

УДК 577:[57.017:597.552.511]

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО И УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА У СМОЛТОВ ГОРБУШИ *ONCORHYNCHUS GORBUSCHA* (WALB.) ПРИ СМЕНЕ СОЛЕНОСТИ СРЕДЫ

© 2024 г. Н. С. Шульгина, М. В. Кузнецова*, М. А. Родин, М. Ю. Крупнова, Д. А. Ефремов, С. А. Мурзина, академик РАН Н. Н. Немова

Поступило 03.08.2024 г.

После доработки 17.08.2024 г.

Принято к публикации 18.08.2024 г.

Исследовали активность ключевых ферментов энергетического и углеводного обмена (цитохром с оксидазы (ЦО), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), альдолазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ) и 1-глицерофосфатдегидрогеназы (1-ГФДГ)) у смолтов горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walb.) Белого моря в садковом эксперименте, моделирующем ее переход из пресной среды в морскую. Выявлено снижение активности ЦО, Г6ФДГ, 1-ГФДГ и усиление – ЛДГ и альдолазы у молоди при повышении солености воды. Полученные результаты позволяют предположить, что у горбуши происходит перераспределение энергетических субстратов между реакциями аэробного и анаэробного обмена в сторону усиления анаэробного синтеза АТФ. Это может свидетельствовать о реализации у молоди горбуши адаптивных механизмов перестройки метаболизма, направленной на энергообеспечение процесса осморегуляции при изменении соленостного режима среды обитания.

Ключевые слова: горбуша, ферменты, энергетический обмен, соленость, смолтификация, Белое море
DOI: 10.31857/S2686738924060071

ВВЕДЕНИЕ

Соленость является одним из важнейших абиотических факторов среды, оказывающих влияние на жизнедеятельность водных организмов, в том числе рыб. Виды рыб отличаются по степени приспособленности к колебаниям солености среды обитания. Неспособность регулировать водно-солевой обмен может привести к обезвоживанию, что считается основной причиной смертности организмов при акклиматизации к морской воде [1]. Процесс адаптации эвригалинных рыб к изменению солености среды связан с преобразованиями в осморегуляторной системе и перераспределением энергетических ресурсов организма [2]. В исследованиях интенсивности потребления кислорода в условиях изменения солености воды, показано, что модуляция и стимуляция процессов транспорта ионов у рыб сопровождается значительным увеличением

расхода энергии [2, 3]. Удовлетворение возросших потребностей организма рыб в энергии при их акклиматизации к смене соленостного режима обеспечивается метаболическими перестройками, связанными с изменением в направлении и интенсивности путей энергетического и углеводного обмена. Установлено, что энергия, необходимая осморегуляторным органам рыб (жабрам и почкам) для поддержания ионного гомеостаза образуется, прежде всего, за счет окисления глюкозы и лактата, поступающих из кровеносных сосудов [3]. Определение изменения в количестве энергетических субстратов или активности ферментов, участвующих в их превращении, может дать представление об уровне энергозатрат, связанных с регуляцией метаболизма при изменении солености среды [2]. Различия в характере изменения активности ферментов энергетического и углеводного обмена в условиях адаптации к разной солености были ранее показаны в исследованиях на эвригалинных и анадромных видах рыб [2, 4–7]. В отличие от большинства видов лососевых, горбуша смолтифицируется вскоре после вылупления, что позволяет ей мигрировать в океан в раннем возрасте [8]. Поскольку эта особенность требует сравнительно быстрой ответной реакции организма

Институт биологии – обособленное подразделение
Федерального государственного бюджетного учреждения
науки Федерального исследовательского центра
“Карельский научный центр Российской академии наук”,
Петрозаводск, Россия

*E-mail: kuznetsovamvi@yandex.ru

на смену солености среды обитания, можно предположить, что энергетически процесс гипоосморегуляции обеспечивается изменением направления и интенсивности путей энергетического обмена и окисления глюкозы.

Целью данной работы было оценить активность ферментов энергетического и углеводного обмена (цитохром с оксидазы, лактатдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, 1-глицерофосфатдегидрогеназы и альдолазы) у смолтов горбуши в период ската, в экспериментальных условиях, модулирующих ее переход на разные по солености участки миграционного пути (река, эстуарий, море).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали смолтов горбуши, отловленных в естественных условиях в период ската в реке Индера бассейна Белого моря и помещенных в садки с разными условиями солености для экспозиции. Использовали три одинаковых садка, установленных в разных местах миграционного пути горбуши — непосредственно в реке Индера (пресная вода), в эстуарии реки (распресненная вода, соленость в прилив — 6‰, в отлив — 0‰) и в Белом море (соленость 30‰). В начале эксперимента (28 мая) отловили около 1000 смолтов горбуши из реки и поместили в речной садок. Спустя сутки (29 мая) особей в количестве 15 штук взяли на анализ (усыпляли с помощью гвоздичного масла и фиксировали в жидком азоте) в качестве контроля, а оставшихся распределили по трем группам — садкам “река”, “эстуарий”, “море”. Через 24 часа (30 мая) и 72 часа (1 июня) экспозиции в каждом садке производили отбор и фиксацию молоди (по 15 особей на группу) для дальнейшего биохимического анализа. Размерно-весовые характеристики исследуемых рыб, а также даты взятия проб и температура воды, представлены в табл. 1.

Активность исследуемых ферментов определяли (индивидуально для каждой особи) спектрофотометрически по общепринятым методикам [9–11] и выражали в мкмоль/(мин)*мг белка. Концентрацию белка определяли методом Брэдфорд [12].

Статистический анализ полученных результатов проводили с помощью критерия Краскела—Уоллиса с последующим сравнением выборок с использованием критерия Манна—Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0.05$. Биохимический анализ выполнен на базе лаборатории экологической биохимии ИБ КарНЦ РАН с использованием оборудования Центра коллективного пользования ФИЦ “КарНЦ РАН”.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Получены результаты, указывающие на различия в изменениях активности исследуемых ферментов энергетического и углеводного обмена у горбуши при переносе из пресной воды в соленую. Активность ЦО у молоди в морском садке через трое суток экспозиции была достоверно ниже, чем таковая у рыб в эстуарном садке (рис. 1 а, $p < 0.05$). Это указывает на снижение уровня аэробного обмена после перемещения мальков в среду с большей соленостью. При этом активность ЛДГ была выше у рыб в морском садке по сравнению с речным уже через сутки после переноса и через трое суток эти различия сохранялись и были выявлены также для активности альдолазы (рис. 1 б, $p < 0.05$), что указывает на более высокую интенсивность процессов анаэробного обмена и использования углеводов в гликолизе в гиперосмотических условиях.

Более низкая аэробная емкость у молоди горбуши в море, вероятно, компенсируется анаэробным синтезом АТФ. Подобная компенсаторная реакция была выявлена у смолтов горбуши в нашем предыдущем исследовании, где рыб выдерживали в море в течение 10 суток в длительном садковом эксперименте [7]. Ранее было показано, что личинки горбуши лучше других видов тихоокеанских лососей способны приспосабливаться к изменению солености среды обитания, регулируя концентрацию ионов в плазме крови при резком переходе в морскую воду [13].

Согласно данным литературы [3], анаэробный метаболизм углеводов играет ведущую роль

Таблица 1. Размерно-весовые характеристики молоди горбуши из разных групп в садковом эксперименте

Группа	Т, °С воды (в день отбора)	Длина (TL), см*	Масса, г*
29.05 до эксперимента (контроль-нулевая точка), река	6.8	3.23±0.05	0.15±0.01
30.05 садок “река” (24 часа экспозиции)	6.4	2.83±0.05	0.13±0.00
30.05 садок “эстуарий” (24 часа экспозиции)	10.1	2.90±0.06	0.13±0.00
30.05 садок “море” (24 часа экспозиции)	6.4	2.99±0.05	0.14±0.01
01.06 садок “река” (72 часа экспозиции)	8.8	2.97±0.04	0.15±0.00
01.06 садок “эстуарий” (72 часа экспозиции)	7.3	2.85±0.03	0.15±0.01
01.06 садок “море” (72 часа экспозиции)	7.3	2.87±0.04	0.15±0.01

Примечание: TL — абсолютная длина тела, *среднее значение и его ошибка.

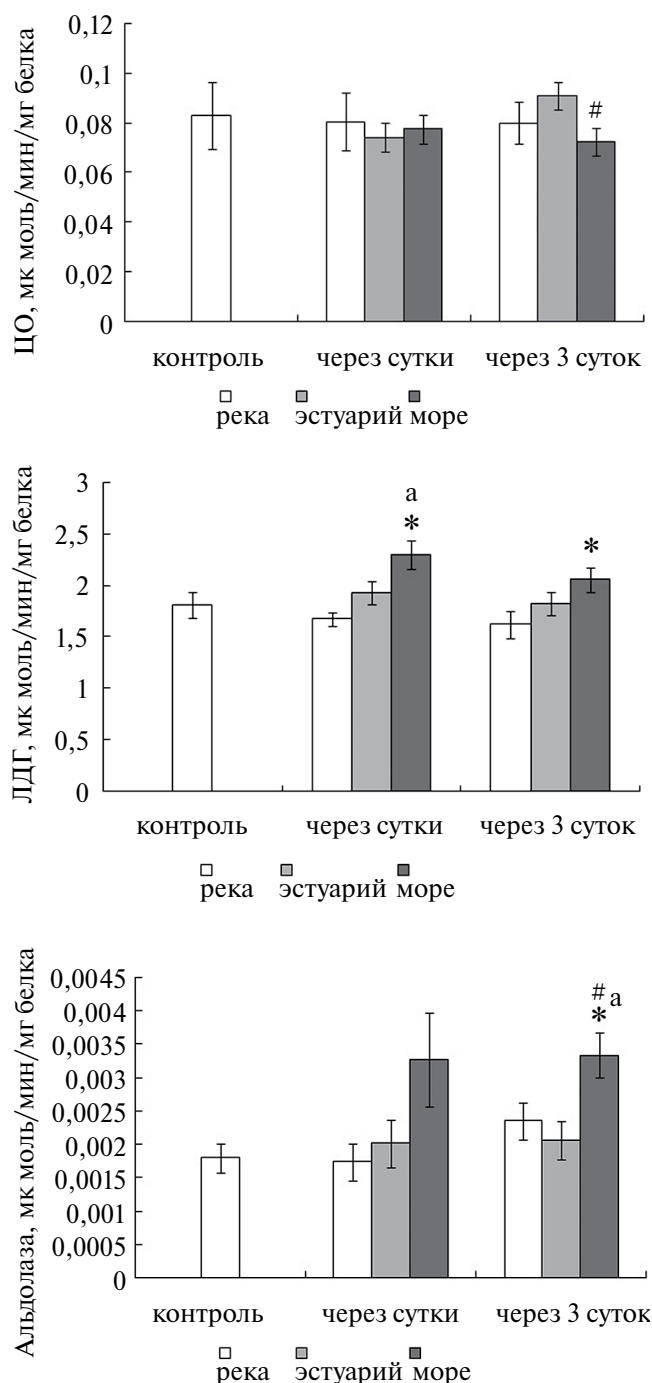


Рис. 1. Относительная активность ферментов ЦО (а), ЛДГ (б), альдолазы (в) (мкмоль/мин/мг белка) у смолтов горбуши при переносе в садки с разной солесностью. Различия достоверны при $p < 0.05$: * – по сравнению с группой рыб в речном садке, # – по сравнению с группой рыб в эстуарном садке, а – по сравнению с контрольной группой.

в адаптивных реакциях водно-солевого обмена к обитанию рыб в морской воде, являясь механизмом, быстро реагирующим на изменение

потребностей в энергии АТФ. О значении анаэробного гликолиза у рыб в энергообеспечении процесса осморегуляции свидетельствует увеличение интенсивности окисления глюкозы и лактата, которые, как было показано [2], становятся основными источниками энергии при адаптации разных видов рыб к изменению солесности среды обитания.

У смолтов горбуши в садке с морской водой установлены относительно более низкие значения активности Г6ФДГ (спустя сутки экспозиции по сравнению с речным садком, а также спустя трое суток по сравнению с эстуарным) и 1-ГФДГ (спустя трое суток по сравнению с речным садком) (рис. 2 а, б, $p < 0.05$). Это свидетельствует о более низком уровне использования продуктов распада углеводов в липидном обмене, что может быть связано со снижением образования восстановителей в виде НАДФН в пентозо-фосфатном пути, а также 1-глицерофосфата, необходимых для реакций биосинтеза липидов [14,15]. Принимая во внимание наблюдаемое у рыб в морском садке снижение активности ЦО и увеличение – ЛДГ и альдолазы, можно предположить, что у исследуемой молодежи горбуши происходит перераспределение углеводов между реакциями энергетического обмена, пентозо-фосфатного пути, в сторону анаэробного синтеза АТФ. Вышеуказанные вариации активности исследуемых ферментов при резком увеличении концентрации ионов в организме рыб, содержащихся в морской воде, по-видимому, связаны с перестройкой метаболизма и согласуются с “запуском” механизмов перераспределения энергии между осморегуляцией и другими энергозатратными метаболическими процессами, такими как рост и развитие [5,16]. Установленные относительно более низкие значения активности Г6ФДГ и 1-ГФДГ у горбуши в морском садке по сравнению с речным аналогичны полученным нами в длительном садковом эксперименте по изучению адаптивных возможностей смолтов горбуши на разных по солесности участках их покатной миграции (реки, эстуария, моря) [7]. Это может указывать как на устойчивое формирование, так и на последующее сохранение (как минимум до 10 суток) адаптивных перестроек путей энергетического и углеводного обмена у смолтов горбуши при их переносе из пресной воды в соленую.

У особей горбуши, помещенных в эстуарный садок, не было установлено различий по исследуемым показателям с группой из реки (рис. 1 и 2). Такие различия в активности ЦО, ЛДГ, 1-ГФДГ и альдолазы были характерны для смолтов только спустя 10 суток их экспозиции в эстуарии в более длительном эксперименте, проведенном нами ранее [7]. Вероятно, у рыб, находящихся под влиянием суточных колебаний солесного и температурного режимов воды эстуария, адаптивные модуляции энергетического обмена проявляются спустя более продолжительный период воздействия этих условий.

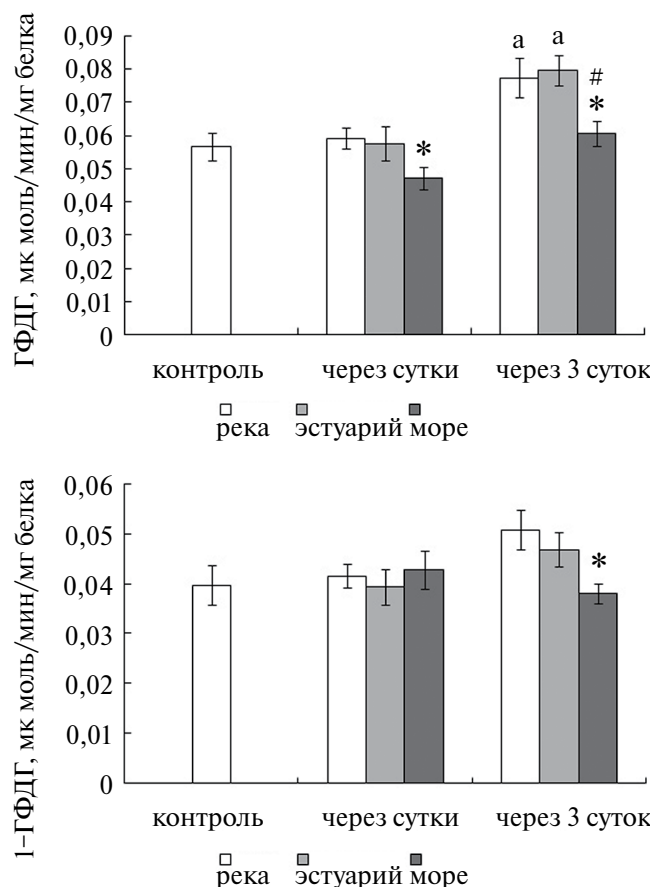


Рис. 2. Относительная активность ферментов Г6ФДГ (а), 1-Г6ФДГ (б) (мкмоль/мин/мг белка) у смолтов горбуши при переносе в садки с разной соленостью. Обозначения как на рис. 1.

Таким образом, результаты проведенного исследования изменений активности ферментов энергетического и углеводного обмена у мигрирующих смолтов горбуши при смене солености среды обитания свидетельствуют о наличии у них адаптивных метаболических перестроек в аэробном и анаэробном обмене, функционировании пентозо-фосфатного пути. По-видимому, в организме рыб после миграции в море происходит усиление анаэробного пути синтеза АТФ за счет повышения уровня утилизации углеводов путем гликолиза, и, напротив, снижение степени использования углеводов в пентозо-фосфатном пути и продуктов их распада в липидном обмене, что является одним из механизмов биохимической адаптации молоди горбуши к переходу из пресной воды в соленую.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование финансировалось за счет средств государственного бюджета, выделенных по государ-

ственному заданию КарНЦ РАН FMEN2022-0006 и FMEN2022-0007.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все исследования проводились в соответствии с международными, национальными и институциональными рекомендациями по использованию животных. Эксперименты были одобрены Комиссией по биоэтике Института биологии Карельского научного центра РАН (протокол заседания № 8 от 25 июля 2024 года).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Takei Y., Hiroi J., Takahashi H., et al. Diverse mechanisms for body fluid regulation in teleost fishes // *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* 2014. V. 307. № 7. P. 778–792.
2. Soengas J.L., Sangiao-Alvarellos S., Laiz-Carrión R., et al. Energy metabolism and osmotic acclimation in teleost fish // *Fish Osmoregulation*. Boca Raton: CRC Press, 2019. P. 277–307.
3. Tseng Y.C., Hwang P.P. Some insights into energy metabolism for osmoregulation in fish // *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 2008. V. 148. № 4. P. 419–429.
4. Le François N.R., Blier P.U. Reproductive events and associated reduction in the seawater adaptability of brook charr (*Salvelinus fontinalis*): evaluation of gill metabolic adjustments // *Aquat. Living Resour.* 2003. V. 16. P. 69–76.
5. Le François N.R., Lamarre S.G., Blier P.U. Tolerance, growth and haloplasticity of the Atlantic wolffish (*Anarhichas lupus*) exposed to various salinities // *Aquaculture*. 2004. V. 236. P. 659–675.
6. Чурова М.В., Шульгина Н.С., Немова Н.Н. Активность ферментов энергетического и углеводного обмена в органах колюшки в период нереста из разных биотопов Белого моря // *Доклады Академии наук*. 2018. Т. 482. № 1. С. 111–113.
7. Чурова М.В., Шульгина Н.С., Крупнова М.Ю., и др. Активность ферментов энергетического и углеводного обмена у молоди горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walb.) при переходе из пресной среды в морскую // *Известия Российской академии наук. Серия биологическая*. 2021. № 5. С. 470–478.
8. Gallagher Z.S., Bystriansky J.S., Farrell A.P., et al. A novel pattern of smoltification in the most anadromous

- salmonid: pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 2013. V. 70. № 3. P. 349–357.
9. *Smith L.* Spectrophotometric assay of cytochrome c oxidase // Methods in Biochem. Analysis. 1955. V. 2. P. 427–434.
 10. *Колб В.Г., Камышиников В.С.* Клиническая биохимия. Минск: Издательство Беларусь, 1976. 311 с.
 11. *Кочетов Г.А.* Практическое руководство по энзимологии. М.: Высш. шк., 1980. 272 с.
 12. *Bradford M.A* Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Analit. Biochem. 1976. V. 72. P. 248–254.
 13. *Grant A., Gardner M., Nendick L., et al.* Growth and ionoregulatory ontogeny of wild and hatchery-raised juvenile pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) // Canadian Journal of Zoology. 2009. V. 87. № 3. P. 221–228.
 14. *Tian W.N., Braunstein L.D., Pang J., et al.* Importance of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity for cell growth // J. Biol. Chem. 1998. V. 273. P. 10609–10617.
 15. *Gauthier C., Campbell P., Couture P.* Physiological correlates of growth and condition in the yellow perch (*Perca flavescens*) // Comparative Biochemistry and Physiology: Part A. 2008. V. 151. P. 526–532.
 16. *Sangiao-Alvarellos S., Laiz-Carrión R., Guzman J.M., et al.* Acclimation of *S. aurata* to various salinities alters energy metabolism of osmoregulatory and non-osmoregulatory organs // Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2003. V. 285. P. 897–907.

CHANGE IN THE ACTIVITY OF ENZYMES OF ENERGY AND CARBOHYDRATE METABOLISM IN PINK SALMON SMOLTS *ONCORHYNCHUS GORBUSCHA* (WALB.) WITH CHANGE IN ENVIRONMENTAL SALINITY

**N. S. Shulgina, M. V. Kuznetsova*, M. A. Rodin, M. Yu. Krupnova,
D. A. Efremov, S. A. Murzina, Academician of the RAS N. N. Nemova**

Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation

**e-mail: kuznetsovamvi@yandex.ru*

The activity of key enzymes of energy and carbohydrate metabolism (cytochrome c oxidase (CO), lactate dehydrogenase (LDH), aldolase, glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) and 1-glycerophosphate dehydrogenase (1-GPDH)) was studied in smolts of pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha* (Walb.) from the White Sea in a cage experiment simulating its transition from freshwater to marine environment. A decrease in the activity of CO, G6PDH, 1-GPDH and an increase in LDH and aldolase in juveniles with increasing water salinity were revealed. The obtained results allow us to assume that in the studied pink salmon there is a redistribution of energy substrates between the reactions of aerobic and anaerobic metabolism towards an increase in anaerobic ATP synthesis. This may indicate the realization of adaptive mechanisms of metabolic restructuring in pink salmon juveniles, aimed at providing energy for the osmoregulation process when the salinity regime of the habitat changes.

Keywords: pink salmon, enzymes, energy metabolism, salinity, smoltification, White Sea