала вывод о том, что в планктоне ферментов, ингибируемых природным ингибитором, нет, а экзогенный трипсин, выявленный в кишечнике личинок карповых и сиговых рыб с применением синтетических субстратов (Lauff, Hofer, 1984), по всей вероятности, не аналогичен трипсину позвоночных животных и представляет собой другой тип протеиназ. Действительно, по данным И. Д. Ильиной (1986), лишь одна из шести фракций щелочных протеиназ планктона по электрофоретической подвижности соответствует фракциям протеаз кишечника личинок карпа.

Вместе с тем спектр питания большинства видов рыб исключительно широк, а в процессы пищеварения могут включаться не

только щелочные протеиназы, но и другие гидролазы. Так, при исследовании неоплодотворенной икры осетровых рыб установлено наличие значительной активности кислых протеиназ с оптимумом в зоне рН 2—3,5. При значениях рН 6—6,8, характерных для свежей икры, уровень активности протеолитических ферментов приблизительно в 2 раза ниже. Ингибиторный анализ показал, что протеолитическая активность в икре осетровых рыб в основном связана с присутствием протеиназ типа катепсина Д: активность фермента снижал лишь пепстатин, являющийся специфическим ингибитором карбоксильных протеиназ (Копыленко и др., 1984). В отличие от осетровых, в икре сигов и форели помимо катепсина Д обнаружен катепсин В, который является тиоловой протеиназой. Активности катепсинов В и Д на разных этапах эмбриогенеза рыб различны, что связано с их участием в различных метаболических процессах (Немова, Зекина, 1981а; 1981б; Немова и др., 1983; Немова, Сидоров, 1984).

Вместе с катепсинами в оплодотворенной икре хрящевых ганоидов (белуга, осетр, севрюга) на 30—35-й стадиях развития обнаружена активность пепсина, трипсина и химотрипсина. Причем наибольшая активность пепсина выявлена у эмбрионов осетра, наименьшая — у белуги. Максимальная активность трипсина установлена в икре белуги, меньшая — у осетра, минимальная — у севрюги (Плотников, Проскураков, 1984). Значительная активность кислых протеиназ выявлена также у трески, семги и вьюна (Нейфах, Давыдов, 1964; Тимейко, 1979, 1982).

Кроме того, есть сведения о наличии в оплодотворенной икре активности ДНКазы и РНКазы, уровень которых значительно изменяется во времени. Так, активность РНКазы от стадии гастрюлы до стадии подвижного эмбриона возрастает до 0,95 у. е., затем изменяется скачкообразно. ДНКазы в период от стадии гастрюлы до стадии начала кровообращения практически не функционируют, к стадии подвижного эмбриона активность возрастает до 0,6 у. е., после чего изменяется скачкообразно (Высоцкая и др., 1981). Активность кислой фосфатазы после оплодотворения икры также увеличивается.

В работах, выполненных на личинках рыб разных таксономических групп (хрящевые ганоиды и костистые рыбы), было показано, что активность гидролаз, способных расщеплять пищевые субстраты, регистрируется сразу после выклева, хотя уровень ферментов ниже, чем в икре.

Так, у осетровых активность пепсина и трипсина выявляется начиная с 2—5 суток после вылупления (Коржуев, Шаркова, 1967; Плотников, Проскураков, 1984). Характер возрастной динамики этих ферментов различен. Например, для пепсина характерно последовательное увеличение активности, для трипсина — скачкообразное (на 5-е сутки после вылупления). Кроме того, установлены видовые различия в уровне активности ферментов. У севрюги активность пепсина выше, чем у осетра и белуги, а активность трипсина у белуги выше, чем у осетра и севрюги. Актив-

ность химотрипсина у белуги и севрюги изменяется слабо, причем уровень активности фермента у первого вида приблизительно в 5—6 раз выше, чем у второго (Плотников, Проскуряков, 1984).

Сходные изменения активности пищеварительных гидролаз отмечены в раннем постэмбриогенезе карпа. Сочетание различных методических подходов (определение активности различных ферментов, ингибиторный анализ и электрофорез) позволило установить, что на этапах А и В доминирует лейцинаминопептидаза, являющаяся собственно кишечным ферментом. На этапе А активность трипсино- и химотрипсиноподобных ферментов равна нулю. Лишь на этапе С₁ наблюдается резкое увеличение активности трипсиноподобных ферментов. Активность химотрипсиноподобных ферментов проявляется только с этапа D₁ и изменяется далее скачкообразно (Ильина, 1986). Повышение активности протеаз на этапах С₁—D₁ автор объясняет активацией деятельности панкреаса (Остроумова, Дементьева, 1981).

При исследовании предличинок и личинок сига и форели, как и в работах, выполненных на хрящевых ганоидах и карпе, установлены значительные скачкообразные колебания активности кислотных и щелочных протеиназ на протяжении 66—67 сут, что характерно как для сытых, так и для голодающих особей (Dabrowski, 1982).

Кроме того, есть сведения о наличии во всех исследованных органах рыб лизосомальных ферментов, способных расщеплять практически все классы соединений. В частности, при изучении лизосом в различных органах форели, карпа и семги выявлены активности кислотной фосфатазы, β-глюкозидазы, РНКазы, и катепсина D. При этом уровень активности одноименных ферментов в различных органах различен. Так, активность ДНКазы максимальна в почках, β-глюкозидазы — в печени и почках; в мышцах активность названных ферментов минимальна (Высоцкая и др., 1977, 1981, и др.). Уровень и соотношение активности гидролаз в разных органах рыб в значительной мере зависит от функционального состояния организма, в частности сытости и голода (Крупнова, 1986; Высоцкая, Крупнова, 1987). Определены молекулярные массы некоторых кислотных гидролаз из тканей рыб. Так, молекулярная масса катепсина В из мышц кефали соответствует 25 000, катепсина D — 35 000 (Bonete et al., 1984).

Сопоставление имеющихся данных позволяет считать, что в организме рыб существуют несколько очагов протеаз, способных инициировать процессы индуцированного аутолиза (пищеварительный тракт, печень, селезенка, почки). Несмотря на то что активность лизосомальных ферментов в расчете на единицу массы мышц низка, тотальная активность этих тканей может быть значительной.

Уровень и соотношение активности кислотных и щелочных протеиназ у разных видов беспозвоночных животных различны (Dabrowski, Glogowski, 1977a, 1977b). Так, у олигохет (*Tubifex* sp.) ак-

тивность щелочных протеиназ в 4 раза выше, чем кислотных, у *Artemia salina*, напротив, активность кислотных протеиназ почти в 2 раза выше, чем щелочных. Особо следует отметить высокую активность тех и других у циклопа (*Cyclops sternuus*), поденок (отряд Ephemeroptera) и ручейника (*Limnophilus flavicornus*). Электрофоретический анализ протеаз кормовых объектов (зоопланктон, включающий босмин, коловраток, наупилиусов, циклопов и артемию) позволил выявить шесть фракций, которые по электрофоретической подвижности значительно отличаются от таковой протеаз личинок карпа, что может свидетельствовать о разнотипной структуре протеаз зоопланктона и рыб (Ильина, 1986).

При исследовании активности лизосомальных ферментов у некоторых беспозвоночных, в частности у *Artemia salina*, выявлена значительная активность кислотной фосфатазы, β-глюкозидазы, а также ДНКазы и РНКазы (Высоцкая, Лялькин, 1983).

Как и у рыб, у беспозвоночных животных наблюдаются сезонные изменения в активности лизосомальных гидролаз. Так, у личинок слепней сем. Tabanidae наименьшая активность кислотной фосфатазы, кислотной ДНКазы и кислотной РНКазы наблюдается летом, наибольшая — в период выключенного экзогенного питания (Высоцкая, Сорокина, 1978).

Кроме того, в цикле исследований, проведенных под руководством В. С. Сидорова, установлено влияние на активность и соотношение различных лизосомальных гидролаз ряда токсикантов. Так, для осетров с мышечной патологией отмечено увеличение в 2—3 раза активности β-глюкозидазы, а также активности кислотной и щелочной фосфатазы на ранних стадиях процесса и уменьшение активности лизосомальных ферментов у рыб с выраженной патологией (Высоцкая и др., 1990). Особого внимания для анализа механизма индуцированного аутолиза заслуживают сведения о наличии в различных тканях рыб Ca²⁺-активируемых нейтральных протеиназ (кальпаинов). Есть сведения об активности кальпаина I и II в икре лосося (Немова и др., 1990a), в различных органах и тканях рыб (Makinodan et al., 1984; Немова и др., 1990b, и др.). Интересно, что при экспозиции протеиназ в течение 3 сут активность кислотных (рН 3,2) и щелочных (рН 8,0) протеиназ не изменяется, в то время как нейтральной (рН 7,0) увеличивается почти в 2 раза (Makinodan et al., 1984). Было высказано предположение, что процесс развивается по схеме: Ca²⁺ → активация кальпаинов → активация лизосомальных протеиназ (Немова и др., 1990a).

Таким образом, имеющиеся в литературе данные позволяют считать, что входящие в состав кормовой базы рыб животные и другие объекты питания располагают гидролазами, которые могут вносить определенный вклад в процессы деполимеризации пищи. Вместе с тем в настоящее время отсутствует единая точка зрения на роль экзоферментов в системе гидролитических процессов, происходящих в кишечнике рыб.

Как указывалось в главе 2, согласно современной парадигме питания, процессы пищеварения у животных, находящихся на раз-

ных этапах филогенетического развития, обеспечиваются не только ферментативным аппаратом консументов и микрофлоры, населяющей их пищеварительный тракт, но также многочисленными гидролазами жертвы, которые в условиях анокии и низких значений рН вовлекаются в процессы индуцированного аутолиза. Особая роль в этих процессах принадлежит лизосомам, имеющим практически универсальный спектр ферментов, оптимум рН которых находится в пределах 3,0—5,5 (Уголев, 1985).

Механизм индуцированного аутолиза, обеспечивающий наряду с ферментами организма-ассимилятора начальные ста-

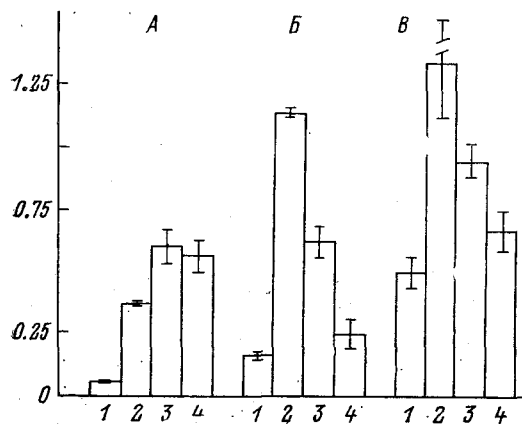


Рис. 11. Общая протеолитическая активность тканей карпа при их экспозиции в условиях низких значений рН.

А — мышцы; Б — печень; В — кишечник; 1 — 0 ч, 2 — 24 ч, 3 — 48 ч, 4 — 72 ч; по оси абсцисс — время экспозиции, ч; по оси ординат — общая протеолитическая активность, $10^3 \text{ моль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$.

дии пищеварения, должен иметь особенно большое значение для естественных популяций рыб (Уголев, Кузьмина, 1988). Нами в экспериментах, проводимых при стандартной температуре 20 °С, было установлено, что при длительной экспозиции разрушенных объектов питания рыб, относящихся к типам Artropoda, Annelida, Mollusca и Vertebrata, в кислой среде при отсутствии экзогенных субстратов активность ферментов значительно увеличивается. Наибольший эффект наблюдался в зоне рН 3,0—5,0. В этих условиях у беспозвоночных животных максимальное увеличение активности ферментов наблюдалось через 24 ч после начала экспозиции. При этом активность карбогидраз увеличивается приблизительно в 2 раза, активность протеаз — до 10—20 раз по сравнению с исходной. Динамика ферментативной активности у гидробионтов, относящихся к разным таксономическим группам, может быть различной. При экспозиции в кислой среде тканей рыб максимум активности гидролаз может наблюдаться через 48—120 ч после начала эксперимента (рис. 11). Повышение активности ферментов сопровождается увеличением концентрации продуктов реакции (гексозы, аминокислоты или аминный азот). Было высказано предположение о том, что выявленные изменения в значительной мере обусловлены лизосомальными ферментами, вовлекаемыми под влиянием ионов H^+ в процессы индуцированного аутолиза.

Сопоставление активности ферментов жертвы без учета и с учетом процессов индуцированного аутолиза с активностью одноименных полостных и мембранных ферментов у рыб разных видов свидетельствует о том, что их активность сопоставима с активностью

гидролаз, обеспечивающих процессы мембранного пищеварения, и в зависимости от спектра питания рыб составляет $1/6$ — $1/2$ активности полостных ферментов (Кузьмина, 1990б). Эти данные свидетельствуют о том, что вклад различных ферментов жертвы в процессы, обеспечивающие ее деструктурирование, различен и в значительной мере зависит от рН гастроэнтеральной среды, времени и других факторов. При этом существенна роль механизма индуцированного аутолиза, особенно в процессах гидролиза субстратов белковой природы.

4.6. Заключительные замечания

Итак, несмотря на фрагментарность некоторых данных, в настоящее время не вызывает сомнений тот факт, что рыбы располагают всеми известными в настоящее время механизмами деполимеризации пищевых субстратов. При этом соотношение отдельных механизмов пищеварения в ряде случаев близко таковому высших позвоночных животных, в ряде — несколько отличается. Так, начальные этапы деполимеризации пищевых субстратов у рыб, как и у млекопитающих, реализуются преимущественно за счет полостного пищеварения, промежуточные и заключительные — за счет мембранного пищеварения (Кузьмина, 1986). В то же время у рыб большую роль, чем у высших позвоночных, играет внутриклеточное пищеварение (Кароог et al., 1975). Существуют различия в соотношении механизмов транспорта нутриентов. Если у высших позвоночных животных доминирует механизм активного транспорта, то у рыб велика роль облегченной диффузии (Уголев и др., 1989, 1990).

Наконец, у рыб развиты механизмы пищеварения, реализуемые при участии ферментов микрофлоры, протозоа и самих объектов питания. Имеющиеся данные позволяют уточнить схему деполимеризации пищевых субстратов у рыб. При этом механизм индуцированного аутолиза и симбионтное пищеварение наряду с полостным гидролизом пищи оказываются донорными по отношению к мембранному и внутриклеточному пищеварению. У рыб, так же как и у высших позвоночных, помимо основного потока нутриентов за счет симбионтов возникают дополнительные потоки нутриентов, а также потоки различных биологически активных веществ. Так, есть сведения о продуцировании слизистой кишечника рыб бомбезина и вазоактивного интестинального полипептида (Bjerring, Holmgren, 1988), о холецистокиноподобной и секретиноподобной (Nilsson, 1973), а также гастриноподобной (Vigna, 1979) активностях, известно о продуцировании гистамина (Ovais, Gupta, 1973, 1975).

Изучение взаимоотношений ферментных систем трофических партнеров из разных биогеоценозов является задачей будущего, однако уже сейчас ясно, что в процессе эволюции на основе единых механизмов экзотрофии сформировались биоценозы, достаточно хорошо адаптированные к условиям жизнедеятельности и питания.

ВЛИЯНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ БИОЛОГИИ РЫБ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ ПИЩЕВАРЕНИЯ

Вопросы, касающиеся влияния особенностей биологии рыб на интенсивность процессов пищеварения, и в частности на активность пищеварительных гидролаз, исследованы наиболее подробно (Пегель, 1950; Пучков, 1954; Barrington, 1957; Строганов, 1962; Phillips, 1969; Love, 1970; Kapoor et al., 1975; Кузьмина, 1978; Fange, Grove, 1979; Сорвачев, 1982, и др.). При этом основное внимание уделялось изучению ферментативного спектра и соотношению активности разноименных ферментов у рыб, различающихся по характеру питания, изменению активности различных гидролаз на разных этапах онтогенеза рыб, а также влиянию сезонных ритмов на уровень ферментативной активности. В последнее время в связи с проблемой искусственного рыборазведения интенсивно исследуется влияние состава кормов на активность пищеварительных гидролаз (Трофимова и др., 1975; Щербина, 1979, 1980; Plantikow, 1982, и мн. др.).

5.1. Влияние характера питания рыб на активность пищеварительных гидролаз

Первые данные по этому вопросу приведены в работах Кенион (Kenyon, 1925) и Фонка (Vonk, 1937), показавших, что амилолитическая активность слизистой кишечника у всеядного карпа значительно выше, чем у щуки. Близкие данные получены при исследовании сахаразы. У карпа и ушастого окуня, потребляющих значительное количество растительной пищи, активность фермента также выше, чем у хищной щуки (Kenyon, 1925). Поскольку углеводов в пище первых 2 видов значительно больше, чем в пище щуки, большая активность карбогидраз в их кишечнике оценивалась, как адаптация к диете. Согласно определениям Фонка (Vonk, 1937), амилолитическая активность гепатопанкреаса карпа в 1000 раз выше, чем у акулы и щуки, в то время как активность протеаз у хищных рыб лишь в 8 раз превышает таковую у карпа. Позднее эта закономерность была подтверждена при исследовании активности пищеварительных гидролаз у ряда видов рыб (Турпаев, 1941; Пегель, 1950; Кандюк, 1967а, 1967б; Пегель, Реморов, 1967; Пегель и др., 1968, 1971; Al-Hussaini, 1949b; Fish,

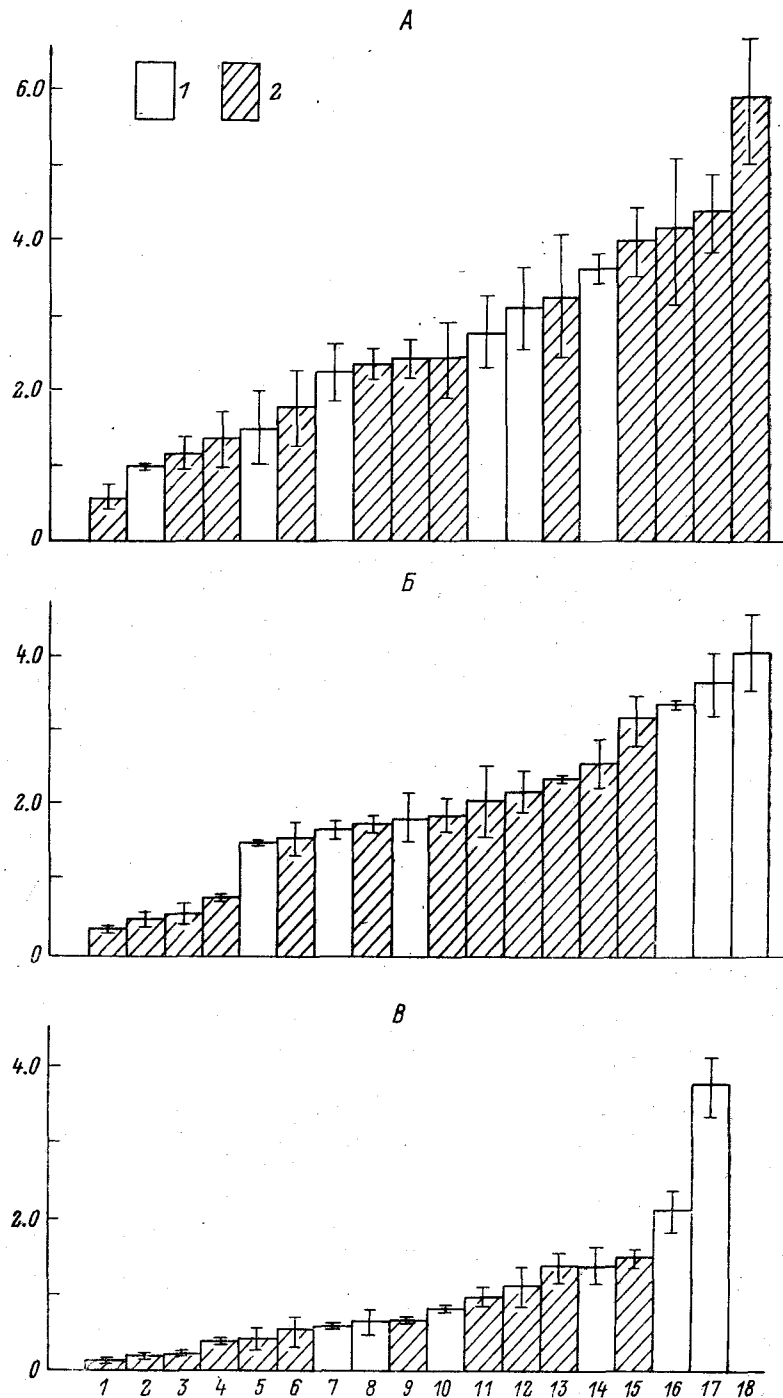
1960; Gohar, Latif, 1961a—1961c; Kitamicado, Tachino, 1961; Ushiyama et al., 1965; Nagayama, Saito, 1969; Hofer, 1979, и др.). Интересные расчеты приведены в работе Ушияма и соавторов (Ushiyama et al., 1965), показавших, что амилолитическая активность пилорических придатков форели соответствует $1/29,5$ активности пилорических придатков трески, $1/95$ активности кишечника камбалы и $1/411$ активности кишечника карпа. Эти данные свидетельствуют о том, что амилолитическая активность пищеварительного тракта рыб уменьшается по мере увеличения белковых и уменьшения углеводных компонентов пищи.

Эти факты, а также отсутствие корреляции между составом пищи и уровнем активности некоторых ферментов позволили Баррингтону (Barrington, 1957) признать существование определенной связи между ферментативным спектром и обычной диетой у рыб разных видов, которая характерна для Metazoa в целом, и усомниться в возможности выраженной адаптированности ферментативного спектра отдельных индивидов в ответ на изменение диеты. Позднее было установлено, что активность пищеварительных гидролаз, преимущественно карбогидраз, у рыб одного и того же вида также может быть адаптирована к диете (Nagase, 1964; Кузьмина, 1966; Nagayama, Saito, 1969; Reimer, 1982, и др.). Сведения об адаптации к диете щелочной фосфатазы отсутствуют, однако в работе Р. П. Кандюк (1967а, 1967б) есть ссылка на то, что активность этого фермента в кишечнике планктофага шпрота, питающегося «жирными» каланусами и псевдокаланусами, выше, чем у хищных и бентосоядных рыб.

К сожалению, из-за отсутствия до 1961 г. унифицированного способа расчета ферментативной активности результаты многих ранее выполненных исследований оказываются трудно сопоставимыми (Кузьмина, 1978). В связи с этим нами будут анализироваться данные, полученные для рыб разных видов одними и теми же методами и, по возможности, одновременно.

5.1.1. Протеазы

При исследовании пластиножаберных рыб значительные видовые различия в уровне активности протеаз в большинстве случаев не установлены (Кузьмина, 1990г). Уровень общей протеолитической активности слизистой желудка по гемоглобину (рН 2,2) колеблется от 5,0 (катран) до 7,7 мкмоль · г⁻¹ · мин⁻¹ (шиповатый скат). При рН 4 (субстрат гемоглобин) видовые различия в уровне общей протеолитической активности у пластиножаберных рыб отсутствуют, при рН 7,4 (субстрат казеин) активность протеиназ у морского кота значительно выше, чем у других 2 видов. Близкое этому соотношение активности отмечено для дипептидаз. Наиболее высокие значения общей протеолитической активности у всех видов соответствуют активности пепсина, а активность дипептидаз близка таковой кишечника. Активность кишечных протеиназ у элазобранхий варьирует еще в меньшей степени. Отсутствие



значительных различий в уровне активности исследованных ферментов, видимо, обусловлено определенным сходством спектра питания рыб.

У морских костистых рыб диапазон видовых различий активности кишечных протеиназ значительно шире (рис. 12). Действительно, минимальный уровень активности, обнаруженный у камбалы ($0,5 \text{ мкмоль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$), в 9 раз ниже максимального уровня общей протеолитической активности у ставриды ($4,5 \text{ мкмоль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$). При этом у большинства исследованных видов рыб значения соответствуют 2—4 $\text{мкмоль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ (султанка, мерланг, горбыль, смарида, кефаль, ласкирь, налим, зеленушка, луфарь), у камбалы, окуня и бычка-ротана — меньше 2 $\text{мкмоль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$, у скорпены, ставриды, бычка-мартовика — больше 4 $\text{мкмоль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$.

Близость значений протеиназ в слизистой кишечника у исследованных рыб, по всей вероятности, также объясняется сходством спектра питания многих видов. Действительно, исследованные виды по типу питания относятся к четырем основным экологическим группам: хищники-факультативные бентофаги (налим, мерланг, каменный окунь, луфарь, бычок-мартовик, скорпена), хищники-факультативные планктофаги (ставрида), бентофаги-факультативные хищники (темный горбыль, смарида, камбала-глосса) и бентофаги (сингиль, султанка, зеленушка, бычок-ротан, бычок-кругляк, ласкирь). У рыб, входящих в первые две группы, в пищу доминируют рыбы разных видов. Представители первой группы помимо рыб в качестве объектов питания используют полихет, второй — креветок, мизид, амфипод и изопод, третьей — икру мелких крабов и других ракообразных, креветок, полихет, личинок хирономид, моллюсков и водоросли. При этом состав и соотношение различных групп беспозвоночных животных у рыб разных видов различен. Предпочитаемые объекты питания у бентофагов также значительно варьируют: сингиль — детритофаг; зеленушка — преимущественно моллюскоед (реже питается ракообразными и полихетами); султанка предпочитает гаммарусов, крабов и полихет; ласкирь — гидроидов, губок, полихет, гаммарид, креветок и диатомовые водоросли. Спектры питания бычка-ротана и бычка-кругляка близки — ракообразные, моллюски, черви (Световидов, 1964).

Рис. 12. Ферментативная активность слизистой кишечника у некоторых видов рыб Черного моря, $\mu\text{моль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$.

А) общая протеолитическая активность: 1 — камбала-глосса, 2 — окунь каменный, 3 — морской кот, 4 — шиповатый скат, 5 — бычок-ротан, 6 — катран, 7 — султанка, 8 — мерланг, 9 — горбыль, 10 — смарида, 11 — сингиль, 12 — ласкирь, 13 — морской налим, 14 — зеленушка, 15 — луфарь, 16 — скорпена, 17 — ставрида, 18 — бычок-мартовик; Б) общая амилотическая активность: 1 — катран, 2 — шиповатый скат, 3 — морской кот, 4 — морской налим, 5 — мерланг, 6 — сингиль, 7 — окунь каменный, 8 — луфарь, 9 — ставрида, 10 — горбыль, 11 — ласкирь, 12 — смарида, 13 — султанка, 14 — зеленушка, 15 — бычок-мартовик, 16 — бычок-ротан, 17 — скорпена, 18 — камбала-глосса; В) активность сахаразы: 1 — катран, 2 — мерланг, 3 — морской налим, 4 — скорпена, 5 — шиповатый скат, 6 — камбала-глосса, 7 — зеленушка, 8 — султанка, 9 — луфарь, 10 — окунь каменный, 11 — смарида, 12 — бычок-мартовик, 13 — ставрида, 14 — сингиль, 15 — горбыль, 16 — бычок-ротан, 17 — ласкирь; 1 — бентофаги, 2 — типичные хищники и хищники-факультативные планкто и бентофаги.

Уровень активности желудочных протеиназ, определяемых в один и тот же период годового цикла, у пресноводных костистых рыб из водоемов Волжского бассейна достаточно близок (Кузьмина, Кузьмина, 1990). Более того, не обнаружено значительных различий активности при исследовании естественных субстратов. Так, при рН 3 уровень общей протеолитической активности по гемоглобину зимой у щуки соответствует 6,6, у налима — 5,9 мкмоль · г⁻¹ · мин⁻¹, по казеину соответственно — 5,4 и 3,2 мкмоль · г⁻¹ · мин⁻¹, при использовании высушенных мышц рыб — 2,3 и 2,1 мкмоль · г⁻¹ · мин⁻¹ соответственно. Уровень активности желудочных протеиназ у рыб разных видов летом несколько выше (табл. 6).

Таблица 6

Общая протеолитическая активность слизистой оболочки пищеварительного тракта у некоторых видов рыб, мкмоль · г⁻¹ · мин⁻¹

Вид	Активность протеиназ	
	желудок *	кишечник **
Стерлядь	8,9±1,8 (5)	5,3±1,2 (5)
Налим	13,7±2,7 (5)	4,8±0,9 (5)
Жерех	—	4,9±0,6 (5)
Сом	15,1±2,3 (5)	3,7±0,5 (4)
Судак	10,4±0,2 (18)	2,2±0,3 (10)
Лещ	—	2,9±0,5 (14)

* Субстрат гемоглобин, рН 4,0.

** Субстрат казеин, рН 7,4. В скобках указано количество исследованных рыб.

У стерляди активность по гемоглобину близка таковой судака, у налима и особенно сома — несколько выше. При этом у рыб одного вида, населяющих водохранилища Средней и Верхней Волги, различия отсутствуют. В частности, у судака Рыбинского водохранилища активность желудочных протеаз соответствует 10,3±0,4 мкмоль · г⁻¹ · мин⁻¹, у судака Куйбышевского водохранилища — 10,5±0,2 мкмоль · г⁻¹ · мин⁻¹.

У этих же рыб при использовании в качестве субстрата мышц леща активность ферментов значительно ниже: у судака — 2,2±0,4, у сома и налима — 0,8—0,9 мкмоль · г⁻¹ · мин⁻¹.

Активность кишечных протеиназ (преимущественно трипсина) по казеину — в 2—5 раз ниже, чем активность желудочных протеаз по гемоглобину. При этом также в большинстве случаев существенные видовые различия в уровне ферментативной активности отсутствуют. В то же время активность протеиназ у представителей одной экологической группы может быть достаточно близкой (хищники-факультативные бентофаги) в случае, если спектр питания близок, или достоверно различающейся (типичные бентофаги лещ и карп), если корм различен. В частности, у леща,

в спектре питания которого преобладают личинки хирономид, олигохеты и мелкие моллюски, активность кишечных протеиназ достоверно выше, чем у карпа, получающего в качестве подкормки комбикорм (Кузьмина, Кузьмина, 1990).

Различия в уровне активности одноименных гидролаз у рыб разных экологических групп, как правило, уменьшаются в ряду: ферменты, осуществляющие начальные этапы гидролиза, → ферменты, обеспечивающие промежуточные этапы гидролиза, → ферменты, обеспечивающие заключительные этапы гидролиза нутриентов (табл. 7). Активность фермента, расщепляющего тетраглицин, в медиальном отделе кишечника у щуки примерно в 2,5 раза выше, чем у леща, активность трипептидазы — в 3 раза выше, тогда как дипептидазная активность у щуки и леща почти одинакова. Это в равной мере относится к уровню транспорта глицина у указанных видов рыб. Лейцин практически не влияет на интенсивность транспорта глицина. У обоих видов рыб транспорт глицина, образующегося при гидролизе дипептидов, ниже по сравнению с транспортом свободного глицина. Особо следует отметить исключительно высокий уровень гидролиза глицил-L-валина у леща (Уголев и др., 1989).

Таким образом, при исследовании желудочных и кишечных протеаз у рыб разных таксономических групп обнаруживаются определенные межвидовые различия, которые в ряде случаев мо-

Таблица 7

Уровень активности олиго-, дипептидаз и аккумуляции глицина в кишечнике рыб, мкмоль · г⁻¹ · мин⁻¹ (по: Уголев и др., 1989)

Субстрат	Участок кишки				
	1	2	3	4	5
Лещ					
Триглицил-глицин	2,3±0,3	2,1±0,6	1,9±0,3	1,6±0,3	1,1±0,1
Диглицил-глицин	3,9±1,2	3,8±0,7	3,3±0,4	2,7±0,3	1,3±0,2
Глицилглицин	11,3±1,9	8,6±1,7	6,8±0,8	8,1±1,2	6,6±0,5
Глицил-L-валин	280,0±47,5	280,0±32,5	200,0±25,0	212,5±40,0	178,8±27,5
Глицин *	8,8±1,3	11,7±1,1	13,2±2,0	17,3±1,4	18,8±1,1
Щука					
Триглицил-глицин	2,4±0,8	4,8±0,6	5,2±0,8	4,0±0,6	4,8±1,2
Диглицил-глицин	4,1±0,1	14,4±1,3	10,0±2,0	6,4±0,9	7,0±1,3
Глицилглицин	12,5±4,2	17,2±5,8	17,6±5,6	8,6±4,0	14,4±5,6
Глицил-L-валин	10,5±1,5	25,0±2,5	20,0±4,5	16,5±1,9	13,0±1,6
Глицин *	14,9±1,6	14,1±2,1	16,5±0,4	18,2±2,3	17,7±1,1

* — мкмоль.

жно объяснить различиями в спектре питания. Однако диапазон изменения средних значений активности одноименных протеиназ у рыб разных видов невелик. При этом степень межвидовых различий пептидаз, обеспечивающих промежуточные и заключительные этапы гидролиза олиго- и дипептидов, ниже по сравнению с протеазами, обеспечивающими деполимеризацию молекул белка.

5.1.2. Липазы

Если в предыдущем разделе подчеркивалась относительно слабая зависимость активности протеаз желудочно-кишечного тракта от характера питания рыб, то в отношении липазы скорее справедлива точка зрения исследователей, предполагающих отсутствие такой связи. Так, Чесли (Chesley, 1934), изучавший активность липазы у менхэдена, макрели, стеномомуса и морского петуха, несмотря на большее количество жира в пище первого вида, не нашел у него большую активность липазы в слизистой кишечника. Более высокая активность липазы была найдена в гепатопанкреасе макрели, однако сам автор объяснял это особенностями анатомического строения этого органа у рыб разных видов — у макрели компактный, у остальных трех видов — диффузный.

Согласно данным А. В. Ананичева (1959), активность липазы у судака несколько выше, чем у леща и налима, особенно в зоне оптимума рН (8.0). Сведений о спектре питания и биохимическом составе корма автор не приводит, однако сопоставление сведений о характере питания этих видов рыб (Иванова и др., 1978) и биохимическом составе основных объектов питания (Кузьмина, 1982б) не позволяет утверждать, что судак потребляет значительно более жирную пищу, чем 2 других вида рыб. Также не отмечена зависимость активности липазы от характера питания в работе Моришита и соавторов (Morishita et al., 1964), обнаруживших лишь большую активность фермента форели в зоне низких температур по сравнению с другими исследованными видами рыб.

Значительные межвидовые различия липолитической активности обнаружены только при исследовании хрящевых ганоидов (Плотников, 1984). У белуги в слизистой всех отделов пищеварительного тракта активность липазы достоверно выше, чем у севрюги и осетра. Последний в свою очередь имеет в большинстве отделов достоверно меньшую активность по сравнению с севрюгой. Сведений о спектре питания и содержании жира в кормовых объектах автор не приводит. Однако не исключено, что наблюдаемые различия обусловлены типом питания, так как белуга — типичный хищник, а в рационе севрюги содержание рыб разных видов значительно выше, чем у осетра (Никольский, 1954).

Интересно отметить, что при увеличении содержания жира в рационе рыб активность липазы не увеличивается. Так, уровень ферментативной активности у личинок канального сомика при

низком содержании в корме жира (3 %) в ряде случаев выше, чем при более высоком (4—5 %), и значительно выше, чем при максимально высоком (6,5 %) его содержании (Мезина и др., 1982).

Итак, следует отметить, что вопрос о зависимости активности липазы от характера питания рыб, содержания жира в их пище и от других факторов нуждается в детальном исследовании. Действительно, несмотря на достаточный интерес к этой группе ферментов (Brockhoff, 1966; Patton et al., 1975; Swarup, Goel., 1975a, 1975b; Lie, Lambertsen, 1985, и др.) сопоставимых данных по уровню активности липазы в пищеварительном тракте у рыб разных видов крайне мало.

5.1.3. Карбогидразы

Как указывалось выше, для ферментов этой группы отмечены наибольшие межвидовые различия. В связи с этим влияние характера питания на активность карбогидраз у рыб разных таксономических групп нами исследовано наиболее подробно (Кузьмина, 1977, 1981, 1986, 1990а).

При исследовании пластиножаберных рыб в большинстве случаев значимые межвидовые различия в уровне активности одноименных гидролаз не выявлены (Кузьмина, 1990г). Однако у скатов (шиповатый скат, морской кот) уровень общей амилолитической активности, и особенно сахаразы, в гомогенатах слизистой, как правило, достоверно выше, чем у акулы (катран).

Уровень общей амилолитической и сахаразной активности у разных видов морских костистых рыб различается значительно (рис. 12). Минимальный уровень активности названных выше ферментов отмечен у мерланга — 0,7 и 0,1 мкмоль · г⁻¹ · мин⁻¹, максимальный у ласкиря — 4,1 и 3,9 мкмоль · г⁻¹ · мин⁻¹ соответственно. При этом у хищников-факультативных планкто- и бентофагов, а также бентофагов-факультативных хищников уровень ферментативной активности, как правило, ниже, чем у типичных бентофагов. Однако, несмотря на существование указанной тенденции, зависимость между уровнем активности карбогидраз и характером питания у этой группы рыб недостаточно четко выражена.

Соотношение общей амилолитической активности в слизистой кишечника у рыб разных видов пресноводных костистых рыб значительно различается: уровень ферментативной активности у щуки соответствует 0,2 мкмоль · г⁻¹ · мин⁻¹, у налима — 0,9, у окуня — 1,2, у леща — 2,8, у плотвы — 4,4, у карася — 12,0 мкмоль · г⁻¹ · мин⁻¹. Особо следует отметить, что уровень общей амилолитической активности у рыб, по типу питания относящихся к разным экологическим группам, различен, у рыб со сходным спектром питания достаточно близок. Минимальные значения ферментативной активности получены для типичного хищника щуки, максимальные — для макрофитофага карася.

Уровень активности α -амилазы у тех же видов рыб варьирует значительно (рис. 13): у судака — 0,9, у карпа — 41,4 $\text{мг} \cdot \text{г}^{-1} \times \text{мин}^{-1}$. Минимальные значения активности α -амилазы также отмечены для типичных хищников (судак, щука), несколько большие — для хищников-факультативных бентофагов (налим, окунь). Затем в порядке возрастания активности от леща к карпу следуют типичные бентофаги.

Уровень активности дисахаридаз у рыб разных видов изменяется в меньшей степени (см. рис. 13). Минимальные значения обоих ферментов также отмечены у щуки 1,0 и 0,1 $\text{мкмоль} \cdot \text{г}^{-1} \times \text{мин}^{-1}$ (мальтаза и сахараза соответственно). У хищников-факультативных бентофагов налима и окуня активность обоих ферментов выше. У бентофагов уровень ферментативной активности максимален: активность мальтазы у карася соответствует 3,9 $\text{мкмоль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$, активность сахаразы у густеры — 2,5 $\text{мкмоль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$.

Таким образом, при исследовании активности различных карбогидраз в слизистой кишечника рыб разных таксономических групп в ряде случаев обнаружены значительные межвидовые различия, которые у пластиножаберных рыб ниже, чем у морских костистых и особенно пресноводных костистых рыб. Наибольшая межвидовая вариабельность характерна для α -амилазы

5.1.4. Фосфатазы

Сопоставимых данных об уровне активности кислой фосфатазы в слизистой кишечника рыб крайне мало. Известно, что уровень активности этих лизосомальных ферментов варьирует у рыб разных видов в меньшей степени, чем активность щелочной фосфатазы (Кузьмина, 1984).

Уровень активности щелочной фосфатазы у различных видов пластиножаберных близок 0,5—0,7 $\text{мкмоль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$, однако, у акул несколько выше, чем у скатов (Кузьмина, 1990г). У пресноводных костистых рыб в осенний период величина активности, как правило, значительно ниже — 0,07—0,6 $\text{мкмоль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ (рис. 14). Нетрудно заметить, что уровень щелочно-фосфатазной активности у пресноводных рыб не обнаруживает корреляции с типом их питания. Вместе с тем высокие значения, полученные при исследовании налима (единственного вида, максимум пищевой активности которого наблюдается в осенне-зимний период), свидетельствуют о возможной связи уровня активности щелочной

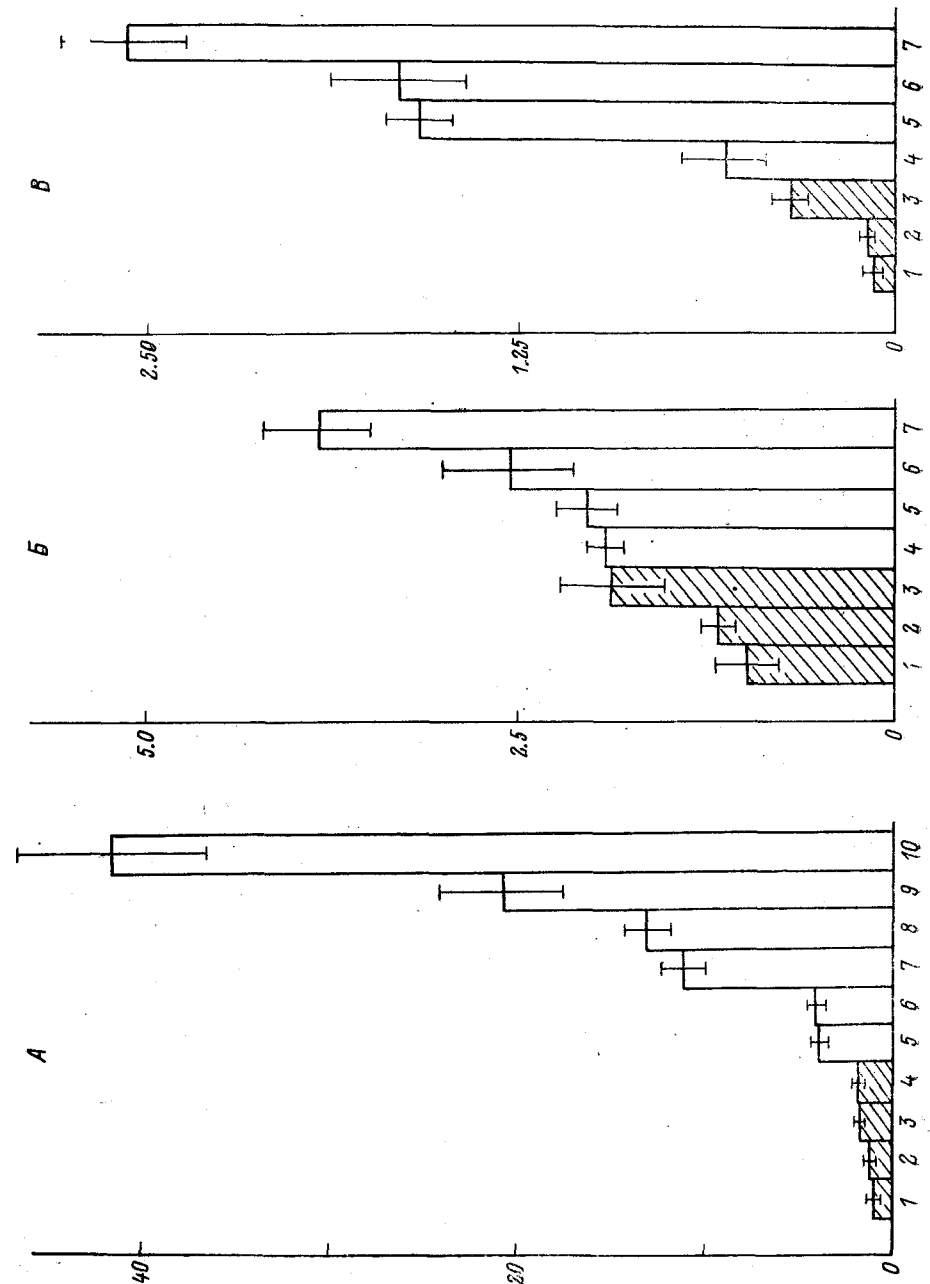


Рис. 13. Активность α -амилазы (А), мальтазы (В) и сахаразы (В) в слизистой медиального отдела кишечника у некоторых видов рыб.

На А — $\text{мг} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$, на В и В — $\text{мкмоль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$; А: 1 — судак, 2 — щука, 3 — налим, 4 — окунь, 5 — лещ, 6 — густера, 7 — карась, 8 — плотва, 9 — язь, 10 — карп; В: 1 — щука, 2 — налим, 3 — окунь, 4 — плотва, 5 — лещ, 6 — язь, 7 — карась; В: 1 — щука, 2 — налим, 3 — окунь, 4 — лещ, 5 — язь, 6 — плотва, 7 — густера.

фосфатазы с пищевой активностью и интенсивностью питания рыб.

Итак, при исследовании щелочной фосфатазы корреляция между типом питания и уровнем ферментативной активности не установлена. По всей вероятности, у видов, питающихся при более низкой температуре (акула, налим, шпрот), активность фермента выше, чем у других видов рыб.

5.1.5. Специфические ферменты

Помимо широко распространенных ферментов, гидролизующих основные компоненты различных организмов (легкогидролизуемые белки, жиры и углеводы), в пищеварительном тракте рыб выявлены гидролазы, расщепляющие такие компоненты живого, как хитин, целлюлоза и другие соединения, редко встречающиеся

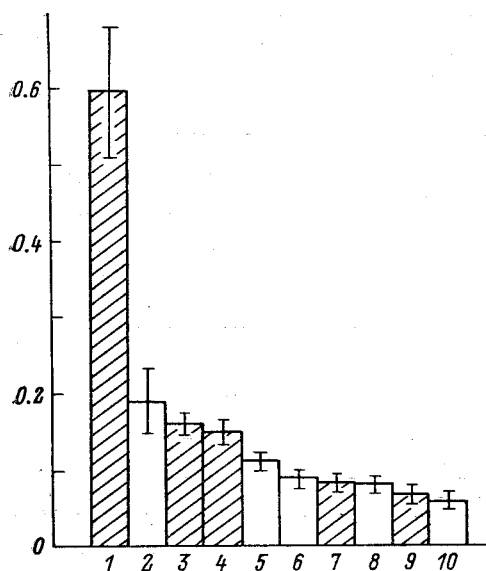


Рис. 14. Щелочно-фосфатазная активность слизистой медиального отдела кишечника у некоторых видов рыб, $\mu\text{моль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$.
1 — налим, 2 — лещ, 3 — судак, 4 — чехонь, 5 — синец, 6 — плотва, 7 — щука, 8 — карась, 9 — снеток, 10 — карп.

в пище высших позвоночных животных. Наиболее подробно изучена активность хитиназы, которая, по мнению ряда авторов (Okutani, 1966; Colin, Pérès, 1971; Colin, 1972; Fange et al., 1978, и др.), обнаруживается преимущественно у видов, потребляющих в большом количестве ракообразных. Хитиназа расщепляет хитин до димеров и тримеров N-ацетил-D-глюкозамина (НАГ), который далее может быть расщеплен с помощью глюкозаминадазы (НАГазы). Этот фермент встречается в пищеварительном тракте рыб вместе с хитиназой. НАГ — конечный продукт хитинолитического процесса, по-видимому, представляет пищевую ценность, так как он резорбируется кишечником быстрее, чем глюкоза (Alliot, 1967). Так, высокая хитиназная активность обнаружена в экстрак-

тах поджелудочной железы безжелудочной химеры, которая в основном питается креветками (Fange et al., 1976, 1978). Сопоставление активности хитиназы, экзо-N-ацетил-β-D-глюкозаминадазы и лизоцима у 6 видов рыб (миксина, химера, 2 вида акул, скат и корифена) показало, что активность лизоцима в пищеварительном тракте исследованных видов невелика, активность экзо-N-ацетил-β-D-глюкозаминадазы в слизистой желудка у рыб разных видов находится приблизительно на одном уровне, в то время как активность хитиназы значительно варьирует (Fange et al., 1979). В слизистой кишечника миксины активность невелика. У акулы и корифены высокая активность фермента обнаружена в слизистой желудка. Поскольку в содержимом желудка рыб активность хитиназы ниже, чем в слизистой и, кроме того, фермент обнаружен в поджелудочной железе, авторы считают, что эта гидролаза синтезируется в организме исследованных рыб, а не привносится бактериями. На примере 2 симпатрических видов рода *Serranus* — окуня-ханоса и окуня-зебры — показаны видовые различия в уровне активности хитиназы не только в желудке, но и в других отделах пищеварительной системы (Вепнова et al., 1986). При изучении голодной и питающейся трески было показано, что уровень хитиноподобной активности в пищеварительном тракте не зависит от присутствия бактерий. Этот факт позволил авторам (Lindsay, Gooday, 1985) сделать вывод о том, что хитиназа и хитобиаза являются эндогенными ферментами. Однако корреляция между активностью хитиназы и количеством хитина, потребляемого рыбой, не обнаружена (Lindsay, 1984, 1987). Также не выявлено сезонной динамики активности этого фермента (Lindsay, 1987).

Эндогенное происхождение хитиназы подтверждается наличием активности фермента в развивающейся икре красного пагра, которая увеличивается в ходе эмбриогенеза (Kopo et al., 1987). Для этого вида установлено резкое увеличение активности хитиназы в период перехода личинок на внешнее питание. У личинок форели активность этого фермента появляется к моменту рассасывания желточного мешка. Максимальная активность отмечена через 50 сут после выклева. Однако зависимости между активностью фермента и содержанием в пище личинок хитина не выявлено (Lindsay, 1985). Вместе с тем в ряде работ обнаружена хитиназа бактериального происхождения (Goodrich, Morita, 1977; Danulat, Kausch, 1984).

Предполагается, что в желудке функционирует собственный фермент рыб, в кишечнике — фермент бактерий. Характеристики, в частности оптимум pH, разных хитиназ различны. Оптимум pH желудочной хитиназы соответствует 2—3 (Jeuniaux, 1983) или 4,5—5,1 (Danutat, Kausch, 1984), кишечной — 4—5 (Jeuniaux, 1983) или 5,1—6,1 (Danutat, Kausch, 1984). Согласно данным Фанге с соавторами (Fange et al., 1979), значения оптимумов pH хитиназы у рыб разных видов могут значительно варьировать. В частности, оптимум pH фермента у корифены — 1,25, у колючей

акулы — 1,6 и 3,6, у химеры — 8—10 и 3. Молекулярная масса фермента — 43 000.

Интерес к хиназе обусловлен не только ее большим значением для пищеварения рыб, но и для круговорота азота и углерода в водоемах, так как рыбы благодаря способности деполимеризовать хитин играют важную роль в биогеохимической рециклизации этих элементов (Jeuniaux, 1983). При этом только одна популяция рогатых бычков способна за год разрушить 16 т хитина (Goodrich, Morita, 1977).

Помимо хитинолитических ферментов в кишечнике рыб, питающихся водорослями, обнаружена ламинариназа, или β -D-1,3-глюканглюкогидролаза (Piavaux, 1972; Jeuniaux, 1983), в желудке — карбоангидраза (Smith, Paulson, 1975; Palatroni et al., 1980). Интересно, что у рыб, питающихся кораллами, активность карбоангидразы в слизистой кишечника на порядок выше, чем у рыб, не потребляющих карбонаты (Smith, Paulson, 1975). В слизистой желудка скумбрии была найдена гиалуронидаза (Yamamoto, Kitamikado, 1971). У ряда видов рыб, различающихся по характеру питания, выявлена активность салициназы, лихеназы и амигдалазы (Ishida, 1936). Последние два фермента являются β -глюкозидазами, обладающими широкой специфичностью. Некоторые ферменты гидролизуют β -галактозиды. Также есть сведения о наличии в кишечнике рыб активности целлюлазы (Stickney, Shumway, 1974; Prejs, Blaszczyk, 1977). Однако вопрос об источнике фермента является спорным. Имеющиеся данные дают основание полагать, что, по всей вероятности, целлюлазу продуцирует микрофлора. Действительно, из 62 видов эстуарных рыб Калифорнийского залива целлюлазной активностью обладали лишь 17. У пластиножаберных и морских костистых рыб целлюлаза не обнаружена. Поскольку активность ферментов исчезала после обработки рыб антибиотиками, был сделан вывод о том, что рыбы не обладают целлюлазой эндогенной природы (Stickney, Shumway, 1974).

Таким образом, в кишечнике рыб деполимеризуются различные соединения, в том числе хитин, целлюлоза, ламинарин, парамилон и другие β -D-глюканы, в том числе и β -галактозиды, которые, как правило, не гидролизуются ферментными системами высших позвоночных животных.

5.2. Изменение уровня активности ферментов в процессе онтогенеза рыб

Как известно, структурно-функциональная организация животных существенно изменяется в процессе их онтогенетического развития. Продолжительность отдельных периодов развития у рыб разных таксономических групп различна и в значительной степени зависит от температуры и условий питания личинок рыб (Васнецов, 1953; Шамардина, 1957, и др.). Спектр питания в течение

онтогенеза рыб значительно меняется. В частности, молодь рыб всех видов, включая типичных хищников, питается планктоном. К концу первого нагульного периода наблюдается расширение кормовой базы и становление типа питания рыб (Ильина, 1973, и др.). Последнее сопровождается перестройками спектра пищеварительных ферментов рыб. Ниже приведены результаты изучения активности ряда карбогидраз и щелочной фосфатазы, обеспечивающих процессы мембранного пищеварения, а также желудочных и кишечных протеиназ, реализующих полостной и мембранный гидролиз пищи у рыб с различным типом питания (Кузьмина и др., 1982; Кузьмина, Голованова, 1984а, 1984б; Кузьмина, Стрельникова, 1985а, 1985б, и др.).

Типичные хищники. Сопоставление ферментативной активности кишки у типичного хищника щуки показало, что с возрастом активность щелочной фосфатазы увеличивается, α -амилазы — значительно уменьшается, сахаразы — практически не изменяется (табл. 8).

В специальных экспериментах было установлено, что у молоди, искусственно задержанной на планктонной диете, уровень активности карбогидраз снижается при наличии пищи в кишечнике (Кузьмина, Голованова, 1984а). При этом более ярко возрастная динамика активности α -амилазы выражена у рыб с высоким темпом роста. Наиболее значительные изменения активности в течение первого нагульного периода щук характерны для протеиназ (табл. 9).

К концу первого месяца жизни молоди щук в их кишечнике обнаруживается незначительная активность щелочных протеиназ, которая последовательно увеличивается и в начале августа достигает значений, характерных для взрослых особей (возраст 85 сут). Аналогичная закономерность обнаружена при исследовании леща, однако темпы становления гидролитической функции у этого вида значительно ниже, чем у щуки (Кузьмина, 1990б). Эти результаты хорошо согласуются с выводом И. Д. Ильиной (1986) о существовании видовой специфики развития пищеварительных функций на ранних этапах онтогенеза рыб. Согласно полученным ею данным, канальный сомик к началу внешнего питания обеспечен пищеварительными ферментами в большей степени, чем чир, карп и толстолобик.

Хищники-факультативные бентофаги. У хищников-факультативных бентофагов возрастная динамика ферментативной активности выражена менее отчетливо, чем у хищных рыб (табл. 10). Действительно, активность всех исследованных ферментов, кроме сахаразы, уровень которой снижается, с возрастом рыб изменяется незначительно.

Полученные данные свидетельствуют о том, что уровень активности исследованных ферментов на протяжении онтогенеза хищников-факультативных бентофагов снижается в меньшей степени, чем у типичных хищников. При этом наиболее высокий уровень активности карбогидраз соответствует периоду планктонного пи-

Таблица 8

Уровень активности некоторых ферментов в слизистой кишечника щуки разных размерно-возрастных групп, мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹

Возраст (количество исследованных рыб)	Длина тела, мм	Масса порки, мг	Щелочная фосфатаза *	α-Амилаза**	Сахараза	Общая амилалитическая активность
1 мес (63)	56,2±1,0	1,40±0,07	—	9,16±0,63	0,35±0,02	3,30±0,25
2 мес (16)	91,6±2,4	6,28±0,51	35,0±2,0	5,69±0,51	0,40±0,03	1,90±0,08
1+ и 2+ (14)	255,7±11,6	141,8±19,5	49,1±0,07	0,98±0,13	0,27±0,03	0,88±0,09
Взрослые особи (12)	472,5±19,3	965,0±193,7	91,2±0,04	0,95±0,24	0,28±0,12	0,46±0,02

* V · 10⁻³.** мг · г⁻¹ · мин⁻¹.

Таблица 9

Уровень общей протеолитической активности в кишечнике личинок и мальков щуки, мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹

Возраст	Активность протеиназ	Возраст	Активность протеиназ
28 сут	0,06±0,001	70 сут	3,43±0,40
30 сут	0,40±0,01	85 сут	7,80±0,40
51 сут	1,15±0,12	153 сут	10,19±0,98

тания. Уровень активности щелочной фосфатазы, напротив, увеличивается у рыб старших возрастных групп. Несмотря на увеличение суммарной активности всех ферментов, у рыб старших возрастных групп наблюдается значительное уменьшение уровня относительной суммарной активности ферментов (Кузьмина, Голованова, 1984б; Кузьмина, Стрельникова, 1985а).

Типичные планкто- и бентофаги. Уровень общей амилалитической активности на ранних этапах онтогенеза типичных бенто- и планктофагов (синец, плотва, лещ) достаточно высок. Так, на этапе D₁ величина этого показателя может достигать 11,7, на этапе G — 17,6 мкмоль · г⁻¹ · мин⁻¹. Значения активности щелочной фосфатазы близки таковым взрослых рыб (Кузьмина, Стрельникова, 1985б). Важно отметить, что, начиная с этапа D₂, изменение уровня ферментативной активности, особенно в случае карбогидраз, коррелирует с изменением интенсивности питания в течение суток (максимум в 6 и 18 ч). При этом наблюдается увеличение уровня общей амилалитической активности на более поздних этапах развития, совпадающее с увеличением в пище доли личинок хирономид и других бентических форм (Кузьмина, Стрельникова, 1985б). Также заслуживает внимания увеличение с возрастом рыб активности сахаразы на фоне снижения уровня общей амилалитической активности и активности α-амилазы (табл. 11). Суммарная активность ферментов во всем кишечнике с возрастом увеличивается, относительная суммарная, как правило, уменьшается (Кузьмина, Голованова, 1984б).

Возрастная динамика общей протеолитической активности на ранних этапах онтогенеза рыб-бентофагов зависит от состояния кормовой базы водоема (Кузьмина, 1990в). Личинок рыб, полученных из икры, после наступления этапа В выращивали в различных по кормовой базе прудах.

Уровень активности щелочных протеиназ в течение первого месяца жизни у всех личинок близок нулю. На более поздних этапах развития рыб уровень общей протеолитической активности увеличивается (табл. 12).

В течение 50 сут уровень активности щелочных протеиназ у личинок крайне низок и, как правило, не превышает 0,5 мкмоль · г⁻¹ · мин⁻¹. К концу первого нагульного периода этот показатель у леща в ряде случаев достигает значений, характер-

Таблица 10
Активность ферментов в слизистой кишке окуня разных возрастных групп, мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹

Возраст	Длина тела, мм	Масса порки, г	Общая амилонитическая активность	α-Амилаза *	Сахараза	Щелочная фосфатаза
0+	37,6±2,4	1,1±0,4	2,44±0,19	2,32	0,90±0,02	0,21±0,06
1+	82,6±3,0	10,6±1,2	2,14±0,11	—	—	0,24±0,01
3+	147,5±3,4	50,2±3,3	1,62±0,07	1,35±0,21	0,33±0,03	0,25±0,02
4+	198,7±5,5	130,0±14,1	2,28±0,12	2,24±0,52	0,39±0,03	0,18±0,01
5+ — 8+	199,0±21,0	175,0±15,0	1,30±0,13	2,78±0,35	0,13±0,03	0,33±0,01

* Здесь и в табл. 11 активность фермента измеряется в мг·г⁻¹·мин⁻¹.

Таблица 11
Активность ферментов в слизистой кишке плотвы и леща разных возрастных групп, мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹

Вид возраст	Длина тела, мм	Масса порки, г	Общая амилонитическая активность	α-Амилаза *	Сахараза	Щелочная фосфатаза
Плотва	0+	0,3±0,05	8,51±0,51	54,0±0,70	0,59±0,37	0,18±0,01
	3+	37,0±2,6	10,61±1,22	22,75±0,35	0,94±0,11	0,60±0,07
	4+	50,0±3,0	7,75±1,10	34,89±1,00	0,98±0,10	0,24±0,06
	6+ — 7+	108,3±8,3	5,75±0,50	4,28±0,99	1,74±0,16	0,24±0,03
Лещ	8+	250,0±60,0	4,28±0,99	7,51±1,87	2,44±0,75	0,11±0,03
	1+	3,2±1,6	3,26±0,24	6,33±0,30	0,17±0,01	0,09±0,04
	2+	15,6±1,1	3,82±0,25	11,05±0,70	0,13±0,06	0,12±0,01
	3+	51,0±3,5	3,20±0,24	7,77±2,11	0,43±0,06	0,39±0,08
	4+	106,2±3,7	2,16±0,26	7,24±0,01	0,30±0,10	0,55±0,21
	6+ — 10+	152,5±33,3 762,0±60,0	1,55±0,70 2,71±0,45	2,38±0,34 2,11±0,07	0,61±0,08 0,96±0,09	1,02±0,04 0,17±0,01

Таблица 12

Активность щелочных протеиназ в кишечнике молоди леща в зависимости от возраста рыб, мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹

№ пруда	Биомасса кормовых объектов, г/м ³	Общая протеолитическая активность			
		44 сут	51 сут	71 сут	102 сут
I	8,7	0	0,19	0,19	0,60±0,09
II	152,8	0,37	0,74	0,37	8,92±0,55
III	51,4	0,19	0,57	0,28	2,02±0,53

ных для взрослых особей. Однако функциональная зрелость кишечника наблюдалась лишь у молоди из пруда III, и особенно II. Уровень ферментативной активности у рыб из пруда I даже в конце нагульного периода продолжал оставаться крайне низким. При этом уровень общей протеолитической активности кишечника рыб из пруда I осенью колебался от 0,2 до 1,3 мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹ (CV = 50,1%), II — от 4,4 до 10,2 (CV = 19,5%), III — от 0,6 до 6,3 мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹ (CV = 82,6%).

Значительная вариабельность уровня ферментативной активности в ряде случаев связана с изменением характеристик пищеварительного тракта, в частности с длиной и массой кишечника (табл. 13).

Расчет на основании приведенных данных суммарной активности ферментов (активности, рассчитанной на общую массу органа) показывает, что различия в обеспеченности протеазами рыб ока-

Таблица 13

Размер и масса кишечника мальков леща в конце нагульного периода (октябрь)

№ пруда	Размер, мм	Масса, мг
I	49,6±1,7	47,2±3,2
	42,0—56,0 (10,6)	31,0—60,0 (21,1)
II	59,3±1,9	81,8±6,0
	52,0—74,0 (10,3)	53,0—110,0 (23,1)
III	56,2±1,7	53,7±5,3
	47,0—63,0 (9,3)	24,0—86,0 (31,4)

Примечание. Здесь и в табл. 16, 17, 18: над чертой — средняя и ошибка средней, под чертой — амплитуда колебания показателя. Цифры в скобках — коэффициент вариации показателя.

зываются еще более значительными. Так, средние величины суммарной активности протеиназ у рыб из пруда I соответствовали 0,03, из пруда II — 0,73, из пруда III — 0,11 мкмоль·мин⁻¹. Следовательно, активность ферментов, функционирующих во всем кишечнике, у рыб из пруда II в 24,3 раза выше, чем у рыб из пруда I, и в 6,6 раза выше, чем у рыб из пруда III (при расчете стандартных величин активности — в 14,9 и 4,4 раза соответственно).

Таким образом, в процессе онтогенеза рыб активность пищеварительных ферментов претерпевает значительные изменения. Как правило, в личиночный период наблюдается увеличение уровня ферментативной активности. При этом темпы становления гидролитических функций зависят от класса гидролаз и вида рыб. Так, на примере ферментов цепи протеаз у карпа было продемонстрировано, что на ранних личиночных этапах функционируют лишь собственно кишечные экзогидролазы. Активность эндогидролаз, обеспечивающих начальные этапы гидролиза белка, появляется лишь на этапе Д, когда начинают функционировать экзокринные элементы гепатопанкреаса. При этом характерно неравномерное увеличение активности, а также значительная вариабельность возрастной динамики различных гидролаз (Ильина, 1986).

Большое влияние на соотношение активности различных групп ферментов, по-видимому, оказывают спектр и интенсивность питания рыб в первый нагульный период. При удовлетворительном состоянии кормовой базы активность ферментов у мальков в возрасте 3—4 мес может достигать таковой взрослых рыб. Возрастные изменения в характере питания сопровождаются изменением спектра гидролаз. У хищников, как правило, в большей степени, чем у «мирных» рыб, увеличивается активность ферментов цепи протеаз. При этом суммарная активность одноименных гидролаз в пищеварительном тракте с увеличением возраста увеличивается, относительная суммарная активность уменьшается, особенно у рыб самых старших возрастных групп.

По всей вероятности, в перестройках ферментных систем кишечника рыб, как и у млекопитающих, значительная роль принадлежит механизму «субстратной регуляции» (Уголев и др., 1970, 1977; Gruzdkov et al., 1981). Однако результаты длительного содержания шук на планктонном корме свидетельствуют о существовании более сложных зависимостей. Уменьшение активности карбогидраз в слизистой, наблюдаемое в экспериментах, видимо, связано с генетически закрепленной репрессией их синтеза при достижении возраста, при котором обычно осуществляется переход рыб на хищное питание (Кузьмина, Голованова, 1984а). При возрастных перестройках также в наибольшей степени изменяется активность фермента, находящегося в начале ферментативной цепи. Отмеченная закономерность проявляется при всех способах оценки ферментативной активности, но особенно ярко при оценке суммарной и относительной суммарной активности ферментов, поскольку по мере роста рыб масса слизистой и активность функцио-

нирующих в ее составе ферментов увеличиваются, а относительные величины этих показателей уменьшаются. Показатель суммарной активности близок введенному Н. С. Строгановым и Н. С. Бузиновой (1970) показателю «обеспеченности ферментом», учитывающему активность ферментов в слизистой кишечника и гепатопанкреаса рыб. По-видимому, целесообразнее учитывать относительную активность всех кишечных ферментов, так как полостные ферменты в значительной мере определяют скорость процессов гидролиза нутриентов. Кроме того, регистрация активности ферментов гепатопанкреаса кажется не совсем правомочной, поскольку этот орган у разных видов костистых рыб в различном соотношении объединяет ткани печени и поджелудочной железы, а последняя содержит разное количество экзокринной и эндокринной ткани (Плисецкая, 1975), причем амилаза, содержащаяся в гепатопанкреаса, может быть связана не только с процессами пищеварения, но и с расщеплением гликогена в печени (Андреев, 1958; Плисецкая, Желудкова, 1973).

5.3. Влияние циркадных и сезонных ритмов на активность пищеварительных ферментов

В предыдущем разделе приводились некоторые данные об изменении уровня активности ферментов у молоди рыб в течение суток, которые не всегда коррелировали с интенсивностью питания рыб. По-видимому, существует сложная зависимость между циркадными ритмами, интенсивностью питания и уровнем ферментативной активности. Действительно, при исследовании активности α -амилазы в крови леща из разных участков Рыбинского водохранилища в разное время суток установлены различия в уровне ферментативной активности. Интересно отметить, что у рыб, отличающихся низкой ферментативной активностью в утренние часы, наблюдается достоверное увеличение ее к вечеру. У особей, обладающих высокой активностью в утренние часы, суточная динамика не обнаружена. Так, у рыб южно-шекснинской популяции утром уровень ферментативной активности соответствует 1,2, вечером — 1,8, у рыб северошекснинской популяции — 2,6 мг·мл⁻¹ × мин⁻¹ и утром, и вечером.

Несмотря на наличие сведений об изменении активности пищеварительных ферментов рыб на протяжении суток, вопрос о влиянии циркадных ритмов на уровень ферментативной активности нуждается в дальнейшем исследовании.

Вопрос о влиянии сезонных ритмов на уровень активности пищеварительных гидролаз у рыб разработан значительно подробнее. Наиболее полно сезонная динамика ферментативной активности исследована на примере амилитической активности ферментов. Имеющиеся данные достаточно противоречивы. Действительно, Г. М. Марголин (1940) и А. В. Ананичев (Ананичев, 1959; Ананичев, Гомазков, 1960) отмечают увеличение активности амилазы

в экстрактах слизистой карпа, судака и леща зимой, а налима, период ослабления экзогенного питания которого приходится на лето, — летом. Ш. А. Берман (1965), Л. Чепик (1964), Ш. А. Берман и И. К. Саленице (1966) для карпа, Н. С. Строганов и Н. С. Бузинова (1969) для белого амура, В. А. Пегель и А. С. Антипин (1972) для ельца, напротив, приводят данные об уменьшении амилолитической активности в зимний период. Наиболее существенными факторами при этом являются изменение температуры окружающей среды и выключение на длительный срок экзогенного питания. Если в отношении влияния температуры на активность амилазы результаты исследователей совпадают, то в отношении голодания мнения расходятся: Г. М. Марголин (1940), А. В. Ананичев (1959) и Н. С. Бузинова (1973) наблюдали большую амилолитическую активность у голодных рыб, а В. А. Пегель с соавторами (1968, 1971) — у сытых.

При исследовании сезонной динамики пепсина, трипсина и липазы максимальная активность ферментов установлена в сезон, совпадающий с периодом наиболее интенсивного питания рыб: у леща и судака летом, у налима зимой (Ананичев, 1959; Ананичев, Гомазков, 1960). Аналогичная зависимость установлена для карпа (Чепик, 1964; Строганов, Бузинова, 1970) и тунца (Kashiwada, 1952). Сходная закономерность выявлена при исследовании липаз (Пегель, 1950; Ананичев, 1959; Чепик, 1964; Халилов, 1969; Строганов, Бузинова, 1970) и щелочной фосфатазы слизистой кишки судака. Летом активность щелочной фосфатазы у судака в 4,4 раза выше, чем зимой. У леща значительные изменения щелочно-фосфатазной активности в разные периоды годового цикла не установлены (Гельман и др., 1984). Также не выявлена сезонная динамика активности щелочной фосфатазы у тропических и субтропических сардинеллы и ставриды (Гельман, 1976а, 1976б).

Нами у ряда видов рыб, различающихся по характеру питания, подробно исследована сезонная динамика активности некоторых карбогидраз и щелочной фосфатазы.

При сопоставлении уровня общей амилолитической активности при стандартной температуре (20 °С) и температуре, близкой природной, выявлены определенные видовые различия в характере сезонной динамики. При этом наиболее значительно видовые особенности проявляются при стандартной температуре. Так, у типичного хищника (щука) минимальный уровень общей амилолитической активности наблюдается зимой, у бентофагов (плотва и лещ) — весной. При температуре, близкой природной, у всех исследованных видов минимальная активность наблюдается зимой, несколько большая — весной и осенью, максимальная — летом (Кузьмина, 1986).

В результате детального изучения сезонной динамики α -амилазы, обеспечивающей процессы полостного и мембранного гидролиза пищи, у леща разных размерно-возрастных групп выявлены сходные изменения уровня ферментативной активности. Минимальный уровень активности α -амилазы при стандартной темпера-

туре 20 °С и при 0 °С отмечен зимой. Максимальный уровень ферментативной активности при 20 °С у рыб младшей возрастной группы наблюдается в июне, у средней и старшей — в июле. При температуре окружающей среды максимальная активность фермента у всех исследованных рыб отмечена в июле. Указанная закономерность характерна и для полостного, и для мембранного фермента (Кузьмина, 1980).

Сезонная динамика суммарной и относительной суммарной активности фермента при 20 °С и температуре среды обитания у рыб разных возрастных групп имеет сходный характер (рис. 15).

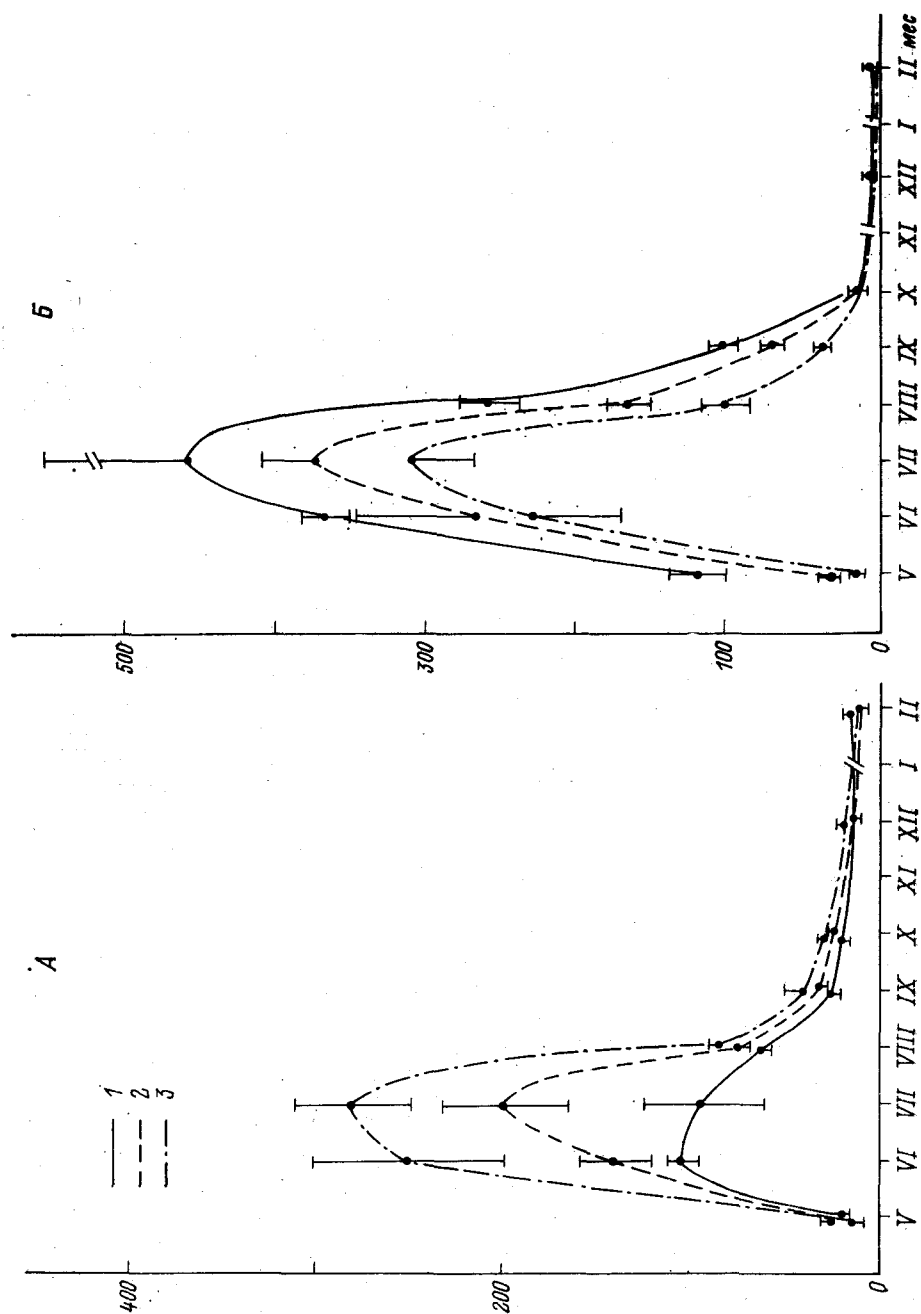
При исследовании сезонной динамики инкретируемого фермента в условиях стандартной температуры были установлены значительные колебания уровня ферментативной активности на протяжении годового цикла большинства исследованных видов рыб с максимумом в летний период. Данные, полученные при температуре, близкой природной, свидетельствуют о большем снижении уровня ферментативной активности в осенний, весенний, но особенно в зимний периоды (Кузьмина, 1979а).

Таким образом, характер изменения активности α -амилазы у рыб разных экологических групп различен. У бенто- и планктофагов летом наблюдается достоверный по сравнению с зимне-весенним периодом максимум активности фермента, причем на протяжении сезона изменения, как правило, незначительны. У большинства хищных рыб, напротив, происходят скачкообразные изменения активности α -амилазы на протяжении всего годового цикла, а максимум активности фермента не всегда приходится на лето. Действительно, у судака, ерша и щуки максимальные средние значения для сезона обнаружены летом, у окуня — зимой, а у налима — отчетливый максимум вообще отсутствует.

Вместе с тем при температуре, соответствующей температуре среды обитания рыб, относящихся по типу питания к разным экологическим группам, различия в особенностях сезонной динамики амилолитической активности крови менее выражены.

Сезонная динамика сахарозной активности, определяемая при стандартной температуре инкубации, у исследованных видов рыб различна и коррелирует с типом их питания: у типичного хищника (щука) сезонные колебания отсутствуют, у бентофагов (лещ и плотва) отмечен максимум в летний период (рис. 16). У налима, наиболее интенсивно питающегося в осенне-зимний период, минимальная активность отмечена летом, максимальная — осенью. При температуре инкубации, близкой природной, сезонные ритмы сахарозной активности у всех видов рыб, кроме налима, выражены более отчетливо.

Сезонная динамика щелочно-фосфатазной активности при температуре 20 °С у рыб разных видов различна (рис. 16): у щуки максимум отмечен летом, минимум — осенью. Для судака максимум щелочно-фосфатазной активности отмечен весной; летом активность фермента достоверно ниже, осенью и зимой — досто-



верно ниже, чем весной. Для налима отмечено последовательное увеличение уровня активности щелочной фосфатазы от весны к осени. При исследовании ферментов леща и плотвы минимальные значения обнаружены в осенне-зимний период, максимальные — в летний.

Характер сезонной динамики щелочно-фосфатазной активности при температуре среды обитания рыб несколько отличается от вышеописанного. Обращает на себя внимание значительно более низкий уровень ферментативной активности во все сезоны, кроме летнего. При этом лишь у налима, отличающегося от других видов рыб сдвигом пищевой активности, осенью сохраняется исключительно высокий уровень активности щелочной фосфатазы — $0,44 \text{ мкмоль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$. У остальных видов рыб осенью активность фермента близка наблюдаемой в зимний период. Сопоставление результатов летних и зимних определений свидетельствует о снижении уровня щелочно-фосфатазной активности зимой у щуки в 3,6 раза, у судака, налима, леща и плотвы — соответственно в 8,5, 4,2, 11,8 и 5,2 раза.

Таким образом, характер сезонной динамики активности щелочной фосфатазы у рыб разных видов различен и в значительной мере зависит от температуры инкубационной среды.

Итак, сопоставление различных ферментов (общая амилолитическая активность, активность α -амилазы, сахаразы и щелочной фосфатазы) слизистой кишечника исследованных видов пресноводных костистых рыб свидетельствует о значительном колебании активности на протяжении их годового цикла. Сезонная динамика активности одноименных ферментов у рыб разных видов в ряде случаев может быть сходной (общая амилолитическая активность у всех исследованных видов рыб, активность сахаразы и щелочной фосфатазы у бентофагов), в ряде случаев — различной (сахараза и щелочная фосфатаза у рыб разных экологических групп). Значительное влияние на характер сезонной динамики одноименных пищеварительных ферментов оказывают особенности экологии питания рыб и температура инкубации ферментативно активных препаратов и субстрата. Определение уровня ферментативной активности при стандартной температуре и температуре, близкой природной, позволяет понять характер сезонной динамики и дифференцировать изменения, обусловленные интенсивностью синтеза и деструкции ферментов, а также различием их кинетических характеристик.

Рис. 15. Сезонная динамика суммарной (А, $\text{мг} \cdot \text{мин}^{-1}$) и относительной суммарной (Б, $\text{мг} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{кг}$ массы тела $^{-1}$) активности α -амилазы в кишечнике леща. 1 — возраст рыб $-4+ -6+$; 2 — то же $-7+ -9+$; 3 — то же $-10+ -14+$.

5.4. Зависимость активности пищеварительных гидролаз от состояния кормовой базы водоема

Известно, что спектр питания рыб, обитающих в естественных водоемах, исключительно широк. При этом в разных водоемах у одного и того же вида рыб спектр питания может значительно различаться. Последнее связано как с различиями видового состава потенциальных объектов питания, так и с различиями их биомассы (Поддубный, 1971; Иванова и др., 1978).

Наиболее подробно зависимость активности пищеварительных гидролаз от состояния кормовой базы водоемов исследована на примере леща, обитающего в водоемах Волжского каскада (Кузьмина и др., 1982, 1983; Кузьмина, Голованова, 1990). Видовой состав пищи этого вида, как и других бентофагов, определяется соотношением кормовых организмов в водоемах разного типа. В водохранилищах Верхней Волги в рационах рыб доминируют личинки хирономид и олигохеты, тогда как в водоемах Нижней Волги бентофаги в значительных количествах поедают моллюсков. Интенсивность откорма рыб, темп их роста и даже относительная численность в уловах зависят от величины биомассы кормовых организмов в каждом водохранилище. Наиболее узкий спектр питания с преобладанием излюбленного корма, высокие индексы и быстрый темп роста у леща наблюдаются в речных водохранилищах, в частности в Ивановском. В озерно-речных и озерных водохранилищах спектр его питания шире, интенсивность нагула меньше, а относительная численность ниже, чем в речных. В Рыбинском водохранилище для леща условия нагула хуже, чем в остальных водоемах каскада. Они определяются, видимо, не только низкими показателями биомассы бентоса, но и специфической локализацией кормовых организмов в речных плёсах и по периферии водоема (Иванова и др., 1978).

При изучении активности α -амилазы в кишечнике и крови у двух группировок леща Рыбинского водохранилища обнаружено, что активность фермента в кишечнике рыб северошекснинской группировки выше, чем у особей волжской группировки (рис. 17). Наиболее значительные различия в активности кишечных гидролаз выявлены при исследовании полостного фермента. Так, у шекснинских лещей активность α -амилазы, функционирующей в полости, в 1,48 раза выше, чем у волжских; активность α -амилазы слизистой кишечника — в 1,13 раза, суммарная активность — в 1,33 раза.

Исследование активности α -амилазы в крови у тех же рыб позволило выявить еще большие различия — 2,27 раза. Более подробное исследование уровня активности α -амилазы в крови леща, обитающего на различных биотопах Рыбинского водохранилища, подтвердило зависимость уровня ферментативной активности от состояния кормовой базы (Кузьмина и др., 1983). Действительно, у рыб из Волжского, Северо- и Южно-Шекснинского плёсов активность фермента выше, чем у рыб из Моложского и Центрального

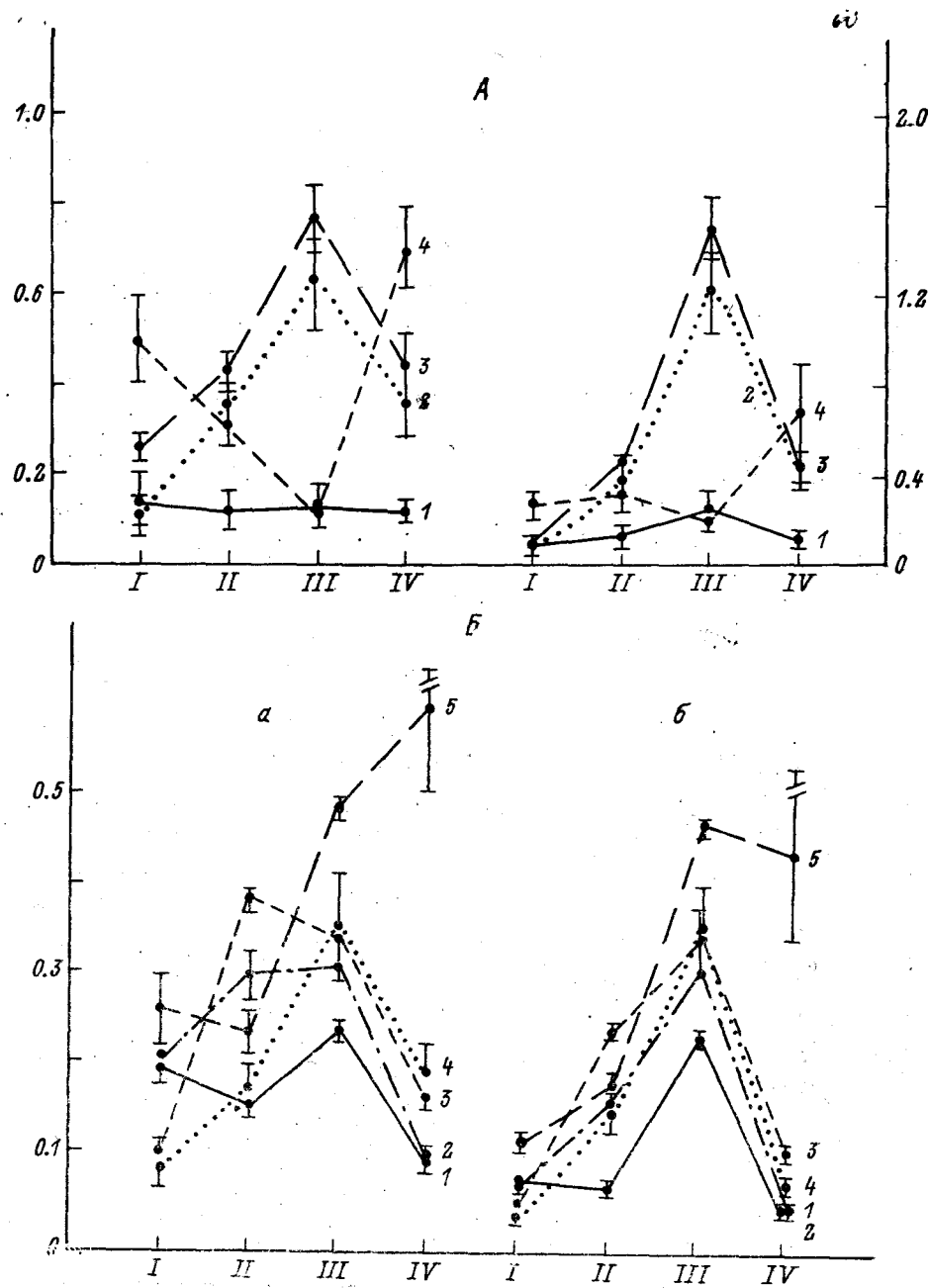


Рис. 16. Сезонная динамика сахаразной (А) и щелочно-фосфатазной (Б) активности слизистой кишечника рыб при 20°C (а) и при температуре окружающей среды (б), мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹.

А: 1 — щука, 2 — налим, 3 — лещ, 4 — плотва; Б: 1 — щука, 2 — судак, 3 — налим, 4 — лещ, 5 — плотва; по оси абсцисс — зима (I), весна (II), лето (III), осень (IV).

плёсов, причем различия внутри указанных групп статистически недостоверны (соответственно $1,06 \pm 0,06$; $1,00 \pm 0,02$; $1,06 \pm 0,04$ и $0,83 \pm 0,05$ и $0,77 \pm 0,09$ мг · мл⁻¹ · мин⁻¹).

Поскольку возрастная структура различных популяций рыб неоднородна, при сравнении получаемых данных необходимо учитывать возможности различных методов оценки ферментативной активности.

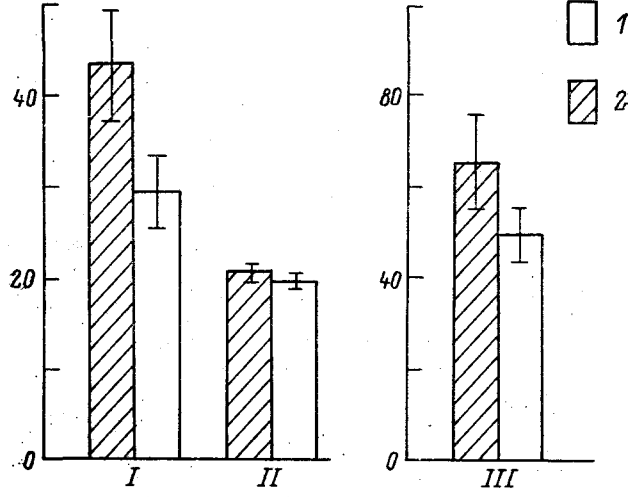


Рис. 17. Активность α -амилазы в кишечнике леща из разных популяций, мг · г⁻¹ · мин⁻¹.

1 — волжская популяция, 2 — шекснинская популяция; по оси абсцисс — I — активность фермента в полости, II — активность фермента в слюнистой кишке, III — суммарная активность полостного и мембранного ферментов.

В специальной работе (Кузьмина и др., 1982) было показано, что оценка активности ферментов в слюнистой всего кишечника и ряда других показателей способствует максимальному выявлению размерно-возрастных различий. В случаях, когда требуется сопоставление характеристик пищеварительной системы популяций без учета их размерно-возрастной структуры, целесообразно анализировать уровень активности в расчете на 1 г ткани, так как этот показатель не обнаруживает тенденции к изменению с увеличением возраста и размера рыб.

Детальный анализ ферментных систем показал, что в ряде случаев активность одноименных гидролаз у рыб разных популяций существенно различается (табл. 14). Так, наблюдения, проведенные в сжатые сроки, показали, что минимальный уровень общей амилолитической и общей протеолитической активности характерен для рыб Иваньковского водохранилища, самый высокий — для рыб Угличского водохранилища. Данные, полученные при исследовании химуса, в ряде случаев отражают тенденции,

Таблица 14

Общая амилолитическая и общая протеолитическая активность кишечника леща из ряда водохранилищ Волжского каскада		Общая амилолитическая активность		Σ П	Общая амилолитическая активность		Σ К	К/П		Σ К/П
		слизистая	химус		слизистая	химус		слизистая	химус	
Иваньковское водохранилище (n = 19)	0,8±0,1 (50,5)	1,2±0,1 (27,8)	0,7—1,9	1,9±0,1 (27,6)	1,4±0,1 (39,23)	6,1±0,5 (33,90)	7,3±0,5 (29,55)	2,1±0,3 (60,18)	5,5±0,5 (36,87)	3,9±0,3 (33,68)
	0,3—1,6			1,2—3,0	0,7—2,6	0,5—9,6	1,4—10,7	0,9—5,8	0,5—10,5	1,0—6,2
	3,5±0,3 (24,69)	3,3±0,1 (12,40)	2,9—4,3	6,9±0,3 (14,96)	3,5±0,5 (47,58)	6,8±0,7 (32,20)	10,3±0,8 (24,03)	1,0±0,1 (43,53)	2,1±0,2 (36,50)	1,5±0,1 (28,40)
Угличское водохранилище (n = 10)	2,3—4,9			5,1—8,3	1,5—6,4	4,4—12,1	7,2—14,6	0,4—1,7	0,2—4,0	1,0—2,5
	1,8±0,2 (16,8)	2,8±0,1 (39,5)	1,4—3,3	4,7±0,2 (20,5)	4,9±0,3 (69,22)	4,9±0,4 (37,66)	6,6±0,7 (42,17)	1,2±0,3 (86,90)	1,8±0,3 (36,55)	1,4±0,1 (33,67)
	0,2—2,7			2,5—5,8	0,4—4,8	1,2—8,3	1,9—12,3	0,2—4,9	0,4—2,7	0,6—2,3
Горьковское водохранилище (n = 17)	1,7±0,2 (44,53)	2,8±0,2 (25,55)	1,5—4,0	4,5±0,3 (27,04)	1,7±0,3 (69,99)	3,5±0,6 (71,17)	5,2±0,9 (69,00)	1,1±0,2 (65,70)	1,3±0,2 (69,92)	1,2±0,2 (66,91)
	0,5—3,0			2,3—6,9	0,4—4,2	1,1—8,7	1,8—12,9	0,5—3,1	0,4—3,0	0,4—3,0
	2,4±0,1 (20,35)	2,5±0,1 (18,99)	1,4—3,1	4,9±0,2 (15,61)	2,0±0,2 (35,44)	2,6±0,4 (59,42)	4,5±0,5 (46,02)	0,8±0,1 (29,91)	1,0±0,1 (51,87)	0,9±0,1 (39,90)
Чебоксарское водохранилище (n = 16)	1,7—3,2			3,1—6,0	3,1—3,9	0,5—5,5	1,8—8,8	0,4—1,2	0,3—2,0	0,4—1,6
	2,4±0,2 (26,61)	2,3±0,2 (14,92)	1,5—2,9	4,8±0,2 (16,23)	1,5±0,2 (44,49)	6,6±0,6 (39,61)	8,1±0,7 (36,08)	0,8±0,2 (109,73)	2,8±0,2 (34,89)	1,7±0,1 (31,83)
	0,9—3,3			3,1—5,5	0,6—3,0	2,9—11,8	3,5—13,2	0,3—4,3	1,2—5,0	1,0—2,7
Куйбышевское водохранилище (n = 16)	2,5±0,4 (29,83)	2,5±0,1 (8,57)	2,3—2,7	4,9±0,5 (19,02)	1,2±0,2 (30,17)	6,2±0,7 (48,01)	7,4±1,9 (44,36)	0,5±0,1 (18,46)	2,5±0,6 (40,99)	1,5±0,2 (28,69)
	1,7—3,2			4,0—5,9	0,8—1,5	3,2—9,1	4,0—10,5	0,4—0,6	1,4—3,4	1,0—1,8
	2,4±0,2 (26,61)	2,3±0,2 (14,92)	1,5—2,9	4,8±0,2 (16,23)	1,5±0,2 (44,49)	6,6±0,6 (39,61)	8,1±0,7 (36,08)	0,8±0,2 (109,73)	2,8±0,2 (34,89)	1,7±0,1 (31,83)
Саратовское водохранилище (n = 18)	0,9—3,3			3,1—5,5	0,6—3,0	2,9—11,8	3,5—13,2	0,3—4,3	1,2—5,0	1,0—2,7
	2,5±0,4 (29,83)	2,5±0,1 (8,57)	2,3—2,7	4,9±0,5 (19,02)	1,2±0,2 (30,17)	6,2±0,7 (48,01)	7,4±1,9 (44,36)	0,5±0,1 (18,46)	2,5±0,6 (40,99)	1,5±0,2 (28,69)
	1,7—3,2			4,0—5,9	0,8—1,5	3,2—9,1	4,0—10,5	0,4—0,6	1,4—3,4	1,0—1,8

Примечание. К/П — отношение активности карбогидраз к активности протеаз; ΣК/ΣП — суммарное отношение активности карбогидраз к активности протеаз.

выявленные при исследовании слизистой кишечника. Однако в содержимом кишечнике леща из Ивановского водохранилища и водохранилищ Нижней Волги активность карбогидраз достаточно высока и близка таковой рыб Угличского водохранилища.

Значения коэффициента К/П (активность карбогидраз/активность протеаз) последовательно уменьшаются в направлении от Ивановского водохранилища до Куйбышевского включительно и несколько возрастают у рыб из водоемов Нижней Волги, что может свидетельствовать о различном содержании белковых и углеводных компонентов в пище леща, обитающего в разных водоемах.

Исходя из того что активность ферментов слизистой кишечника в значительной мере обусловлена факторами, действующими в период нагула (продолжительность жизни эритроцитов у рыб летом может составлять несколько недель) (Gas, Noaillac-Dereuge, 1974), можно предположить, что наиболее плохие условия жизнедеятельности и питания леща существуют в Ивановском водохранилище, а достаточно благоприятные — в Угличском и Куйбышевском водохранилищах.

Влияние состояния кормовой базы и условий питания на активность пищеварительных гидролаз, как было показано в разделе 5.2, проявляется на ранних этапах онтогенеза. При этом у рыб, обитающих в естественном водоеме, уровень ферментативной активности может быть выше по сравнению с одновозрастной молодью, развивающейся в прудах (табл. 15). Наблюдаются различия в активности одноименных гидролаз не только между прудовыми и речными популяциями, но и между двумя речными группировками. Более высокий уровень активности щелочных протеиназ у молоди леща из речного участка р. Сить хорошо согласуется с данными о лучшей кормовой базе (общая биомасса зоопланктона — 1,268 и 0,985 г/м³ соответственно в речном эстуарном участке) и более высоких темпах роста по сравнению с молодью леща, обитающей в эстуарном участке (Стрельникова, Володин, 1990). Соотношение активности протеиназ и карбогидраз свидетельствует о возможных различиях биохимического состава кормовых объектов. Действительно, коэффициент К/П у прудовых

рыб равен 1,67, у эстуарных — 2,17, у «речных» — 0,69. Наиболее высокий уровень карбогидраз у эстуарной группировки молоди леща может свидетельствовать о наличии в пище форм, богатых углеводами.

Кроме того, важно отметить, что при сопоставлении интенсивности питания отдельных популяций рыб и активности пищеварительных гидролаз на протяжении периода их нагула выявлена зависимость не только указанных показателей, но и величин коэффициента вариации уровня ферментативной активности. Установлено, что в период выключенного экзогенного питания и активность фермента и величина коэффициента вариации низки, в период перехода на экзогенное питание эти показатели повышаются. Аналогичная закономерность наблюдается в период ослабленного или недостаточного питания рыб. В период интенсивного питания рыб при условии хорошей кормовой базы активность гидролаз максимальна, коэффициент вариации показателя минимален (Кузьмина, 1986).

Сопоставление данных по уровню активности различных гидролаз и состоянию кормовой базы биотопов свидетельствует о значительной зависимости активности ферментов как от биомассы потенциальных объектов питания, так и от биохимического состава пищевого объекта. При этом важно подчеркнуть следующие обстоятельства. Прежде всего следует отметить, что активность пищеварительных ферментов является достаточно информативным показателем при оценке условий питания рыб. Так, до последнего времени считалось, что условия нагула леща в Рыбинском водохранилище не очень благоприятны (Житенева, 1958; Поддубный, 1971). Однако в последние годы состояние кормовой базы леща улучшилось, причем на некоторых биотопах значительно увеличилась биомасса предпочитаемых кормовых объектов, в частности хирономид (Иванова и др., 1978; Баканов, Стрижников, 1979; Баканов, Митропольский, 1982). Установленные нами различия в уровне ферментативной активности кишечника и крови рыб из разных популяций коррелируют с биомассой бентоса соответствующих биотопов. Полученные материалы свидетельствуют о том, что обеспеченность пищей рыб, обитающих в Центральном плесе и ряде других участков водохранилища, хуже, чем рыб, обитающих на других биотопах, особенно вблизи населенных пунктов (гг. Рыбинск и Пошехонье-Володарск) — зоне повышенной эвтрофикации водоема (Кузьмина и др., 1983). По данным гидробиологических съемок, биомасса бентоса в Центральном плесе составляет 2—3 г/м², в предустьевых районах — 10—20 г/м² (Ляхов, Мордухай-Болтовской, 1974; Иванова и др., 1978; Баканов, Митропольский, 1982).

При сопоставлении характеристик отдельных популяций рыб информативными являются данные не только по уровню ферментативной активности, но и по коэффициентам вариации исследуемого показателя. Зависимость варибельности признаков от условий питания рыб была установлена при исследовании морфологи-

Таблица 15

Активность некоторых пищеварительных гидролаз у молоди леща в июне, мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹

Водоем	Общая протеолитическая активность		Общая амилитическая активность
	pH 4,0	pH 7,4	
Пруд	0,8±0,2	1,2±0,1	2,0±0,2
Эстуарный участок р. Сить	1,4±0,2	1,7±0,3	3,7±0,1
Речной участок р. Сить	1,5±0,1	4,5±0,3	3,1±0,2

ческих показателей (Никольский, 1955, 1974; Поляков, 1958, 1960—1962). Аналогичная закономерность обнаружена при анализе некоторых показателей водно-солевого обмена: коэффициент вариации концентрации осмотически активных веществ в крови животных уменьшается по мере совершенствования механизмов водно-солевого гомеостаза в процессе эволюции (Наточин, 1982).

Кроме того, важно отметить, что сопоставление активности ферментов разных цепей, в частности протеаз и карбогидраз, у рыб из разных водоемов может быть полезным при оценке соотношения белковых и углеводных компонентов корма и быть косвенным показателем характера питания рыб (Кузьмина, 1981, 1986; Кузьмина и др., 1983, и др.). Наконец, большой интерес представляет вопрос о темпах становления гидролитических функций у рыб разных видов и влияние на этот процесс биотопной структуры водоема. Действительно, и данные, полученные при исследовании искусственно разводимой молодежи рыб (Плотников, Проскураков, 1984; Ильина, 1986), и данные, полученные при исследовании молодежи из естественных водоемов, свидетельствуют не только о значительных видовых различиях, но и о существенном влиянии на этот процесс условий питания. По всей вероятности, значительную роль при этом играет состав белковых компонентов, в том числе содержание отдельных аминокислот, особенно тирозина. Последнее связано с тем, что тирозин является предшественником в синтезе гормонов щитовидной железы (тироксина), гормонов мозгового слоя надпочечников (адреналина) и меланинов. В свою очередь синтез пищеварительных ферментов находится под гормональным контролем, а тироксин у костистых рыб, по-видимому, стимулирует метаморфоз. Действительно, согласно гипотезе Спикера, основная роль тиреоидных гормонов заключается в регуляции преадаптации животных за счет изменений в кишечнике и других структурах, связанных с начальными этапами ассимиляции пищи (Specker, 1988). Отсюда ясна исключительно важная роль тирозина пищи на ранних этапах онтогенеза костистых рыб. Однако эти вопросы нуждаются в серьезном дальнейшем исследовании.

5.5. Индивидуальная варибельность активности ферментов в популяциях рыб

В предыдущих разделах были приведены сведения о значительной внутривидовой изменчивости активности пищеварительных гидролаз, обусловленной сезоном, возрастом и другими факторами. Вместе с тем существует не менее значительная индивидуальная варибельность характеристик одноименных ферментов у рыб одной и той же популяции.

Активность ферментов. Для рыб, обитающих в Волжском плёсе Рыбинского водохранилища, установлены годовые флюктуа-

ции активности ферментов. Так, активность сахаразы в слизистой кишке леща летом в разные годы составляла $0,69 \pm 0,13$, $0,96 \pm 0,09$ и $2,56 \pm 0,13$ мкмоль \cdot г $^{-1}$ \cdot мин $^{-1}$, активность щелочной фосфатазы — $0,15 \pm 0,03$, $0,35 \pm 0,04$ и $0,42 \pm 0,06$ мкмоль \cdot г $^{-1}$ \times мин $^{-1}$. Большое влияние на годовые флюктуации активности гидролаз может оказывать температура воды. В специальных экспериментах, поставленных на карпах, продемонстрировано значительное снижение активности сахаразы и увеличение активности щелочной фосфатазы при увеличении температуры акклимации рыб от 13 до 35 °С (от $2,20 \pm 0,70$ до $0,53 \pm 0,07$ и от $0,07 \pm 0,01$ до $0,36 \pm 0,07$ мкмоль \cdot г $^{-1}$ \cdot мин $^{-1}$ для первого и второго ферментов соответственно), что свидетельствует о разнонаправленности изменений активности разноименных гидролаз под влиянием одного же фактора среды.

Вместе с тем наблюдается значительная индивидуальная варибельность уровня ферментативной активности у достаточно однородной по физиологическому состоянию группы рыб, которая иногда превосходит видовые различия. В частности, активность α -амилазы у леща размером 25—30 см в начале периода нагула колеблется от 0,44 до 13,4 мг \cdot г $^{-1}$ \cdot мин $^{-1}$. Сопоставление этих данных с приведенными в разделах 5,1 и 5,2 показывает, что нижняя граница диапазона колебаний этого показателя у леща в 2 раза ниже средних значений, характерных для щуки, а верхняя — близка таковым плотвы.

Ниже приведены данные, касающиеся детального изучения активности ряда щеточнокаемных ферментов у двух преднерестовых группировок леща, находящегося на IV стадии зрелости гонад. Определения, проведенные в мае, позволили установить разную степень изменчивости разноименных ферментов (табл. 16). Эти данные свидетельствуют об относительно высокой активности ферментов группы мальтаз и глицил-L-лейциндипептидазы. Активность сахаразы и щелочной фосфатазы на 1—2 порядка ниже. У рыб разного пола статистически достоверные различия в уровне активности исследованных ферментов не выявлены, однако амплитуда колебаний у тех и других различна. Так, максимальные значения активности сахаразы у рыб из низовья р. Сить превышают минимальные в 4,6 раза у самок и в 5,6 раза у самцов, мальтазы — в 3,4 и 2,9 раза соответственно. Диапазон изменчивости щелочной фосфатазы, напротив, у самцов выше, чем у самок (в 5,0 и 2,9 раза). Наибольшие различия в уровне ферментативной активности у разных особей леща отмечены для глицил-L-лейциндипептидазы (в 17,1 и 12,3 раза для самок и самцов соответственно). Поскольку размерно-возрастной состав исследованной группировки (13—15 лет) и гормональный статус рыб достаточно однородны, а зависимость величины показателей от возраста отсутствовала (Кузьмина, Голованова, 1990), можно предположить, что наблюдаемые различия обусловлены особенностями обменных процессов, в частности соотношением механизмов эндо- и экзотрофии у разных особей леща.

Таблица 16

Активность некоторых ферментов в слизистой кишке леща из различных преднерестовых группировок, отловленных в р. Сить, мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹

Пол	Общая протеолитическая активность	Активность дипептидаз	Общая амилазная активность	Активность ферментов группы мальтаз	Активность сахаразы	Активность щелочной фосфатазы*
Верховье						
♂ (27)	$\frac{4,38 \pm 0,90}{0,74 - 20,00}$ (106,2)	$\frac{1,82 \pm 0,28}{0,01 - 6,53}$ (79,4)	$\frac{6,13 \pm 0,42}{3,35 - 11,16}$ (36,0)	$\frac{2,46 \pm 0,11}{1,07 - 3,38}$ (23,5)	$\frac{0,54 \pm 0,04}{0,28 - 1,04}$ (35,9)	$\frac{39,12 \pm 2,03}{24,4 - 60,7}$ (26,9)
	$\frac{4,31 \pm 0,68}{1,11 - 13,10}$ (79,1)	$\frac{2,20 \pm 0,28}{0,01 - 5,19}$ (66,6)	$\frac{6,42 \pm 0,47}{1,75 - 11,08}$ (36,8)	$\frac{2,93 \pm 0,12}{1,66 - 4,44}$ (20,2)	$\frac{0,53 \pm 0,04}{0,28 - 1,01}$ (41,0)	$\frac{38,60 \pm 2,54}{18,9 - 71,0}$ (32,9)
Низовье						
♂ (24)	$\frac{2,90 \pm 0,50}{1,11 - 10,00}$ (87,7)	$\frac{1,90 \pm 0,33}{0,01 - 6,33}$ (86,3)	$\frac{5,16 \pm 0,25}{3,25 - 8,41}$ (24,1)	$\frac{3,15 \pm 0,16}{1,60 - 4,58}$ (24,7)	$\frac{0,36 \pm 0,04}{0,12 - 0,67}$ (49,7)	$\frac{42,34 \pm 2,98}{13,3 - 66,7}$ (34,5)
	$\frac{5,05 \pm 0,86}{0,92 - 13,52}$ (83,7)	$\frac{2,66 \pm 0,39}{0,01 - 8,88}$ (71,1)	$\frac{7,01 \pm 0,59}{3,08 - 11,75}$ (40,9)	$\frac{3,29 \pm 0,16}{1,24 - 4,27}$ (23,5)	$\frac{0,37 \pm 0,03}{0,14 - 0,64}$ (42,3)	$\frac{40,05 \pm 2,36}{21,0 - 61,4}$ (28,7)

В первой половине нагульного периода (июнь) у леща, отловленного в близлежащем районе, средние значения активности сахаразы — маркерного фермента мембранного пищеварения — практически не изменяются (табл. 17). Вместе с тем одновременное исследование группировок, различающихся по возрасту и физиологическому состоянию, позволяет выявить их влияние на изменчивость активности этого типичного щеточнокаемного фермента. Так, у близких по размеру и исследованных в преднерестовый период самок на этапе К (половой зрелости) уровень активности сахаразы ниже, а амплитуда колебания и коэффициент вариации показателя несколько выше. У самцов и активнее, и величина CV ниже, чем в преднерестовый период. У самок младших возрастных групп уровень ферментативной активности близок таковому половозрелых рыб, у самцов — значительно выше. Характерно отсутствие существенных различий в величине коэффициента вариации у неполовозрелых рыб, а также большая варибельность показателя у половозрелых самок по сравнению с самцами.

Поскольку рыбы, находящиеся на этапах J₃—К, питаются на одних и тех же русловых участках водохранилища, причем интенсивность питания половозрелых рыб выше за счет более полного освоения кормовой базы (Житенева, Баканов, 1981), логично было бы ожидать у них более высокого уровня ферментативной активности и значительно меньшей амплитуды колебания показателя. Вместе с тем сужение амплитуды колебания активности сахаразы, сопровождающиеся почти двукратным снижением уровня ферментативной активности, отмечено только для самцов. Вероятно, последнее связано с меньшей интенсивностью обменных процессов у рыб более старших групп. Эти данные свидетельствуют о значительном влиянии физиологического состояния рыб не только на уровень активности пищеварительных гидролаз, но и на его варибельность.

Суммарная активность сахаразы (активность фермента во всей слизистой) у рыб тех же выборок варьирует значительно. При этом у самок амплитуда колебания признака значительно выше, чем у самцов, — максимальные значения превышают минимальные в 17,3 и 11,2 раза у первых и вторых соответственно. Эта закономерность характерна для всех исследованных этапов развития рыб. Так, на этапе J₃ аналогичные показатели равны 12,2 и 8,6, на этапе J₃—К — 17,0 и 8,8, на этапе К — 17,3 и 6,9 для самок и самцов соответственно. Вместе с тем представленные в табл. 17 данные, свидетельствуют об отсутствии существенных различий в границах варибельности сахарозной активности, обусловленных возрастом, полом или состоянием репродуктивной функции. Действительно, и самые низкие, и самые высокие значения тотальной активности отмечены у самок на этапе К.

Таким образом, активность пищеварительных гидролаз подвержена значительным индивидуальным колебаниям. При этом границы индивидуальной варибельности у однородной по физиологическому состоянию выборки рыб сопоставимы с таковыми

Активность сахаразы в слизистой кишечника леща в нагульный период, мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹

		Активность фермента			
		I г массы ткани		всей слизистой	
$\sigma \sigma$ и $\text{♀} \text{♀}$ (n=130)	$\sigma \sigma$ (n=46)	$\text{♀} \text{♀}$ (n=84)	$\sigma \sigma$ и $\text{♀} \text{♀}$ (n=130)	$\sigma \sigma$ (n=46)	$\text{♀} \text{♀}$ I ₃ (n=84)
$\frac{0,36 \pm 0,01}{0,08-1,00}$ (48,2)	$\frac{0,34 \pm 0,02}{0,08-0,81}$ (48,3)	$\frac{0,38 \pm 0,02}{0,09-1,00}$ (48,1)	$\frac{2,28 \pm 0,14}{0,16-7,97}$ (71,2)	$\frac{1,75 \pm 0,15}{0,44-4,91}$ (57,5)	$\frac{2,57 \pm 0,19}{0,16-7,97}$ (70,7)
$\sigma \sigma$ I ₃ (n=21)	$\sigma \sigma$ I ₃ -K (n=19)	$\sigma \sigma$ K (n=6)	$\sigma \sigma$ I ₃ (n=21)	$\sigma \sigma$ I ₃ -K (n=19)	$\sigma \sigma$ K (n=6)
$\frac{0,40 \pm 0,04}{0,15-0,81}$ (42,3)	$\frac{0,31 \pm 0,03}{0,08-0,61}$ (47,9)	$\frac{0,21 \pm 0,03}{0,09-0,31}$ (38,1)	$\frac{1,53 \pm 0,18}{0,45-3,89}$ (53,9)	$\frac{1,76 \pm 0,23}{0,44-3,89}$ (57,0)	$\frac{2,45 \pm 0,57}{0,71-4,91}$ (56,9)
$\text{♀} \text{♀}$ I ₃ (n=26)	$\text{♀} \text{♀}$ I ₃ -K (n=30)	$\text{♀} \text{♀}$ K (n=28)	$\text{♀} \text{♀}$ I ₃ (n=26)	$\text{♀} \text{♀}$ I ₃ -K (n=19)	$\text{♀} \text{♀}$ K (n=28)
$\frac{0,38 \pm 0,03}{0,11-0,71}$ (41,8)	$\frac{0,39 \pm 0,04}{0,09-1,00}$ (55,1)	$\frac{0,35 \pm 0,03}{0,09-1,72}$ (49,2)	$\frac{1,36 \pm 0,16}{0,26-3,13}$ (60,2)	$\frac{2,49 \pm 0,29}{0,38-6,46}$ (63,5)	$\frac{3,73 \pm 0,38}{0,16-7,97}$ (52,6)

Примечание. Здесь: I₃ — неполовозрелые рыбы, этап развития, предшествующий половой зрелости, K — этап половой зрелости.

сезонной и возрастной изменчивости активности одноименных ферментов.

Функциональная топография кишечника рыб. Эффективность гидролитических функций зависит не только от уровня активности ферментов, но и их распределения вдоль кишечника, которое у разных особей одного вида может значительно варьировать (Wilson, 1962; Уголев, 1963, 1972, 1985; Spenser, 1964; Wiseman, 1964; Кушак, 1983). В связи с этим важно исследование индивидуальной изменчивости градиентов активности различных гидролаз рыб.

Данные, касающиеся проксимо-дистального распределения в слизистой кишечника рыб активности сахаразы и щелочной фосфатазы, полученные по средним для выборки значениям, были приведены на рис. 7 и 8. У всех исследованных рыб, кроме карпа, наиболее высокий уровень активности α -амилазы и сахаразы (до 80—90 %) наблюдается в дистальных отделах, мальтазы у леща — в проксимальном и третьем медиальном участках, у щуки — в медиальном (краниальном участке заднего отдела (см. рис. 7, 8). Активность щелочной фосфатазы, напротив, у большинства исследованных видов наиболее значительна в проксимальных сегментах кишки.

Вместе с тем для всех рыб характерны определенные индивидуальные различия в характере градиентов. В частности, несмотря на то что у щук выявлен достаточно четкий кранио-каудальный градиент активности щелочной фосфатазы, а у налима — градиент с максимумом в медиальном отделе, степень их выраженности различна. У леща и плотвы наблюдается более значительная вариабельность градиентов: максимум может быть в первом, втором и даже в третьем участках. Максимум активности α -амилазы у всех исследованных видов отмечен не только в дистальном, но и в медиальном, а также проксимальном отделах. Однако наибольшая вариабельность проксимо-дистальных градиентов характерна для дисахаридаз. Так, у леща максимальная активность мальтазы в первом отделе зарегистрирована 4 раза, в третьем — 1, в четвертом — 6, в пятом — 1 раз из 12. У щуки максимальная активность чаще обнаруживается в дистальном отделе (5 раз), несколько реже в медиальном (4 раза) и совсем редко (1 раз из 10) в проксимальном отделе (Кузьмина, 1984). При исследовании сахаразы в слизистой кишечника леща максимум активности дважды отмечен в первом и пятом отделах, трижды — в четвертом. У щуки максимум активности фермента 6 раз отмечен в дистальном и 2 раза в медиальном отделе.

В специальных экспериментах у одних и тех же особей леща изучали распределение активности мальтазы и сахаразы (рис. 18). Сопоставление полученных результатов с вышеописанными свидетельствует как о значительном сходстве градиентов, рассчитанных на основании средних значений, так и наличии индивидуальной вариабельности градиентов. Особого внимания заслуживает отсутствие корреляции между распределением вдоль

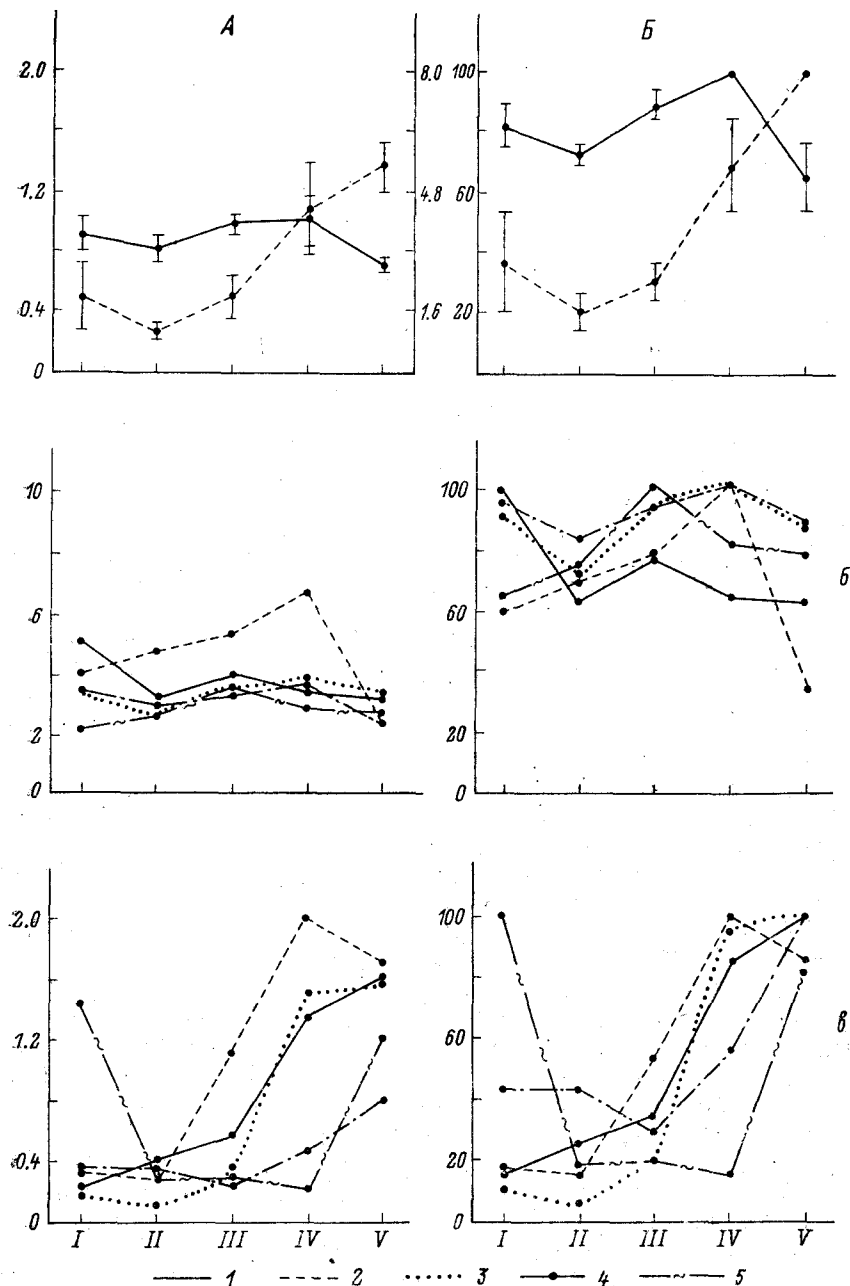


Рис. 18. Варианты распределения активности мальтазы и сахаразы в слизистой различных отделов кишечника леща.

По оси абсцисс — отделы кишечника (I-V), по оси ординат — активность ферментов (А), $\mu\text{моль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$; относительная активность ферментов (Б), % от максимальной, принятой за 100; а: 1 — мальтаза; 2 — сахараза; б — активность мальтазы у отдельных особей (1-5); в — активность сахаразы у отдельных особей (1-5).

кишечника активности исследованных дисахаридаз. Кроме того, следует отметить варибельность соотношения активности мальтазы и сахаразы в различных участках кишечника. В частности, в проксимальном отделе кишечника активность сахаразы составляет от 4,0 до 38,5 %, в дистальном — от 25,8 до 42,2 % от суммарной активности дисахаридаз. Было показано, что при изменении функционального состояния организма (модель сытость—голод) характер проксимо-дистальных градиентов ферментативных активностей меняется. Отмечено исчезновение резкого нисходящего градиента щелочной фосфатазы у голодающих животных в результате более значительного снижения уровня ферментативной активности в проксимальных сегментах кишки. Так, у питающихся рыб активность щелочной фосфатазы в первом и пятом сегментах соответствует $0,26 \pm 0,05$ и $0,07 \pm 0,02$, у голодающих рыб — соответственно $0,16 \pm 0,03$ и $0,08 \pm 0,03$ $\mu\text{моль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$. Вследствие этого различия между значениями активности первого и пятого сегментов в первом случае составляют 73,4 %, во втором — 50,0 %.

Итак, полученные результаты свидетельствуют о том, что у рыб одного вида варьирует не только уровень активности ферментов, но и характер распределения одноименных ферментов. Функциональная топография кишечника достаточно однородной группы рыб может существенно изменяться вплоть до смены характера градиента на противоположный (например, одновременная регистрация у разных особей восходящих и нисходящих градиентов активности ферментов группы мальтаз).

Таким образом, существует значительная внутривидовая варибельность как уровня активности одноименных мембранных ферментов, так и проксимо-дистальных градиентов ферментативных активностей у рыб разных видов. Действительно, помимо возрастных и сезонных изменений активности пищеварительных гидролаз обнаружены значительные различия в уровне активности одноименных ферментов у относительно однородных группировок рыб, отловленных в одно время на одном и том же биотопе. Как известно, варибельность физиологических и биохимических признаков может быть не только генотипической, но и фенотипической. На основании имеющихся данных нельзя однозначно ответить на вопрос о том, является ли наблюдаемая разнокачественность результатом генотипической изменчивости, или это акклимация, реализуемая в рамках широкой нормы реакции (Яблоков, 1987).

Сведения об изоферментном составе исследованных мембранных гидролаз у костистых рыб отсутствуют, однако, известно о наличии множественных молекулярных форм щелочной фосфатазы из спирального клапана ската (Evans, Ford, 1976), а также трипсиноподобных ферментов пищеварительного тракта у атлантического лосося (Torggissen, 1987), карпа (Хаблюк, 1984; Ильина, 1986) и форели (Титарева, Ильина, 1987). Особо следует отметить, что из гепатопанкреаса карпа выделены не только множественные

молекулярные формы протеолитических ферментов (2 формы трипсина, 6 — химотрипсина, 2 — эластазы), но и две изоформы амилазы (Хаблюк, 1984). Поскольку α -амилаза, обеспечивающая процессы мембранного пищеварения, панкреатического происхождения, а 4 из 8 видов являются представителями сем. Sugiinidae (карп, лещ, синец, плотва), можно полагать, что, по крайней мере у этих видов, α -амилаза и, видимо, другие ферменты слизистой также представлены множественными молекулярными формами. Наличие изоферментов, обладающих разными кинетическими характеристиками позволило бы объяснить столь высокую внутривидовую и внутривидовую вариабельность активности мембранных гидролаз, которая в ряде случаев перекрывает межвидовые различия. Ранее неоднократно обращалось внимание на чрезвычайную сложность трофо-экологической структуры водных биоценозов, с которой в значительной мере связаны такие явления, как расхождение особей поколения по характеру питания, формирование группировок с определенной интенсивностью питания, роста и скорости накопления энергетических резервов, позволяющих популяциям полнее осваивать кормовую базу и тем самым сохранить устойчивость (Шатуновский, 1980).

Вышесказанное позволяет считать, что ферментативный аппарат слизистой кишечника благодаря исключительной пластичности выполняет немаловажную роль в эффективном питании рыб. При этом адаптивные перестройки достигаются не только в результате изменения уровня ферментативной активности, но и за счет изменения функциональной топографии кишечника рыб. Вместе с тем следует подчеркнуть, что, поскольку селективной ценностью обладают не структуры и функции, а их эффекты, варьирование физиологических признаков может служить основой для микроэволюции вида и, возможно, для макроэволюции (Уголев, 1985).

5.6. Биоценотические аспекты процессов пищеварения

Как подчеркивалось в главе 1, единство, гомеостаз и многие другие важные свойства биосферы в значительной мере возможны лишь благодаря передаче по трофическим цепям неметаболизированной так называемыми аутотрофами части органического вещества, составляющего приблизительно 10 % от синтезированного (Уголев, 1985). Гомеостаз и устойчивость водных экосистем подобно другим экосистемам определяются равновесием между синтезом и деструкцией органических веществ. При этом функцию обратной связи в «гидротрофостате», как и в наземных экосистемах, должны выполнять многочисленные гидролазы гидробионтов, находящихся на разных уровнях трофических цепей или сетей.

В связи с этим при оценке биоценотических аспектов процессов пищеварения у рыб необходимо учитывать не только традиционные показатели, такие как биохимический состав и калорийность объектов питания, но и активность пищеварительных фер-

ментов трофических партнеров, поскольку отсутствие обратных связей сделало бы невозможным функционирование водных экосистем и биосферы в целом. Ниже последовательно будут рассмотрены некоторые аспекты этих важных сторон пищевых взаимоотношений рыб и других гидробионтов.

Биохимический состав кормовых объектов рыб. Сведения о биохимическом составе кормовых объектов рыб довольно противоречивы из-за недостаточного контроля за физиологическим состоянием гидробионтов, а также вследствие разнообразия методов определения их биохимического состава (Кузьмина и др., 1979; Кузьмина, 1982а, 1982б). Вместе с тем содержание отдельных энергетических компонентов влияет не только на физическую, но и на физиологическую калорийность пищи (Кузьмина и др., 1979), которая зависит от степени развития гидролитических и транспортных функций пищеварительной системы рыб. При этом знание биохимического состава кормовых объектов важно не только для решения вопроса об эффективности питания рыб, но и вопроса об адаптивности ферментативного спектра рыб к составу пищи, а также некоторых аспектов полисубстратного пищеварения.

Использование современных методов исследования позволило пересмотреть некоторые представления о биохимическом составе кормовых объектов рыб. Нами исследован зоопланктон из пелагиали Рыбинского водохранилища, по биомассе на 70,2 % состоящий из *Bosmina longispina* (42,5 %) и *B. coregoni* (27,7 %), прибрежный зоопланктон на 85 % состоящий из *Daphnia pulex*, зообентос и молодь рыб (Кузьмина и др., 1979). Полученные данные (табл. 18) свидетельствуют о том, что исследованные организмы содержат, как правило, от 80 до 90 % воды. На примере дрейссены показана зависимость результатов определений от наличия или отсутствия раковины у моллюсков. Так, особи с неповрежденной раковинной содержали 65,6 %, особи с удаленной раковинной — 92,5 % воды. Кроме того, обращает на себя внимание значительное содержание сухого вещества у представителей сем. Tubificidae (17,5 %) и у прудовиков, лишенных раковины (18,5 %). Анализ сухого вещества показал, что соотношение количества золы и органических веществ у исследованных представителей гидрофауны неодинаково, причем наиболее отчетливые различия выявляются при расчете содержания органического вещества на сырую массу организмов. Действительно, если количество органических веществ в зоопланктоне соответствует 8,5 %, то у представителей зообентоса — 11,6 % (хинономиды) и 15,6 % (олигохеты). У моллюсков содержание органических веществ различается более чем в 2 раза (6,8 % у дрейссены, 16,8 % у прудовиков).

При определении концентрации гликогена наименьшее количество его выявлено в суммарно исследованных тканях рыб (0,05 %). При этом необходимо отметить, что содержание гликогена у представителей бентоса, близких в систематическом отношении, различается в той же степени, как и у таксономически да-

Биохимический состав кормовых объектов рыб Рыбинского водохранилища (по: Кузьминой и др., 1979)

Вид	Содержание основных компонентов, % сырой массы							белок
	вода	сухое вещество	зола	органическое вещество	гликоген	липиды		
Зоопланктон: из прибрежья	$\frac{89,5 \pm 1,1}{87,5 - 92,4}$	$\frac{10,5 \pm 1,1}{7,6 - 12,5}$	—	—	$\frac{0,1 \pm 0,06}{0,64 - 1,49}$	$\frac{5,0 \pm 0,4}{3,32 - 8,12}$	—	
из пелагиали	$\frac{90,1 \pm 1,1}{85,5 - 93,0}$	$\frac{9,9 \pm 1,1}{7,0 - 14,5}$	$\frac{14,3 \pm 1,2^*}{10,2 - 19,6}$ (1,4)	$\frac{85,7 \pm 1,2^*}{80,4 - 89,8}$ (8,5)	$\frac{0,2 \pm 0,08}{0,02 - 0,87}$	$\frac{2,6 \pm 0,1}{2,30 - 2,88}$	5,7	
Хирономиды	$\frac{87,2 \pm 2,0}{85,2 - 89,2}$	$\frac{12,8 \pm 2,0}{10,8 - 14,8}$	$\frac{9,0 \pm 0,8^*}{7,8 - 10,4}$ (1,2)	$\frac{91,0 \pm 0,8^*}{89,6 - 92,2}$ (11,6)	$\frac{0,3 \pm 0,03}{0,24 - 0,43}$	$\frac{4,1 \pm 0,2}{1,18 - 7,40}$	7,2	
Олигохеты	$\frac{82,5 \pm 1,3}{77,3 - 86,6}$	$\frac{17,5 \pm 1,3}{13,4 - 22,7}$	$\frac{11,2 \pm 1,6^*}{5,1 - 16,5}$ (1,9)	$\frac{88,8 \pm 1,6}{83,5 - 94,9}$ (15,1)	$\frac{0,7 \pm 0,08}{0,28 - 1,12}$	$\frac{4,5 \pm 0,1}{2,17 - 8,14}$	10,4	
Дрейссена (без раковины)	$\frac{92,5 \pm 0,8}{89,4 - 94,2}$	$\frac{7,5 \pm 0,8}{5,8 - 10,6}$	$\frac{9,9 \pm 1,2^*}{7,4 - 10,5}$ (0,7)	$\frac{90,1 \pm 1,2^*}{89,5 - 92,6}$ (6,8)	$\frac{0,4 \pm 0,1}{0,12 - 0,93}$	$\frac{3,4 \pm 0,5}{1,56 - 4,60}$	3,1	
Прудовик (без раковины)	$\frac{81,5 \pm 0,9}{77,6 - 84,0}$	$\frac{18,5 \pm 0,9}{16,0 - 22,4}$	$\frac{9,2 \pm 2,2^*}{5,9 - 14,8}$ (1,7)	$\frac{90,8 \pm 2,2^*}{85,2 - 94,1}$ (16,5)	$\frac{0,8 \pm 0,02}{0,07 - 1,59}$	$\frac{2,5 \pm 0,4}{1,68 - 3,54}$	13,5	
Молодь рыб	$\frac{84,5 \pm 1,2}{78,8 - 89,6}$	$\frac{15,3 \pm 1,2}{10,4 - 21,2}$	$\frac{12,3 \pm 0,8^*}{9,4 - 16,1}$ (2,0)	$\frac{87,7 \pm 0,8^*}{83,9 - 90,1}$ (13,3)	$\frac{0,3 \pm 0,08}{0,10 - 0,53}$	$\frac{4,7 \pm 0,3}{3,14 - 3,96}$	8,5	

Примечание. В скобках — % сырого вещества, рассчитанный по средним величинам.

* % сухого вещества.

леких групп организмов. Так, концентрация гликогена у дрейссены соответствует 0,3 %, у прудовика — 0,8 %, у хирономид — 0,3 %, у олигохет — 0,7 %. Еще большие различия выявлены при исследовании зоопланктона. Если зоопланктон из защищенного побережья, по массе на 85 % состоящий из *Daphnia pulex*, содержал 1,1 % гликогена, то зоопланктон из пелагиали Волжского плёса Рыбинского водохранилища, в котором доминировали босмины (на 49,5 % из *Bosmina longispina*, на 27,7 % из *B. coregoni*) — только 0,2 % гликогена.

Данные о содержании жира у исследованных объектов оказались более однородными. Близки величины, характеризующие концентрацию липидов в теле хирономид и олигохет (4,1 и 4,5 %), статистически недостоверны различия между значениями, полученными для моллюсков (3,4 % у дрейссен, 2,5 % у прудовиков). Значительные различия обнаружены только при исследовании зоопланктона (5,0 % в пробах из защищенного побережья и 2,6 % в пробах из пелагиали Волжского плёса).

Имеющиеся сведения позволили рассчитать средние значения концентрации белка в использованных пробах. Минимальные величины получены для дрейссены (3,1 %), максимальные — для прудовика — (13,5 %).

При анализе полученного материала необходимо остановиться на нескольких моментах. Во-первых, следует отметить, что данные, характеризующие содержание воды, сухого вещества, золы, суммы органических веществ и белка, хорошо согласуются со сведениями, известными из литературы (Маляревская, Биргер, 1965; Гаджиева, 1974; Филатов, 1974; Кузьмина, 1982а, 1982б, и др.). Во-вторых, нельзя не подчеркнуть значительное отличие результатов, касающихся определения концентрации углеводов и жиров, от сведений имеющихся в литературе. Последнее, по-видимому, обусловлено особенностями используемых методов.

Поскольку жиры и углеводы являются наиболее лабильными компонентами живых организмов, особое внимание мы обратили на методы их определения. При этом для оценки количества жира использовался метод Фолча с соавторами (Folch et al., 1951), который позволяет наиболее полно экстрагировать тканевые липиды. Так, сравнение фракционного состава липидов, выделенных при помощи широко распространенного в гидробиологии метода Сокслета и при помощи метода Фолча с соавторами, показало, что при экстракции липидов эфиром не выделяется значительное количество холестерина, триглицеридов, и особенно фосфолипидов (Лапин, Чернова, 1970). В результате оказывается что имеющиеся в литературе сведения о содержании жира в большинстве случаев значительно занижены (в 5—10 раз), а сопоставимы с нашими определениями лишь данные Фаркаша (Farkas, 1958), обнаружившего у *Ceriodaphnia reticulata* 2,1 %, у *Diaptomus gracilis* — 2,8, у *Cyclops* sp. — 4,1 % жира. Вследствие этого количество углеводов, обычно определяемое путем расчета, часто оказывается значительно завышенным.

Таким образом, полученные результаты позволили не только количественно охарактеризовать биохимический состав основных кормовых объектов ряда массовых видов рыб, но и дали возможность внести поправку в представления о содержании наиболее лабильных компонентов организма гидробионтов — гликогена и жира, что нельзя не учитывать при исследовании характеристик питания и пищеварения рыб. При этом обращает внимание меньшее на порядок по сравнению с беспозвоночными животными содержание гликогена в организме рыб, а также значительное его количество у представителей защищенного прибрежья.

Кроме того, существенное влияние на пищевое поведение рыб и морфо-физиологические характеристики систем, обеспечивающих потребление и эффективное усвоение жертвы, оказывает состав доминирующих, особенно белковых, компонентов пищи, так как деполимеризация различающихся по массе и структуре молекул требует участия различных групп ферментов. В частности, значительно влияет на процессы пищеварения соотношение низко- и высокомолекулярных компонентов корма (Кузьмина и др., 1990).

При исследовании кормовых объектов рыб (рачковый планктон, *Artemia salina*, *Tubifex*, личинки *Chironomus* sp. и *Chaobogus* sp., моллюски и молодь рыб) обнаружены существенные различия в соотношении растворимых и нерастворимых белковых компонентов, а также в их молекулярной массе (Кузьмина и др., 1990). Количество растворимых белков в тканях рыб варьирует от 10 до 25 %, у бентических форм — от 44 до 54 %. Также показано, что у представителей зоопланктона содержание растворимого белка может иногда достигать 70 % от его общего количества (Ильина, 1986). Высокомолекулярные компоненты с массой, близкой 500 000, выявлены у олигохет (36 %), личинок хаборуса (15 %) и рыб (18 %). Белки с массой 100 000—200 000 в значительном количестве (24 %) обнаружены у личинок хаборуса (у большинства видов менее 5 %). Белки с массой около 40 000—70 000 представлены более равномерно — чаще 5—7 %, максимум — 9,8 % (*Chaobogus* sp.). Близкие вышеописанным значения получены для молекул с массой 10 000—20 000. Исключение составляет личинки *Chironomus* sp., у которых преобладают белки с массой 17 000—74 %.

Содержание молекул с массой, близкой 1000 (пептиды и аминокислоты), максимально у представителей рачкового планктона (90 %), значительно у некоторых бентических форм. При разделении низкомолекулярных пептидов и аминокислот в препаратах олигохет и личинок хаборуса установлено преобладание пептидов.

На основании данных, касающихся концентрации растворимого белка, у исследованных гидробионтов были рассчитаны средние значения содержания белковых компонентов с разной молекулярной массой. Оказалось, что значительное их количество (более 1 г на 100 г сырой массы ткани) приходится на высокомолекулярные и сложные (с молекулярной массой) выше 100 000) белковые ком-

поненты. Однако наибольшее количество последних приходится в основном на низкомолекулярные пептиды и аминокислоты (0,5—4,1 г на 100 г сырой массы ткани). Лишь у личинок хирономид основная часть белковых компонентов представлена низкомолекулярными белками, идентифицированными как миоглобин.

Анализ данных показывает, что для усвоения консументами 1 г белковых компонентов, различающихся по таксономии жертв, требуется разная мощность ферментных систем. Рыбам со слабо-развитой цепью протеаз (личинки всех видов рыб, некоторые виды бенто- и планктофаги) доступны лишь кормовые объекты с большим количеством низкомолекулярных растворимых белковых компонентов.

Поскольку биохимический состав кормовых объектов значительно варьирует в зависимости от гидрологического и гидрохимического режимов водоема, возраста и условий питания организмов, а также других факторов (Кузьмина, 1982а, 1982б), ясно, что абсолютные величины содержания отдельных компонентов у различных гидробионтов могут несколько отличаться от приводимых данных. Но несомненно, что зоопланктон содержит большее количество легкоусвояемых белковых компонентов, в то время как объекты питания ряда бентофагов и всех типичных и факультативных хищников — напротив, большее количество белковых компонентов, которые требуют предварительного их гидролиза ферментными системами, обеспечивающими у рыб процессы полостного и мембранного пищеварения.

Таким образом, соотношение белковых компонентов с разной молекулярной массой у гидробионтов, которые составляют кормовую базу рыб, отличающихся по характеру питания, различно. Это дает основание считать, что молекулярно-массовые характеристики белковых компонентов кормовых объектов оказывают существенное влияние на пищеварительные функции у рыб разных экологических групп.

Активность гидролаз кормовых объектов рыб. Данные, касающиеся уровня активности пищеварительных гидролаз в организме кормовых объектов, были подробно обсуждены в разделе 4.5. Приведенные материалы свидетельствуют о значительной активности ряда ферментов в тканях потенциальных объектов питания. Наиболее высоким оказался уровень активности карбогидраз у массовых бентических форм (рис. 19). Сопоставление этих результатов с приведенными в разделе 5.1 свидетельствует о том, что уровень общей амилолитической активности у личинок хирономид, олигохет, и особенно прудовиков, близок таковому слизистой кишечника рыб (бентофагов) и значительно превышает активность этих ферментов у типичных и факультативных хищников. Активность протеиназ в организме беспозвоночных животных значительно ниже, чем в кишечнике рыб. Однако кормовые объекты, попадая в пищеварительную систему консументов, часто находятся там в течение длительного времени (несколько часов и даже суток), причем в их тканях наблюдается сдвиг рН в сторону кис-

лых значений, особенно в том случае, если консументами являются рыбы с выраженной кислотообразующей функцией желудка.

Как указывалось в разделе 4.5, в результате многочасовой экспозиции гидробионтов в растворе Рингера (рН 3,0—6,0), не содержащем субстратов соответствующих реакций, уровень активности гидролаз за счет механизма индуцированного аутолиза может значительно увеличиваться. При этом активность объектов питания оказывается сопоставимой с таковой одноименных мембранных

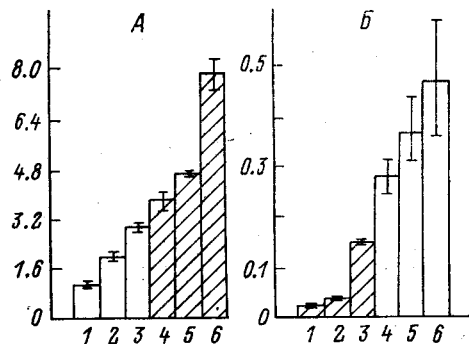


Рис. 19. Общая амилолитическая (А) и общая протеолитическая (Б) активность кормовых объектов рыб из Рыбинского водохранилища, мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹.

По оси абсцисс — доминирующие виды гидробионтов; А: 1 — Diaptomus sp., 2 — Bosmina longispina, 3 — Polyphemus pediculus, 4 — Chironomus plumosus, 5 — Tubifex tubifex, 6 — Limnea stagnalis; Б: 1 — Limnea stagnalis, 2 — Tubifex tubifex, 3 — Chironomus plumosus, 4 — Polyphemus pediculus, 5 — Bosmina longispina, 6 — Diaptomus sp.

гидролаз и составляет в зависимости от спектра питания рыб $1/6$ — $1/2$ активности полостных ферментов (Кузьмина, 1990а).

Помимо этого значительную роль в деполимеризации объектов питания, по всей вероятности, играют ферменты микрофлоры. Действительно, установлено продуцирование бактериями амилолитических и протеолитических ферментов (Шивокене, 1984; Kamei et al., 1985; Лубянскене и др., 1986, 1989, и др.), а также хитиназ (Kamei et al., 1985; Lindsay, Gooday, 1985; Kono et al., 1987, и др.). При этом особенно важно то обстоятельство, что варьирует не только видовой состав кормовых объектов, но состав и биомасса бактерий в зависимости от возраста рыб, температуры, интенсивности питания, концентрации солей, метаболитов и других факторов (Лясаускене, 1984; Лубянскене и др., 1976, 1978, 1980, 1989; Lésel, Péringier, 1981; Kamei et al., 1985; Kono et al., 1987, и др.). При исследовании кишечной флоры серебряного карася отмечена индивидуальная вариабельность биомассы в разные дни наблюдений (Sugita et al., 1987).

У травоядных видов помимо микрофлоры в ферментативном переваривании водорослей участвуют жгутиковые и реснитчатые простейшие (Rimmer, Wiebe, 1987).

Перечисленные факты свидетельствуют о том, что интенсивность процессов пищеварения у рыб зависит не только от степени развития ферментативного аппарата микроорганизма, но и от степени участия гидролаз жертвы и различных микроорганизмов, вклад которых в разных биогеоценозах может быть различным, так как в значительной мере зависит не только от абиотических

факторов, но и от экологии жертвы и симбионтов, а также места жертвы в пищевой цепи.

Таким образом, интенсивность процессов пищеварения и степень развития тех или иных ферментных систем у рыб разных видов в значительной мере зависят от особенностей биогеоценозов, в частности, видového состава потенциальных объектов питания, биохимического состава доминирующих кормовых объектов и пула их гидролаз, а также ферментов микрофлоры, иными словами, интенсивность процессов пищеварения у рыб определяется степенью развития ферментных систем трофических партнеров и их симбионтов.

5.7. Заключительные замечания

В данной главе были представлены материалы, свидетельствующие о значительной зависимости уровня активности пищеварительных гидролаз от особенностей биологии рыб. При этом обращалось внимание не только на традиционно исследуемые характеристики ферментных систем, обеспечивающих полостное и мембранное пищеварение, но также на роль ферментов объектов питания и симбионтов в процессах деградации пищи.

Прежде всего следует обсудить влияние характера питания и композиции пищи на уровень активности одноименных гидролаз у рыб разных видов и экологических групп.

Данные, касающиеся активности карбогидраз, особенно у пресноводных рыб, свидетельствуют о значительных видовых различиях уровня ферментативной активности. Особо следует отметить обнаруженное нами последовательное возрастание активности ферментов в ряду типичные хищники → хищники-факультативные бентофаги → типичные бентофаги (Кузьмина, 1981; Уголев, Кузьмина, 1988). Наиболее значительные видовые различия выявлены при исследовании α-амилазы: величина максимальной индивидуальной активности фермента (у карпа) превышает значения минимальной (у щуки) в 70—100 раз. Диапазон изменчивости уровня активности дисахаридаз много ниже: максимальная индивидуальная активность превышает минимальную в 22,5 раза в случае сахаразы (густера—щука) и в 4,1 раза в случае мальтазы (карась—щука). Активность протеаз, напротив, выше у хищников. Однако видовые различия в уровне активности протеиназ значительно уступают таковым карбогидраз (Кузьмина, Кузьмина, 1990). Эти наблюдения подтверждают классические представления о том, что у «мирных» рыб преобладает активность карбогидраз, у хищных — протеаз (Vonk, 1927; Турпаев, 1941; Al-Hussaini, 1949b; Перель, 1950; Barrington, 1957; Fish, 1960; Перель, Реморов, 1967; Phillips, 1969; Love, 1970; Перель и др., 1971; Barnard, 1977a—1977b, Fange, Grove, 1979; Уголев и др., 1983, и др.). Видовые различия в уровне щелочно-фосфатазной активности не коррелируют с таковыми исследованных карбогидраз. В ряде случаев отмечена

зависимость между уровнем щелочно-фосфатазной активности и интенсивностью питания рыб, особенно ярко проявившаяся при исследовании налима, наиболее интенсивно питающегося в зимний период.

Различия в уровне активности карбогидраз у рыб разных экологических групп в значительной степени коррелируют с содержанием углеводов в кормовых объектах, причем возрастание уровня ферментативной активности у видов, входящих в состав одной и той же экологической группы, также может быть объяснено различиями в спектре питания, а следовательно и в концентрации углеводов (Кузьмина и др., 1979; Кузьмина, 1981, 1982а, 1982б и др.).

Возрастные перестройки ферментных систем также в значительной мере обусловлены изменением спектра питания рыб. При этом, как и в случае видовых различий, у половозрелых особей выявляется связь с композицией пищи рыб. Действительно, на ранних этапах онтогенеза, когда личинки и мальки рыб питаются планктоном, видовые различия в уровне активности основных гидролаз, как правило, ниже, чем у взрослых рыб. Однако по мере перехода молоди рыб на характерный для взрослых особей тип питания наблюдается изменение ферментативного спектра. У хищников увеличивается активность ферментов цепи протеаз, у бенто- и планктофагов — карбогидраз (Уголев и др., 1976; Гредин, 1977; Кузьмина, Стрельникова, 1985а, 1985б, и др.). Механизмы возрастных перестроек ферментных систем, обусловленных изменением состава пищи рыб, не исследовались. Вероятно, значительная роль, как и у млекопитающих принадлежит механизму субстратной регуляции (Уголев и др., 1977; Груздков и др., 1981). Не исключено, что с возрастом изменяется изоферментный состав гидролаз. Так, при исследовании щелочной фосфатазы у разных видов рыб установлено, что в зоне щеточной каймы фермент появляется на 35—45-е сутки после оплодотворения (Ikeda, 1959; Prakash, 1961). На примере энтероцитоз спирального клапана ската показано, что в щеточной кайме фермент появляется у эмбрионов длиной 51 мм, причем обнаруживается 1 изофермент (В), у эмбрионов длиной 78—91 мм обнаруживаются 2 изозима (А и В), у эмбрионов длиной 138—204 мм и взрослых скатов — также 2 изофермента, но изозим В заменяется изозимом С (А и С). При этом полная дифференциация спирального клапана по времени совпадает с появлением изозима С (Evans, Ford, 1976).

Если указанные выше перестройки касались влияния на активность пищеварительных гидролаз главным образом биохимического состава пищи, то изменения, обусловленные циркадными и сезонными ритмами, в значительной мере связаны с изменением интенсивности питания рыб. В силу фрагментарности сведений о характере изменения ферментативной активности под влиянием циркадных ритмов в настоящее время интерпретация этих данных затруднительна. Вместе с тем ясно, что суточная динамика активности пищеварительных гидролаз является результирующей эндо-

генных циркадных ритмов и циркадных ритмов жертвы, влияющих на ее доступность.

Сезонная динамика активности ферментов изучена значительно полнее. Особый интерес к этому вопросу связан с тем, что рыбы, будучи пойкилотермными животными, в большей степени, чем высшие позвоночные, зависят от температуры окружающей среды.

Данные большинства работ свидетельствуют о том, что максимальный уровень ферментативной активности совпадает с периодом наиболее активного питания рыб, приходющимся на лето (Ананичев, 1959; Чепик, 1964; Берман, 1965; Берман, Саленниче, 1966; Строганов, Бузинова, 1969; Бузинова, 1973; Пегель, Антипин, 1972, и др.). Проведенное нами сопоставление уровня ферментативной активности у рыб, значительно различающихся по типу питания, а также использование современных методических подходов, позволили выявить более значительные изменения уровня ферментативной активности, чем было известно ранее. Наибольший диапазон изменения активности отмечен для α -амилазы (Кузьмина, 1980). В частности, при исследовании леща разных размерно-возрастных групп установлено, что в период наиболее интенсивного питания (в июле) активность ферментов при 20 °С выше, чем зимой, в 240—490 раз. Сезонные ритмы влияют не только на уровень активности секретируемого, но и на уровень активности инкретируемого фермента. При этом наблюдается зависимость сезонной динамики амилалитической активности крови рыб от ритмов пищевой активности того или иного вида.

Также установлено, что сезонной ритмике подвержены не только панкреатические по происхождению ферменты (α -амилаза, трипсин и другие протеиназы), но и собственно кишечные (сахараза, щелочная фосфатаза).

Особо следует обратить внимание на зависимость характера сезонной динамики ферментативной активности от вида и характера питания рыб, типа гидролизуемых связей в пищевых субстратах, а также от температуры инкубационной среды.

Анализируя первый аспект, важно подчеркнуть, что при температуре инкубации 20 °С у типичного хищника щуки, питающейся на протяжении всего годового цикла, сезонная динамика активности сахаразы и в значительной мере щелочной фосфатазы практически не выражена. У пелагического хищника судака максимум щелочно-фосфатазной активности отмечен весной, у хищника-факультативного бентофага налима, наиболее интенсивно питающегося в осенне-зимний период, максимальная активность сахаразы и щелочной фосфатазы отмечена осенью. У типичных бентофагов леща и плотвы, прекращающих питаться при температуре ниже 7 °С, отчетливый максимум, совпадающий с таковым интенсивности их питания в летний период, отмечен летом для всех исследованных ферментов. Эти данные свидетельствуют о значительной зависимости интенсивности синтеза ферментов, функционирующих в составе слизистой кишечника рыб и обеспечивающих процессы

мембранного пищеварения, от особенностей их экологии, и в частности от типа питания.

Кроме того, следует отметить возможность различий сезонной динамики разноименных ферментов у рыб одного и того же вида при стандартной температуре инкубации (20 °С). Так, для щуки характерны типичная одновершинная кривая сезонной динамики общей амилотической активности, отсутствие значимых колебаний сахаразной активности и скачкообразное изменение щелочно-фосфатазной активности. У налима минимальный уровень активности сахаразы отмечен летом, щелочной фосфатазы — весной. Вместе с тем у бентофагов (лещ, плотва) характер сезонной динамики всех исследованных ферментов близок.

Следует отметить большое влияние на получаемые результаты температуры инкубации, а также важность методического подхода, заключающегося в одновременном определении уровня ферментативной активности при двух значениях температуры — стандартной и близкой природной. Действительно, этот прием помогает понять противоречивость некоторых данных, имеющих в литературе. В частности, относительно высокий уровень общей амилотической активности в слизистой кишечника рыб в зимний период, выявляемый при температуре 20 °С, хорошо согласуется с выводами ряда авторов (Марголин, 1940; Ананичев, 1959; Ананичев, Гомазков, 1960). Кроме того, несоответствие характера сезонной динамики ферментативной активности при разных температурных условиях инкубации ферментативно активных препаратов и субстрата позволяет прийти к заключению о том, что видовые особенности сезонной динамики могут быть обусловлены не только разной интенсивностью синтеза и деструкции ферментов, но и различными характеристиками (t° -функция, $E_{\text{акт}}$, V , K_m и др.) одноименных ферментов у рыб, по типу питания относящихся к разным экологическим группам. В последние годы установлены значительные различия ряда кинетических характеристик ферментов, обеспечивающих процессы мембранного пищеварения у рыб разных экологических групп (Уголев и др., 1976а, 1981; Кузьмина, Морозова, 1977; Кузьмина, 1985 и др.). Однако эти вопросы будут обсуждаться подробно в главе 6.

Наконец, следует остановиться на популяционных и биоценологических аспектах процессов пищеварения. Эти вопросы представляются исключительно важными, так как помимо теоретического имеют большое прикладное значение, которое заключается в необходимости оценки эффективности питания рыб и продуктивности водных экосистем. Полученные нами данные позволили не только выявить диапазон изменчивости различных гидролаз, но и установить зависимость исследуемых характеристик от состояния кормовой базы и интенсивности питания рыб (Кузьмина, 1986, 1990в; Кузьмина и др., 1983, и др.). Оказалось, что при сопоставлении характеристик отдельных популяций рыб целесообразно анализировать не только данные по уровню ферментативной активности, но и по коэффициенту вариации исследуемых показателей.

Ранее при исследовании морфологических характеристик была установлена зависимость варибельности признаков от условий питания рыб, причем увеличение варибельности соответствовало худшим условиям (Никольский, 1955, 1961, 1974; Поляков, 1958, 1960—1962). При исследовании сезонной динамики активности α -амилазы у леща было обнаружено, что наименьшая варибельность значений ферментативной активности у леща из волжской популяции приходится на период наиболее активного питания всех его возрастных групп (Кузьмина, 1980б). Это позволило предположить, что интенсивность питания можно оценивать по соотношению уровня ферментативной активности и коэффициенту его вариации. Анализ приведенного материала свидетельствует о том, что у рыб из разных популяций различаются не только средние значения активности, но и коэффициенты вариации исследованных характеристик.

При этом необходимо расширение исследований, касающихся как ферментов, обеспечивающих гидролиз основных пластических и энергетических компонентов гидробионтов, так и специфических гидролаз слизистой кишечника рыб, поскольку некоторые из них способствуют вовлечению в круговорот вещества трудногидролизуемых компонентов различных организмов. Напомним, что благодаря хитиназе, лишь одна популяция бычка (*Euphrasybison*) в течение года способна разрушать до 16 т хитина (Goodrich, Morita, 1977) и тем самым сделать доступным для процессов рециклизации содержащиеся в нем углерод, азот и другие элементы. Ясно, что в зависимости от структуры биотопов и физико-химических параметров различных водных биоценозов темпы деградации вещества могут значительно варьировать. Несмотря на важность указанной проблемы, изучение биоценологических аспектов процессов пищеварения в значительной мере является задачей будущего.

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ФЕРМЕНТНЫЕ СИСТЕМЫ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА

В предыдущей главе обсуждался вопрос о сезонных ритмах активности пищеварительных гидролаз у рыб. Указывалось, что одним из наиболее важных факторов, влияющих на интенсивность синтеза и деструкции ферментов, является температура окружающей среды. Вместе с тем представленные ранее данные свидетельствовали о том, что сезонная динамика пищеварительных гидролаз в значительной мере зависела от особенностей биологии рыб, что в свою очередь давало возможность предположить существование видовых различий кинетических характеристик ферментов.

6.1. Влияние температуры на активность ферментов

Влияние температуры на активность пищеварительных ферментов исследовалось начиная с конца XIX в. Было показано, что ферменты рыб способны функционировать при температуре, близкой к 0 °С, когда ферменты теплокровных утрачивают активность (Fick, Murisier, 1873; Hoppe-Seyley, 1877, и др.). Позднее было установлено, что температурный оптимум одноименных ферментов рыб сдвинут в сторону более низких температур по сравнению с теплокровными животными (Rakoczy, 1913; Коштойац, Коржуев, 1934; Коржуев, 1936; Пятницкий, 1937; Vonk, 1937, и др.).

Действительно, температурный оптимум (t_{opt}°) пепсина человека соответствует 50 °С, лягушки — 45, 6 видов рыб — 40 °С (Пятницкий, 1937). Температурный оптимум дипептидазы у кур и крыс находится при 40 °С, у форели — при 30 °С (Егорова и др., 1974). Еще более значительные различия обнаружены при исследовании щелочной фосфатазы слизистой кишечника рыб, обитающих в разных температурных зонах Атлантического океана: t_{opt}° фермента тропических видов рыб соответствует 50—60 °С, глубоководных рыб, обитающих при 4—5 °С — лишь 30 °С. Также показано, что в некоторых случаях величина t_{opt}° отражает температурные условия существования вида в далеком прошлом. У угольной сабли, обитающей при температуре 4—5 °С, но формировавшейся в условиях тропического шельфа, температурный оптимум щелочной фосфатазы, как и у других тропических видов

рыб, соответствует 60 °С (Гельман, 1975а, 1976а—1976в, Уголев, и др., 1986). Еще в большей степени может различаться активность ферментов в зоне постмаксимальных температур, особенно при больших сроках инкубации ферментативно активного препарата и субстрата. Так, в результате 72-часовой экспозиции трипсина при 60 °С уровень активности фермента голубя снижается на 43 %, лягушки — на 73 %, окуня и щуки — на 86 %, черноморской трески (мерланг) и баренцевоморской трески — на 90 и 94 % соответственно (Коржуев, 1936). При исследовании щелочной фосфатазы показано, что при 70 °С уровень относительной активности фермента крысы составляет 62 % от максимальной активности, у миног — лишь 10 % (Егорова и др., 1974).

Вместе с тем в последние годы были подтверждены данные о более высокой относительной активности ферментов рыб по сравнению с теплокровными животными в зоне низких и физиологических температур. Так, при 0 °С относительная активность дипептидазы форели соответствует 20 % от максимальной активности, фермента кур и крыс — лишь 7,0 и 3,5 % соответственно (Егорова и др., 1974).

Однако наиболее детально влияние температуры на свойства ферментов у рыб, различающихся по характеру питания, было исследовано у пресноводных костистых рыб, обитающих в Рыбинском водохранилище. Результаты этих экспериментов будут приведены более подробно, так как в них удалось в идентичных методических условиях сопоставить как характеристики ферментов разных цепей, так и характеристики гидролаз, входящих в одну и ту же цепь (Кузьмина, 1986, 1990б). При этом для ферментов, входящих в состав мембран энтероцитов, требовалось сопоставление характеристик различных препаратов фермента, в частности гидролаз, солюбилизированных при помощи разных агентов, а также ферментов, функционирующих в составе делипидизированных препаратов слизистой кишечника (Егорова и др., 1974; Кузьмина и др., 1981).

Ферменты, функционирующие в растворе и в составе мембран энтероцитов. Наиболее подробно изучены ферменты цепи карбогидраз. На рис. 20 приведены данные по влиянию температуры на активность α -амилазы. Сопоставление кривых t° -зависимости α -амилазы у рыб разных видов показывает, что у хищников максимальная активность превышает минимальную приблизительно в 2 раза, у бенто- и планктофагов — в 5 раз и более. Действительно, было установлено, что значения температурного оптимума у «мирных» рыб (кари, карась, лещ, синец, плотва) соответствуют 40 °С, у типичных и факультативных хищников (налим, щука, судак, окунь, ерш, чехонь) в большинстве случаев — 30 °С, реже — 40 °С. При 0 °С активность α -амилазы у «мирных» рыб составляет 10—20 % от максимальной, у хищных — 35—70 %. Важно подчеркнуть, что у представителя сем. Serrinidae — чехони, близкой в систематическом отношении бенто- и планктофагам, но по типу питания являющейся хищником-факультативным планктофа-

гом, форма кривой t° -функции α -амилазы сходна с таковой хищных рыб (Кузьмина, Морозова, 1977).

При исследовании общей амилитической активности слизистой кишечника у рыб разных видов столь значительные видовые различия не обнаружены. У всех исследованных видов t°_{opt} пресноводных рыб равен 50°C , а при 0°C активность не превышает 15% от максимальной. Для морских рыб в ряде случаев отмечен более высокий температурный оптимум процесса гидролиза полисахаридов — 60°C (Кузьмина, 1990г). При изучении t° -функции ферментов, прочно связанных со слизистой кишечника пресноводных рыб, преимущественно γ -амилаза, были обнаружены видовые различия: t°_{opt} процесса гидролиза полисахаридов у налима соответствует 50°C , у остальных видов — 60°C . При этом у всех рыб ферментативная активность при 0°C составляет около 10% от максимальной.

Для мальтазы характерны столь же высокие значения температурных

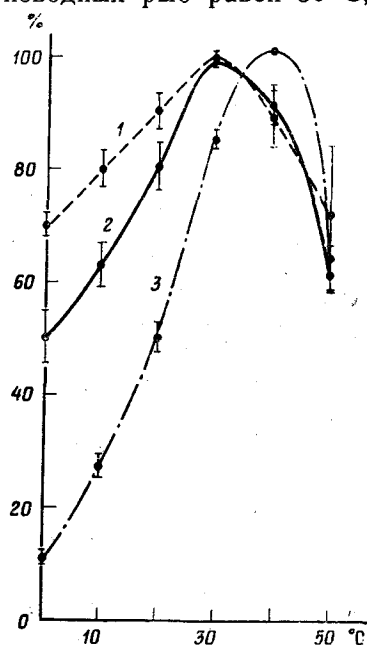


Рис. 20. Влияние температуры на активность α -амилазы у некоторых видов рыб. 1 — судак, 2 — чехонь, 3 — лещ; по оси ординат — скорость ферментативной реакции, % от максимальной, принятой за 100.

оптимумов, как и для γ -амилазы (рис. 21). Однако ферменты этой группы более активны при низких и физиологических температурах. Так, при 0°C активность мальтазы у всех исследованных видов составляет 30—40%, при 20°C — 40—50% от максимальной активности.

Форма кривой t° -функции сахаразы у большинства видов близка. Максимальная активность фермента у большинства видов рыб наблюдается при 40°C .

Характеристики фермента у морских рыб близки вышеописанным, однако активность фермента в зоне низких и физиологических температур несколько ниже, чем у пресноводных рыб (Кузьмина, 1990г).

Изучение влияния температуры на активность протеиназ слизистой желудка и кишечника у тех же видов рыб позволило выявить ряд важных особенностей. Прежде всего следует отметить значительную зависимость характера t° -функции желудочных протеиназ от субстрата, а также отсутствие оной для ферментов слизистой кишечника (рис. 22). Особенно резко отличается t° -функ-

ция желудочных протеиназ по гемоглобину. Если относительная активность фермента по другим субстратам при 0°C колеблется от 5 до 30%, то по гемоглобину она составляет около 70% от

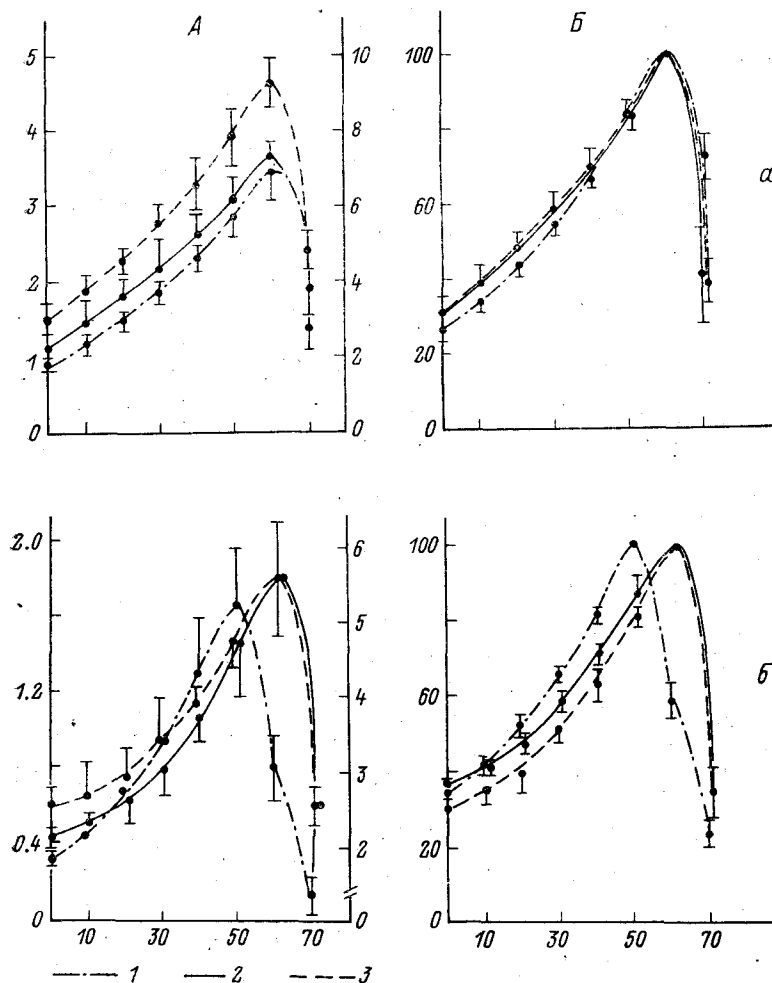


Рис. 21. Влияние температуры на активность мальтазы слизистой кишечника рыб.

По оси абсцисс — температура, $^\circ\text{C}$; по оси ординат — скорость реакции (A), $\mu\text{моль}\cdot\text{л}^{-1}\cdot\text{мин}^{-1}$, и относительная активность ферментов (B), % от максимальной, принятой за 100. а: 1 — карп, 2 — лещ, 3 — плотва (1, 2 — ось ординат слева; 3 — ось ординат справа); б: 1 — налим, 2 — щука, 3 — окунь (1, 2 — ось ординат слева; 3 — ось ординат справа).

максимальной активности. Кривые t° -функции кишечных протеиназ у этих и других видов рыб при использовании различных субстратов обнаруживают большую однородность (Кузьмина, 1990г). Также не выявлены различия t° -функции протеиназ слизистой ки-

щечника у рыб одного вида, но обитающих в разных водоемах. Так, у леща из водохранилищ Верхней, Средней и Нижней Волги t_{opt}° протеиназ по казеину соответствует 60 °С, а активность при 0 °С составляет 5 % от максимальной. Кроме того, заслуживают внимания видовые различия t° -функции желудочных протеиназ по гемоглобину, соответствующие активности пепсина. Как указы-

валось выше, активность протеиназ у щуки и налима при 0 °С близка 70 %, в то время как у судака и сома — лишь 35—55 % от максимальной активности (Кузьмина, 1990б).

Влияние температуры на активность щелочной фосфатазы слизистой кишечника исследовано наиболее подробно (Уголев и др., 1981; Уголев и др., 1983а; Кузьмина, 1986). Уровень ферментативной активности во всем диапазоне исследованных температур у рыб на

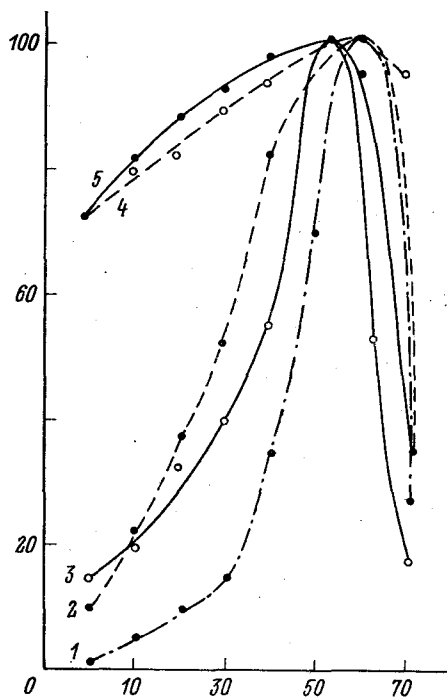


Рис. 22. Влияние температуры на общую протеолитическую активность слизистой желудка и кишечника у некоторых видов рыб.

1 — карп; 2 и 4 — щука; 3 и 5 — налим; для 1—3 — щелочные протеиназы (рН 7,4); для 4, 5 — кислые протеиназы (рН 3,8). По оси абсцисс — температура, °С; по оси ординат — относительная активность ферментов, % от максимальной, принятой за 100 %.

порядок ниже, чем у крыс (рис. 23). При этом температурный оптимум фермента крысы выше (50 °С), чем фермента рыб (40—50 °С). В зоне температурного оптимума щелочной фосфатазы крысы относительная активность фермента для соответствующего вида у судака составляет 92 %, у леща — 88, у форели — лишь 67 % от максимальной.

Подробное изучение t° -функции щелочной фосфатазы у рыб Рыбинского водохранилища подтвердило, что t_{opt}° фермента у большинства видов рыб наблюдается при 40 или 50 °С (Кузьмина, 1986). Однако у плотвы независимо от сезона t_{opt}° фермента может быть обнаружен и при 40, и при 50 °С (иногда в зоне 40—50 °С), что, по-видимому, связано с существованием в водоеме 2 форм плотвы (озерной и прибрежной), не всегда различаемых морфометрически. При исследовании t° -функции щелочной фосфатазы у пластиножаберных рыб выявлены значительные различия характеристик фермента у ската и акулы. Температурный оп-

тимум фермента первого вида находится при 50 °С, второго — при 30—50 °С. В зоне низких и физиологических температур активность фермента у ската составляет от 12,2 до 38,9 %, активность у катрана — от 46,1 до 83,7 % от максимальной (Кузьмина, 1990 г).

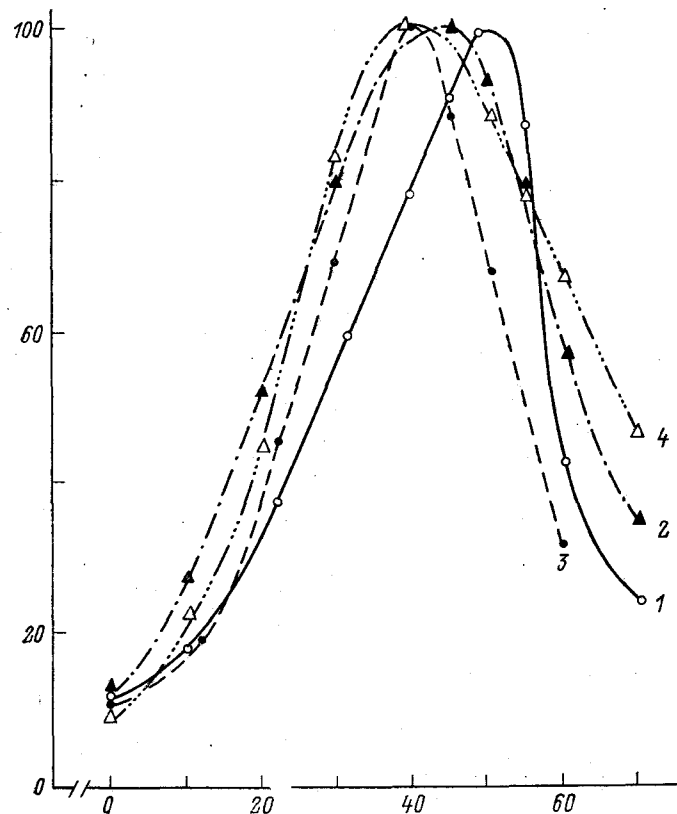


Рис. 23. Влияние температуры на активность щелочной фосфатазы из слизистой кишечника рыб и крыс.

1 — крыса; 2 — судак; 3 — форель; 4 — лещ. По оси абсцисс — температура, °С; по оси ординат — активность фермента, % от максимальной, принятой за 100 %.

Таким образом, характер t° -функции разноименных ферментов у рыб одного и того же вида, как правило, различен, одноименных ферментов у рыб разных видов — более однороден. Однако в последнем случае могут наблюдаться некоторые видовые различия. Наибольшей вариабельностью в цепи карбогидраз отличается α -амилаза, в цепи протеаз — желудочная протеиназа, по субстратной специфичности соответствующая пепсину.

Влияние температуры на активность ферментов после их солиubilизации при помощи детергентов и протеаз. В специальных

экспериментах было показано, что солюбилизация ферментов при помощи неполярного детергента тритона X-100 в ряде случаев приводит к некоторому сужению зоны оптимальных значений температуры, а также к смещению температурного оптимума влево. Так, смещение t°_{opt} отмечено при исследовании общей амилолитической активности у щуки (от 50 до 40 °С) и активности сахаразы у плотвы (от 40 до 30 °С). При исследовании влияния температуры на активность щелочной фосфатазы, солюбилизированной при помощи детергентов и протеаз, для большинства исследованных видов рыб отмечено лишь некоторое снижение уровня ферментативной активности во всем диапазоне исследованных температур: для налима сужение зоны оптимальных значений, для леща последовательное снижение относительной активности в зоне постмаксимальных температур по мере деградации фермент-мембранных комплексов (Уголев и др., 1981; Уголев и др., 1983а; Кузьмина, 1986).

Влияние температуры на ферментативную активность делипидизированных препаратов слизистой кишечника. Экстракция липидов из слизистой кишечника рыб при помощи ацетона приводит к значительному снижению уровня ферментативной активности во всем диапазоне исследованных температур. При изучении сахаразы отмечено смещение t°_{opt} влево (от 40 до 30 °С), свидетельствующее об уменьшении термостабильности фермента, а также увеличении относительной активности фермента в зоне низких и физиологических температур (Кузьмина, 1986). При исследовании щелочной фосфатазы выявлены некоторые видовые различия характеристик делипидизированных препаратов. Так, у щуки не обнаружено каких-либо изменений в форме кривой t° -функции. Для леща отмечено некоторое увеличение относительной активности фермента в зоне низких и физиологических температур, для окуня — смещение температурного оптимума влево (Кузьмина, 1986).

Полученные результаты свидетельствуют о существенном влиянии липидного матрикса мембран на температурную зависимость фермента. Видовые особенности, выявленные при исследовании щелочной фосфатазы, могут быть обусловлены как различиями в жирнокислотном составе липидов, входящих в мембрану энтероцитов, так, по-видимому, и разным соотношением мембранных (интегральных) и гликокаликсных ферментов.

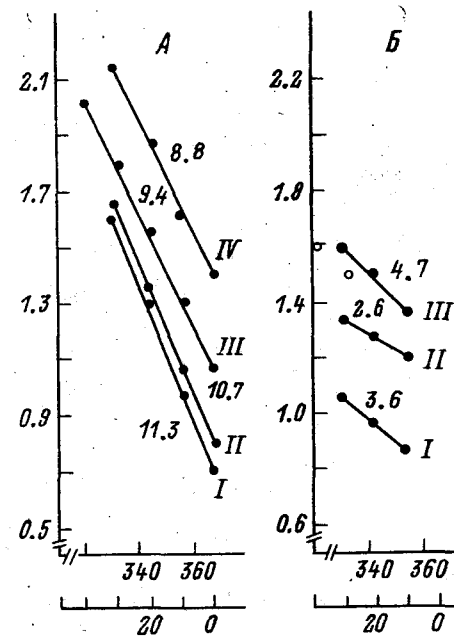
6.2. Энергия активации ферментов

Энергия активации мембранно-связанной формы ферментов. Энергия активации ($E_{акт}$) ферментов, как известно, является одной из важнейших температурных характеристик ферментов. Величина $E_{акт}$ показывает, какой минимальной энергией (в расчете на 1 моль) должны обладать реагирующие частицы, чтобы они могли вступить в реакцию.

Данные, касающиеся величин $E_{акт}$ общей амилолитической активности у исследованных видов рыб, различны. Действительно, для всех видов характерен излом на графике Аррениуса, причем температура точки перегиба и величины $E_{акт}$ у рыб разных видов различна. Так, у щуки в диапазоне 0—10 °С значение $E_{акт}$ соответствует 3,7 ккал/моль. При 10 °С наблюдается скачкообразное изменение величины $E_{акт}$ (8,2 ккал/моль), которая сохраняется в зоне температур, лежащих значительно выше диапазона физиологических температур. При исследовании налима, леща и плотвы более высокие значения $E_{акт}$ обнаружены в зоне низких и физиологических температур, причем у 2 первых видов, несмотря на различия t° -функции, характеристики близки: в диапазоне 0—30 °С значения $E_{акт}$ про-

Рис. 24. График Аррениуса для α -амилазы некоторых видов рыб.

А: I — лещ, II — плотва, III — карп, IV — карась; Б: I — налим; II — щука, III — окунь; цифры на графике соответствуют величинам кажущейся энергии активации, ккал/моль; по оси абсцисс верхняя шкала — величина, обратная абсолютной температуре — $1/T$ (10^3), нижняя шкала — температура, °С; по оси ординат — $\lg(V \cdot 10^3)$, где V — скорость ферментативной реакции, $мг \cdot г^{-1} \cdot мин^{-1}$.



цесса гидролиза полисахаридов у налима соответствуют 11,2 ккал/моль, у леща — 12,3 ккал/моль. Для плотвы излом на графике Аррениуса отмечен при 20 °С: величины $E_{акт}$ равны соответственно 12,0 и 7,9 ккал/моль. Эти результаты свидетельствуют о том, что наиболее эффективные характеристики ферментов в зоне низких температур наблюдаются у щуки.

Анализ данных, касающихся $E_{акт}$ ферментов, прочно связанных со слизистой кишечника (преимущественно γ -амилаза), показал, что десорбция α -амилазы приводит к существенным изменениям этого параметра. Прежде всего следует отметить изменение точки излома на графике Аррениуса (у налима при 10 °С, у остальных видов при 20 °С), а также некоторое снижение величин $E_{акт}$ у ряда видов рыб. Так, у налима в зоне низких температур значения $E_{акт}$ равны 5,3, у щуки и окуня — 3,7 и 3,8 ккал/моль соответственно, у леща и плотвы — 9,1 и 9,9 ккал/моль соответственно. При исследовании характеристик α -амилазы для большинства видов рыб излом на графике Аррениуса не обнаружен (рис. 24). В зоне физиологических температур самые низкие значения пара-

метра обнаружены у типичных и факультативных хищников, более высокие — у типичных бенто- и планктофагов. Значения $E_{\text{акт}}$ сахаразы у всех видов рыб во всем диапазоне температур постоянны. Минимальные значения $E_{\text{акт}}$ отмечены у окуня (3,1 ккал/моль), максимальные — у плотвы (5,8 ккал/моль). При исследовании мальтазы обнаружена значительная общность характеристик ферментов у рыб, по типу питания относящихся к одной экологической группе. Так, в группе типичных бентофагов минимальные значения $E_{\text{акт}}$ установлены для плотвы (3,1 ккал/моль), максимальные — для карпа (4,0 ккал/моль).

При исследовании мальтазы у хищных рыб обнаружен излом на графике Аррениуса (у щуки и окуня при 20 °С, у налима при 10 °С). В зоне низких температур значения $E_{\text{акт}}$ у всех видов рыб близки — 1,9 и 2,2 ккал/моль. В зоне высоких температур значения $E_{\text{акт}}$ соответствуют 3,6 ккал/моль у щуки, 4,1 и 4,6 ккал/моль — соответственно у налима и окуня. Интересно отметить, что наименьшие значения $E_{\text{акт}}$ в зоне температур среды обитания отмечены у хищных рыб, причем температура точки перегиба на графике Аррениуса для ферментов налима ниже, чем у других видов, что согласуется с их биологией (Кузьмина, 1985).

При исследовании щелочной фосфатазы у судака и леща, обитающих в Ладожском озере, также отмечено скачкообразное изменение величины $E_{\text{акт}}$ фермента (Уголев и др., 1981, 1983а). В диапазоне 0—10 °С значения $E_{\text{акт}}$ у судака и леща соответствуют 14,1 и 13,1 ккал/моль, а в зоне 10—30 °С — 7,3 и 11,5 ккал/моль. Если учесть то обстоятельство, что эти виды наиболее активно питаются при температуре 10—20 °С, то наиболее низкие значения $E_{\text{акт}}$ щелочной фосфатазы характерны именно для этой температурной зоны. При исследовании форели не отмечен излом на графике Аррениуса — $E_{\text{акт}}$ равна 9,4 ккал/моль (Егорова и др., 1974).

У большинства видов рыб, населяющих Рыбинское водохранилище, значения $E_{\text{акт}}$ скачкообразно изменяются при температуре 30 °С. В подавляющем большинстве случаев в диапазоне температур от 0 до 30 °С значения $E_{\text{акт}}$ в 2—4 раза выше, чем в зоне 30—40 °С. У щуки, судака и окуня величина $E_{\text{акт}}$ фермента в зоне низких температур колеблется от 10,1 до 10,8 ккал/моль, в зоне высоких — от 3,5 до 6,1 ккал/моль. У карася, плотвы и леща в зоне низких температур величина $E_{\text{акт}}$ щелочной фосфатазы изменяется от 11,7 до 13,4 ккал/моль, в зоне высоких температур — от 2,4 до 4,0 ккал/моль. У налима на протяжении всего годового цикла, за исключением посленерестового периода, в зоне низких температур величина $E_{\text{акт}}$ соответствует 11,9 ккал/моль, в зоне 30—40 °С — 2,4 ккал/моль. В посленерестовый период наименьшие значения $E_{\text{акт}}$ (6,5 ккал/моль) отмечены при низкой температуре, более высокие (15,3 ккал/моль) — в зоне 30—40 °С.

Энергия активации ферментов после их солюбилизации при помощи детергентов и протеаз. Солюбилизация ферментов при помощи тритона X-100 в ряде случаев вызывает увеличение значе-

ний $E_{\text{акт}}$ в зоне физиологических температур. Так, при исследовании $E_{\text{акт}}$ процесса гидролиза крахмала ферментами, солюбилизированными из слизистой кишечника щуки, обнаружено увеличение значений $E_{\text{акт}}$ в зоне 0—20 °С в 2,5 раза, в зоне 20—40 °С — в 1,5 раза по сравнению с М-формой фермента; у карпа — в зоне 0—10 °С величины энергии активации сахаразы в результате солюбилизации фермента увеличиваются незначительно. Данные, полученные при исследовании М-, Д- и П-форм щелочной фосфатазы судака, леща, форели и крыс, свидетельствуют о том, что энергия активации тритоновой и трипсиновой форм фермента у крысы в диапазоне 0—30 °С соответствует $E_{\text{акт}}$ мембранно-связанной формы. Однако в зоне физиологических температур (выше 30 °С) уменьшения $E_{\text{акт}}$ тритоновой и трипсиновой форм щелочной фосфатазы у крыс не наблюдается. У судака солюбилизация щелочной фосфатазы при помощи тритона X-100 приводит к уменьшению величины $E_{\text{акт}}$ по сравнению с мембранной формой в зоне 0—10 °С и к увеличению в зоне физиологических температур. Для фермента леща в зоне 0—10 °С не отмечено изменений, в зоне физиологических температур наблюдается некоторое уменьшение значений $E_{\text{акт}}$. Для фермента форели установлено резкое уменьшение величины этого показателя. Солюбилизация щелочной фосфатазы при помощи трипсина вызывает увеличение значений $E_{\text{акт}}$ по сравнению с мембранной формой, особенно значительное в зоне 10—30 °С для фермента судака, и некоторое уменьшение во всем диапазоне исследованных температур для фермента леща и форели (Уголев и др., 1981).

Энергия активации делипидизированных препаратов слизистой кишечника. На примере сахаразы показано, что делипидизация мембран у рыб разных видов вызывает различные эффекты: у щуки не обнаружено существенных изменений величины $E_{\text{акт}}$, у бентофагов выявлено появление излома на графике Аррениуса (у леща и плотвы при 20 °С, у карпа при 10 °С). В зоне температур, лежащих ниже точки перегиба, наблюдается некоторое увеличение $E_{\text{акт}}$ по сравнению с М-формой фермента, в зоне температур, расположенных выше точки перегиба, — уменьшение. Кроме того, продемонстрировано, что экстракция липидов вызывает некоторые изменения величины $E_{\text{акт}}$ щелочной фосфатазы у рыб разных видов. При исследовании леща установлено исчезновение излома на графике Аррениуса в результате экстракции липидов, $E_{\text{акт}}$ во всем диапазоне температур соответствует 10,2 ккал/моль (Кузьмина, 1986).

Таким образом, солюбилизация ферментов и экстракция липидов из препаратов слизистой кишечника рыб приводит к изменению, иногда значительному, величин кажущейся энергии активации. Выявленные различия могут свидетельствовать о важной роли структурирования гидролаз, а также в большом значении липидных компонентов мембран энтероцитов в формировании кинетических характеристик энтеральных ферментов.

6.3. Термостабильность ферментов

Как указывалось выше, уже в первых работах по изучению влияния температуры на пищеварительные ферменты рыб (пепсин, трипсин, липаза) было показано, что их температурный оптимум сдвинут в сторону более низких температур по сравнению с одноименными ферментами теплокровных животных (Коштоянц, 1950; Buddenbrock, 1956; Vonk, 1955; Уголев, 1961; Уголев и др., 1983б, и др.). По мнению большинства авторов, наблюдаемые различия объясняются разной термостабильностью ферментов теплокровных и холоднокровных животных. Наиболее убедительные доказательства зависимости теплоустойчивости фермента от температуры организма и температуры среды его обитания были получены в работе П. А. Коржуева (1936), показавшего, что термостабильность трипсина снижается в ряду голубь → собака → черепаха → лягушка → окунь → щука → черноморская треска (мерланг) → баренцевоморская треска. При исследовании некоторых собственно кишечных ферментов были установлены различия не только в термостабильности одноименных ферментов у гомойотермных (куры) и пойкилотермных (бычки-кругляки, форель) животных, но и в термостабильности разноименных ферментов: ферменты группы мальтаз и глициллейциндипептидаза (Егорова и др., 1974).

Данные, аналогичные этим, получены и при изучении термостабильности ферментов, не связанных с процессами пищеварения (Александров, 1975). Вместе с тем есть сведения о том, что не все ферменты одного и того же организма имеют термостабильность, коррелирующую с температурой среды обитания, особенно в случае сопоставления рас и подвидов рыб.

Для объяснения различной термостабильности белков на основании современных концепций, предполагающих «конформационную гибкость» белковых макромолекул, В. Я. Александровым (1969, 1975, 1985) была предложена гипотеза, согласно которой конформационная гибкость ферментов должна коррелировать с температурой среды обитания вида. При этом на основании анализа литературных данных по термостабильности белков, в том числе и ферментативно активных, у различных животных Александров (1975) сделал заключение о том, что межвидовые различия в термоустойчивости белков у животных, как правило, существуют и что в очень большой степени они определяются различиями в температурной экологии видов.

Ранее (раздел 6.1) нами подчеркивалось, что разноименные ферменты у рыб одного и того же вида имеют различные величины температурных оптимумов. Так, у щуки величина t_{opt}° α -амилазы соответствует 30 °С, сахаразы и щелочной фосфатазы — 40 °С, мальтазы и γ -амилазы — 60 °С. Для тех же ферментов налима отмечены следующие значения — 30, 40 и 50 °С. При исследовании леща установлено, что большинство ферментов имеет температур-

ный оптимум, равный 40 °С, мальтаза и γ -амилаза — 60 °С. Для карпа отмечены те же значения, однако величина t_{opt}° сахаразы соответствует 50 °С. Эти и другие данные показывают, что варьирует не только величина t_{opt}° разноименных ферментов у рыб одного вида, но и величина t_{opt}° одноименных ферментов у рыб разных видов.

Использованные нами экспериментальные подходы позволили проанализировать относительную активность ферментов при температуре, превышающей на 10 °С величину температурного оптимума, когда повреждающее действие высокой температуры велико.

Оказалось, что величины относительной активности исследованных ферментов у рыб разных видов различны. При исследовании α -амилазы установлены сезонные различия показателя: летом относительная активность α -амилазы у большинства видов выше, чем зимой. Наибольшие различия отмечены для карпа (85,5 и 65,7 % летом и зимой соответственно). Эти данные свидетельствуют об уменьшении термостабильности α -амилазы в зимний период.

Данные по влиянию предварительной инкубации ферментативно активных препаратов в течение 20—60 мин при 50 °С на относительную активность α -амилазы у рыб разных видов позволили продемонстрировать разную степень снижения показателя у рыб разных видов. Так, максимальное снижение уровня относительной активности α -амилазы по сравнению с контролем (инкубация при 50 °С), наблюдавшееся при 60-минутной прединкубации препаратов, для фермента леща соответствует 54,4 %, синца — 56,6, плотвы — 89, карпа — 35,3, карася — 43,4, щуки — 49,3, налима — 31,7, окуня — 61,3, корюшки — 53,3 %. Эти данные свидетельствуют о том, что прединкубация ферментативно активных препаратов при высокой температуре (50 °С) приводит к снижению уровня ферментативной активности, пропорциональному времени прединкубации. При этом данные, касающиеся повреждающего действия температур, значительно (на 10—20 °С) отстоящих от температурного оптимума, не всегда согласуются с температурными условиями активного питания вида.

При исследовании щелочной фосфатазы были выявлены сезонные различия в термостабильности фермента. Действительно, прединкубация ферментативно активных препаратов при 50 °С и инкубация при той же температуре приводят к более значительному снижению уровня активности щелочной фосфатазы у всех видов рыб в зимний период. У щуки в результате 30-минутной прединкубации зимой активность снижается на 86 %, летом — на 78, у плотвы — на 88 и 81, у леща — на 54 и 49 % соответственно.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что прединкубация ферментативно активных препаратов при температуре, соответствующей t_{opt}° или превышающей его на 10—20 °С,

вызывает значительное снижение уровня ферментативной активности. Степень снижения активности одноименных ферментов у рыб разных видов различна, причем в некоторых случаях наблюдается связь между термостабильностью ферментов и температурным преферендумом вида. При исследовании щелочной фосфатазы установлены сезонные различия термостабильности — зимой ниже, чем летом. Однако в большинстве случаев корреляции между термостабильностью исследованных ферментов и температурой среды обитания рыб не наблюдается.

Немногочисленные наблюдения по влиянию солюбилизации на термостабильность ферментов свидетельствуют о том, что высвобождение их из состава мембран приводит к значительному снижению, а в ряде случаев и к утрате активности.

6.4. Влияние температуры на кинетические характеристики ферментов

Как было показано в главе 5, уровень ферментативной активности существенно изменяется в различные периоды годового цикла рыб. Важная роль при этом принадлежит температурному фактору. Однако в большинстве приведенных выше работ не анализировались механизмы наблюдаемых перестроек и оставалось неясным, связаны ли они с изменением интенсивности синтеза ферментов или обусловлены изменением свойств молекул фермента, а также состава среды, в которой эти ферменты функционируют. В цикле работ, проведенных в последние десятилетия (Егорова и др., 1974; Уголев и др., 1981, 1983б, 1986; Кузьмина, 1985, 1986, и др.) показано, что наблюдаемые перестройки в значительной мере обусловлены изменением характеристик самих ферментов, при этом возможно изменение свойств ферментов и мембран, в составе которых они функционируют.

Процесс гидролиза полисахаридов. На протяжении всего годового цикла рыб сохраняются видовые различия в значениях максимальной скорости реакции (V): минимальные величины получены для щуки, максимальные — для плотвы. Вместе с тем у рыб одного вида на протяжении всего годового цикла, за исключением летнего периода, величина максимальной скорости реакции близка (летом наблюдается увеличение показателя). Значения кажущейся константы Михаэлиса (K_m) также непостоянны. При этом у леща и плотвы средние значения кажущейся K_m в весенне-летний период несколько выше, чем в осенне-зимний; у щуки средние величины K_m в летне-осенний период выше, чем в зимне-весенний. У всех исследованных видов рыб в большинстве случаев в разные сезоны года значения K_m при 20 °С значительно ниже, чем при 0 °С (Кузьмина, Голованова, 1983).

Процесс гидролиза дисахаридов. Кинетические характеристики процесса гидролиза дисахаридов исследованы на примере сахаразы. Определения, проведенные в зимний период, показали, что

величины V и у рыб разных видов различны. Кроме того, для рыб одного и того же вида отмечены различные величины кажущейся константы Михаэлиса и максимальной скорости реакции при 0 и 20 °С (табл. 19).

Таблица 19
Кинетические характеристики сахаразы слизистой кишечника рыб в зимний и летний периоды

Вид	K_m	$K_m^{20\text{ °C}}/K_m^{0\text{ °C}}$	V	$V^{20\text{ °C}}/V^{0\text{ °C}}$
Зима				
Щука	14,8	0,34	0,17	1,70
	44,0		0,10	
Лещ	24,1	0,52	0,72	2,67
	45,7		0,27	
Плотва	23,6	0,56	2,43	2,53
	42,4		0,96	
Лето				
Налим	14,4	0,49	0,19	1,9
	29,4		0,10	
Лещ	11,5	0,36	0,93	2,58
	32,1		0,36	
Плотва	20,7	0,56	2,60	2,95
	36,7		0,88	

Примечание. K_m — мМ. V — мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹. Над чертой — при 20 °С, под чертой — при 0 °С.

Интересно, что зимой при исследовании максимальной скорости реакции сахаразы минимальные значения параметра отмечены у щуки. Затем в порядке возрастания следует лещ и плотва. Сопоставление этих данных показывает, что межвидовые различия величины максимальной скорости реакции при 20 °С выше, чем при 0 °С.

Сопоставление величин кажущейся константы Михаэлиса сахаразы у тех же видов рыб свидетельствует о большей однородности этого показателя, особенно при 0 °С. При этом сродство к субстрату фермента щуки в 1,6 раза выше, чем у исследованных бензофогов. В результате различного фермент-субстратного сродства при 20 °С значения отношения K_m при 20 °С и 0 °С у этих видов рыб также различны. При этом показатель для щуки (0,34), в 1,6 и 1,5 раза ниже по сравнению с величинами коэффициента, вычисленными для леща и плотвы. Летние данные в значительной мере близки зимним (табл. 19). Особенно интересно сравнение характеристик у 2 первых видов. Сопоставление данных по максимальной скорости реакции сахаразы у леща и плотвы свидетельствует о том, что в большинстве случаев летом значения пара-

метра выше, чем зимой. Значения K_m летом в большинстве случаев значительно ниже, чем зимой.

Процесс гидролиза эфиров фосфорной кислоты. Результаты, полученные при исследовании кинетических характеристик щелочной фосфатазы у некоторых видов пресноводных рыб в разные сезоны года представлены в табл. 20. Анализ данных по максимальной скорости реакции свидетельствует о значительной вариабельности этого показателя у рыб разных видов в разные сезоны года как при 0 °С, так и при 20 °С.

Величина кажущейся константы Михаэлиса щелочной фосфатазы так же, как и значения V у всех видов рыб при 20 °С выше, чем при 0 °С, следовательно фермент-субстратное сродство выше при 0 °С. Несмотря на эту общую для всех видов рыб закономерность, значения K_m гидролиза *n*-нитрофенилфосфата натрия значительно варьируют. Зимой наиболее низкие значения K_m отмечены для налима, максимальные — для фермента судака. Весной наблюдается значительное, особенно у щуки, снижение величин K_m при 20 °С. Летом для фермента судака и леща отмечены наиболее низкие значения K_m по сравнению с данными, полученными в другие сезоны года. Для ферментов щуки и плотвы при 20 °С установлены значения более высокие, чем весной, но более низкие, чем зимой и осенью.

Сопоставление приведенных данных свидетельствует о том, что при одной и той же температуре минимальные значения K_m у большинства видов рыб наблюдаются в весенне-летний период. У налима, отличающегося сдвигом физиологической активности с максимумом в зимний период, летом, напротив, отмечены наибольшие величины кажущейся K_m .

Поскольку характер изменения величин K_m щелочной фосфатазы рыб под влиянием температуры оказался противоположным обнаруженному при исследовании карбогидраз, были проведены дополнительные опыты. В идентичных методических условиях составляли кинетические характеристики щелочной фосфатазы у млекопитающих (крыса) и 2 видов рыб (лещ, форель) (табл. 21). Исследованы V и K_m при трех значениях температуры (15, 25 и 37 °С), выбор которых обусловлен тем, что значения 15 и 37 °С являются наиболее адекватными для изучения активности ферментов пойкилотермных и гомеотермных животных, а температура 25 °С рекомендована Международной комиссией по ферментам в качестве стандартной при проведении энзимологических работ (Номенклатура... , 1979).

Эти данные свидетельствуют о том, что у всех исследованных видов животных величины V и K_m при увеличении температуры инкубационной среды увеличиваются. При этом степень увеличения показателя при повышении температуры на 10 и 12 °С близка вышеописанной.

Кинетические характеристики ферментов, солибилизованных при помощи детергентов и протеаз. Солибилизация ферментов из мембран эритроцитов при помощи тритона X-100 приводит к уве-

Таблица 20
Кинетические характеристики щелочной фосфатазы слизистой кишечника рыб в разные сезоны года

Вид	Характеристики ферментов											
	Зима		Весна		Лето		Осень					
	K_m	V	K_m	V	K_m	V	K_m	V				
Щука	$\frac{0,40}{0,20}$ (2,0)	$\frac{0,48}{0,12}$ (4,0)	$\frac{0,08}{0,05}$ (1,6)	$\frac{0,09}{0,03}$ (3,0)	$\frac{0,21}{0,06}$ (3,5)*	$\frac{0,20}{0,04}$ (5,0)*	$\frac{0,70}{0,21}$ (3,3)	$\frac{0,32}{0,07}$ (4,6)				
Судак	$\frac{2,53}{1,01}$ (2,5)	$\frac{0,50}{0,08}$ (6,3)	$\frac{1,01}{0,63}$ (1,6)	$\frac{1,67}{0,36}$ (4,6)	0,20	0,71	$\frac{0,46}{0,42}$ (1,1)	$\frac{0,50}{0,16}$ (3,1)				
Налим	$\frac{0,08}{0,05}$ (1,6)	$\frac{0,35}{0,15}$ (2,3)	—	—	$\frac{0,84}{0,23}$ (2,8)	$\frac{0,60}{0,14}$ (4,3)	$\frac{0,46}{0,16}$ (2,9)	$\frac{0,64}{0,11}$ (5,8)				
Лещ	$\frac{0,63}{0,18}$ (3,5)	$\frac{0,44}{0,12}$ (3,7)	$\frac{0,23}{0,17}$ (1,4)	$\frac{0,46}{0,11}$ (4,2)	$\frac{0,18}{0,07}$ (2,6)	$\frac{0,66}{0,04}$ (16,5)	$\frac{0,44}{0,20}$ (2,2)	$\frac{0,39}{0,09}$ (4,3)				
Плотва	$\frac{0,44}{0,15}$ (2,9)	$\frac{0,30}{0,04}$ (7,5)	$\frac{0,18}{0,09}$ (2,0)	$\frac{0,41}{0,10}$ (4,1)	$\frac{0,39}{0,06}$ (6,5)*	$\frac{0,33}{0,04}$ (8,3)*	$\frac{0,39}{0,06}$ (6,5)**	$\frac{0,33}{0,09}$ (3,7)**				

* Рыбы, отловленные в августе, в течение 1 месяца находились в аквариуме при температуре 18 °С.

** Рыбы были отловлены в середине сентября и в течение 3-х недель находились в аквариуме при температуре 16 °С. Верхние цифры — 20 °С; нижние цифры — 0 °С. В скобках приведены значения отношения указанных величин; K_m — мМ, V — мМ·г⁻¹·мин⁻¹.

Таблица 21

Влияние температуры на кинетические характеристики щелочной фосфатазы у млекопитающих (крыса) и рыб (лещ, форель)

Температура, °С	Крыса		Лещ*		Форель**	
	V	K _m	V	K _m	V	K _m
15	8,10	0,06	0,25	0,20	0,12	0,08
25	14,50	0,10	0,60	0,26	0,31	0,20
37	21,20	0,16	1,03	0,34	0,49	0,26

Примечание. V — мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹, K_m — мМ.

* Температура водоема (Финский залив) 18 °С.

** Температура воды в садках 12 °С.

личению значений K_m и уменьшению величин V при обеих температурах по сравнению с ферментами, функционирующими в составе мембран (табл. 22). При этом степень снижения величины V у рыб разных видов при температуре 0 и 20 °С различна. В результате неравномерного спада максимальной скорости реакции при разных температурах величина отношения V^{20 °С}/V^{0 °С} Д-формы у щуки увеличивается, у бентофагов — уменьшается по сравнению с М-формой фермента. Величины K_m в результате солюбилизации у всех видов рыб увеличиваются более значительно, чем при 0 °С. Величина коэффициента K_m^{20 °С}/K_m^{0 °С} Д-формы фермента несколько больше по сравнению с М-формой.

Наиболее подробно исследованы характеристики щелочной фосфатазы. Сопоставление величин максимальной скорости реакции всех форм фермента свидетельствует о последовательном снижении величин V в ряду М-, Д- и П-формы фермента. При этом и для щуки, и для леща отмечено более значительное снижение величины V при 0 °С. Эти данные свидетельствуют о том, что уменьшение значений V связано не только с неполным выходом ферментов в результате солюбилизации, но и с изменением их свойств в результате солюбилизации различными агентами.

Еще более интересные изменения обнаружены при исследовании кажущейся K_m различных форм ферментов. Особого внимания заслуживает тот факт, что величина этого показателя в результате солюбилизации фермента у рыб разных видов может изменяться разнонаправленно. Так, у щуки величина K_m Д-формы щелочной фосфатазы при обеих температурах уменьшается, у леща — увеличивается (при 0 °С существенно, при 20 °С — незначительно) по сравнению с М-формой. Значения K_m П-формы фермента у первого вида при обеих температурах изменяются слабо, у второго вида наблюдается значительное увеличение показателя по сравнению с М-формой фермента. Сопоставление величин K_m^{20 °С}/K_m^{0 °С} различных форм фермента свидетельствует об его уменьшении для Д-формы и увеличении для П-формы фермента.

Таблица 22

Кинетические характеристики различных форм сахаразы и щелочной фосфатазы слизистой кишечника рыб

Вид	Форма фермента	K _m	K _m ^{20 °С} /K _m ^{0 °С}	V	V ^{20 °С} /V ^{0 °С}
Сахараза					
Щука	М	28,6	0,51	0,12	2,08
		14,8		0,25	
Лещ	Д	38,5	0,65	0,06	2,67
		25,0		0,16	
	ДЛП	М	45,7	0,52	0,27
24,1			0,72		
Д		57,1	0,58	0,21	2,29
	33,3	0,48			
ДЛП	Д	57,2	0,30	0,14	3,57
		17,5		0,50	
Щелочная фосфатаза					
Щука	М	0,11	2,91	0,05	5,80
		0,32		0,29	
	Д	0,09	2,00	0,04	4,25
		0,18		0,17	
П	0,12	2,50	0,01	7,00	
	0,30		0,07		
Лещ	ДЛП	0,05	2,00	0,08	2,63
		0,10		0,21	
	М	0,22	2,86	0,13	2,54
0,63		0,33			
Д	0,36	2,00	0,04	6,25	
	0,72		0,25		
П	0,22	4,59	0,02	8,50	
	1,01		0,17		
ДЛП	Д	0,06	3,33	0,04	6,75
		0,20		0,27	

Примечание: М — мембранно-связанная форма фермента; Д — детергентная форма фермента (фермент выделен целиком из мембраны эритроцитов при помощи тритона X-100); П — протеазная форма фермента (выделена лишь гидрофильная, ферментативно активная, часть фермента при помощи трипсина); ДЛП — делипидизированный препарат слизистой. K_m — мМ; V — мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹. Над чертой — 0 °С, под чертой — 20 °С.

Кинетические характеристики ферментов, функционирующих в составе делипидизированных препаратов слизистой кишечника. Экстракция липидов из слизистой кишечника рыб при помощи ацетона приводит к значительному снижению величин максимальной скорости реакции и к изменению значений K_m по сравнению с контролем. При этом величины K_m карбогидраз (мальтаза, сахараза) претерпевают разнонаправленные изменения, щелочной фосфатазы — в большинстве случаев уменьшаются. На примере леща было продемонстрировано значительное увеличение величин K_m мальтазы в результате экстракции липидов из слизистой кишечника (Ugolev et al., 1983). Позднее было установлено, что делипидизация мембран может вызывать не только увеличение значений K_m карбогидраз, но и их уменьшение (табл. 22). Также продемонстрировано существенное влияние температуры на степень изменения исследуемых показателей. В частности, зимой для щуки отмечено относительно равномерное снижение величин K_m сахаразы при обеих температурах. Для фермента леща характерно большее снижение величины K_m при 0 °С. Сопоставление величин $K_m^{20\text{ °C}}/K_m^{0\text{ °C}}$ М- и ДЛП-форм щелочной фосфатазы свидетельствует о том, что у щуки различия в величине K_m при разных температурах в результате экстракции липидов уменьшаются незначительно, у леща — увеличиваются почти в 2 раза. При исследовании кинетических характеристик щелочной фосфатазы безлипидных препаратов слизистой кишечника рыб в другие сезоны года получены близкие результаты. У всех видов рыб экстракция липидов приводит к уменьшению максимальной скорости реакции и в большинстве случаев к уменьшению величины K_m .

Вместе с тем отмечено не только прямое влияние температуры инкубационной среды, но и температуры среды обитания рыб, которая, как известно, может влиять на жирнокислотный состав липидов слизистой, меняя тем самым физико-химические свойства мембран.

6.5. Влияние температуры на жирнокислотный состав липидов слизистой

Как было показано выше, экстракция липидов из слизистой кишечника рыб, а также солиubilизация ферментов, осуществляющих мембранное пищеварение, существенно изменяют их кинетические характеристики по сравнению с мембранно-связанной формой. Эти факты свидетельствуют о важной роли мембран энтероцитов, в частности, фосфолипидного матрикса, в поддержании оптимальной конформации активных центров ферментов и тем самым в адаптивных перестройках ферментативных систем.

Известно, что одним из самых наиболее эффективных механизмов адаптации мембран к функционированию в широком диапазоне температур у пойкилотермальных животных является изменение жирнокислотного (ЖК) состава липидов (Johnston, Ro-

ots, 1964; Kemp, Smith, 1970; Hochachka, Somero, 1971, 1973; Hanzel, Prosser, 1974; Ржавская, 1976; Помазанская и др., 1979; Крепс, 1981). Эти данные получены при исследовании различных тканей рыб. Жирнокислотный состав липидов слизистой кишечника исследован только в условиях эксперимента у золотых рыбок (Kemp, Smith, 1970). Сведения о нем у рыб из естественных водоемов до последнего времени отсутствовали. В связи с этим нами сопоставлялся ЖК состав липидов слизистой у ряда видов пресноводных костистых рыб в зимний и летний периоды (Кузьмина и др., 1982, 1984).

Поскольку липиды расщепляются и всасываются в проксимальных участках тонкой кишки позвоночных животных и в переднем отделе кишечника рыб (Al-Hussaini, 1949b; Халилов, 1966; Iwai, 1968, Уголев, 1972), нами исследована каудальная половина среднего отдела кишечника рыб, содержащая меньшее количество пищевых липидов.

Содержание суммарных липидов в слизистой каудальной половины среднего отдела кишечника у исследованных видов зимой колеблется от 1,3 до 2,8 %, летом — от 3,7 до 5,0 % сырой массы ткани. При этом у рыб с выключенным экзогенным питанием (лещ, плотва) содержание жира достоверно ниже, чем у хищников (щука, налим), активно питающихся в зимний период (Кузьмина и др., 1982). В зимний период у всех видов рыб преобладают ЖК с 14 и более атомами углерода (табл. 23). Помимо указанных ЖК встречаются минорные ЖК с меньшим количеством атомов углерода: 6—7 и выше у представителей сем. Cyprinidae (плотва, лещ), 8 и выше — у представителей других таксономических групп. Состав жирных кислот в липидах слизистой рыб одного вида значительно варьирует. Так, у леща количество ЖК колеблется от 30 до 56, причем различия обусловлены главным образом короткоцепочными кислотами (6—15). Индивидуальная вариабельность ЖК состава в значительной мере обусловлена количеством минорных ЖК, которое не превышает десятых долей процента. Состав и число доминирующих ЖК у всех исследованных видов близки. Однако следует отметить некоторые видовые различия в содержании отдельных ЖК, в частности в содержании кислоты 20 : 2 (у форели и судака — 3,8 и 3,4 %, у остальных видов рыб — менее 1 % от суммы ЖК, представленных в табл. 23). У некоторых видов рыб (судак, окунь) наблюдается более низкое содержание кислоты 18 : 1, у некоторых (налим, судак, плотва и лещ) относительно высокая концентрация кислоты 16 : 1 и 20 : 5, а также низкое содержание кислоты 18 : 2. Данные по содержанию насыщенных, моноеновых и полиеновых ЖК в липидах слизистой кишечника рыб из естественного водоема, за исключением окуня, в зимний период довольно однородны. У форели выявлено несколько большее содержание насыщенных и меньшее полиеновых ЖК, особенно с 4—6 двойными связями. Соотношение насыщенных и ненасыщенных кислот у большинства видов колеблется от 0,32 до 0,37, у налима — 0,29. У форели отмечено наиболее высо-

Содержание жирных кислот в липидах слизистой кишечника у разных видов рыб (% от суммы доминирующих) зимой

ЖК *	Форель	Налим	Щука	Судак	Окунь	Гольян	Лещ
14:0	2,2	0,8±0,4	0,6±0,2	2,5	1,3	0,7±0,4	0,7±0,2
15:0	0,3	0,3±0,1	0,3±0,1	0,3	0,2	0,3±0,1	0,5±0,2
16:0	15,7	13,2±1,2	16,1±1,3	17,5	10,7	17,4±1,6	12,2±1,1
16:1	3,6	8,6±0,8	6,1±0,5	8,9	4,5	10,3±1,8	8,4±1,1
17:1	—	0,7±0,2	0,4±0,1	0,4	0,4	0,5±0,1	1,0±0,3
18:0	7,5	6,5±0,9	6,1±0,6	5,0	5,5	7,0±1,0	7,0±0,3
18:1	20,7	18,3±3,9	18,7±4,9	13,7	14,1	19,1±1,8	19,4±1,3
18:2	7,7	0,9±0,2	0,9±0,4	1,9	0,9	1,5±0,5	0,6±0,2
20:0 + 18:3	1,4	0,4±0,3	0,5±0,2	0,4	0,2	0,4±0,2	0,6±0,2
20:1	4,1	4,2±1,0	4,5±0,9	4,0	5,3	2,4±0,7	1,8±1,0
20:2	3,8	0,9±0,1	0,9±0,3	3,4	0,5	0,8±0,2	0,9±0,1
21:0	0,9	0,5±0,1	0,5±0,3	0,2	0,5	0,4±0,2	0,6±0,1
20:3 + 22:0	1,0	0,4±0,1	0,4±0,1	0,6	0,3	0,2±0,1	0,3±0,1
20:4ω6	5,4	8,2±0,6	6,0±1,8	9,1	10,9	5,0±1,5	8,4±1,7
20:4ω3	0,8	1,2±0,3	2,5±1,9	0,9	0,7	1,6±0,7	2,6±1,7
20:5ω3	2,0	9,4±0,3	9,5±2,7	11,3	9,2	8,1±1,7	8,7±1,6
22:5ω6	2,2	2,7±1,3	5,5±0,6	3,5	7,5	1,9±0,4	4,1±1,9
22:5ω3	—	2,9±0,9	2,2±0,5	1,5	3,0	2,8±0,5	2,9±0,4
22:6ω3	1,4	3,2±0,3	2,3±0,5	3,3	3,5	3,4±0,5	4,4±0,5
Насыщенные	19,2	16,6±1,1	16,2±4,4	11,6	20,8	16,2±2,7	14,8±0,6
Моноеновые	27,8	21,7	23,8	26,0	18,4	26,1	21,5
Полиеновые	28,4	31,8	29,7	27,0	24,3	32,3	30,6
Σ ω3	43,7	46,4	46,6	47,0	57,2	41,6	47,9
Σ ω6	23,4	30,6	30,7	27,3	34,3	28,7	30,8
Σ ω3	15,3	14,7	14,6	16,0	22,3	10,8	16,0
Σ ω6	1,5	2,0	2,1	1,7	1,5	2,7	2,0
Насыщенные	0,38	0,28	0,31	0,35	0,23	0,35	0,27
Ненасыщенные							

* Первая цифра обозначает число атомов углерода, вторая — число двойных связей.

кое значение коэффициента $\omega 3/\omega 6$ — отношение полиеновых кислот $\omega 3$ и $\omega 6$ типа (3.1), у большинства водохранилищных рыб величина коэффициента близка 2,0. Летом в липидах слизистой доминируют следующие ЖК: 16:0, 16:1, 18:0, 18:1, 20:4ω6, 20:5ω3 и 22:6ω3.

Сопоставление данных, полученных в зимний и летний периоды, позволяет отметить следующее. Уровень липидов в слизистой кишечника рыб летом почти в 2 раза выше, чем зимой. Однако в качественном отношении ЖК состав липидов слизистой кишечника у исследованных видов рыб в разные сезоны года близок. Количество отдельных ЖК у рыб разных видов различно. Содержание одной и той же ЖК у особей одной популяции в пределах сезона может значительно варьировать. Так, содержание докозагексаеновой ЖК у леща летом колеблется от 1,8 до 14,2%. Несмотря на значительную внутривидовую разнокачественность, в большинстве случаев выявляются сезонные перестройки ЖК состава, обусловленные изменением соотношения отдельных ЖК. Наиболее значительные различия обнаружены при сопоставлении суммы насыщенных, моноеновых и полиеновых ЖК. Так, в зимний период содержание насыщенных ЖК колеблется в диапазоне 18,4—27,8%, в летний — 40,0—65,4%, моноеновых — 24,3—32,6 и 15,0—44,1%, полиеновых — 41,5—57,2 и 16,0—38,6% соответственно. Эти данные свидетельствуют о значительном (более чем в 2 раза) увеличении количества насыщенных ЖК и существенном снижении содержания полиеновых ЖК в слизистой кишечника рыб в летний период. В результате этого отношение насыщенных ЖК к ненасыщенным ЖК летом увеличивается в 2—5 раз. Также отмечены сезонные различия в содержании ЖК $\omega 3$ и $\omega 6$ типов. Первые, как известно, имеют меньшую температуру плавления, чем вторые. Если содержание ЖК $\omega 3$ типа зимой колеблется в диапазоне 23,4—34,3, то летом — 6,6—21,1%. Содержание ЖК $\omega 6$ типа более стабильно. Величина отношения ЖК $\omega 3$ типа и ЖК $\omega 6$ типа летом в 1,5—2 раза меньше, чем зимой.

По всей вероятности, большая вариабельность количественного содержания отдельных ЖК у рыб разных видов летом по сравнению с зимним периодом связана с неравномерным увеличением содержания нейтральных липидов, включающих большее количество насыщенных ЖК (Керр, Smith, 1970; Шатуновский, 1980).

Таким образом, приведенные материалы не только свидетельствуют о значительной сложности и лабильности ЖК состава липидов слизистой кишечника рыб, но и помогают понять изменение характеристик мембранно-связанных ферментов в результате экстракции липидов или отторжения ферментов от мембран энтероцитов.

6.6. Заключительные замечания

Итак, при изучении влияния температуры на активность ферментов показано, что температурные характеристики разноимен-

ных ферментов, как правило, различны, одноименных — в большинстве случаев близки. Так, у щуки температурный оптимум α -амилазы соответствует 30 °С, сахаразы — 40, общей амилотической активности — 50, активности γ -амилазы и мальтазы — 60, щелочной фосфатазы — 40 °С. При этом установлены некоторые видовые особенности t° -функции ферментов, являющиеся общими для рыб одной экологической группы. В частности, у типичных хищников и хищников-факультативных бентофагов температурный оптимум α -амилазы соответствует 30 °С, а активность в зоне низких температур составляет 50—70 % от максимальной активности. Особый интерес представляют данные, полученные при исследовании чехони, так как этот вид близок в систематическом отношении исследованным бенто- и планктофагам, но по типу питания относится к группе хищников-факультативных планктофагов и имеет кривую температурной зависимости α -амилазы, характерную для хищных рыб (Кузьмина, Морозова, 1977).

Кроме того, известно о более высокой дипептидазной активности у форели по сравнению с бычком-кругляком (Егорова и др., 1974), свидетельствующей о том, что при 0 °С фермент хищника обладает большей относительной активностью, чем фермент бентофага. Однако разные температурные зоны обитания этих рыб затрудняют анализ результатов. По этой же причине трудно интерпретировать данные Моришита с соавторами (Morishita et al., 1964), показавших, что активность амилазы, протеазы и липазы в зоне низких температур у форели выше, чем у желтохвоста, угря, карпа и айю, а также данные работ, свидетельствующие о меньшем температурном оптимуме амилазы у форели и сига (Reichenbach-Klinke, 1972) по сравнению с ферментом ряда пресноводных и морских рыб (Ананичев, 1959; Jančaiik, 1964; Nagase, 1964; Кандюк, 1966, 1967а, 1967б).

Данные, касающиеся температурной зависимости собственно кишечных ферментов, а также общей амилотической активности, в меньшей степени зависят от биологии исследованных видов рыб. Интересно отметить, что температурные оптимумы ферментов, обеспечивающих гидролиз крахмала и прочно связанных со слизистой кишечника, преимущественно γ -амилаза, а также ферментов группы мальтаз в большинстве случаев соответствуют 60 °С, меньшие значения (50 °С), установлены лишь для одного вида — налима. При исследовании влияния температуры на активность мальтазы у кур и бычков-кругляков температурный оптимум также отмечен при 60 °С (Егорова и др., 1974). Температурные оптимумы сахаразы в большинстве случаев соответствуют 40 °С, общей амилотической активности — 50 °С. Данные по температурной зависимости щелочной фосфатазы, несмотря на значительное сходство характеристик у млекопитающих (крыса) и рыб, позволяют обнаружить определенные различия. Так, температурный оптимум фермента крысы соответствует 50 °С, ладожских судака и леща — 45 и 40 °С соответственно, форели — 40 °С, у рыб Рыбинского водохранилища — 40 или 50 °С (Кузьмина, 1985);

у круглоротых и морских костистых рыб — 40 °С (Кандюк, 1967а; 1967б; Егорова и др., 1974).

При анализе экспериментов по изучению характеристик щелочной фосфатазы у животных, значительно различающихся по температурным условиям среды обитания в настоящем и далеком прошлом (крыса, ладожский судак, ладожский лещ и форель), отмечалось последовательное снижение значений температурного оптимума и термостабильности, коррелирующее с температурой среды обитания (Уголев и др., 1981). Эти данные близки результатам многочисленных работ, касающихся зависимости термостабильности тканей и различных белков, главным образом ферментативных, от температурных условий среды обитания исследуемых видов (Ушаков, 1964; Hochachka, Somero, 1973; Hazel, Prosser, 1974; Александров, 1985).

Однако, как указывалось выше, величины температурных оптимумов и термостабильность ферментов далеко не всегда коррелируют с температурным преферендумом вида (Егорова и др., 1974; Ушаков, 1974; Александров, 1975, и др.). В связи с этим интересно проанализировать данные, касающиеся $E_{\text{акт}}$ ферментов. Так для α -амилазы установлена зависимость величины $E_{\text{акт}}$ от типа питания рыб: у хищников в зоне 10—30 °С значения в 2—4 раза ниже, чем у бенто- и планктофагов. При изучении характеристик мальтазы хищных рыб обнаружен излом на графике Аррениуса, причем зона минимальных значений $E_{\text{акт}}$ соответствует температурам наиболее активного питания. При исследовании щелочной фосфатазы у налима в зимний период отмечены низкие значения $E_{\text{акт}}$. Для круглоротых (минога) и большинства исследованных видов морских рыб отмечалось постоянство значений $E_{\text{акт}}$ в диапазоне физиологических температур, однако в ряде случаев также были обнаружены изломы на графике Аррениуса, причем наименьшие величины $E_{\text{акт}}$ соответствовали температуре, при которой функционируют ферменты (Егорова и др., 1974; Гельман, 1975а, 1975б, 1976б; Уголев и др., 1976а).

Данные, касающиеся влияния температуры на кинетические характеристики ферментов, свидетельствуют о существенной роли этого фактора. При этом наблюдается последовательное увеличение максимальной скорости реакции всех исследованных гидролаз по мере роста температуры, а также разнонаправленные изменения констант Михаэлиса. Прежде чем обсуждать это явление, следует отметить, что величина K_m часто используется в качестве параметра, в значительной мере отражающего величину субстратной константы (K_s) и, следовательно, сродства фермента к субстрату. Поскольку в большинстве случаев величина K_m существенно отличается от величины K_s (Яковлев, 1964), принято считать, что значения K_m обратно пропорциональны сродству фермента к субстрату.

В связи с этим особенно интересен факт разнонаправленного влияния температуры на ферменты, гидролизующие субстраты, относящиеся к разным классам соединений. Действительно, для

карбогидраз, гидролизующих поли- и дисахариды, отмечено уменьшение значений K_m , следовательно, увеличение фермент-субстратного сродства по мере увеличения температуры. Для щелочной фосфатазы, гидролизующей эфиры ортофосфорной кислоты, напротив, отмечено увеличение значений K_m и значит уменьшение сродства фермента к субстрату по мере увеличения температуры. При этом летом величины K_m при одних и тех же температурах ниже, чем зимой, причем значения K_m щелочной фосфатазы при температуре среды обитания рыб летом и зимой практически одинаковы, сахаразы — значительно ниже летом, чем зимой.

Также заслуживают внимания низкие значения K_m ферментов в весенний период, совпадающий с периодом нереста у большинства исследованных видов рыб (Поддубный, 1971), подтверждающие значительное влияние факторов внутренней среды организма, по всей вероятности стероидных гормонов, на кинетические характеристики ферментов.

При сопоставлении величин кажущейся K_m у животных, относящихся к разным таксономическим группам, обращают на себя внимание различия, получаемые при использовании разных субстратов и сходство характеристик при использовании одного и того же субстрата. При этом у исследованных млекопитающих (Уголев, 1972) обнаружены близкие значения кажущейся K_m для гидролиза β -глицерофосфата натрия: $0,9 \cdot 10^{-2}$ М (кошка), $1,1 \times 10^{-2}$ М (кролик) и $1,5 \cdot 10^{-2}$ М (крыса). У морских рыб значения K_m , как правило, ниже, а диапазон изменчивости показателя много выше, чем у млекопитающих: от $0,36 \cdot 10^{-2}$ (ледяная) до $1,7 \cdot 10^{-2}$ М (лещ) при 5°C , от $0,71 \cdot 10^{-2}$ (скумбрия) до $1,66 \times 10^{-2}$ М (судак) при 20°C (Нехамкин, личное сообщение).

Данные, полученные нами при использовании в качестве субстрата п-нитрофенилфосфата натрия, на порядок ниже вышеприведенных. Так, средние величины кажущейся K_m при 0°C изменяются от $0,05 \cdot 10^{-3}$ у налима и щуки (зимой и весной соответственно) до $1,01 \cdot 10^{-3}$ М у судака (зимой). При 20°C минимальные значения K_m отмечены также для налима и щуки: $0,08 \cdot 10^{-3}$ М, максимальные — для судака — $2,53 \cdot 10^{-3}$ М. Это свидетельствует о том, что сродство щелочной фосфатазы к п-нитрофенилфосфату натрия на один-два порядка выше, чем к β -глицерофосфату натрия. Действительно, у леща из Куршского залива Балтийского моря величина K_m при 5°C соответствует $1,70 \cdot 10^{-1}$ М, у леща из Финского залива Балтийского моря при 15°C — лишь $0,20 \cdot 10^{-3}$ М. При этом для пресноводного леща из Рыбинского водохранилища летом при 20°C получены значения очень близкие таковым для леща из Финского залива — $0,18 \cdot 10^{-3}$ М (Уголев и др., 1981). Следовательно, наблюдаемые различия обусловлены не видовыми особенностями исследованных животных, а особенностями взаимоотношения фермента и субстрата.

Также необходимо остановиться на роли отдельных компонентов фермент-мембранных комплексов в формировании характери-

стик ферментов. Прежде всего следует отметить, что высвобождение молекул ферментов из состава мембран щеточной каймы энтероцитов приводит к некоторому сужению зоны оптимальных значений температуры, особенно выраженному у карбогидраз, причем в ряде случаев зарегистрировано последовательное снижение уровня относительной активности ферментов в зоне постмаксимальных температур по мере деградации фермент-мембранных комплексов. Экстракция липидов из слизистой также приводит к изменению характеристик ферментов, особенно значительному в случае сахаразы (смещение температурного оптимума влево, а также увеличение уровня относительной активности ферментов в зоне низких и физиологических температур). Особого внимания заслуживает изменение значений $E_{\text{акт}}$ Д-, П-, и ДЛП-форм по сравнению с М-формой ферментов. При этом в ряде случаев отмечено смещение точки перегиба на графике Аррениуса. Кроме того, разрушение фермент-мембранных комплексов приводит к значительному изменению кинетических характеристик. Значения V по мере деградации фермент-мембранных комплексов последовательно снижаются. Величины K_m изменяются неоднозначно: значения K_m дисахаридаз увеличиваются по сравнению с М-формой ферментов, изменение значений K_m щелочной фосфатазы зависит от вида животных. Аналогичная неоднозначность изменения величин K_m отмечена в опытах по делипидизации мембран энтероцитов. Полученные результаты хорошо согласуются с представлениями о важной роли структурирования в реализации кинетических характеристик ферментов, обеспечивающих процессы мембранного пищеварения (Уголев, 1972; Уголев, Колтушкина, 1975; Уголев и др., 1983, и мн. др.). Эти данные подтверждают представления о том, что структурирование ферментов играет важную роль в реализации их температурных характеристик, в частности $E_{\text{акт}}$ (Егорова и др., 1974; Stanley, Luzio, 1978; Brasitus et al., 1979, 1980; Madden, Quinn, 1979; Уголев и др., 1981, 1983а и др.). При этом значительная роль принадлежит липидному матриксу мембран (Johnston, Roots, 1964; Hochachka, Somero, 1971, 1973; Hazel, Prosser, 1974; Brasitus et al., 1979, 1980; Крепс, 1981, и др.). При изучении жирнокислотного состава липидов слизистой кишечника у рыб разных видов выявлены особенности, которые позволяют мембранам энтероцитов функционировать в условиях меняющейся температуры. В частности, отмечено значительно большее, чем было известно ранее для тканей пресноводных рыб, содержание ряда полиеновых жирных кислот, особенно докозагексаеновой (Gruger et al., 1964; Ackman et al., 1967; Ржавская, 1976) и ЖК ω 3 типа (Маргла, 1975), имеющих более низкую температуру плавления, а также сезонные перестройки жирнокислотного состава липидов слизистой кишечника (Кузьмина и др., 1982, 1984).

Сопоставление имеющихся данных свидетельствуют о том, что сезонные перестройки ЖК состава обусловлены не столько пищевым фактором (Farkas, Herodek, 1964; Farkas, 1971; Маргла,

1975), сколько температурным, что согласуется с выводами, полученными при исследовании различных тканей рыб (Кемп, Smith, 1970; Hochachka, Somero, 1971, 1973; Hazel, Prosser, 1974; Ржавская, 1976; Крепс, 1981; Wodtke, 1981; Smith, 1983, и мн. др.) Таким образом, температура оказывает значительное влияние на активность и свойства ферментов, осуществляющих процессы мембранного пищеварения у рыб. При этом существенными оказываются все компоненты фермент-мембранных комплексов, в том числе гидрофобные части ферментов и липидный матрикс мембран.

Глава 7

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПИЩЕВЫХ ВЕЩЕСТВ В ПРОЦЕССЕ ПИЩЕВАРЕНИЯ

В цикле работ, выполненных в последние годы, было установлено, что многие ферменты, обеспечивающие процессы мембранного пищеварения у различных животных, являются регулируемые (Уголев, 1972; Уголев и др., 1975а, 1975б, 1979; Кушак, 1983, и др.). При этом было продемонстрировано, что на каталитические свойства ряда ферментов значительное влияние оказывают вещества, не являющиеся субстратами исследуемой ферментативной реакции, названные модификаторами. Поскольку естественная пища животных многокомпонентна, возникла проблема изучения взаимодействия различных пищевых веществ и ферментов в процессе мембранного пищеварения.

Для понимания закономерностей полисубстратных процессов важны представления об аллостерической регуляции ферментов (Jacob, Monod, 1961; Koshland, Neet, Уголев, 1972), а также сведения об амфипатической природе некоторых собственно кишечных ферментов (Louvard et al., 1975а, 1975б, 1976; Magoux, Louvard, 1976, и др.). Аллостерическая регуляция активности ферментов осуществляется благодаря связыванию субстрата-регулятора (модификатора) с ферментом в центре, пространственно не совпадающим с активным центром фермента, вследствие чего наблюдаются изменение конфигурации, а также активности последнего (Jacob, Monod, 1961). В связи с этим следует напомнить о гипотезе, согласно которой ферменты, осуществляющие мембранное пищеварение, обладают определенным фондом каталитических и регуляторных субъединиц, различающихся по своим свойствам (Уголев, 1972). Предполагалось, что в процессе филогенеза возможно комбинирование различных каталитических и регуляторных субъединиц в одноименных ферментах. Позднее была установлена амфипатическая структура щеточкокаемных ферментов и показано, что гидрофильная часть молекулы фермента выполняет каталитические функции, гидрофобная — якорные (Louvard et al., 1975б). Вместе с тем было продемонстрировано, что гидрофобная часть фермента также выполняет важные функции по поддержанию оптимальной конформации целого фермента и регуляции свойств гидрофильной, ферментативно-активной части (Егорова и др., 1977; Уголев и др., 1978). Кроме

того, предполагается ее участие в реакции на действие различных энзимотропных факторов и, возможно, в транслировании сигналов (Хюттер и др., 1982).

Эти обстоятельства делают понятным интерес к проблемам взаимодействия пищевых субстратов и ферментов мембранного пищеварения. Помимо теоретических аспектов названная проблема имеет непосредственный практический интерес, так как ее решение позволит приблизиться к пониманию витальных, а также к созданию производственных биотехнологий (Уголев, 1972).

7.1. Влияние модификаторов на уровень активности ферментов

Регуляторные свойства пищеварительных ферментов рыб до последнего времени были исследованы слабо. В работе, касающейся изучения влияния трибутирина на процесс гидролиза крахмала γ -амилазой слизистой кишечника карпа, было установлено значительное снижение уровня ферментативной активности, свидетельствующее о том, что ферменты рыб, подобно ферментам млекопитающих, являются регулируемы. Также были выявлены различия проксимо-дистальных градиентов каталитических и регуляторных свойств этого фермента (Гредин, 1977).

Позднее исследовано влияние различных модификаторов на общую амилолитическую активность, активность сахаразы, α -амилазы и щелочной фосфатазы слизистой кишечника рыб (Кузьмина, 1987). Трибутирин значительно влияет на уровень общей амилолитической активности слизистой кишечника (табл. 24). Обращает на себя внимание разный характер влияния трибутирина на уровень активности ферментов у рыб разных видов, а также вариации эффекта при разной температуре. Так, у щуки и налима в большинстве случаев в присутствии трибутирина наблюдается незначительное увеличение уровня активности ферментов (для щуки при 0 °C статистически достоверное увеличение активности, $P < 0,01$), у леща и плотвы, напротив, при обеих температурах выявлено статистически достоверное торможение ферментативной активности ($P < 0,01-0,001$). В настоящее время неясно, являются ли наблюдаемые различия (стимуляция у щуки и налима, а также торможение у леща и плотвы) результатом видовых особенностей или же они обусловлены особенностями питания исследованных рыб. Действительно, 2 последних вида принадлежат к одному сем. Cyprinidae, а по типу питания относятся к одной экологической группе типичных бентофагов.

При исследовании сахаразы также установлено различное влияние трибутирина на уровень ферментативной активности у рыб разных видов. Для щуки не отмечено существенного изменения активности этого фермента по сравнению с контролем, для налима — значительное увеличение, для леща и плотвы — снижение уровня ферментативной активности.

Таблица 24

Влияние трибутирина на активность некоторых карбогидраз слизистой кишечника рыб, мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹

Вид	Контроль		Трибутирин	
	0 °C	20 °C	0 °C	20 °C
Общая амилолитическая активность				
Щука	0,14±0,01	0,71±0,04	0,21±0,01 (+57,8)	0,80±0,36 (+14,1)
Налим	0,49±0,03	2,27±0,06	0,53±0,03 (+8,4)	2,39±0,09 (+3,3)
Лещ	0,43±0,04	2,10±0,11	0,14±0,01 (-66,8)	1,09±0,26 (-39,4)
Плотва	1,10±0,04	4,40±0,16	0,71±0,02 (-35,6)	1,99±0,02 (-54,1)
Мальтаза				
Щука	0,29±0,01	0,67±0,01	0,35±0,01 (18,4)	0,82±0,01 (+21,1)
Лещ	0,61±0,01	1,13±0,02	0,55±0,03 (-9,8)	0,94±0,03 (-16,8)
Плотва	0,65±0,01	1,20±0,01	0,57±0,01 (-11,0)	0,98±0,03 (-18,5)
Сахараза				
Щука	0,16±0,01	0,32±0,01	0,14±0,01 (-12,5)	0,35±0,02 (+9,8)
Налим	0,16±0,03	0,43±0,14	0,26±0,02 (+85,0)	0,91±0,28 (+119,1)
Лещ	0,21±0,02	0,87±0,04	0,15±0,02 (-83,3)	0,31±0,02 (-65,8)
Плотва	0,55±0,03	1,43±0,03	0,44±0,09 (-18,8)	1,31±0,02 (-8,7)
α -Амилаза				
Щука	0,89±0,10	1,41±0,12	0,64±0,11 (-29,5)	1,52±0,10 (+8,4)
Лещ	0,38±0,06	1,35±0,04	0,22±0,12 (-51,8)	1,06±0,11 (-23,2)
Плотва	1,71±0,05	2,03±0,03	1,30±0,06 (-24,0)	2,00±0,06 (-2,3)

Примечание. Здесь и в табл. 25, 26, 28: в скобках указано изменение относительной активности ферментов («+» — стимуляция, «-» — торможение), % по отношению к контролю, рассчитанное по результатам отдельных определений.

При исследовании мальтазы выявлено меньшее влияние трибутирина на уровень активности фермента: стимуляция у щуки и торможение у леща и плотвы.

Данные, приведенные выше, касались влияния трибутирина на активность собственно кишечных карбогидраз, которые имеют сложную четвертичную структуру. В связи с этим представляет интерес изучение модификаторных эффектов трибутирина на ферменты, имеющие лишь третичную структуру. Таким ферментом в цепи карбогидраз является α -амилаза. Исследование влияния 0,4 %-ной эмульсии трибутирина на активность этого фермента также в ряде случаев позволило продемонстрировать изменение ферментативной активности. При этом у щуки не отмечено существенного изменения уровня активности α -амилазы при 20 °С, при 0 °С выявлено значительное торможение. Для леща и плотвы установлено торможение активности α -амилазы при тех же значениях температуры, однако наиболее значительное при 0 °С (51,8 и 24,0 % для леща и плотвы соответственно).

При исследовании влияния трибутирина на активность щелочной фосфатазы также установлено значительное изменение уровня ферментативной активности (табл. 25). Влияние модификатора

Таблица 25

Влияние трибутирина и DL- β -фенил- α -аланина (2 мМ) на активность щелочной фосфатазы слизистой кишечника рыб ($V \cdot 10^{-3}$)

Вид	Контроль		Модификатор	
	0 °С	20 °С	0 °С	20 °С
Трибутирин				
Щука	735 \pm 460	1670 \pm 720	460 \pm 270 (-37,3)	1390 \pm 650 (-21,3)
Налим	78 \pm 1	451 \pm 12	39 \pm 1 (-50,5)	175 \pm 3 (-60,6)
Лещ	17 \pm 1	121 \pm 4	36 \pm 2 (+108,2)	330 \pm 9 (+172,7)
Плотва	24 \pm 1	168 \pm 2	25 \pm 3 (+4,6)	290 \pm 16 (+71,5)
DL- β -фенил- α -аланин				
Щука	133 \pm 5	650 \pm 10	129 \pm 7 (-3,5)	661 \pm 23 (+1,6)
Налим	163 \pm 2	639 \pm 14	167 \pm 6 (+2,3)	733 \pm 7 (+15,1)
Лещ	12 \pm 1	77 \pm 6	9 \pm 1 (-18,7)	63 \pm 1 (-16,6)
Плотва	24 \pm 2	152 \pm 6	17 \pm 2 (-28,9)	158 \pm 7 (+4,1)

на характеристики щелочной фосфатазы у тех же видов рыб оказалось противоположным таковому карбогидраз. Действительно, у хищных рыб наблюдается торможение активности щелочной фосфатазы, у леща и плотвы — стимуляция активности фермента, наиболее значительная у первого вида.

Таким образом, не только карбогидразы, но и щелочная фосфатаза слизистой кишечника рыб является регулируемым ферментом. При этом особого внимания заслуживает тот факт, что один

и тот же модификатор вызывает противоположные эффекты при взаимодействии с ферментами, расщепляющими разные связи в пищевых субстратах у рыб одного вида. По всей вероятности, это связано с различиями в структуре их регуляторных центров.

В связи с этим интересно сопоставить эффекты трибутирина с таковыми модификатора иной природы. В качестве такого модификатора исследован DL- β -фенил- α -аланин, поскольку L-фенилаланин известен в качестве стереоспецифического ингибитора кишечной щелочной фосфатазы млекопитающих. Как видно из табл. 25, DL- β -фенил- α -аланин вызывает торможение активности щелочной фосфатазы только при взаимодействии с ферментом леща (при обеих температурах) и с ферментом плотвы (при 0 °С). В первом случае модификаторный эффект при разной температуре близок — при 0 °С торможение составляет 18,7 %, при 20 °С — 16,6 %. Во втором случае эффект торможения обнаружен только при 0 °С (28,9 %).

Итак, при исследовании в качестве модификатора щелочной фосфатазы, DL- β -фенил- α -аланина (2,0 мМ), заметный эффект торможения установлен только при взаимодействии аминокислоты с ферментами бентофагов. При исследовании ферментов хищных рыб в большинстве случаев не отмечено существенных изменений уровня ферментативной активности.

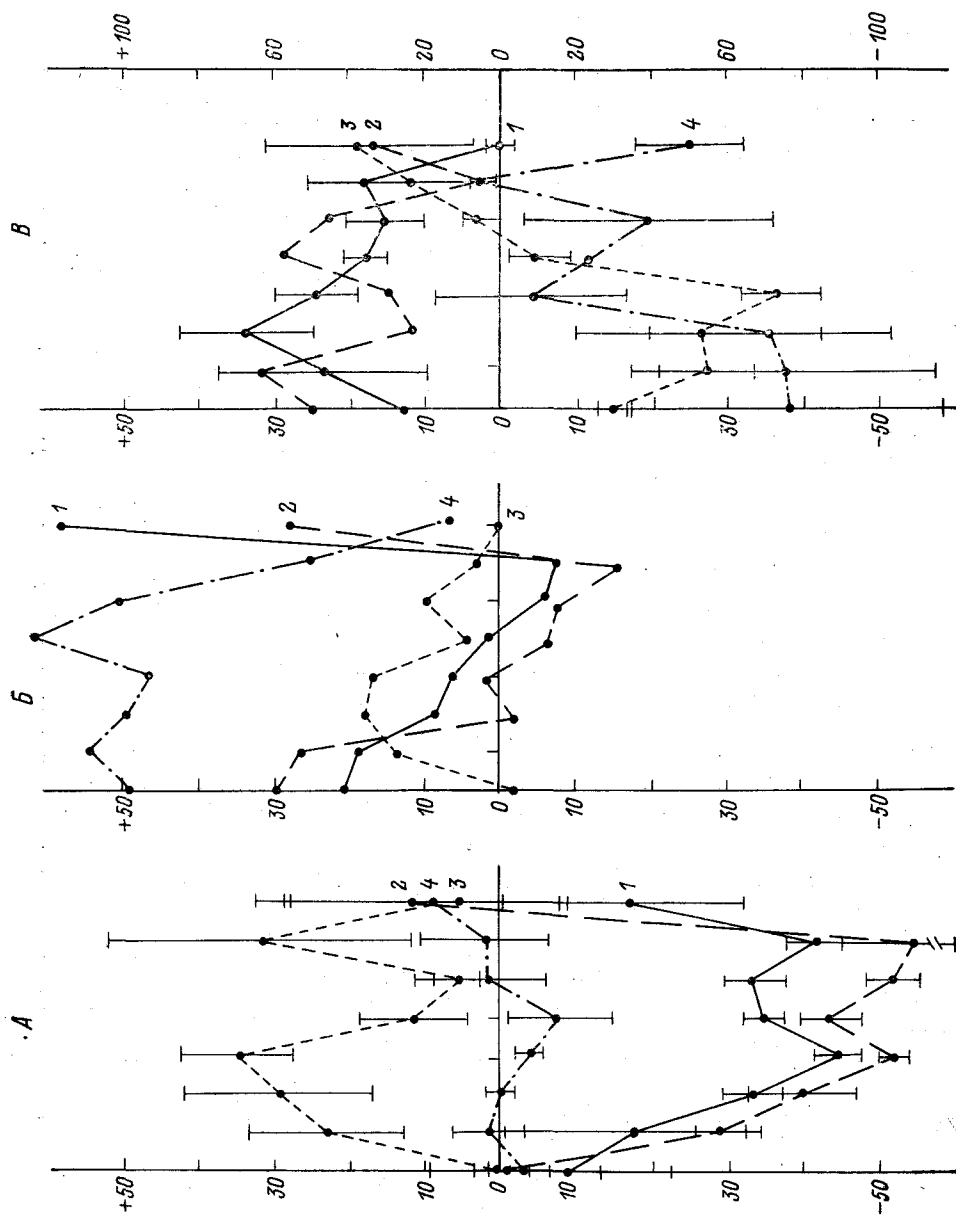
Кроме того, показана зависимость эффекта модификатора от возраста и физиологического состояния рыб (табл. 26). Так, добавление к инкубационной среде 0,4 %-ной эмульсии трибутирина вызывает некоторое снижение активности щелочной фосфатазы у неполовозрелых особей типичного хищника — судака (на 19,6 и 9,8 % при 0 и 20 °С соответственно) — и у ювенильных щук (на 46,6 и 29,5 % при 0 и 20 °С соответственно). Для ювенильных особей леща отмечена близкая по значениям стимуляция активности фермента (на 57,6 % при 0 °С, а также на 140,7 % при 20 °С соответственно). Нетрудно заметить, что эффект торможения выражен сильнее при 0 °С, эффект стимуляции — при 20 °С. Эти данные хорошо согласуются с приведенными выше и свидетельствуют об отсутствии значительных изменений регуляторных

Таблица 26

Влияние трибутирина на активность щелочной фосфатазы слизистой кишечника неполовозрелых рыб ($V \cdot 10^{-3}$)

Вид	Контроль		Трибутирин	
	0 °С	20 °С	0 °С	20 °С
Судак	186 \pm 5	752 \pm 29	150 \pm 5 (-19,6)	677 \pm 8 (-9,8)
Щука	83 \pm 2	405 \pm 19	44 \pm 1 (-46,6)	288 \pm 26 (-29,5)
Лещ	25 \pm 1	129 \pm 2	40 \pm 2 (+57,6)	310 \pm 4 (+140,7)

Примечание. Неполовозрелые особи (возраст щуки и судака, 2+, 3+, леща 5+). В скобках дан эффект трибутирина.



свойств щелочной фосфатазы в зависимости от возраста рыб. У ювенильных особей DL-β-фенил-α-аланин заметно не влияет на активность щелочной фосфатазы. Близкие результаты получены при исследовании синца, карпа и окуня.

При использовании глицил-L-лейцина (20 мМ) у тех же видов рыб существенных изменений уровня ферментативной активности не обнаружено. Наибольший модификаторный эффект отмечен для взрослых щук — торможение, равное 25,2 % при 20 °С (Кузьмина, 1987).

Таким образом, различные вещества, входящие в состав пищевой смеси, способны значительно изменять уровень активности пищеварительных ферментов рыб. При этом характер и степень изменения ферментативной активности зависят как от природы вещества-модификатора, так и от видовых особенностей рыб.

7.2. Влияние модификаторов на температурную зависимость ферментов

Выше приведены сведения о влиянии различных модификаторов на активность ферментов рыб. Вместе с тем, как было показано выше, ферменты рыб функционируют в широком диапазоне температур, причем кинетические характеристики гидролаз являются температурно-зависимыми (Уголев, 1972; Уголев и др., 1983а, 1983б; 1986; Кузьмина, 1985, и др.). Это обстоятельство дало возможность предположить, что эффекты модификаторов также являются температурно-зависимыми. Действительно, исследование регуляторных свойств ферментов в широком диапазоне температур (от 0 до 70 °С) подтвердило зависимость эффекта модификаторов от этого фактора. Важно отметить, что, несмотря на изменение уровня ферментативной активности под влиянием модификаторов, характер кривых t° -функции в значительной мере сохраняется. При этом уровень общей амилолитической активности слизистой кишечника леща и плотвы практически во всем диапазоне исследованных температур снижается, у щуки — увеличивается. Различия в степени влияния трибутирина на активность различных ферментов показаны на рис. 25, А—В. Нетрудно заметить, что в случаях торможения и стимуляции общей амилолитической активности наблюдаются два максимума — при 30 и 60 °С. Интересно, что величина первого близка значениям температурного оптимума α-амилазы, второго — мальтазы и ферментов, прочно связанных со слизистой, преимущественно γ-амилазы

Рис. 25. Влияние температуры на модификаторные эффекты трибутирина.

А — общая амилолитическая активность; В — активность ферментов группы мальтаз; В — щелочно-фосфатазная активность; 1 — лещ, 2 — плотва, 3 — щука, 4 — налим; по оси абсцисс — температура, °С; по оси ординат — модификаторный эффект (торможение или стимуляция), % от контроля, принятого за 100.

(Кузьмина, Морозова, 1977; Кузьмина, 1985). При 0 и 70 °С модификаторные эффекты трибутирина отсутствуют или слабо выражены.

Трибутирин в зоне низких температур и при 70 °С увеличивает мальтазную активность у леща и плотвы, слабо влияет на ферментативную активность у щуки и значительно увеличивает такую у налима (рис. 25, Б). В целом полученные данные свидетельствуют о меньшем по величине, но сходном по характеру влиянии трибутирина на активность ферментов группы мальтаз и ферментов, обеспечивающих гидролиз полисахаридов. Уровень щелочно-фосфатазной активности также значительно изменяется в присутствии трибутирина. Для ферментов леща и плотвы характерен эффект стимуляции, щуки и налима — меньший по величине эффект торможения (рис. 25, В). При исследовании в качестве модификатора L-фенилаланина значительных изменений уровня ферментативной активности не обнаружено.

Таким образом, исследование влияния модификаторов на активность ферментов в широком диапазоне температур позволило установить значительную варибельность их эффектов. При этом в разных температурных зонах возможны изменения характера эффекта, например ингибирование активности фермента в зоне низких и физиологических температур, стимуляция в зоне высоких.

7.3. Влияние модификаторов на величину энергии активации ферментов

Значительное влияние модификаторов на температурную зависимость ферментов предполагает их влияние и на величину такого важного параметра, как энергия активации. Действительно, при исследовании влияния трибутирина на величину энергии активации карбогидраз и щелочной фосфатазы такие эффекты были установлены (табл. 27). При этом, однако, характер кривых Арениуса, как правило, существенно не изменяется. Действительно, при исследовании процесса гидролиза углеводов у всех видов рыб обнаружены изломы, причем температура, при которой наблюдается перегиб, в присутствии трибутирина и в отсутствие модификатора постоянна. Важно отметить, что перегиб на кривой Арениуса у хищных рыб (щука, налим) находится в зоне физиологических температур — 10 и 20 °С, у бентофагов (лещ, плотва) — в зоне, близкой температурному оптимуму — 40 и 50 °С. При этом в зоне физиологических температур величины энергии активации у хищных рыб изменяются, у бентофагов — нет. В присутствии трибутирина значения $E_{акт}$ процесса гидролиза полисахаридов в зоне низких температур у щуки и налима несколько увеличиваются, в зоне более высоких температур величины $E_{акт}$ незначительно снижаются. Для бентофагов отмечены слабое уменьшение значений $E_{акт}$ во всем диапазоне физиологических

Таблица 27

Влияние трибутирина на величину энергии активации карбогидраз, ккал/моль

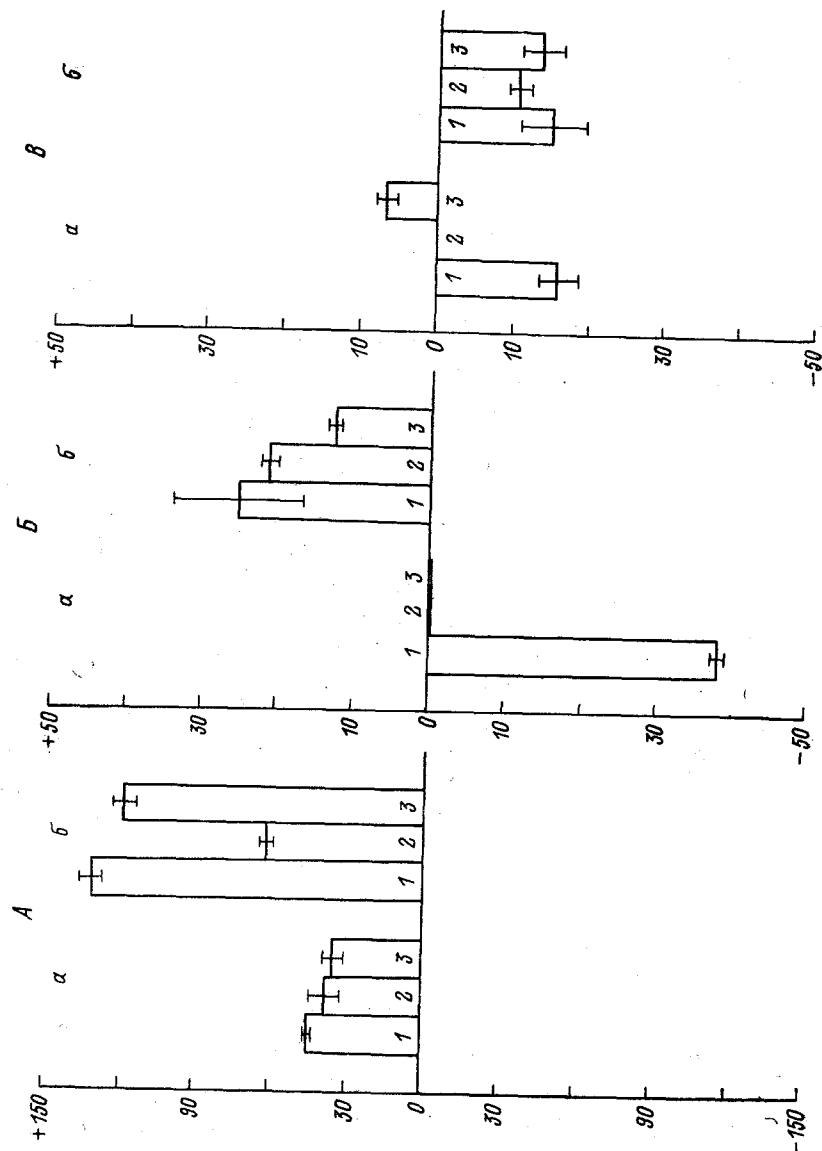
Вид	Энергия активации		Температура точки перегиба, °С	Температурный оптимум, °С
	до точки перегиба	после точки перегиба		
Процесс гидролиза полисахаридов				
Щука	4,2	10,6	10	50
	6,7	10,2	10	50
Налим	7,6	11,9	10	50
	9,6	11,8	10	50
Лещ	11,9	8,0	50	60
	10,9	4,7	50	60
Плотва	12,4	4,9	40	60
	11,7	2,1	40	60
Процесс гидролиза мальтозы				
Щука	8,2	10,4	20	60
	9,7	10,6	20	60
Налим	9,4	12,9	10	50
	9,9	13,2	10	50
Лещ	9,6	2,9	50	60
	8,7	2,9	50	60
Плотва	8,6	3,7	50	60
	8,4	1,5	50	60

Примечание. *Над чертой* — ферментативно активный препарат и субстрат без модификатора; *под чертой* — то же с добавлением 0,4 %-ной эмульсии трибутирина.

температур и значительное снижение (приблизительно в 2 раза) в зоне высоких температур. Характер изменения величин $E_{акт}$ процесса гидролиза мальтозы близок вышеописанному.

При исследовании влияния модификаторов на величину $E_{акт}$ щелочной фосфатазы также в ряде случаев установлено изменение этого параметра. Так, в присутствии трибутирина во всем диапазоне исследованных температур наблюдается незначительное снижение значений $E_{акт}$ фермента у щуки и увеличение — у налима. Для бентофагов отмечено скачкообразное изменение величины $E_{акт}$ при температуре 10 °С. В зоне низких температур значения $E_{акт}$ и в том, и в другом случае увеличиваются, в зоне более высоких температур изменяются слабо. В присутствии DL-β-фенил-α-аланина величина $E_{акт}$ щелочной фосфатазы большинства видов рыб несколько уменьшается.

Таким образом, вычисление значений энергии активации для процессов гидролиза крахмала, дисахарида мальтозы и п-нитро-



фенилфосфата натрия показало, что в присутствии исследованных модификаторов, как правило, характер кривых Аррениуса не изменяется. При этом трибутирин вызывает значительное ухудшение энергетических характеристик гидролиза полисахаридов у хищников, а также эфиров фосфорной кислоты у всех, кроме налима, видов рыб в зоне низких температур. Для щуки характерно снижение величины $E_{акт}$ во всем диапазоне исследованных температур. В остальных случаях, в том числе и при исследовании DL-β-фенил-α-аланина, значительных изменений величины энергии активации не отмечено.

7.4. Влияние отдельных компонентов фермент-мембранных комплексов на регуляторные свойства ферментов

Для решения вопроса о роли различных компонентов фермент-мембранных комплексов в реализации регуляторных свойств ферментов использовались методические подходы, описанные ранее, в частности сопоставление характеристик мембранной, детергентной и протеазной форм ферментов, а также делипидизированных препаратов слизистой. В качестве модельного фермента исследована щелочная фосфатаза (Кузьмина, 1987).

Влияние различных модификаторов на гидролиз п-нитрофенилфосфата натрия мембраносвязанной (М-), детергентной (Д-) и протеазной (П-) формами щелочной фосфатазы слизистой кишечника исследовано на примере щуки и леща. На рис. 26 приведены результаты опытов, в которых было отмечено значительное изменение активности М-формы фермента. Так, при использовании трибутирина установлено слабое последовательное снижение его стимулирующего эффекта на активность Д- и П-форм фермента по сравнению с М-формой фермента леща при 0 °С. При 20 °С также наблюдается уменьшение стимулирующего эффекта трибутирина, причем резче оно выражено для Д-, чем для П-формы фермента. При этом для всех форм щелочной фосфатазы, особенно при 20 °С, влияние трибутирина оказывается значительным.

Влияние DL-β-фенил-α-аланина проявляется менее отчетливо, однако и в данном случае наиболее существенные изменения выявлены для М-формы фермента, причем и для щуки, и для леща только при 0 °С.

Рис. 26. Влияние некоторых модификаторов на активность щелочной фосфатазы слизистой кишечника леща и щуки.

А — влияние трибутирина на активность ферментов леща (а — 0 °С; б — 20 °С); Б — влияние DL β-фенил-α-аланина на активность ферментов леща (а) и щуки (б) при 0 °С; В — влияние глицил-L-глицина на активность ферментов леща (а) при температуре 0 °С и щуки (б) при 20 °С; по оси абсцисс — ферментативно активные препараты (1 — М-, 2 — Д-, 3 — П-форма фермента); по оси ординат — модификаторный эффект, % стимуляции (+) или торможения (-).

Таблица 28

Влияние трибутирина на активность щелочной фосфатазы, функционирующей в составе безлипидных препаратов слизистой кишечника рыб ($V \cdot 10^{-3}$)

Вид	Форма фермента	Контроль			Трибутирин *		
		0 °С	20 °С	37 °С	0 °С	20 °С	37 °С
Щука	М	130±2	280±8	470±2	70+6 (-46,2)	170+7 (-39,3)	440+3 (-6,4)
	ДЛП **	110±5	230±4	330±10	100+2 (-9,1)	190+8 (-17,4)	260+20 (-21,2)
Лещ	П	20±2	50±2	110±2	40+2 (+100)	210+1 (+320,0)	460+7 (+318,2)
	ДЛП	20±1	60±2	120±5	40+1 (+100)	200+6 (+233,3)	460+15 (+283,3)

* Эмульсия приготовлена в присутствии дезоксихолата натрия.

** ДЛП — делипидизированный препарат слизистой.

фekt трибутирина установлен для обеих форм фермента. При исследовании окуня, синца и плотвы отмечен меньший эффект трибутирина.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что различные вещества, не являющиеся субстратом для щелочной фосфатазы, оказывают значительное влияние на уровень ферментативной активности. Характер воздействия зависит от природы модификатора, вида рыб и температуры инкубационной среды. Большое влияние при этом оказывает целостность фермент-мембранных комплексов — при солибутилизации ферментов возможно не только ослабление, но и смена эффекта того или иного модификатора. Кроме того, приведенные выше данные свидетельствуют о том, что липидный матрикс мембран играет значительную роль в реализации регуляторных свойств щеточкоаимных ферментов.

7.5. Заключительные замечания

В заключение необходимо отметить, что при исследовании рыб, относящихся к разным таксономическим и экологическим группам, выявлены некоторые закономерности полисубстратных процессов, принципиально близкие описанным ранее для высших позвоночных животных (Уголев, 1972; Уголев и др., 1975а, 1975б, 1979; Кушақ, 1983, и др.) и рыб (Гредин, 1977; Хюттер и др., 1986; Кузьмина, 1987, 1991в).

Действительно, установлено, что некоторые карбогидразы и щелочная фосфатаза, обеспечивающие процессы мембранного пищеварения у рыб, являются регулируемыими и способны изменять активность под влиянием различных компонентов пищевой

Как и в предыдущих сериях, для фермента щуки отмечена стимуляция, уменьшающаяся по мере деградации фермент-мембранного комплекса. Для леща характерно снятие эффекта торможения в результате солибутилизации щелочной фосфатазы как при помощи тритона X-100, так и при помощи трипсина. При исследовании глицил-L-лейцина, как и в ранее описанных сериях опытов, не обнаружено значительного влияния дипептида на уровень ферментативной активности.

Таким образом, в большинстве случаев солибутилизация щелочной фосфатазы при помощи тритона X-100 и трипсина приводит к ослаблению регуляторных свойств фермента. Как правило, характер влияния того или иного модификатора для всех 3 форм фермента одинаков, несмотря на то что в некоторых опытах наблюдалась смена эффекта. Видимо, эти данные нельзя принимать во внимание вследствие слабого влияния модификаторов (менее 15 %). Следует отметить исчезновение эффекта торможения дипептида и аминокислоты при 0 °С в результате солибутилизации фермента леща. Не исключено, что наблюдаемое явление связано с влиянием на молекулу фермента не только лигандов, но и низкой температуры, которая в ряде работ рассматривается в качестве модулятора ферментативной активности (Hochachka, Somero, 1971, 1973, и др.).

Исследование влияния большого числа модификаторов на активность детергентной и протеазной форм очищенных аланинаминопептидазы и щелочной фосфатазы слизистой кишечника форели также в ряде случаев позволило выявить значительные эффекты (Хюттер и др., 1986). Так, этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА) и L-фенилаланин значительно подавляют активность аланинаминопептидазы, причем процент торможения в первом случае для D-формы фермента выше (-48), чем для П-формы (-23), во втором — одинаков (-31 %). Активность щелочной фосфатазы в наибольшей степени подавляется L-фенилаланином и глицил-L-лейцином. На основании этих и других результатов авторами (Хюттер и др., 1986) было высказано предположение о том, что амфипатический фермент, включенный в мембрану, имеет три различных участка, которые могут подвергаться регуляторным воздействиям: 1) гидрофильная головка фермента; 2) внутримембранный гидрофобный пептид; 3) участок гидрофобного домена, расположенный на внутренней стороне мембраны и обращенный в цитоплазму (Хюттер и др., 1986).

Ниже будут представлены характеристики безлипидных препаратов слизистой кишечника. Сопоставление данных, приведенных в табл. 28, свидетельствует о том, что трибутирин различным образом влияет на уровень ферментативной активности исследованных препаратов у рыб разных видов. При этом в большинстве случаев существенной оказывается температура инкубационной среды. Так, у типичного хищника (щука) в результате делипидизации отмечено уменьшение эффекта торможения при физиологических температурах. У бентофага леща стимулирующий эф-

смеси. Вместе с тем сопоставление в идентичных методических условиях влияния модификаторов различной природы на одноименные ферменты у рыб разных видов позволило выявить неоднородность их эффектов. При этом данные, полученные при исследовании влияния трибутирина на активность карбогидраз у леща и плотвы, хорошо согласуются с имеющимися в литературе сведениями о его ингибирующем влиянии на активность γ -амилазы у карпа (Гредин, 1977). По всей вероятности, это связано с тем, что γ -амилаза и другие ферменты цепи карбогидраз (α -амилаза, сахараза, мальтаза и др.) у рыб сем. Cyprinidae имеют близкую структуру регуляторных центров. Также интересно подчеркнуть, что трибутирин у рыб других видов (щука, налим) может вызывать противоположный эффект. Эти факты наряду с данными, полученными при исследовании щелочной фосфатазы, дают возможность предположить, что у рыб разных таксономических групп структура регуляторных центров одноименных ферментов различна.

В настоящее время не ясно, существует ли корреляция между типом питания рыб и регуляторными свойствами ферментов, поскольку исследованные нами бентофаги относятся к одной таксономической группе (сем. Cyprinidae).

Важно отметить, что при исследовании пойкилотермных животных, в том числе и многих видов рыб, необходимо учитывать фактор, который обычно не учитывается при описании ферментов теплокровных животных, — изменение регуляторных свойств в широких пределах температуры среды. Это обстоятельство нельзя игнорировать, так как для ряда ферментных систем пойкилотермных животных установлено, что понижение температуры окружающей среды выступает в роли положительного модулятора ферментативной активности (Ночачка, Somego, 1971, 1973, и др.). В результате этого конформация активного центра фермента изменяется не только вследствие взаимодействия с веществами-модификаторами, но и вследствие непосредственного воздействия температуры на молекулы фермента. Наши данные подтверждают это. Действительно, в зоне «зимних» (0 °C), и «летних» (20 °C) температур иногда наблюдаются различия не только в величине, но и в характере эффекта — ослабление или смена эффекта модификатора на противоположный.

В то же время известно, что определенная конформация щеточкаемных ферментов, многие из которых являются интегральными, зависит не только от структуры белковых глобул ферментов, но и от состава липидного матрикса мембран энтероцитов (Уголев, 1972; Егорова и др., 1974; Уголев и др., 1981, 1983б, и мн. др.). При этом жирнокислотный состав липидов слизистой кишечника рыб, определяющий жидкокристаллическую структуру мембран (Крепс, 1981), в значительной мере адаптирован к функционированию при низких температурах (Кузьмина и др., 1982, 1984). Учитывая эти обстоятельства, можно предположить, что в опытах по влиянию модификаторов на t° -функцию ферментов

максимальные эффекты наблюдаются при температурах, способствующих поддержанию оптимальной конформации фермента как за счет свойств белковой глобулы, так и за счет липидного матрикса, который адаптирован к функционированию в зоне низких температур. Значительная варибельность исследуемых характеристик связана, по всей вероятности, с большей гибкостью ферментов пойкилотермных животных по сравнению с гомойотермными (Александров, 1975; Уголев и др., 1983б, и др.).

Кроме того, существенное влияние на регуляторные свойства фермента могут оказывать различные метаболиты организма рыб. В частности, зимой, в период, предшествующий нересту, у налима наблюдается не только увеличение мальтазной активности, но яркая выраженность модификаторного эффекта трибутирина, в то время как общая амилолитическая активность в присутствии модификатора остается неизменной. Видимо, это связано как со значительной перестройкой гормональных систем в преднерестовый период, так и с различным влиянием гормонов на разные ферменты. Это предположение хорошо согласуется с рядом фактов. Так, ранее нами была отмечена задержка в сезонном увеличении активности α -амилазы у нерестящихся лещей (Кузьмина, 1980). Есть сведения о значительном увеличении активности инвертазы (сахаразы) в присутствии адреналина (Уголев, 1972). Очевидно, увеличение продукции тех или иных гормонов, в частности гормонов, уровень которых значительно изменяется в нерестовый период, может не только изменять активность некоторых пищеварительных ферментов, но и усиливать или ослаблять модификаторные эффекты различных пищевых субстратов, существенно влияя на процессы взаимодействия в зоне щеточной каймы.

Таким образом, у рыб и, вероятно, других пойкилотермных животных эффект модификаторов может значительно варьировать в силу большей гибкости макромолекул, входящих в состав фермент-мембранных комплексов, по сравнению с гомойотермными животными (Ушаков, 1964; Егорова и др., 1974; Александров, 1975; Уголев и др., 1976а, 1981; Кузьмина, 1987, и др.).

Полученные данные важны не только для понимания закономерностей мембранного пищеварения у рыб и других животных. Как подчеркивалось ранее (Уголев и др., 1981), использованные методические подходы могут оказаться полезными при исследовании темпов биохимической эволюции, причем характеристики регуляторных свойств ферментов, по-видимому, могут быть одним из инструментов биохимической систематики. Помимо этого, различие регуляторных свойств ферментов у рыб разных таксономических групп важно учитывать при составлении рационов искусственно разводимых рыб.

Как известно, проблема адаптации организмов к условиям окружающей среды является одной из важнейших общетеоретических проблем современной биологии. В последние годы представления об приспособительных возможностях организмов обогатились многочисленными доказательствами существования адаптационных перестроек, присходящих на молекулярном уровне организации живого. При этом многие важные закономерности, касающиеся механизмов биохимических адаптаций, были выявлены при исследовании рыб, характеризующихся большим разнообразием условий обитания (Hochachka, Somero, 1971, 1973, 1986; Hazel, Prosser, 1974, и др.). Также известно о зависимости гомеостаза и гомеорезиса (т. е. постоянства внутренней среды организма и постоянства скоростей процессов), составляющих суть биохимических адаптаций, от степени адаптированности пищеварительной системы различных животных, в том числе и рыб (Уголев, 1961, 1972, 1985; Thomas, 1964; Уголев и др., 1983б, 1986, и др.).

Ниже будут проанализированы адаптивные перестройки пищеварительной системы рыб под влиянием таких важных факторов, как биохимический состав пищи, наличие тех или иных пищевых субстратов, интенсивность питания, температура среды обитания и другие.

8.1. Нутритивные адаптации ферментных систем

Прежде чем перейти к обсуждению вопроса о нутритивных адаптациях ферментных систем, обеспечивающих процессы пищеварения у рыб, следует отметить, что проблема адаптации пищеварительной системы животных к составу пищи была поставлена в работах И. П. Павлова (1951). Позднее идея прямой зависимости между составом пищи и уровнем активности ферментов, гидролизующих соответствующие субстраты, была обоснована в ряде фундаментальных обзоров (Разенков, 1946; Бабкин, 1960; Уголев, 1961, 1963, 1972; Thomas, 1964; Шлыгин, 1966; Fabry, 1969; Cogging, 1980; Кушак, 1983; Уголев и др., 1986, и др.).

Вопрос об адаптации пищеварительных ферментов к характеру питания у рыб был предметом многих исследований (Vonk, 1937; Перель, 1950; Barrington, 1957; Phillips, 1969; Love, 1970; Кароог et al., 1975, и др.). Несмотря на то что в ряде случаев связь между ферментативной активностью и составом пищи не была установлена (Chesley, 1934), выводы большинства исследователей сводились к признанию филогенетической адаптивной диссоциации ферментов у рыб с разным спектром питания, так как у хищных рыб обычно обнаруживалась большая активность протеаз, у «мирных» — карбогидраз (Vonk, 1927; Турпаев, 1941; Al-Hussaini, 1949a, 1949b; Перель, 1950; Barrington, 1957; Fish,



Рис. 27. Уровень общей амилолитической (А) и общей протеолитической (Б) активности в слизистой медиального отдела кишечника у некоторых видов рыб.

А: 1 — щука; 2 — налим; 3 — окунь; 4 — лещ; 5 — плотва; 6 — карась. Б: 1 — щука; 2 — жерех; 3 — налим; 4 — сом; 5 — лещ; 6 — карп. По оси абсцисс — вид рыб; по оси ординат — активность ферментов, мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹.

1960; Ushiyama et al., 1965; Кандюк, 1967a, 1967б; Перель, Реморов, 1967; Перель и др., 1968, 1971; Nagayama, Saito, 1969; Hofer, 1982, и др.).

Как было показано в главе 5, уровень активности одноименных гидролаз у одновозрастных рыб разных видов, как правило, различен. Сходство характеристик в большинстве случаев наблюдается лишь при совпадении спектра питания рыб.

Ниже будут приведены примеры наиболее ярких перестроек ферментативного спектра и обсуждены возможные причины разной степени пластичности ферментных систем, обеспечивающих деполимеризацию основных компонентов пищи у рыб разных видов и экологических групп. Вначале рассмотрим наиболее подробно исследованную систему карбогидраз.

Сопоставление данных по уровню общей амилолитической активности, активности α -амилазы, сахаразы, мальтазы, протеиназы и щелочной фосфатазы, полученных в один и тот же период годового цикла рыб, свидетельствует о значительных видовых различиях в уровне ферментативной активности (рис. 12—14, 27). Напомним, что активность α -амилазы в медиальном отделе кишеч-

ника у судака соответствует 0,9, у карпа — 41,4 мг·г⁻¹·мин⁻¹. У остальных видов рыб отмечены промежуточные значения активности. При определении мальтазной и сахарозной активности минимальные значения обнаружены у щуки (3,8 и 0,3 мкмоль × г⁻¹·мин⁻¹ соответственно), максимальные — в первом случае у карася (15,4 мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹), во втором — у густеры (10,1 мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹). При исследовании щелочной фосфатазы минимальный уровень активности обнаружен у карпа (0,07 мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹), максимальный — у налима (0,59 мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹). Обращает на себя внимание зависимость между уровнем активности карбогидраз и принадлежностью рыб к той или иной экологической группе, а также отсутствие подобной зависимости в случае щелочной фосфатазы. Так, активность карбогидраз возрастает в ряду типичные хищники → хищники-факультативные бентофаги и планктофаги → типичные бентофаги и планктофаги. Наиболее значительные различия выявлены при исследовании α-амилазы. Величины максимальной индивидуальной активности фермента (у карпа) превышают минимальные величины (у щуки) в 70—100 раз. Диапазон изменчивости уровня активности дисахаридаз много ниже: в случае сахаразы максимальные индивидуальные значения активности превышают минимальные в 22,5 раз (густера — щука), в случае мальтазы — в 4,1 раза (карась — щука).

Указанная тенденция сохраняется, как правило, на протяжении всего годового цикла рыб и характерна для всех исследованных видов. Для типичных планктофагов (синец) и хищников-факультативных планктофагов (чехонь) получены сходные результаты (Кузьмина, 1977, 1981).

Кроме того, выявлены существенные различия в уровне активности α-амилазы и в меньшей степени дисахаридаз у рыб, по типу питания входящих в одну экологическую группу. У бентофагов минимальный уровень активности α-амилазы обнаружен у леща, значительную часть пищевого комка которого составляет детрит (Житенева, 1981), больший — у макрофитофага карася и моллюскоедов плотвы и язя, максимальный — у карпа, получающего в качестве подкормки богатый углеводами комбикорм. Соотношение активности дисахаридаз в основном совпадает с таковым α-амилазы, однако в группе бентофагов в ряде случаев отмечены «инверсии» уровня ферментативной активности. В частности, активность α-амилазы у густеры и леща одинакова, сахаразы — почти в 5 раз выше, причем у плотвы и язя уровень активности первого фермента в 2—3 раза выше, чем у густеры, второго — почти в 1,5 раза ниже (Кузьмина, 1981).

Сопоставление уровня ферментативной активности и спектра питания рыб позволяет обнаружить зависимость активности карбогидраз от биохимического состава, в частности от содержания углеводов в кормовых объектах (Кузьмина, 1982а, 1982б), что свидетельствует об их значительной адаптированности к характеру питания.

При изучении уровня активности карбогидраз, обеспечивающих гидролиз крахмала, в смывах, десорбатах и гомогенатах слизистой кишечника у рыб разных видов установлено, что наибольшие межвидовые различия характерны для первого препарата, наименьшие — для последнего (табл. 29). Так, уровень активности легкосмываемой α-амилазы у карпа в 45,1 раза выше, чем у щуки. Активность этого фермента в толще гликокаликсного пространства (фракция труднодесорбируемой α-амилазы) у рыб разных видов различается в меньшей степени (в 30,8 раза). Наконец, активность фермента, прочно связанного со структурами щеточной каймы энтероцитов, и не выходящего в раствор в условиях механической «солюбилизации» у рыб разных видов еще менее значительна. В частности, у карпа активность ферментов, гидролизующих крахмал (преимущественно γ-амилаза), в этой фракции лишь в 21,3 раза выше, чем у щуки. Эти данные свидетельствуют о том, что у рыб разных видов градиенты десорбции и, следовательно, градиенты адсорбции различны, причем адаптации ферментов цепи карбогидраз к составу пищи достигаются в первую очередь за счет адсорбированных ферментов панкреатического происхождения.

Таблица 29

Активность ферментов, обеспечивающих гидролиз крахмала в различных участках щеточной каймы энтероцитов у некоторых видов рыб, мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹

Вид	1	2	3
Щука	0,95±0,24	0,11±0,06	0,30±0,10
Налим	1,47±0,13	0,12±0,02	0,97±0,20
Окунь	3,96±0,47	0,23±0,10	1,17±0,01
Лещ	7,04±3,71	2,50±0,33	1,67±0,19
Карп	42,82±6,87	33,90±5,30	6,40±1,43

Примечание. 1 — смыв (фракция легкосмываемой α-амилазы); 2 — десорбат (фракция труднодесорбируемой α-амилазы); 3 — гомогенат (фракция недесорбируемой α-амилазы, а также γ-амилаза).

При изучении ферментов, обеспечивающих гидролиз субстратов белковой природы также установлены определенные видовые различия (рис. 27). Так уровень общей протеолитической активности у щуки значительно выше, чем у леща и карпа. Однако межвидовые различия в уровне протеаз ниже, чем карбогидраз: у щуки активность выше, чем у карпа, в 6 раз, чем у леща — в 2,7 раза.

Сопоставление активности некоторых пептидаз в слизистой медиального отдела кишечника у щуки и леща позволило выявить близкие по значениям различия в уровне тетра- и трипептидаз и отсутствие указанных различий для дипептидаз (см. табл. 7). Эти данные свидетельствуют о том, что активность тетра- и трипеп-

тидаз в слизистой кишечника у хищного вида рыб выше, чем у бентофага, в 2,7 и 2,9 раза, что соответствует видовым различиям в активности ферментов, обеспечивающих начальные этапы гидролиза белка. Особого внимания, по нашему мнению, заслуживает более высокий уровень активности глицил-L-валиндипептидазы у леща по сравнению с таковым у щуки. На первый взгляд этот факт противоречит представлениям о более высокой активности ферментов, обеспечивающих процессы гидролиза белка у плотоядных животных. Наличие обратной корреляции между содержанием белка в пище и уровнем активности этого фермента у исследованных видов рыб, видимо, может быть обусловлено высоким содержанием валина в белках кормовых объектов, а также тканевых белках леща (Кузьмина, 1982б), которые в результате экскреции могут попадать в пищеварительный тракт рыб и подвергаться гидролизу наряду с белковыми компонентами пищи (Щербина, 1980).

При исследовании уровня активности ферментов, осуществляющих мембранное пищеварение у рыб на разных этапах онтогенеза, было установлено, что видовые различия по ферментативной активности проявляются в период перехода рыб на внешнее питание. Наиболее значительны они на ранних мальковых этапах. Данные по уровню общей амилолитической активности и активности щелочной фосфатазы у мальков и взрослых (половозрелых) особей и 4 видов рыб приведены в табл. 30, из которой видно, что уровень общей амилолитической активности у щуки и окуня на этапе G близок, у синца и плотвы — в 3—5 раз выше, чем у первых видов. Эти данные свидетельствуют не только

Таблица 30

Активность некоторых ферментов у мальков (этап G) и взрослых особей рыб разных видов

Вид	Уровень ферментативной активности, мкмоль·г ⁻¹ ·мин ⁻¹			
	общая амилолитическая активность		щелочная фосфатаза	
	мальки (этап G)	взрослые особи	мальки (этап G)	взрослые особи
Щука *	3,30±0,25 (5)	0,46±0,02 (12)	0,04±0,002 (5)	0,10±0,001 (12)
Окунь	2,90±0,49 (6)	1,30±0,13 (10)	0,29±0,045 (6)	0,33±0,01 (10)
Плотва	15,50±3,93 (6)	4,28±0,99 (8)	0,18±0,026 (6)	0,11±0,03 (8)
	5,13±0,90 (6)**		0,19±0,02 (6)	
Синец	10,80±1,99 (6)	7,09±2,70	0,23±0,06 (6)	0,13±0,01 (6)
	7,32±1,60 (6)**		0,29±0,07 (6)	

Примечание. В скобках указано количество исследованных рыб. Кишечники мальков исследовали суммарно (от 10 до 60 экз. в пробе).

* IX этап развития шук (по: Шамардина, 1957), близкий этапу G карповых (по: Васнецов, 1953) и окуневых (по: Крыжановский и др., 1953).

** Этап D₁.

о большей активности карбогидраз у видов, которые по мере роста переходят на питание планктонными и бентическими формами, но и о разнонаправленной возрастной динамике ферментативной активности. В частности, уровень общей амилолитической активности у личинок плотвы и синца на этапе D₁ близок таковому взрослых рыб, а у мальков на этапе G — в 1,5—3 раза выше, чем у взрослых. Уровень ферментативной активности у мальков окуня и щуки довольно близок, но с переходом рыб на хищное питание наблюдается снижение общей амилолитической активности, наиболее значительно выраженное у типичного хищника — щуки.

Общая протеолитическая активность на ранних личиночных этапах развития в кишечнике щуки и леща не обнаружена. В возрасте 1 мес активность ферментов, гидролизующих казеин, у щуки соответствует 2 мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹, у леща обнаруживается минимальная активность (следы). Осенью, в конце первого нагульного периода, уровень ферментативной активности у щуки увеличивается до 10,0, у леща — лишь до 2,0 мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹. Это говорит о том, что активность ферментов, обеспечивающих начальные этапы гидролиза белка, у хищных рыб на всех этапах онтогенеза значительно выше, чем у бентофагов. Поскольку общая протеолитическая активность слизистой кишечника рыб обусловлена главным образом трипсином и химотрипсином, которые синтезируются в поджелудочной железе, полученные данные дают возможность полагать, что существует генетически обусловленная индукция синтеза протеаз у видов, переходящих впоследствии на хищное питание.

Таким образом, представленные материалы свидетельствуют о существовании значительных видовых различий в уровне активности ферментов, обеспечивающих гидролиз субстратов углеводной и белковой природы в зоне щеточной каймы энтероцитов. Уровень активности протеаз и карбогидраз у взрослых рыб, особенно в случае ферментов, обеспечивающих начальные этапы гидролиза пищевых субстратов, в значительной мере адаптирован к характеру питания рыб и составу пищи. Возрастная динамика ферментативной активности у рыб разных экологических групп различна, однако адаптации к спектру питания прослеживаются на самых ранних этапах онтогенеза — в период перехода личинок рыб на внешнее питание.

Вопрос о возможности перестроек ферментативного спектра в ответ на изменение состава пищи у одного вида рыб долгое время оставался открытым (Barrington, 1957), но при исследовании некоторых видов рыб такую зависимость удалось установить (Nagase, 1964; Кузьмина, 1966; Nagayama, Saito, 1969; Трофимова и др., 1975; Желтов и др., 1976; Щербина, 1980).

Нами при исследовании активности α-амилазы в слизистой кишечника у карпа было показано, что изменение соотношения основных энергетических компонентов в пище может приводить к изменению уровня ферментативной активности (рис. 28). Так,

замена естественной пищи бентофага, содержащей 2—4 % углеводов, более богатым углеводами комбикормом (до 40 %) вызывает увеличение активности α -амилазы на порядок — с 34 до 384 мг·г⁻¹·мин⁻¹. Эти данные свидетельствуют о том, что адаптивные перестройки, связанные с изменением состава пищи, охватывают все звенья процессов пищеварения, включая мембранный гидролиз углеводов (Кузьмина, 1981).

Ранее рассматривались изменения ферментативной активности, не зависящие от сезонных перестроек, происходящих в организме рыб. Вместе с тем, как было показано в главе 5, процессы пищеварения в значительной степени зависят от температуры окружающей среды. При этом интенсивность питания рыб разных видов в разные периоды годового цикла различна.

Сопоставление активности мембранных ферментов в разные периоды годового цикла

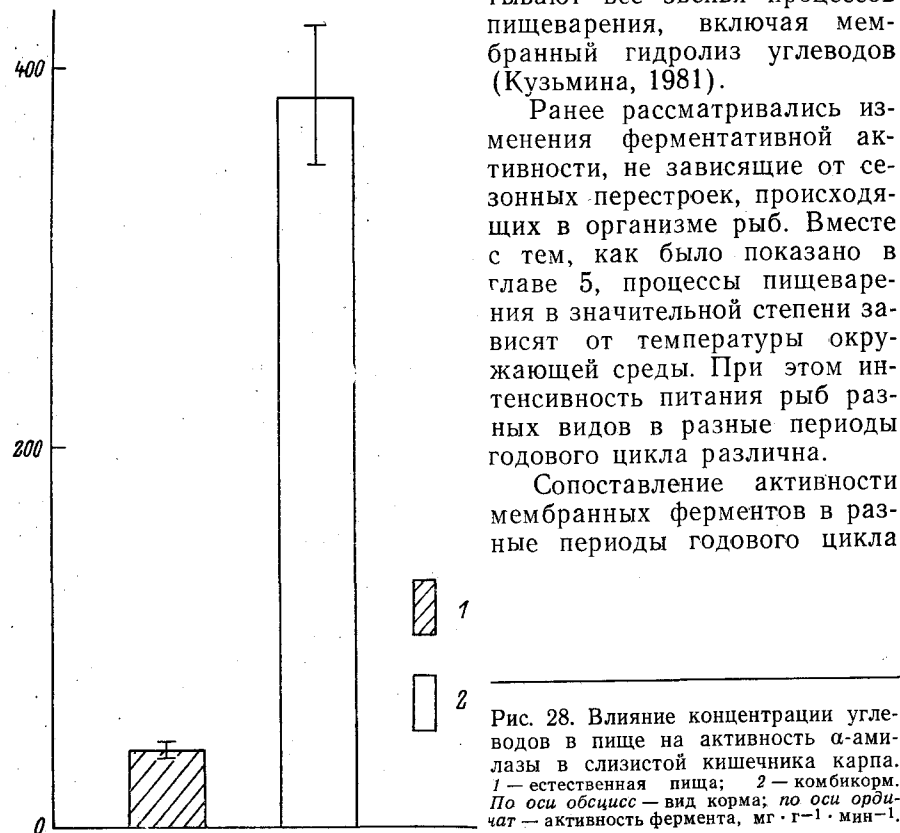


Рис. 28. Влияние концентрации углеводов в пище на активность α -амилазы в слизистой кишечника карпа. 1 — естественная пища; 2 — комбикорм. По оси абсцисс — вид корма; по оси ординат — активность фермента, мг·г⁻¹·мин⁻¹.

рыб при стандартной температуре (20°C) и температуре близкой природной (см. рис. 15, 16) показало, что характер сезонной динамики ферментативной активности у рыб разных видов и экологических групп в значительной мере зависит от интенсивности питания рыб. У типичных бентофагов максимум ферментативной активности ярко выражен летом, у типичных и факультативных хищников он может отсутствовать или наблюдаться в другие сезоны года, включая зиму (налим).

Приведенные материалы свидетельствуют о том, что не только уровень ферментативной активности у рыб разных видов, а также у одного и того же вида, но и характер сезонной динамики ферментативной активности в значительной мере зависят от особен-

ностей пищевого поведения и наличия пищевых субстратов. Эти представления хорошо согласуются с выводами ряда исследователей об адаптированности ферментативного спектра к характеру питания рыб (Vonk, 1927; Турпаев, 1941; Al-Hussaini, 1949b; Пегель, 1950; Barrington, 1957; Fish, 1960; Ushiyama et al., 1965; Пегель, Реморов, 1967; Пегель и др., 1968, 1971; Nagayama, Saito, 1969, и др.), а также позволяют сделать вывод о существовании более тонких приспособлений к составу пищи, чем предполагалось ранее (Кузьмина, 1986). Так, несмотря на то что большинство исследованных видов рыб являются эврифагами с широким спектром питания, биохимический состав кормовых объектов которых достаточно широко варьирует (Кузьмина, 1982а, 1982б), установлены значительные видовые различия, коррелирующие с составом пищи.

Наибольшие изменения уровня ферментативной активности под влиянием спектра питания отмечены для α -амилазы, осуществляющей начальные этапы гидролиза углеводов. Выявленная нами более значительная вариабельность характеристик α -амилазы у рыб разных видов по сравнению с активностью собственно кишечных ферментов, по всей вероятности, обусловлена тем, что α -амилаза является «медленным» ферментом (Шноль, 1979). Это обстоятельство делает понятным более высокий уровень его активности у бенто- и планктофагов, в пище которых значительна концентрация полисахаридов, а также выработанную в процессе эволюции пластичность ферментных систем у видов с широким спектром питания.

Видовые различия в уровне активности ферментов, гидролизующих субстраты белковой природы, ниже обнаруженных при исследовании карбогидраз. Последнее может быть связано как с наличием большого числа взаимодополняющих панкреатических и собственно кишечных ферментов (трипсин, химотрипсин, тетра-, три- и дипептидазы, аминопептидазы, карбоксипептидазы), так и с отсутствием у большинства исследованных видов рыб желудочной фазы пищеварения. Эти, не поддающиеся количественному анализу различия, несомненно, должны учитываться при исследовании нутритивных адаптаций ферментов, входящих в цепь протеаз. Указанные факты, а также выявленный нами более высокий уровень активности глицил-L-валиндипептидазы у леща, в белках кормовых объектов которого в значительном количестве присутствует валин, могут свидетельствовать о существовании достаточно тонких адаптаций к составу пищи и у этой большой группы ферментов.

Вместе с тем создается впечатление, что анализ адаптаций ферментных систем, особенно цепи протеаз у рыб из естественных популяций, на организменном уровне недостаточен и должен включать ферментные системы симбионтов и жертвы. Как указывалось в главе 5, активность различных гидролаз, способных осуществлять деполимеризацию основных органических компонен-

тов живого, у различных гидробионтов, являющихся потенциальными кормовыми объектами рыб, значительна.

Учитывая эти и приведенные нами экспериментальные данные, свидетельствующие о возможности многократного увеличения активности протеиназ в организме жертвы в процессе пищеварения за счет механизма индуцированного аутолиза, можно с достаточной долей уверенности считать, что значимыми для естественного отбора и, следовательно, адаптивными, были не столько активности пищеварительных гидролаз консументов, сколько суммарные активности трофических партнеров. В случае эврифагии, присущей большинству видов рыб (Barrington, 1957), значимым, вероятно, является «средний» вклад экзоферментов характерных для тех или иных видов объектов питания.

О наличии адаптаций свидетельствует и характер возрастных перестроек спектра мембранных ферментов (Гредин, 1975а, 1975б; Уголев и др., 1976а; Кузьмина и др., 1982; Кузьмина, Голованова, 1984а, 1984б; Кузьмина, Стрельникова, 1985а, 1985б, и др.).

Данные о сезонной динамике ферментативной активности подтверждают зависимость исследуемых характеристик от интенсивности питания рыб: уменьшение количества субстрата или его отсутствие сопровождается уменьшением активности ферментов (Берман, 1965; Берман, Саленице, 1966; Пегель, Антипин, 1972).

Таким образом, имеющиеся данные свидетельствуют о том, что ферменты, обеспечивающие процессы пищеварения у рыб, адаптированы к спектру и интенсивности питания рыб, а также к составу пищи. Обнаруженная пластичность ферментных систем играет важную роль в приспособлении рыб, большинство из которых является эврифагами, к условиям жизнедеятельности и питания.

8.2. Температурные адаптации ферментов

Известно, что активная жизнь бионтов возможна во всем диапазоне температур, в пределах которого вода сохраняет жидкое состояние (Александров, 1975). Согласно современным представлениям, поддержание векторного гомеостаза метаболических функций организмов, обитающих в столь широком диапазоне температур, достигается за счет сочетания трех основных типов биохимических адаптаций: 1) изменение типа макромолекул; 2) изменения концентрации макромолекул; 3) адаптивной регуляции функций макромолекул (Ночачка, Somego, 1973). В настоящее время установлено, что температурные адаптации пищеварительной системы животных осуществляются за счет изменения характеристик ферментных систем и липидного матрикса мембран (Уголев, 1972; Егорова и др., 1974; Уголев и др., 1976а, 1981, 1983б, и др.).

Стратегия температурных адаптаций пищеварительной системы гомойотермных и пойкилотермных животных различна, причем

в последнем случае в значительной мере зависит от того, является ли вид stenotherмным или heterotherмным.

Как отмечалось ранее, вопрос о существовании температурных адаптаций пищеварительных ферментов пойкилотермных животных на протяжении долгого времени оставался дискуссионным (Уголев, 1961; Егорова и др., 1974). Вместе с тем еще в XIX в. при исследовании некоторых ферментов рыб были получены данные, свидетельствующие об их способности функционировать при температурах, близких 0 °С, когда ферменты теплокровных животных практически утрачивают активность (Fick, Murisier, 1873; Hoppe-Seyleger, 1877, и др.).

В работах, выполненных позднее, наблюдаемые различия сводились к неодинаковой термостабильности ферментов теплокровных и холоднокровных животных (Коштоянц, 1950; Buddenbrock, 1956, и др.). Однако при исследовании одноименных ферментов, принимающих участие в мембранном пищеварении у ряда видов гомойотермных и пойкилотермных животных, возможность адаптивного изменения характеристик рыб была подтверждена, причем были вскрыты некоторые механизмы выявленных перестроек (Егорова и др., 1974; Уголев и др., 1981, 1983б, 1986, и др.).

Ниже приведены данные, свидетельствующие о существовании температурных адаптаций пищеварительных ферментов у рыб и их объектов питания, относящихся к разным токсонимическим группам. При этом необходимо подчеркнуть, что большая часть работ, касающихся механизмов температурных адаптаций, выполнена на рыбах, характеризующихся необычайным разнообразием температурных условий среды обитания. Еще в работах конца XIX — начала XX в. было установлено, что пищеварительные ферменты (пепсин, трипсин, амилаза, липаза) пойкилотермных животных эффективно функционируют при низких температурах (Коштоянц, 1950; Buddenbrock, 1956; Уголев, 1961, и др.). В последние годы при исследовании полостных ферментов было показано наличие эффекта компенсации при акклимации различных животных к низким температурам. При этом для α -амилазы креветок и мидий в зоне исследованных температур отмечены низкие температурные коэффициенты (Seiderer, Newell, 1979; Van Wormhoudt, 1980). Близкие закономерности обнаружены при исследовании α -амилазы пресноводных рыб, различающихся по типу питания (Кузьмина, Морозова, 1977). У хищников налима, щуки и судака, способных питаться при температурах, близких к 0 °С, значения температурных коэффициентов в зоне физиологических температур колеблются от 1,10 до 1,58. У бенто- и планктофагов леща, плотвы, синца, карпа и карася, начинающих питаться при температуре 7—8 °С и выше, температурные коэффициенты колеблются от 1,41 до 2,97. При этом у первых при температуре 0 °С активность фермента составляет 35—70 %, у вторых — лишь 10—20 % от максимальной активности, принятой за 100 % (см. рис. 20).

Кривые температурной зависимости дисахаридаз, как указывалось ранее, более однородны. В частности, температурный оптимум мальтазы у большинства исследованных видов рыб соответствует 60 °С, относительная активность при 0 °С составляет 25—38 % от максимальной. Лишь для фермента холодолюбивого налима установлено более низкое значение температурного оптимума — 50 °С. Температурный оптимум сахаразы, как правило, находится при 40 °С, относительная активность при 0 °С составляет 32—55 %, однако при изучении t° -функции фермента у теплолюбивого карпа в ряде случаев температурный оптимум обнаружился при 50 °С (Кузьмина, 1985).

Температурный оптимум процесса протеолиза, реализуемого в кишечнике, лежит в зоне более высоких значений температуры — 50 и 60 °С (см. рис. 22). При этом у щуки и налима его величина соответствует 50 °С, у судака, жереха, сома и леща — 60 °С. Поскольку сериновые протеиназы, реализующие этот процесс являются эндопептидазами, обеспечивающими начальные (особенно у безжелудочных рыб) и промежуточные этапы гидролиза белка, логичным было ожидать определенное сходство t° -функции кишечных протеиназ с таковой α -амилазы, осуществляющей начальные и промежуточные этапы гидролиза полисахаридов. В связи с исключительно низкой активностью кишечных протеиназ в зоне физиологических температур интересно проанализировать температурные характеристики пепсина, обеспечивающего начальные этапы гидролиза белка у желудочных рыб. У всех представленных видов рыб зона температурного оптимума исключительно широка — 20—60 °С (см. рис. 22). Относительная активность фермента в зоне низких температур у щуки и налима составляет 70 %, у сома — 40 % от максимальной активности.

Таким образом, характер t° -функции разноименных ферментов, как правило, различен, одноименных — более однороден. В ряде случаев обнаружены адаптивные изменения t° -функции одноименных ферментов у рыб разных видов и экологических групп. Наиболее высокая относительная активность в зоне низких и физиологических температур выявлена при исследовании ферментов, реализующих начальные этапы гидролиза полисахаридов (α -амилаза) и белков (пепсин).

При сопоставлении в идентичных методических условиях характеристик собственно кишечных ферментов форели и гомойотермных животных (куры, крысы) обнаружено, что при 0 °С дипептидаза первых составляет 20, вторых — соответственно 7 и 3,5 % от максимальной активности (Егорова и др., 1974).

Вместе с тем при исследовании протеиназ антарктического криля не были обнаружены различия в уровне ферментативной активности при 4 и 37 °С (Kanagaya, 1980). Также интересно отметить, что при изучении L-лейцин-аминопептидазы и эстеразы из пищеварительной железы моллюсков *Cylopassa peritea*, акклиматизированных к температуре 10—25 °С, установлено, что с по-

вышением температуры снижается уровень удельной активности (Trella et al., 1978).

Таким образом, при исследовании ферментов различных пойкилотермных животных (моллюсков, ракообразных и рыб) в ряде случаев при низких температурах установлен более высокий уровень относительной активности, чем для одноименных ферментов гомойотермных животных. Это свидетельствует о наличии адаптивных перестроек ферментативных систем к функционированию в широком диапазоне температур.

Согласно классическим представлениям, различия ферментов гомойотермных и пойкилотермных животных обусловлены разной термостабильностью. Ранее приводились данные о том, что величина температурного оптимума одноименных ферментов у тех и других может различаться на десятки градусов. Например, температурный оптимум пепсина у человека соответствует 50 °С, у лягушки — 45 °С, у 6 видов рыб — 40 °С (Пятницкий, 1937); дипептидазы кур и крыс — при 40 °С, форели и бычков-кругляков — при 30 °С (Егорова и др., 1974). Еще более значительные различия обнаружены при исследовании щелочной фосфатазы из кишечника рыб, обитающих в разных температурных зонах Атлантического океана. Так, при гидролизе β -глицерофосфата натрия у тропических видов рыб температурный оптимум фермента соответствует 50—60 °С, у глубоководной акулы, обитающей при 4—5 °С, — лишь 30 °С (Уголев и др., 1986). В некоторых случаях величина его отражает условия существования вида в далеком прошлом. В частности, у пресноводного налима, обитающего в средних широтах, но имеющего арктическое происхождение, температурный оптимум γ -амилазы и мальтазы соответствует 50 °С (у остальных рыб этой зоны 60 °С). У угольной сабли, обитающей при температуре 4—5 °С, но формировавшейся в условиях тропиков, температурный оптимум щелочной фосфатазы соответствует 60 °С, как и у других тропических видов рыб (Уголев и др., 1986; Гельман и др., 1989).

Еще в большей степени может различаться активность ферментов в зоне постмаксимальных температур, особенно при увеличении сроков инкубации. П. А. Коржуевым (1936) показано, что в результате 72-часовой экспозиции трипсина при 60 °С уровень активности у голубя снижается на 43 %, у лягушки — на 73, у окуня (*Perca fluviatilis* L.) и щуки (*Esox lucius* L.) — на 86, у черноморского мерланга и баренцевоморской трески на 90 и 94 % соответственно. При исследовании щелочной фосфатазы установлено, что при значениях температурного оптимума фермента крысы (50 °С), уровень относительной активности фермента судака, леща и форели составляет 92, 88 и 67 % соответственно (Уголев и др., 1981). Еще большие различия выявлены при сопоставлении фермента млекопитающих и круглоротых. Так, при температуре 70 °С уровень относительной активности щелочной фосфатазы крысы составляет 62 % от максимальной активности, у миног — лишь 10 % (Егорова и др., 1974).

Вместе с тем различия в величине температурного оптимума и термостабильности ферментов гомойотермных и пойкилотермных животных наблюдаются далеко не всегда. В частности, температурный оптимум трипсина, амилазы, сахаразы и эстеразы большинства исследованных млекопитающих, амфибий, рыб, моллюсков, ракообразных и насекомых находится в зоне 40 °С (Кош-тоянц, Коржуев, 1934; Кандюк, 1967а, 1967б; Кузьмина, Морозова, 1977; Murthy, Saxena, 1980, и др.). Температурный оптимум мальтазы птиц и рыб соответствует 60 °С (Егорова и др., 1974; Кузьмина, 1985).

Эти и ряд других фактов позволяют согласиться с мнением В. Я. Александрова (1975) о том, что термостабильность белков, в том числе и пищеварительных ферментов (Егорова и др., 1974; Уголев и др., 1981) не является полезным признаком при естественном отборе.

В связи с этим в последние годы внимание исследователей привлекают показатели, позволяющие оценить адаптивные перестройки ферментов в зоне физиологических температур. Так, определение величины кажущейся $E_{\text{акт}}$ щелочной фосфатазы крыс и много показало, что у первых величина $E_{\text{акт}}$ в зоне физиологических температур почти в 3 раза ниже, чем в зоне низких температур (0—30 °С) — 5,2 и 13,8 ккал/моль соответственно; у вторых $E_{\text{акт}}$ в диапазоне температур от 0 до 40 °С постоянна и составляет 9,3 ккал/моль (Егорова и др., 1974). Сопоставление этих данных свидетельствует о том, что эффективность процесса гидролиза эфиров ортофосфорной кислоты у пойкилотермного животного при низких температурах выше, чем у гомойотермного. Интересны сведения, касающиеся $E_{\text{акт}}$ щелочной фосфатазы угольной сабли. В диапазоне температур 0—10 °С величина $E_{\text{акт}}$ фермента составляет 6,3 ккал/моль, в зоне 10—50 °С — 12,9 ккал/моль (Уголев и др., 1986; Гельман и др., 1989). Эти данные показывают, что в зоне физиологических температур эффективность процесса в 2 раза выше. Близкие этим данные получены при исследовании мальтазы у пресноводных рыб (Кузьмина, 1985). У бентофагов, не питающихся при низкой температуре, величина $E_{\text{акт}}$ во всем диапазоне температур постоянна и у рыб разных видов колеблется от 3,1 до 4,0 ккал/моль. У хищников, способных питаться при температурах, близких к 0 °С в зоне низких температур величины $E_{\text{акт}}$ значительно ниже (1,9—2,2 ккал/моль). Величина $E_{\text{акт}}$ α -амилазы у хищников также в 2—3 раза ниже, чем у бенто- и планктофагов (Кузьмина, 1985).

В цепи протеаз наименьшими значениями $E_{\text{акт}}$ характеризуется пепсин, особенно у рыб, относящихся к бореальному и арктическому фаунистическим комплексам. Так, у налима эти значения равны 1,1, у щуки — 1,5, у более теплолюбивого сома — 5,3 ккал/моль. Величины $E_{\text{акт}}$ кишечных протеиназ выше по сравнению с желудочными. Однако и в данном случае минимальные значения обнаружены у холодолубивого налима (4,4 ккал/моль), максимальные — у теплолюбивого леща (10,5 ккал/моль).

Эти данные свидетельствуют о том, что эффективность гидролиза пищевых субстратов у рыб, способных питаться при низких температурах, как правило, в несколько раз выше, чем у осей, не питающихся в зимний период.

При изучении влияния температуры на максимальную скорость реакции различных ферментов у рыб разных видов установлено последовательное увеличение значений V по мере роста температуры (см. главу 6). Величины кажущейся K_m щелочной фосфатазы с повышением температуры увеличиваются, карбогидраз — уменьшаются.

Это свидетельствует об увеличении фермент-субстратного сродства при уменьшении температуры в первом случае и увеличении во втором. При этом летом величины K_m ферментов при одних и тех же температурах ниже, чем зимой, причем значения K_m щелочной фосфатазы при температуре среды обитания летом (20—22 °С) и зимой (около 0 °С) практически одинаковы, сахаразы летом значительно ниже, чем зимой.

Таким образом, величины максимальной скорости реакции и констант Михаэлиса различных ферментов рыб в значительной мере зависят от температуры. При этом изменение величин K_m сахаразы и щелочной фосфатазы в различные сезоны года довольно хорошо согласуется с особенностями питания рыб. Действительно, углеводы поступают с пищей преимущественно летом, когда сродство карбогидраз к субстрату выше, чем в другие сезоны года. Щелочная фосфатаза, осуществляющая не только гидролиз эфиров ортофосфорной кислоты, но и другие процессы, функционирует на протяжении всего годового цикла рыб. При этом минимальные значения K_m (максимальное сродство к субстрату) наблюдаются при более низких температурах. Кроме того, летом отмечено снижение величин K_m во всем диапазоне исследованных температур, также имеющее важное значение.

Причины различий характеристик ферментов пойкилотермных и гомойотермных животных и механизмы их адаптивных перестроек не вполне ясны. Наибольшее признание в настоящее время получила такая гипотеза: ферменты теплокровных животных имеют более жесткую структуру, чем одноименные ферменты холоднокровных (Александров, 1969, 1975, 1985; Hochachka, Somero, 1973; Hazel, Prosser, 1974; Somero, 1978, и др.).

Для мембранных ферментов экспериментально доказана важная роль в поддержании оптимальной конформации молекул липидного матрикса мембран (Уголев, 1972; Hochachka, Somero, 1973; Егорова и др., 1974; Hazel, Prosser, 1974; Крепс, 1981, и др.) и гидрофобных частей амфипатических ферментов (Уголев и др., 1981; Хюттер и др., 1982, 1986; Егорова, Уголев, 1989).

Как подчеркивалось выше, механизмы температурных адаптаций исследованы главным образом на примере млекопитающих и рыб. При исследовании ферментов, обеспечивающих процессы мембранного пищеварения у крыс и некоторых видов морских и пресноводных рыб, было установлено, что экстракция липидов при

помощи ацетона приводит к изменению кинетических характеристик фермента (Егорова и др., 1974; Уголев и др., 1981; Кузьмина, 1985). Так, у всех исследованных видов животных отмечено сужение зоны оптимальных значений температуры, особенно значительное в случае сахаразы. Для пресноводных рыб установлено смещение температурного оптимума сахаразы влево (с 40 до 30 °С). Температурная зависимость щелочной фосфатазы ни у млекопитающих, ни у рыб не претерпевает существенных изменений. Однако температура, при которой происходит скачкообразное изменение энергии активации фермента крыс, достоверно выше, чем для фермента, связанного с мембраной (40 °С). В результате этого в зоне физиологических температур величина $E_{акт}$ увеличивается с 5,2 до 13,8 ккал/моль (Егорова и др., 1974). У пойкилотермных животных изменения $E_{акт}$ в результате делипидизации мембран могут быть разнонаправленными. Так, у холодолюбивого налима величина $E_{акт}$ щелочной фосфатазы в зоне низких температур увеличивается почти в 2 раза (с 6,5 до 12,5 ккал/моль). Для фермента других видов рыб получены близкие результаты. При исследовании сахаразы, функционирующей в составе делипидизированных препаратов слизистой кишечника бентофагов, установлено некоторое уменьшение значений $E_{акт}$ в зоне физиологических температур (Кузьмина, 1986).

Изучение кинетических характеристик показало, что значения V и K_m щелочной фосфатазы рыб в результате экстракции липидов уменьшаются, карбогидраз — изменяются разнонаправленно (величины V уменьшаются, K_m увеличиваются). Эти данные свидетельствуют о значительном влиянии липидного матрикса мембран на температурно-зависимые характеристики ферментов. Степень и характер влияния, по всей вероятности, обусловлены жирнокислотным составом липидов, играющем важную роль в поддержании жидкокристаллического состояния мембран. При этом ЖК состав липидов у различных видов пойкилотермных животных в значительной мере зависит от температуры среды (Крепс, 1981; Ночашка, Сомеро, 1973, и мн. др.).

Изучение ЖК состава липидов слизистой кишечника рыб позволило выявить значительное его разнообразие, наличие большого количества полиеновых ЖК и ЖК ω 3 типа, позволяющих мембранам эффективно функционировать при низких температурах (Кузьмина и др., 1982, 1984). Сопоставление данных, полученных в зимний и летний периоды свидетельствует о значительном изменении в соотношении отдельных ЖК (рис. 29). При этом независимо от типа питания рыб летом увеличивается количество насыщенных ЖК и уменьшается содержание полиеновых ЖК. Поскольку полиеновые ЖК и ЖК ω 3 типа имеют более низкую температуру плавления по сравнению с насыщенными ЖК и ЖК ω 6 типа, сезонные перестройки ЖК состава липидов слизистой кишечника рыб в зимний период также могут рассматриваться как адаптивные.

Солубилизация ферментов тоже приводит к модификации их

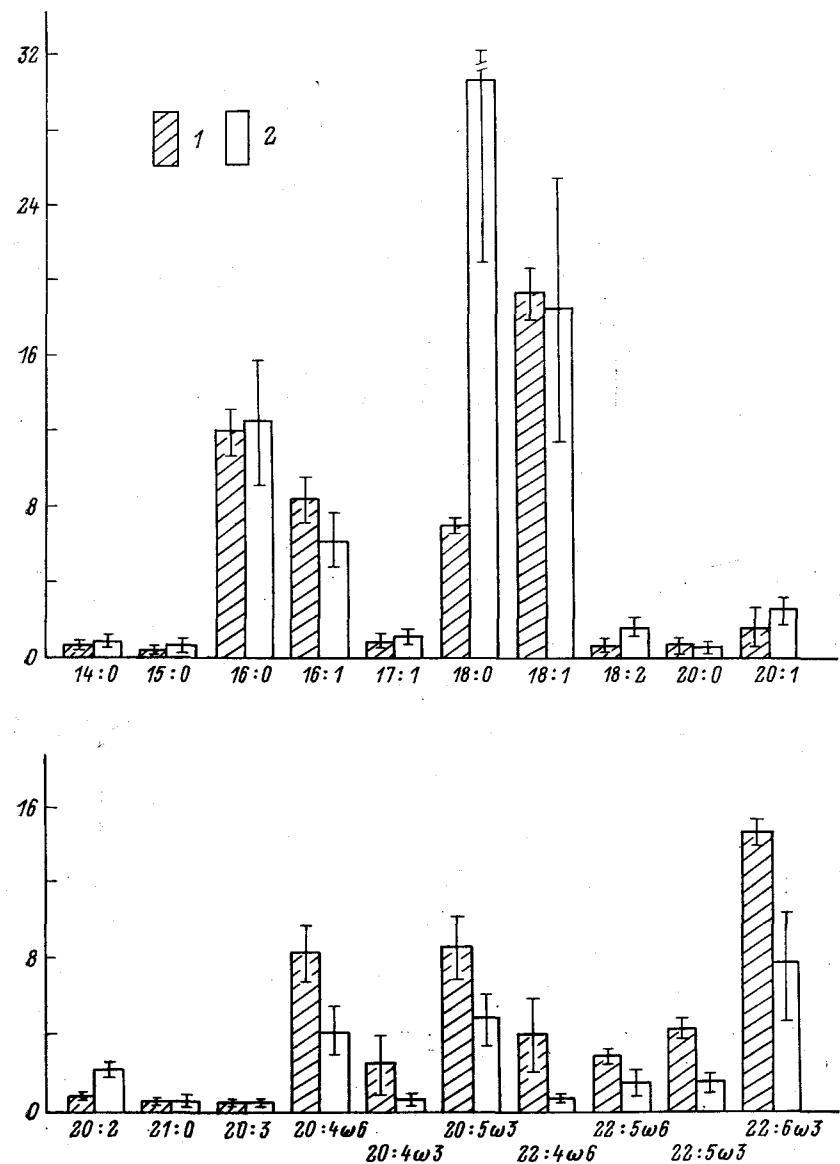


Рис. 29. Жирнокислотный состав липидов слизистой кишечника леща в зимний (1) и летний (2) периоды.

По оси абсцисс — жирные кислоты; по оси ординат — содержание жирных кислот, % от суммы доминирующих.

температурных характеристик (сужение зоны оптимальных температур $E_{\text{акт}}$, V , K_m и др.). При этом установлена важная роль гидрофобных частей ферментов (Уголев и др., 1981; Кузьмина, 1985). Также показано, что степень изменения величины K_m у гомойотермных и пойкилотермных животных при разной температуре различна (Уголев и др., 1981).

Интересно, что величины K_m разных ферментов претерпевают разнонаправленные изменения (см. главу 6). Так, солибилизация сахаразы приводит к увеличению значений K_m у всех исследованных видов рыб и при 0, и при 20 °С. Величины K_m Д-формы щелочной фосфатазы у щуки уменьшаются, особенно значительно при 20 °С, П-формы при 0 °С несколько уменьшаются, при 20 °С — увеличиваются незначительно. Дегградация фермент-мембранных комплексов у леща приводит к последовательному увеличению значений K_m при 20 °С, а при 0 °С увеличивается лишь K_m Д-формы фермента.

Учитывая разнообразие функций гидрофобной части ферментов (Хюттер и др., 1982), можно предположить, что дальнейшие исследования позволят получить доказательства участия гидрофобных доменов в температурных адаптациях пищеварительных ферментов у различных гидробионтов.

Представления о механизмах температурных, и в частности холодовых адаптаций у пойкилотермных животных, в том числе и рыб, на протяжении последних десятилетий значительно изменились. Если в 30—50-е годы XX в. различия температурных характеристик одноименных пищеварительных гидролаз у рыб и других позвоночных животных объяснялись их разной термостабильностью (Коштыянец, 1950, Buddenbrock, 1956; Уголев и др., 1986, и др.), то позднее значительное внимание уделялось большей (по сравнению с теплокровными) гибкости белковых глобул ферментов рыб и других пойкилотермных животных, позволяющей изменять конформацию молекул под влиянием различных факторов, в том числе и низкой температуры (Hochachka, Somero, 1971, 1973; Hazel, Prosser, 1974; Somero, 1978; Уголев и др., 1981, 1986; Александров, 1985).

В настоящее время принято считать, что температурные, в том числе холодовые, адаптации ферментов реализуются за счет различных механизмов — генетически детерминированных и фенотипических. В ряде случаев адаптивность изменения характеристик ферментов, в частности гидролаз у хищных рыб, может быть связана как с прямым влиянием температуры на третичную структуру молекулы фермента (Hochachka, Somero, 1973), так и с прямым или опосредованным влиянием эндокринной системы. Известно, что гормоны щитовидной железы увеличивают холодоустойчивость рыб (Прехт, 1964), а их уровень выше у более подвижных видов (Плисецкая, 1975).

В ряде случаев наблюдаемые перестройки, видимо, возможны благодаря существованию множественных молекулярных форм щеточнокаемных ферментов. Так, из слизи кишечника ската

выявлены 2 изофермента щелочной фосфатазы (Evans, Ford, 1976). Кроме того, возможны быстрые конформационные переходы от одной формы молекулы к другой, более приспособленной для функционирования в конкретных температурных условиях (Егорова и др., 1974; Уголев и др., 1981, 1983б, 1986а; Александров, 1986, и др.). Адаптации ферментов, функционирующих в составе мембран эритроцитов, достигаются при участии различных компонентов фермент-мембранных комплексов, в том числе гидрофобных доменов гидролаз и липидного матрикса мембран (Егорова и др., 1974, 1986; Уголев и др., 1981, 1983б, 1986; Кузьмина, 1986, и др.). Солибилизация ферментов при помощи детергентов и протеаз, а также делипидизация мембран неодинаково влияет на их характеристики в зоне низких температур. Эффект названных воздействий, а, следовательно, и роль тех или иных компонентов фермент-мембранных комплексов в значительной мере зависят от исследуемого фермента и вида рыб.

Как подчеркивалось ранее, исключительную роль при адаптациях к холоду играет липидный матрикс мембран эритроцитов, в частности, увеличение содержания полиненасыщенных жирных кислот в липидах. Особенно важно увеличение относительного содержания докозагексаеновой кислоты (до 14,8 % у леща, до 16—20 % у плотвы, щуки, налима, форели и окуня), поскольку в последнее время она рассматривается в качестве универсального адаптогена (Шульман, Юнева, 1990). Если данные об изменении значений кажущейся K_m в результате солибилизации ферментов при помощи детергентов и протеаз свидетельствуют о важной роли структур щеточной каймы эритроцитов в адаптивных перестройках ферментных систем, а также гидрофобных частей ферментов (Уголев и др., 1981, 1983б, 1986; Хюттер и др., 1982), то результаты опытов по влиянию экстракции липидов близки данным, полученных ранее при изучении ацетонированных (безлипидных) препаратов щелочной фосфатазы различных животных (Егорова и др., 1974; Уголев и др., 1976а, 1981), и подтверждают представления о существенном влиянии мембран, в частности липидных компонентов, на свойства ферментов (Полторак, 1967; Уголев, 1967, 1972; Ugolev, De Laey, 1973; Thompson et al., 1977, и др.), в том числе связанных с реализацией холодовых адаптаций (Kemp, Smith, 1970; Hochachka, Somero, 1971, 1973; Hazel, Prosser, 1974; Крепс, 1981; Hazel, 1983; Smith, 1983, и др.).

Данные по интенсивности всасывания различных нутриентов у млекопитающих и рыб при физиологических для вида температурах свидетельствуют о меньших скоростях процесса у последних. В частности, при изучении транспорта жира было замечено, что в кишечнике карпа при температуре 22—25 °С всасывание происходит значительно медленнее, чем у мышей, что, по мнению авторов, объясняется различием температуры тела (Сорвачев, 1982). У скорпены всасывание глюкозы при 25 °С на 34 % ниже, чем у крысы (Cordier, Chanel, 1951). К аналогичному выводу пришли Китчин и Моррис (Kitchin, Morris, 1971) в результате

сопоставления собственных и литературных данных по всасыванию аминокислот у пойкилотермных и гомойотермных организмов: интенсивность абсорбции метионина и валина у карася при 8, 15 и 25 °С ниже, чем у крысы и хомяка.

Анализ сведений по температурной зависимости абсорбции мономеров у рыб разных видов свидетельствует об увеличении скорости процесса с повышением температуры. Так, отмечено увеличение интенсивности абсорбции глюкозы при росте температуры от 2 до 20 °С в кишечнике у линя на 59 % (Cordier et al., 1954), приблизительно в 2 раза — у американского сомика (*Musacchia et al.*, 1964). У обыкновенной колочей акулы скорость абсорбции глюкозы выше при 36 °С, чем при 26 °С (Carlinsky, Huang, 1962). Отмечалось также повышение интенсивности всасывания галактозы в кишечнике бычка при возрастании температуры до 30 °С (Negera, Jordana, 1973), фруктозы и галактозы в кишечнике линя при изменении температуры от 2 до 20 °С (Cordier et al., 1954).

Такая же закономерность наблюдается при исследовании транспорта аминокислот. Так, при повышении температуры с 11 до 20 °С поглощение глицина у форели увеличивается на 73 % (Escoubet et al., 1973). У линя и дорады наблюдается возрастание абсорбции глицина при росте температуры (2,12, 22 °С и 15, 20, 25 °С соответственно). Также было показано, что при повышении температуры инкубации (25 °С) скорость абсорбции метионина и валина у рыб, акклимированных к 25 °С, значительно ниже, чем у рыб, акклимированных к 8 и 15 °С.

В работе, посвященной изучению транспорта аминокислот в печени антарктических рыб с использованием техники разового инъецирования L-лейцина, меченного ¹⁴C, *in vitro* отмечалось, что скорость транспорта L-лейцина при 20 °С у трематома была ниже, чем у субтропических рыб-жаб, однако, способность к аккумуляции лейцина в печени была сравнима. При 0 °С поглощение лейцина у трематома на 30 % происходит за счет активного переноса, как это наблюдается у рыб-жаб при 20 °С. При 10 °С активный транспорт лейцина сохраняется лишь у трематома. Эти результаты доказывают наличие адаптаций транспортных систем трематома к экстремально низким температурам (Уголев и др., 1986). При повышении температуры с 11 до 20 °С увеличивается и абсорбция N-ацетил-D-глюкозамина у угря (Peges et al., 1973).

Вместе с тем в ряде работ показано, что в узком интервале температур, соответствующих температуре среды обитания пойкилотермных животных, влияние изменения температуры на интенсивность всасывания мономеров не обнаруживается.

Так, транспорт глюкозы у форели не зависит от температуры в зоне 11—20 °С (Escoubet et al., 1973). По мнению Смита (Smith, 1969), расчеты, основанные на данных Мусахиа с соавторами (*Musacchia et al.*, 1966), дают основание предположить, что трансмуральное движение глюкозы у теплолюбивой скапы в диапазоне 23—29 °С также температурно независимо. Близкие резуль-

таты получены при изучении всасывания глицина в диапазоне температур 24—30 °С.

Всасывание ксилоты в кишечнике у линя и валина у карася не зависит от температуры в более широком интервале температур: 2, 10, 20 °С и 8, 15, 25 °С соответственно (Cordier et al., 1954; Kitchin, Morris, 1971). Однако Кордые с соавторами (Cordier et al., 1954) обнаружили различия во влиянии температуры на всасывание сахаров, показав уменьшение различий в интенсивности транспорта в ряду глюкоза — галактоза — фруктоза — ксилоза.

Сведений о влиянии температуры на кинетические характеристики транспортных процессов крайне мало. В связи с этим особый интерес представляют данные о том, что ингибирование глюкозного транспорта флоридзином является конкурентным при 26 °С и неконкурентным при 36 °С. Это, по мнению Карлинского и Хуанга (Carlinsky, Huang, 1962), указывает на то, что система переносчиков глюкозы действует при низких температурах, в то время как при 36 °С транспорт глюкозы управляется более сложным механизмом.

Значительное влияние на характеристики транспорта сахаров в эксперименте оказывает температура среды обитания рыб. В частности, установлено, что температура инкубации (5, 15, 25 и 35 °С) незначительно влияет на интенсивность аккумуляции свободной глюкозы и глюкозы, образующейся из поли- и дисахаридов (крахмал, мальтоза и сахароза) в кишечнике леща. Однако у рыб, акклимированных к более низкой температуре (5 °С), интенсивность абсорбции всех сахаров значительно выше, чем у рыб, акклимированных к более высокой температуре (14 °С). Аналогичная зависимость выявлена при изучении сезонной динамики транспорта сахаров: зимой интенсивность транспорта всех форм глюкозы достоверно выше, чем в другие периоды годового цикла леща (Уголев и др., 1990).

Наблюдаемый феномен может быть объяснен увеличением проницаемости мембран энтероцитов в результате адаптивных перестроек ЖК состава липидов. В то же время появились сведения об увеличении массы слизистой оболочки при акклимации рыб к низким температурам (Коростелев, Егорова, 1990), возможно за счет эндогенных антифризов. Не исключено, что при кратковременном воздействии низких температур интенсивность аккумуляции нутриентов во всем кишечнике зависит от обоих механизмов. Однако эффект, наблюдаемый при сезонных перестройках, по-видимому, в большей степени связан с адаптивным изменением ЖК состава липидов, так как в зимний период в естественных условиях масса слизистой у многих видов рыб значительно уменьшается.

Таким образом, имеющиеся данные свидетельствуют о существовании адаптаций гидролитических и транспортных функций пищеварительной системы различных животных к температурным условиям функционирования. Адаптивные перестройки осущест-

вляются за счет изменения характеристик белковой глобулы ферментов, а в случае связанных ферментов и липидного матрикса мембран. Данные, полученные при исследовании гомойотермных животных, свидетельствуют о большей жесткости молекул фермента по сравнению с пойкилотермными животными. Для последних особое значение приобретает увеличение количества ненасыщенных жирных кислот в составе липидного матрикса мембран.

При анализе адаптивных перестроек ферментных и транспортных систем животных необходимо учитывать особенности функционирования целого организма, а также экологические, онтогенетические и филитические факторы, поскольку они оказывают существенное влияние на исследуемые характеристики.

8.3. Видовые, индивидуальные и популяционные адаптации

Видовые и индивидуальные адаптации. Вопросы, касающиеся видовых адаптаций пищеварительно-транспортных функций у рыб, представляются чрезвычайно важными, так как выявление степени их пластичности позволяет приблизиться к пониманию механизмов процесса микроэволюции. В сущности все разделы глав 4—7 этой книги содержат многочисленные примеры видовых адаптаций пищеварительных гидролаз. Это касается и характерного для вида уровня ферментативной активности, и особенностей возрастной динамики ферментативной активности, в значительной мере обусловленной спектром питания и биохимическим составом пищи (см. рис. 12—14, 27, 28).

При этом наибольшие межвидовые различия обнаружены при исследовании ферментов цепи карбогидраз у пресноводных костистых рыб. В свою очередь в цепи карбогидраз наибольшие межвидовые различия отмечены для α -амилазы, обеспечивающей начальные этапы гидролиза углеводов.

Аналогичная закономерность, несмотря на значительно меньшую межвидовую вариабельность, характерна и для ферментов цепи протеаз. Интересно, что межвидовые различия в уровне активности ферментов, обеспечивающих гидролиз белковых компонентов корма, исчезают лишь на уровне димергидролаз, разрушающих дипептиды. Ранее указывалось, что уровень активности тетра- и трипептидаз (субстраты — триглицилглицин и диглицилглицин) у щуки приблизительно в 3 раза выше, чем у леща, в то время как уровень активности глицилглициндипептидазы у названных видов рыб одинаков (см. табл. 7).

Зависимость между уровнем щелочно-фосфатазной активности и характером питания пресноводных рыб не установлена. При исследовании морских рыб более высокая активность обнаружена у более активных видов (акула, ставрида).

Таким образом, уровень активности ферментов, связанных с начальными и промежуточными звеньями гидролиза таких биополимеров, как белки и углеводы, в большей степени коррелирует

с типом питания рыб, чем уровень активности ферментов той же цепи, но осуществляющих заключительные этапы этого процесса. При этом виды, занимающие одну и ту же экологическую нишу, имеют сходное соотношение активности эндогидролаз, обеспечивающих начальные этапы гидролиза белковых и углеводных компонентов корма.

Сказанное в равной мере относится к внутривидовой изменчивости ферментативной активности в разные периоды годового цикла рыб. Так, при температуре, близкой природной, уровень активности α -амилазы в кишечнике леща летом в 120, 8 раза выше, чем зимой, в то время как мальтазы лишь в 2 раза (Уголев, Кузьмина, 1988). Помимо возрастания уровня ферментативной активности обнаружено уменьшение коэффициента вариации показателя в период наиболее интенсивного питания, свидетельствующее об увеличении стабильности условия питания рыб (табл. 31).

Таблица 31
Динамика активности α -амилазы в кишечнике леща в возрасте 4—6+ из Волжского плёса Рыбинского водохранилища в период нагула

Месяц	Активность α -амилазы, мг·г ⁻¹ ·мин ⁻¹	Коэффициент вариации
Май	14,9±2,3	70,2
Июнь	76,9±10,3	23,3
Июль	60,5±5,4	15,5
Август	34,1±2,9	17,0
Сентябрь — октябрь	9,3±1,5	53,3

Представленные в табл. 31 данные свидетельствуют о значительной индивидуальной вариабельности уровня активности α -амилазы, степень которой зависит как от биотических, так и абиотических факторов, таких как температура среды обитания рыб. Аналогичная зависимость обнаружена при исследовании α -амилазы в крови леща и у других представителей сем. Cyprinidae, по типу питания являющихся типичными бенто- и планктофагами (Кузьмина, 1979а). У типичных и факультативных хищников, питающихся в зимнее время, сезонные различия в уровне активности ферментов, находящихся в начале ферментативной цепи, выражены менее значительно, чем у бенто- и планктофагов. Действительно, у щуки активность α -амилазы летом в 1,6 раза выше, чем зимой, а мальтазы — в 4 раза.

Эксперименты, проведенные на двухлетках карпа и показавшие, что увеличение доли углеводов в корме от 2—4 (естественная пища бентофага) до 40 % (комбикорм) приводит к увеличению активности α -амилазы на порядок, подтверждают представления о значительной пластичности ферментных систем рыб. Важно отметить, что сходство видовых и индивидуальных адаптаций

пищеварительных гидролаз у рыб, по типу питания относящихся к одной экологической группе, в значительной мере определяется сходством кинетических характеристик ферментов. Как подчеркивалось в разделах 6,1—6,4 и 8,2, при изучении температурно-зависимых характеристик некоторых гидролаз в ряде случаев обнаружены значительные видовые различия. Наблюдаемые изменения, как правило, в большей степени затрагивают эндогидролазы. Действительно, выявлены существенные различия t° -функции α -амилазы и кислых желудочных протейназ (преимущественно пепсина) у разных видов рыб. Температурные характеристики экзогидролаз у этих же видов сравнительно однородны, причем относительная активность ферментов в зоне низких и физиологических температур у бенто- и планктофагов значительно выше по сравнению с таковой эндогидролаз, осуществляющих начальные этапы гидролиза биополимеров. Меньшие значения выявлены для ферментов, реализующих промежуточные и заключительные этапы этого процесса. Так, величина температурного коэффициента α -амилазы в диапазоне 0—20°C у рыб сем. Serrinidae соответствует 4,8, γ -амилазы — 2,8, дисахаридаз и щелочной фосфатазы — 1,6—1,8. Для хищников в большинстве случаев, особенно при исследовании карбогидраз, установлены меньшие различия в соотношении указанных коэффициентов. Так, температурный коэффициент α -амилазы у хищников-факультативных бенто- и планктофагов, а также у хищников-засадчиков в диапазоне 0—20°C близок 1,6, у пелагических хищников — 1,3, что способствует относительной независимости их пищеварительных функций от температуры окружающей среды. Близкий характер изменений продемонстрирован для энергии активации ферментов у рыб разных видов (табл. 32).

Таблица 32

Значения энергии активации некоторых ферментов слизистой кишечника рыб в зоне физиологических температур, ккал/моль

Вид	α -Амилаза	Мальтаза	Сахараза	Щелочная фосфатаза
Лещ	11,3	3,7	4,9	14,4
Плотва	10,7	3,1	5,8	13,8
Карп	9,4	4,0	3,8	10,7
Щука	2,6	$\frac{2,2}{3,6}$ (20°C)	5,1	10,8
Окунь	4,7	$\frac{2,2}{4,6}$ (20°C)	3,1	10,5
Налим	3,6	$\frac{1,9}{4,1}$ (10°C)	3,3	11,9

Примечание. Над чертой — зона низких температур (0—10°C), под чертой — зона высоких температур (0—20°C). В скобках дана температура скачкообразного изменения величин $E_{\text{акт}}$.

Из табл. 32 видно, что у леща, плотвы и карпа величины $E_{\text{акт}}$ α -амилазы в 2—4 раза выше, чем у щуки, окуня и налима. Адаптивные изменения значений $E_{\text{акт}}$ экзогидролаз у тех же видов выявляются реже. Особо следует отметить, что у некоторых видов хищных рыб эффективность гидролиза мальтозы в зоне физиологических температур приблизительно в 2 раза выше, чем у «мирных» рыб. Интересно, что минимальные значения $E_{\text{акт}}$ мальтазы у щуки и окуня находятся в зоне 0—20°C, у налима — в интервале 0—10°C, что согласуется с биологией этих видов.

У пластиножаберных и морских костистых рыб характеристики одноименных ферментов довольно однородны. Однако значения $E_{\text{акт}}$ щелочной фосфатазы значительно ниже, чем у пресноводных рыб, особенно у акулы (4,0 ккал/моль).

Кроме того, важную роль в формировании видовых адаптаций ферментов могут играть температурно-зависимые изменения сродства фермента к субстрату. Особо следует отметить, что видовые адаптации большинства температурных характеристик ферментов являются достаточно устойчивыми. В частности, на примере налима, относящегося к арктическому фаунистическому комплексу, продемонстрированы адаптивные изменения t° -функции γ -амилазы и мальтазы, а для угольной сабли — щелочной фосфатазы, которые не столько отражают температурные условия в настоящем, сколько в далеком прошлом (Уголев и др., 1986).

Если видовые адаптации к температурному фактору базируются в основном на генетически закрепленных свойствах белковых глобул фермента, то индивидуальные, по всей вероятности, чаще определяются опосредованными воздействиями гормональной системы, а в случае мембранных ферментов — также липидным матриксом мембран. Особенно важно при этом то обстоятельство, что денатурация жирных кислот, входящих в состав липидов, может осуществляться в течение нескольких часов (Крепс 1981). Следовательно, за счет этого механизма возможно достаточно быстрое адаптивное изменение характеристик ферментов. Таким образом, сопоставление различных характеристик пищеварительных гидролаз у различных таксономических и экологических групп рыб свидетельствует о существовании видовых и индивидуальных адаптаций ферментов. Ведущими факторами для перестройки ферментных систем являются экологические, особенно характер питания и связанный с ним состав пищи, а также температура. Кроме того, несомненно влияние ионного состава среды (см. раздел 4.1) и ряда других факторов, воздействующих на видовые и индивидуальные характеристики ферментов опосредованно. Однако эти вопросы нуждаются в специальной экспериментальной проверке.

Популяционные адаптации. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что уровень активности секретируемой и иницируемой α -амилазы различен не только у рыб разных популяций, но и у особей одной и той же популяции. При этом отмечена значительная зависимость уровня ферментативной актив-

ности от состояния кормовой базы водоема или отдельных его участков (Кузьмина и др., 1983, и др.). Эти сведения могут рассматриваться как адаптация к количеству углеводов в пище рыб, обитающих на разных биотопах. Действительно, у представителей бентоса содержание углеводов бывает различным, причем у предпочитаемых объектов питания (олигохет, хирономид, ручейников) значительным. Количество и соотношение объектов питания в различных водоемах или различных участках одного и того же водоема варьируют в зависимости от состава грунтов, температуры воды, содержания кислорода и других факторов. Следовательно, варьирует и концентрация углеводов в пище рыб, обитающих на разных биотопах. Высокий уровень ферментативной активности в кишечнике и крови рыб наблюдается в прудовых районах, особенно вблизи населенных пунктов, где процессы эвтрофикации выражены сильнее и биомасса бентоса (особенно богатых углеводами олигохет, личинок хирономид и ручейников) в 5—10 раз выше по сравнению с центральной зоной. Особенно показательны в этом отношении данные по уровню активности α -амилазы в крови леща, обитающего в разных плесах Рыбинского водохранилища. Как указывалось, максимальная активность фермента обнаружена у леща, обитающего в Волжском и Южно-Шекснинском плесах у гг. Рыбинск и Пошехонье-Володарск.

Также адаптивным можно считать сохранение в течение суток высокого уровня активности секретлируемой и инкретируемой α -амилазы у рыб, обитающих в высококормных участках водоема. Действительно, у рыб, обитающих в Северо-Шекснинском плесе вблизи г. Череповца, суточная динамика уровня амилолитической активности крови не отмечена, у обитающих в Южно-Шекснинском плесе, вечером активность в 1,5 раза выше, чем утром. Биомасса бентоса в первом участке исключительно высока — 42 г/м², во втором — зона богатого бентосом илистого грунта невелика, а биомасса бентоса в прилегающих районах составляет менее 3 г/м². Сопоставление этих данных показывает, что в участках с высокой кормностью пищеварительные ферменты вырабатываются в течение суток приблизительно с одинаковой интенсивностью, в участках с низкой кормностью — более интенсивно в периоды активного питания рыб на русле (во время миграций на пойму уровень секреции, видимо, снижается). В результате различной индивидуальной ритмики питания помимо изменения величин уровня ферментативной активности той или иной популяции наблюдаются изменения коэффициента вариации показателя. Так, величина коэффициента вариации амилолитической активности в крови северошекснинской популяции леща утром и вечером составляет 29 и 36 %, южношекснинской 44 и 35 % соответственно. Нетрудно заметить, что утром меньшие величины коэффициента вариации показателя отмечены в участках с более высокой кормностью и более интенсивным питанием рыб. Эти данные, равно как и сведения о сезонных изменениях коэффициента вариации

у рыб одной и той же популяции, также свидетельствуют об адаптированности уровня ферментативной активности к условиям питания различных популяций рыб.

Таким образом, изучение активности пищеварительных ферментов у леща из разных популяций, позволившее установить корреляцию между уровнем ферментативной активности и состоянием кормовой базы того или иного участка водоема, свидетельствует о существовании адаптаций на популяционном уровне.

8.4. Гомеостатические адаптации

Специально этот вопрос не исследовался. Вместе с тем он представляется чрезвычайно важным как для понимания эволюции функции пищеварения, так и для проблемы управления естественными технологиями. Прежде чем привести некоторые примеры гомеостатических адаптаций пищеварительных систем рыб, позволим себе напомнить, что в последние годы были существенно пересмотрены некоторые положения и принципы классического функционализма (Уголев, 1985). В частности, современный функционализм учитывает представления о функциональных блоках, являющихся основой элементарных функций, играющих благодаря возможности их рекомбинации и транспозиции исключительно важную роль в процессе эволюции. Не менее плодотворны представления о многоуровневом единстве природы, предполагающем взаимодействия не только в пределах организмов и популяций, но также экосистем и биосферы. При этом одной из наиболее существенных сторон современного функционализма является использование технологических подходов к процессам жизнедеятельности и жизни в целом. Последнее потребовало формирования новых принципов, таких как принципы эффективности, универсальности, гомеостаза, управления, циклизации, множественности, полиэссенциальности и компромисса. Функционирование сложных биологических систем возможно лишь при соблюдении этих основных и ряда дополнительных принципов, которые образуют своеобразные перекрывающиеся друг друга семейства или группы (Уголев, 1985).

Поскольку в данном разделе речь идет об адаптациях пищеварительно-транспортных функций у рыб, относящихся к категории гомеостатических адаптаций, направленных на поддержание изменяющихся потребностей организма животных в питательных веществах, приведем описание трех принципов, наиболее важных для понимания этого вопроса.

Принцип эффективности определяет взаимоотношения между структурой, функцией и полезными (или вредными) биологическими эффектами в ходе эволюции. Он утверждает, что естественный отбор осуществляется как накопление полезных и элиминирование вредных эффектов. Следствие этого — изменение структурных и функциональных признаков, реализующих эти эффекты. Со-

стояние системы приближается к равновесию между полезностью признака (его полезным эффектом) и его стоимостью, а соотношение между ними может меняться под влиянием внешних и внутренних факторов. Этот принцип утверждает наличие побочных признаков, которые являются обязательным компонентом полезного эффекта, объясняет отсутствие идеальных биологических систем и невозможность достижения коэффициента полезного действия, приближающегося к единице. Принцип эффективности характерен для всех типов технологий, естественных и искусственных.

Принцип гомеостаза — один из наиболее фундаментальных в жизнедеятельности систем и свойств этих систем. Он справедлив по отношению к любой конкретной биологической системе (от клетки до биосферы), а также для процесса эволюции в целом. За малыми исключениями, филогенетический аспект принципа гомеостаза может быть сформулирован как принцип возрастания гомеостаза в ходе эволюции. Гомеостатирование, т. е. поддержание постоянства биологических констант, находит отражение в принципе гомеорезиса, т. е. в поддержании постоянства скоростей реакций. Кроме того, существует структурный аспект гомеостатирования — гомеоморфоз, т. е. механизм поддержания структуры, характерной для данной системы, независимо от уровня ее функционирования.

Принцип компромисса. Функционирование биологических систем на основе весьма сложных взаимодействий может быть суммировано под названием принципа компромисса. В таких биологических системах, как клетка, и в более сложных системах, таких как организм или популяция, реальное и, вероятно, оптимальное при данных условиях функционирование реализуется на уровнях, не являющихся оптимальными для подсистем, составляющих данную систему. В то же время уровни функционирования не могут быть абсолютно неблагоприятными для каждой из подсистем. В действительности функционирование имеет место на уровне компромисса, оптимального для подсистем, составляющих определенную сложную систему.

Таким образом, принцип компромисса, заключающийся в невозможности одновременного поддержания всех функций и подсистем целостного организма на оптимальном уровне, позволяет лучше понять регуляцию отдельных органов и систем этого организма. Принцип оптимального компромисса чрезвычайно широк и дает возможность интерпретировать многие особенности деятельности биологических систем. Он полезен также для понимания свойств популяций и экосистем, где каждый член осуществляет меньший объем работы и имеет меньшее значение, чем это могло бы иметь место при увеличении биологического пространства. Принцип компромисса объясняет неустойчивость, неспособность к длительному существованию искусственных систем, где он не соблюдается.

Учитывая названные принципы легко понять кажущееся несовершенство пищеварительно-транспортных функций у рыб по сравнению с высшими позвоночными животными. Действительно, в ряде работ отмечалось, что уровень активности одноименных ферментов, определяемых в идентичных методических условиях, как правило, у рыб значительно ниже, чем у млекопитающих, а у млекопитающих в свою очередь значительно ниже, чем у птиц (Егорова и др., 1974; Кузьмина и др., 1981, Уголев и др., 1983а, и др.). Это явление объяснялось разной интенсивностью обменных процессов и обычно связывалось с теплокровностью и особенностями терморегуляции высших позвоночных животных. Вместе с тем в основе наблюдаемых различий могут быть не только особенности терморегуляции, но и различия в энергетических затратах на сопротивление силам гравитации у рыб и наземных животных. Ранее эта гипотеза была обоснована при исследовании гемопозитической функции у водных и наземных позвоночных животных (Коржуев, 1971). Освоение суши первичноводными животными стало возможным благодаря появлению ароморфоза — мощного скелета, вызвавшего увеличение интенсивности обменных процессов, которое было бы невозможно без увеличения интенсивности начальных звеньев ассимиляции.

Аналогичные закономерности наблюдаются при сопоставлении соотношения механизма транспорта нутриентов у рыб и высших позвоночных животных. Действительно, если у млекопитающих и птиц преобладает механизм активного транспорта, то у рыб — механизмы простой и облегченной диффузии. Помимо преобладания процессов пассивного транспорта для рыб характерна меньшая зависимость транспортных характеристик от кислорода, что может быть связано как с меньшей долей активного компонента, так и с большим участием в энергизации транспорта анаэробных источников энергии, в частности гликолиза (Рощина, 1981; Кузьмина, Извекова, 1988; Уголев и др., 1990, и др.).

На первый взгляд, эти факты свидетельствуют о несовершенстве пищеварительно-транспортных функций у рыб, обусловленных более низким уровнем филогенетического развития, однако исключительно большое видовое разнообразие и высокая численность рыб в различных водных экосистемах, сохраняющиеся несмотря на многолетнее интенсивное рыболовство и загрязнение окружающей среды, скорее убеждают в достаточности выработанных в процессе эволюции механизмов начальных этапов ассимиляции пищи.

Вышесказанное позволяет предположить, что у вторичноводных животных уровень одноименных ферментов в условиях близкой по химическому составу диеты должен быть значительно ниже, чем у наземных позвоночных животных. При этом адаптации ферментативного спектра к составу пищи должны сохраняться. Также может несколько уменьшаться по сравнению с наземными животными доля активного компонента транспорта. Близкие этим изменения должны происходить у животных и человека

в условиях длительного пребывания в состоянии невесомости или, если это окажется технически возможным, в гипогравитационных условиях водной среды.

Таким образом, помимо традиционно анализируемых адаптаций, таких как видовые, индивидуальные, популяционные, нутритивные и температурные, существуют гомеостатические адаптации пищеварительно-транспортных функций у рыб, рассмотрение которых должно базироваться на принципах современного функционализма.

8.5. Заключительные замечания

Представленные в этой главе материалы свидетельствуют о значительной адаптированности пищеварительно-транспортных функций рыб к условиям питания и жизнедеятельности. Действительно, слизистая оболочка пищеварительного тракта и гепатопанкреас рыб разных таксономических групп синтезируют широкий спектр гидролаз, функционирующих в растворе (полость) и в составе фермент-мембранных комплексов (слизистая). Помимо широко распространенных в животном мире ферментов цепи протеаз, карбогидраз и липаз у рыб имеются такие гидролазы, как хитиназа, ламинариназа и другие β -глюкозидазы, а также β -галактозидаза, широко представленная у млекопитающих. Сопоставление имеющихся данных свидетельствует о существовании достаточно тонких адаптаций к составу пищи, особенно ярко проявляющихся при анализе ферментов цепи карбогидраз. Наличие широкого спектра гидролаз, а также доминирование простой и облегченной диффузии — механизмов, обеспечивающих транспорт мономеров и продуктов гидролиза олиго- и полимеров, делает возможным деполимеризацию объектов питания, значительно различающихся по биохимическому составу.

Важную роль в адаптивных перестройках ферментных систем пищеварительного тракта рыб играют изменения кинетических характеристик гидролаз, а также липидного матрикса мембран эпителиоцитов.

В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что традиционно рассматриваемые адаптации пищеварительной системы различных животных, в том числе рыб, взаимосвязаны и должны анализироваться с учетом потребностей организма и возможностей экосистемы, а определение адаптации должно включать принцип иерархичности. В частности, при анализе ферментных систем необходимо учитывать, что адаптация — это спонтанно возникающая в процессе эволюции и закрепляющаяся путем естественного отбора совокупность реакций живых систем на всех уровнях их организации, способствующая поддержанию устойчивости макросистем при изменении условий их функционирования.

В связи с этим особое значение приобретает исследование гомеостатических адаптаций, которые в данной главе для рыб рас-

смотрены на организменном уровне. Однако детальное исследование индуцированного аутолиза, позволившее рассматривать его в качестве одного из основных механизмов пищеварения рыб, дает возможность оценить вклад в адаптивные перестройки пищеварительной системы рыб другой группы гидролаз, преимущественно лизосомальных ферментов, содержащихся в тканях жертвы, а также гидролаз микрофлоры.

Последнее свидетельствует о необходимости разработки комплексных подходов к проблеме адаптаций пищеварительной системы рыб, которые бы включали сложные трофические отношения рыб и других гидробионтов в экосистемах разного типа.

видов ганоидных и около 20 000 видов костистых рыб (Расс, 1971).

Анализ эволюционных аспектов структурной организации желудочно-кишечного тракта рыб свидетельствует о том, что зависимость между систематическим положением (следовательно, возрастом) тех или иных таксономических групп рыб и наличием желудка не прослеживается. Действительно, желудок отсутствует не только у настоящих рыб (химеровые и многие виды костистых рыб), но и круглоротых (миксины). Большинство авторов (Barrington, 1957; Кароог et al., 1975, и др.) наличие этого органа рассматривают как адаптацию к характеру питания. Несмотря на разнообразие анатомической и морфологической организации желудка у разных видов рыб, для всех них характерно более простое, чем для высших позвоночных животных, строение желудочных желез, обладающих помимо слизистых лишь одним типом секреторных клеток, которые обеспечивают секрецию ферментов и соляной кислоты (Barrington, 1957; Western, Jennings, 1970; Кароог et al., 1975; Fange, Grove, 1979, и др.).

Кишечник у рыб разных таксономических групп значительно варьирует по форме, длине и строению стенки. У более древних хрящевых рыб кишечник короткий и увеличение поверхности слизистой оболочки достигается за счет спирального клапана, у костистых рыб поверхность кишечника увеличивается за счет образования продольных петель, пилорических придатков и усложнения рельефа слизистой оболочки (Barrington, 1957; Кароог et al., 1975; Fange, Grove, 1979; Веригина, Жолдасова, 1982). Однако у наиболее древних таксономических групп костных рыб (ганоидные, лососевые) также имеется спиральный клапан (Fange, Grove, 1979). От высших позвоночных животных рыбы отличаются менее дифференцированным кишечником, отсутствием ворсинок и крипт у большинства таксономических групп.

Если морфологическая организация кишечника у рыб разных таксономических групп различается значительно, то гистологическое строение в меньшей степени. Основу кишечного эпителия, как и у других позвоночных, составляют энтероциты. Кроме того, широко представлены бакаловидные клетки. Многоклеточные железы в отличие от высших позвоночных у большинства видов рыб отсутствуют. Ультраструктура кишечного эпителия, в том числе тонкое строение энтероцитов, обладающих щеточной каймой, у рыб разных таксономических групп исключительно близка и сходна с таковой у круглоротых и высших позвоночных (Barrington, 1957; Кароог et al., 1975; Fange, Grove, 1979; Веригина, Жолдасова, 1982). Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что характер эволюции структур пищеварительного тракта рыб в значительной мере зависит от уровня их организации. Для клеточного и субклеточного уровней характерен значительный консерватизм, для тканевого и особенно органного уровней — эволюционно значимые изменения, включающие не только увеличение специализации, но и различного рода идиоадаптации. Если рас-

Итак, в течение последних десятилетий благодаря ряду основополагающих открытий и не менее ценных наблюдений господствовавшие до недавнего времени концепции питания и пищеварения были существенно пересмотрены. Новая парадигма питания позволила по-новому оценить не только современное состояние проблемы физиологии питания рыб, но и эволюционные аспекты пищеварительно-транспортных функций у этих животных.

Действительно, для рыб описаны все известные в настоящее время типы пищеварения, причем в данной книге дается первое систематическое описание закономерностей мембранного гидролиза пищи. Кроме того, обобщены сведения об участии ферментов жертвы и микрофлоры в процессах деградации объектов питания. Несомненно, что в результате деятельности микрофлоры возникают дополнительные потоки нутриентов. Также многое известно о продуцировании слизистой пищеварительного тракта рыб различными гормонами.

Эти факты позволяют считать, что схема потоков из пищеварительного тракта во внутреннюю среду организма у рыб так же сложна, как и у высших позвоночных животных. Более того, использование исключительно разнообразных по таксономии и, следовательно, биохимической организации объектов питания позволяет предположить присутствие в их пищеварительном тракте редких и даже уникальных соединений.

Сопоставление данных по структурно-функциональной организации пищеварительной системы у рыб разных таксономических групп с учетом современных концепций позволило дополнить представления об эволюции пищеварительно-транспортных процессов у рыб.

Как известно, предшественники современных рыб — бесчелюстные рыбы (Agnatha) — появились в Кембрийский период, в Силуре возникли архаичные челюстноротые рыбы (Placodermi), в Девоне — многочисленные виды челюстноротых. Хрящевые рыбы (Chondrichthyes), а затем и костные (Osteichthyes) появились в конце Девонского периода. В настоящее время класс хрящевых рыб включает около 600 видов пластиножаберных и около 30 видов слитночерепных, класс костных рыб — 6 видов лопастеперых, 45

смагивать рыб по отношению к животным других типов и классов, то нельзя не отметить увеличения специализации пищеварительного тракта по сравнению с круглоротыми, а также наличия черт более примитивной организации по сравнению с высшими позвоночными животными.

Прежде чем анализировать эволюционные аспекты функциональной организации желудочно-кишечного тракта рыб, позволим себе напомнить основные положения концепции универсальных функциональных блоков (УФБ), описывающей возможность построения и эволюции специализированных систем из функциональных блоков, выполняющих элементарные функции (Уголев, 1977, 1982, 1983, 1985, 1989, 1990).

Суть концепции УФБ сводится к следующему:

1. Различные физиологические функции, в том числе специализированные, выполняемые клетками различных тканей и органами высших организмов, складываются из элементарных функций, реализуемых определенными функциональными блоками, число которых ограничено.

2. Эволюция функций связана с рекомбинацией и перераспределением функциональных блоков, которые близки или идентичны у организмов, стоящих на разных уровнях эволюционной лестницы.

3. Изменения функциональных эффектов клеток и органов также связаны с перераспределением функциональных блоков.

Сопоставление данных, касающихся функциональной организации пищеварительной системы рыб, свидетельствует о значительном сходстве функциональных блоков, реализующих пищеварительно-транспортные функции не только у рыб разных таксономических групп, но и у других животных. Единство молекулярных основ и базисных механизмов пищеварения и транспорта нутриентов у рыб разных таксономических групп подтверждает представления о том, что на уровне фундаментальных процессов в пищеварительной системе прогрессивная эволюция не наблюдается (Уголев, 1989). Действительно, как показано в главе 4, спектр пищеварительных гидролаз у рыб исключительно широк и включает ферменты, способные гидролизовать субстраты различной природы. Наличие большого набора функциональных блоков создает молекулярную основу для эврификации у рыб, а также предпосылки для появления видовых адаптаций к спектру питания и композиции пищи. В этом плане важно отметить сходство нутритивных адаптаций у видов, по типу питания входящих в одну экологическую группу, а также большую изменчивость активности ферментов, обеспечивающих начальные этапы гидролиза нутриентов и находящихся в начале ферментативной цепи. Интересно также отметить разную степень развития системы карбогидраз у хрящевых и костных рыб. Роль ферментов этой цепи увеличивается в ряду хрящевые → морские костистые → пресноводные костистые рыбы. По всей вероятности, это обусловлено большим значением в питании пресноводных рыб относительно молодых в эво-

люционном отношении (меловой период) диатомовых водорослей и макрофитов (Тахтаджян, 1970), а также детрита растительного происхождения. Если наличие широкого спектра гидролаз обусловило появление нутритивных адаптаций, то некоторые особенности их структурной организации, которые обеспечивают большую по сравнению с высшими позвоночными животными гибкость белковых глобул ферментов, сделали возможной реализацию температурных адаптаций. В ряде случаев наблюдаемые различия кинетических характеристик обусловлены особенностями филогенеза и являются общими для рыб одной экологической группы или фаунистического комплекса, что свидетельствует о важной роли гидролитических и транспортных систем в приспособлении организма рыб к различным условиям функционирования. Механизмы температурных адаптаций пищеварительных ферментов рыб близки таковым других систем пойкилотермных животных. Поскольку эволюирующей единицей является не вид, а популяция, элементы температурных адаптаций, выявленные у исследованных рыб, не являются общими для вида. Можно ожидать, что у особой различных популяций, особенно на границах ареала вида, температурные характеристики ферментов будут несколько иными.

Однако, как подчеркивалось ранее, анализ влияния внешней среды на эволюцию пищеварительно-транспортных функций рыб должен включать не только традиционно рассматриваемые факторы, такие как композиция пищи и абиотические факторы среды, но и степень трофичности объектов питания. Последняя в значительной мере зависит от «стоимости» гидролитических процессов обеспечивающих диполимеризацию структур жертвы. В этом плане вклад ферментов жертвы, особенно с учетом механизма индуцированного аутолиза, должен рассматриваться в качестве одного из важнейших факторов эволюции пищеварительной функции, выступающего в роли консервативного, стабилизирующего систему механизма. Важно подчеркнуть, что в данном случае речь идет не просто о стабилизирующем действии естественного отбора, направленного на поддержание определенного признака в определенном состоянии, а о сближении признаков у разных групп организмов, т. е. о конвергенции. Насколько нам известно, до последнего времени вопрос о конвергирующей функции естественного отбора не обсуждался. Между тем, как было показано ранее (Уголев, 1990), эта конвергирующая функция проявляется с особой отчетливостью в формировании планетарного единства живого на уровне строительных и функциональных блоков и во взаимодействиях в пределах биосферы с помощью трофических механизмов. Именно конвергенция позволяет сохранить существовавшее при формировании жизни единство и возможность взаимодействий различных звеньев трофических цепей между собой.

Обсуждение в рамках одной работы структурных и функциональных аспектов эволюции пищеварительной системы у рыб также позволило оценить степень пластичности отдельных ее элементов. Если молекулярные основы экзотрофии у рыб и других

животных достаточно близки, то на уровне, более высоком, чем молекулярной и субклеточной, прогрессивная эволюция выражена достаточно отчетливо.

Сопоставление отдельных разделов этой книги свидетельствует о неравноценности знаний по ряду затрагиваемых вопросов. В частности, недостаточно полно охарактеризованы молекулярные основы процессов пищеварения у рыб разных таксономических групп. По-прежнему фрагментарны сведения о некоторых механизмах начальных этапов ассимиляции пищи. Так, несмотря на наличие сведений о транспорте молекул белка через плазматическую мембрану энтероцитов (Gautier, Landis, 1972; Noaillac-De-reuge, Gas, 1979, и др.), подтверждающих возможность его внутриклеточного гидролиза, роль указанного механизма в системе гидролитических процессов еще оценена недостаточно. Лишь намечены пути исследования механизма индуцированного аутолиза и его вклада в процессы пищеварения рыб в зависимости от биотопной структуры водоемов. Недостаточно изучены вопросы, касающиеся сопряжения отдельных механизмов пищеварения и транспорта нутриентов (Уголев и др., 1989, 1990). В связи с усилившимся антропогенным прессом на водоемы возрастает потребность в изучении токсикологических аспектов пищеварительно-транспортных функций у рыб. Наконец, необходимо дальнейшее исследование адаптаций пищеварительной системы этой группы животных. Это касается не только расширения представлений об адаптационных возможностях пищеварительной системы рыб разных видов, но и углубления знаний о механизмах адаптивных перестроек, затрагивающих все уровни организации материи. При этом особое внимание должно быть уделено популяционным и биоценотическим адаптациям пищеварительной системы рыб, так как лишь на уровне популяций возможно возникновение генетически детерминированных адаптаций, а на уровне экосистем — эффективное функционирование различных звеньев трофических цепей.

Представляемая на суд читателя книга является последней крупной работой, подготовленной к печати при жизни одного из выдающихся физиологов современности, — академика Александра Михайловича Уголева. Ознакомление с первыми двумя главами монографии дает возможность оценить огромный вклад Александра Михайловича в развитие науки, традиционно именуемой физиологией питания человека и животных. Открытия и теоретические разработки Александра Михайловича позволили существенно пересмотреть многие базисные представления гастроэнтерологии и ряда биологических дисциплин. При этом оказалось, что некоторые механизмы пищеварения, практически утраченные на протяжении эволюции человека, играют существенную роль в процессах деполимеризации пищи у диких и домашних животных. Одним из наиболее интересных объектов исследования оказались рыбы, изучению которых Александр Михайлович в последние годы уделял большое внимание. Действительно, положение рыб на самых низших ступенях филогенеза позвоночных животных позволяет анализировать закономерности структурно-функциональной эволюции пищеварительной системы, а разнообразие экологических ниш, занимаемых рыбами, дает возможность не только оценивать адаптационную пластичность пищеварительной системы, но и вскрывать механизмы наблюдаемых адаптационных перестроек. В данной книге были приведены многочисленные примеры физиолого-биохимических адаптаций пищеварительной системы рыб, относящихся к разным таксономическим и экологическим группам. Однако это — лишь видимая часть айсберга. Многие важные закономерности адаптивных перестроек еще ждут своего описания. Теоретические и методические подходы к расшифровке некоторых из них содержатся в последних работах Александра Михайловича Уголева, посвященных фундаментальным проблемам трофологии. При этом важно отметить, что результаты наших последних экспериментов и наблюдений, не вошедших в эту книгу, не только полностью подтверждают основные ее положения, но и позволяют еще глубже понять взаимозависимость отдельных звеньев сложного процесса экзотрофии у рыб и других животных, которая в значительной мере реализуется за счет адаптаций на организменном, видовом, популяционном, биоценотическом и в конечном счете на планетарном уровне.

В. В. Кузьмина

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Адуц Г. Т., Саркисян Л. В. Влияние некоторых факторов на ферментативную активность севанской храмули//Биол. журн. Армении. 1966. Т. 19, № 10.
- Александров В. Я. Молекулярные аспекты генотипического приспособления организмов к температуре среды//Успехи соврем. биологии. 1969. Т. 67, № 3.
- Александров В. Я. Клетки, макромолекулы и температура. Л., 1975.
- Александров В. Я. Реактивность клеток и белки. Л., 1985.
- Ананичев А. В. Пищеварительные ферменты рыб и сезонная изменчивость их активности//Биохимия. 1959. Т. 24, вып. 6.
- Ананичев А. В., Гомазков О. А. Сезонная характеристика пищеварения налима//Тр. Ин-та биологии водохранилищ. 1960. Вып. 3 (6).
- Андреев А. К. Мышечная амилаза рыб//Биохимия. 1958. Т. 23, вып. 6.
- Антонов В. К. Химия протеолаза. М., 1983.
- Бабкин Б. П. Секреторный механизм пищеварительных желез. Л., 1960.
- Баканов А. И., Митропольский В. И. Количественная характеристика бентоса Рыбинского водохранилища за 1941—1978 гг.//Экологические исследования водоемов Волго-Балтийской и Северо-Двинской водных систем. Л., 1982.
- Баканов А. И., Стрижникова Л. Н. О связи между изменениями кормовой базы и питанием леща Abramis brama (L.) в Волжском плесе Рыбинского водохранилища//Вопр. ихтиологии. 1979. Т. 19, вып. 1.
- Бергельсон Л. Д. Мембраны, молекулы, клетки. М., 1982.
- Берман Ш. А. Материалы к контактному пищеварению у карпов двух возрастных групп//XI науч. конф. по изуч. внутр. водоемов Прибалтики. Петрозаводск, 1964.
- Берман Ш. А. Некоторые данные о сезонной динамике пищеварительной функции у карпа//Физиологические основы экологии водных животных: Тез. докл. Севастополь, 1965.
- Берман Ш. А. Локализация щелочной и кислотной фосфатазы в кишечнике карпа и изменение их активности под влиянием кобальта, марганца и цинка//Учен. зап. Латв. ун-та, 1972. Т. 176.
- Берман Ш. А., Саленице И. К. Пристеночное пищеварение у рыб//Вопр. ихтиологии. 1966. Т. 6, вып. 4 (41).
- Бузинова Н. С. Активность амилазы у амуров и толстолобиков//Экологическая физиология рыб: Тез. докл. М., 1973.
- Вайсфельд М. Л., Кассиль Г. Н. Гистамин в биохимии и физиологии. М., 1981.
- Вальдман А. Р. Питание и микрофлора//Химические и физиологические проблемы создания и использования синтетической пищи. Рига, 1972.
- Васильева Н. Е. Функциональная изменчивость кишечного эпителия позвоночных//Тр. Ленингр. об-ва анатомов, гистологов, эмбриологов. Л., 1970.
- Васильева Н. Е., Коровина В. М. Физиологическая и экологическая обусловленность гистологического строения средней кишки некоторых костистых рыб//Морфология низших позвоночных животных. М.; Л., 1968. Т. 46.
- Васильева Н. Е., Коровина В. М. Сравнительно-гистологическое исследование средней кишки некоторых лососевых (Salmonidae)//Вопр. ихтиологии. 1969. Т. 9, вып. 1 (54).
- Васильева Н. Е., Мельникова М. Н. Изменчивость кишечного эпителия семги (Salmo salar L.) в период нереста//Науч. докл. высш. школы. 1965. № 4.
- Васнецов В. В. Этапы развития костистых рыб//Очерки по общим вопросам ихтиологии. М.; Л., 1953.
- Веремеенко К. Н., Голобородько О. П., Кизим А. И. Протеолиз в норме и при патологии//Киев, 1988.
- Веригина И. А., Жолдасова И. М. Эколого-морфологические особенности пищеварительной системы костистых рыб. Ташкент, 1982.
- Вернадский В. И. Биосфера: (избр. тр. по биогеохимии). М., 1967.
- Воля Г. С. Некоторые данные о пищеварительных ферментах черноморских рыб и микромодификации определения пепсина, амилазы и липазы//Физиология морских животных. М., 1966.
- Вундш Г. Г. Питание, пищеварение и обмен веществ у рыб//Руководство по кормлению и обмену веществ у сельскохозяйственных животных. М., 1937. Т. 3.
- Высоцкая Р. У., Крупнова М. Ю. Лизосомальные ферменты у карпов, по-разному перенесших зимовку//Биохимия молоди рыб в зимовальный период. Петрозаводск, 1987.
- Высоцкая Р. У., Лялькин В. С. Изменение активности лизосомальных ферментов в процессе развития Artemia salina под влиянием постоянного магнитного поля//Сравнительная биохимия водных животных. Петрозаводск, 1983.
- Высоцкая Р. У., Сорокина В. В. Активность лизосомальных ферментов у личинок и куколок слепней родов Tabanus, Hübomitra и Chrysops в различные сезоны года//Экологическая биохимия животных. Петрозаводск, 1978.
- Высоцкая Р. У., Руоколайнен Т. Р., Крупнова М. Ю. Активность лизосомальных ферментов в разных органах и тканях лососевых рыб//Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского Севера. Петрозаводск, 1981.
- Высоцкая Р. У., Руоколайнен Т. Р., Сидоров В. С. Влияние различных концентраций фенола на активность лизосомальных ферментов печени животных//Сравнительная биохимия рыб и их гельминтов. Петрозаводск, 1977.
- Высоцкая Р. У., Яковлева К. Е., Ломаева Т. А., Такшеев С. А. Изменения в функционировании некоторых ферментных систем у осетровых при заболевании//Тез. докл. второго симпоз. по экол. биохимии рыб. Ростов Великий, декабрь 1990 г. Ярославль, 1990.
- Гаджиева С. Б. Биохимическая характеристика кормовой ценности планктона и бентоса Мингечаурского и Варваринского водохранилищ: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Баку, 1974.
- Гальперин Ю. М., Лазарев П. И. Пищеварение и гомеостаз. М., 1986.
- Гельман А. Г. Некоторые данные по температурным и кинетическим характеристикам щелочной фосфатазы рыб тропической и бореальной областей//Пути повышения продуктивности животных и растений. Рига, 1975а.
- Гельман А. Г. Влияние среды обитания на температурные характеристики щелочной фосфатазы рыб//Вторая Всесоюз. конф. молодых ученых по вопросам сравнит. морфологии и экологии животных. М., 1975б.
- Гельман А. Г. Сравнительная оценка изменения щелочной фосфатазы у ставриды и сардинеллы и ее локализация в кишечнике сардинеллы//Совершенствование технологии рыбных продуктов. Калининград, 1976а.
- Гельман А. Г. Сравнительное описание температурных функций ферментов, осуществляющих мембранное пищеварение у ряда рыб Атлантического океана//Проблемы исследования пелагических рыб и беспозвоночных Атлантического океана. Калининград, 1976б.
- Гельман А. Г. Сравнительные данные по температурным характеристикам щелочной фосфатазы сардинеллы и ставриды центральной части восточной Атлантики//Совершенствование технологии рыбных продуктов. Калининград, 1976в. Вып. 59.
- (Гельман А., Мокади С., Коган Ю.) Gelman A., Mokady S., Cogan U. The effect of seasonal changes on the activity of intestinal alkaline phosphatase of pike

perch, *Lucioperka lucioperka* and of bream, *Abramis brama*//*J. Fish Biol.* 1984. Vol. 25.

(Гельман А., Мокяди С., Коган Ю.) Gelman A., Mokady S., Cogan U. The Thermal Properties of intestinal alkaline Phosphatase of three kinds of deep-water fish//*Comp. Biochem. Physiol. B.* 1989. Vol. 94, N 1.

Грасгоф В. М. Автордиографическое и гистологическое исследование кишечного эпителия балтийской миноги//*Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии.* 1976. Т. 70.

Гредин В. Г. Взаимодействие пищевых веществ на стадии мембранного гидролиза у сеголеток и двухлеток карпа в норме и после отравления азотной кислотой ртутью//*Тр. ГосНИОРХ. Л., 1975а. Т. 93.*

Гредин В. Г. Влияние азотнокислой ртути на каталитические и регуляторные свойства кишечной амилазы карпов различного возраста//*Пути повышения продуктивности животных и растений. Рига, 1975б.*

Гредин В. Г. Сравнительная характеристика каталитических и регуляторных свойств различных ферментов, осуществляющих мембранное пищеварение у млекопитающих (крысы) и рыб (карпы), при экспериментальной патологии: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1977.

Гредин В. Г. Влияние различных токсических веществ на каталитические и регуляторные свойства кишечной амилазы рыб//*Биологически продуктивные сырьевые ресурсы Балтийского моря и их рациональное использование. Рига, 1979.*

(Груздков А. А., Гусев В. М., Уголев А. М.) Gruzdkov A. A., Gusev V. M., Ugolev A. M. The three compartmental enzyme system of the enterocyte relating to its digestion and barrier functions//*Advances Physiol. Sci.* 1981. Vol. 29.

Егорова В. В. Исследование регуляторных свойств некоторых собственных кишечных ферментов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1972.

(Егорова В. В., Уголев А. М.) Egorova V. V., Ugolev A. M. Enzymology of membrane digestion//*Membrane digestion. M., 1989.*

Егорова В. В., Гозите И. К., Колтушкина Г. Г., Уголев А. М. Сравнительная характеристика некоторых ферментов щеточной каймы, выделенных из состава мембран с помощью детергентов и протеаз//*Докл. АН СССР. 1977. Т. 233, № 3.*

Егорова В. В., Иезуитова Н. Н., Тимофеева Н. М., Туляганова Е. Х., Гурман Е. Г., Щербаков Г. Г., Уголев А. М. Некоторые температурные характеристики и температурные адаптации ферментов, обеспечивающих мембранное пищеварение у пойкилотермных и гомойотермных животных//*Журн. эволюц. биохимии и физиологии.* 1974. Т. 10, № 3.

Егорова В. В., Колтушкина Г. Г., Уголев А. М. Влияние способа солиubilизации на активность и регуляторные свойства некоторых гидролаз мембраны микроворсинок//*Физиологическая роль поверхностно-активных веществ. Черновцы, 1975.*

Егорова В. В., Митюшова Н. М., Уголев А. М., Гозите И. К., Колтушкина Г. Г. Каталитические и регуляторные свойства тритоновой и трипсиновой форм щеточнокаемных гидролаз//*Молекулярная генетика и биофизика. Киев, 1979а. Вып. 4.*

Егорова В. В., Никитина А. А., Хюттер Т. Ю. Сравнительная характеристика d- и r-форм некоторых собственных кишечных гидролаз у различных животных//*Мембранный гидролиз и транспорт: Новые данные и гипотезы. Л., 1986.*

Елецкий Ю. К., Цибулевский А. Ю. Ультраструктурные и молекулярные основы транспорта веществ через щеточную кайму энтероцитов тонкой кишки//*Успехи соврем. биологии.* 1979. Т. 87, № 2.

Желтов Ю. А., Федоренко В. А., Стецюк З. А., Варгаева Л. В. Экологическая физиология рыб//*Тез. докл. 3-го Всесоюз. конф. Киев, 1976. Т. 2.*

Житенева Т. С. О питании леща в Рыбинском водохранилище//*Тр. биол. ст. Борок. М.; Л., 1958. Вып. 3.*

Житенева Т. С. Питание леща на разных биотопах Рыбинского водохранилища. I//*Биология внутренних вод. Информ. бюл. Л., 1980. № 46.*

Житенева Т. С. Особенности питания леща (*Abramis brama* L.) на биотопе сегорого ила в разных плесах Рыбинского водохранилища//*Внутрипопуляционная изменчивость питания и роста рыб. Ярославль, 1981.*

Житенева Т. С., Баканов А. И. Оценка кормовой базы и питания старших воз-

растных групп леща Волжского плеса Рыбинского водохранилища//*Внутрипопуляционная изменчивость питания и роста рыб. Ярославль, 1981.*

Захарова Л. К. Распределение нерестилищ основных рыб Рыбинского водохранилища//*Тр. биол. ст. Борок. 1958. Вып. 3.*

Иванова М. Н., Половкова С. Н., Кияшко В. И., Баканов А. И. Питание и пищевые взаимоотношения рыб в водохранилищах Волжского каскада//*Теоретические аспекты рыбохозяйственных исследований водохранилищ. Л., 1978.*

Ильина Л. К. Поведение сеголетков окуня *Perca fluviatilis* L. разных экологических групп в потомстве одной пары производителей//*Вопр. ихтиологии.* 1973. Т. 13, вып. 2 (79).

Ильина И. Д. Физиолого-биохимические аспекты белкового питания личинок карпа: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1986.

Кандюк Р. П. Сравнительная оценка активности и термостабильности пищеварительных ферментов некоторых планктоноядных и бентосоядных рыб северо-западной части Черного моря//*Тез. докл. Всесоюз. совещ. по экол. физиол. рыб. М., 1966.*

Кандюк Р. П. Сравнительная оценка активности и термостабильность пищеварительных ферментов некоторых рыб северо-западной части Черного моря//*Обмен веществ и биохимия рыб. М., 1967а.*

Кандюк Р. П. Сравнительная оценка активности и термостабильности пищеварительных ферментов некоторых рыб северо-западной части Черного моря//*Биохимия морских организмов. Киев, 1967б.*

Климов П. К. Пептиды и пищеварительная система: Гормональная регуляция функций органов пищеварительной системы. Л., 1983.

Колтушкина Г. Г., Гайлума М. А., Лудрикс М. Р. Выделение и характеристика некоторых карбогидраз тонкой кишки крыс. Рига, 1975. Т. 47, № 2.

Комиссарчик Я. Ю., Уголев А. М. Ультраструктура и возможное функциональное значение гликокаликса микроворсинок кишечных клеток//*Докл. АН СССР. 1970. Т. 194, 3.*

Копыленко Л. Р., Мицкевич Л. Г., Вайтман Г. А., Мосолов В. В. Протеиназы икры осетровых рыб//*Прикл. биохимия и микробиология. 1984. Т. 20, вып. 3.*

Коржуев П. А. Влияние высокой температуры на трипсин теплокровных и холоднокровных животных//*Физиол. журн. 1936. Т. 21, № 3.*

Коржуев П. А. Гемоглобин. Сравнительная физиология и биохимия. М., 1964.

Коржуев П. А. Эволюция. Гравитация. Невесомость. М., 1971.

Коржуев П. А., Шаркова Л. Б. Об особенностях пищеварения каспийского осетра//*Обмен веществ и биохимия рыб. М., 1967.*

Коровина В. М., Васильева Н. Е. Сравнительное гистохимическое исследование средней кишки некоторых лососевых (*Salmonidae*)//*Вопр. ихтиологии.* 1971. Т. 11, вып. 3 (68).

Коровина В. М., Васильева Н. Е. Сравнительно-гистологическое исследование кишечника некоторых костистых рыб и использование этих материалов для уточнения их филогенетических связей//*Зоогеография и систематика рыб. Л., 1976.*

Коростелев С. Г., Егорова В. В. Температурные адаптации некоторых ферментов кишечных микроворсинок карповых рыб//*Физиология пищеварения и всасывания. Краснодар, 1990.*

Коротько Г. Ф. Ферменты желудочного сока: Регуляция их образования и выделения//*Физиология пищеварения. Л., 1974.*

Коштоянц Х. С. Основы сравнительной физиологии. М.; Л., 1950.

Коштоянц Х. С., Коржуев П. А. Материалы к сравнительной физиологии пищеварительных ферментов. I: Трипсин холоднокровных и теплокровных животных, температурный оптимум и теплоустойчивость их//*Зоол. журн. 1934. Т. 13, вып. 1.*

Краюхин Б. В. Физиология пищеварения пресноводных костистых рыб. М.; Л., 1963.

Крепс Е. М. Липиды клеточных мембран. Эволюция липидов мозга. Адаптационная функция липидов. Л., 1981.

Крупнова М. Ю. Участие лизосомальных гидролаз в процессе эндогенного питания рыб//*Сравнительная биохимия водных животных. Петрозаводск, 1983.*

- Крупнова М. Ю. Лизосомальные ферменты рыб при различных типах голодания//Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Харьков, 1986.
- Крыжановский С. Г., Дислер Н. Н., Смирнова Е. Н. Эколого-морфологические закономерности развития окуневых рыб (Percidae)//Тр. Ин-та морфологии животных. 1953. Вып. 10.
- Кузьмина В. В. Влияние длительного голодания на химические показатели крови леща//Биология рыб водохранилищ. М.; Л., 1966. Вып. 10 (13).
- Кузьмина В. В. Уровень гликемии у пресноводных костистых рыб//Гидробиол. журн. 1970. Т. 6, № 2.
- Кузьмина В. В. Особенности мембранного пищеварения у пресноводных костистых рыб//Вопр. ихтиологии. 1977. Т. 17, вып. 1 (102).
- Кузьмина В. В. Мембранное пищеварение у круглоротых и рыб//Вопр. ихтиологии. 1978. Т. 18, вып. 4 (111).
- Кузьмина В. В. Уровень активности α -амилазы в крови у пресноводных костистых рыб//Вопр. ихтиологии. 1979а. Т. 19, вып. 2 (115).
- Кузьмина В. В. Распределение активности α -амилазы вдоль кишечника у пресноводных костистых рыб//Вопр. ихтиологии. 1979б. Т. 19, вып. 4 (117).
- Кузьмина В. В. Сезонные и возрастные изменения активности α -амилазы у леща *Abraamis brama* (L.)//Вопр. ихтиологии. 1980. Т. 20, вып. 1 (120).
- Кузьмина В. В. Нутритивные адаптации ферментов, осуществляющих мембранное пищеварение у пресноводных костистых рыб//Журн. общ. биологии. 1981. Т. 42, № 2.
- Кузьмина В. В. Биохимический состав и калорийность кормовых объектов рыб Рыбинского водохранилища//Деп. № 5922—81. 1981, 1982а, РЖ 4С.
- Кузьмина В. В. Об оценке биохимического состава и калорийности основных энергетических компонентов кормовых объектов рыб//Оценка погрешности методов гидробиологических исследований. Рыбинск, 1982б. Вып. 49 (52).
- Кузьмина В. В. Соотношение активности ферментов, функционирующих в полости и слизистой кишечника рыб//Вопр. ихтиологии. 1984. Т. 24, Вып. 4.
- Кузьмина В. В. Температурные адаптации ферментов, осуществляющих мембранное пищеварение у пресноводных костистых рыб//Журн. общ. биологии. 1985. Т. 46, № 6.
- Кузьмина В. В. Общие закономерности мембранного пищеварения у рыб и его адаптивные перестройки: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. 1986.
- Кузьмина В. В. Регуляторные свойства ферментов, обеспечивающих процессы мембранного пищеварения у рыб//Журн. общ. биологии. 1987. Т. 48, № 6.
- Кузьмина В. В. Биоценотические аспекты физиологии питания рыб//Экология. 1990а. № 5.
- Кузьмина В. В. Влияние температуры на уровень общей протеолитической активности пищеварительного тракта у некоторых видов пресноводных костистых рыб//Вопр. ихтиологии. 1990б. Т. 30, вып. 4.
- Кузьмина В. В. Внутривидовая изменчивость гидролитических функций пищеварительной системы на личиночном и мальковом этапах развития рыб//Структура локальной популяции у пресноводных рыб. Рыбинск, 1990в.
- Кузьмина В. В. Характеристики ферментов, осуществляющих мембранное пищеварение у пластиножаберных рыб//Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1990г. Т. 26, № 2.
- Кузьмина В. В. Молекулярные основы эврифагии у рыб//Второй симпозиум по экологической биохимии рыб. Ярославль, 1990д.
- Кузьмина В. В. Активность пищеварительных ферментов слизистой кишечника у различных по экологии костистых рыб Черного моря//Вопр. ихтиологии. 1991а. Т. 32, вып. 2.
- Кузьмина В. В. Особенности эволюции пищеварительно-транспортных функций у рыб//Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1991б. Т. 27, № 2.
- Кузьмина В. В. Холодовые адаптации пищеварительной системы//Биохимические аспекты холодных адаптаций. Харьков, 1991в.
- Кузьмина В. В., Голованова И. Л. Влияние температуры на кинетические характеристики карбогидраз, осуществляющих мембранное пищеварение у рыб//Вопр. ихтиологии. 1983. Т. 23, вып. 1.
- Кузьмина В. В., Голованова И. Л. Влияние характера питания на активность карбогидраз, функционирующих в кишечнике сеголетков щук//Биология внутренних вод. Информ. бюл. Л., 1984а. № 62.
- Кузьмина В. В., Голованова И. Л. Возрастная изменчивость активности карбогидраз кишечника рыб//Биология внутренних вод. Информ. бюл. Л., 1984б. № 64.
- Кузьмина В. В., Голованова И. Л. Внутривидовая изменчивость некоторых физиолого-биохимических характеристик леща в преднерестовый период//Структура локальной популяции у пресноводных рыб. Рыбинск, 1990.
- Кузьмина В. В., Извекова Г. И. Механизм транспорта углеводов в кишечнике пресноводных костистых рыб//Биология внутренних вод. Информ. бюл. Л., 1988. № 79.
- Кузьмина В. В., Кузьмина Е. Г. Уровень общей протеолитической активности у некоторых видов рыб Волжского бассейна//Вопр. ихтиологии. 1990. Т. 30, вып. 1.
- Кузьмина В. В., Кузьмина Е. Г. Характеристика некоторых ферментов пищеварительного тракта стерляди, *Acipenser ruthenus* L.//Вопр. ихтиологии. 1991. Т. 31, вып. 2.
- Кузьмина В. В., Морозова Е. Н. Влияние температуры на активность α -амилазы у пресноводных костистых рыб//Вопр. ихтиологии. 1977. Т. 17, вып. 5 (106).
- Кузьмина В. В., Неваляев А. Н. Влияние концентрации водородных ионов на активность карбогидраз пищеварительного тракта рыб//Вопр. ихтиологии. 1983. Т. 23, вып. 3.
- Кузьмина В. В., Перевозчикова О. Б. Роль экзоферментов в процессах пищеварения рыб//Биология внутренних вод: Информ. бюл. Л., 1989а. № 80.
- Кузьмина В. В., Перевозчикова О. Б. Содержание гексоз и некоторых аминокислот в кормовых объектах рыб//Биология внутренних вод: Информ. бюл. Л., 1989б. № 81.
- Кузьмина В. В., Смирнова Е. Г. Распределение активности ферментов между энтероцитами и отделенным от них апикальным гликокаликсом в различных отделах кишечника рыб (на примере леща)//Биология внутренних вод: Информ. бюл. Л., 1990. № 88.
- Кузьмина В. В., Стрельникова А. П. Активность пищеварительных ферментов в раннем онтогенезе плотвы//Биология внутренних вод: Информ. бюл. Л., 1985а. № 65.
- Кузьмина В. В., Стрельникова А. П. Активность пищеварительных ферментов сига и окуни в раннем онтогенезе//Биология внутренних вод: Информ. бюл. Л., 1985б. № 67.
- Кузьмина В. В., Уголев А. М. Видовые и индивидуальные адаптации гидролитических функций кишечника рыб//Современные проблемы экологии, физиологии и биохимии рыб. Вильнюс, 1988.
- Кузьмина В. В., Егорова В. В., Уголев А. М., Никитина А. А., Гредин В. Г. Мембранные пищеварительные гидролазы энтероцитов у различных видов рыб: Роль мембраны и энзимных белков в формировании видовых адаптаций//Журн. общ. биологии. 1981. Т. 42, № 6.
- Кузьмина В. В., Латов В. К., Пасконова Е. А. Молекулярно-массовые характеристики белковых компонентов некоторых кормовых объектов рыб//Биология внутренних вод: Информ. бюл. Л., 1990. № 88.
- Кузьмина В. В., Лисицкая Н. Б., Половкова С. Н., Силкина Н. И., Баканов А. И. Биохимический состав некоторых кормовых объектов рыб Рыбинского водохранилища//Биология внутренних вод: Информ. бюл. Л., 1979. № 44.
- Кузьмина В. В., Поддубный А. Г., Бескровный Д. Е., Неваляев А. Н. Уровень активности α -амилазы в кишечнике и крови у леща Шекснинского и Рыбинского водохранилищ//Пресноводные гидробионты и их биология. Л., 1983.
- Кузьмина В. В., Помазанская Л. Ф., Забелинский С. А., Пустовой В. К. Жирнокислотный состав слизистой кишечника пресноводных рыб//Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1982. Т. 26, № 6.
- Кузьмина В. В., Помазанская Л. Ф., Забелинский С. А., Пустовой В. К. Особенности жирнокислотного состава слизистой кишечника рыб в летний период//Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1984. Т. 20, № 5.

Кулик В. П., Шалыгина Н. Б. Морфология тонкой кишки//Физиология всасывания. Л., 1977.

Куперман Б. И. Функциональная морфология низших цестод: Онтогенетический и эволюционный аспекты. Л., 1988.

Куперман Б. И., Кузьмина В. В. Ультраструктура кишечного эпителия щуки *Esox lucius L.*//Вопр. ихтиологии. 1984. Т. 24, вып. 3.

Куперман Б. И., Веригина И. А., Кузьмина В. В. Ультраструктура кишечного эпителия налима *Lota lota (L.)*//Вопр. ихтиологии. 1985. Т. 25, вып. 2.

Кушак Р. И. Роль эпителия тонкой кишки в гидролизе пептидов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Рига, 1967.

Кушак Р. И. Топография глицил-L-лейцилдипептидазной активности в тонкой кишке птиц и рыб разного возраста//Тез. докл. 5-го науч. совещ. по эволюц. физиологии памяти акад. Л. А. Орбели. Л., 1968.

Кушак Р. И. Гидролиз глицил-L-лейцина в тонкой кишке карпов//Физиологически активные компоненты питания животных. Рига. 1969.

Кушак Р. И. Пищеварительно-транспортная система энтероцитов. Рига, 1983.

Кушак Р. И., Озол А. Я., Чахава О. В. Влияние микрофлоры на пищеварительную функцию тонкой кишки: Исследования на обычных и безмикробных морских свинках//Химические и физиологические проблемы создания и использования синтетической пищи: Углеводное питание. Рига, 1975.

Лалин В. И., Чернова Е. Г. О методике экстракции жира из сырых тканей рыб//Вопр. ихтиологии. 1970. Т. 10, вып. 4 (63).

Лизосомы. Методы исследования. М., 1980.

Лубянский В. Н., Янкявичус К. К., Тряпшене О. П., Рачунас Л. А. Роль микроорганизмов пищеварительного тракта в питании прудовых рыб. 13: Видовой состав и численность микроорганизмов пищеварительного тракта карпа при искусственном питании//Тр. АН ЛитССР. Сер. В. 1976. № 1 (73).

Лубянский В. Н., Янкявичус К. К., Тряпшене О. П., Заблецкис Ю. И. Роль микроорганизмов пищеварительного тракта в питании прудовых рыб. 20: Микрофлора пищеварительного тракта голодающих рыб//Тр. АН ЛитССР. Сер. С. 1978. № 1 (81).

Лубянский В. Н., Янкявичус К. К., Тряпшене О. П., Заблецкис Ю. И. Роль микроорганизмов пищеварительного тракта в питании прудовых рыб. 25: Количество, видовой состав, специфичность и физиолого-биохимическая деятельность микрофлоры пищеварительного тракта зимовавших карасей//Тр. АН ЛитССР. Сер. В. 1980. № 3 (91).

Лубянский В. Н., Ястюгинене Р. Н., Лясаускаене Л. Б., Юзоленене В. Ю. Биосинтетическая активность бактерий пищеварительного тракта карпа//Тез. докл. V съезда Всесоюз. гидробиол. об-ва. Ч. 1. Тольятти, 15—19 сентября 1986. Тольятти, 1986.

Лубянский В. Н., Вербикас Ю., Янкявичус К. К., Лясаускаене Л., Грибаускаене В., Тряпшене О., Юзолинене Ю., Ястюгинене Р., Бабянкас М., Янкаускаене Р. Облигатный симбиоз микрофлоры пищеварительного тракта и организма. Вильнюс, 1989.

Лясаускаене Л. Б. Экзопротеазная активность микроорганизмов пищеварительного тракта карпа при различном характере питания//Тр. АН ЛитССР. Сер. В. 1984. № 1 (85).

Ляхов С. М., Мордухай-Болтовской Ф. Д. Современное состояние бентоса волжских водохранилищ//Тез. II конф. по изуч. водоемов бассейна Волги. Борок, 1974.

Маларевская А. Я., Биргер Т. И. Биохимический состав производителей, икры и личинок тарани и леща//Влияние качества производителей на потомство у рыб. Киев, 1965.

Маргла З. Жирные кислоты фосфолипидов сарколеммы и мембран саркоплазматического ретикулума скелетных мышц кролика и речных раков//Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1975. Т. 11, № 3.

Марголин Г. М. Влияние низких температур на переваривающую силу пищеварительных ферментов зеркального карпа//Тр. Воронеж. отд-ния Всесоюз. НИИ рыб. хоз-ва. 1940. Т. 3, вып. 2.

Мезина В. В., Студенцова Н. А., Складов В. Я., Проскураков М. Т. Влияние уровня белка и жира в корме на активность пищеварительных ферментов личи-

нок канального сома//Тез. докл. V Всесоюз. конф. по экол. физиологии и биохимии рыб. Киев, 1982. Ч. 3.

Метельский С. Т., Рошина Г. М., Уголев А. М. Температурные зависимости сопряженного транспорта натрия и глюкозы: Новая модель//Докл. АН СССР. 1983. Т. 273, № 3.

Мечников И. И. О внутриклеточном пищеварении у кишечнорастворимых//Академ. собр. соч. М., 1954. Т. 5.

Морозов И. А., Лысков Ю. А., Питран Б. В., Хвеля С. И. Всасывание и секреция в тонкой кишке: Субмикроскопические аспекты. М., 1988.

Мосолов В. В. Протеолитические ферменты. М., 1971.

Наточин Ю. В. Водно-солевой гомеостаз: Эволюция и экология. Сыктывкар, 1982.

Нейфах А. А., Давидов Е. Р. Отсутствие ядерного контроля над увеличением активности катепсина в раннем эмбриональном развитии//Биохимия. 1964. Т. 29, вып. 2.

Немова Н. Н., Зекина Л. М. Изменение активности катепсина Д в яичниках радужной форели *Salmo gairdneri* и сига *Coregonus lavaretus* в процессе их созревания//Сравнительные аспекты биохимии рыб и некоторых других животных. Петрозаводск, 1981а.

Немова Н. Н., Зекина Л. М. Изменение активности катепсина В и Д в эмбриональном развитии радужной форели//Сравнительные аспекты биохимии рыб и некоторых других животных. Петрозаводск, 1981б.

Немова Н. Н., Сидоров В. С. Лизосомальные протеиназы в эмбриогенезе лосося *Salmo salar*//Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1984. Т. 20, № 6.

Немова Н. Н., Зекина Л. М., Мигаловский И. П., Сорокин В. П. Катепсины В и Д в икре сига в эмбриогенезе//Сравнительная биохимия водных животных. Петрозаводск, 1983.

Немова Н. Н., Григорьева Л. И., Мосолов В. В., Клявьярйен Е. И., Зелинский Ю. П. Кальций-активируемые нейтральные протеиназы в эмбриогенезе пресноводного лосося//Тез. докл. второго симп. по экол. биохимии рыб. Ростов Великий, декабрь 1990 г. Ярославль, 1990а.

Немова Н. Н., Сидоров В. С., Крупнова М. Ю., Богдан В. В., Смирнов Л. П., Лукьяненко В. В., Васильев А. С. Активность внутриклеточных протеиназ и фракционный состав водорастворимых белков в мышцах осетра в норме и при расслоении//Физиолого-биохимический статус волго-каспийских осетровых в норме и при расслоении мышечной ткани (кумулятивный политокикоз). Рыбинск, 1990б.

Несмеянов А. Н., Беликов В. М. Проблема синтеза пищи//IX Менделеевский съезд по общей и прикладной химии. М., 1965.

Никольский Г. В. Частная ихтиология М., 1954.

Никольский Г. В. Об изменчивости организмов//Зоол. журн. 1955. Т. 34, вып. 4.

Никольский Г. В. О причинах флюктуации численности у рыб//Вопр. ихтиологии. 1961. Т. 1, вып. 4 (21).

Никольский Г. В. Экология рыб. М., 1963.

Никольский Г. В. Теория динамики стада рыб. М., 1974.

Никольский Н. Н., Трошин А. С. Транспорт сахаров через клеточные мембраны. Л., 1973.

Номенклатура ферментов. М., 1979.

Озол А. Я. Энтеральное усвоение углеводов. Рига, 1984.

Остапеня А. П. Биомасса и способы ее выражения//Методы определения продукции водных животных. Минск, 1968.

Остроумова И. Н., Деметьева М. А. О начале функционирования поджелудочной железы в пищеварительном процессе личинок карпа *Surgipus caprio (L.)*//Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1981. Т. 17, № 3.

Павлов И. П. (1897) Лекции о работе пищеварительных желез//Поли. собр. соч. М.; Л., 1951. Т. 2, кн. 2.

Пегель В. А. Физиология пищеварения рыб. Томск, 1950.

Пегель В. А. Эколого-физиологические особенности пищеварения у рыб//Экологическая физиология рыб М., 1973.

Пегель В. А., Антипин А. С. Влияние температуры, сезона и питания на амилитическую активность кишечника пресноводных рыб//Морфо-физиологические

и биохимические механизмы адаптации животных к факторам среды. Краснодар, 1972.

Пегель В. А., Реморов В. А. Сравнительная характеристика амилолитической активности желудочно-кишечного тракта хищных и мирных рыб//Биохимические, фармакологические и токсикологические аспекты исследования адаптации. Новосибирск, 1967.

Пегель В. А., Реморов В. А., Антипин А. С., Новак В. А. К вопросу о пристеночном и полостном пищеварении в кишечнике разных видов пресноводных рыб//Тез. докл. V науч. совещ., по эволюц. физиологии, высш. памяти акад. Л. А. Орбели. Л., 1968.

Пегель В. А., Реморов В. А., Антипин А. С., Новак В. А. Исследование пристеночного и полостного пищеварения в кишечнике разных видов пресноводных рыб//Науч. докл. высш. школы: Биол. науки. 1971. Т. 94, № 10.

Плисецкая Э. М. Гормональная регуляция углеводного обмена у низших позвоночных. Л., 1975.

Плисецкая Э. М., Желудкова З. П. Влияние адреналина на амилазную активность печени и мышц миноги (*Lampetra fluviatilis* L.)//Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1973. Т. 9, № 5.

Плотников Г. К. Активность пищеварительных ферментов у осетровых рыб на разных стадиях онтогенеза//Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Краснодар, 1984.

Плотников Г. К., Проскуряков М. Т. Пищеварительные ферменты осетровых рыб на ранних стадиях онтогенеза//Журн. эволюц. биологии и физиологии. 1984. Т. 20, № 1.

Поддубный А. Г. Экологическая топография популяций рыб в водохранилищах. Л., 1971.

Покровский А. А. Роль биохимии в развитии науки о питании: Некоторые закономерности ассимиляции пищевых веществ на уровне клетки и целостного организма. М., 1974.

Покровский А. А., Тутельян В. А. Лизосомы. М., 1976.

Полторак О. М. Адсорбционное моделирование биомембран и ферментативных комплексов//Журн. физ. химии. 1967. Т. 41, вып. 10.

Поляков Г. Д. О приспособительном значении изменчивости веса сеголетков карпа//Зоол. журн. 1958. Т. 37, вып. 3.

Поляков Г. Д. Приспособительные изменения размерно-весовой структуры одно-возрастной популяции рыб в связи с условиями питания//Вопр. ихтиологии. 1960. Вып. 16.

Поляков Г. Д. Приспособительное значение изменчивости признаков и свойств популяции рыб//Тр. совещ. по динамике численности рыб. М., 1961.

Поляков Г. Д. Приспособительная взаимосвязь изменчивости популяции рыб с условиями питания//Тр. Ин-та морфологии животных им. Северцова, 1962. Вып. 42.

Помазанская Л. Ф., Чирковская Е. В., Правдина Н. И., Круглова Э. Э., Чеботарева М. А., Крепс Е. М. Фосфолипиды в мозгу рыб и представителей других классов позвоночных (сравнительно-биохимическое исследование)//Физиология и биохимия морских и пресноводных животных. Л., 1979.

Пучков Н. В. Физиология рыб. М., 1954.

Пятницкий Н. П. Об изменчивости пепсина лососевых//Докл. VI Всесоюз. съезда физиологов. Тбилиси, 1937.

Разенок И. П. Качество питания и функции организма. М., 1946.

Расс Т. С. Жизнь животных. М., 1971. Т. 4, ч. I.

Рахимов К. Р., Демидова А. И. Углеводы и механизмы их усвоения. Ташкент, 1986.

Ржавская Ф. М. Жиры рыб и морских млекопитающих. М., 1976.

Рощина Г. М. Особенности всасывания углеводов у некоторых видов костистых рыб//Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1981. Т. 17, № 1.

Рутковский В. И. Температурный режим Рыбинского водохранилища//Тр. Ин-та биол. внутр. вод АН СССР. Л., 1963. Вып. 5 (8).

Световидов А. Н. Рыбы Черного моря. М., Л., 1964.

Скляр Я. П., Яремко Е. Е. Особенности ультрастроения кутикулы эпителиальных клеток слизистой оболочки тонкого кишечника собаки, крысы и человека//Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1968. Т. 65, № 1.

Смирнова Л. Ф. О некоторых особенностях всасывания аминокислот у костистых рыб//Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1981. Т. 17, № 1.

Смирнов В. К., Уголев А. М. Космическая гастроэнтерология: Трофологические очерки. М., 1981.

Сорвачев К. Ф. Основы биохимии питания рыб (эколого-биохимические аспекты). М., 1982.

Стрельникова А. П., Володин В. М. Особенности роста и питания молоди леща на речных и эстуарных нерестилищах//Структура локальной популяции у пресноводных рыб. Рыбинск, 1990.

Строганов Н. С. Экологическая физиология рыб. М., 1962.

Строганов Н. С., Бузинова Н. С. Активность ферментов пищеварительного тракта белого амура. Сообщение I: Амилаза и липаза//Вестн. МГУ. Сер. 16, Биология. 1969. № 3.

Строганов Н. С., Бузинова Н. С. Сезонные и возрастные изменения обеспеченности амура и толстолобика пищеварительными ферментами//Вестн. МГУ. Сер. Биология. 1970. № 5.

Суворова Е. Г., Трещук Л. И. Морфология и гистохимия желудочно-кишечного тракта белого байкальского хариуса *Thymallus arcticus baicalensis* Dyb.//Вопр. ихтиологии. 1973. Т. 13, вып. 3 (80).

Тахтаджян А. Л. Происхождение и расселение цветковых растений. Л., 1970.

Тимейко В. Н. Изменение активности кислых и щелочных протеиназ и α -амилазы в развивающейся икре и у предличинок трески//Экологическая физиология и биохимия рыб. Астрахань, 1979. Т. 2.

Тимейко В. Н. Изменение активности кислых протеиназ в зародыше и желтке икринки семги в процессе эмбрионально-личиночного развития//Экологическая физиология и биохимия рыб. Севастополь, 1982. Т. 3.

Титарева А. Е., Ильина И. Д. Сравнительное исследование радужной форели и форели Дональдсона по биохимическим признакам//Первый симпозиум по экол. биохимии рыб. Ярославль, 1987.

Трофимова Л. Н. Динамика общей протеолитической активности на протяжении пищеварительного тракта у карпа и ее зависимость от температуры инкубации//Труды ВНИИПРХ. М., 1974. Т. 23.

Трофимова Л. Н., Щербина Т. В., Щербина М. А. Активность пищеварительных ферментов карпа при различном уровне белка в рационах и ее изменение при смене рационов//Тр. ВНИИПРХ. М., 1975. Т. 24.

Туляганова Е. Х. Материалы по регулированию мембранного пищеварения (на примере щелочной фосфатазы): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1972.

Турпаев Т. М. К вопросу о приспособлении пищеварительной системы рыб к роду пищи//Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1941. Т. 12, вып. 1—2.

Уголев А. М. О существовании пристеночного (контактного) пищеварения//Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1960. Т. 49, вып. 1.

Уголев А. М. Пищеварение и его приспособительная эволюция. М., 1961.

Уголев А. М. Пристеночное (контактное) пищеварение. М.; Л., 1963.

Уголев А. М. Физиология и патология пристеночного (контактного) пищеварения. Л., 1967.

Уголев А. М. Мембранное пищеварение: Полисубстратные процессы, организация и регуляция. Л., 1972.

Уголев А. М. Структурная и функциональная интеграция процессов мембранного гидролиза и транспорта (гипотеза „пермеома“)//Физиол. журн. СССР. 1977. Т. 63.

Уголев А. М. Энтеринная (кишечная гормональная) система: Трофологические очерки. Л., 1978.

Уголев А. М. Трофология — новая междисциплинарная наука//Вестн. АН СССР. 1980. № 1.

Уголев А. М. Гипотеза о возможности эволюции и специализации функций на основе рекомбинации и транспозиции элементарных функциональных блоков//Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1982. Т. 18, № 1.

- Уголев А. М.** Функциональная эволюция и гипотеза функциональных блоков// Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1983. Т. 19.
- Уголев А. М.** Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций. Л., 1985.
- Уголев А. М.** Естественные технологии биологических систем. Л., 1987.
- Уголев А. М.** Трофология и система наук о биосфере//Научное и социальное значение деятельности В. И. Вернадского. Л., 1989.
- Уголев А. М.** Концепция универсальных функциональных блоков и дальнейшее развитие учений о биосфере, экосистемах и биологических адаптациях//Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1990. Т. 26, № 4.
- (Уголев А. М., Иезуитова Н. Н.) Ugolev A. M., Iezuitova N. N.** Membrane digestion and modern conception of food assimilation//Word Rev. Nutr. Diet. 1982. Vol. 40.
- Уголев А. М., Колтушкина Г. Г.** Мембранное пищеварение и ферментный аппарат ворсинки//Структура и функции биологических мембран. М., 1975.
- Уголев А. М., Кузьмина В. В.** Видовые и индивидуальные адаптации гидролитических функций кишечника рыб//Современные проблемы экологической физиологии и биохимии рыб. Вильнюс, 1988.
- Уголев А. М., Цветкова В. А.** Индуцированный аутолиз как важный механизм начальных стадий пищеварения в естественных условиях//Физиол. журн. 1984. Т. 70, № 11.
- Уголев А. М., Иезуитова Н. Н., Тимофеева Н. М., Черняховская М. Ю.** О возможной ферментативной специализации различных отделов тонкой кишки (распределение инвертазной, пептидазной и липолитической активности вдоль тонкой кишки крыс//Докл. АН СССР. 1968. Т. 183, № 1.
- Уголев А. М., Тимофеева Н. М., Иезуитова Н. Н., Домбровская М. П., Рахимов К. Р.** Влияние некоторых стрессорных факторов на пищеварительные функции кишечного эпителия//Докл. АН СССР. 1969. Т. 188, № 2.
- Уголев А. М., Иезуитова Н. Н., Тимофеева Н. М., Черняховская М. Ю.** Закономерности нормального распределения пищеварительных ферментов вдоль тонкой кишки млекопитающих//Nahrung. 1970. Jg. 14. N. 6.
- Уголев А. М., Иезуитова Н. Н., Тимофеева Н. М.** Физиология мембранного (пристеночного) пищеварения//Физиология пищеварения. Л., 1974. (Руководство по физиологии).
- Уголев А. М., Гредин В. Г., Груздков А. А., (Р.) De Laey, Егорова В. В., Иезуитова Н. Н., Колтушкина Г. Г., Тимофеева Н. М., Туляганова Е. Х., Цветкова В. А., Черняховская М. Ю., Щербаков Г. Г.** Интеграция и организация полисубстратных процессов как актуальная проблема гастроэнтерологии//Терапевт. арх. 1975а. Т. 47, № 2.
- (Уголев А. М., Груздков А. А., Де Лей П., Егорова В. В., Иезуитова Н. Н., Колтушкина Г. Г., Тимофеева Н. М., Туляганова Е. Х., Черняховская М. Ю., Цветкова В. А., Щербаков Г. Г.) Ugolev A. M., Gruzdkov A. A., De Laey P., Egorova V. V., Iezuitova N. N., Koltushkina G. G., Timofeeva N. M., Tulyaganova E. Kh., Chernyakhovskaya M. Yu., Tsvetkova V. A., Shcherbakov G. G.** Substrate interaction on the intestinal mucosa: a concept for the regulation of intestinal digestion//Brit. J. Nutr. 1975b. Vol. 34.
- Уголев А. М., Гельман А. Г., Гредин В. Г., Гурман Э. Г., Егорова В. В., Иезуитова Н. Н., Нехамкин Б. Л., Тимофеева Н. М., Щербаков Г. Г.** Некоторые характеристики ферментов, осуществляющих мембранное пищеварение у рыб//Экологическая физиология рыб. Киев. 1976а. Ч. 2.
- Уголев А. М., Гурман Э. Г., Колтушкина Г. Г.** Влияние состояния глюкозной транспортной системы на некоторые кинетические характеристики мембранных карбогидраз (γ -амилазы и инвертазы) слизистой тонкой кишки//Докл. АН СССР. 1976б. Т. 231, № 6.
- Уголев А. М., Тимофеева Н. М., Иезуитова Н. Н., Груздков А. А., Лесогор В. М.** Функциональная топография ферментативных и транспортных процессов в тонкой кишке//Физиология всасывания. Л., 1977а. (Руководство по физиологии).
- (Уголев А. М., Тимофеева Н. М., Смирнова Л. Ф., Де Лей П., Груздков А. А., Иезуитова Н. Н., Митюшова Н. М., Рощина Г. М., Гурман Э. Г., Гусев В. М., Цветкова В. А., Щербаков Г. Г.) Ugolev A. M., Timofeeva N. M., Smirnova L. F., De Laey P., Gruzdkov A. A., Iezuitova N. N., Mityushova N. M., Roshchina G. M., Gurman E. G., Gusev V. M., Tsvetkova V. A., Scherbakov G. G.** Membrane and intracellular hydrolysis of peptides: differentiation, role and interrelationship with transport//Peptide transport and hydrolysis. Ciba Found. Symp. Amsterdam, 1977б.
- Уголев А. М., Паршков Е. М., Егорова В. В., Иезуитова Н. Н., Митюшова Н. М., Смирнова Л. Ф., Тимофеева Н. М., Цветкова В. А.** Распределение адсорбированных и собственно кишечных ферментов между клетками слизистой тонкой кишки и отделенным от нее апикальным гликокаликсом//Докл. АН СССР. 1978. Т. 241, № 2.
- (Уголев А. М., Егорова В. В., Иезуитова Н. Н., Митюшова Н. М.) Ugolev A. M., Egorova V. V., Iezuitova N. N., Mityushova N. M.** Die regulatorischen Eigenschaften der Darmenzyme hoherer und niederer Tiere als Adaptations mechanismus der Verdauung und der Resorption//Die Nahrung. 1979. Bd. 23.
- Уголев А. М., Кузьмина В. В., Егорова В. В., Груздков А. А.** Мембранные пищеварительные гидролазы у различных видов рыб: Свойства ферментов и фермент-мембранных комплексов в связи с температурными адаптациями организма//Журн. общ. биологии. 1981. Т. 42, № 6.
- (Уголев А. М., Егорова В. В., Кузьмина В. В., Груздков А. А.) Ugolev A. M., Egorova V. V., Kuz'mina V. V., Gruzdkov A. A.** Comparative molecular characterization of membrane digestion in fish and mammals//Comp. Biochem., Physiol. 1983а. В. Vol. 6, N 3.
- Уголев А. М., Иезуитова Н. Н., Цветкова В. А.** Эволюционная физиология пищеварения//Эволюционная физиология. Л., 1983б. Ч. 2. (Руководство по физиологии).
- Уголев А. М., Груздков А. А., Иезуитова Н. Н., Митюшова Н. М., Тимофеева Н. М., Цветкова В. А.** Ферментные адаптации как интегративные системные реакции//Мембранный гидролиз и транспорт: Новые данные и гипотезы Л., 1986.
- Уголев А. М., Кузьмина В. В., Рощина Г. М., Смирнова Л. Ф., Голованова И. Л., Груздков А. А.** Характеристика мембранного гидролиза и транспорта у рыб//Известия АН СССР. Сер. биол. 1989. № 3.
- Уголев А. М., Кузьмина В. В., Рощина Г. М., Смирнова Л. Ф., Груздков А. А., Неваленный А. Н.** Влияние температуры на мембранный гидролиз и транспорт у рыб//Известия АН СССР. Сер. биол. 1990. № 1.
- (Ушаков Б. П.) Ushakov B. P.** Thermostability of cells and proteins in poikilotherms//Physiol. Rev. 1964. Vol. 44.
- Ушаков Б. П.** Эволюционное значение температурных адаптаций животных//Успехи соврем. биологии. 1982. Т. 93, вып. 2.
- Ушаков В. Б.** Естественный отбор, температура среды и теплоустойчивость клеток животных//Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1974. Т. 10, № 1.
- Ухтомский А. А.** (1941). Очерки по физиологии нервной системы//Собр. соч. Л., 1954. Т. 4.
- Физиология всасывания. Л., 1977** (Руководство по физиологии).
- Физиология пищеварения. Л., 1974** (Руководство по физиологии).
- Филатов В. И.** Потребление, усвоение и использование зоопланктона в процессе роста и обмена молодью карпа, *Cyprinus carpio* L.: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1974.
- Хаблюк В. В.** Очистка и свойства пищеварительных ферментов из гепатопанкреаса карпа: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Краснодар, 1984.
- Хаблюк В. В., Проскураков Т. М.** Особенности пищеварительных ферментов карпа. М., 1983. Рукопись деп. в ВИНТИ. № 1774—83 Деп. 1983. № 9.
- Хаблюк В. В., Проскураков М. Т.** Пищеварительные ферменты карпа и особенности их физико-химических свойств//Современные проблемы экологической физиологии и биохимии рыб. Вильнюс, 1988.
- Халилов Ф. Х.** К морфологии кишечника рыб//Биол. основы рыби. хозяйства на водоемах Средней Азии и Казахстана. Алма-Ата, 1966.
- Халилов Ф. Х.** Материалы по морфологии и гистологии пищеварительной системы костистых рыб. Алма-Ата, 1969.
- Халилов Ф. Х., Инюшин В. М.** Гистологические исследования активности щелочной фосфатазы в кишечнике лия при всасывании жиров//Изв. АН КазССР. Сер. биол. 1964. Вып. 5.

- Хюттер Т., Егорова В. В., Никитина А. А., Вершинина Е. А., Кузнецов В. В., Кузьмина В. В., Щербаков Г. Г., Уголев А. М.** Роль гидрофобной части мембраносвязанных ферментов (аминопептидазы и щелочной фосфатазы) в их функционировании//Изв. АН СССР. 1982. № 1.
- Хюттер Г. Ю., Егорова В. В., Никитина А. А.** Регуляторные свойства некоторых ферментов, осуществляющих мембранное пищеварение в тонкой кишке//Мембранный гидролиз и транспорт: Новые данные и гипотезы Л., 1986.
- Чахава О. В., Горская Е. М., Рубан С. З.** Микробиологические и иммунологические основы гнотобиологии М., 1982.
- Чепик Л.** Деятельность пищеварительных ферментов карпа в различные сезоны года//Изв. АН ЛатССР. 1964. № 5.
- Чукаловская Р. Н.** Гистология рыб. Л., 1971.
- Шамардина И. П.** Этапы развития щуки//Работы по этапности развития костистых рыб. М., 1957. Вып. 16.
- Шатуновский М. Н.** Экологические закономерности обмена веществ морских рыб. М., 1980.
- Шивокене Я. С.** Активность амилолитических и протеолитических ферментов микрофлоры, химуса, слизистой пищеварительного тракта и пищи 2-леток карпа при кормлении комбикормом//Тр. АН ЛитССР. Сер. В. 1984. № 1/85.
- Шлыгин Г. К.** Приспособительность железистого аппарата кишечника к роду пищи//Проблемы биохимической адаптации М., 1966.
- Шмальгаузен О. И.** Развитие пищеварительной системы осетровых//Морфологические исследования развития рыб. М., 1968.
- Шноль С. Э.** Физико-химические факторы биологической эволюции М., 1979.
- Шульман Г. Е., Юнева Т. В.** Роль докозагексаеновой кислоты в адаптациях рыб (обзор)//Гидробиол. журн. 1990. Т. 26, № 4.
- Щербаков Г. Г.** Сравнительно-физиологические исследования пристеночного (мембранного) пищеварения у кур, рыб и млекопитающих: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1969.
- Щербина М. А.** Физиологические основы кормления рыб//Современные вопросы экологической физиологии рыб. М., 1979.
- Щербина М. А.** Физиологические закономерности пищеварения у рыб в связи с морфологическими особенностями пищеварительного тракта и экологическими условиями (на примере *Surgilus carpio* L. и *Salmo irideus* Gibb.): Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 1980.
- Элер А. А.** Некоторые данные о влиянии введенного инсулина на γ -амилазную, мальтазную и глицил-L-лейцилдипептидазную активность в пищеварительном тракте карпа//Механизмы регуляции функций организма при экстремальных воздействиях. Томск, 1981.
- Элер А. А., Пегель В. А.** Некоторые данные о влиянии инсулина на активность собственно кишечных ферментов рыб//Экологическая физиология и биохимия рыб. Астрахань. 1979.
- Яблоков А. В.** Популяционная биология. М., 1987.
- Яковлев В. А.** Ферментативная кинетика//Ферменты. М., 1964.
- Ackman R. G., Eaton C. A., Bligh E. G., Lantz A. W.** Freshwater fish oils yields and composition of oils from reduction of sheep-shead, tullibee, maria, and alewife//J. Fish. Res. Board Canada, 1967. Vol. 24, N 6.
- Alexander R. Mc. N.** Mechanics of the feeding action of various teleost fishes//J. Zool. 1970. Vol. 162, N 2.
- Al-Hussaini A. H.** Alkaline phosphatase in fish gut//Nature. 1948. Vol. 161, N 4080.
- Al-Hussaini A. H.** On the functional morphology of the alimentary tract of some fish in relation to differences in their feeding habits: Anatomy and histology//Quart. J. Microscop. Sci. 1949a. Vol. 90.
- Al-Hussaini A. H.** On the functional morphology of the alimentary tract of some fish in relation to differences in their feeding habits: Cytology and physiology//Quart. J. Microscop. Sci. 1949b. Vol. 90.
- Al-Hussaini A. H., Kholly A. A.** On the functional morphology of the alimentary tract of some omnivorous teleost fish//Proc. Egypt. Acad. Sci. 1953. Vol. 4.
- Alliot E.** Absorption intestinale de l'N-acetyl-glucosamine chez la petite Rousette//C. r. Soc. biol. 1967. T. 161, N 4.
- Alliot E., Febre A., Métailler R.** Les protéases digestives chez un téléostéen carnivore *Dicentrus labrax*//Ann. biol. anim., biochim., biophys. 1974. Vol. 14.
- Andrew W.** Text book of comparative histology. New York, 1959.
- Ash R.** The hydrolysis of dipeptides by mucosa from different regions of the alimentary tract of the Brown Trout (*Salmo trutta*)//Proc. Nutr. Soc. 1979. Vol. 38, N 1A.
- Ash R.** Hydrolytic capacity of the trout (*Salmo gairdneri*) intestinal mucosa with respect to three specific dipeptides//Comp. Biochem., Physiol. B. 1980. Vol. 65, N 1.
- Banwell J. G.** Aspects of bacterial enterotoxins other than cholera on intestinal permeability//Pharmacology of intestinal permeation. Vol. 2. Berlin etc., 1984.
- (Barcroft J. K.) Баркрофт Дж. К.** Основные черты архитектуры физиологических функций. М.; Л., 1937.
- (Barnard E.) Барнард Е.** Пищеварение//Сравнительная физиология животных М. 1977а. Т. 1.
- (Barnard E.) Барнард Е.** Сравнительная биохимия пищеварительных ферментов//Сравнительная физиология животных. М. 1977б. Т. 1.
- (Barnard E.) Барнард Е.** Биохимическая адаптация к пище//Сравнительная физиология животных. М. 1977с. Т. 1.
- Barrington E. J. W.** The alimentary canal and digestion//The Physiology of Fishes. New York, 1957. Vol. 1.
- Barrington E. J. W., Dockray G. J.** Cholecystokinin-pancreozyminlike activity in the eel (*Anguilla anguilla* L.)//Gen., Comp. Endocrinol. 1972. Vol. 19.
- Bayliss L. E.** Digestion in the plaice//J. Mar. Biol. Assoc. U. K. 1935. Vol. 20.
- Benajiba A., Maroux S.** Purification and characterization of aminopeptidase from hog intestinal brush border membrane//Europ. J. Biochem. 1980. Vol. 107, N 2.
- Benmouna H., Jaspard-Versali M. F., Toussaint C., Jeuniaux Ch.** A comparative study of chitinase activity in digestive tract of *Serranus cabrilla* and *Serranus scriba*//Biochem. Syst. and Ecol. 1986. Vol. 14, N 4.
- Bergot P., Fleshon E.** Forme et voie d'absorption intestinale des acides gras a chains longue chez la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdnerii* Rich.). I: Lipides en particules//Ann. biol. anim., biochem., biophys. 1970a. Vol. 10, N 3.
- Bergot P., Fleshon E.** Forme et voie d'absorption intestinale des acides gras a chains longue chez la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdnerii* Rich.). II: Lipides „etalés“//Ann. biol. anim., biochem., biophys. 1970b. Vol. 10, N 3.
- (Bernal J.) Бернал Дж.** Возникновение жизни. М., 1969.
- Bishop C., Odense P. H.** Morphology of the digestive tract of the cod, *Gadus morhua*//J. Fish. Res. Board Canada. 1966. Vol. 23, N 10.
- Bjennig C., Holmgren S.** Neuropeptides in the fish gut. An immunohistochemical study of evolutionary patterns//Histochemie. 1988. Vol. 88, N 2.
- Bode W., Hubner H.** Crystal structures of pancreatic serine endopeptidases//Molecular and Cellular Basis of Digestion. Amsterdam, 1986.
- Bonete M. J., Manjon A., Lorca F., Iborra J. L.** Acid proteinase activity in fish. II: Purification and characterization of cathepsins B and D from *Mugil aurathus* muscle//Comp. Biochem., Physiol. B. 1984. Vol. 78, N 1.
- Bose K. C., Mishra K. P.** Alkaline phosphatase activity in the alimentary tract and its associated digestive glands of a stream fish//Garro. lamta (Ham.) Rev. Brasil. biol. 1977. Vol. 37, N 4.
- Brasitus T. A., Schachter D., Mamounaacs T. G.** Functional interactions of lipids and proteins in rat intestinal microvillus membranes//Biochemistry. 1979. Vol. 18, N 19.
- Brasitus T. A., Tall A. K., Schachter D.** Thermotropic transitions in rat intestinal plasma membranes studied by differential scanning calorimetry and fluorescence polarization//Biochemistry. 1980. Vol. 19.
- Bretscher A., Weber K.** Localization of actin and microfilament-associated proteins in the microvilli and terminal web of the intestinal brush border by immunofluorescence microscopy//J. Cell Biol. 1978. Vol. 79, N 4.
- Brockerhoff H.** Digestion of fat by cod//J. Fish. Res. Board Canada. 1966. Vol. 23, N 12.
- Brockerhoff H.** Intestinal digestion of fats//J. Biol. Chem. 1971. Vol. 246.

- Brown A. L.** Microvilli of the human jejunal epithelial cell.//*J. Cell Biol.* 1962. Vol. 12, N 3.
- Brunner J., Hauser H., Semenza G.** Single bilayer lipid-protein vesicles formed from phosphatidylcholine and small intestinal sucrase-isomaltase//*J. Biol. Chem.* 1978. Vol. 253.
- Brunner J., Hauser H., Braun H., Wilson K. J., Wacker H., O'Neil B., Semenza G.** The mode of association of the enzyme complex sucrase-isomaltase with the intestinal brush border membrane//*J. Biol. Chem.* 1979. Vol. 254, N 6.
- Buclon M., Jond J., Peres G.** Effect de la temperature sur l'absorption intestinale du glycofolle chez la Tanche (*Tinca tinca L.*)//*J. Physiol. (France)*. 1963. T. 55.
- Buddington R. K.** Digestive secretions of lake sturgeon, *Acipenser fulvescens*, during early development//*J. Fish Biol.* 1985. Vol. 22, N 6.
- Buddington R. K., Diamond J. M.** Pyloric ceca of fish: a „new“ absorptive organ//*J. Physiol.* 1987. Vol. 252, N 1, pt. 1.
- Bullock W. L.** Intestinal histology of some salmonid fishes with particular reference to the histopathology of acanthocephalon infections//*J. Morphol.* 1963. Vol. 112, N 1.
- Carlinsky N. J., Huang K. C.** Glucose transport by the intestinal mucosa of the dog-fish//*Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 1962. Vol. 109.
- Caspary W. F., Lembcke B., Elsenhans B.** Bacterial fermentation of carbohydrates within the gastrointestinal tract//*Clin. Res. Rev.* 1981. Vol. 1, suppl. 1.
- Chakravorty P., Sinha G.** Detection and lokalization of alkaline and acid phosphatases in the digestive system of the adult *Catla catla* (Hamilton), an Indian freshwater major carp by histochemical methods//*Indian J. Fish. B.* 1982. Vol. 128, N 5.
- Chang K.-J., Killian A., Hazum E., Cuatrecasas P., Chang J.-K.** Morphiceptin ($\text{NH}_4\text{-Tyr-Pro-Phe-Pro-CONH}_2$): a potent and specific agonist for morphine receptors//*Science*. 1981. Vol. 212, N 1.
- Chesley L. C.** The concentrations of proteases, amylase and lipase in certain marine fishes//*Biol. Bull. (Woods Hole. Mass.)*. 1934. Vol. 66.
- Chiu Y. N., Benitez L. V.** Studies on the carbohydrases in the digestive tract of the milkfish *Chanos chanos*//*Mar. Biol.* 1981. Vol. 61, N 2—3.
- Colbeau A., Maroux S.** Integration of alkaline phosphatase in the intestinal brush-border membrane//*Biochim., biophys. acta.* 1978. Vol. 511, N 1.
- Colin D. A.** Relations entre la nature de l'alimentation et l'importance de l'activité chitinolytique du tube digestif de quelques téléostéens marins//*C. r. Soc. biol.* 1972. T. 166, N 1.
- Colin D. A., Pérès G.** Étude comparée des systèmes enzymatiques chitinolytiques du tube digestif de quelques téléostéens marins//*Ann. Inst. M. Pacha.* 1971. N 1.
- Connel A. M.** Dietary fiber//*Physiology of the gastrointestinal tract.* New York, 1981. Vol. 2.
- (Cook G. M. W.) Кук Дж.** Методы анализа углеводов мембран//*Биохимическое исследование мембран.* М., 1979.
- Corder R., Rees L. H.** Endorphins and enkephalins//*Cut hormones.* Edinburgh etc., 1981.
- Cordier D., Chanel J.** L'absorption intestinale du glucose chez la Rascasse (*Scorpaena porcus L.*). Influence de l'asphyxie sur la vitesse de l'absorption//*J. physiol. (France)*. 1951. T. 43.
- Cordier D., Maurice A., Chanel J.** Influence de la temperature sur l'absorption intestinale des oses chez la Tanche (*Tinca vulgaris*)//*C. r. Soc. biol.* 1954. T. 148, N 15.
- Corring T.** The adaptation of digestive enzymes to the diet its physiological significance//*Reprod. Nutr. Develop.* 1980. Vol. 20 (4B).
- Coudrier E., Reggio H., Louvard D.** Immunolocalization of the 110 000 molecular weight cytoskeletal protein of intestinal microvilli//*J. Mol. Biol.* 1981. Vol. 152.
- Creach P. V.** Les enzymes protéolitiques des poissons//*Ann. Nutr. Aliment. A.* 1963. T. 17.
- Croston C. B.** Tryptic enzymes of chinook salmon//*Arch. Biochem., Biophys.* 1960. Vol. 89.
- Croston C. B.** Endopeptidases of salmon ceca: Chromatographic separation and some properties//*Arch. Biochem., Biophys.* 1965. Vol. 112.
- Cummings J. H.** Dietary fibre//*Gut.* 1973. Vol. 14.
- Dabrowski K.** Proteolytic enzyme activity decline in starving fish alevins and larvae//*Euv. Biol. Fish.* 1982. Vol. 7, N 1.
- Dabrowski K., Glogowski J.** Studies on the proteolytic enzymes of invertebrates constituting fish food//*Hydrobiologia.* 1977a. Vol. 52.
- Dabrowski K., Glogowski J.** The role of exogenous proteolytic enzyme in digestion processes in fish//*Hydrobiologia.* 1977b. Vol. 54.
- Dalela R. C., Verma S. R., Tyagi M. P.** Histochemical mapping of certain enzymes in few fresh-water teleosts. I: Acid phosphatase//*Ztschr. mikrosk.-anat. Forsch.* 1976. Bd 90, N 2.
- Danulat E., Kausch H.** Chitinase activity in the digestive tract of the cod, *Gadus morhua*//*J. Fish Biol.* 1984. Vol. 24, N 2.
- Dawes B.** The Histology of the alimentary tract of the plaice (*Pleuronectes platessa*)//*Quart. J. Microscop. Sci.* 1929. Vol. 73.
- (Dean R. T.) Дин Р. Т.** Процессы распада в клетке. М., 1981.
- De Duve C.** General properties of lysosomes//*Lysosomes; Ciba Foundation Symp.* London, 1963.
- De Duve C.** Tissue fractionation: Past and present//*J. Cell Biol.* 1971. Vol. 50.
- Desnuelle P.** Intestinal and renal aminopeptidases: a model of a transmembrane protein//*Europ. J. Biochem.* 1979. Vol. 101.
- (Dixon M., Webb E. C.) Диксон М., Уэбб Э.** Ферменты. М., 1982a. Т. 1.
- (Dixon M., Webb E. C.) Диксон М., Уэбб Э.** Ферменты. М., 1982b. Т. 2.
- (Dixon M., Webb E. C.) Диксон М., Уэбб Э.** Ферменты. М., 1982c. Т. 3.
- Dutta T., Dasgupta S.** The comparative activity of acid and alkaline phosphatase in some metabolically active tissues of *Tilapia mossambica* (Peters)//*Ceobios.* 1982. Vol. 9, N 5—6.
- Fraisse M., Woo N. Y. S., Noailac-Depeyre J., Murat J. C.** Distribution pattern of digestive enzyme activities in the intestine of the catfish (*Ameiurus nebulosus L.*) and of the carp (*Cyprinus carpio L.*)//*Comp. Biochem., Physiol. A.* 1981. Vol. 70, N 3.
- Escoubet P., Boge L., Rigal A.** Comparaison de l'absorption intestinale du glucose chez la truite (*Salmo gairdnerii R.*) a differentes temperatures//*Ann. Inst. M. Pacha.* 1973. N 6.
- Establier R., Gutiérrez M.** Actividad proteolitica del estómago, intestino y ciegos pilóricos del boquerón (*Engraulis encrasicolus L.*)//*Informes técn. Inst. invest. pesq.* 1978. N 60.
- Evans R. E., Ford P.** Alkaline phosphatase isosyme patterns and histochemistry in adult and differentiating skate spiral valve//*Canad. J. Zool.* 1976. Vol. 54, N 9.
- Ezeasor D. N., Stokoe W. M.** Light and electron microscopic studies on the absorptive cells of the intestine, caeca and rectum of the adult rainbow trout, *Salmo gairdnerii Rich*//*J. Fish. Biol.* 1981. Vol. 18, N 5.
- Fabry P.** Feeding pattern and nutritional adaptations. Praga, 1969.
- Fange R., Grove D.** Digestion//*Fish physiology.* New York etc., 1979. Vol. 8. Bioenergetics and growth.
- Fange R., Lundblad G., Lind J.** Lysozyme and chitinase in blood and Lymphomyeloid tissues of marine fish//*Mar. Biol.* 1976. Vol. 36, N 3.
- Fange R., Lundblad G., Lind J., Slettengren K.** Chitinolytic enzymes in the digestive system of marine fishes//*Mar. Biol.* 1979. Vol. 53, N 4.
- Farkas T.** Vergleichende Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung niederer und höherer Krebse//*Ann. biol. Tichany.* 1958. Vol. 25.
- Farkas T.** A possible explanation for the differences in the fatty acid composition of fresh-water and marine fishes//*Ann. biol. Tichany.* 1971. Vol. 38.
- Farkas T., Herodek S.** The effect on environmental temperature on the fatty acids composition of crustacean plancton//*J. Lipid Res.* 1964. Vol. 5, N 3.
- Farmanfarman A., Ross A., Mazal D.** In vivo intestinal absorption of sugar in the toadfish (marine teleost *Opsanus tau*)//*Biol. Bull.* 1972. Vol. 142, N 3.
- Feracci H., Maroux S.** Rabbit intestinal aminopeptidase purification and molecular properties//*Biochim., biophys. acta.* 1980. Vol. 599, N 2.

- Ferguson A.** Immunology//Scientific basis of gastroenterology. Edinburgh etc., 1979.
- Ferguson A., Murray D.** Quantitation of intraepithelial lymphocytes in human jejunum//Gut. 1971. Vol. 12.
- Ferraris R. P., Ahearn G. A.** Sugar and amino acids transport in fish intestine//Comp. Biochem., Physiol. A. 1984. Vol. 77, N 3.
- Ferraris R. P., Tan J. D., De La Cruz M. C.** Development of the digestive tract of milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal): histology and histochemistry//Aquaculture. 1987. Vol. 61, N 3—4.
- (Fersht E.) Фершт Э.** Структура и механизм действия ферментов. М., 1980.
- Fick A., Murisier.** Über das Magenferment Kaltblütiger Tiere//Würlz. Verh. Physiol. Med. Ges. N. F. 1873. Bd 4.
- Fish G. R.** The comparative activity of some digestive enzymes in the alimentary canal of Tilapia and Perch//Hydrobiologia. 1960. Vol. 15, N 1—2.
- Folch J., Ascoli J., Less M., Meath J. A., Baron F. N.** Preparation of lipid extracts from brain tissue//J. Biol. Chem. 1951. Vol. 191, N 2.
- (Folsome C. E.) Фолсом К.** Происхождение жизни. М., 1982.
- Fouchereau-Peron M., Laburthe M., Besson J., Rosselin G., Gal Y. L.** Characterization of the vasoactive intestinal polypeptide (VIP) in the gut of fishes//Comp. Biochem., Physiol. A. 1980. Vol. 65, N 4.
- Frank G., Brunner H., Hauser H., Wacker H., Semenza G., Zuber H.** The hydrophobic anchor of small intestinal sucrase-isomaltase-N-terminal sequence of the isomaltase subunit//FEBS Lett. 1978. Vol. 96, N 1.
- Freter R.** Interactions between mechanisms controlling the intestinal microflora//Amer. J. Clin. Nutr. 1974. Vol. 27.
- Gas N., Noaillac-Depeyre J.** Renouveau de l'épithélium intestinal de la carpe (*Cyprinus carpio* L.). Influence de la saison//C. R. Acad. Sc. Paris Sec. D. 1974. T. 279.
- Gauthier G. F., Landis S. C.** The relationship of ultrastructural and cytochemical features to absorptive activity in the goldfish intestine//Anat Rec. 1972. Vol. 172.
- Geisdoerfer P.** Morphologie et histologie de l'appareil digestif des Macrouridae (Teleostens). II: Histologie de l'appareil digestif//Cytol. Ztschr. Ser. 1981. T. 5 (4).
- Giraund A. S., Yeomans N. D.** Cell Types of the Gastric Mucosa of a Teleost, the River Blackfish, *Gadopsis marmoratus*//Austral. J. Mar. and Freshwater. Res. 1982. Vol. 33, N 6.
- Gitzelmann R., Bächli Th., Binz H., Semenza G.** Localization of rabbit intestinal sucrase with ferritin-antibody conjugates//Biochim., biophys. acta. 1970. Vol. 196, N 1.
- Goel K. A.** Histochemical study of the acid and alkaline phosphatase and lipase in the gastro-intestinal tract of *Cirrhinus mrigala*//Acta histochem. 1975. Vol. 54, N 1.
- Goel K. A.** Activity of alkaline phosphatase in the digestive system of *Channa gachua* ad *Heteropneustes fossilis* under toxication with allyl alcohol — a histochemical study//Zool. Jahrb. 1977. Bd 97, N 1.
- Goel K. A., Sastry K. V.** Distribution of alkaline phosphatase in the digestive system of a few teleost fishes//Acta histochem. 1973. Vol. 47, N 1.
- Gohar H. A., Latif A. F. A.** Morphological studies on the gut of some scarid and labrid fishes//Publ. Mar. Biol. Stat., Al-Ghardaga (Red Sea). 1959. N 10.
- Gohar H. A., Latif A. F. A.** The histology of the alimentary tract in representative scarid and labrid fishes//Publ. Mar. Biol. Stat., Al-Ghardaga (from Red Sea). 1961a. N 11.
- Gohar H. A., Latif A. F. A.** The carbohydrases of some scarid and labrid fishes//Publ. Mar. Biol. Stat., Al-Ghardaga. 1961b. N 11.
- Gohar H. A., Latif A. F. A.** Gut lipase of some scarid and labrid fishes//Publ. Mar. Biol. Stat., Al-Ghardaga. (from Red Sea). 1961c. N 11.
- Gohar H. A., Latif A. F. A.** Digestive proteolytic enzymes of some scarid and labrid fishes//Publ. Mar. Biol. Stat., Al-Ghardaga (from the Red Sea). 1963. N 12.
- Goodrich T. D., Morita R. Y.** Incidence and estimation of chitinase activity-associated with marine fish and other estuarine samples//Mar. Biol. 1977. Vol. 41, N 4.
- Gray G.** Carbohydrate absorption and malabsorption//Physiology of the gastrointestinal tract. New York, 1981.
- Gruger E. H., Nelson R. W., Stansby M. E.** Fatty acid composition of oils from 21 species of marine fish, freshwater fish and shellfish//J. Amer. Oil. Chem. Soc. 1964. Vol. 41, N 10.
- Haenel H.** Human nutritional needs with special reference to balance between protein, carbohydrate, fat and vitamins at different levels of food supply//Workshop on food and nutrition. Budapest, 1979.
- Haenel H.** Human nutrition: safety and risk//Nahrung. 1980. Jg. 24.
- Hain J., Fisher E., Stein E. A.** Alpha-amylases as calcium-metalloenzymes. II: Calcium and catalytic activity//Biochemistry. 1964. Vol. 3, N 1.
- (Ham A. W., Cormak D. H.) Хэм А., Кормак Д.** Гистология. М. 1982. Т. 1.
- Handbook of physiology.** Sect. 6. Alimentary canal. Wash. Amer. Physiol. Soc. Washington, 1968. Vol. 3. Intestinal absorption.
- Hatfield E. E.** Selected topics related to the amino acid nutrition of the growing ruminant//Federation. Proc. 1970. Vol. 29.
- Hazel J. R.** The incorporation of unsaturated fatty acids of he n-9, n-6, and n-3 families into individual phospholipids by isolated hepatocytes of thermally-acclimated rainbow trout, *Salmo gairdneri*//J. Exp. Zool. 1983. Vol. 227, N 2.
- Hazel R., Prosser C. L.** Molecular mechanisms of temperature compensation in poikilotherms//Physiol. Rev. 1974. Vol. 54, N 3.
- Hazum E., Sabatka J. J., Chang K.-J., Brent D. A., Findlay J. W. A., Cuatrecasas P.** Morphine in cow and human milk: could dietary morphine constitute a ligand for specific morphine (μ) receptors?//Science. 1981. Vol. 213, N 4511.
- Herrera L., Jordana R.** The effect of temperature and absence of sodium on the oxygen uptake, water and d-galactose transfer by the intestinal sacs of fish *Gobius paganellus* L.//Rev. exp. Physiol. 1973. Vol. 29, N 1.
- Hirji K. N., Courtney W. A. M.** Leucine aminopeptidase activity in the digestive tract of perch, *Perca fluviatilis* L.//J. Fish Biol. 1982. Vol. 21, N 6.
- Hochachka P. W., Somero G. N.** Biochemical adaptation to the environment//Fish Physiology. New York; London, 1971. Vol. 6.
- Hochachka P. W., Somero G. N.** Strategies of biochemical adaptation. Philadelphia etc., 1973.
- (Hochachka P. W., Somero G. N.) Хочачка П., Сомеро Дж.** Биохимическая адаптация. М., 1988.
- Hofer R.** The adaptation of digestive enzymes to temperature, season and diet in roach, *Rutilus rutilus* L. and rudd, *Scardinius erythrophthalmus* L. I. Amylase//J. Fish Biol. 1979. Vol. 14, N 6.
- Hofer R.** Protein digestion and proteolytic activity in the digestive tract of an omnivorous cyprinid//Comp. Biochem., Physiol. A. 1982. Vol. 72, N 1.
- Hofer R., Schiemer F.** Proteolytic activity in the digestive tract of several species of fish with different feeding habits//Oecologia. 1981. Vol. 48, N 3.
- Holdsworth C. D., Sladen G. E.** Absorption from stomach and small intestine//Scientific basis of gastroenterology. Edinburgh etc. 1979.
- Hopfer U.** Membrane transport mechanism for hexoses and amino acids//Physiology of gastrointestinal tract. New York; 1987. Vol. 2.
- Hoppe-Seyley F.** Über Unterschiede im chemischen Bau der Verdauung höherer und niedriger Tiere//Pflügers Arch. 1877. Bd 14.
- Huebner E., Chee G.** Histological and ultrastructural specialisation of the digestive tract of the intestinal air breather *Hoplosternum thoracatum* (Teleost)//J. Morphol. 1978. Vol. 157, N 3.
- Hutny J., Ugorski M.** Kinetics of hog pancreas α -amylase. Development of the multiple attack model//Arch. Biochem., Biophys. 1981. Vol. 206 N 1.
- Hütter H. J., Gravinghoff L., Böhme L.** Alaninaminopeptidase menschlicher Dünndarm-Schleimhaut-Reinigung und Eigenschaften//Z. med. labor. Diagn. 1980. Bd 21.
- Ikeda A.** Embryological and histochemical studies on the development of the digestive system in a teleost *Oryzias latipes*//Hiroshima J. med. Sci. 1959. Vol. 8.

- Immunology of the gut.** Amsterdam etc.; 1977. (CIBA Found. Symp. 46. In memory of the late Josep Hermans).
- Ishida J.** Distribution of the enzymes in the digestive system of stomachless fishes//Annot. Zool. Japan. 1936. Vol. 15.
- Isselbacher K. J.** The intestinal cell surface: properties of normal, undifferentiated and malignant cells//Harvey Lectures. 1974. Vol. 69.
- Ito S.** Structure and function of the glycocalyx//Feder. Proc. 1969. Vol. 28, N 1.
- Iwai T.** Notes on the pear-shaped cell (rodlet-cell) in the epithelium of the digestive tract of fishes//Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1968. Vol. 34.
- Iwai T.** Fine structure of gut epithelial cells of larval and juvenile carp during absorption of fat and protein//Arch. histol. Jap. 1969. Vol. 30.
- Jacob F., Monod J.** On the regulation of gene activity//Cold spring Harbor Symp. Quant. Biol. 1961. Vol. 26.
- Jančařík A.** Příspěvek k fisiologii Kaři digesce//Traveni lílkovin. Sborník vysoké školy zemědělské v Brně CSR. Sing D. 1949. Bd 41.
- Jančařík A.** Die Verdauung der Hauptnährstoffe beim Karpfen//Z. Fish. 1964. Bd 12, N 8—10.
- Jansson B. O., Olsson R.** The cytology of the caecal epithelial cells of perca//Acta Zool. Stockholm. 1960. Vol. 41, N 3.
- Jany K.-D.** Studies on the digestive enzymes of the stomachless bonefish *Carasius auratus pibelio* (Bloch): Endopeptidases//Comp. biochem., Physiol. B. 1976. Vol. 53, N 1.
- Jara Z., Olech W., Wita B.** Localization of alkaline and acid phosphatase activity in the intestine of heartily breams (*Abramis brama* L.) and those infected with plerocercoid of tapeworm *Ligula intestinalis* (Linne, 1758)//Acta histochem. 1977. Vol. 58, N 2.
- Jennings J. B.** Feeding digestion and assimilation in animals. London; Washington, 1972.
- Jeuniaux Ch.** Quelques considérations sur la place des poissons dans les cycles biogéochimiques, a la lumière de la connaissance de leur arsenal enzymatique digestif//Ann. Soc. roy. zool. Belg. 1983. T. 113, N 1.
- Johnston P. V., Roots B. I.** Brain lipids fatty acids and temperature acclimation//Comp. Biochem., Physiol. B. 1964. Vol. 11, N 3.
- Jónás E., Rágyanszki M., Olaw J., Boross L.** Proteolytic digestive enzymes of carnivorous (*Silurus glanis* L.), herbivorous (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) and omnivorous (*Cyprinus carpio* L.) fishes//Aquaculture. 1983. Vol. 30, N 1—4.
- Kaczmarek M. J., Rozenmund H.** The action of human pancreatic and salivary isoamylases on starch and glycogen//Clin. Chem. Acta. 1977. Vol. 99, N 1.
- Kaláč I.** Studies on herring (*Clupea harengus* L.) and capelin (*Mallotus villosus* L.). Pyloric caeca proteases: partial purification, separation and identification of proteases//Biologia. 1978. Vol. 33, N 6.
- Kamei Y., Sakata T., Kakimoto D.** Microflora in the alimentary tract of Tilapia: characterization and distribution of anaerobic bacteria//J. Gen. and Appl. Microbiol. 1985. Vol. 31, N 2.
- Kapoor B. G., Smit H., Verighina I. A.** The alimentary canal and digestion in teleosts//Advances in marine biology. New York, 1975. Vol. 13.
- Kashiwada K.** Seasonal variations on proteolytic enzyme activity of Skipjack tuna digestive tracts have been observed//Bul. Jap. Soc. Sci. Fish. 1952. Vol. 1, N 8.
- Kawai S., Ikeda S.** Studies on digestive enzymes of fishes. I: Carbohydrases in digestive organs of several fishes//Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1971. Vol. 37.
- Kayanja F. J., Maloiy G. M. O., Reite O. B.** The fine structure of the intestinal epithelium of Tilapia grahami//Anat. Anz. 1975. Vol. 138.
- Kelly J. J., Alpers D. H.** Properties of human intestinal glucoamylase//Biochim., biophys. acta. 1973. Vol. 315, N 1.
- Kemp P., Smith M. W.** Effect of temperature acclimatization on the fatty acid composition of goldfish intestinal lipids//Biochem. J. 1970. Vol. 117, N 1.
- Kenyon W. A.** Digestive enzymes in poikilothermal vertebrates. An investigation of enzymes in fishes, with comparative studies on those of amphibians, reptiles, and mammals//Bulletin of the United States Bureau of Fisheries. Washington, 1925. Vol. 41.
- Khanna S. S., Mehrotra B. K.** Morphology and histology of the teleostean intestine//Anat. Anz. 1971. Bd 129.
- Kimura N.** Fine structure of pear-shaped cells and „vesicle-rich cells“ in pyloric caeca of rainbow trout//Jap. J. Ichthyol. 1973. Vol. 20.
- Kitamikado M., Tachino S.** Digestive enzymes of rainbow trout. I: Carbohydrases//Chem. Abstr. 1961. Vol. 55.
- Kitchin S. F., Morris D.** The effect of acclimation temperature on amino-acid transport in the goldfish intestine//Comp. Biochem., Physiol. A. 1971. Vol. 40, N 2.
- Kluh J.** Hog pancreatic α -amylase preparation and characterization//Cooct. Czechosl. Chem. Commun. 1979. Vol. 44, N 1.
- Knauthe K.** Des Süßwasser. Neudamm, 1907.
- Konagaya S.** Protease activity and autolysis of Antarctic Krill//Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1980. Vol. 46, N 2.
- Kono M., Matsui T., Shimizu Ch.** Chitin-decomposing bacteria in digestive tracts of cultured red sea bream and Japanese eel//Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1987. Vol. 53, N 2.
- Koshland D. E. J.** Application of a theory of enzyme specificity to protein synthesis//Proc. Nat. Acad. Sci USA. 1958. Vol. 44, N 2.
- Koshland D. E. J.** The molecular basis for enzyme regulation//The enzymes. Structure and control. New York, London, 1970. Vol. 1.
- Koshland D. E. J., Neet K. E.** The catalytic and regulatory properties of enzymes//Ann. Rev. Biochem. 1968. Vol. 37.
- (Kotyk A., Japaček K.) Kotyk A., Яначек К.** Мембранный транспорт: Междисциплинарный подход. М., 1980.
- Krements A. B., Chapman G. B.** Ultrastructure of the posterior half of the intestine of the Catfish, *Ictalurus punctatus*//J. Morphol. 1975. Vol. 145, N 4.
- Larsson L.-I.** Radioimmunochemical characterization of ACTH-like peptides in the antropyloric mucosa//Life Sci. 1979. Vol. 25.
- Lauff M., Hofer R.** Proteolytic enzymes in fish development and the importance of dietary enzymes//Aquaculture. 1984. Vol. 37, N 4.
- Leger G., Fremont L., Bergot P., Flanzky J.** Quelques recherches sur la digestion l'absorption, le transport et le stockage des lipides chez le poisson. Interet d'une biochimie comparee des lipides//Méd. et nutr. 1979. T. 15.
- Lésel R., Péringer P.** Influence of temperature on the bacterial microflora in *Salmo gairdneri* Richardson//Arch. Hydrobiol. 1981. Vol. 93, N 1.
- Levin R. J.** Fundamental concepts of structure and function of the intestinal epithelium//Scientific basis of gastroenterology. Edinburgh etc. 1979.
- Lie Q., Lambertsen G.** Digestive lipolytic enzymes in cod (*Gadus morhua*): fatty acid specificity//Comp. Biochem., Physiol. B. 1985. Vol. 80, N 3.
- Lindsay G. J. H.** Distribution and function of digestive tract chitinolytic enzymes in fish//J. Fish Biol. 1984. Vol. 24, N 5.
- Lindsay G. J. H.** Development of gastric chitinase activity in rainbow trout (*Salmo gairdneri*)//Aquaculture. 1985. Vol. 48, N 3—4.
- Lindsay G. J. H.** Seasonal activities of chitinase and chitobiase in the digestive tract and serum of cod, *Gadus morhua* (L.)//J. Fish Biol. 1987. Vol. 30, N 4.
- Lindsay G. J. H., Gooday G. W.** Chitinolytic enzymes and the bacterial microflora in the digestive tract of cod, *Gadus morhua*//J. Fish Biol. 1985. Vol. 26, N 3.
- Ling E. A., Tan C. K.** Fine structure of the gastric epithelium of the coral, *Chelmon rostratus* Cuvier//Okajimas Fol. Anal. Jpn. 1975. Vol. 51.
- Linss W.** Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Oesophagus des Hechtes (*Esox lucius* L.). III: Die Feinstruktur der Becherzellen//Anatom. Anz. 1969a. Vol. 125.
- Linss W.** Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Oesophagus des Hechtes (*Esox lucius* L.). III: Die Feinstruktur der indifferenten Zellen des Epithels//Anatom. Anz. 1969b. Vol. 125.
- Lorentz K.** Properties of humal alpha-amylases from urine, pancreas, and saliva//Enzyme. 1982. Vol. 28, N 64.
- Louvard D., Maroux S., Desnuelle P.** Topological studies on the hydrolases bound to the intestinal brush-border membrane. 2: Interactions of free and bound ami-

- nopeptidase with a specific antibody//*Biochim., biophys. acta.* 1975a. Vol. 389, N 2.
- Louvard D., Maroux S., Vannier Ch., Desnuelle P.** Topological studies on the hydrolases bound to the intestinal brush membrane. I: Solubilization by papain and triton X-100//*Biochim., biophys. acta.* 1975b. Vol. 375, N 1.
- Louvard D., Semeriva M., Maroux S.** The brush-border intestinal aminopeptidase, a transmembrane protein as probed by macromolecular photolabelling//*J. Molecular Biol.* 1976. Vol. 106.
- Love R. M.** Chemical biology of fishes. New York; London, 1970.
- Loyter A., Schramm M.** Multimolecular complexes of α -amylases with glycogen limit dextrin: number of binding sites of the enzyme and size of the complexes//*J. Biol. Chem.* 1966. Vol. 241, N 11.
- Luchau E.** Vorläufige Mitteilung über die Magenverdauung einiger Fische//*Ztbl. f. d. med. Wiss.* 1877. N 28.
- Madden T. D., Quinn P. J.** Arrhenius discontinuities of Ca^{2+} -ATP-ase activity are unrelated to changes in membrane lipid fluidity of sarcoplasmic reticulum//*FFBS Lett.* 1979. Vol. 107, N 1.
- Makinodan J., Tojohara H., Ikeda S.** Comparison on muscle proteinase activity among fish species//*Comp. Biochem., Physiol.* 1984. B. Vol. 79, N 2.
- Maroux S., Louvard D.** On the hydrophobic part of aminopeptidase and maltases which bind the enzyme to the intestinal brush-border membrane//*Biochim., biophys. acta.* 1976. Vol. 419, N 1.
- Maroux S., Louvard D., Desnuelle P.** The intestinal brush-border aminopeptidase (β -naphthylamidase) as model of enzyme bound to the surface of a membrane//*Proc. of the 10-th FEBS Meeting.* 1975.
- Maroux S., Louvard D., Semeriva M., Desnuelle P.** Hydrolases bound to the intestinal brush border: an example of transmembrane protein//*Ann. Biol. anim. Biochem. Biophys.* 1979. Vol. 19, N 4.
- McDonald I. W.** Ruminant digestion//*Nutr Abstr. Rev.* 1968. Vol. 38.
- McGeachin R. L., Debman J. W.** Amylase in freshwater fish//*Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med.* 1960. Vol. 103.
- McVay J. A., Kaan H. W.** The digestive tract of *Carassius auratus*//*Biol. Bull. Woods Hall.* 1940. Vol. 78, N 1.
- Medeiros L. O., Ferri S., Godinho H., Medeiros L. F.** Proteins and polysaccharides of the club-shaped cells in the lining epithelium of fish (*Pimelodus maculatus*) digestive tract: histochemical study//*Annales d'Histochemie.* 1970a. Vol. 15.
- Medeiros L. O., Ferri S., Longhi L., Worsmann T. U.** Histochemical study of protein in epithelial tissue of the digestive tract of *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803//*Acta histochem.* 1970b. Vol. 15.
- Meiseer M. H., Gumicio D. L.** Pancreatic amylase, molecular genetics and evolution//*Molecular and cellular basis of digestion. Amsterdam etc.,* 1986.
- Merret T. G., Bar-Eli E., Van Vunakis H.** Pepsinogens A, C and D from the smooth dogfish//*Biochemistry.* 1969. Vol. 8.
- Mester R., Seripcariu D., Mester L.** The distribution of some enzymes in the mucosa of the intestinal tract from loach *Misgurnus fossilis* L.//*Rev. Roumaine Zool.* 1972. Vol. 17.
- Mester L., Seripcariu D., Mester R.** L'activité de quelques enzymes de la muqueuse intestinale chez *Gobius cephalargus* et *Gobius melanostomus* en fonction de la salinité//*Rev roum biol. Sér biol. anim.,* 1977. T. 22, N 2.
- Mitchell L. G., Nickum J. G., Long M. T.** Histochemical Localization of Some Digestive Enzymes in Larval Walleyes//*Progr. Fish-Cult.* 1986. Vol. 48, N 4.
- Moog F.** Enzyme development in relation to functional differentiation//*Biochem. Animal. Develop.* 1965. Vol. 1, N 4.
- Moog F., Etzler M. E., Gray R. D.** The differentiation of alkaline phosphatase in the small intestine//*Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1969. Vol. 166.
- Monod J., Wyman J., Changeux J. P.** On the nature of allosteric transitions: A possible model//*J. Molec. Biol.* 1965. Vol. 12, N 1.
- Mooseker M. S., Tilney L. G.** The organization of an actin filament membrane-complex: filament polarity and membrane attachment in the microvilli of intestinal epithelial cells//*J. Cell. Biol.* 1975. Vol. 67.
- Morisawa M., Hirano T.** Effects of L-phenylalanin on alkaline phosphatase activity in the eel intestine//*Comp. Biochem., Physiol.* 1978. B. Vol. 59, N 2.
- Morishita T., Noda H., Kitamikado M., Takahashi T., Tachino S.** On the activity of the digestive enzymes in cultured fish//*J. Fac. Fish. Pref. Univ. Mie-Tsu.* 1964. Vol. 6.
- Murthy R. C., Saxena P.** Esterase activity in the hepatopancreas of *Macrobrachium lamarreini* (Crustacea Decapoda)//*Experientia.* 1980. Vol. 36, N 3.
- Musacchia X. J., Neff S. S., Westhoff D. D.** Active transport of D-glucose by intestinal segments, in vitro, of *Ictalurus nebulosus*//*Biol. Bull.* 1964. Vol. 126, N 1.
- Musacchia X. J., Westhoff D. D., Haaren R. van.** Active transport of d-glucose in intestinal segments, in vitro, of the scup, *Stenotomus versicolor* and the puffer, *Spheroides maculatus*//*Comp. Biochem., Physiol.* 1966. Vol. 17, N 1.
- Nagase G.** Contribution to the physiology of digestive enzymes and the effects of diets on their activity in *Tilapia mossambica*//*Z. vergl. Physiol.* 1964. Bd 49, N 3.
- Nagayama F., Saito J.** Distribution of several hydrolytic enzymes in fish//*EJFAC Techn. Pap.* 1969. N 9.
- Nilsson A.** Secretin-like and cholecystokinin-like activity in *Myxine glutinosa* (L.)//*Acta Regiae Soc. Sci. et litt. gothoburg. Zool.* 1973. N 8.
- Nilsson A., Fänge R.** Digestive proteases in the cyclostome *Myxine glutinosa* (L.)//*Comp. Biochem., Physiol.* 1970. Vol. 32.
- Nishi Y., Takesue Y.** Electron microscope studies on Triton-solubilized sucrase from rabbit small intestine//*J. Ultrastruct. Res.* 1978. Vol. 62.
- Noaillac-Depeyre J., Gas N.** Mise en évidence d'une zone adapté au transport des ions dans l'intestin de la carpe commune (*Cyprinus carpio* L.)//*Compt. rend. Séances Acad. Sci. Paris. A.* 1973. T. 276, N 4.
- Noaillac-Depeyre J., Gas N.** Fat absorption by the enterocytes of the carp (*Cyprinus carpio* L.)//*Cell. Tissue Res.* 1974. Vol. 155, N 3.
- Noaillac-Depeyre J., Gas N.** Electron microscopic study on gut epithelium of the tench (*Tinca tinca* L.) with respect to absorptive functions//*Tissue Cell.* 1976. Vol. 8, N 3.
- Noaillac-Depeyre J., Gas N.** Ultrastructural and cytochemical study of the gastric epithelium in a freshwater teleostean fish (*Perca fluviatilis*)//*Tissue and Cell.* 1978. Vol. 10, N 10.
- Noaillac-Depeyre J., Gas N.** Structure and function of the intestinal epithelial cells in the perch (*Perca fluviatilis* L.)//*Anat. Rec.* 1979. Vol. 195, N 4.
- Noda H.** Studies on various phosphatases of the fishes. III: Changes in the activities of phosphatases during development of rainbow trout, *Salmo irideus*//*J. Fac. Fish. pref. Univ. Mie-Tsu.* 1967a. Vol. 7.
- Noda H.** Studies on various phosphatases of the fishes. IV: Effect of growth upon phosphatases activities of rainbow trout, *Salmo irideus*//*J. fac. Fish. pref. Univ. Mie-Tsu.* 1967b. Vol. 7.
- Novick A., Szilard L.** Experiments with the chemostat of the rates of amino acids synthesis in bacteria//*Dynamics of growth processes.* Princeton, 1954.
- Odense P. H., Bishop C. M.** The ultrastructure of the epithelial border of the ileum, pyloric caeca, and rectum of the cod, *Gadus morhua*//*J. Fish. Res. Board Canada.* 1966. Vol. 23, N 12.
- (Odum E. P.)** **Одум Ю.** Основы экологии. М., 1975.
- Okutani K.** Studies of chitinolytic systems in the digestive tract of *Lateolabrax japonicus*//*Bull. Misaki Mar. Biol. Inst., Kyoto Univ.* No. 1966. Vol. 10.
- Ooshiro Z.** Studies on proteinase in the pyloric caeca of fishes. II: Some properties of proteinases purified from the pyloric caeca of mackerel//*Nippon Suisan Gakkaishi.* 1971. Vol. 37.
- Östberg Y., Boquist L.** Ultrastructural and fluorescence microscopical characterization of the intestinal endocrine cells in a cyclostome, *Myxine glutinosa*//*Acta zool.* 1976. Vol. 57, N 1.
- Ovais M., Gupta S. S.** Histamine content of the digestive tract in a teleostean fish *Heteropneustes fossilis* in relation to spawning//*Curr. Sci. (India).* 1973. Vol. 42, N 11.
- Ovais M., Gupta S. S.** Histamine content of the digestive tract of a catfish *Clarias batrachus* (Linn.)//*Indian J. Physiol. and Pharmacol.* 1975. Vol. 19, N 2.

- Overnell J.** Digestive enzymes of the pyloric caeca and of their associated mesentery in the cod (*Gadus morhua*)//Comp. Biochem., Physiol. 1973. B. Vol. 46, N 4.
- Owen R. L., Jones H. L.** Epithelial cell specialization within Peyer's patches: an ultrastructural study of intestinal lymphoid follicles//Gastroenterology. 1974. Vol. 66.
- Ozaki N.** Some observations on the fine structure of the intestinal epithelium in some marine teleosts//Arch. histologicum japonicum. 1965. Vol. 26.
- Palatroni P., Bondi A. M., Mrrngi G., Gabrielli M. G.** Morphological observations and histochemical localization of carbonic anhydrase in the mucosa of the stomach of *Salmo irideus*//Atti Acad. naz. Lincei. Rend. Cl. sci. fis., mat. e nativ. 1980 (1981). Vol. 69, N 6.
- Patton J. S., Nevenzel J. C., Benson A. A.** Specificity of digestive lipases in hydrolysis of wax esters and triglycerides studied in anchovy and other selected fish//Lipids. 1975. Vol. 10, N 10.
- Payan F., Haser R., Pierrot M., Frey M., Astier J. P.** The three-dimensional structure of α -amylase from porcine pancreas//Acta Cryst. 1980. Vol. 1336, N 2.
- Peptide transport and hydrolysis:** Ciba Found. Symp. 50. Amsterdam, 1977.
- Péres G., Boge G., Colum D., Rigal A.** Effect's de la température sur les processus digestifs des poissons. Activités enzymatiques et absorption intestinale//Rev. trav. Inst. pêches mar. 1973. Vol. 37, N 2.
- Phillips A. M.** Nutrition, digestion and energy utilization//Fish Physiology. New York; London, 1969. Vol. 1.
- Piavaux A.** Intestinal laminarinase of a vertebrate: *Tilapia macrochira* Boulenger (Teleostei, Cichlidae)//Life Sci. 1972. Vol. 11, N 4. Pt 2.
- Pickering A. D., Morris R.** Localization of ion-transport in the intestine of the migrating river lamprey, *Lampetra fluviatilis*//J. Exp. Biol. 1973. Vol. 58, N 1.
- Plantikow H.** Einfluß der Milieutemperatur und des Protein, Fettgehaltes in der Diät auf die Proteaseaktivität in den Pylorushängen der Regenbogenforelle (*Salmo gairdneri* R.)//Wiss. Z. Wilhelm-Pieck-Univ. Rostok. Naturwiss. R., 1982. Bd 31, N 6.
- Plantikow A., Plantikow H.** Alanine aminopeptidase (AAP) activity in the midgut of rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.): the influence of feed quantity and quality, temperature and osmolarity//Aquaculture, 1985. Vol. 48, N 3-4.
- Polimanti A.** Untersuchungen über die Topographie der Enzyme im Magendarmrohr der Fische//Bioch. Z. 1912. Bd 38.
- Portmann P., Jörg A., Furrer K., Walker H. S., Leuthard P., Sundan J. F., Perriard F., Comment J. F., Leva G., Nell J. P.** Caly intestinal alkaline phosphatase. I: Improved isolation method and molar composition of the purified phosphatase//Helv. chem. Acta. 1982. Vol. 65, N 8.
- Prahl J. W., Neurath H.** Pancreatic enzymes of the spiny pacific dogfish. I: Cationic chymotrypsinogen and chymotrypsin//Biochemistry. 1966a. Vol. 5.
- Prahl J. W., Neurath H.** Pancreatic enzymes of the spiny pacific dogfish. II: Pro-carboxypeptidases B and carboxypeptidase B//Biochemistry. 1966b. Vol. 5.
- Prakash A.** Differential subseptibility of histochemical localization of alkaline phosphatase activity to pH changes and inhibitor concentrations//Proc. Brit. Col. Acad. Sci. 14 Sci Cont. 1960. N 3.
- Prakash A.** Distribution and differentiation of alkaline phosphatase in the gastro-intestinal tract of steelhead trout//J. exper. Zool. 1961. Vol. 146.
- (Prech G.) Прехт Г.** Обзор экспериментальных данных по адаптивным изменениям устойчивости//Клетка и температура среды. М.; Л., 1964.
- Prejs A., Blaszczyk M.** Relationships between food and cellulase activity in freshwater fishes//J. Fish Biol. 1977. Vol. 11, N 5.
- (Prosser L.) Проссер Л.** Питание//Сравнительная физиология животных. М., 1977. Т. 1.
- (Prosser L., Brown F. A.) Проссер Л., Браун Ф.** Сравнительная физиология животных. М., 1967.
- Purkerson M. L., Jarvis J. U. M., Luse S. A., Dempsey E. W.** Electron microscopy of the intestine of the african lungfish, *Protopterus aethiopicus*//Anat. Rec. 1975. Vol. 182, N 1.
- Rakoczy A. Hecht- und Hyndepesin//Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 1913. Bd 85.**
- Ranuska F. S., Liese E. M., Gray S.** Structural changes in glycceraldenyde-3-phosphate denydrogenase during temperature acclimation of rainbow trout//Proc. Soc. Expt. Biol. Med. 1976. Vol. 152, N 3.
- Rebolledo I. M., Vial J. D.** Fine structure of the oxynticopeptic cell in the gastric glands of an elasmobranch species (*Halaelurus chilensis*)//Anat. Rec. 1979. Vol. 194, N 4.
- Reeck G. R., Winter W. R., Neurath H.** Pancreatic enzymes of the african lungfish, *Protopterus aethiopicus*//Biochemistry. 1970. Vol. 9, N 6.
- Reichenbach-Klinke H. H.** Grundlagen der Verdauung bei Fischen//Munch. Beitr. Abwasser Fisch. Flussbiol. 1972. Bd 23.
- Reimer G.** The influence of diet on the digestive enzymes of the amazon fish matrincha, *Bricon cf. melanopterus*//J. Fish Biol. 1982. Vol. 21, N 6.
- (Ricklefs R. E.) Риклефс Р.** Основы общей экологии. М., 1979.
- Rimmer D. W., Wiebe W. J.** Fermentative microbial digestion in herbivorous fishes//J. Fish Biol. 1987. Vol. 31, N 2.
- Rode B., Frank A., Varičák T.** The distribution of acid and alkaline phosphatase activities in some organs of *Cyprinus carpio* L.//Bull. sci. Council Acad. 1964. Vol. 2, N 6.
- Saleem M., Jafri A. K.** Amino acid inhibition of alkaline phosphatases of the dark and white muscles and liver of two species of freshwater catfishes *Clarias magur* (Linn.) and *Heteropneustes fossilis* (Bloch)//Indian J. Exp. Biol. 1976. Vol. 14 N 3.
- Sarbahi D. S.** Studies of the digestive tracts and the digestive enzymes of the goldfish and largemouth black bass//Biol. Bull. 1951. Vol. 100. N 2.
- Sastry V. K.** Distribution of esterase in the digestive system of two teleost fishes//Acta histochem. 1974a. Bd 48, N 2.
- Sastry V. K.** Histochemica localization of esterase and epipase in the digestive system of two teleost fishes//Acta histochem. 1974b. Bd 51, N 1.
- (Schmidt-Nielsen K.) Шмидт-Нильсен К.** Физиология животных: Приспособление и среда. М., 1982. Т. 1.
- Schmitt A., Siebert G., Bottke J.** Comparative study on dipeptidase activities in fish tissues//Arch. Fish-Wiss. 1966. B. Vol. 17.
- Schmitz E. H., Baker C. D.** Digestive anatomy of the gizzard shad, *Dorosoma cepedianum* and the threadfin shad, *D. petense*//Trans. Amer. Microscop. Soc. 1969. Vol. 88.
- Seiderer L. J., Newell R. S.** Adjustment of the activity of α -amylase extracted from the style of the black mussel *Choromytilus meridionalis* (Krauss) in response to thermal acclimation//Exp. Mar. Biol. and Ecol. 1979. Vol. 39, N 1.
- Sellami-Zribi A., Tritar B., Peres G.** Biologie et physiologie digestive de la dorade (*Sparus aurata* L). Influence de la température sur l'absorption intestinale du glyco-colle//Ann. inst. Pacha. 1981. N 12.
- Semenza G.** A model of anchoring of sucrose-isomaltase to the small intestinal brush border membrane and its biosynthetic implication//Mechanisms of saccharide polymerization and depolymerization. New York, 1980.
- Semenza G.** Intestinal oligo- and disaccharidases//Carbohydrate metabolism and its disorders. London etc., 1981. Vol. 3.
- Sheele G. A.** Two-Dimensional Gel Analysis of soluble Proteins (Characterization of gvinea Pig. Exocrin Pancreatic Proteins//J. Biol. Chem. 1975. Vol. 250, N 14.
- Siankova L.** The surface area of the intestinal mucosa in bream *Abramis brama* (L.)//Studia Societatis Scientiarum Torunensis, Torun//Polonia. Sectio E (Zoologia). 1966. Vol. 8.
- Siddons R. S., Coates M. E.** The influence of the intestinal microflora on disaccharidase activities in the chick//Brit. J. Nutr. 1972. Vol. 27.
- Sivadas P., Covindan P.** Distribution of alkaline phosphatase in the gastro-intestinal tract with reference to absorption of fat in *Tilapia mossambica* (Peters)//J. of Anim. Morphology and Physiology. 1970. Vol. 17.
- Skovbjerg H., Sjöström H., Norén O.** The purification and characterization of amphiphilic lactase/phloricin hydrolase from human small intestine//Eurip. J. Biochem. 1981. Vol. 114.

- Smith L.** Intestinal aminoacid transport in the marine teleost, *Haemulon plumieri*//Comp. Biochem., Physiol. A. 1969. Vol. 30, N 6.
- Smith M. W.** Membrane transport in fish intestine//Comp. Biochem., Physiol. 1983. A. Vol. 75, N 3.
- Smith R. L., Paulson A. C.** Carbonic anhydrase in some coral reef fishes: adaptation to carbonate ingestion//Comp. Biochem., Physiol. A. 1975. Vol. 50, N 1.
- Smyth D. H.** Mechanism of intestinal transfer//J. Clin. Pathol. 1970. Vol. 21, N 1.
- Somero G. N.** Temperature adaptation of enzymes: Biological optimization through structure-function compromises//Annu. Rev. Ecol. Syst. 1978. Vol. 9.
- Spallanzani L.** Expériences sur la digestion de l'homme et de différentes espèces d'animaux. Geneve, 1783.
- Specker J. L.** Preadaptive role of thyroid hormones in larval and juvenile salmon: growth the gut and evolutionary considerations//Amer. Zool. 1988. Vol. 28, N 2.
- Spencer R. P.** Spatial distribution of intestinal activities//Yale J. Biol. Med. 1964. Vol. 36, N 4.
- Srivastava A. K.** Alkaline phosphatase and glycogen in the intestine of certain freshwater teleost//Current Sci. (India). 1966. Vol. 35, N 6.
- Srivastava D. K., Pandey K. C.** Effect of copper on tissue acid and alkaline phosphatases in the green snakehead, *Ophiocephalus punctatus* (Bloch)//Toxicol. Lett. 1982. Vol. 11, N 3—4.
- Squires E. J., Haard N. F., Feltham A. W.** Gastric proteases of the grunland cod *Gadus ogac*. II: Structural properties//Canad. J. Biochem. a., cell. Biol. 1986. Vol. 64, N 3.
- (Stanier R. Y., Adelberg E. A., Ingraham J. L.) Стейниер Р., Эдельберг Э., Ингрэм Дж.** Мир микробов. М., 1979а. Т. 1.
- (Stanier R. Y., Adelberg E. A., Ingraham J. L.) Стейниер Р., Эдельберг Э., Ингрэм Дж.** Мир микробов. М., 1979б. Т. 2.
- (Stanier R. Y., Adelberg E. A., Ingraham J. L.) Стейниер Р., Эдельберг Э., Ингрэм Дж.** Мир микробов. М., 1979с. Т. 3.
- Stanley K. K., Luzio J. P.** The Arrhenius plot behavior of rat liver 5'-nucleotidase in different lipid environments//Biochim., biophys. acta. 1978. Vol. 514, N 1.
- Stickney R. R., Shumway S.** Occurrence of cellulase activity in the stomach of fishes//J. Fish Biol. 1974. Vol. 6.
- Stroband H. W. J.** Growth and diet dependent structural adaptations of the digestive tract in juvenile grasscarp (*Ctenopharyngodon idella*, Val.)//J. Fish Biol. 1977. Vol. 11, N 2.
- Stroband H. W. J., Debets F. M. W.** The ultrastructure and renewal of the intestinal epithelium of the juvenile grasscarp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.)//Cell. Tissue Res. 1978. Vol. 187.
- Suess E.** Die Entstehung der Alpen. Wien, 1875.
- Sugita H., Fukumoto M., Tsunohara M., Deguchi Y.** The fluctuation of the fecal flora of goldfish *Carassius auratus*//Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1987. Vol. 53, N 8.
- Sugita H., Kotashi T., Enomoto A., Yamashita K., Deguti Y.** Microflora of alimentary tract in marine teleosts//Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1981. Vol. 47, N 4.
- Swarup Ch., Goel K. A.** Histochemical study of the activity of lipase in the digestive system of some teleost fishes//Acta histochem. 1975a. Vol. 54, N 1.
- Swarup Ch., Goel K. A.** A comparative histochemical study of the distribution of esterase in the gastro-intestinal tract of some indian teleosts//Acta histochem. 1975b. Vol. 54, N 1.
- Thoma J. A., Spradlin J. E., Dygert S.** Plant and Animal Amylases//The Enzymes. New York; London, 1971. Vol. 5.
- Thomas J. E.** Organ systems in adaptation. The digestive system//Handbook of physiology. Washington, 1964. Sec. 4. Ch. 12.
- Torrissen K. R.** Genetic variation of trypsin-like isozymes correlated to fish size of atlantic salmon (*Salmo salar*)//Aquaculture. 1987. Vol. 62, N 1.
- Trella J., Cecaldi J., Masse N.** Variations des zymogrammes du tube digestif et du muscle chez *Cydonia neritea* en fonction de la température d'acclimation//Biochem. Syst. and Ecol. 1978. Vol. 6, N 4.
- Trowell H. C.** Crude fibre, dietary fibre and atherosclerosis//Atherosclerosis 1972. Vol. 16.
- Trowell H. C.** The development of the concept of dietary fiber in human nutrition//Amer. J. Clin. Nutr. 1978. Vol. 31.
- Ushiyama H., Fugimori T., Schibata T., Yoshimura K.** Studies on carbohydrases in the pyloric caeca of the carbohydrases in the pyloric caeca of the salmon, *Oncorhynchus keta*//Bull. Fac. Fish. Hockaido Univ. 1965. Vol. 16, N 3.
- Utida S.** Effect of sodium chloride on alkaline phosphatase activity in intestinal mucosa of the rainbow trout//Proc. Jap. Acad. 1967. Vol. 43.
- Utida N., Isono Y.** Alkaline phosphatase activity in intestinal mucosa of the eel adaptation to freshwater or sea-water//Proc. Jap. Acad. 1967. Vol. 43.
- Van Wormhoudt A.** Regulation d'activité l' α -amylase a différentes températures d'adaptation et en fonction de l'ablation des pedoncles oculaires et du stade de mue chez *Palaemon serratus*//Biochemical Systematics and Ecology. 1980. Vol. 8, N 2.
- Vigna S. R.** Distinction between cholecystokinin-like and gastrin-like biological, activities extracted from gastrointestinal tissues of some Lower Vertebrates//Gen and Comp. Endocrinol. 1979. Vol. 39, N 4.
- Vonk H. J.** Die Verdauung bei den Fischen//Z. vergl. Physiol. 1927. Vol. 5.
- Vonk H. J.** The specificity and collaboration of digestive enzymes in Metazoa//Biol. Rev. 1937. Vol. 12.
- Vonk H. J.** Comparative physiology nutrition, feeding and digestion//Ann. Rev. Physiol. ed. Hall. 1955. Vol. 17.
- Walker W. A.** Gastrointestinal host defense: importance of gut closure in control of macromolecular transport//Development of mammalian absorptive processes. Ciba Found. Symp. 70. Amsterdam ets., 1979.
- Walsh E. A., Kauffman D., Kumar K. S. V., Neurath H.** On the structure and function of bovine trypsinogen and trypsin//Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1964. Vol. 51, N 2.
- Weinreb E. L., Bilstad N. M.** Histology of the digestive tract and adjacent structures of the Rainbow trout, *Salmo gairdnerii irideus*//Copea. 1955. N 3.
- Western J. R. H.** Studies on the diet, feeding. Mechanism and alimentary tract in two closely related teleosts, the fresh-water *Cottus gobio* L. and the marine *Paranophrys bubalis Eufraem*//Acta. Zool., Stockholm. 1969. Vol. 5.
- Western J. R. H.** Feeding and digestion in two cottid fishes, the freshwater *Cottus gobio* L. and The marine, *Enophrys bubalis* (Eufraem)//J. Fish Biol. 1971. Vol. 3, N 2.
- Western J. R. H., Jennings J. B.** Histochemical demonstration of hydrochloric acid in the gastric tubules of teleosts using an in vivo Prussian blue technique//Comp. Biochem., Physiol. 1970. Vol. 35, N 4.
- Wettendorf R., Dumont A., Dencourt A.** Les iso-enzymes de l'amylase//Acta gastroenterol. belg. 1968. Vol. 31.
- Whitmore D. H., Goldberg E.** Trout intestinal alkaline phosphatases. I: Some physical-chemical characteristics//J. Exp. Zool. 1972. Vol. 182, N 1.
- (Whittaker R.) Уиттекер Р.** Сообщества и экосистемы. М., 1980.
- Wilson T. H.** Intestinal absorption. Philadelphia; London, 1962.
- Wiseman G.** Absorption from the intestine. London; New York, 1964.
- Wodtke E.** Temperature adaptation of biological membranes. The effects of acclimation temperature on the unsaturation of the main neutral and charged phospholipids in mitochondrial membranes of the carp//Biophys., biochimol. acta. 1981. Vol. 640, N 3.
- Wyban J. A.** Soluble Peptidase Isozymes of the Japanese Medaka (*Oryzias latipes*): Tissue Distributions and Substrate Specificities//Biochem. Genet. 1982. Vol. 20, N 9—10.
- Yamamoto T.** An electron microscopic study of the columnar epithelial cell in the intestine of fresh-water teleosts: goldfish (*Salmo irideus*)//Ztschr. Zellforsch. mikroskop. Anat. 1966. Vol. 72.
- Yamamoto H., Kitamikado M.** Purification of fish gastric hyaluronidase//Nippon Suisan Gakkaishi. 1971. Vol. 37.
- Yamane S.** Localization of amylase activity in digestive organs of carp determined by a substrate film method//Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1973a. Vol. 39, N 5.

Yamane S. Localization of amylase activity in the digestive organs of the mos-sambique mouthrooder, *Tilapia mossambica*, and Bluegill, *Lepomis macrochirus* Determined by a starch substrate film method//Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1973b. Vol. 39, N 6.

Yoshimizu M., Kimura T., Sakai M. Study of intestine microflora in Salmonidae. III; Intestine flora of Salmon living in the high seas//Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1976. Vol. 42, N 8.

Yoshinaka R., Sato M., Ikeda S. Participation of collagenase in the digestion of collagen by rainbow trout//Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1978. Vol. 44, N 6.

Yoshinaka R., Sato M., Suzuki T., Ikeda S. Enzymatic characterization of anionic trypsin of the catfish (*Parasilurus asotus*)//Comp. Biochem., Physiol. 1984. B. Vol. 77, N 1.

Young G. P., Yedlin S. T., Algers D. H. Distribution of soluble and membranous forms of alkaline phosphatase in the small intestine of the rat//Biochem., biophys. acta. 1981. Vol. 676, N 2.

Zendzian E., Barnard E. A. Distribution of pancreatic ribonuclease, chymotrypsin, and trypsin in vertebrates//Arch. Biochem. Biophys. 1967. Vol. 122.

Zozzoli A. Alkaline phosphatase in the early development of *Fundulus heteroclitus*//Biol. Bull. 1947. Vol. 93, N 2.

Предисловие	3
Глава 1. Концепции питания гетеротрофных организмов	5
1.1. Античная и классическая парадигмы питания	—
1.2. Теория адекватного питания	7
1.3. Типы питания животных	10
1.4. Трофические цепи и биогеоценозы	12
1.5. Биосфера как трофосфера	14
1.6. Заключительные замечания	16
Глава 2. Современные концепции пищеварения	17
2.1. Характеристика ферментных систем, обеспечивающих деполи- меризацию органических компонентов пищи	—
2.2. Основные механизмы начальных этапов ассимиляции пищи	24
2.2.1. Внеклеточное дистантное пищеварение	25
2.2.2. Внутриклеточное пищеварение	—
2.2.3. Мембранное пищеварение	26
2.2.4. Транспорт нутриентов	30
2.3. Роль индуцированного аутолиза в системе гидролитических процессов, обеспечивающих начальные этапы ассимиляции пищи	32
2.4. Симбионтное пищеварение. Роль бактериальной флоры в гид- ролизе и трансформации пищевых субстратов	35
2.5. Заключительные замечания	37
Глава 3. Структурно-функциональная организация пищеварительного тракта рыб	39
3.1. Структурная и ультраструктурная организация пищевари- тельного тракта	—
3.1.1. Особенности морфологии пищеварительного тракта рыб	—
3.1.2. Влияние характера питания рыб на морфологию пище- варительного тракта	42
3.2. Ультраструктура эпителия пищеварительного тракта	43
3.3. Функциональная топография пищеварительного тракта	50
3.3.1. Протеазы	—
3.3.2. Липазы	52
3.3.3. Карбогидразы	—
3.3.4. Фосфатазы	56
3.4. Заключительные замечания	58
Глава 4. Основные закономерности гидролиза пищевых субстратов в пи- щеварительном тракте рыб	61
4.1. Краткая характеристика пищеварительных гидролаз	—
4.2. Соотношение отдельных механизмов гидролиза нутриентов	67

4.3. Локализация и прочность фиксации ферментов на структурах щеточной каймы энтероцитов	70
4.4. Роль микрофлоры в гидролизе и трансформации пищевых субстратов	75
4.5. Роль механизма индуцированного аутолиза в процессах пищеварения	76
4.6. Заключительные замечания	81
Глава 5. Влияние особенностей биологии рыб на интенсивность процессов пищеварения	82
5.1. Влияние характера питания рыб на активность пищеварительных гидролаз	—
5.1.1. Протеазы	83
5.1.2. Липазы	88
5.1.3. Карбогидразы	89
5.1.4. Фосфатазы	90
5.1.5. Специфические ферменты	92
5.2. Изменение уровня активности ферментов в процессе онтогенеза рыб	94
5.3. Влияние циркадных и сезонных ритмов на активность пищеварительных ферментов	101
5.4. Зависимость активности пищеварительных гидролаз от состояния кормовой базы водоема	107
5.5. Индивидуальная вариабельность активности ферментов в популяциях рыб	112
5.6. Биоценотические аспекты процессов пищеварения	120
5.7. Заключительные замечания	127
Глава 6. Влияние температуры на ферментные системы пищеварительного тракта	132
6.1. Влияние температуры на активность ферментов	—
6.2. Энергия активации ферментов	138
6.3. Термостабильность ферментов	142
6.4. Влияние температуры на кинетические характеристики ферментов	144
6.5. Влияние температуры на жирнокислотный состав липидов слизистой	150
6.6. Заключительные замечания	153
Глава 7. Взаимодействие пищевых веществ в процессе пищеварения	159
7.1. Влияние модификаторов на уровень активности ферментов	160
7.2. Влияние модификаторов на температурную зависимость ферментов	165
7.3. Влияние модификаторов на величину энергии активации ферментов	166
7.4. Влияние отдельных компонентов фермент-мембранных комплексов на регуляторные свойства ферментов	169
7.5. Заключительные замечания	171
Глава 8. Адаптации пищеварительных ферментов	174
8.1. Нутритивные адаптации ферментных систем	—
8.2. Температурные адаптации ферментов	182
8.3. Видовые, индивидуальные и популяционные адаптации	194
8.4. Гомеостатические адаптации	199
8.5. Заключительные замечания	202
Общее заключение	204
Послесловие	209
Список литературы	210

Монография

Уголев Александр Михайлович

Кузьмина Виктория Вадимовна

**Пищеварительные
процессы
и адаптации
у рыб**

Редакторы Л. М. Сметанкина, Н. С. Смирнова. Художник И. П. Кремлев. Художественный редактор Б. А. Бураков. Технический редактор Г. В. Ивкова. Корректор О. В. Андреева. Н/К. Сдано в набор 23.03.93. Подписано в печать 21.07.93. Формат 60×90^{1/16}. Бумага типографская № 1. Гарнитура литературная. Печать высокая. Печ. л. 15. Кр.-отт. 15,12. Уч.-изд. л. 18,17. Тираж 1000 экз. Индекс ГЛ-99. Заказ № 60. Гидрометеонздат. 199397. Санкт-Петербург, ул. Беринга, д. 38

Ордена Трудового Красного Знамени ГП «Техническая книга» типография № 8 Мининформпечати РФ. 190000, г. Санкт-Петербург, Прачечный переулок, 6