

adult особей – immature and mature usually are lower in comparison with fingerlings and yearlings. The third original temperature rule – whenever possible to exist as longer interval of time is possible closer to an ecological-physiological optimum. Two parameters – final preferred temperatures and upper lethal temperatures of fishes in view of general amplitude of a temperature range of their ability to live have allowed quantitatively classifying fishes on groups cold- and warm water under their relation to the temperature factor of environment.

ГИДРОЛИЗ УГЛЕВОДОВ У РЫБ С РАЗЛИЧНЫМ НАКОПЛЕНИЕМ РТУТИ В ОРГАНИЗМЕ

И.Л. Голованова

Учреждение Российской академии наук Институт биологии внутренних вод
им. И.Д. Папанина РАН, п. Борок, Ярославская обл., Россия
e-mail: golovan@ibiw.yaroslavl.ru

В настоящее время практически все водоемы загрязнены тяжелыми металлами, среди которых ртуть по уровню токсического влияния на физиолого-биохимический статус гидробионтов занимает ведущее место. Поступая в организм рыб преимущественно алиментарным путем, она аккумулируется в различных тканях и органах в количествах, значительно превышающих ее концентрацию в воде. Распределение ртути по органам и тканям часто имеет следующий порядок: мышцы > печень > кишечник > селезенка > мозг > гонады, что объясняется повышенным содержанием в мышцах функциональных групп белков (–SH, –COOH), к которым ртуть обладает высоким сродством. Содержание ртути в мышцах рыб из незагрязненных участков Рыбинского водохранилища не превышает предельно допустимого уровня в пресноводной пищевой рыбе – 0.3–0.6 мг/кг, в других водоемах России достигает 3.1 мг/кг (Комов и др., 2004). Уровни такого порядка негативно влияют на ряд жизненно важных функций у рыб и потребляющих их животных, а после гибели рыб ртуть, накопленная в их органах и тканях, представляет угрозу и для организмов, питающихся продуктами разложения этой рыбы.

Результаты изучения биохимического статуса рыб с повышенным содержанием ртути в мышцах свидетельствуют об изменениях белкового, липидного и углеводного обмена (Немова, 2005). Ртуть вызывает некротические изменения в клетках слизистой оболочки пищеварительного тракта рыб, снижая скорость гидролиза пищевых субстратов и транспорта нутриентов во внутреннюю среду организма (Sastry, Rao, 1982; Sastry et al., 1982). В большинстве работ по изучению влияния ртути на активность пищеварительных ферментов используются неорганические соединения металла. При этом хорошо известно, что в условиях естественных водоемов ртуть подвергается бактериальному метилированию с образованием более токсичных ртутьорганических соединений, а низкие значения pH воды способствуют ускорению этого процесса. Органические соединения ртути, в частности ее метилированная форма (метилртуть), обладающая липофильными свойствами и легко преодолевающая биологические мембраны, быстрее проникают и медленнее выводятся из организма, что приводит к их более эффективному накоплению по водной трофической цепи. Так, содержание метилртути достигает 10–30% общего содержания ртути у растений, 20–80% у беспозвоночных и 80–99% в тканях пресноводных рыб. Однако изучения влияния метилртути на пищеварительные ферменты и эффективность гидролиза углеводов у рыб до последнего времени не проводилось.

Цель работы состояла в изучении долговременного влияния ртути на активность пищеварительных карбогидраз и кинетические характеристики гидролиза углеводов в кишечнике рыб с различным накоплением ртути в мышечной ткани.

В работе исследована активность карбогидраз: α -амилазы КФ 3.2.1.1, осуществляющей начальные этапы гидролиза крахмала (модифицированный метод Смита и Роя), сахаразы КФ 3.2.1.48, гидролизующей сахарозу (модифицированный метод Нельсона), и суммарная активность ферментов, гидролизующих крахмал (α -амилазы, глюкоамилазы КФ 3.2.1.3 и мальтазы КФ 3.2.1.20) – общая амилолитическая активность (модифицированный метод Нельсона) (Уголев и др., 1969).

В аквариальных экспериментах по изучению действия метилртути, содержащейся в корме природного происхождения (фарш из мышц рыб), на активность ферментов, гидролизующих угле-

воды в кишечнике молоди окуня (30 сут) и карася (75 сут) не выявлено различий физиолого-биохимических показателей рыб, получавших корм с низким (0.11 мг/кг) и высоким (0.5 мг/кг) содержанием ртути. В то же время у карпа более длительное (3 и 6 мес.) действие повышенных концентраций ртути в корме снижало активность пищеварительных карбогидраз и сродство ферментов к субстрату (о чем свидетельствует увеличение значений константы Михаэлиса (K_m) гидролиза крахмала). Активность панкреатической α -амилазы снижалась в большей степени (на 36%), чем общая амилазная активность (на 16–35%) или активность сахаразы (на 18%), демонстрируя, что ферменты, осуществляющие начальные этапы гидролиза углеводов и функционирующие в полости кишечника, более чувствительны к токсическому действию ртути по сравнению с собственно кишечными мембранными ферментами, завершающими расщепление пищевых субстратов в кишечнике рыб.

Эксперименты длительностью 4–5 мес. на сеголетках плотвы и окуня в условиях, приближенных к природным (бассейны под открытым небом), выявили достоверное снижение общей амилазной активности и активности сахаразы, а также увеличение значений K_m гидролиза ди- и полисахаридов, свидетельствующее об снижении скорости начальных этапов усвоения углеводов и уменьшении сродства ферментов к субстрату у рыб при увеличении содержания ртути в организме. На примере сеголетков плотвы показано интенсивное накопление ртути в организме в концентрации, соразмерной количеству ртутьорганических соединений, поступающих с кормом (табл.).

Морфометрические и физиолого-биохимические показатели сеголетков плотвы *Rutilus rutilus* с разным содержанием Hg в организме

Показатель	Вариант опыта		
	I (контроль)	II	III
Содержание Hg, мг/кг:			
в корме	0.006 – 0.007 ^a	0.02 – 0.03 ^b	0.30 – 0.40 ^b
в сырой массе рыб	0.02 ± 0.001 ^a	0.03 ± 0.002 ^b	0.16 ± 0.007 ^c
Длина тела, см	4.64 ± 0.12 ^a	5.51 ± 0.08 ^b	5.39 ± 0.09 ^{b,b}
Масса тела, г	1.62 ± 0.09 ^a	2.87 ± 0.06 ^b	2.63 ± 0.06 ^b
ОАА, мкмоль/(г · мин)	26.7 ± 0.42 ^a	31.9 ± 0.69 ^b	23.2 ± 0.41 ^b
K_m гидролиза крахмала, г/л	0.85 ± 0.10 ^a	1.2 ± 0.10 ^b	2.8 ± 0.05 ^b
V_{max} гидролиза крахмала, мкмоль/(г · мин)	32.0 ± 0.49 ^a	37.5 ± 1.36 ^b	29.2 ± 0.96 ^b
Активность сахаразы, мкмоль/(г · мин)	0.87 ± 0.02 ^a	0.90 ± 0.02 ^a	0.78 ± 0.02 ^b
K_m гидролиза сахаразы, ммоль	6.59 ± 0.15 ^a	9.81 ± 0.36 ^b	10.8 ± 0.36 ^b
V_{max} гидролиза сахаразы, мкмоль/(г · мин)	1.11 ± 0.03 ^a	1.14 ± 0.03 ^a	1.16 ± 0.02 ^a
Число рыб, экз.	7	17	21

Примечание. Приведены средние значения и их ошибки; индексы в строке указывают на статистически достоверные различия между вариантами опыта для каждого показателя (ANOVA, LSD-test, $p < 0.05$). ОАА – общая амилазная активность.

Однако снижение активности карбогидраз, свидетельствующее об уменьшении скорости начальных этапов ассимиляции углеводов, не вызывало снижения показателей линейно-массового роста экспериментальных рыб, масса которых на 44–77%, а длина тела на 13–18% превышала аналогичные показатели в контроле. Превышение роста подопытных рыб по сравнению с контрольными особями при низких концентрациях токсикантов и обилии корма может быть обусловлено как потреблением большего количества пищи, так и снижением активности рыб, подверженных действию токсических веществ, позволяющим компенсировать снижение эффективности утилизации потребляемой пищи. Кроме того, увеличение морфометрических показателей молоди рыб при хроническом действии повышенного содержания ртути в корме может быть обусловлено компенсаторным увеличением усвоения аминокислот на фоне снижения показателей углеводного обмена (Sastry, Rao, 1982).

Результаты натурных наблюдений также свидетельствуют о негативном влиянии повышенного содержания ртути в организме на гидролиз углеводов в кишечнике рыб. У одноразмерных особей окуня из природных водоемов Вологодской обл. с нейтральным значением pH воды (оз. Кубенское, оз. Белое, Сизьменский залив Шекснинского водохранилища) большее содержание ртути в организме сопровождается снижением активности пищеварительных карбогидраз на 10–20% и повышением значений K_m гидролиза крахмала и сахаразы в 2–3.6 раза. В то же

время, в условиях ацидификации отмечено значительное снижение значений K_m , отражающее увеличение сродства ферментов к субстрату. Действительно, у окуня из кислотных озер Дарвиновского заповедника (оз. Дубровское и Мотыкино, pH 4.5) K_m гидролиза ди- и полисахаридов в 2–10 раз ниже по сравнению с рыбами из оз. Хотавец (pH воды 7.4). Этот факт может быть обусловлен более высоким накоплением ртути в кишечнике окуня из кислотных озер (до 80% от содержания в мышцах) по сравнению с рыбами из водоемов с нейтральным значением pH воды (лишь 25% от содержания в мышцах).

Таким образом, в экспериментальных условиях показано накопление ртути в мышечной ткани рыб пропорциональное количеству ртутьорганических соединений, вносимых в бассейны. Накопление ртути в организме рыб из водоемов с нейтральным значением pH воды вызывает неспецифическое снижение активности пищеварительных карбогидраз и сродства ферментов к субстрату, уменьшая скорость начальных этапов ассимиляции углеводных компонентов корма. У окуня, длительное время живущего в условиях ацидификации, отмечено адаптивное повышение сродства ферментов к субстрату, что, по всей вероятности, позволяет частично компенсировать неблагоприятное влияние факторов среды на скорость переваривания углеводных компонентов пищи.

Автор выражает глубокую признательность сотрудникам лаборатории физиологии и токсикологии водных животных В. Т. Кому и В. А. Гремячих за постановку хронических экспериментов и определение содержания ртути.

Литература

Комов В. Т., Степанова И. К., Гремячих В. А., 2004. Содержание ртути в мышцах рыб из водоемов Северо-Запада России: причины интенсивного накопления и оценка негативного эффекта на состояние здоровья людей // Актуальные проблемы водной токсикологии. Борок: Рыбинский Дом печати. С. 99–123.

Немова Н. Н., 2005. Биохимические эффекты накопления ртути у рыб. М.: Наука. 164 с.

Уголев А. М., Иезуитова Н. Н., Масевич Ц. Г. и др., 1969. Исследование пищеварительного аппарата у человека. Обзор современных методов. Л.: Наука. 216 с.

Sastry K. V., Rao D. R., 1982. Chronic effects of mercuric chloride on the activities of some enzymes in certain tissues of the fresh water murrel *Channa punctatus* // Chemosphere. V. 11. № 12. P. 1203–1210.

Sastry K. V., Rao D. R., Singh S. K., 1982. Mercury induced alterations in the intestinal absorption of nutrients in the fresh water murrel *Channa punctatus* // Chemosphere. V. 11. № 6. P. 613–619.

HYDROLYSIS OF CARBOHYDRATES IN FISH AT DIFFERENT LEVELS OF MERCURY ACCUMULATION

I. L. Golovanova

Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences,
Borok, Yaroslavl reg., Russia
e-mail: golovan@ibiw.yaroslavl.ru

It has been shown that chronic exposure to dietary mercury results in the intensive accumulation of this metal in roach *Rutilus rutilus* yearlings. The concentrations of accumulated mercury in their organisms were proportional to the amount of metal added to water of experimental tanks. Increased Hg content in the organisms (0.05–0.16 mg/kg) of developing juvenile roaches decreases the activity of digestive carbohydrases and the affinity of enzymes to substrate with subsequent retardation of rates of initial stages of digestion. Investigation of hydrolysis of carbohydrates in the intestine of the perch *Perca fluviatilis* with varying mercury content in muscles revealed considerable changes in the amylolytic and sucrase activity, and kinetic characteristics of hydrolysis of di- and polysaccharides. In the experimental juveniles of perch and in the adult fish caught in natural water bodies with neutral water pH, the amylolytic activity decreased and the apparent K_m increased at higher mercury concentrations in the organism. In perch from acid lakes the apparent K_m decreased, indicating an increase of the affinity of enzymes to substrata at higher mercury loads. The latter may be caused by higher mercury content in the intestine of fish from acid lakes in comparison with fish from neutral water bodies and may be interpreted as adaptation.