

ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ВНУТРЕННИХ ВОД им. И.Д. ПАПАНИНА РАН
ПРИДНЕСТРОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
им. Т.Г. ШЕВЧЕНКО

ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ И САНОКРЕАТОЛОГИИ АНМ

**В.В. КУЗЬМИНА, Г.В. ЗОЛОТАРЕВА,
В.А. ШЕПТИЦКИЙ, С.И. ФИЛИПЕНКО**

РОЛЬ ОБЪЕКТОВ ПИТАНИЯ И МИКРОБИОТЫ В ПРОЦЕССАХ ПИЩЕВАРЕНИЯ РЫБ ИЗ РАЗНЫХ ЭКОСИСТЕМ

Тирасполь
*Издательство
Приднестровского
Университета*

2016

УДК 591.13:597
ББК Е903.11+Е693.32
Р68

Рецензенты:

А.А. Груздков, д-р биол. наук, зав. лаб. физиологии питания Института физиологии им. И.П. Павлова РАН

В.Т. Комов, д-р биол. наук, проф., зам. директора Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН

Кузьмина В.В., Золотарева Г.В., Шептицкий В.А., Филипенко С.И.
Р68 Роль объектов питания и микробиоты в процессах пищеварения рыб из разных экосистем. – Тирасполь: Изд-во Приднестр. ун-та, 2016. – 196 с.
ISBN 978-9975-3125-0-9

В книге впервые с позиций современной трофологии систематизированы сведения об активности и характеристиках ферментов, обеспечивающих процессы пищеварения у рыб из разных экосистем (Кучурганского и Рыбинского водохранилищ, а также экосистемы Нижнего Днестра). Рассмотрены вопросы, касающиеся кормовой базы рыб и ее влияния на активность пищеварительных гидролаз у рыб разных видов. Большое внимание уделено роли индуцированного аутолиза и симбионтного пищеварения в процессах пищеварения рыб. Особенно подробно описан характер влияния pH на активность протеиназ и гликозидаз у рыб разных видов, их потенциальных объектов питания, а также сопутствующий и энтеральной микробиоты. Проанализировано влияние среды обитания на начальные этапы ассимиляции пищи у рыб, относящихся по типу питания к разным экологическим группам. На базе предложенной ранее классификации физиологических адаптаций рассмотрено участие симбионтного пищеварения и индуцированного аутолиза в реализации биоценологических адаптаций у рыб Рыбинского и Кучурганского водохранилищ. Монография рассчитана на специалистов, аспирантов и студентов биологов, особенно ихтиологов, гидробиологов, физиологов, биохимиков, экологов, специалистов в области трофологии и широкий круг читателей, интересующихся проблемами питания.

Reviewers:

Ph.Dr., Dr.Sci. A.A. Gruzdkov (I.P.Pavlov Institute of physiology RAS),

Ph.Dr., Dr.Sci., prof. V.T.Komov (I.D.Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS)

Kuz'mina V.V., Zolotareva G.V., Sheptitsky V.A., Philipenko S.I. The role of food items and the microbiota in the digestive processes of the fish from different ecosystems. – Tiraspol, 2016 - 196 p.
ISBN 978-9975-3125-0-9

In the monograph for the first time the data concerning the activity and characteristics of enzymes providing digestive processes in fish from different ecosystems (the Cuciurgan and the Rybinsk Reservoir and Lower Dniester ecosystem) from the standpoint of modern trophology are systematized. The questions relating to the fish food resources and its effect on the activity of digestive hydrolases in fish of different species are reviewed. Particular attention is paid to the role of induced autolysis and symbiotic digestion in the digestive processes in fish. Especially detail described the effect of pH on the activity of proteases and glycosidases in fish of different species, their potential food items, as well as associated and enteric microbiota. It is analysed the influence of the environment on the initial stages of food assimilation in fish from different ecological groups. On the basis of the previously proposed classification of physiological adaptations considered the participation of symbiotic digestion and induced autolysis in the realization of biocenotic adaptations in fish from Cuciurgan and Rybinsk reservoirs. The monograph may be useful for professionals and students of biology, especially ichthyology, hydrobiology, physiology, biochemistry, ecology, experts in the field of physiology of nutrition and wide circle of the readers interested by problems of nutrition.

Рекомендовано Научно-координационным советом Приднестровского государственного университета им. Т.Г. Шевченко (протокол № 6 от 15.02.2016 г.)

Рекомендовано Ученым советом Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской Академии наук (протокол № 14 от 16.12.2015 г.)

Рекомендовано Ученым советом Института физиологии и санокреатологии Академии наук Молдовы (протокол № 1 от 15.01.2016 г.)

ISBN 978-9975-3125-0-9

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	5
ГЛАВА 1. ОСОБЕННОСТИ ГИДРОЭКОСИСТЕМ МОДЕЛЬНЫХ ВОДОЕМОВ И ВОДОТОКОВ	8
1.1. Краткая характеристика Рыбинского водохранилища	8
1.2. Характеристика Кучурганского водохранилища	16
1.3. Характеристика р. Днестр	22
1.4. Биологическая характеристика исследованных видов рыб и потенциальных объектов их питания	27
1.5. Заключительные замечания	32
ГЛАВА 2. КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССОВ ПИЩЕВАРЕНИЯ У РЫБ	34
2.1. Типы питания и пищевого поведения рыб	34
2.2. Механизмы пищеварения у рыб	37
2.3. Взаимодействие различных типов пищеварения	46
2.4. Всасывание нутриентов	48
2.5. Заключительные замечания	52
ГЛАВА 3. МИКРОБИОТА ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА РЫБ	54
3.1. Видовой состав и численность энтеральной микробиоты у рыб	55
3.2. Зависимость видового состава и численности энтеральной микробиоты от характера питания и состава пищи	60
3.3. Зависимость видового состава и численности энтеральной микробиоты рыб от особенностей экосистем	65
3.4. Заключительные замечания	67
ГЛАВА 4. ХАРАКТЕРИСТИКА ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ РЫБ, ИХ ОБЪЕКТОВ ПИТАНИЯ И ЭНТЕРАЛЬНОЙ МИКРОБИОТЫ	70
4.1. Ферменты, синтезируемые пищеварительной системой рыб	70
4.2. Ферменты микроорганизмов, обеспечивающие симбионтное пищеварение у рыб	79
4.3. Ферменты объектов питания рыб, обеспечивающие индуцированный аутолиз	88
4.4. Заключительные замечания	103
ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ pH НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ, ФУНКЦИОНИРУЮЩИХ В КИШЕЧНИКЕ РЫБ ИЗ ВОДОЕМОВ, РАСПОЛОЖЕННЫХ В РАЗНЫХ ГЕОГРАФИЧЕСКИХ ЗОНАХ, В ШИРОКОМ ДИАПАЗОНЕ ЗНАЧЕНИЙ pH	107
5.1. Влияние pH на активность протеаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у рыб разных видов из Рыбинского водохранилища	107

5.2. Влияние pH на активность гликозидаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у рыб разных видов из Рыбинского водохранилища	110
5.3. Влияние pH на активность протеаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у рыб из Кучурганского водохранилища.	112
5.4. Влияние pH на активность гликозидаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у рыб из Кучурганского водохранилища.	114
5.5. Влияние pH на активность протеаз и гликозидаз потенциальных объектов питания ихтиофагов и их сопутствующей микробиоты	117
5.6. Влияние pH на активность протеаз и гликозидаз потенциальных объектов питания бентофагов и их сопутствующей микробиоты.	120
5.7. Заключительные замечания	123
ГЛАВА 6. ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ, ФУНКЦИОНИРУЮЩИХ В КИШЕЧНИКЕ РЫБ ИЗ ОДНОЙ ГЕОГРАФИЧЕСКОЙ ЗОНЫ В ШИРОКОМ ДИАПАЗОНЕ ЗНАЧЕНИЙ pH	132
6.1. Влияние условий среды обитания на активность ферментов, функционирующих в кишечнике рыб из разных участков одной экосистемы	132
6.2. Влияние условий среды обитания на активность протеаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у рыб из одного участка водоема (на примере Рыбинского водохранилища)	136
6.3. Заключительные замечания	139
ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ	146
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	152

ПРЕДИСЛОВИЕ

Во второй половине XX века представления о закономерностях функционирования пищеварительной системы человека и животных были значительно пересмотрены, что позволило сформировать новую парадигму питания (Уголев, 1985, 1991). Этому предшествовало описание ранее неизвестного типа пищеварения – пристеночного, или мембранного (Уголев, 1960, 1961, 1963, 1972). Этот механизм был подробно охарактеризован не только при исследовании млекопитающих, но и при изучении рыб, относящихся по типу питания к разным экологическим группам (Уголев, Кузьмина, 1993). Открытие мембранного пищеварения позволило двухзвенную схему (пищеварение – всасывание) заменить трехзвенной схемой пищеварения (полостное пищеварение – мембранное пищеварение – всасывание). Однако вскоре А.М.Уголевым при попытке объяснить несоответствие реальной скорости переваривания пищи в желудке и скорости, наблюдаемой в эксперименте, было обращено внимание на классические опыты Клода Бернара, в которых перевариванию подвергалась не термически обработанная пища, а лапки живой лягушки. Проведение опытов с множеством перекрестных контролей позволило заключить, что значительную роль в переваривании термически необработанной пищи играют ферменты самой пищи (Уголев, 1980; Уголев, Цветкова, 1984). Поскольку гидролиз пищевых субстратов инициировали ионы водорода, этот механизм был назван индуцированным аутолизом.

В это же время А.М.Уголевым была разработана концепция симбионтного пищеварения, реализуемого экстрацеллюлярными ферментами энтеральной микробиоты. Вследствие этого предшествующая схема пищеварения была заменена пятизвенной схемой, включающей два дополнительных типа – симбионтное пищеварение и индуцированный аутолиз (Уголев, 1985). При исследовании рыб была подтверждена исключительно важная роль в процессах пищеварения ферментов объектов питания и микрофлоры кишечника (Уголев, Кузьмина, 1988, 1993). Последнее позволило перевести эти типы пищеварения у рыб и других животных из естественных экосистем в ранг основных (Кузьмина, 1996). Впоследствии была обоснована важная роль в реализации индуцированного аутолиза катепсинов, локализованных в лизосомах клеток различных тканей потенциальных жертв (Кузьмина, Цветкова, 2001; Кузьмина, 2005, 2015).

Доказательства важной роли симбионтного пищеварения в процессах пищеварения рыб были получены в целом ряде работ (Лубян-

скене и др., 1989, Шивокене, 1989; Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, Скворцова, 2002; Кузьмина, 2005, 2015). При этом в отличие от индуцированного аутолиза, значительный вклад которого в процессы пищеварения рыб из естественных водоемов известен, вклад ферментов кишечной микрофлоры в настоящее время корректно оценить невозможно. Однако о роли этого механизма можно судить, используя сопоставление различных характеристик ферментов энтеральной микробиоты, а также ферментов, функционирующих в составе слизистой оболочки кишечника и химуса. Именно так были выявлены различия температурных характеристик протеолитических ферментов у рыб, их объектов питания и энтеральной микробиоты, гидролизующих одни и те же субстраты (Кузьмина и др., 2012; Шалыгин, 2013; Kuz'mina et al., 2015).

Об особенностях влияния pH на активность ферментов, синтезируемых пищеварительной системой рыб и энтеральной микробиотой, до последнего времени было известно крайне мало (Скворцова, 2002). Поскольку спектр питания рыб, а также видовой состав и численность микроорганизмов в разных водоемах варьирует (Кузьмина, 2005), характеристики ферментов энтеральной микробиоты у рыб разных видов могут значительно различаться. Вместе с тем сведения о влиянии pH на активность ферментов слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у рыб из водоемов, расположенных в разных географических зонах, а также у рыб из разных участков водоема или гидросистемы, расположенной в одной географической зоне, ранее не исследовалось. Также до начала наших работ не было сведений о влиянии pH на ферменты целого организма потенциальных объектов питания рыб, относящихся по типу питания к разным экологическим группам, и их сопутствующей микробиоты.

В данной монографии впервые обобщены сведения о влиянии условий среды обитания на активность и pH-зависимость одноименных пищеварительных гидролаз у рыб разных видов, их потенциальных объектов питания и сопутствующей микробиоты из гидросистем, значительно различающихся по физико-химическому и биологическому статусу. Особое внимание уделено данным, касающимся активности и особенностям pH-зависимости протеаз и гликозидаз, функционирующих в кишечнике у рыб из водоемов, расположенных в разных географических зонах. Значительное место занимают результаты изучения активности ферментов в целом организме потенциальных объектов питания рыб и сопутствующей микробиоты. Работа проиллюстрирована материалом, полученным при изучении гидробионтов, обитающих в Рыбинском и Кучурганском водохранилищах, а также р. Днестр. Для лучшего понимания вариабельности исследованных характеристик ферментов их анализу будет предшествовать описание среды обитания рыб.

Авторы выражают глубокую благодарность д.б.н. А.А. Груздкову (Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН) и д.б.н., проф. В.Т. Комову (Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Россия) за рецензирование работы, а также всем коллегам из Приднестровского государственного университета им. Т.Г. Шевченко и Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, принимавших участие в работе. Особая благодарность д.с/х.н. В.Ф. Хлебникову, к.х.н. Т.В. Щуке, к.б.н. Е.Г. Скворцовой, Т.Г. Залевской и Е.А.Куливацкой.

ГЛАВА 1

ОСОБЕННОСТИ ГИДРОЭКОСИСТЕМ МОДЕЛЬНЫХ ВОДОЕМОВ И ВОДОТОКОВ

Исследованные гидробионты населяют водоемы и водотоки, входящие в состав Понто-Каспийского бассейна. История формирования Понто-Каспийского стока исследована достаточно подробно. В середине миоцена было сформировано Сарматское озеро-море, «принимавшее в себя сток крупных палео-речных бассейнов, послуживших основой для формирования речных долин Понто-Каспийского стока крупнейших рек этого района от Урала до Дуная». Следовательно, ихтиофауна бассейна Верхней Волги и Днестра изначально была представлена одними и теми же видами. Анализ работ, представленный этими авторами показал, что: «начиная с неогена... эволюцию основных речных долин и водосборных бассейнов определяли такие глобальные воздействия, как миоценовые тектонические подвижки и горообразование, покровные оледенения и межледниковья, трансгрессии и регрессии внутренних морей, активно происходивших на рассматриваемых территориях с середины плиоцена вплоть до начала голоцена. Современный гидрографический облик этих рек окончательно сформировался немногим более 10 тыс. лет тому назад после последнего крупного оледенения. В начале неогена происходит геологическое обособление речных бассейнов Понто-Каспийского стока и постепенное формирование близких к современным русел основных рек» (см. Слынько, Терещенко, 2014). Настоящий облик Верхней Волги начал формироваться в 40-е годы прошлого века, когда была построена Рыбинская ГЭС и началось заполнение водохранилища, закончившееся в 1947 г. Ниже дано краткое описание Рыбинского и Кучурганского водохранилищ, а также р. Днестр, включающее как описание их гидрологических особенностей, так и своеобразие фауны.

1.1. Краткая характеристика Рыбинского водохранилища

Особенности климата и гидрологии. Рыбинское водохранилище расположено на северо-востоке Европейской части России, в подзоне южной тайги. Климат бассейна Верхней Волги формируется под воздействием морских и континентальных воздушных масс и характеризуется как умеренно-континентальный лесной зоны, с умеренно-теплым летом, продолжительной умеренно-холодной зимой и неустойчивым

режимом погоды. Период с отрицательной температурой длится более 3 месяцев (Буторин и др., 1982). В последние годы наблюдается устойчивый тренд повышения температуры воздуха и воды. Так, в период 1976-2005 г.г. средняя температура воды в водохранилище в летний период выросла на 3.1°C , в осенний – на 1.1°C (Litvinov, Roshchupko, 2010). Рыбинское водохранилище – крупный искусственный равнинный водоем озерного типа с годовой сменой объема воды. Водохранилище относится к третьей ступени Волжского каскада. Расположено на северо-востоке Европейской части России в южной части Молого-Шекснинской низины ($58^{\circ}22'30''$ северной широты, $38^{\circ}25'04''$ восточной долготы), площадь – около 4550 км^2 (Рыбинское водохранилище, 1972). В водоеме выделяют три плеса речного типа – Волжский, Моложский, Шекснинский и один плес озерного типа – Главный (Рис. 1.1).

Водохранилище образовано затопленными долинами рек и участком Молого-Шекснинского междуречья. Площадь зеркала при нормальном подпорном уровне составляет 4550 км^2 . Равнинный характер затопленной территории определил озеровидную форму и небольшую среднюю глубину водохранилища (5.6 м). Максимальная глубина водохранилища наблюдается в руслах затопленных рек и достигает 30.4 м . Основная часть воды поступает в водохранилище с речным стоком и сбрасывается через Рыбинский гидроузел. Амплитуда колебания уровня воды в водохранилище в течение года близка 5 м . В Рыбинском водохранилище выделяют три характерных периода колебаний уровня – весенний, летне-осенний и зимний (Буторин, 1963). Наиболее значительно уровень воды понижается в зимний период, когда площадь водоема может уменьшиться до 48%, а объ-



Рис. 1.1. Расположение Рыбинского и Кучурганского водохранилищ.
Примечание. 1 – Рыбинское водохранилище, 2 – Кучурганское водохранилище

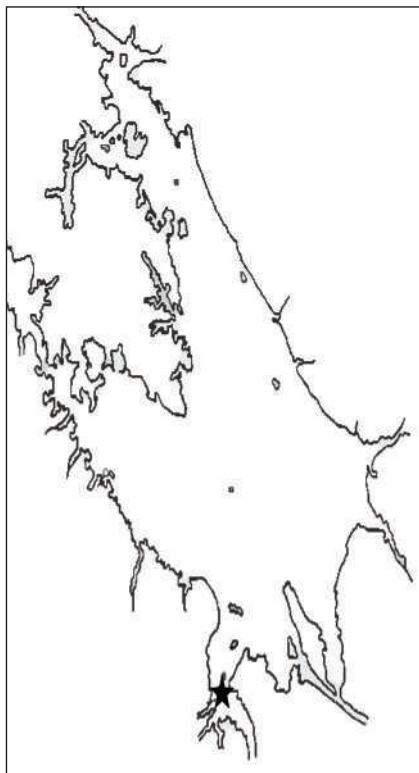


Рис. 1.2. Схема Рыбинского водохранилища.

Примечание. ★ Волжский плес Рыбинского водохранилища

ем – до 67%. Наполнение водоема происходит в период весеннего половодья (Экологические проблемы..., 2001).

В настоящее время абиотическая основа Рыбинского водохранилища представлена тремя важнейшими биотопами: а) затопленные русла крупных рек (прежде всего Волги, Мологи и Шексны), характеризующиеся большими глубинами (10-16 м) и значительным уклоном дна на кромке, где субстрат представлен исключительно илами различной природы; б) Глубоководная пойма – понижения дна с глубинами 6-10 м (затопленные озера, старицы, балки, долины рек, где субстратом по большей части являются серые илы и, в меньшей степени, песчаные илы и илистый песок); в) мелководная пойма – вся литораль и возвышения дна (подводные плато), характеризующиеся малыми глубинами (<6 м) и ровным рельефом дна, где субстрат до глубины 4-5 м представлен песком, а на больших глубинах – илистым песком (Герасимов, 2015).

В Рыбинском водохранилище в основном преобладают стоковые и ветровые течения. Преобладают ветра юго-западного и западного направлений. Количество штормовых ветров, превышающих 8 м/с, иногда достигают 200 в год. Высота волны достигает 2.5 м, а их размывающее действие – глубины 10 м. Максимальная скорость течения, превышающая 1 м/с, наблюдается в период весеннего половодья в верховьях речных плесов. В нижних участках плесов течение составляет лишь 0.05-0.13 м/с (Экологические проблемы..., 2001). В образовании грунтов основную роль играет стоковое течение. В настоящее время около 55% площади дна занята песками и илистыми песками, 17% – почвами и 17% – песчаным и серым илом. Доля других типов отложений составляет примерно 2-6%. Почвы и пески расположены в осушаемой зоне открытого побережья на глубине 0-4 м. На глубине 4-8 м грунт представлен в основ-

ном песками с различной степенью заиления, песчанистыми и торфяными илами. Ниже дно покрывают песчанистые, торфяные и серые илы, а глубже 14 м практически все дно покрывают серые илы. Механический состав донных отложений водохранилища характеризуется отсутствием частиц, превышающих 0.5 мм. Около 16 % площади водохранилища покрыто макрофитами (Экологические проблемы..., 2001; Рыбинское водохранилище, 1972).

Термический режим. Рыбинское водохранилище имеет сложный температурный режим, так как в него впадают три крупные реки, имеющие разный теплозапас. Разность температур по глубине может составлять до 15°C. В наибольшей степени температурное расслоение характерно для глубоководных озерных участков, где скорость течения невелика. Ветровое перемешивание воды является основным источником поступления тепла в придонные слои водохранилища. В период максимального прогрева воды происходит выравнивание температуры, как по акватории, так и по глубине. Среднегодовая температура Рыбинского водохранилища составляет 8°C (Литвинов, Законнова, 2012). Летом поверхностный слой воды прогревается до 20-23°C, в толще воды составляет примерно 18-22°C. Температура грунта в данный период достигает 20-25°C. Этому способствует мелководность водоема и интенсивное ветровое перемешивание водной толщи. Безледный период продолжается примерно 192 сут. Период ледостава в водоеме длится с середины ноября до конца апреля в среднем 152 сут. Минимальная температура воды наблюдается зимой (0.1-0.5°C). Становление льда происходит неравномерно из-за наличия огромных площадей прибрежных песчаных мелководий, глубоких русел рек и котловин затопленных озер. Толщина ледяного покрова – 60-80 см (Буторин и др., 1982; Экологические проблемы..., 2001). Современный этап характеризуется потеплением, наиболее резким на рубеже веков (Герасимов, 2015).

Химический состав воды. Воды Рыбинского водохранилища относятся к слабо минерализованным гидрокарбонатным группы кальция. Минерализация водохранилища небольшая – около 100 мг/л. Вследствие слабой забуференности водохранилища, происходят частые колебания значений pH воды. Показатель pH воды с мая по октябрь варьирует в пределах 7.0-8.9. Максимальный уровень pH наблюдается летом в центральной части водохранилища (Экологические проблемы, 2001). Водохранилище сильно гумифицировано. Среднее содержание растворенных органических веществ (РОВ) в воде 10-12 мг С/л. В водоем поступает в несколько раз больше аллохтонного органического вещества, чем синтезируемого в нем растительностью автохтонного (Рыбинское водохранилище, 1972). Приток аллохтонных органических веществ составляет 54%, продукция планктона – 34% от общего годового поступления органического вещества. Более 60% органического вещества рас-

падает в воде или поступают в донные отложения водоема, остальное (около 30%) с речным стоком выносится в Горьковское водохранилище (Законнов, Зимина, 1984). Как известно, донные отложения водоемов служат аккумулятором органических веществ и резервом для биогенных элементов. Содержание биогенных элементов ($N_{\text{общ}}$ и $P_{\text{общ}}$) увеличивается в направлении от речных плесов к Главному плесу.

Биота Рыбинского водохранилища. В развитии экосистемы Рыбинского водохранилища выделено несколько периодов с различным уровнем продуктивности:

I – первичное слабовыраженное эвтрофирование, которое продолжалось от начала заполнения водохранилища (1941 г.) до 1955-1956 г.г., а в отдельных сообществах прослеживалось до начала 60-х годов XX века;

II – период низкой продуктивности экосистемы (деэвтрофирование), продолжавшийся с середины 50-х до конца 60-х годов XX века;

III – вторичное эвтрофирование, вызванное накоплением на дне водохранилища богатых легкоусвояемым органических веществ серых илов, которое началось в маловодные 70-е годы и продолжалось до середины 90-х годов XX века;

IV – период активизации инвазионных видов в маловодные 90-е годы, который продолжается до настоящего времени и сопровождается формированием биогенных биотопов, дивергенцией сукцессий зоопланктона и фитопланктона. Этот период протекает на фоне деэвтрофирования экосистемы водохранилища (Лазарева, 2010).

Наиболее эвтрофными считаются Волжский и Моложский плесы – 4.5 млн. кл./мл планктонных бактерий. Наименее эвтрофирован Главный плес – 3.5 млн. кл./мл планктонных бактерий (Экологические проблемы..., 2001). Антропогенное эвтрофирование влияет на состав и функционирование водных сообществ, главным образом, в Шекснинском и Волжском плесах (Экология фитопланктона, 1999). Считается, что в конце 70-х годов прошлого века завершился переход экосистемы Рыбинского водохранилища от мезотрофного состояния к эвтрофному. Начавшееся в 90-е годы деэвтрофирование экосистемы, с одной стороны вызвано снижением площади пахотных земель и поголовья скота на водосборе. С другой стороны, смена доминантных видов кладоцер в летнем планктоне (*Dosmina sp.* → *Daphnia galeata*) указывает на эвтрофирование, характерное для данной фазы климатического цикла (Лазарева, 2010).

Концентрация *микроорганизмов* в донных отложениях водоема составляет 0.7-9.97 млрд. кл./мл. Максимальная численность бактериобентоса характерна для илов устьевых участков рек. В устьях отмечены и наибольшие биомассы сообщества бактериобентоса – 1.18-1.54 г/л (Косолапов, 1996). Биомасса *фитопланктона* водохранилища варьирует в широких пределах по годам и участкам акватории. Суммарная биомасса фитопланктона водохранилища составляет 18.8 г/м³ (Эколо-

гия фитопланктона, 1999). Зоопланктон Рыбинского водохранилища в видовом отношении наиболее богат в речных плесах и в зонах смешения их вод с водами Главного плеса водохранилища, а также вблизи обширных мелководий. Количество видов, обнаруживаемых в одной пробе, максимально (32-45) в первой половине лета, во второй – обычно не превышает 25 видов (Лазарева, 2010). Биомасса зоопланктона водохранилища в вегетационный период в начале XXI в. составляла 1.7-3.0 г/м³, численность – 40-120 тыс. экз./м³ (Лазарева и др., 2001), численность и биомасса бентоса – 7413 экз./м² и 13.23 г/м² соответственно (Щербина, 2009). При этом численность и биомасса зоопланктона зависит от уровня воды, температуры, pH, кислородного и газового режима (Столбунова, 1993).

Значительную долю речного планктона составляют коловратки, тогда как среди озерных беспозвоночных преобладают ветвистоусые и веслоногие рачки. До последнего времени массовыми видами зоопланктона были *Keratella quadrata*, *K. cochlearis*, *Kellicottia longispina*, *Bosmina coregoni*, *Daphnia longispina*, *Mesocyclops leuckarti*. При этом *Bosmina coregoni* и *Daphnia longispina* могли составлять до 60% от всех представителей *Cladocera* (Семенова, 1968). Летом была многочисленна *Leptodora kindtii*, *Daphnia cucullata*, *Heteroscope appendiculata*. Весной в обилии встречались *Cyclops kolensis*, *C. strenuus*. Кроме того, были отмечены фитофильные и придонные ракообразные и коловратки: *Sida crystallina*, *Acanthocyclops viridis*, *Macrocyclus albidus*, *Euchlanis dilatata*. Из мезопланктонных форм обычными были велигеры дрейсены, планктонные стадии личинок тендипедид, статобласты мшанок (ЛуфEROва, Монаков, 1966; Столбунова, 1993).

Состав и соотношение численности доминантных видов зоопланктона Рыбинского водохранилища каждые 10 лет претерпевают обратимые изменения, которые можно назвать циклическими сукцессиями и которые обычно с некоторым запаздыванием следуют за сменой фаз гидрологического цикла. При этом, начиная с 60-х годов, в водохранилище нарастало обилие диаптомид *Eudiaptomus gracilis* и *E. Graciloides*, а в 80-е годы XX в. наблюдалась наибольшая за 50 лет численность и биомасса зоопланктона, однако уменьшилась максимальная численность и встречаемость пятен высокой концентрации рачков *Bosmina longispina*, *Limnoscida frontosa* и коловраток *Polyarthra vulgaris*. В начале XXI в. к широко распространенным в летнем планктоне водохранилища относилось >25 видов, которые в июне-августе встречались во всех четырех плесах водоема в 80-100% проб (Лазарева, 2010). Шестнадцать из них формируют сравнительно высокую численность и входят в состав доминантов современного зоопланктона пелагиали отдельных плесов водохранилища. Однако только пять из них многочисленны по всей его акватории (табл. 1).

Таблица 1. Относительное обилие доминантных видов (среднее май-октябрь) зоопланктона различных плесов Рыбинского водохранилища в 2007-2009 г.г. (по: Лазарева, 2010)

Вид	Плес			
	Главный (n = 86)	Моложский (n = 14)	Волжский (n = 23)	Шекснинский (n = 16)
Ракообразные, % от N_{crust}				
<i>Mesocyclops leukarti</i>	29±3	33±6	16±3	19±3
<i>Bosmina longispina</i>	20±3	12±6	9±4	—
<i>Thermocyclops oithonoides</i>	15±2	19±4	23±4	21±4
<i>Eudiaptomus gracilis</i>	9±1	—	—	17±3
<i>Cyclops kolensis</i>	8±2	—	—	—
<i>Daphnia galeata</i>	—	9±3	—	6±2
<i>Bosmina longirostris</i>	—	—	9±3	—
<i>Bosmina crassicornis</i>	—	—	—	10±2
Коловратки, % от N_{rot}				
<i>Keratella quadrata</i>	23±3	17±4	25±6	14±4
<i>Conochilus hippocrepis</i>	18±3	—	—	—
<i>Synchaeta pectinata</i> + <i>S. tremula</i>	13±1	21±5	33±7	21±6
<i>Conochilus unicornis</i>	8±2	19±6	—	19±7
<i>Polyarthra major</i> + <i>P. luminosa</i>	6±1	13±4	7±2	19±5
<i>Keratella cochlearis</i>	—	6±4	18±8	—

Анализ потребления зоопланктона беспозвоночными хищниками показал, что около 70% продукции сообщества не использовалось хищными зоопланктерами и было доступно для обеспечения пищевых потребностей рыб. Основным ресурсом для планктофагов служили кладоцеры, которые формировали большую часть (более 70%) «чистой» доступной для рыб продукции зоопланктона.

В составе бентоса встречаются простейшие, круглые и малощетинковые черви, пиявки, моллюски, ракообразные и личинки многих водных насекомых. Фитобентос представлен главным образом водорослями и различными цветковыми растениями. В состав мейобентоса входят 242 представителя из 15 таксономических групп. Основная масса бентоса локализована в речных плесах и по периферии водоема, причем около $\frac{3}{4}$ его площади имеет биомассу менее 5 г/м² (Иванова и др., 1978; Щербина, 1993; Гусаков, 1993). При этом большим видовым разнообразием отличается население профундали, что связано с большей стабильностью условий существования (отсутствие волнового воздействия) по сравнению с открытой литоралью (Гусаков, 1993). Для питания рыб особый интерес представляет то обстоятельство, что в водохранилище многочисленны личинки хирономид, особенно *Chironomus plumosus* и олигохеты, представленные двумя семействами: Tubificidae, Lumbriculidae. Важную

роль в питании некоторых видов рыб играют брюхоногие моллюски, включающие представителей подкласса Prosobranchia (р.р. *Valvata*, *Viviparus*, *Bithynia*), и двустворчатые моллюски, относящиеся к подклассам Unionidae (р.р. *Unio* и *Anodonta*, а также Sphaeriidae, р.р. *Sphaerium* и *Pisidium*). Заметное влияние на структуру бентоса на протяжении многих лет оказывала дрейссена *Dreissena polymorpha*, максимум численности которой приходился не 70-е – 80-е годы прошлого века. Однако на рубеже веков численность этого моллюска значительно снизилась (Герасимов, 2015). Сопоставление состава донной мейофауны Рыбинского водохранилища и других водоемов дало основание предположить, что мейобентос Рыбинского водохранилища в значительной мере сходен с таковым других крупных водохранилищ и озер европейской части России и Украины (Гусаков, 1993).

Рыбное население бассейна Верхней Волги представлено 67 видами рыб, относящимся к 50 родам, 22 семействам и 11 отрядам. Наибольшее число таксонов приходится на долю карпообразных – 36 видов, 26 родов, 4 семейства, окунеобразных – 9 видов, 7 родов, 4 семейства и лососеобразных – 8 видов, 6 родов, 5 семейств (Яковлев и др., 2001). Однако в настоящее время многие виды уже не встречаются в Рыбинском водохранилище, или встречаются крайне редко. Последнее относится к европейской ряпушке *Coregonus albula*, снетку *Osmerus eperlanus eperlanus*, золотому карасю *Carassius carassius* и серебряному карасю *Carassius auratus gibelio*, ершу *Gymnocephalus sernua* и некоторым другим видам. Ранее отмечалось изменение состава массовых видов рыб в последние десятилетия. Ранее доминировали лещ *Abramis brama*, синец *Abramis ballerus*, обыкновенный судак *Zander lucioperca*, густера *Blicca bjoerkna*, плотва *Rutilus rutilus*, налим *Lota lota*, речной окунь *Perca fluviatilis* и обыкновенная щука *Esox lucius*, а в меньшей степени были представлены берш *Zander volgense*, уклея *Alburnus alburnus*, язь *Leuciscus idus* и чехонь *Pelecus cultratus* (Поддубный, 1971; Иванова и др., 1978). В последние годы щука, окунь, ерш и язь редко встречаются в уловах (Герасимов, Новиков, 2001), экологическую нишу снетка занимает тюлька *Clupeonella cultriventris*, а в некоторых участках водохранилища доминирует елец *Leuciscus leuciscus* (Яковлев и др., 2001; Слынько, Терещенко, 2014; Герасимов, 2015).

Исследованные виды рыб. Материал получен в Волжском плесе Рыбинского водохранилища. Исследованы рыбы, относящиеся к 4 отрядам и 6 семействам (Никольский, 1954; Аннотированный каталог..., 1998): отр. Salmoniformes лососеобразные, п/отр. Esocidae, сем. Esocidae щуковые, обыкновенная щука *Esox lucius* L.; отр. Cypriniformes карпообразные, сем. Cyprinidae карповые, лещ *Abramis brama*, плотва *Rutilus rutilus*; отр. Gadiformes трескообразные, сем. Lotidae налимовые, налим *Lota lota*; отр. Perciformes окунеобразные, п/отр. Percidae, сем. Percidae окуневые, речной окунь *Perca fluviatilis* и обыкновенный судак *Sander lucioperca*. Молодь

рыб на ранних стадиях развития питается планктоном: вначале мелкими формами - водорослями, инфузориями, мелкими коловратками, личинками червей и моллюсков, затем более крупными – науплиями и копеподами, а также мелкими особями взрослых ракообразных, постепенно переходя на питание крупными планктонными организмами (Луферова, Монаков, 1966). Впоследствии большинство видов рыб переходит на другие виды корма и начинается расхождение пищевых спектров рыб, а, следовательно, и дифференциация кормовой базы. При этом исследованные ими виды рыб относятся по типу питания к разным экологическим группам. Щука и судак по типу питания относятся к группе типичных ихтиофагов, налим и окунь – к группе ихтиофагов-факультативных бентофагов, лещ и плотва – к группе типичных бентофагов (Поддубный, 1971; Володин, 1993; Герасимов, 2015).

1.2. Характеристика Кучурганского водохранилища

Особенности климата и гидрологии. Кучурганское водохранилище относится к черноморской климатической подобласти, которая является частью атлантико-континентальной степной климатической области. Зима обычно мягкая, нестойкая, характеризуется сменой морозных периодов оттепелями (Берлунд, Сноа, 2005). Кучурганское водохранилище – водоем-охладитель Молдавской ГРЭС, мощностью 2,52 ГВт. Расположено на крайнем юго-западе Восточно-европейской (Русской) равнины (46°36'00" северной широты и 29°58'00" восточной долготы). По сравнению с Рыбинским водохранилищем имеет на порядок меньший размер. Площадь водохранилища – около 27.3 км². Средняя глубина 3.5 м, максимальная – 5.6 м. Объем воды – 88 млн. м³.

Кучурганский лиман до зарегулирования и превращения его в 1964 г. в водохранилище-охладитель Молдавской ГРЭС представлял собой сохранившийся остаток когда-то большого Приднестровского лимана (Ярошенко, 1957), что косвенно подтверждается наличием в его донной фауне реликтовых гидробионтов понто-каспийского фаунистического комплекса (Филипенко, 2005; Philipenko, 2015). Естественное водное питание лимана осуществляли р. Днестр через рукав Турунчук и небольшая, часто пересыхающая р. Кучурган.

В настоящее время Кучурганское водохранилище по типу питания относится к наливным водоемам с оборотным водоснабжением ГРЭС (Philipenko et al., 2013). Акватория водохранилища условно подразделяют на три участка: верхний, средний и нижний с площадью 580, 800 и 1350 га соответственно (Рис. 1.3).

Движение водных масс определяется сбросом воды из двух технологических каналов ГРЭС. Подпитка водохранилища осуществляется путем

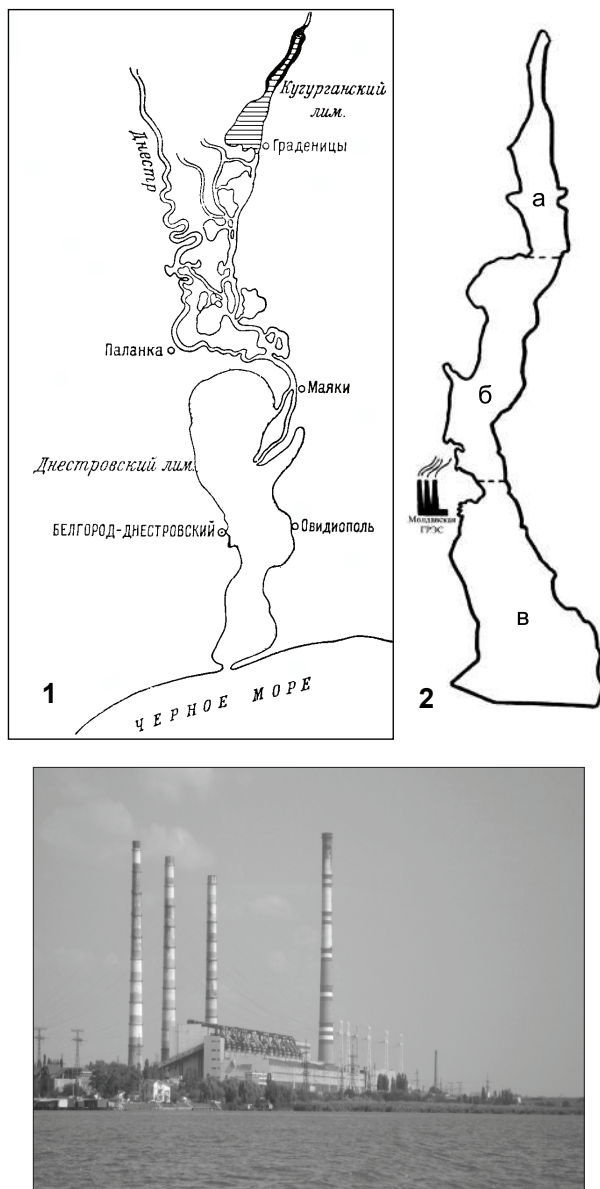


Рис. 1.3. Карты-схемы Кучурганского водохранилища-охладителя Молдавской ГРЭС и общий вид Молдавской ГРЭС

1 – Эстуарная система Днестра (по Ю.М. Марковскому), 2 – Кучурганское водохранилище:
а – верхний участок, б – средний участок, в – нижний участок

принудительной закачки воды из р. Турунчук. Дно водохранилища в основном (на 80%) покрыто глинистым илом, толщина которого колеблется от 0.5 до 1 м, около 15% береговой кромки покрыто заиленным песком (Кожухарь, Бызгу, 1972; Ярошенко, Горбатенький, 1973). В результате бурного развития популяции дрейссены, дно водоема к началу 2000-х гг. на большей части его акватории оказалось сплошь покрыто пустыми раковинами этого моллюска, вследствие чего характер грунта изменился от илистого к ракушечнику. Местами масса ракушечника доходила до 5 и выше кг/м² площади дна Кучурганского водохранилища (Филипенко, 2001).

Водохранилище подвержено усиленному зарастанию высшей водной растительностью. Доминирующим среди жесткой надводной растительности водоема является тростник южный *Phragmites australis*. Степень его распределения по акватории водохранилища не равномерна. В большей степени зарастанию подвержен верхний, самый узкий участок водохранилища, который практически весь покрыт тростником, ширина зарослей которого здесь достигает до 1000-1500 м.

Нижний участок водохранилища, а именно его береговая линия, зарастает тростником в большей степени, чем средний участок и в меньшей, чем верхний. Ширина тростниковых зарослей в среднем составляет 35-40 м. Плотность зарастания береговой линии тростником в среднем по водохранилищу достигает 50-70 экз./м². Среди тростника встречаются вкрапления небольших групп рогоза широколистного *Typha latifolia*, который не вносит существенной роли в зарастание акватории водохранилища (Филипенко, Тищенко, 2010). Общая площадь зарастания тростником Кучурганского водохранилища составляет 498 га, или 19% всей площади водоема-охладителя Молдавской ГРЭС (Филипенко и др., 2013). Среди гидрофитов Кучурганского водохранилища массового развития в весенний период достигает рдест курчавый *Potamogeton crispus*, занимающий около 80% площади водного зеркала открытой акватории нижнего и верхнего участков водохранилища. В летний период рдесты отмирают и, осаждаясь в большом количестве на дно водохранилища, способствуют его эвтрофированию.

Термический режим. На температурный режим водохранилища значительное влияние оказывает сброс подогретых вод Молдавской ГРЭС и отсутствие естественного водообмена с речной экосистемой Днестра.

В период максимальных объемов вырабатываемой Молдавской ГРЭС электроэнергии (1981-1985 гг.) водохранилище было отнесено к сильно перегреваемым водоемам-охладителям ТЭС. В нем температура воды в 2-3 раза превышала предельно допустимые значения. Среднегодовая температура воды нижнего участка составляла 19.6°C, превышая естественную на 6.1°C. В этот же период заметно повысилась среднегодовая температура воды среднего участка – 17.5°C, что на 4°C больше

естественной. К этому периоду в зоне циркуляции и охлаждения находилось около 70% площади водохранилища (Нартыш, 1998). В то же время, среднегодовая температура воды протоки Турунчук – основного источника для поддержания необходимого уровня воды в водохранилище практически не изменилась и составила 11.1-11.4°C (Горбатенький, Бызгу, 1988).

В последние десятилетия тепловая нагрузка на водохранилище значительно снизилась в связи с уменьшением производственной мощности ГРЭС, что привело к снижению среднегодовой температуры воды от 17.7 до 14.8°C. В отдельные годы летом вода водохранилища может прогреваться до 30-35°C, что губительно сказывается на состоянии гидробионтов (Филипенко и др., 2009; Мелеховец и др., 2009).

Химический состав воды. Термический режим водохранилища, в значительной степени способствующий повышенной эвтрофикации, влияет на накопление соединений азота, фосфора и органических веществ. Содержание $N_{\text{общ}}$ в среднем составляет 1.36 мг/л, $P_{\text{общ}}$ – 0.158 мг/л, РОВ – 57.4 мг/л (Филипенко и др., 2009). Вследствие испарения с водной поверхности, сопряженного с отсутствием естественного водообмена, увеличивается процесс минерализации воды. В Кучурганском водохранилище минерализация воды колеблется в диапазоне 575-1200 мг/л, достигнув в последние годы 1800-1975 мг/л, что превышает ПДК в несколько раз. По ионному составу водоем относится к гидрокарбонатно-сульфатно-хлоридному классу. Минерализация воды возрастает от нижнего участка водохранилища к верхнему – месту впадения р. Кучурган, несущей высокоминерализованные дренажно-стоковые воды, где ее уровень доходит до 3827 мг/л. (Филипенко, 2005; Тихоненкова, 2015). рН воды в Кучурганском водохранилище варьирует от 7.9 до 8.15 (Филипенко и др., 2009).

Биота Кучурганского водохранилища. Значительный, но неодинаковый прогрев водных масс по акватории Кучурганского водохранилища отражается на продуктивности и численности бактерий. Эти показатели находятся в пределах 0.5–10.2 млн.кл./мл воды и 8.1-90.0 млрд.бакт./г сырого грунта (Мордухай-Болтовской, 1975).

Кучурганское водохранилище характеризуется богатым видовым составом фитопланктона. В фитопланктоне водохранилища в настоящее время отмечены 345 видов (в 1965-1988 гг. – 551 вид), в том числе Cyanophyta – 71, Cryptophyta – 4, Dinophyta – 6, Chrysophyta – 2, Bacillariophyta – 129, Euglenophyta – 24, Chlorophyta – 109. Среднесезонные величины валовой первичной продукции фитопланктона водохранилища составляют 3.48-3.89 г O_2/m^2 в сутки (Ungureanu, 2014).

Зоопланктон водохранилища формируют около 40 видов из коловраток, ветвистоусых и веслоногих ракообразных. Доминирующий состав зоопланктона следующий: Rotatoria – *Keratella quadrata*, *K. cochlearis*, *Bra-*

chionus angularis, *Br. budapestinensis*, *Br. calyciflorus*, представители родов *Asplanchna*, *Synchaeta* и *Polyarthra*; Cladocera – *Bosmina longiristris*, *Chydorus sphaericus*; Copepoda – копепоидные и науплиальные формы циклопид. Средняя численность и биомасса зоопланктона в водохранилище в 2009-2014 гг. составили 48630 экз./м³ и 645.54 мг/м³ (Чур, 2012, 2015).

Донная фауна Кучурганского водохранилища до ввода в эксплуатацию Молдавской ГРЭС была довольно богата и разнообразна, будучи представленной 167 видами. В период слабой тепловой нагрузки в водоеме-охладителе было отмечено 190 таксонов донных гидробионтов, из которых 16 % составили понто-каспийские виды. В 80-х гг. XX в. видовое разнообразие донных сообществ водохранилища сократилось почти на 70 видов (Владимиров, Тодераш, 1988). В тоже время на данном этапе развития гидробиологического режима водоема было зарегистрировано 25 ранее не отмеченных видов, в основном из хирономид и моллюсков. В итоге к этому времени фауна зообентоса насчитывала 168 таксонов.

Зообентос водохранилища на протяжении последних лет сохраняет свойственный этому водоему качественный состав, сформировавшийся в результате превращения лимана в водоем-охладитель Молдавской ГРЭС. «Мягкий» бентос, как и прежде, формируют олигохеты, полихеты, высшие ракообразные, хирономиды и личинки других амфибиотических насекомых. Средние количественные показатели «мягкого» бентоса в 2004-2014 гг. составили 7976 экз./м² с биомассой 28.5 г/м². Малакофауну по численности и биомассе определяет дрейссена. Общий бентос водохранилища в настоящее время составляет в среднем по численности 8798 экз./м² и биомассе 313.6 г/м².

Ведущим компонентом кормового зообентоса водохранилища является олигохетно-хирономидный комплекс. Олигохеты водохранилища (около 40 видов) в основном представлены тубифицидами. Наиболее распространены представители семейства *Tubificidae*: *Limnodrilus hoffmeisteri*, *L. clapparedanus*, *Psammoryctes barbatus*, *Tubifex tubifex* и других высокопродуктивных эврибионтных видов. Численность олигохет на протяжении 2004-2014 гг. оставалась стабильно высокой и составляла в среднем 6904 экз./м² с биомассой 11.5 г/м² (Филипенко, 2014, 2015).

Среди 56 видов хирономид Кучурганского водохранилища массовыми являются: *Chironomus plumosus*, *Leptochironomus tener*, *Limnochironomus nervosus*, *Cryptochironomus defectus*, *Procladius ferrugineus*, *Polypedium bicrenatum* и другие. В результате изменения уровня термофикации водохранилища произошла смена массовых видов хирономид, причем *Chironomus plumosus* усилил свое доминирование – его доля от всех хирономид по численности составляет около 40 % и по около 70% по биомассе (Филипенко et al., 2013). Средние показатели численности хирономид за 2004-2014 гг. составили 902 экз./м² с биомассой 16.1 г/м².

Высшие ракообразные водохранилища в основном представлены гаммаридами и корофидами, реже встречались кумовые ракообразные и мизиды. Из гаммарид в водохранилище обычны *Dikerogammarus haemobaphes*, *D. villosus*, *Pontogammarus robustoides*, *P. crassus*, а из корофиид – *Corophium maeticum*. На протяжении 2004-2014 г.г. численность высших ракообразных оставалась незначительной, в среднем 61 экз./м² с биомассой 0.33 г/м². В последние годы численность высших ракообразных в дночерпательных пробах, по сравнению с 1981-2000 г.г., существенно сократилась. Среди зарослей макрофитов в водохранилище обычна интродуцированная в 1984 г. пресноводная креветка *Macrobrachium nipponense*.

Фауну личинок амфибиотических насекомых водохранилища (без хиромомид) формируют *Ceratopogonidae*, *Ephemeroptera*, *Odonata*, *Trichoptera* и *Diptera*. Все эти группы зообентоса в водохранилище малочисленны на открытых грунтах и в основном распространены в прибрежной зоне зарослей макрофитов. Среди олиго- и мезосапробов можно отметить такие виды: *Palingenia longicauda*, *Potamanthus luteus*, *Cloen dipterum*, *Heptagenia sulfurea*. Среди личинок стрекоз обычны *Coenagrion puella*, *C. pulchellum*, *Aeschna sp.*, *Gomphus vulgatissimus*, из ручейников встречаются *Orthotrichia tetensii* и *Agraylea multipunctata*.

В настоящее время в донной малакофауне Кучурганского водохранилища отмечено около 35 видов моллюсков, в том числе *Theodoxus fluviatilis*, *Valvata piscinalis*, *Lithoglyphus naticoides*, *Viviparus contectus* и др. Среди двустворчатых особенно многочисленна *Dreissena polymorpha*. Кроме нее среди понто-каспийских реликтов в водохранилище встречается *Hypanis pontica*.

Ихтиофауна Кучурганского водохранилища в настоящее время представлена 38 видами рыб, относящихся к 12 семействам. За последние 25-30 лет из контрольных уловов выпали 10 видов рыб, присутствие которых в водохранилище теоретически допустимо, однако численность их крайне мала. Вместе с тем, в ихтиофауне водохранилища растет численность новых непромысловых видов – бобырца *Leuciscus borysthenicus* и бычка Книповича *Knipowitschia longicaudata*, а также солнечного окуня *Lepomis gibbosus* (Usatii и др., 2011; Стругуля, 2015).

Поскольку на примере Кучурганского водохранилища впервые были подробно исследованы характеристики ферментов рыб и их потенциальных объектов питания, в этом разделе более подробно, чем в предыдущем, будут рассмотрены представители ихтиофауны и кормовая база рыб этого водоема.

Рыбы, исследованные в качестве консументов. Наиболее значительный материал получен при исследовании рыб, относящихся к 2 отрядам и 3 семействам (Никольский, 1954; Аннотированный каталог..., 1998): отр. Cypriniformes карпообразные, сем. Cyprinidae карповые, карп *Cypr-*

nus carpio L., карась *Carassius auratus* (L.), лещ *Abramis brama* (L.); отр. Perciformes окунеобразные, п/отр. Percoidei, сем. Percidae окуневые речной окунь *Perca fluviatilis* L., обыкновенный судак *Sander lucioperca* (L.), сем. Centrarchidae центарховые, или ушастые окуни, солнечный окунь, солнечник или царек *Lepomis gibbosus* (L.).

Рыбы, исследованные в качестве потенциальных объектов питания. В качестве потенциальных объектов питания типичных и факультативных ихтиофагов исследована молодь 4-х видов рыб, относящихся к 2 отрядам и 3 семействам: отр. Cypriniformes карпообразные, сем. Cyprinidae карповые, тарань *Rutilus rutilus heckelii* (L.) и красноперка *Scardinius erythrophthalmus* (L.); отр. Perciformes окунеобразные, п/отр. Percoidei, сем. Percidae окуневые ерш обыкновенный *Gymnocephalus cernuus* (L.); п/отр. Gobioidae, сем. Gobiidae, бычок-песочник *Neogobius fluviatilis* (Pallas).

В качестве потенциальных объектов питания бентофагов исследованы представители 3-х типов, относящиеся к 5-и классам, 8-и отрядам (Мордухай-Болтовской, 1978; Догель, 1981; Барнс и др., 1992; Монаков, 1998; Филипенко, 2005). Тип Mollusca – Моллюски: кл. *Bivalvia*, отр. *Venerida*, сем. *Dreissenidae*, дрейссена *Dreissena polymorpha* (Pallas); Тип Annelida – Кольчатые черви: п/тип *Clitellata*, кл. *Oligochaeta* сем. *Tubificidae*, трубочник *Tubifex* sp. Тип Arthropoda – Членистоногие: кл. Malacostraca, н/отр. Peracarida, отр. Amphipoda бокоплав, сем. Gammaridae, *Dikerogammarus haemobaphes* и *D. Vilosus*, а также сем. Corophiidae, *Corophium maeoticum*; кл. Crustacea, отр. Cladocera, Cyclopoida, Copepoda и Ostracoda – суммарные пробы рачкового зоопланктона; кл. Insecta, отр. Odonata, сем. Chironomidae, комар-звонец *Chironomus plumosus* (L.), личинки.

1.3. Характеристика р. Днестр

Особенности климата и гидрологии. Днестр – одна из крупнейших и наиболее извилистых рек в Восточной Европе. Относится к бассейну Черного моря. Большая длина реки, которая берет начало в Карпатах и впадает в Днестровский лиман Черного моря, обуславливает заметные различия в климатических характеристиках бассейна. В формировании климата верхнего и среднего участков бассейна реки большую роль играют Карпаты и Волынская возвышенность. Нижняя часть бассейна принадлежат Черноморской климатической подобласти, которая является частью атлантико-континентальной степной климатической области. Зима здесь обычно мягкая, нестойкая, характеризуется сменой морозных периодов и оттепелей. Для весеннего периода характерна постепенная трансформация воздушных масс умеренных широт в тропические. В мае наступает безоблачная и жаркая погода. Средняя годовая

температура воздуха составляет 9.0-10.0°C. Количество осадков убывает с северо-запада на юго-восток от 591 мм до 470 мм. Годовой ход абсолютной влажности воздуха синхронен с годовым ходом температуры воздуха: максимум зафиксирован в июле, минимум - в январе (Берлунд, Сноа, 2005).

Исток реки находится в Карпатах на высоте 900 м (Сарматские горы в Хронике Длугоша) с. Волчье (Турковский район Львовской области Украины, 49°10'31" с.ш. 22°53'17" в.д.). Устье реки (46°18'14" с.ш., 30°16'25" в.д.) – Днестровский лиман, который соединен с Черным морем. Длина реки составляет 1352 км, площадь бассейна – 72.1 тыс. км². Средний расход воды в нижнем течении реки – 310 м³/с, объем годового стока – 10 млрд.м³. По условиям питания, водного режима и физико-географическим особенностям русло Днестра также принято делить на три части: верхнюю – Карпатскую (длина 296 км), Среднюю – Подольскую (длина 715 км) и Нижнюю (длина 351 км) (Экосистема нижнего Днестра..., 1990). В верховьях Днестр протекает в глубокой узкой долине и носит характер быстрой горной реки. Река в этой части характеризуется значительными перепадами высот и водопадами через каждые 2-3 км. Скорость течения в этом районе составляет 2-2.5 м/с. Ширина Днестра на этом участке достигает 100 м, глубина – 2.5-3 м. На среднем участке долина Днестра заметно расширяется, достигая в низовье до 10-16 км. Поскольку уклоны русла незначительны, река образует крупные излучины – меандры, встречаются плавни. Средняя скорости течения – 0.2-0.7 м/с (Берлунд, Сноа, 2005).

Нижняя часть бассейна р. Днестр находится в границах Причерноморской низменности и имеет равнинный рельеф степного типа. Скорость течения в нижней части Днестра снова возрастает от 0.2-0.4 м/с на плесах до 0.5-0.9 м/с на перекатах. Глубина реки на перекатах – 1.6-2.5 м, на плесах – 4.8 м, а в некоторых местах – от 10 до 16 м. Средняя ширина этой части Днестра составляет 100-200 м. За 146 км до устья влево от Днестра отходит рукав р.Турунчук, который вновь соединяется с Днестром (Берлунд, Сноа, 2005). Дельта Днестра является местом гнездования большого количества птиц, многие из которых внесены в Красную книгу, на ее территории произрастает большое количество редких видов растений. Низовья Днестра, в частности район слияния Днестра с р.Турунчук, занесены в международный список Рамсарской конвенции о защите водно-болотных угодий. На территории Одесской области в плавнях создан «Нижнеднестровский национальный природный парк».

Термический режим. Термический режим в разных участках р. Днестр значительно различается. Большую роль играет горное происхождение реки. В результате этого вода в верхнем течении никогда не бывает теплой. Термический режим среднего течения реки существенно

изменился в негативную сторону в результате строительства и эксплуатации Новоднестровской ГАЭС (гидроаккумулирующей электростанции). Вследствие слива воды с глубинных горизонтов водохранилища ГАЭС температура воды среднего течения Днестра колеблется в пределах +8 +10 °С, даже в середине лета, при температуре воздуха в пределах +25 +35 °С (Лешану и др., 2012). Температура воды по ходу течения реки постепенно повышается и максимальная температура наблюдается у устья. Средняя летняя температура поверхностного слоя воды на участке реки в районе г. Тирасполь составляет 22°С, возле п. Маяки – 23°С (Мелиян, Кожушко, 2012).

Химический состав воды нижнего Днестра. Величина минерализации воды варьирует в интервале от 305 до 495 мг/л. Воды Днестра согласно классификации О.А. Алекина (1970), относятся к гидрокарбонатному классу группы кальция, II-III типа. Величины концентрации общего азота и соотношение минеральных форм азота в воде характеризуют реку Днестр как мезо- и эвтрофный водный объект. Содержание $N_{\text{общ}}$ в среднем составляет 3.4 мг/л, $P_{\text{общ}}$ – 0.15 мг/л, POB – 12-14 мг/л (Зубкова и др., 2009).

По данным Е.Н. Филипенко и соавторов (2012), гидрохимические показатели воды р. Днестр в районе г. Тирасполь за 2007-2010 г.г. были следующими. Содержание взвешенных веществ составило 14.34 мг/дм³. Будучи относительно стабильным, этот параметр изменялся незначительно по сравнению со средним значением. Среднегодовые показатели БПК₅ составляют 3.12 мг О₂/л. Содержание аммиака и ионов аммония по N колеблется незначительно – 0.34 мг/дм³. Среднее значение содержания нитритов находится на уровне 0.014 мг/дм³, не достигая значений ПДК (3.3 мг/дм³), что указывает на благополучное состояние воды по этому параметру. Среднее значение содержания нитратов – 1.54 мг/дм³, что не достигает и половины значения ПДК (4.5 мг/дм³). Содержание нефтепродуктов составило в среднем 0.22 мг/дм³. Концентрация сульфатов соответствовала 42.95 мг/дм³, при ПДК равным 50 мг/дм³, минерализация воды – в среднем 342.58 мг/дм³. Содержание железа находится на уровне 0.26 мг/дм³.

Содержание в воде растворенного кислорода колеблется от 10.10 до 10.39 мг/дм³ (среднее значение в районе г. Тирасполь – 10.22 мг/дм³). Величина рН воды колеблется от 8.12 до 8.25 (среднее значение рН – 8.19, при ПДК 8.5), что классифицирует воду, как слабощелочную. По сравнению с другими гидрохимическими показателями, щелочность днестровской воды варьирует в более широких пределах, как в разные годы, так и в разные месяцы от 189.12 до 197.60 ммоль/дм³ составляя в среднем 192.37 ммоль/дм³. Среднее значение общей жесткости по руслу р. Днестр в районе г. Тирасполь составляет 4.175 ммоль/дм³, что далеко от ПДК (10 ммоль/дм³).

Ни по одному из вышеуказанных 13 гидрохимических показателей воды нижнего течения Днестра в районе г. Тирасполь не превышены предельные значения ПДК. Среднее значения содержания в воде аммиака и ионов аммония по N, нефтепродуктов, Fe и pH приближаются к значениям ПДК.

Биота р. Днестр. Численность бактериопланктона в русле реки возрастает к нижнему течению и варьирует от 0.21 до 5.71 млн.кл./мл., в том числе сапрофитных бактерий в пределах 0.6-94.1 тыс.кл./мл. (Ştirbu et al., 2008). В 2012-2013 г.г. фитопланктон Днестра был представлен 94 видами и внутривидовыми таксонами следующих таксономических групп водорослей: Cyanophyta – 22, Chrysophyta – 1, Bacillariophyta – 38, Dinophyta – 1, Euglenophyta – 5, Chlorophyta – 27. Основу фитопланктонного разнообразия реки Днестр на 80 % составляют представители Bacillariophyta, Chlorophyta и Cyanophyta, которые в большинстве своем составляют группу космополитов. Численность фитопланктона весной изменяется в пределах от 0.76 до 86.13 млн.кл./л, биомасса – от 1.86 до 41.24 г/м³, летом – от 0.8 до 12.73 млн.кл./л, а также от 1.36 до 7.76 г/м³, в течение осени – от 0.46 до 35.10 млн.кл./л, а также от 0.59 до 3.71 г/м³ соответственно (Ungureanu et al., 2014).

Численность зоопланктона и бентоса в реке обусловлена уровнем воды и обводненностью плавней и внутренних водоемов, что влияет на поступление биогенов в воду р. Днестр (Гидробиологический режим..., 1992). Численность зоопланктона и бентоса в русле реки при сильном течении всегда незначительна (участок р. Днестр возле г. Тирасполь). В районе с. Маяки участок характеризуется низким течением и соответственно большей численностью зоопланктона и бентоса (Берлунд, Сноа, 2005).

До зарегулирования Днестра видовое разнообразие зоопланктона включало 129 таксонов, к 1991-1997 г.г. оно сократилось до 101, а в результате исследований 2000-2002 г.г. было выявлено только 66 таксономических единиц (Climentso, 2005). Количественное развитие зоопланктона к середине 2000-х годов, по сравнению с 1981-1985 г.г., сократилось в 2.2 по численности и 5.3 раз по биомассе, составив на нижнем участке Днестра в среднем 9.3 тыс. экз./м³ с биомассой 0.047 г/м³. Количественное распределение зоопланктона по группам следующее: коловратки – 5.1 тыс. экз./м³ с биомассой 0.007 г/м³, копеподы – 3.3 тыс. экз./м³ с биомассой 0.029 г/м³ и кладоцеры – 0.9 тыс. экз./м³ с биомассой 0.011 г/м³.

Псаммо- и пелореофильный зообентос нижнего Днестра формируют олигохеты, полихеты, высшие ракообразные (амфиподы, мизиды, кумацеи), личинки амфибиотических насекомых (хирономиды, поденки, ручейники, цератопогониды), брюхоногие и двусторчатые моллюски. Общая численность «мягкого» бентоса около 11 тыс.экз./м² с биомассой от 8.8 до 24.05 г/м². Доминирующими по численности и биомассе в кормовом зообентосе являются олигохеты и хирономиды. Численность оли-

гохет, при доминировании тубифицид, варьирует в пределах 7-11 тыс. экз./м² со средней биомассой 8.5 г/м². Местами плотность олигохет достигает до 25400 экз./м². Средняя плотность хирономид варьирует в пределах 900-1000 экз./м² с биомассой около 1 г/м² (Филипенко, 1998), а в местах массового развития *Chironomus plumosus* до 4.2 г/м² (Богатый, 2014).

В нижнем течении Днестра, в отличие от среднего, значительную долю «мягкого» зообентоса занимают полихеты (*Hypania invalida*), достигая на заиленных грунтах местами средней численности 3997 экз./м² с биомассой 12.46 г/м² (Филипенко, 1998). Кормовая база рыб нижнего Днестра обогатилась восточной речной креветкой *Macrobrachium nipponense*, которая, будучи интродуцированной в Кучурганское водохранилище в 1986 году, не только успешно акклиматизировалась, но и смогла попасть в русло Турунчука и из него в Днестр, поднявшись вверх по течению до г. Тирасполь и выше (Филипенко, 2014).

До зарегулирования стока Днестра к середине XX в. в нем обитали 86 видов и подвидов рыб, относящихся к 19 семействам, в том числе проходные осетровые (белуга, осетр, севрюга), которые в настоящее время практически исчезли из Днестра и полупроходные вырезуб, язь, рыбец, чехонь, численность которых резко сократилась. Вместе с тем, в результате акклиматизационных мероприятий в бассейн Днестра были вселены 11 представителей промысловой ихтиофауны (растительноядные рыбы, американский сом *Ictalurus punctatus* пеленгас *Liza haematocheilus* и другие), а также непромысловые виды – солнечный окунь *Lepomis gibbosus*, амурский чебачок *Pseudorasbora parva* и ротан-головешка *Perccottus glenii*. В итоге, в конце XX – в начале XXI в.в. измененная ихтиофауна Днестра включала 80 видов и подвидов рыб из 21 семейства (Usatii, 2004).

В результате проведенных исследований в 2010-2013 г.г. О.И. Крепис и др. (2014) установлено, что на нижнем участке Днестра присутствуют 73 вида и подвида рыб из 19 семейств: сем. карповых Cyprinidae – 34 вида, бычковых Gobiidae – 9 видов, окуневых Percidae – 6 видов, осетровых Acipenseridae – 4 вида, сельдевых Clupeidae и вьюновых Cobitidae – по 3 вида, колюшковых Gasterosteidae – 2 вида, сем. миноговых Petromyzonidae, лососевых Salmonidae, щуковых Esocidae, евошковых Umbridae, сомовых Siluridae, налимовых Lotinae, угревых Anguillidae, гольцовых Nemacheilidae, атериновых Atherinidae, игловых Syngnathidae, подкаменьщиковых Cottidae, ушастых окуней Centrarchidae – по одному виду.

Многочисленные неблагоприятные изменения экологических условий в экосистеме Днестра спровоцировали серьезные нарушения видового разнообразия ихтиофауны Среднего и Нижнего Днестра, а также изменения экологических статусов у большинства видов рыб. На нижнем участке реки до грани полного исчезновения дошли 12 видов рыб, среди которых – белуга *Huso huso*, осетр *Acipenser gueldenstaedtii*, язь *Leuciscus*

idus, берш *Zander volgensse*, налим *Lota lota*, угорь *Anguilla anguilla* и другие. В разряд исчезающих перешли 8 видов – севрюга, вырезуб, линь, чехонь и другие. Уязвимыми стали 7 видов: стерлядь *Acipenser ruthenus*), рыбец *Vimba vimba*, усач *Barbus barbus*, чоп большой *Zingel zingel* и другие. Значительно сократилась численность популяций большинства промысловых видов рыб (судак *Sander lucioperca*, сазан *Cyprinus carpio*, сом *Silurus glanis*, тарань *Rutilus rutilus heckelii*, лещ *Abramis brama*). С другой стороны, некоторые виды приспособились к изменениям экологических условий среды и расширили свои местообитания на фоне возрастающей численности популяций. На нижнем участке реки в статус многочисленного вида перешел серебряный карась *Carassius auratus*, а обычными в уловах стали – солнечная рыба *Lepomis gibbosus*, елец *Leuciscus leuciscus*, амурский чебачок *Pseudorasbora parva*, черноморская атерина *Atherino boyeri pontica* и другие непромысловые рыбы (Крепис и др., 2014).

В р. Днестр исследован только один вид рыб, относящийся к отр. Cypriniformes карпообразные, сем. Cyprinidae карповые, карась *Carassius carassius* (L.). Рыбы были отловлены в разных участках Нижнего Днестра: первая группа в районе г. Тирасполь, вторая группа – пос. Маяки.

1.4. Биологическая характеристика исследованных видов рыб и потенциальных объектов их питания

В основу этого раздела положены сведения, приведенные в ряде обзоров (Никольский, 1954; Поддубный, 1971; Аннотированный каталог, 1998; Герасимов, 2015 и другие).

Характеристика рыб-консументов:

Обыкновенная щука *Esox lucius* L. Вид распространен на территории почти всей Европы, Сибири, бассейна Аральского моря и Северной Америки. Населяет озера и медленно текущие реки. Обычно держится в зарослях подводной растительности. Быстрого течения избегает. Половозрелой, как правило, щука становится в возрасте 3+. Молодь щуки после резорбции желточного мешка питается планктоном. По достижении 4-5 см переходит на питание более крупными объектами, в частности молодью рыб. По типу питания щука является типичным ихтиофагом. Пища взрослой щуки в основной массе состоит из рыб сем. карповых и окуневых. В течение года щука питается с различной интенсивностью: во время нереста почти не питается. Наиболее высокая интенсивность питания – сразу после нереста. Летом интенсивность питания щуки зависит от состояния зубов. Во время смены зубов (обычно около месяца) щука питается менее интенсивно (Иванова, 1965).

Лещ *Abramis brama* (L.). Лещ населяет воды Европы к востоку от Пиренеев и к северу от Альп – реки, озера и опресненные участки Северного,

Балтийского, Белого (до Печоры), Эгейского, Черного, Азовского, Каспийского и Аральского морей. Половозрелым лещ становится на юге в 3-4 года, на севере – в 4-5 лет. Предпочитает медленнотекущие водотоки и озера. Типичный бентофаг. Основную пищу леща составляют личинки насекомых, и в первую очередь хирономид, моллюски, черви, ракообразные, а также водоросли и высшая водная растительность. Крупный лещ может поедать молодь рыб. Наиболее интенсивно лещ питается в летние месяцы. Осенью при температуре ниже 7°C лещ практически прекращает питаться и залегает на ямы.

Плотва *Rutilus rutilus* (L.). Плотва населяет пресные и солоноватые воды Европы к востоку от Пиренеев и к северу от Альп, а также водоемы Сибири и бассейн Аральского моря. Живет плотва обычно в озерах и медленно текущих реках среди зарослей растительности. Известны две формы плотвы – прибрежной, растительной и мигрирующей моллюсковой (Poddubny, Galat, 1995; Герасимов, 2015). По типу питания является фитопланкто-бентофагом. Состав пищи плотвы включает более 40 видов беспозвоночных животных, водоросли, высшую водную растительность, в редких случаях молодь рыб. Наиболее интенсивно плотва питается в летнее время. Зимой плотва обычно прекращает питание.

Карась *Carassius auratus* (L.). Карась распространен в Восточной и Средней Европе. Живет главным образом в заболоченных, заросших водоемах. В зимнее время активность карася резко снижается, и во многих водоемах он впадает в состояние, напоминающее спячку. Половозрелым становится обычно на 4-м году жизни. Самцы созревают несколько раньше самок. Пищу взрослого карася составляют как растительные, так и животные объекты. Типичный бентофаг.

Карп *Cyprinus carpio* L. Карп (сазан) населяет пресные и солоноватые воды бассейнов Северного, Балтийского, Средиземного, Азовского, Черного, Каспийского и Аральского морей и реки бассейна Тихого океана. В естественных водоемах карп предпочитает тихие спокойные воды. Малотребователен к качеству воды и хорошо переносит кратковременный дефицит кислорода. Естественным кормом для карпа являются личинки насекомых, ракообразные, мелкие моллюски, семена и молодые побеги высших водных растений. Типичный бентофаг.

Налим *Lota lota* (L.) – широко распространен в Северном полушарии. В пределах ареала образует три географические расы: тихоокеанский, пятнистый и типичный. В бассейне р. Волга представлен последним типом. Налим – холодноводная рыба, обитающая в реках и озерах, чаще с каменистым дном. Половозрелым обычно становится в возрасте 3+. Нерест происходит в зимнее время. По типу питания является ихтиофагом-факультативным бентофагом. В пище взрослого налима в основном преобладает рыба. Также встречаются виды, относящиеся к другим группам животных. В Рыбинском водохранилище в пище налима, начиная с

двухлетнего возраста, появляются сеголетки окуня, ерша, плотвы, уклей. Взрослый налим откармливается преимущественно окунем. Наиболее интенсивно питается в зимнее время. Летом в южной части ареала налим прекращает питаться, в северной части ареала интенсивность питания сильно снижается.

Речной окунь *Perca fluviatilis* L. Окунь населяет всю Европу, кроме Пиренейского полуострова, бассейны Черного, Каспийского и Аральского морей, Сибирь (до Колымы). Окунь – озерно-речная рыба, приспособленная к жизни среди зарослей. Во многих озерах окунь представлен двумя биотипами: прибрежным мелким окунем, медленно растущим и питающимся главным образом беспозвоночными животными, и глубинным, быстро растущим, который ведет преимущественно хищный образ жизни. Половозрелым становится в возрасте 2+. Нерест происходит ранней весной вскоре после вскрытия водоемов ото льда. На первых стадиях развития после резорбции желточного мешка молодь окуня питается зоопланктоном, начиная с размера в 4 см, во многих водоемах переходит на питание рыбой. По типу питания является ихтиофагом-факультативным бентофагом. В пище окуня встречаются различные виды рыб, а также личинки насекомых, моллюски и зоопланктон. Во время икрометания окунь прекращает питание, зимой питается менее интенсивно, чем летом.

Обыкновенный судак *Sander lucioperca* (L.). Судак населяет бассейны Балтийского, Черного, Каспийского и Аральского морей. После всасывания желточного мешка судак в течение первого месяца питается зоопланктоном, но уже на втором месяце жизни переходит на питание молодью рыб. По типу питания является типичным ихтиофагом. До 95% состава пищи судака составляют непромысловые виды рыб. Собственная молодь и неполовозрелый лещ поедаются хищниками в небольшом количестве. Наиболее интенсивно судак питается летом и осенью. Зимой судак обычно продолжает питаться, хотя и слабее, чем летом, во время икрометания прекращает питание.

Солнечник обыкновенный *Lepomis gibbosus* (L.). Солнечник первоначально обитал в водоемах Северной Америки (от Дакоты до Мексиканского залива, где до сих пор имеет местное промысловое значение). В конце XIX в. солнечный окунь был завезен в Западную Европу, как аквариумная рыба. Из прудов, в котором его акклиматизировали, вид проник в бассейны крупных рек. В последнее время появился в нижнем течении рек, впадающих в Черное море, а также в Азии. В настоящее время солнечный окунь обычен во многих водоемах Северо-Западного Причерноморья, а также во многих придунайских озерах. Нерестится в мае-июле. Самцы впервые начинают размножаться в двухлетнем возрасте, самки – на год позднее. По типу питания является бентофагом-факультативным ихтиофагом. Личинки питаются инфузориями, впоследствии – мелкими

коловратками, циклопами, дафниями. С увеличением размеров рыб увеличиваются и размеры объектов питания. Особи длиной 2-2.5 см потребляют преимущественно ракообразных, длиной 8 см – личинок насекомых, икру рыб, длиной 10 см и выше – мальков рыб.

Характеристика объектов питания рыб:

Комары-звонцы *Chironomus sp.* Комары-звонцы встречаются повсеместно, живут в придонном иле. Длина 18-30 мм. Личинки питаются детритом и микроорганизмами, некоторые являются хищниками.

Олигохеты *Oligochaeta*. Наиболее распространенными олигохетами исследуемых водоемов являются тубифициды *Tubificidae* родов *Tubifex* и *Limnodrilus*. Тубифициды – тонкие нитевидные розоватого цвета черви длиной до 40 мм. На каждом сегменте тела по 4 щетинки. Обитают на дне заиленных стоячих водоемов, в загрязненных ручьях и реках. Образуют огромные скопления в иле сильно загрязненных водоемов, но в незначительных количествах встречаются также на песчаных и каменистых грунтах. Живут в сделанных из ила трубчатых норках, из которых выставляют над поверхностью грунта задний конец тела, который постоянно движется, совершая волнообразные дыхательные движения. Олигохеты обнаруживаются на дне круглый год. Питаются разлагающимися частицами, заглатывая и пропуская через кишечник ил.

Дрейссена *Dreissena polymorpha* (Pallas). Дрейссена распространена почти по всей Европе, проникла в североамериканские Великие озера. Обладает зеленоватой или желтоватой раковиной, характерной треугольной формы, с рисунком из поперечных или зигзагообразных коричневых полос. Длина раковины взрослого моллюска – 4-5см. Дрейссена обитает на твердых субстратах как минерального, так и органического происхождения, богатых органическими веществами. Чувствительна к содержанию растворенного в воде кислорода. Хорошо переносит повышенную минерализацию воды. *D. polymorpha* по способу питания является фильтратором. Питается взвешенными в воде частицами. Состав пищи *D. polymorpha* зависит от условий окружающей среды: глубины поселения моллюсков в водоеме, сезона года, времени суток, состояния sestона в водоеме и других факторов. Цветение воды, массовое появление мелких форм зоопланктона отражаются на качестве пищи *D. polymorpha* (Михеев, 1994).

Бокоплавы, или Амфиподы *Dikerogammarus haemobaphes*, *D. vilosus*, *Corophium maeoticum*. Бокоплавы распространены в бентосе морей и пресных водоемов. Тело, длиной 15-18 мм, сжато с боков и согнуто дугой. Состоит из головы, груди (6 или 7 сегментов) и брюшка (6 сегментов). Бокоплавы очень четко реагируют на изменение условий окружающей среды. Будучи, в основном, некрофагами и детритофагами бокоплавы играют значительную роль в процессах самоочищения водоемов, в осо-

бенности на начальных стадиях разрушения животных и растительных остатков. Питаются бокоплавы, фильтруя воду с помощью щетинок на передних ножках, отсеживая мелкие частицы пищи – бактерии, водоросли, растительные остатки. Численность бокоплавов возрастает в другах дрейссены, где между ними складываются взаимоотношения в виде комменсализма, где бокоплавы выступают в качестве комменсалов.

Зоопланктон – совокупность животных, населяющих толщу воды. В большинстве водоемов самая многочисленная группа зоопланктона – мелкие представители отрядов веслоногих (Cyclopoda) и ветвистоусых (Cladocera) ракообразных, а также коловраток (Rotatoria). Помимо этого, в состав зоопланктона входят личинки некоторых животных, а также пелагическая икра многих видов рыб. Основу рациона большинства организмов, входящих в состав зоопланктона являются фитопланктон, бактериопланктон, детрит или более мелкие представители зоопланктона.

Тарань *Rutilus rutilus heckelii* (L.). Тарань – подвид обыкновенной плотвы *Rutilus rutilus* (L.). Полупроходная стайная рыба. Обитает в опресненных участках Черного и Азовского морей. На нерест и на зимовку идет в низовья рек. Половая зрелость наступает на 4-м году жизни. Нерестится с конца марта по май. Клейкую икру откладывает на растения. После нереста скатывается в море, где питается моллюсками и ракообразными.

Красноперка *Scardinius erythrophthalmus* (L.). Красноперка широко распространена в водоёмах Европы и Средней Азии. Обитает в озерах и реках, впадающих в Северное, Балтийское, Черное, Азовское, Каспийское и Аральское моря. В Сибири отсутствует. Внешне красноперка очень напоминает плотву, но отличается от нее оранжевым цветом глаз и более высоким телом. Красноперка предпочитает водоемы с обилием водных растений, держится в толще воды, на открытые участки почти никогда не выходит. Питается преимущественно растительной пищей, а также насекомыми, личинками насекомых и олигохетами.

Ерш обыкновенный *Gymnocephalus cernuus* (L.). Ерш обитает в реках бассейна Балтийского моря, центральной и восточной Европе, а также Зауралье, северной Азии до бассейна реки Колымы. Окрас этой рыбы зависит от окружающей среды: ерш светлее в реках и озерах с песчаным дном, и темнее в водоемах с илистым дном. Ерш – очень неприхотливый, обычно стайный вид, очень хорошо чувствующий себя в широком спектре условий окружающей среды. Его можно найти как в пресных, так и в солоноватых водоемах с показателем солености до 10-12‰, в системах озерного и проточного типа, на глубинах от 0.25 до 85 м, на уровне моря и в горных водоемах, от олиготрофных до эвтрофных вод. Он переносит температуры от 0-2 до 34.5°C. В начале жизни мальки ерша питаются преимущественно коловратками и личинками копепоид. Для ершей длиной более 1 см основным пищевым ресурсом становятся циклопы, личинки хирономид и ветвистоусые рачки. Наиболее потребляемы хирономиды

из р.р. Chironomus (особенно *Chironomus plumosus*) и Procladius. По мере роста ерша доля хирономид в его рационе уменьшается. Основная пища взрослого ерша – разнообразные черви и пиявки.

Бычок-песочник *Neogobius fluviatilis* (Pallas). Бычок-песочник – Понто-Каспийский реликтовый вид. Естественным ареалом данного вида являются пресные и солоноватые воды Черного и Мраморного морей. Держится на песчаном дне у берегов с проточной водой. На зимовку уходит на глубину, покрываясь толстым слоем слизи, не питается и почти не двигается. Половая зрелость наступает на втором году жизни, когда рыба достигает длины 10 см. Живет 5-7 лет. Типичный малакофаг. Также в рационе взрослых бычков отмечались планктонные ракообразные (Cyclopidae, Diaptomidae, Daphnia).

1.5. Заключительные замечания

Приведенные материалы свидетельствуют о существенных различиях модельных водоемов по гидрологическим, гидрохимическим и биологическим характеристикам, обусловленным давним обособлением речных бассейнов и длительным, начиная с неогена, формированием их биоты. Прежде всего, следует отметить, что Рыбинское водохранилище расположено значительно севернее (58°22' с.ш.) по сравнению с Кучурганским водохранилищем (49°10' с.ш.). Это в значительной мере определяет различия в климате и термальном режиме водоемов. Действительно, среднегодовая температура воды Рыбинского водохранилища составляет 8°C. Летом поверхностный слой воды прогревается до 20-23°C, а в толще воды составляет 18-22°C (Литвинов, Законнова, 2012). Среднегодовая температура воды Кучурганского водохранилища составляет 14.8°C, а летом вода водохранилища может прогреваться до 30-35°C (Филипенко и др., 2009 а, Мелеховец и др., 2009). Средняя летняя температура поверхностного слоя воды на участке р. Днестр в районе г. Тирасполь составляет 22°C, возле п. Маяки – 23°C (Мелиян, Кожушко, 2012).

Это обстоятельство не может не отразиться не только на видовой структуре, но и на продолжительности активной жизни, в том числе питания, гидробионтов. Так, в Рыбинском водохранилище массовыми видами зоопланктона являются *Keratella quadrata*, *K. cochlearis*, *Kellicottia longispina*, *Mesocyclops leuckarti* и, особенно, *Bosmina coregon*, и *Daphnia longispina*. В Кучурганском водохранилище многочисленны *Keratella quadrata*, *K. cochlearis*, *Brachionus angularis*, *Br. budapestinensis*, *Br. calyciflorus*, *Asplanchna sp.*, *Synchaeta sp.*, *Polyarthra sp.*, *Bosmina longiristris*, *Chydorus sphaericus*, *C. strenuus*. При этом численность зоопланктона Рыбинского водохранилища в вегетационный период составляет 40-120 тыс. экз./м³,

биомасса – 1.7-3.0 г/м³ (Лазарева и др., 2001), численность и биомасса бентоса – 7413 экз./м² и 13.23 г/м² соответственно (Щербина, 2009). Средняя численность и биомасса зоопланктона в Кучурганском водохранилище в тот же период значительно выше, составляя 48630 экз./м³ и 645.54 мг/м³ (Чур, 2012, 2015), численность и биомасса общего бентоса – 8798 экз./м² и 313.6 г/м², в том числе «мягкого» – 7976 экз./м² и 28.5 г/м² соответственно (Филипенко, 2014, 2015). Если средняя численность планктонных бактерий в первом водоеме составляет 3.5-4.5 млн.кл./мл (Экологические проблемы ..., 2001), то во втором может в зависимости от условий достигать 10.2 млн.кл./мл (Мордухай-Болтовской, 1975). Численность бактериопланктона в р. Днестр может достигать 5.71 млн.кл./мл (Știrbu et al., 2008).

Большая численность и биомасса беспозвоночных гидробионтов и большая степень зарастаемости Кучурганского водохранилища свидетельствуют о лучших условиях воспроизводства и питания рыбного населения этого водоема по сравнению с Рыбинским водохранилищем. При этом большинство исследованных видов рыб являются эвритермными (исключение – холодолюбивый налим *Lota lota* и теплолюбивый солнечник *Lepomis gibbosus*). Это обстоятельство должно способствовать более высокому темпу роста рыб из южного водоема благодаря более высоким темпам начальных этапов ассимиляции пищи и метаболизма. Сказанное в равной мере относится и к р. Днестр. Существенную роль в увеличении эффективности питания рыб, как будет показано в следующих главах, также может играть большая численности микробиоты.

ГЛАВА 2

КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССОВ ПИЩЕВАРЕНИЯ У РЫБ

Описанию физиолого-биохимических аспектов трофических взаимоотношений рыб и их объектов питания, а также энтеральной микробиоты, будет предшествовать описание типов питания, особенностей пищевого поведения и закономерностей пищеварения у рыб. Это связано со значительным изменением представлений об источниках ферментов, гидролизующих пищевые субстраты, и типах пищеварения, произошедших в течение последних десятилетий.

2.1. Типы питания и пищевого поведения рыб

По типу питания рыбы делятся на три основные группы: растительоядные (фитофаги), животоядные (зоофаги) и всеядные (фитозоофаги). Эти группы подразделяют на более мелкие группы: растительоядные, питающиеся фитопланктоном (фитопланктофаги), высшей водной и прибрежно-водной растительностью (макрофитофаги), обрастаниями (перифитофаги), продуктами распада растительности и бактериями (детритофаги); животоядные, питающиеся зоопланктоном (зоопланктофаги), донными беспозвоночными животными (бентофаги) и позвоночными животными, в основном рыбой (ихтиофаги). Кроме того, существует деление рыб по предпочитаемым объектам питания. При этом выделяют следующие трофические группы рыб: ихтиофаги, икрееды, личинкоеды, чешуееды (лепидофаги), моллюскоеды, бактериофаги, в том числе рыбы-чистильщики, паразиты, каннибалы и другие (Gerking, 1994; Pavlov, Kasumyan, 2002). Перечисленные категории достаточно условны, так как большинству рыб свойственны значительные сезонные и возрастные изменения в составе пищи, определяемые их физиологическими потребностями и численностью кормовых организмов (Поддубный, 1971; Pavlov, Kasumyan, 2002).

Учитывая преобладающие объекты питания, рыб, населяющих Рыбинское водохранилище, подразделяют на типичных бентофагов с широко-олигохетным питанием – лещ, моллюскоедов – озерная плотва, язь, густера, ихтиофагов-факультативных бентофагов – окунь, налим, эпифитофагов – ряпушка, уклейка, факультативных планктофагов – чехонь, тюлька, типичных ихтиофагов – щука, судак, сом и факультативных

ихтиофагов – чехонь, корюшка (Поддубный, 1971; Poddubny, Galat, 1995). В Рыбинском водохранилище отсутствуют фитофаги – виды, занимающие второй трофический уровень. Наибольшей численности достигают рыбы третьего трофического звена – зоопланктофаги и зообентофаги. Видовой состав планктофагов в Рыбинском водохранилище беден. Это синец и уклейка (Поддубный, 1971) и два вселенца – тюлька и ряпушка (Яковлев и др., 2001). Наибольшее значение в ихтиофауне Рыбинского водохранилища имеют бентофаги, занимающие третье трофическое звено. Среди них преобладают виды рыб с хирономидно-олигохетным типом питания, а также моллюскоеды. Наибольшей численности в водоеме достигают плотва и лещ (Поддубный, 1971; Иванова и др., 1978; Житнева, 1981). В комплекс хищных рыб принято включать 8 видов: судак, берш, окунь, налим, щука, жерех, сом, чехонь. В настоящее время наиболее многочисленны первые 3 вида. Большинство хищных рыб относятся к группе типичных ихтиофагов, питающихся преимущественно рыбной пищей (щука, судак, берш, жерех, сом, окунь, налим). Два вида факультативных хищников (тюлька, чехонь) наряду с рыбой потребляют зоопланктон (Иванова и др., 1978). При этом спектр питания у рыб разных видов различен. Пища взрослых особей щуки состоит преимущественно из плотвы, окуня, леща, а также молоди собственного вида. В пище взрослых особей судака преобладают окунь, плотва, молодь судака, лещ, уклейка, чехонь. В пище окуня помимо рыб (плотва, собственная молодь) встречаются различные виды беспозвоночных животных – личинки насекомых, моллюски и зоопланктон (Поддубный, 1971; Иванова и др., 1978; Фортунатова, Попова, 1973). Спектр питания рыбного населения Кучурганского водохранилища в последние годы не исследовался. Однако, учитывая данные исследований, проведенных в Кучурганском лимане во второй половине XX века (Кучурганский лиман-охладитель..., 1973), исследованные виды рыб по типу питания можно подразделить на типичных ихтиофагов (щука, судак), факультативных ихтиофагов (окунь, солнечный окунь), планктофагов (тарань), бентофагов (лещ, карась, карп, ерш, бычок) и фитофагов (красноперка, толстолобик).

Спектр питания рыб одного и того же вида, но обитающих в разных водоемах может значительно варьировать. Так, в состав кормовой базы леща, обитающего в водохранилищах Волжского каскада, входит до 70 видов организмов, относящихся к различным группам животных, а также водоросли и высшая водная растительность. При этом во всех водохранилищах Волжского каскада лещ преимущественно питается олигохетами, хирономидами, моллюсками, ветвистоусыми и веслоногими. Вместе с тем существуют различия в спектре питания: в состав пищи леща из водохранилищ Верхней Волги дополнительно входят водоросли, макрофиты и детрит, леща из Волгоградского водохранилища – гаммариды, мизиды и равноногие (Поддубный, 1971; Иванова и др., 1978).

Кроме того, известно об избирательности питания рыб. Избираемость пищевых объектов обусловлена не только доступностью потенциальной жертвы, но и предпочитаемостью тех или иных объектов питания. Кривые элективности имеют куполообразную форму (Ивлев, 1977). Однако в зависимости от размеров жертв и их энергетической ценности мода распределения может смещаться, нарушая симметричность. Также показано, что селективность питания рыб, питающихся путем поштучного захвата пищи зависит не только от размерного состава и концентрации доступного корма, но и от присутствия хищников, конкурентных отношений и агрегированности корма (Gerking, 1994; Михеев, 2001, 2006). Так, при исследовании пищевого поведения молоди плотвы показано, что даже в раннем онтогенезе рыбы различаются по способности к выбору компромисса между оборонительным и пищевым поведением – часть особей подвергает себя большому потенциальному риску, выбирая более крупных жертв, другая часть, утолив острый голод переключается на жертв субоптимального размера, потребление которых позволяет поддерживать более высокий уровень бдительности (Михеев, 2006). При этом важно подчеркнуть, что в естественных экосистемах пищевые отношения рыб значительно сложнее и характеризуются не как трофические цепи, а как трофические сети, поскольку спектры питания большинства видов рыб могут в той или иной степени перекрываться (Begon et al., 1990).

Морфологические особенности и спектр питания рыб в значительной мере определяют характер их пищевого поведения. По характеру пищевого поведения рыб принято делить на охотников, способных вести активный поиск объектов питания, и пастбищных рыб, не преследующих своих жертв (Gerking, 1994). Хорошо известно поведение хищников угонщиков, хищников засадчиков и хищников выслеживающего типа. Первые обитают на открытых участках больших водоемов, отличаются способностью поддерживать высокие скорости двигательной активности и хорошо развитым зрением, что позволяет питаться в светлое и сумеречное время суток. Вторые не ведут активный поиск добычи, подкарауливая ее в зарослях или других укрытиях. Наибольшую роль в поиске жертвы у них также играет зрительный анализатор. Третьи занимают промежуточное положение между стратегией питания первых и вторых. Разыскивая корм, они перемещаются с небольшой скоростью, обследуя места обитания потенциальных жертв, которые или не способны к высокой подвижности или резко снижают ее в ночные часы. При этом используется зрение, обоняние, боковая линия, слух, тактильная рецепция. Пастбищные рыбы не преследуют и активно не нападают на потенциальных жертв и, как правило, не схватывают их поштучно. При поиске жертвы эти рыбы также используют все известные сенсорные системы, в том числе зрение, обоняние, боковую линию, слух и тактильную рецепцию (Поддубный,

1971; Никольский, 1974; Gerking, 1994; Pavlov, Kasumyan, 2002; Касумян, 2002, 2003, 2011).

Таким образом, у рыб, различающихся по характеру питания, в процессе эволюции сформировались структурные и функциональные характеристики, проявляющиеся в разной стратегии пищевого поведения, направленной на более полное освоение кормовой базы.

2.2. Механизмы пищеварения у рыб

У большинства позвоночных первичное переваривание пищи происходит в желудке, последующий гидролиз и всасывание нутриентов – в кишечнике. Завершается процесс в заднем отделе кишечника абсорбцией воды. Общие закономерности процессов пищеварения характерны для всех позвоночных. Вместе с тем у рыб, относящихся к наиболее многочисленной группе позвоночных и отличающихся разнообразием среды обитания, а также характером питания, могут наблюдаться особенности структурно-функциональной организации пищеварительной системы (Коштоянц, 1950; Barrington, 1957; Kapoor et al., 1975; Fange, Grove, 1979; Веригина, Жолдасова, 1982; Сорвачев, 1982; Уголев, Кузьмина, 1993; Неваленный и др., 2003; Кузьмина, 2005, 2008, 2015; Kuz'mina, 2008).

В зависимости от происхождения гидролитических ферментов пищеварение делят на три типа: собственное, симбионтное и аутолитическое. Собственное пищеварение осуществляется за счет ферментов синтезируемых макроорганизмом. В зависимости от локализации гидролаз собственное пищеварение подразделяют на три типа – внеклеточное, пристеночное или мембранное и внутриклеточное (Уголев, 1963, 1972, 1985). У рыб представлены все известные типы пищеварения, характерные для позвоночных (Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, 2005, 2015; Kuz'mina, 2008).

Внеклеточное (полостное) пищеварение было описано в конце XVIII в., когда в опытах на различных животных, в том числе и рыбах, было показано, что желудочный сок, извлеченный при помощи губки, способен разлагать фрагменты тканей животных (Spallanzani, 1783). Однако механизм этого явления долгое время оставался неизвестным. В настоящее время твердо доказано, что полостное пищеварение у рыб, как и у других животных, осуществляется в полостях желудочно-кишечного тракта за счет ферментов различного происхождения. Значительная часть ферментов секретируется пищеварительными железами (Barrington, 1957; Строганов, 1962; Краюхин, 1963; Phillips, 1969; Kapoor et al., 1975; Сорвачев, 1982; Fange, Grove, 1979; Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, 2005, 2015). Однако в процессы желудочного пищеварения значительный

вклад вносят ферменты жертвы (Кузьмина, 2000, 2005, 2015; Kuz'mina, Golovanova, 2004; Kuz'mina, 2008), а в процессах пищеварения, протекающих в кишечнике, участвуют ферменты энтеральной микробиоты (Лубянской и др., 1879, Шивокене, 1989, Кузьмина, Скворцова, 2002; Кузьмина, 2005, 2015; Золотарева, 2015). Основные особенности полостного пищеварения – реализация процессов в водной среде, произвольная ориентация активных центров ферментов по отношению к субстрату и вероятностный характер распределения ферментов в полостях (Уголев, 1972).

Первоначально пищеварение протекает в полости желудка, где ферментативные реакции осуществляются в кислой среде при pH 1.5-5.0. При этих условиях разрушаются главным образом белки. Затем содержимое желудка в полужидком виде поступает в кишечник. В кишечнике питательные вещества (углеводы, жиры и полипептиды) при нейтральных и слабощелочных значениях pH (7.4-8.0) продолжают подвергаться деградации (Barrington, 1957; Fange, Grove, 1979; Buddington, Doroshov, 1986; Clark et al., 1985; Munila-Moran, Stark, 1990; Уголев, Кузьмина, 1993; Natalia et al., 2004; Кузьмина, 2005; Kumar et al., 2007). Несмотря на то, что полостное пищеварение было открыто ранее других типов переваривания пищи, как подчеркивалось ранее, его закономерности исследованы довольно слабо, поскольку в большинстве работ предметом изучения были ферменты слизистой оболочки (Кузьмина, 1978).

Внутриклеточное пищеварение было описано И.И.Мечниковым (1880) при исследовании морских беспозвоночных. В реализации трофической функции у позвоночных животных механизм внутриклеточного пищеварения до последнего времени, как правило, не учитывался вследствие относительно низких скоростей транспорта макромолекул через апикальную мембрану энтероцитов и последующего их гидролиза. Однако анализ данных, касающихся онтогенетических и эволюционных аспектов пищеварительной функции, показал, что на ранних этапах онто- и филогенеза этот механизм также играет существенную роль (Уголев, 1985; Кузьмина, 2005). Известно два типа внутриклеточного пищеварения. Первый тип реализуется за счет транспорта небольших молекул через клеточные мембраны и последующего их гидролиза ферментами цитозоля. Этот тип чаще связан с разрушением аномальных белков с высоко аберрантными структурами (Немова, 1996). Вместе с тем показано, что в энтероцитах до 90% дипептидов может разрушаться цитозольными дипептидазами (Ugolev et al., 1989). Второй тип связан с специализированными вакуолями, образующимися при фаго-, пино- и микропиноцитозе (Уголев, 1972, 1985; Уголев, Кузьмина, 1993; Высоцкая, Немова, 2008). Гидролизу пищевых субстратов предшествует присоединение вакуолей к лизосомам. Таким образом образуются фаголизосомы, в которых происходит взаимодействие ферментов и субстратов. Деструктурирование пищевых субстратов осуществляется при участии лизосомальных фер-

ментов, характеризующихся низким оптимумом pH. Важной особенностью лизосом является способность деструктурировать абсолютное большинство нутриентов, однако особо важную роль играют катепсины, гидролизующие белки (Немова, 1978, 1996). Механизмы взаимодействия ферментов и субстратов в образованных фаголизосомах близки описанным ранее для дистантного пищеварения. Это позволило охарактеризовать внутриклеточное пищеварение как микрополостное. После завершения этого процесса остатки фаголизосом путем экзоцитоза выбрасываются за пределы клетки. В связи с тем, что внутриклеточное пищеварение лимитировано проницаемостью мембран и процессами эндоцитоза, оно не играет существенной роли в процессах пищеварения у высших позвоночных (Уголев, 1985). Вместе с тем внутриклеточное пищеварение доминирует на ранних стадиях онтогенеза высших позвоночных, а у рыб играет заметную роль не только на ранних этапах онтогенеза (Govoni et al., 1986; Кузьмина, Гельман, 1998), но и у взрослых особей. Об этом свидетельствует значительное количество инвагинаций апикальной мембраны, визикул и лизосом в энтероцитах, расположенных в дистальных участках кишечника (Karoor et al., 1975; Веригина, Жолдасова, 1982; Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, Гельман, 1998).

Мембранное (пристеночное или контактное) пищеварение открыто в 1958 г. (Уголев, 1960). Вскоре было продемонстрировано наличие процессов мембранного пищеварения у рыб (Берман, Саленице, 1966; Пегель и др., 1971; Уголев, 1972; Кузьмина 1976-1978). Мембранное пищеварение реализуется ферментами, локализованными на апикальной поверхности клеточной мембраны энтероцитов, образующей многочисленные выросты – микроворсинки, совокупность которых называется щеточной каймой. Микроворсинки состоят из «протоплазматической» стомы и собственно мембраны. Число микроворсинок достигает от $5 \cdot 10^7$ до $2 \cdot 10^8$ на 1 мм^2 , размеры микроворсинок могут колебаться от 0.55 до 50 нм, диаметр – от 0.08 до 0.2 мкм, расстояние между ними – от 10 до 50 нм. Пористая структура щеточной каймы обеспечивает не только резкое увеличение пищеварительно-транспортной поверхности в 20 – 60 раз, но и определяет многие физико-химические особенности процессов мембранного пищеварения, происходящих на ее поверхности (Уголев, 1972; Уголев, Кузьмина 1993).

У рыб описаны не только микроворсинки, но и структуры, сходные с гликокаликсом высших позвоночных (Kuperman et al., 1994; Куперман и др., 1985; Уголев, Кузьмина, 1993; Корнева, Бедняков, 2011). Гликокаликс обеспечивает целый ряд функций: поддержку определенной жесткости систем микроворсинок, физико-химическую защиту плазматической мембраны микроворсинок энтероцитов, адсорбцию и транспорт веществ, последовательную деградацию субстратов, иммунологическую защиту, очистку щеточной каймы от загрязнения (Уголев, 1972). Ниже

приведены фотографии ультратонких срезов апикальной части энтероцитов щуки *Esox lucius* и налима *Lota lota* (Рис. 2.1). У первого вида хорошо просматриваются утолщения вершук энтероцитов и небольшие фрагменты гликокаликса, а на поперечных срезах – трехслойная мембрана и микротрубочки (в центре). У второго вида хорошо виден тонкий слой гликокаликса над микроворсинками.

Нутриенты, поступая в зону мембранного пищеварения, гидролизуются ферментами панкреатического происхождения, локализованными на разных уровнях гликокаликса, затем – собственно кишечными ферментами, входящими в состав липопротеиновых мембран энтероцитов (Уголев, 1972; Кузьмина, Смирнова, 1990; Уголев, Кузьмина, 1993). Таким образом реализуется последовательная деградация пищевых субстратов. Важно отметить, что и у собственно кишечных, и у адсорбированных ферментов, локализованных на структурах щеточной каймы энтероцитов, активные центры определенным образом ориентированы по отношению к субстратам (Уголев, 1985; Кушак, 1983; Уголев, Кузьмина 1993). Субстраты по мере продвижения по гликокаликсному пространству к мембране претерпевают деполимеризацию и на ее поверхности подвергаются действию три- и димергидролаз, гидролизуясь до уровня мономеров, а затем передаются на транспортные системы микроворсинок (Уголев, 1972).

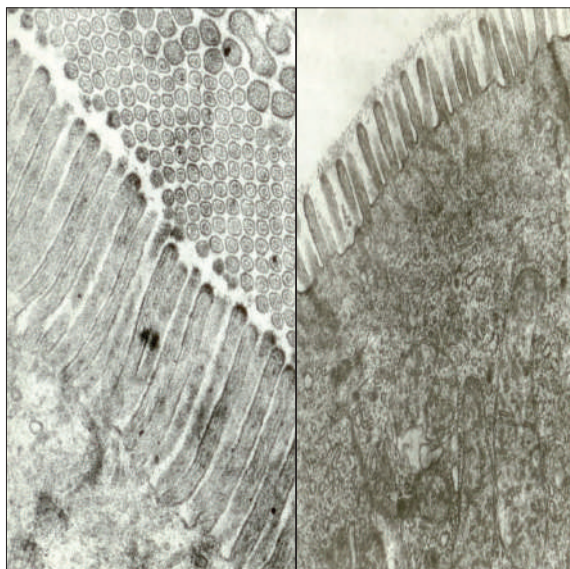


Рис. 2.1. Ультраструктура апикальной части энтероцитов у щуки (слева) и налима (справа) (по: Kuperman, Kuz'mina, 1994)

При изучении локализации ферментов в полости и на структурах щеточной каймы энтероцитов было доказано, что у рыб существуют радиальные градиенты активности мембранных гидролаз. В частности, уровень активности α -амилазы в полости выше, чем в слизистой оболочке кишечника рыб, активность мальтазы и щелочной фосфатазы связана преимущественно, сахаразы – исключительно со слизистой оболочкой кишечника (Уголев, Кузьмина, 1993). При помощи метода реплик было показано, что у леща *Abramis brama* около 30% активности α -амилазы и мальтазы, а также около 10% активности щелочной фосфатазы сосредоточено в апикальном гликокаликсе. Сахараза не подвергается «механической солиubilизации» и в этой зоне отсутствует, будучи связанной исключительно с поверхностью микроворсинок (Кузьмина, Смирнова, 1990). Закономерности мембранного пищеварения и адаптивные перестройки реализующих его ферментов подробно обсуждены в ряде монографий (Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, 2005, 2008, 2015; Неваленный и др., 2003; Kuz'mina, 2008).

Вместе с тем важно отметить, что при исследовании гомогенатов слизистой оболочки помимо активности ферментов щеточной каймы выявляется активность гидролаз, локализованных в субэпителиальных слоях слизистой оболочки кишечника рыб. Так, при исследовании леща значительная активность глицин-*L*-лейцинди-пептидазы и щелочной фосфатазы была выявлена не только в строме, но и в мышечно-серозном слое кишечника (табл. 2.1).

Приведенные данные подтверждают, что сахараза связана исключительно, щелочная фосфатаза – преимущественно с энтероцитами, активность глицин-*L*-лейцинди-пептидазы существенна в строме и мышечно-серозном слое. Однако наиболее существенно то, что в первом случае с эпителием не связано лишь 32.1%, во втором – 87.3% активности от

Таблица 2.1. Уровень активности ферментов в различных слоях кишки леща в начале нагульного периода, мкмоль/мин (по: Уголев, Кузьмина, 1992)

Ферменты	Активность ферментов		
	эпителий	строма	мышечно-серозный слой
Сахараза	0.73 ± 0.16	0	0
	6.1 ± 1.33	0	0
Глицин- <i>L</i> -лейцинди-пептидаза	10.3 ± 1.89	4.7 ± 1.5 (45.6)	7.1 ± 0.9 (68.9)
	85.5 ± 15.6	34.6 ± 11.2 (40.5)	42.7 ± 5.6 (49.9)
Щелочная фосфатаза pH 9.9	4.63 ± 0.90	1.27 ± 0.22 (27.4)	0.51 ± 0.02 (11.0)
	38.6 ± 7.5	9.3 ± 1.6 (24.1)	3.1 ± 0.1 (8.0)

Примечание. Здесь и в табл. 2 числа над чертой – активность ферментов в расчете на 1 г ткани, числа под чертой – в расчете на 1 г белка. Цифры в скобках – относительная активность, процент от активности ферментов в эпителии.

таковой в эпителии. При этом активность глицин-*L*-лейцинди-пептидазы выше в мышечно-серозной оболочке, чем в строме, щелочной фосфатазы, напротив – в строме. Высокий уровень активности дипептидазы в постэпителиальных слоях стенки кишечника, по-видимому, обусловлен выполнением этими ферментами регуляторных функций внутри клеток (Лысенко и др., 2011). Исследование более широкого спектра ферментов подтвердило относительно высокий уровень активности не только протеаз, в том числе ряда дипептидаз, но и гликозидаз в мышечно-серозной оболочке кишечника (табл. 2.2).

Эти данные позволили пересмотреть отношение к некоторым данным, полученным при исследовании гомогенатов. Действительно, несмотря на сходство происхождения и свойств ряда гидролаз, в частности панкреатических эндогидролаз, данные, полученные при исследовании гомогенатов слизистой оболочки, не всегда отражают характеристики ферментов, обеспечивающих только мембранное пищеварение. В связи с этим наиболее корректным может считаться изучение ферментов, находящихся в составе перфузатов (Пегель, Реморов, 1967), ферментов, десорбированных с поверхности слизистой оболочки (Кузьмина, 1976), а также ферментов, функционирующих в составе везикул (Crane et al., 1979) и глицеринизированных моделей энтероцитов (Уголев и др., 1979).

Таблица 2.2. Соотношение активности ферментов в слизистой и мышечно-серозной оболочке кишечника леща, мкмоль/мин (по: Уголев, Кузьмина, 1992)

Ферменты	Активность ферментов	
	слизистая (эпителий + строма)	мышечно-серозный слой
Сахараза	<u>0.63 ± 0.07</u>	<u>0</u>
	4.9 ± 0.6	0
Общая амилалитическая активность	<u>5.9 ± 0.4</u>	<u>3.9 ± 0.2 (66.1)</u>
	38.3 ± 2.6	30.5 ± 1.6 (79.6)
Общая протеолитическая активность	<u>5.6 ± 0.9</u>	<u>1.1 ± 0.4 (19.6)</u>
	36.4 ± 5.8	8.6 ± 3.1 (23.6)
Глицилглициндипептидаза	<u>1.1 ± 0.2</u>	<u>2.2 ± 0.4 (200.0)</u>
	7.1 ± 1.3	17.2 ± 3.1 (242.3)
Глицин- <i>L</i> -лейцинди-пептидаза	<u>3.2 ± 0.5</u>	<u>1.7 ± 0.3 (52.2)</u>
	20.8 ± 3.3	13.3 ± 2.3 (63.9)
Глицин- <i>L</i> -валинди-пептидаза	<u>2.0 ± 0.3</u>	<u>1.5 ± 0.3 (75.0)</u>
	13.0 ± 2.3	11.7 ± 2.0 (90.0)
Катепсин Д*	<u>13.8 ± 1.2</u>	<u>1.04 ± 0.41 (7.5)</u>
	89.6 ± 7.8	8.2 ± 1.2 (9.2)

* – условные единицы.

В настоящее время признается, что деградация ряда биополимеров также осуществляется не только в зоне щеточной каймы энтероцитов, но и в пристеночном слое слизи (Гальперин, Лазарев, 1986; Морозов и др., 1988).

Симбиотное пищеварение. Микробиологические исследования кишечника и других органов рыб долгое время проводились главным образом в связи с их патологическим состоянием (Bullock, 1965; Bullock et al., 1965; Anderson, Conroy 1969). Однако в последние десятилетия значительное внимание уделяется и нормальной микрофлоре пищеварительного тракта (Лубянскене и др., 1989; Шивокене, 1989; Cahill, 1990; Уголев, Кузьмина, 1993; Лубянскене, Ястюгинене, 1995; Шивокене и др., 1996; Buddington et al., 1997, 2000; Clements, 1997; Кузьмина, Скворцова, 2002). Последнее в значительной мере связано с доказательством участия энтеральной микробиоты в симбиотном пищеварении. Симбиотное пищеварение присуще всем многоклеточным организмам. Первоначально участие микроорганизмов в процессах пищеварения животных было продемонстрировано при исследовании растительноядных жвачных и подробно охарактеризовано в ряде обзоров (Проссер, Браун; 1967; Сравнительная физиология..., 1977; Шмидт-Ниельсен, 1982). При этом было установлено, что в ряде случаев (жвачные) симбионты не только разрушают первичные пищевые продукты, но и поглощаются макроорганизмом. Последнее позволило рассматривать комбинированное участие микроорганизмов у этой группы животных в симбиотном пищеварении и питании (Уголев, 1991). В целом ряде работ показано, что бактерии разрушают не только легкогидролизуемые пищевые субстраты (первичные нутриенты), но и компоненты пищи (лигнин, пектин, целлюлоза, хитин и другие), не гидролизуемые ферментными системами позвоночных животных, в том числе рыб (Уголев, 1985; Lesel et al., 1986; Лубянскене и др., 1989; Шивокене, 1989; Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, Скворцова, 2002; Кузьмина, 2005, 2015). В результате этого создается вторичный поток нутриентов (Уголев, 1985, 1991).

Помимо гидролитических ферментов микробиота способна продуцировать ряд биологически активных веществ – аминокислоты, в том числе незаменимые, витамины, лизоцим, токсины и другие, обеспечивая организм рыб веществами, необходимыми для жизнедеятельности (Чахава, 1972; Кушак, 1983; Уголев, 1985, 1991; Kono et al., 1987; Лубянскене и др., 1989; Шивокене, 1989; Moriarty, 1990; Sugita et al., 1991, 1992, 1997 а-с). Кроме этого выявлена важная роль микробных популяций пищеварительного тракта в формировании защитно-адаптационных систем организма (Чахава, 1972). Установлено, что в отсутствие микроорганизмов наблюдаются патологические изменения люминальной поверхности кишечника, в частности структуры и ультраструктуры слизистой оболочки, времени обновления энтероцитов, а также активности гидролитических

ферментов и транспортных систем (Кушак, 1983). Эти факты позволили рассматривать симбиоз энтеральной микробиоты и организма хозяина как открытую экосистему, обладающую особенностями экологии потоков, состояние которой в значительной мере зависит от состава пищи, в частности от содержания негидролизуемых волокон (Уголев, 1991; Hooper et al., 1998; Buddington, Weiher, 1999; Buddington et al., 2000; Hooper, Gordon, 2001).

Кишечную микробиоту разделяют на автохтонную (индигенную или собственную) и аллохтонную, или транзиторную (Шивокене, 1989; Уголев, 1991; Кузьмина, 2005, 2015). Основная масса микробиоты кишечника состоит из аэробных, факультативных и облигатных анаэробных бактерий (Лубянскене и др., 1989; Уголев, 1991; Buddington et al., 1997; Кузьмина, Скворцова, 2002; Кузьмина, 2005; Извекова и др., 2007; Суханова, 2012; Ray et al., 2012 a). В отличие от довольно стабильных прикрепленных бактериальных сообществ, состав полостного сообщества тесно связан с изменениями такового в воде и пище (Buddington et al., 1997).

Индукцированный аутолиз. Как известно, аутолиз – выработанная в процессе эволюции способность организмов разлагать собственные структуры при участии гидролитических ферментов (Уголев, 1961; Лушников, Шапиро, 1974). В 80-е годы XX в. А. М. Уголевым была выдвинута гипотеза индуцированного аутолиза, происходящего в пищеварительных полостях, и играющую значительную роль в процессах пищеварения у диких животных (Уголев, 1980). В основе гипотезы индуцированного аутолиза лежит представление о том, что пищеварительные соки в дополнение к собственной ферментативной активности содержат специфические факторы, способные индуцировать аутолиз. Для проверки гипотезы индуцированного аутолиза было проведено несколько циклов экспериментов, в которых была оценена роль желудочного пищеварения и аутолиза в расщеплении сложных биологических структур, как у высших, так и у низших позвоночных животных.

Изначально было проведено сопоставление скорости гидролиза нативных (сохраняющих собственные ферменты) и денатурированных тканевых структур под влиянием ферментов как нативного, так и подвергнутого тепловой инактивации натурального желудочного сока (Уголев, 1980, 1985; Уголев, Цветкова, 1984). Наиболее убедительные доказательства важной роли индуцированного аутолиза были получены при сопоставлении результатов различных вариантов опытов: 1) Денатурированная мышца + натуральный желудочный сок, что позволяло оценить относительную роль кислых протеаз желудочного сока в процессах протеолиза, т.е. классического механизма, который принято рассматривать как доминирующий или единственный. 2) Нативная мышца + раствор соляной кислоты. В этом случае исследовалось индуцирующее влияние соляной кислоты на аутолитические процессы в интактной ткани. 3) На-

тивная мышца + денатурированный желудочный сок. Этот вариант в сопоставлении с другими давал возможность установить относительную роль индуцированного аутолиза в процессах протеолиза. 4) Нативная мышца + натуральный желудочный сок. В данном варианте моделировался процесс, протекающий в естественных условиях.

Наиболее важным оказалось сопоставление результатов, полученных при инкубации натурального желудочного сока либо с нативным, либо с денатурированным субстратом. При использовании денатурированного субстрата прирост аминокислот происходит значительно медленнее (в 2 раза и более), чем в случае нативного, хотя теоретически денатурированные белки должны расщепляться примерно на порядок быстрее нативных. Кроме того, в первом случае отсутствует торможение гидролиза. На основании этих опытов было высказано предположение, что более 50% гидролиза, определяется не действием ферментов желудочного сока, а действием ферментов самой аутолизиремой ткани. При этом термически обработанный желудочный сок, не обладающий собственной ферментативной активностью, вызывает интенсивное расщепление белков, которое сопоставимо с действием натурального желудочного сока (Уголев, Цветкова, 1984).

Эти опыты убедительно показали, что расщепление структур нативного пищевого объекта происходит значительно быстрее, чем соответствующих структур, подвергнутых тепловой денатурации. Вместе с тем сочетание эффектов экзогенных и эндогенных ферментов обеспечивает не только более быстрый, но и более глубокий гидролиз белков и основных тканевых структур. На основании этих данных было высказано предположение, что благодаря индуцированному аутолизу достигается значительная функциональная разгрузка последующих этапов пищеварения у диких животных. Кроме того, подчеркивалось, что механизм индуцированного аутолиза реализуется не только у хищных, но также у всеядных, растительноядных и микробоядных организмов, причем пищеварительные ферменты биотрофов лишь дополняют индуцированный аутолиз объекта питания (Уголев, 1980, 1985). Вскоре эта гипотеза была подтверждена при исследовании рыб (Уголев, Кузьмина, 1988, 1993).

Эффективность этого механизма объяснялась тем, что в отличие от поверхностного действия пищеварительных соков на пищевой объект, характерного для классических схем пищеварения, в случае индуцированного аутолиза наблюдается «взрыв» тканей изнутри. Это связано с тем, что индуцированный аутолиз тканей жертвы запускается ионами водорода желудочного сока консумента, скорость диффузии которых внутрь тканей пищевого объекта приблизительно в 1000 раз выше, чем у пищеварительных ферментов, что позволяет им успешно преодолевать эпителиальный барьер и плазматические мембраны жертвы. При этом наблюдается гидролитическое расщепление молекул, составля-

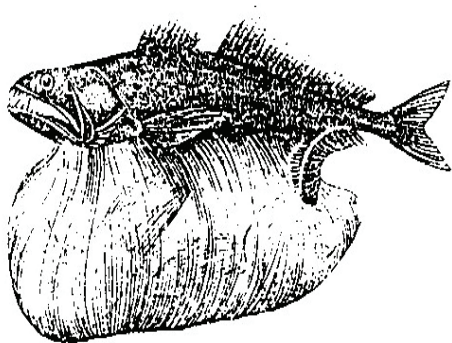


Рис. 2.2. Черный живоглот или хиазмод (*Chiasmodon niger*), проглотивший жертву (по: Расс, 1971)

ющих клеточные структуры почти всех тканей (исключение – жировая ткань). Высокая скорость деградации тканей жертвы обусловлена тем, что в кислых секретах организма-ассимилятора содержатся главным образом протеиназы, тогда как ферментный спектр лизосом практически универсален (Уголев, 1985).

Вскоре была продемонстрирована возможность участия индуцированного аутолиза в процессах пищеварения у рыб. Нами проведено несколько

циклов экспериментов. Первые исследования показали, что процесс индуцированного аутолиза может играть существенную роль в пищеварении у рыб разных видов (Уголев, Кузьмина, 1988, 1993; Кузьмина, 1990, 1993). Однако вскоре было доказано, что доля ферментов объектов питания за счет их большей массы может значительно превышать активность ферментов консумента, гидролизующие те же субстраты (Кузьмина, 2000, 2005, 2015; Кузьмина и др. 1999; Кузьмина, Голованова, 2001; Кузьмина и др., 2004; Кузьмина, Скворцова, 2001, 2003). О соотношении массы тканей жертвы, обладающих гидролазами, способными к аутодеградации, и массы пищеварительного тракта консумента можно судить по рис.2.2.

Наличие широкого спектра гидролаз у гидробионтов, являющихся потенциальными объектами питания рыб, свидетельствует об универсальности этого механизма (Высоцкая и др., 1981; Немова, 1978, 1992, 1996; Кузьмина, 1990, 1996; Кузьмина, Скворцова, 2001, 2003; Кузьмина и др., 2004). Предполагается, что в инициации процессов распада клеточных структур за счет индуцированного аутолиза могут участвовать помимо протонов кальпаины, а также гормоны, аминокислоты, гуанозин-тетрафосфат и другие соединения, регулирующие процессы распада в живых клетках (Дин, 1981; Уголев, Кузьмина, 1993).

2.3. Взаимодействие различных типов пищеварения

Выше были описаны отдельные типы пищеварения. Вместе с тем реальные процессы тесно взаимосвязаны. Ниже приведена схема процессов пищеварения у рыб, которая свидетельствует о том, что начальная деградация биополимеров осуществляется за счет внеклеточного (по-

лостного) пищеварения, реализующегося главным образом в желудке и кишечнике (у некоторых видов рыб в пилорических придатках), а также индуцированного аутолиза и симбионтного пищеварения (рис. 2.3).

При этом частично образуются продукты, способные сразу поступать на транспортные системы энтероцитов. Однако основная часть пищевых субстратов разлагается лишь до уровня поли- и олигомеров. Дальнейшая их деградация происходит в зоне щеточной каймы энтероцитов за счет мембранного пищеварения. При этом происходит последовательная деградация биополимеров по мере их прохождения по гликокаликсному пространству. В результате этого основная часть нутриентов поступает к транспортным системам, расположенным на апикальной мембране энтероцитов, в виде мономеров. Важно отметить, что некоторая часть проникает через апикальную мембрану энтероцитов в виде димеров, которые разрушаются внутри энтероцитов гидролазами цитозоля. Это в первую очередь относится к дипептидам. Кроме того, небольшая часть нутриентов при помощи механизма персорбции (транспорту по межклеточному пространству) может преодолевать эпителиальный барьер в нативном виде (Уголев, Кузьмина, 1993).

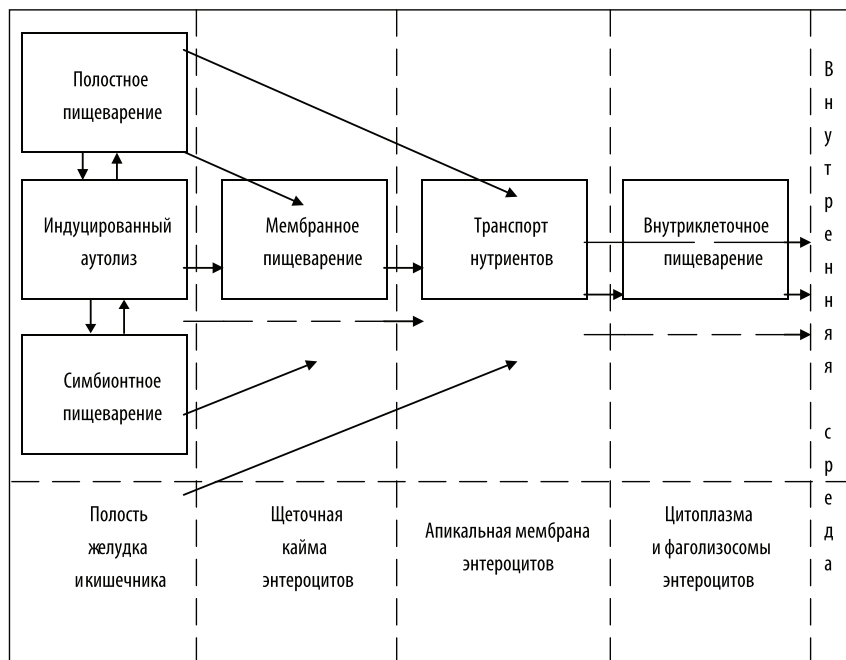


Рис. 2.3. Схема процессов пищеварения у рыб (по: Кузьмина, 1996)

2.4. Всасывание нутриентов

Всасывание нутриентов происходит через апикальную мембрану микроворсинок щеточной каймы энтероцитов. У рыб существует два основных механизма транспорта нутриентов – макро- и микромолекулярный (Уголев, Кузьмина, 1993). Макромолекулярный транспорт связан с переносом крупных молекул и надмолекулярных агрегаций по межклеточным каналам и щелям (персорбция), а также с их трансцеллюлярным переносом через плазматические мембраны и цитоплазму клеток с помощью фагоцитоза и пиноцитоза, или эндоцитоза. По межклеточным промежуткам переносится часть воды и электролитов, а также другие вещества, в том числе белки и пептиды (Ferraris et al. 1984; Oxley et al. 2007). Предполагается, что парацеллюлярный транспорт играет существенную роль в процессе всасывания ди- и трипептидов (Verri et al., 2008, 2010). В ряде работ продемонстрирована возможность поглощения более крупных пептидов, а также молекул белков в дистальном отделе кишечника рыб, предположительно путем эндоцитоза (Sire, Vernier 1992; Sire et al. 1992, Concha et al. 2002, Valle et al., 2008). Высказано предположение, что эндоцитозу белков предшествует их соединение с кишечным белком I-FABP, связывающим жирные кислоты (Concha et al., 2002). Наиболее важную роль в проникновении интактного белка через кишечный барьер этот механизм играет на ранних этапах развития рыб (Georgoroulou et al., 1985; Deplano et al., 1991). Однако его роль в удовлетворении пищевых потребностей взрослого организма невелика (Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, 2005).

В большинстве случаев у рыб доминирует микромолекулярный транспорт, обеспечивающий перенос во внутреннюю среду организма различных ионов, аминокислот, сахаров, жирных кислот (Collie, Ferraris, 1995), а также пептидов с небольшой молекулярной массой (Thamotharan et al., 1996). Различают два типа микромолекулярного транспорта – пассивный и активный. Пассивный транспорт, включающий ультрафильтрацию, конвенцию и диффузию, осуществляется за счет электрохимического градиента и пор. Различают несколько вариантов диффузии веществ через клеточные мембраны – простую, обменную, ограниченную и облегченную диффузию. Первые два механизма обеспечивают поступление в энтероцит различных низкомолекулярных субстратов (вода, мочевины, жирные кислоты) по градиенту концентрации. Активный транспорт осуществляется против концентрационного градиента с затратой энергии и при участии специальных транспортных белков и последующего транспорта молекул нутриентов через базолатеральную мембрану в кровяное русло с помощью облегченной диффузии (Smith, 1983; Ferraris, Ahearn, 1984; Buddington et al. 1987, Collie, Ferraris, 1995, Bakke et al., 2011).

Всасывание пищевых веществ с участием белков-переносчиков (облегченная диффузия и активный транспорт) характеризуется порогом насыщения, что обусловлено ограниченностью количества транспортеров (насосов, переносчиков, каналов и пор) в мембране кишечной клетки (Farmanfarmaian et al., 1972; Ferraris, 1982; Ferraris, Ahearn, 1984). При этом транспорт одного вещества сопряжен с движением другого вещества, перемещение которого по градиенту концентрации служит источником энергии для сопрягаемого транспорта. Чаще всего в такой роли используется электрохимический градиент Na^+ , а также Cl^- , K^+ и H^+ (Bakke et al., 2011). В кишечнике различных видов рыб обнаружены транспортные белки, участвующие в переносе во внутреннюю среду организма гексоз, аминокислот и пептидов. В транспорте глюкозы наиболее важную роль играют Na^+ -зависимый транспортер глюкозы SGLT1 (Sala-Rabanal et al. 2004, Bakke-McKeller et al., 2008) и GLUT2, осуществляющий перенос глюкозы через базолатеральную мембрану посредством облегченной диффузии (Krasnov et al., 2001, Hall et al., 2006). В транспорте нейтральных аминокислот участвует транспортный белок B^0 (Storelli et al., 1989, Boge et al., 2002), основных аминокислот – γ (Storelli et al., 1989, Martínez-Montaño, 2013), ди- и три пептидов – транспортер PEPT1 (Verri et al., 2003). Вместе с тем в кишечнике рыб не выявлены такие Na^+ -зависимые транспортеры аминокислот, как A, ASC, $\text{b}^{0,+}$ и другие, функционирующие у высших позвоночных животных (Bakke et al., 2011).

Поскольку в пище рыб доминируют белковые компоненты, особое внимание будет уделено механизмам транспорта аминокислот и пептидов. Интересные данные были получены при исследовании всасывания аминокислот в кишечнике европейского угря *Anguilla anguilla*, показавшие наличие четырех различных систем Na^+ -зависимого транспорта аминокислот, аналогичных транспортным системам млекопитающих. Это система включает транспортеры кислых (X_{AG}^-), основных (γ) и нейтральных (B^0) аминокислот, а также транспортеры иминокислот (IMINO/PAT), локализованные в апикальной мембране энтероцитов (Storelli et al. 1989, Vilella et al. 1989). Транспортер иминокислот существенно отличаются от аналогичной системы млекопитающих, поскольку полностью ингибируется аланином (Vilella et al. 1989), и, частично, фенилаланином (Storelli et al., 1989). Помимо этого, у рыб обнаружен Na^+ -независимый транспортер для аланина, глицина и лизина, аналогичный транспортной системе нейтральных и основных аминокислот у млекопитающих (Storelli et al., 1989, Glover et al., 2011). При этом L-гистидин в кишечнике рыб, по-видимому, транспортируется с участием высоко специфичного транспортного белка, так как другие аминокислоты, присутствующие в полости тонкой кишки, не оказывают влияния на интенсивность и кинетические характеристики его транспорта (Glover, Wood, 2008). Однако субстратная специфичность транспортеров аминокислот может варьировать у разных видов рыб (Collie, Ferraris. 1995).

Достаточно полно изучен транспорт ди- и трипептидов через апикальную мембрану энтероцита у рыб разных видов рыб с участием H^+ -зависимого транспортного белка PEPT1 (SLC15A1), а также, транспортного белка PEPT2 (SLC15A2) (Verri et al., 2008; Romano et al. 2006; Goncalves et al., 2007; Hakim et al. 2009; Sangaletti et al. 2009; Terova et al. 2009; Ahn et al., 2013). Первый из них обладает более низким сродством к субстрату, но большей мощностью, а второй – более высоким сродством к транспортируемым молекулам дипептидов. В энтероцитах часть пептидов гидролизуются до уровня аминокислот, другая часть транспортируется через базолатеральную мембрану, очевидно, с помощью транспортного белка. Однако механизм этого транспорта остается малоизученным (Verri et al., 2010).

Вместе с тем ранее было показано, что у рыб доминирует облегченная диффузия продуктов гидролиза белков и сахаров, обладающая сходством и с простой диффузией, и с активным транспортом. Облегченная диффузия реализуется при помощи специальных переносчиков – белковых молекул, облегчающих проникновение дипептидов, аминокислот и сахаров через мембрану за счет концентрационного градиента без затраты энергии (Уголев и др., 1989, 1990). Сопоставление роли разных механизмов транспорта мономеров свидетельствует о том, что у рыб при низких концентрациях субстрата (0.5 мМ) наибольшую роль играют процессы облегченной диффузии и активного транспорта (Ferraris, 1982; Reshkin, Ahearn, 1987), при более высоких концентрациях субстрата возрастает доля пассивной и облегченной диффузии (Рощина, 1981; Кузьмина, Извекова, 1988 а,б; Голованова, 1991, 1992).

Недавно было показано, что этот механизм функционирует и у высших позвоночных: транспортер глюкозы SGLT1 функционирует при низких, а при высоких концентрациях глюкозы в транспорт через апикальную мембрану включается GLUT2. Действительно, при добавлении глюкозы в низкой концентрации транспортер GLUT2 располагается вблизи базолатеральной мембраны. При добавлении глюкозы в высокой концентрации GLUT2 также обнаруживается в апикальной части клеток. Вместе с тем SGUT1 при разных вариантах нагрузок локализован исключительно вблизи апикальной мембраны (Грефнер и др., 2015). Была высказана гипотеза о том, что в условиях нормального пищеварения облегченная диффузия глюкозы через апикальную мембрану с участием транспортера GLUT2 многократно превышает ее натрий-зависимый активный транспорт через эту мембрану с участием SGUT1 и становится основным механизмом всасывания глюкозы в тонкой кишке. Согласно результатам иммуноцитохимического анализа, повышенная глюкозная нагрузка на изолированный участок тонкой кишки крыс при его регуляторной перфузии в условиях хронического опыта приводит к увеличению концентрации обоих транспортеров (как SGUT1, так и GLUT2) в апикальной мембране энтероцитов (Груздков и др., 2015).

Кроме того, важно отметить функциональную неоднородность кишечника рыб в отношении всасывания различных нутриентов, а также о значительную вариабельность проксимо-дистальных градиентов транспорта одного и того же вещества у рыб разных видов. Особенностью всасывания нутриентов у многих видов рыб является наличие систем активного микромолекулярного транспорта практически по всей длине кишечника (Collie 1985; Bakke-McKeller et al. 2000). В равной мере это относится к процессам эндоцитоза. При этом в энтероцитах всего кишечника выявляются многочисленные супрануклеарные абсорбционные вакуоли (Collie 1985; Bakke-McKeller et al., 2000; Sire et al. 1992), что указывает на важную роль в поглощении нутриентов дистального отдела кишечника рыб. Однако липиды всасываются преимущественно в пилорических придатках и проксимальных участках кишечника (Barrington, 1957; Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, 2005; Denstadli et al. 2004; Hernandez-Blazquez et al., 2006).

Проксимо-дистальные градиенты транспорта аминокислот и гексоз у рыб разных видов различны (Buddington et al. 1987; Bakke-McKeller et al. 2000; Jutfelt et al. 2007; Nordrum et al. 2000). В условиях *in vitro* аккумуляция и транспорт аминокислот максимальны в пилорических придатках (Bakke-McKeller et al. 2000), средних (Boge et al., 1979) или задних участках кишечника (Смирнова, 1981; Buddington, Doroshov, 1986; Nordrum et al. 2000), моносахаридов – в пилорических придатках (Bakke-McKeller et al. 2000), переднем (Ferraris, Ahearn, 1984; Buddington, Doroshov, 1987), среднем (Stokes, Fromm, 1964) или заднем отделе кишечника (Buddington, Doroshov, 1986; Голованова, 1992). У некоторых всеядных и плотоядных видов рыб различия в скорости всасывания аминокислот и сахаров в различных участках кишки отсутствуют (Смирнова, 1981; Голованова, 1991). Важно отметить, что пилорические придатки рыб часто обладают равными или большими транспортными возможностями при всасывании нутриентов по сравнению с кишечником (Buddington, Doroshov, 1987; Bakke-McKeller et al. 2000). Характер проксимо-дистальных градиентов транспорта одного и того же вещества в значительной мере зависит от особенностей питания рыб (Buddington et al. 1987). Вместе с тем функциональная топография кишечника рыб необычайно пластична и может изменяться в зависимости от структуры пищевых субстратов, вида рыб, их функционального состояния, а также целого ряда биотических и абиотических факторов (Смирнова, 1981; Голованова, 1991; Голованова, Кузьмина, 1998).

В настоящее время является общепринятым, что всасывание пищевых веществ на единицу поверхности кишечника у пресноводных рыб выше, чем у рыб, обитающих в соленой воде, а скорость всасывания выше в водоемах с более высокой температурой воды. Несмотря на то, что в кишечнике рыб пищевые вещества всасываются медленнее, чем у теплокровных, их транспортные белки имеют более высокое сродство к пере-

носимому субстрату, чем транспортеры в кишечнике млекопитающих. Помимо этого, у рыб заметно меньше число транспортных белков на единицу поверхности кишечника, а также и относительная общая площадь всасывающей поверхности кишечника по сравнению с млекопитающими (Ferraris et al. 1989; Collie, Ferraris 1995). Также показано, что у травоядных и всеядных рыб транспортеры аминокислот имеют более высокое сродство к субстрату по сравнению с хищными рыбами (Ferraris, Ahearn, 1984; Buddington et al., 1987). При этом эффективность всасывания пищевых веществ в кишечнике рыб зависит от комплекса факторов: типа питания, особенностей таксономии, температуры, солёности воды и других (Buddington et al. 1987; Collie, Ferraris, 1995; Buddington et al., 1997; Houpe et al., 1997; Bakke-McKellep et al. 2000; Nordrum et al. 2000; Bakke et al., 2010).

2.5. Заключительные замечания

Важно отметить, что до последнего времени практически не принимались попытки сопоставить степень развития того или иного механизма пищеварения от типа питания рыб. При этом ихтиологами-трофологами была тщательно разработана классификация рыб, основанная на типе их питания. Описаны не только крупные экологические группы, такие, как фитофаги, зоофаги и фитозоофаги, но и группы рыб, составленные на базе более тонкого анализа спектра их питания. При этом были выделены фитопланктофаги, перифитофаги, зоопланктофаги, бентофаги и ихтиофаги (Gerking, 1994; Pavlov, Kasumyan, 2002). Физиологами-трофологами доказано, что у рыб, как и других позвоночных животных, существуют не только полостное, мембранное и внутриклеточное пищеварение, но и два типа пищеварения, которые ранее рассматривались, как дополнительные – симбионтное и индуцированный аутолиз. Именно благодаря работам, проведенным на рыбах, было предложено перевести их в ранг основных (Кузьмина, 1996).

Если механизмы всех типов пищеварения близки, то их реализация связана с особенностями, характерными как для всего надкласса рыб, так и для представителей отдельных таксономических и экологических групп. Как будет показано ниже, еще в середине XX в. указывалось на зависимость активности ферментов цепи протеаз и карбогидраз (в настоящее время гликозидаз) от типа питания рыб. У хищных рыб отмечалась большая активность протеаз, у «мирных» – карбогидраз (Коштоянц, 1950; Barrington, 1957). При исследовании процессов мембранного пищеварения обращалось внимание на зависимость активности ферментов от типа питания рыб (Кузьмина, 1981; Уголев, Кузьмина, 1993; Kuz'mina, 2008). В свою очередь в работах, касающихся индуцированного аутолиза, подчеркивалось, что этот механизм наиболее развит у рыб, облада-

ющих хорошо развитым желудком (Кузьмина 2000, 2005, 2015; Kuz'mina, Golovanova, 2004; Kuz'mina, 2008). Симбиотное пищеварение хорошо развито у бентофагов, отличающихся большим видовым разнообразием и численностью энтеральной микробиоты по сравнению пелагическими планкто- и ихтиофагами (Зубкова, 1965, 1966; Кузьмина 2005, 2015; Золотарева, 2015).

При обсуждении закономерностей транспортных процессов у рыб необходимо отметить, что у рыб скорость транспорта нутриентов на порядок ниже, чем у теплокровных позвоночных животных (Уголев, Кузьмина, 1993). При этом преобладают механизмы простой и облегченной диффузии. Доля активного компонента транспорта у рыб по сравнению с высшими позвоночными крайне низка (Уголев и др., 1990). Кроме того, для рыб характерна слабая степень сопряженности пищеварительных и транспортных функций, меньшая зависимость транспортных процессов от присутствия кислорода, значительная роль дистальных отделов кишки во всасывании нутриентов по сравнению с высшими позвоночными животными (Voge et al., 1980; Уголев и др., 1990; Голованова, 1992. Последнее, по всей вероятности, обусловлено не столько низким уровнем филогенетического развития, сколько особенностями экологии рыб. Ранее обращалось внимание на более низкие метаболические потребности и энергозатраты на локомоции у рыб (Karasov et al. 1985), связанные в значительной мере с их обитанием в гипогравитационной среде (Уголев, Кузьмина, 1993). При этом исключительно большое видовое разнообразие и высокая численность рыб в различных водных экосистемах убеждают в достаточной эффективности выработанных в процессе эволюции механизмов начальных этапов ассимиляции пищи.

Кроме того, в ряде работ отмечается зависимость активности ферментов от преобладания в пище тех или иных гидробионтов, например моллюсков (Кузьмина, 1981, 2015; Соловьев, 2011). Однако работы, касающиеся зависимости степени развития отдельных механизмов пищеварения у икродов, личинкочедов, чешуеядов, моллюскоядов и бактериофагов от предпочитаемых объектов питания, в доступной литературе отсутствуют. Это, как подчеркивалось выше, в значительной степени обусловлено тем, что большинству рыб свойственны значительные сезонные и возрастные изменения в составе пищи (Поддубный, 1971; Pavlov, Kasumyan, 2002). Вместе с тем такого рода исследования чрезвычайно важны для понимания молекулярных основ экзотрофии рыб.

Таким образом, в настоящее время переваривание пищи характеризуется как комплексный процесс, состоящий из обработки различных компонентов пищи ферментами организма-ассимилятора, энтеральной микробиоты и объектов питания за счет всех известных в настоящее время типов пищеварения. При этом степень развития того или иного механизма пищеварения в значительной мере зависит от характера питания рыб.

ГЛАВА 3

МИКРОБИОТА ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА РЫБ

Известно, что микробиота является не только неотъемлемым компонентом макроорганизма, но и играет важную роль в процессах его жизнедеятельности (Шивокене, 1989; Лубянскене и др., 1989; Уголев, 1985, 1991; Кузьмина, Скворцова, 2002; Кузьмина, 2005, 2015; Бурлаченко, 2008; Ganguly, Prasad, 2012; Ray et al., 2012a). Сосуществование микро- и макроорганизмов, вероятно, является древним эволюционным приобретением и отмечается уже на уровне эволюционно наиболее древних многоклеточных животных. В процессе эволюции большинство животных адаптировалось к симбиозу с определенными видами бактерий, часть из которых может принимать участие в процессах пищеварения (Уголев, 1985). Состав микробиоты рыб видоспецифичен и относительно стабилен (Шивокене, 1989; Лубянскене и др., 1989; Cahill, 1990; Clements, 1997; Ringø et al., 1995; Кузьмина, Скворцова, 2002; Austin, 2006; Извекова и др., 2007; Ganguly, Prasad, 2012). Однако численность симбиотной микрофлоры значительно варьирует в зависимости от ряда факторов (Шивокене и др., 1976; Cahill, 1990; Ringø et al., 1995; Clements, 1997; Austin, 2006; Nayak, 2010). Вопросы, касающиеся зависимости численности бактерий от интенсивности и спектра питания рыб подробно рассмотрены ниже.

Кроме того, установлена важная роль микробиоты пищеварительного тракта в трансформации веществ как экзогенной, так и эндогенной природы (Лубянскене и др., 1989), а также в формировании защитно-адаптационных систем организма (Чахава, 1972). Показано, что в отсутствие микроорганизмов наблюдаются изменения структуры кишечника (Чахава, 1972), времени обновления энтероцитов, а также активности гидролитических ферментов и состояния транспортных систем (Чахава и др., 1982; Кушак, 1983). Также важно отметить, что не все используемые в настоящее время молекулярно-генетические методы определения видового состава бактерий позволяют выявить все таксоны. Так, при оценке разнообразия микробного сообщества в кишечнике караса *Carassius gibelii*, а также в окружающей воде, грунте и личинках хирономид с использованием ПЦР-скрининга, клонирования и нового поколения секвенирования (NGS) генов 16S рибосомной РНК было показано, что возможности этих методов различны. Метагеномное секвенирование 16S рДНК позволило выявить большее разнообразие микробиоты по сравнению с выявляемым при помощи геномной библиотеки. При этом групп-специфическая ПЦР показала присутствие в кишечнике караса бактерий девяти типов (Kashinskaya et al., 2015).

3.1. Видовой состав и численность энтеральной микробиоты у рыб

Видовой состав и численность энтеральной микробиоты зависит от условий формирования бактериоценоза на ранних этапах онтогенеза рыб. Формирование регулярной микрофлоры в пищеварительном тракте личинки и мальков рыб является сложным процессом, зависящим от субстрата, на который отложена икра, объектов питания, микробиоты, присутствующей в воде, и структуры пищеварительного тракта (Lessel et al., 1986; Scott, 1997; Meisner, Burns, 1997). Изначально обсеменение тканей предличинки происходит за счет микрофлоры эпибиоты яйца (Olafsen, 2001; Romero, Navarrete, 2006). Пищеварительный тракт личинок в течение короткого промежутка времени после вылупления не заселен бактериями (Шивокене, 1989; Cahill, 1990; Лубянскене, Ястюгинене, 1995; Buddington et al., 1997; Clements, 1997).

Основная часть микробиоты попадает в организм личинок с водой и пищей после открытия ротового отверстия (Buddington et al., 1997; Кузьмина, Скворцова, 2002; Кузьмина, 2005; Romero, Navarrete, 2006; Суханова, 2012). В этот период формируются автохтонные (индигенные) бактериальные сообщества, которые достаточно стабильны. Состав транзитного сообщества, меняющегося на протяжении онтогенеза, в значительной мере зависит от такового в воде и пище. Считается, что пища является одним из основных экзогенных факторов, влияющих на энтеральный микробиоценоз (Trust et al., 1979; Лубянскене и др., 1989; Шивокене, 1989; Баздеркина, 1992; Buddington et al., 1997; Кузьмина, Скворцова, 2002). При этом макроэволюционная микробная конвергенция, выявляемая у рыб с аналогичными диетами, может быть показателем вторичных микробных сдвигов, возникающих через некоторое время после адаптации, управляемой хозяином (Sullam et al., 2015). Действительно, при исследовании микрофлоры кишечника у трехиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* из 10 различных озер, водотоков и их эстуариев в районе острова Ванкувер (Канада), а также секвенированных проб окружающей среды, было показано, что различия в ее составе в значительной степени зависят от генотипа хозяина (Smith et al., 2015).

По сравнению с водной средой, пищеварительный тракт значительно богаче питательными веществами. Следовательно, в нем создаются более благоприятные условия для роста большинства бактерий и формирования их экологической ниши (Ganguly, Prasad, 2012). Из-за постоянного контакта желудочно-кишечного тракта рыб с водной средой долгое время существование стабильной энтеральной микробиоты подвергалось сомнению (Cahill, 1990). Исследования, проведенные в последние десятилетия показали, что стабильная микробиота в пищеварительном тракте начинает формироваться после первого кормления (Romero,

Navarrete, 2006). На примере карпа показано, что в желудочно-кишечном тракте рыб микробиоценоз формируется постепенно от личиночной стадии до уровня взрослых рыб. Так, бактерии р. *Bacteroides* появляются в конце 44-го дня после вылупления, доминируя в кишечнике взрослых особей (Cahill, 1990). Вместе с тем не все бактерии, содержащиеся в пище и попадающие в пищеварительный тракт рыб, поселяются в нем, поскольку часть из них переваривается ферментами хозяина (Wang et al., 2008; Ganguly, Prasad, 2012).

В пищеварительном тракте рыб доминируют аэробные и факультативные анаэробные бактерии (Ringø et al., 1995; Кузьмина, Скворцова, 2002; Кузьмина, 2005; Austin, 2006; Извекова и др., 2007). Однако у некоторых видов рыб в пищеварительном тракте обнаруживают облигатные анаэробные бактерии (Sakata et al., 1980). В бактериоценозах пищеварительного тракта рыб преобладают бактерии из р.р. *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia*, *Aeromonas*, *Mycoplasma*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Alcaligenes*, *Eikenella*, *Bacteroides*, *Citrobacterfreundii*, *Hafniaalvei*, *Cytophaga/Flexibacter*, *Bacillus*, *Listeria*, *Propionibacterium*, *Staphylococcus*, *Microbacterium*, *Moraxella* и *Pseudomonas* (Austin, 2006; Извекова и др., 2007; Ganguly, Prasad, 2012; Ray et al., 2012a).

Так, в пищеварительном тракте у представителей сем. *Salmonidae* (р. *Oncorhynchus*) обнаружены микроорганизмы р. *Clostridium* (Trust, Sparrow, 1974), у белого амура *Ctenopharyngodon idella* – *Actinomyces*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Fusobacterium* и *Peptostreptococcus*, у карася *Carassius auratus* – *Bacteroides*, у радужной форели *Salmo gairdneri* – *Bacteroides*, *Clostridium* и *Fusobacterium* (Trust et al., 1979), у сазана *Cyprinus carpio* – 6 видов р. *Clostridium*, а также *Bacteroides variabilis* и *Bacillus centrosporigenes* (Зубкова, 1965). В кишечнике щуки *Esox lucius*, леща *Abramis brama*, плотвы *Rutilus rutilus* и окуня *Perca fluviatilis*, обитающих в Верхней Волге, чаще встречаются микроорганизмы р.р. *Pseudomonas* и *Bacillus*, а также кокковые формы, коринебактерии и микромицеты (Кузьмина, Скворцова, 2002). В кишечнике таких видов рыб, как плотва *Rutilus rutilus*, уклейка *Alburnus alburnus* и трехиглая колюшка *Gasterosteus aculeatus* преобладают бактерии р. *Aeromonas*, кроме того выявлены бактерии р.р. *Acinetobacter*, *Pseudomonas/Shewanella*, ферменты которых эффективно разрушают углеводы (Mickénienė, Šyvokienė, 2008).

В кишечнике ряда пресноводных рыб иногда встречаются микроорганизмы р. *Vibrio* (Austin, Austin., 1999). Однако в значительном количестве анаэробные бактерии выявляются лишь в редких случаях. Так, в пищеварительном тракте плотвы из оз. Друкшяй обнаружено преобладание представителей р. *Vibrio*, которые в содержимом кишечника составляли 54.3%, а в стенке кишечника 37.8% от общей численности выделенных бактерий. Доминирование бактерий р. *Vibrio* и усиление их вирулентности по мнению авторов было связано с плохим экологическим состояни-

ем озера и снижением иммунного статуса рыб (Лубянскене, Ястюгинене, 1995).

Благодаря использованию генетических методов исследования у ряда видов рыб выявлены бактерии фил *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* и *Actinobacteria* (Суханова, 2012) а также *Euryarchaeota*, *Verrucomicrobia* и *Cyanobacteria* (Кашинская и др., 2012). Так, в составе кишечной микрофлоры байкальского омуля *Coregonus migratorius* и рыб р. *Thymallus* определены представители аллохтонной и автохтонной микрофлоры. К аллохтонной отнесены строгие аэробы, представители филы *Proteobacteria*: *Azospirillum*, *Bradyrhizobium*, *Comamonas*, *Collimonas*, *Pseudomonas*, *Pseudoalteromonas*, *Quatrionococcus*, *Stenotrophomonas*, некультивируемые бактерии фил *Bacteroidetes* и *Actinobacteria*, широко распространенные в водных экосистемах. Состав собственной микрофлоры байкальского омуля и рыб рода *Thymallus* включает представителей родов *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Brevinema*, *Caulobacter*, *Clostridium*, *Deefgea*, *Delftia*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Mycoplasma*, *Plesiomonas*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Spironema*, *Sphingomonas* и некультивируемые *Deltaproteobacteria*, среди которых описаны преимущественно факультативные и облигатные анаэробы, являющиеся типичными представителями кишечной микрофлоры гомойотермных и пойкилотермных животных (Суханова, 2012).

В химусе серебряного карася *Carassius auratus*, судака *Sander lucioperca* и окуня *Perca fluviatilis*, обитающих в оз. Чаны, выявлено наличие микроорганизмов филы *Euryarchaeota*, в то время как в химусе ельца *Leuciscus leuciscus*, плотвы и щуки представители этого филума не зарегистрированы. Представители фил *Planctomycetes*, *Verrucomicrobia* и *Cyanobacteria* обнаружены в химусе, как ихтиофагов, так и представителей мирных рыб (Кашинская и др., 2012). Позднее в кишечнике карася *Carassius gibelio*, а также в окружающей воде, грунте и личинках хирономид при помощи групп-специфической ПЦР выявлены бактерии, относящиеся к 9 филам. При этом была выявлено сходство видового состава микробиоты кишечника и среды обитания: наиболее многочисленными оказались представители *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Cyanobacteria* и *Actinobacteria* (Kashinskaya et al., 2015).

В пищеварительном тракте морских рыб выявлены микроорганизмы р.р. *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Alteromonas*, *Carnobacterium*, *Flavobacterium*, *Photobacterium*, *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Corinebacterium*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* и *Vibrio* (Lesel, 1972; Horsley, 1977; Sugita et al., 1988; Cahill, 1990; Austin, 2006; Tapia-Paniagua et al., 2010). При этом у многих видов в числе доминирующих отмечены представители р. *Vibrio* (Horsley, 1977; Cahill, 1990). У некоторых видов рыб доминируют виды, принадлежащие к классу γ-протеобактерий, в меньшем количестве представлены

α-протеобактерии, β-протеобактерии, ε-протеобактерии. Кроме того, представлены виды, принадлежащие к группе Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides, Spirochaetales. (Yang et al., 2007; Fjellheim et al., 2007; Tapia-Paniagua et al., 2010). Из кишечника некоторых видов рыб выделены молочнокислые бактерии: *Lactococcus lactis* CLFP 101, *Lactobacillus plantarum* CLFP 238 и *Lactobacillus fermentum* CLFP 242 (Balcázar et al., 2008), а также *Lactococcus lactis* (Zhou et al., 2009). Однако наиболее распространенными являются представители р.р. *Vibrio* и *Pseudomonas*, что было показано при исследовании семи видов рыб японских прибрежных вод: пескарка *Callionymus sp.*, силлага *Sillago japonicus*, гирелла *Girella punctata*, лжегубан *Pseudolabrus japonicus*, дитрема *Ditrema temminckii*, морской угорь *Conger japonicus* и кузовок *Ostracion cubicus* (Sugita et al., 1988).

Анализ бактериального сообщества у непитающихся предличинок палтуса *Hippoglossus hippoglossus* показал высокое разнообразие микроорганизмов. В структуре сообщества доминировали представители р.р. *Marinomonas*, *Marinobacter*, *Aeromonas* и *Shewanella*. При этом представители *Marinomonas* встречались только в период начала экзогенного питания предличинок, когда доминировали группы *Vibrio* и *Shewanella* (Bjornsdottir et al., 2009). В кишечнике личинок атлантической трески *Gadus morhua* большинство штаммов бактерий принадлежат к γ-протеобактериям, меньшая часть – к α-протеобактериям. Другие антагонистические бактерии имеют общие последовательности с *Nyphomicrobium*, *Marinomonas*, *Pseudoalteromonas*, *Roseobacter* и *Shewanella* (Fjellheim et al., 2007).

При питании личинок трески *Gadus morhua* коловратками в микробиоте пищеварительного тракта преобладают представители р.р. *Ruegeria*/*Roseobacter*, *Pseudoalteromonas*, и *Microbacterium*. При замене коловраток артемиями (более чем 90 %) в составе микробиоты преобладают виды, относящиеся к р. *Vibrio*. Интересно, что при питании личинок артемиями в микрофлоре пищеварительного тракта преобладали *Vibrio alginolyticus*, при кормлении сухими кормами начинали доминировать *V. splendidus* (Reid et al., 2009). Количество видов, принадлежащих к р. *Vibrio*, увеличивается и при добавлении к пище морского языка *Solea senegalensis* альгината натрия. Важно, что у контрольных особей в составе кишечной микробиоты помимо видов, относящихся к р. *Vibrio*, доминируют γ-протеобактерии (Tapia-Paniagua et al., 2010).

У полосатого фугу *Takifugu obscurus* найдено, согласно филогенетическому анализу, 38 видов бактерий. Доминируют виды, принадлежащие классу γ-протеобактерий. Кроме того, выявлены виды, принадлежащие к группе Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides, а также α-протеобактерии, β-протеобактерии, ε-протеобактерии и Spirochaetales. Важно отметить, что в кишечнике доминируют грамположительные бактерии группы Су-

tophaga-Flavobacterium-Bacteroides, в то время как в коже преобладают γ-протеобактерии (Guimei Yang, 2007). В пилорических придатках морского полосатого окуня *Hermosilla azurea* идентифицировано 7 типов бактерий, причем доминируют *Enterovibrio* spp., *Bacteroides*, *Faecalibacterium* и *Desalfovibrio* (Fidopiastis et al., 2006). Из кишечника некоторых видов рыб выделены три штамма молочнокислых бактерий – *Lactococcus lactis* CLFP 101, *Lactobacillus plantarum* CLFP 238 и *Lactobacillus fermentum* CLFP 242 (Balcázar et al., 2008).

При исследовании прудовых рыб отмечена разная численность бактерий в разных отделах пищеварительного тракта. Максимум численности бактерий в переднем и среднем отделах кишечника позволил предположить их участие в расщеплении питательных веществ, а увеличение в ряде случаев общего количества бактерий в заднем отделе кишечника рыб объяснялось концентрированием пищевых волокон (Шивокене, 1989). Также выявлены сезонные колебания численности кишечных бактерий. Так, в кишечнике карпа *Cyprinus carpio*, белого амура *Ctenopharyngodon idella*, толстолобика *Hypophthalmichthys molitrix* и карася *Carassius carassius* численность микробиоты в течение года колеблется в пределах от $9.2 \pm 2.6 \cdot 10^4$ в январе (средняя температура 15°C) до $10.9 \pm 2.5 \cdot 10^6$ КОЕ/мл в августе – средняя температура 30°C (Al-Salim, 2009).

У ряда видов рыб (толстолобика *Hypophthalmichthys molitrix*, карпа *Cyprinus carpio*, канального сомика *Ictalurus punctatus* и японского карася *Carassius cuvieri*) выявлены молочнокислые бактерии р. *Lactobacillus*: *Lactococcus lactis*, *L. plantarum* и *L. raffinolactis* в июле – *Lactococcus raffinolactis* (Hagi et al., 2004; Ghiasi, 2011). У желтого группера *Epinephelus awoara*, выращенного в садках, доминируют автохтонные протеобактерии, а также бактерии, принадлежащие к р.р. Firmicutes, Bacteroidetes, Deinococcus-Thermus и Spirochaetes. При этом во всех пяти исследованных отделах желудочно-кишечного тракта преобладают *Pantoea* sp. и некультивируемые протеобактерии. Также встречаются бактерии, принадлежащие к р.р. Firmicutes, Bacteroidetes, Deinococcus-Thermus и Spirochaetes. В желудке рыб присутствуют *Empedobacter* sp. и *Acinetobacter* sp., в проксимальном, медиальном и дистальном отделах кишечника – γ-протеобактерии и *Acinetobacter*. Кроме того, в кишечнике обнаружены *Lactococcus lactis*, *Bacteroides* и некультивируемые *Streptococcus* (Zhou et al., 2009).

При исследовании травоядных рыб-хирургов *Acanthurus nigrofusus* из Красного моря и из района Большого Барьерного Рифа обнаружены микроорганизмы р. Spirillum, трихомонадные жгутиковые, являющиеся самыми крупными из известных форм прокариот – *Epolopiscium fishelsoni*, которые в настоящее время рассматриваются как специфические симбионты рыб-хирургов (Clements, Bullivant, 1991; Angert et al., 1993).

3.2. Зависимость видового состава и численности энтеральной микробиоты от характера питания и состава пищи рыб

Важно отметить, что, несмотря на различие методов исследования, в случае, если сопоставление видового состава бактерий выполнено в единых методических условиях, возможно его сравнение у рыб разных видов. Благодаря многочисленным работам утвердилось представление о том, что видовой состав и численность бактерий зависит от спектра и интенсивности питания рыб (Лубянскене и др., 1989; Шивокене, 1989; Cahill, 1990; Ringo, 1993; Clements, 1997; Ringo, Olsen 1999; Кузьмина, Скворцова, 2002; Austin, 2002, 2006; Кузьмина, 2005; Извекова и др., 2007; Ray et al., 2012 a). Установлено, что в период интенсивного питания, численность бактерий кишечника значительно возрастает (Шивокене, 1989; Баздеркина, 1992; Šyvokienė et. al., 1996; Voveirene et al., 2002; Кузьмина, Скворцова, 2002).

Влияние спектра питания и состава пищи рыб на видовой состав бактерий. У рыб, значительно различающихся по характеру питания, микрофлора пищеварительного тракта отличается специфичностью. Так, для растительноядных амуров характерны бактерии, интенсивно разлагающие клетчатку (*Pseudomonas effusa*) или бактерии, широко распространенные на поверхности растительности (*Ps. aurantiaca*, *Ps. virescens*). Причем некоторые виды бактерий зарегистрированы лишь в пищеварительном тракте этого вида рыб. В пищеварительном тракте карасей *Carassius sp.*, питающихся в основном детритом, наряду с бактериями р. *Pseudomonas* найдены микроорганизмы р. *Bacterium* (Лубянскене и др., 1989).

Степень влияния видового состава бактерий кормовых объектов на состав микробиоты содержимого желудка и кишечника, по-видимому, в значительной мере зависит от специализации пищеварительного тракта. Видовой состав микроорганизмов содержимого желудка и кишечника спинорога *Monocanthus* близок таковому пищи. Микробиота пищеварительного тракта одного из представителей окунеобразных *Perciformes* – красного морского леща *Taractes rubescens* представлена преимущественно одной или двумя группами вибрионов, которых нет в пище. Это связано с тем, что спинорог имеет относительно слаборазвитый желудок по сравнению с красным морским лещом. При этом большинство видов, составляющих микробиоту объектов питания леща, погибает под воздействием неблагоприятных физиологических факторов, тогда как вибрионы оказываются устойчивыми не только к низким значениям pH (5.5), но и к воздействию 2%-й желчи (см. Кузьмина, 2005).

При сравнении видового состава микробиоты у бентофага сазана *Cyprinus carpio* и пелагического хищника судака *Stizostedion lucioperca* было

установлено большее количество видов у первого вида, чем у второго (Зубкова, 1965, 1966). Из кишечника судака выделено 15 видов микроорганизмов, принадлежащих к 7 родам: *Achromobacter*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Sarcina*, *Serratia*, из кишечника сазана – 49 видов, относящихся к 12 родам: *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Bacillus*, *Bacteria*, *Bacterium*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Staphylococcus*. Также важно отметить, что в кишечнике сазана преобладают грамположительные формы (70% от общего числа микроорганизмов), у судака – грамотрицательные (64%). Особого внимания заслуживают сведения о том, что у сазана, обитающего в придонных слоях, обнаружено 8 видов анаэробных микроорганизмов (16%), в то время как в кишечнике судака не обнаружено ни одного анаэробного вида. Автор это объясняет тем, что сазан непосредственно соприкасается с илом, где численность анаэробных микроорганизмов значительно преобладает над аэробными.

Для растительоядных видов, в частности амура *Ctenopharyngodon idella*, характерны бактерии, интенсивно разлагающие клетчатку (*Pseudomonas effusa*), или бактерии, широко распространенные на поверхности растительности (*Ps. aurantiaca*, *Ps. virescens*). В пищеварительном тракте карасей *Carasius sp.*, питающихся в основном детритом, наряду с бактериями р. *Pseudomonas* найдены представители р. *Bacterium* (Лубянскене и др., 1989). При смене рациона изменяется и состав микробиоты. Если личинки трески *Gadus morhua* питаются коловратками, в микробиоте пищеварительного тракта преобладают *Ruegeria*/*Roseobacter*, *Pseudoalteromonas* и *Microbacterium*. При замене коловраток артемиями (более чем 90 %) состав микробиоты заменяется видами, относящимися преимущественно к р. *Vibrio* (Reid et al., 2009). При добавлении к пище морского языка *Solea senegalensis* альгината натрия увеличивается количество видов, принадлежащих к р. *Vibrio*, в то время как у контрольных особей в составе кишечной микробиоты помимо видов относящихся к р. *Vibrio* доминируют γ-протеобактерии (Tapia-Paniagua et al., 2010).

На примере морской травоядной рыбы-хирурга *Acanthurus nigrofusus* показано, что аэробная и факультативно анаэробная микробиота желудочно-кишечного тракта значительно отличается от таковой ихтио-, планкто- и детритофагов. В кишечнике рыб этого вида преобладают агар-переваривающие бактерии, не относящиеся к р. *Vibrio*. Однако у полосатого ктенохета *Ctenochaetus striatus* – детритоядной рыбы-хирурга доля агар-переваривающих бактерий составляет менее 8% от выращенной гетеротрофной микрофлоры. В то же время в пищеварительном тракте детритофага *C. striatus*, а также у ряда ихтио- и планктофагов доминируют виды р. *Vibrio*, преимущественно *V. karveyi* и *V. damsela*. Представители р. *Vibrio* также были определены в пище планктофагов и в дерне водорослевого субстрата, над которым питались рыбы-хирурги *A. nigrofusus* и

C. striatus. Поскольку агар-переваривающие бактерии, подобные найденным у *A. nigrofuscus* не были обнаружены в образцах дерна водорослевого субстрата, было высказано предположение о том, что выделенные доминантные бактерии постоянно обитают в кишечнике рыб (Clements, 1997).

Многомерный дисперсионный анализ показал, что у окуней *Lepomis macrochirus*, значительно различающихся по типу питания (бентосный, травоядный и планктоноядный), микробиота кишечника различна. Исследование генетических профилей с помощью цепной полимеразной реакции (ПЦР) позволило выявить существование специфических кишечных бактерий как у бентофагов, так и у планктофагов. Эти результаты позволили предположить, что пищевые приоритеты хозяина могут быть одним из факторов, влияющих на микробиоту кишечника рыб в естественной среде (Uchii et al., 2006).

Влияние спектра питания рыб и состава пищи на численность бактерий. Численность микрофлоры желудочно-кишечного тракта рыб может достигать 10^7 - 10^{11} бактерий/г кишечного содержимого с максимальными значениями, наблюдаемыми у травоядных тропических рыб (Nayak, 2010). Так, во всем пищеварительном тракте травоядного белого амура *Ctenopharyngodon idella* и всеядного карася *Carassius auratus* общее число бактерий составляет $6 \cdot 10^4$ и $4 \cdot 10^8$ клеток соответственно. В кишечнике хищной форели *Salmo trutta trutta* содержится лишь незначительное количество бактерий (Trust et al., 1979). Так, бактерии р.р. *Aeromonas* и *Lactobacillus* преобладают в желудочно-кишечном тракте рыб, обитающих в естественных водоемах, а бактерии р. *Enterobacteriaceae* могут составлять до 50% микробиоты рыб, которых кормят искусственным кормом в условиях аквакультуры (Cahill, 1990). У лосося *Salmo salar* в дистальном отделе кишечника численность бактерий из естественного водоема составляет $4.0 \cdot 10^5$ кл/г, у рыб из искусственных водоемов – от 1.5 до $6.8 \cdot 10^7$ кл/г (Holben et al., 2002).

Однако в ряде случаев данные о количестве микроорганизмов содержимого кишечника у разных видов рыб, различающихся по спектру питания, могут быть достаточно противоречивыми. Последнее может быть связано с недоучетом влияния возраста и других факторов. У сеголеток и двухлеток карпа *Cyprinus carpio*, содержащихся в естественных условиях на натуральной пище, была обнаружена меньшая численность бактерий, чем у особей, содержащихся на комбикорме ($7.6 \cdot 10^6$ - $460 \cdot 10^6$ и $6.5 \cdot 10^9$ - $49 \cdot 10^9$ кл/г соответственно). У трехлеток карпа различия были меньшими: $113 \cdot 10^9$ - $307 \cdot 10^9$ у рыб, выращенных на натуральной пище, и $281 \cdot 10^9$ - $648 \cdot 10^9$ – на искусственной. При этом в пище карпов всех возрастных групп доминировали бентосные организмы, но летом и осенью помимо этого обнаруживалось значительное количество зоопланктона (Шивокене и др., 1976).

Бактериальное население кишечника молоди линия *Tinca tinca*, питающегося преимущественно фитопланктоном, а также мелкими представителями зоопланктона и бентоса, было значительно беднее по сравнению с таковым у карпа. В кишечнике сеголеток линия, питавшихся в естественных условиях пищей животного происхождения (личинки хирономид, олигохеты и моллюски), численность бактерий также была низка и составляла лишь $68 \cdot 10^5$ микробиальных клеток. В то же время в кишечнике трехлеток линия численность бактерий соответствовала $1293 \cdot 10^8$ клеток, что, по мнению авторов, также связано с особенностями их питания (Лубянскене, Янкявичус, 1975).

Однако сопоставление численности протеолитических и амилолитических бактерий у значительно различающихся по характеру питания рыб (ихтиофаги-факультативные бентофаги налим и окунь, бентофаг-факультативный ихтиофаг ерш, бентофаги уклейка, густера, плотва, пескарь и трехиглая колюшка, а также планктофаг корюшка) не всегда позволяет выявить четкую зависимость от типа питания рыб (Voveriene, 2002).

Влияние интенсивности питания рыб на видовой состав и численность бактерий. Многочисленные исследования показали, что видовой состав и общая численность бактерий в пищеварительном тракте находится в прямой зависимости от интенсивности питания рыб (Trust et al., 1979; Шивокене, 1989; Ringo, Olsen, 1999; Voveriene et al. 2002; Кузьмина, Скворцова, 2002; Кузьмина, 2005; Skrodenyte-Arbaeiauskiene, 2008). При этом наибольшее их количество установлено в июле-августе, когда наблюдается максимум пищевой активности рыб (Trust et al., 1979; Лубянскене и др., 1989; Шивокене, 1989; Баздеркина, 1992; Šyvokienė et al., 1996; Voveirene, 2002). Однако в кишечнике двухлеток белого амура *Stenophargngodon idella* максимальная биомасса бактерий отмечалась в мае при интенсивном поедании ими растительности. Биомасса бактерий в этот период составляла 1/4 содержимого кишечника (Шивокене, 1989).

При исследовании белого амура и карпа *Cyprinus carpio* показано, что голодание и зимовка приводят к значительному снижению видового разнообразия и численности бактерий в кишечнике рыб (Лубянскене и др., 1989). Эти данные были подтверждены при исследовании леща *Abramis brama* из Рыбинского водохранилища, когда численность гетеротрофных микроорганизмов в кишечнике рыб в зимние месяцы была в сотни раз ниже, чем летом в период активного питания – $0.6 \cdot 10^2$ и $6 \cdot 7 \cdot 10^7$ кл/мл соответственно (Кузьмина, Скворцова, 2002). При исследовании щуки *Esox lucius* показано, что голодание приводит к полному отсутствию энтеральной микробиоты (Margolis, 1953). Интенсивность питания влияет не только на численность, но и на видовой состав микробиоты. Так, при исследовании ручьевой форели *Salmo trutta morpha fario* из естественных водоемов была выявлена относительно бедная кишечная микрофлора

(всего 6 видов). В результате интенсивного кормления количество видов бактерий в кишечнике рыб возрастало до 18 (Mattheis, 1964).

Влияние типа питания и состава пищи на соотношение различных физиологических групп микроорганизмов. Состав пищи в значительной мере обуславливают развитие определенных физиологических групп бактерий. Интересные данные были получены литовскими коллегами. Ими было показано, что гетеротрофные и протеолитические бактерии присутствуют практически у всех исследованных видов рыб, амилолитические появляются только при наличии в рационе рыб пищи растительного происхождения. В большом цикле исследований было установлено, что в кишечнике балтийской трески *Gadus morhua callarias* и керчака *Muhocephalus scorpius* содержатся гетеротрофные микроорганизмы в количестве $0.95 \cdot 10^6$ и $0.3 \cdot 10^6$ кл/г, протеолитические – в количестве $0.15 \cdot 10^6$ и $0.09 \cdot 10^6$ кл/г соответственно.

В кишечнике балтийской сельди *Clupea harengus membras* и серебряного карася *Carasius auratus*, в пище которых помимо животных присутствуют растительные компоненты, наряду с гетеротрофными и протеолитическими микроорганизмами выявлены амилолитические бактерии в количестве $0.20 \cdot 10^5$ и $0.42 \cdot 10^5$ кл/г соответственно (Šyvokienė et al., 1996). У бентофага-факультативного фитофага плотвы *Rutilus rutilus* в содержимом кишечника присутствуют и амилолитические (7.4%), и гетеротрофные (18.5%) бактерии, у колюшки *Gasterosteus aculeatus* только гетеротрофные – 72.2%, у эврифага ерша *Gymnocephalus cernuum* гетеротрофные – 76.0% и протеолитические – 24.0% (Шивокене и др., 1996). При этом были выявлены видовые различия, обусловленные физиологическим статусом рыб и составом их пищи (табл. 3.1).

Таблица 3.1. Численность отдельных физиологических групп от общей численности микроорганизмов в кишечнике рыб, % (Шивокене, 1989)

Группа микроорганизмов	Натуральная пища		Комбикорм		Голодание	
	Карп	Белый Амур	Карп	Белый амур	Карп	Белый амур
Минерализующие белки бактерии	6	54	39	89	59	65
Протеолитические бактерии	53	5	57	4	36	9
Молочнокислые бактерии	32	37	2	3	1	18
Амилолитические бактерии	9	4	2	3	2	8
Плесневые грибы	0	0	0	1	2	0

Как показывает эта таблица, соотношение численности отдельных физиологических групп в кишечнике различается не только у рыб разных видов, но и рыб одного и того же вида в зависимости от вида корма и физиологического состояния.

3.3. Зависимость видового состава и численности энтеральной микробиоты рыб от особенностей экосистем

Известно, что видовой состав и численность энтеральной микробиоты во многом зависит от условий жизни рыб, в частности таких факторов водной среды, как трофический статус водоема, температура, соленость, pH и другие, обуславливающих особенности экосистем (Лубянскене и др., 1989; Шивокене, 1989; Ringo, Strom 1994; Кузьмина, Сковрцова, 2002; Кузьмина, 2005). Позднее филогенетические и статистические анализы 25 16S рРНК библиотек позволили подтвердить, что соленость, трофический уровень и, возможно, филогения хозяина формирует состав кишечных бактерий рыб (Sullam et al., 2012). В наибольшей степени изучено влияние на видовой состав и численность энтеральной микробиоты рыб отдельных факторов, в частности таких основополагающих факторов, как соленость (ионный состав) и температура.

Прежде всего, следует отметить различия в видовом составе энтеральной микробиоты у пресноводных и морских рыб. Действительно, для пресноводных рыб характерны представители сем. Enterobacteriaceae, p.p. Actinomyces, Bacillus, Bacteroides, Clostridium Clostridium, Eubacterium, Fusobacterium и Streptococcus (Зубкова, 1965; Trust, Sparrow, 1974; Trust et al., 1979; Šyvokienė et al., 1997). Представители p. Vibrio в содержимом кишечника пресноводных рыб встречаются редко. Предполагается, что их присутствие в кишечнике связано с плохим экологическим состоянием водоемов (Лубянскене, Ястюгинене, 1995; Lubianskienė, Jastiuginienė, 1996). В пищеварительном тракте морских рыб преобладают микроорганизмы p.p. Vibrio, Pseudomonas, Achromobacter, Corinebacterium, Flavobacterium и Micrococcus (Horsley, 1977; Cahill, 1990). При исследовании травоядных рыб-хирургов *Acanthurus nigrofusus* из Красного моря и из района Большого Барьерного Рифа обнаружены микроорганизмы p. Spirillum, трихомонадные жгутиковые *Epulopiscium fishelsoni*, которые в настоящее время рассматриваются как специфические симбионты рыб-хирургов (Clements, Bullivant, 1991; Angert et al., 1993).

Также есть сведения о том, что видовой и количественный состав микрофлоры кишечника может изменяться в зависимости от солености воды у рыб одного и того же вида. Действительно, показано, что в кишечнике пресноводной тилапии *Tilapia nilotica* с увеличением солености воды уменьшается количество облигатных анаэробов и возрастает содержание аэробных и факультативно анаэробных грамотрицательных палочек (Sugita et al., 1982). По мнению авторов, адаптация микрофлоры кишечника к морской воде обусловлена повышением чувствительности пресноводных бактерий к увеличению солености. Как указывалось ра-

нее, увеличение солености воды используется для лечения рыб, инфицированных некоторыми патогенными бактериями (Buddington et al., 1997; Кузьмина, 2005).

Характер влияния температуры на микробные сообщества кишечника рыб в значительной мере зависит от среды их обитания. Микрофлора пищеварительного тракта тропических и субтропических морских рыб (скумбрия *Scomber scomber*, бонито *Sarda sarda*, желтохвост *Seriola aureovittata* и другие) состоит в основном из бактерий, живущих в определенном диапазоне температуры воды. Почти все штаммы бактерий не развиваются при температуре 5°C, но хорошо растут при 25–37°C и перестают развиваться при 42°C (Okuzumi, Horie, 1969). Известно, что более высокая температура воды предпочтительна для роста *Escherichia coli* и некоторых видов р. *Vibrio* в кишечнике рыб сем. лососевых Salmonidae. Однако для *Pseudomonas sp.*, предпочтительнее более холодная температура воды (Sugita et al., 1989). На примере рыб этого семейства показано, что температура оказывает различное влияние на численность микроорганизмов в различных участках желудочно-кишечного тракта, что свидетельствует о локальных различиях в составе микробиоты (Lesel, Peringer, 1981). Однако энтеральная микробиота иглобрюха *Fugu niphobles*, состоящая в основном из бактерий р. *Vibrio*, *Pseudomonas* и *Flavobacterium*, слабо меняется в диапазоне температуры воды от 10 до 29°C (Sugita et al., 1989). Неожиданные результаты были получены при исследовании молоди гибрида теплолюбивой тилапии (*Oreochromis mossambicus* × *O. macrochirus*): общая численность бактерий была выше при 18, чем при 26°C. По мнению авторов это обусловлено размножением микроорганизмов р. *Vibrio* (LeaMaster et al., 1997). У гибрида тилапии (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*) значительное число *Pseudomonas sp.* найдено только в зимний период. При этом *Photobacterium damsela* не обнаруживаются летом, *Pasteurella sp.* и *Cellulomonas sp.* – зимой, *Bacillus sp.* – осенью (Al-Harbi, Uddin, 2004).

У большинства видов пресноводных рыб, обитающих в бореальной зоне, в весенне-летний период при температуре 10–22°C количество бактерий в кишечнике увеличивается в сотни раз, достигая максимума в июле (10^9 микробиальных клеток), минимальное количество бактерий отмечается в феврале при температуре ниже 5°C – около $4.5 \cdot 10^3$ (Шивокене, 1989). Максимальная численность энтеральной микробиоты у карпа также обнаружена в период максимальных летних температур – до $44.6 \cdot 10^{10}$ (Баздеркина, 1992). Детальное исследование влияния сезонных изменений температуры на численность различных физиологических групп энтеральной микробиоты подтвердило эту закономерность. Оказалось, что численность гетеротрофных и протеолитических бактерий содержимого кишечника камбалы *Pleuronectes platessa* и балтийской сельди *Clupea harengus membras* осенью на порядок ниже, чем летом, а

амилолитические бактерии вообще отсутствуют. Численность гетеротрофных микроорганизмов у балтийской трески *Gadus morhua callarias* осенью снижается на 2 порядка по сравнению с летним периодом, в то время как протеолитические бактерии не авяляются. У корюшки *Osmerus eperlanus*, напротив, осенью в кишечнике содержание гетеротрофных бактерий высоко, а летом эти бактерии отсутствуют (Šyvoikienė et al., 1996). Последнее, по всей вероятности, связано с тем, что корюшка – холоднолюбивый вид.

При исследовании дорады *Sparus aurata* из разных мест обитания был обнаружен различный состав микробиоты кишечника. Микробиота кишечника рыб из эвтрофной лагуны Тирренского моря отличалась более разнообразным составом (*Pseudomonas* sp. (33.3%), *Sphingomonas paucimobilis* (10.5%), *Proteus* sp. (8.8%), *Chryseobacterium* sp. B-G-R2A3 (5.3%), Arctic soil bacterium A1T3 (5.3%), *Sphingobacterium* sp. (5.3%), *Psychrobacter* sp. (3.5%), *Psychrobacter maritimus* (3.5%), *Leucobacter* sp. (3.5%), *Yersinia bercovieri* (3.5%), *Aeromonas* sp. (3.5%), *Aeromonas molluscorum* (1.7%), и *Erwinia persicina* (1.7%)) и численностью (от 190 до 6900 КОЕ/г) по сравнению с микробиотой рыб из олиготрофной лагуны, отличающейся более бедным качественным составом (*Pseudomonas* sp. (90%), *Janthinobacterium* sp. (8%) и *Psychrobacter maritimus* (2%)) и численностью – от 65 до 3100 КОЕ/г (Floris et al., 2013).

У макрофитофага дистиходуса длиннорылого *Distichodus rostratus* из оз. Таабо (Африка) максимальная численность микробиоты в пищеварительном тракте ($13.0 \cdot 10^3$ КОЕ/г) наблюдается в период длительной засухи, когда численность бактерий в воде минимальна (Куасси, Сопрунова, 2011).

При сопоставлении состава молочнокислых бактерий у четырех видов рыб: толстолобика *Hypophthalmichthys molitrix*, карпа *Cyprinus carpio*, канального сома *Ictalurus punctatus* и японского карася *Carassius cuvieri* было показано, что у всех видов в декабре преобладают бактерии *Lactococcus lactis*, в июле – *Lactococcus raffinolactis* (Hagi et al., 2004). Интенсивный рост всех молочнокислых бактерий р. *Lactobacillus*, выделенных из кишечника толстолобика *Hypophthalmichthys molitrix*, наблюдается при температуре 15°C, а при 45°C рост показали только бактерии *L. lactis*. Результаты этой работы также показали, что в зимний период, преобладают бактерии *L. plantarum*, *L. raffinolactis* и *L. lactis* (Ghiasi, 2011).

3.4. Заключительные замечания

В настоящее время большое внимание уделяется изучению энтеральной микробиоты у рыб разных видов. Благодаря широкому внедрению молекулярно-генетических методов, включающих ПЦР-скрининг,

клонирование и новое поколение секвенирования (NGS) генов 16S рибосомной РНК, уточняется видовой состав энтеральной микробиоты у рыб разных видов (Sugita, Ito, 2006; Ghosh et al., 2010; Mondal et al., 2010; Mandal, Ghosh, 2013; Kashinskaya et al., 2015). В настоящее время не вызывает сомнения, что облигатная анаэробная микрофлора в кишечнике большинства пресноводных рыб встречается реже, чем аэробная. При этом в кишечнике большинства пресноводных рыб преобладают аэробные микроорганизмы *p.p. Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Aeromonas*, *Acinetobacter* и *Bacillus*, а также анаэробные бактерии *p.p. Vibrio* и *Clostridium*, у морских видов рыб чаще доминируют бактерии *p.p. Vibrio*, *Pseudomonas* и *Achromobacter*. Видовой состав энтеральной микробиоты у рыб одного и того же вида, обитающих в разных водоемах, может варьировать. Так, у дикого сазана в кишечнике доминируют представители *p. Bacillus*, у культурной формы – *p. Pseudomonas*, у плотвы из Рыбинского водохранилища – представители *p. Pseudomonas*, у плотвы из оз. Друкшай – *p. Vibrio*.

Пища является одним из наиболее важных факторов, регулирующих численность и видовое разнообразие микроорганизмов пищеварительного тракта рыб. Существует тесная связь между спектром питания и биохимическим составом пищи, а также видовым составом и численностью энтеральной микрофлоры. Микробиота бентофагов, в том числе детритофагов, более разнообразна, чем таковая у ихтиофагов. У растительноядных видов рыб встречаются специфические микроорганизмы. Поскольку личинки рыб вне зависимости от таксономического положения и характера питания на ранних этапах онтогенеза питаются мелкими формами зоопланктона, видовой состав бактерий, заселяющий кишечник рыб разных видов, но обитающих на одном и том же биотопе, по-видимому, близок. В дальнейшем возможны некоторые изменения состава энтеральной микробиоты, обусловленные изменением спектра питания, а также анатомическими и физиологическими особенностями пищеварительной системы рыб. Таксономическое положение вида не влияет на численность и состав физиологических групп энтеральной микробиоты рыб. Увеличение интенсивности питания рыб вызывает увеличение общего количества бактерий.

Большое влияние на состав и численность микробиоты пищеварительного тракта оказывает температура окружающей среды. Как правило, увеличение температуры положительно влияет на рост и численность бактерий в кишечнике рыб, обитающих в бореальной и субтропической зоне. Обычно это связано с сезонным изменением температуры воды. Однако сезонные изменения могут быть связаны не столько с температурой, сколько пересыханием водоемов, что также отражается на численности бактерий. Также возможна различная реакция на температуру разных видов бактерий, входящих в состав эн-

теральной микробиоты, даже у одного и того же вида рыб. На примере бактерий, обитающих в кишечнике рыб сем. лососевых Salmonidae показано, что для роста одних видов (*Escherichia coli*, некоторые виды р. *Vibrio*) предпочтительна более высокая, для других (*Pseudomonas sp.*) – более холодная температура воды. Наконец, важную роль играет трофность водоема. Состав микробиоты рыб из эвтрофных водоемов более разнообразен, а численность – более высокая по сравнению с таковыми рыб из олиготрофных водоемов.

ГЛАВА 4

ХАРАКТЕРИСТИКА ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ РЫБ, ИХ ОБЪЕКТОВ ПИТАНИЯ И ЭНТЕРАЛЬНОЙ МИКРОБИОТЫ

В пищеварительном тракте рыб функционируют гидролитические ферменты, расщепляющие в пищевых субстратах сложноэфирные связи (эстеразы и липазы, КФ 3.1.), гликозидные связи (гликозидазы, КФ 3.2.1), пептидные связи (протеазы, КФ 3.4). По механизму действия на субстраты ферменты условно подразделяют на две группы – эндо- и экзогидролазы. Эндогидролазы функционируют в основном растворе и воздействуют на центральные участки полимерных молекул субстрата, образуя олигомеры. Экзогидролазы отщепляют концевые остатки мономеров (Диксон, Уэбб, 1982; Уголев, Кузьмина, 1993). У рыб деполимеризацию пищевых субстратов обеспечивают протеазы, гликозидазы, липазы, а также специфические ферменты, синтезируемые главным образом микроорганизмами (Уголев, Кузьмина, 1993). Наиболее подробно у рыб изучены характеристики протеаз и гликозидаз (Barrington, 1957; Kapoor et al., 1975; Fange, Grove, 1979; Уголев, Кузьмина, 1993; Неваленный и др., 2003; Кузьмина, 2005, 2015).

4.1. Ферменты, синтезируемые пищеварительной системой рыб

Начальные этапы гидролиза биополимеров реализуют эндогидролазы, функционирующие главным образом в полости кишечника. В результате гидролиза биополимеров образуются олиго-, три- и димеры, которые поступают в зону щеточной каймы, где продолжают разрушаться ферментами, локализованными в зоне гликокаликса. В результате этого к апикальной мембране энтероцитов подходят преимущественно димеры. Здесь они атакуются собственно кишечными ферментами, завершающими их гидролиз образованием мономеров. Ферменты, локализованные на апикальной мембране энтероцитов, являются экзогидролазами (Ugolev, Egorova, 1989; Уголев, Кузьмина, 1993). Активность пищеварительных гидролаз значительно варьирует в зависимости от таксономической принадлежности, характера питания рыб и возраста рыб. При этом спектр ферментов, функционирующих в полости кишечника, как правило, хорошо адаптирован к перевариванию традиционной пищи рыб (Barrington, 1957; Phillips, 1969; Fange, Grove, 1979; Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, 2005, 2015).

Активность протеаз пищеварительного тракта рыб. Протеазы, гидролизующие пептидные связи в белках и пептидах, играют важную роль в пищеварении у рыб разных экологических групп, в связи с тем, что в пище большинства видов рыб доминируют белки и другие компоненты белковой природы (Love, 1970; Шатуновский, 1980; Кузьмина, 1982). В желудке у рыб функционируют “кислые”, аспартатные эндопептидазы (преимущественно пепсин, КФ 3.4.23.1), в кишечнике – “щелочные», преимущественно сериновые эндопептидазы панкреатического происхождения (трипсин, химотрипсин, эластаза (КФ 3.4.21.4, 3.4.21.1 и 3.4.21.36) и карбоксипептидазы А и В (КФ 3.4.17.1 и 3.4.17.2) (Barrington, 1957; Kapoor et al., 1975; Сорвачев, 1982; Fange, Grove, 1979; Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, 2005, 2015). Характеристики одноименных ферментов у рыб разных видов могут различаться. Наиболее подробно изучены характеристики протеиназ, реализующих гидролиз белковых компонентов пищи рыб (табл. 4.1-4.7).

Таблица 4.1. Характеристика протеиназ, функционирующих в желудке у некоторых видов рыб (по: Скворцова, 2002 с дополнениями)

Классификация	Название фермента	Источник фермента	ММ, кДа	Оптимальный pH	Источник данных
Неидентифицированные ферменты					
3.4.-.-	протеаза I протеаза II протеаза III	Треска <i>Gadus ogac</i> , СЖ	25.6 (37.1) 23.4 (37.5) 23.9 (37.4)	3.0-4.0	Squires et al., 1986
3.4.-.-	катепсины	Европейский анчоус <i>Engraulis encrasicolus</i> , СЖ	-	3.0-3.4	Establier, Gutierrez, 1978
Аспартатные протеиназы					
3.4.23.1	пепсин	Кошачья акула, <i>Scyliorhinus caniculus</i> , СЖ	34-36	2.0-4.0	Merret et al., 1969, цит. по Антонов, 1983
		Европейский анчоус <i>Engraulis encrasicolus</i> , СЖ	-	1.8-2.0	Establier, Gutierrez, 1978
		Форель <i>Salmo gairdneri</i> , СЖ	-	2.0-2.5	Reichenbach-Klinke, 1972
		Сом <i>Silurus glanis</i> , СЖ	-	4.0-5.7	Reichenbach-Klinke, 1972
		Щука <i>Esox lucius</i> , СЖ	-	4.5-4.7	Reichenbach-Klinke, 1972
		Тунец <i>Thunnus thynnus orientalis</i>	40	2.5	Tanji et al., 1988
		Сельдь <i>Clupea harengus</i>	17.5		Kaláč, 1978a
		Европейский анчоус <i>Engraulis encrasicolus</i>		1.8-2.0	Establier, Gutiérrez, 1978

Примечания: ММ – молекулярная масса, СЖ – слизистая оболочка желудка.

Гидролиз пищевых субстратов в кишечнике происходит главным образом за счет панкреатических ферментов – протеаз (трипсина, химотрипсина, эластазы, карбоксипептидаз), α -амилазы, липазы и других. Протеолитические ферменты секретируются в полость кишечника в неактивной форме – в виде зимогенов. При попадании в полость кишечника трипсиноген активируется энтерокиназой – ферментом, продуцируемым клетками слизистой оболочки кишечника. Другие зимогены поджелудочной железы (химотрипсиноген, проэластаза, прокарбоксипептидазы) активируются трипсином (Уайт и др., 1981; Диксон, Уэбб, 1982; Fange, Grove, 1979; Уголев, Кузьмина, 1993). В полости пищеварения также принимают участие собственно кишечные ферменты, такие как γ -амилаза, мальтаза, сахараза, пептидазы, щелочная фосфатаза и другие, попадающие в просвет кишки в результате десквамации энтероцитов, а также спонтанной солюбилизации (Уголев Кузьмина, 1993). В полость кишечника помимо секрета поджелудочной железы поступает также желчь, которая эмульгирует жиры, способствуя тем самым расщеплению их липазой (Barrington, 1957; Строганов, 1962; Fange, Grove, 1979; Уголев, Кузьмина, 1993). Наиболее подробно исследованы характеристики протеиназ (табл. 4.2).

Обращает на себя внимание отличие молекулярных масс аминокептидаз от таковых других ферментов. Это связано с тем, что аминокептидаза является трансмембранным белком, локализованным на апикальной мембране энтероцитов, а лейцинаминокептидаза – периферическим интегральным белком. Важно отметить, что химотрипсин гидролизует пептидные связи между ароматическими аминокислотами (Phe-Tyr), трипсин – между аргинином и цистеином. Карбоксипептидаза А гидролизует С-концевые ароматические аминокислоты пептидов, карбоксипептидаза В – С-концевые основные аминокислоты пептидов. Аминокептидаза гидролизует пептиды, отщепляя α -аминокислоты, преимущественно аланин, и амиды, лейцинаминокептидаза гидролизует дипептиды на апикальной мембране энтероцитов, а также в цитозоле. Таким образом достигается последовательный гидролиз белка до уровня мономеров.

Активность протеаз в различных отделах пищеварительного тракта рыб. В целом ряде работ отмечен разный уровень активности протеаз в различных отделах пищеварительного тракта. Кроме того, при исследовании распределения ферментов в слизистой оболочке кишечника рыб были описаны как проксимо-дистальные, так и радиальные градиенты активности различных гидролаз (Кузьмина, 1978, 2005; Кузьмина, Смирнова, 1990; Уголев, Кузьмина, 1993; Kuz'mina, 2008). Так, у палтуса *Hippoglossus hippoglossus* L. наиболее высокая активность пепсина наблюдается в желудке, трипсина и эластазы – в пилорических придатках, химотрипсина – в медиальном отделе кишечника (Glass et al., 1989). У серебристого пагеля *Pagellus acarne* более высокая активность трипсиноподобных протеаз на-

Таблица 4.2. Характеристика протеиназ, функционирующих в кишечнике у некоторых видов рыб (по: Скворцова, 2002 с дополнениями)

Классификация	Название фермента	Источник фермента	ММ, кДа	Оптимум pH	Источник данных
Аминопептидазы					
3.4.11.-	Аминопептидаза	Тунец <i>Thunnus albacares</i> , ПП	72 (150)	8.8	Hajjon, LeGal, 1994
3.4.11.1	Лейцинамино-пептидаза	Карп <i>Surpinus carpio</i> , ПП	200	7.2	Хаблюк, Проскураков, 1983
		Белый толстолобик <i>Hyporhthalmich-thys malitrix</i> , ПП	200	7.2	Зозуля, 1996
		Белый толстолобик, СК	200	7.2	Зозуля, 1996
		Белопятнистый пестряк <i>Siganus canaliculatus</i> , СК	-	7.0-9.0	Sabapathy, Teo, 1995
Карбоксипептидазы					
3.4.12.2	Карбокси-пептидаза А	Карп <i>Surpinus carpio</i> , ПП	26.2	7.2	Хаблюк, Проскураков, 1983
Дипептидилпептидазы					
3.4.14.1	Капесин С	Мойва <i>Malolatus villosus</i> , ПП	-	6.0	Raksakulthai, Haard, 1992
Сериновые протеиназы					
3.4.21.1	Химотрипсин	Белый толстолобик, ПП	23	9.5	Зозуля, 1996
		Белый толстолобик, СК	1) 29 2) 23	9.5	Зозуля, 1996
		Карп <i>Surpinus carpio</i> , ПП	21.4	9.5-10.0	Хаблюк, Проскураков, 1983
		Карп <i>Surpinus carpio</i> , СК	23	-	Хаблюк и др., 1992
		Японский анчоус <i>Engraulis japonicus</i> , ВО	26.1	9.0	Heu et al., 1995
		Атлантическая треска <i>Gadus morhua</i> , ПП	26	-	Bjarnason et al., 1993
		Белопятнистый пестряк <i>Siganus canaliculatus</i> , СК	-	8.0	Sabapathy, Teo, 1995
		Скумбрия <i>Scomber japonicus</i> , ВО	30	9.0	Ooshino, 1971
		Сардина <i>Sardinops sagax caeruleus</i> , ПП	26	8.0	Castillo-Yáñez et al., 2006
		Гупии <i>Poecilia reticulata</i> , Пищеварительный тракт		9.0	Thongprajukaew, Kovitvadihi, 2013

Окончание табл. 4.2

Классификация	Название фермента	Источник фермента	ММ, кДа	Оптимум pH	Источник данных
3.4.21.4	Трипсин	Кошачья акула <i>Serhaloscyllium imbratile</i>	21.5 (31.7)	9.0	Pyeun et al., 1991
		Японский анчоус <i>Engraulis japonicus</i> , BO	25.6	9.0	Heu et al., 1995
		Японский анчоус <i>Anguilla japonica</i> , ПП	-	8.3	Yoshinaka et al., 1985
		Треска <i>Gadus morhua</i> , ПП	24	-	Bjarnason et al., 1993
		Лосось <i>Salmo salar</i> , ПП	25	-	Outzen et al., 1996
		Белый толстолобик <i>Hyporhamphichthys molitrix</i> , ГП	24	9.8	Зозуля, 1996
		Белый толстолобик <i>Hyporhamphichthys molitrix</i> , СК	-	9.8	Зозуля, 1996
		Амурский сом <i>Parasilurus asotus</i> , ГП	26	8.3	Yoshinaka et al., 1984
		Белопятнистый пестряк <i>Siganus canaliculatus</i> , СК	-	8.0	Sabapathy, Teo, 1995
		Карп <i>Cyprinus carpio</i> , СК	22	-	Хаблюк и др., 1992
		Красный большешпаз, <i>Pricanthus macracanthus</i> ПП	23.8	8.0-11.0	Hau, Benjakul, 2006
		Мазу <i>Oncorhynchus masou</i> , ГП	24	8.5	Kanno et al., 2010
		Скумбрия <i>Scomber</i> sp.		8.0	Chun et al., 2011
		Тихоокеанская треска, <i>Gadus macrocephalus</i>		8.0	Fuchise et al., 2011
		Арапаима, <i>Arapaima gigas</i> , ПП	28	9.0	Freitas-Júnior et al., 2012
		Гуппи, <i>Poecilia reticulata</i>		8.0	Thongprajukaew, Kovitvadihi, 2013
		Индийский карп <i>Cirrhinus mrigala</i> , ГП	21.7	7.0-9.2	Khargembam, Chakrabarti, 2015
		Индийская скумбрия <i>Rastralliger kanagurta</i> , BO	26	9.0	Khandagale, et al., 2015

	Анионный и катионный трипсины	Карп <i>Surginus carpio</i> , ПП	21.4	8.6	Хаблюк, 1984
	Трипсин А Б	Скумбрия <i>Scorpaenopsis</i>	30 (23.7) 29(21.5)	8.0 8.0	Pyeun et al., 1991
	трипсиноподобная протеаза (P111, P21, P31 и P4)	Индийский анчоус <i>Stoleporus spp. BO</i>	27, 33, 37, 39, 43, 48, 55, 60, 65	8.5	Siringan et al., 2007
	трипсиноподобная протеаза	Сом <i>Pterygoplichthys disjunctivus</i> , ПП	27,5	9.5	Villalba-Villalba et al., 2013
3.4.21.7	Коллагено-литическая сериновая протеиназа	Атлантическая треска <i>Gadus morhua</i> , СК	24.1	8.0	Kristjansson et al., 1995
3.4.21.8	Калликреин-подобная протеиназа	Черный каменный окунь <i>Centropomus striata</i> , ПП	27	9.0-10.0	Richards et al., 1995
3.4.21.11	Эластаза	Карп <i>Surginus carpio</i> , ПП	21.4	9.0	Хаблюк, 1984
Тяловые (цистеиновые) протеиназы					
3.4.22.-	Катепсин L	Карп <i>Surginus carpio</i> , ПП	27 (30)	5.0-6.5	Aranishi et al., 1997c
3.4.22.1	Катепсин В	Карп <i>Surginus carpio</i> , ПП	26 (30)	6.0	Aranishi et al., 1997a

Примечания: ММ – молекулярная масса, СК – слизистая оболочка кишечника, ГП – гепатопанкреас, ПП – пилорические придатки, ПЖ – поджелудочная железа, ВО – висцеральные органы.

блюдается в кишечнике, эластазы – в пилорических придатках (Caruso et al., 1993). Активность у дорады *Sparus aurata* активность трипсина и химо-трипсина выявлена на всем протяжении пищеварительного тракта, причем наиболее высокая активность трипсина была найдена в переднем отделе кишечника, химо-трипсина – в пилорических придатках (Deguara et al., 2003). Активность трипсина в дистальном отделе кишечника пескаррей *Campostoma anomalum*, *C. oligolepis* и *C. pauciradii* значительно ниже активности в проксимальном отделе. Однако у головля *Nocomis micropogon* не наблюдалось столь значительного снижения в дистальном отделе кишечника по сравнению с проксимальным отделом. У некоторых видов рыб активность аминопептидазы в медиальном отделе в несколько раз превышает таковую в проксимальном отделе кишечника (German, 2009).

Наиболее часто высокая активность протеиназ наблюдается в медиальном и дистальном отделах кишечника (Barrington, 1957; Кузьмина, 1978; Сорвачев, 1982; Fange, Grove, 1979; Уголев, Кузьмина, 1993; Kuz'mina, Gelman, 1997, Kuz'mina, 2008). Однако иногда различия между активностью проксимального и дистального отделов не наблюдаются. Чаще всего зависимость активности протеаз от их локализации не обнаруживается у рыб с коротким кишечником (Кузьмина, 1978; Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина и др., 2013; Николаичев и др., 2014).

Гидролиз жиров осуществляется главным образом в проксимальном отделе кишечника и пилорических придатках, углеводных компонентов пищи – в медиальном и дистальном отделах кишечника (Кузьмина, 1978; Уголев, Кузьмина, 1993; Kuz'mina, Gelman, 1997). При этом характер проксимо-дистальных градиентов одних и тех же гидролаз у одного и того же вида рыб в значительной мере зависит от способа расчета ферментативной активности – ммоль/г, ммоль/см или ммоль/см² в единицу времени (Кузьмина, 1979).

При изучении локализации ферментов в полости и на структурах щеточной каймы энтероцитов было показано, что уровень активности α -амилазы в полости выше, чем в слизистой оболочке кишечника рыб, активность мальтазы и щелочной фосфатазы связана преимущественно, сахаразы – исключительно со слизистой оболочкой кишечника (Кузьмина, 1976, 1977, 1984, 1992; Уголев, Кузьмина, 1993). При помощи оригинального метода реплик было установлено, что около 30% активности α -амилазы и мальтазы, а также около 10% активности щелочной фосфатазы сосредоточено в апикальном гликокаликсе (Кузьмина, Смирнова, 1990). Сахараза не подвергается «механической солюбилизации» и в этой зоне отсутствует, поскольку связана исключительно с апикальной мембраной энтероцитов (Кузьмина, Смирнова, 1990; Кузьмина, 1992; Ugolev, Kuz'mina, 1994). Последнее хорошо согласуется со сведениями о том, что сахараза у высших позвоночных животных является трансмембранным интегральным ферментом (Ugolev, Iezuitova, 1982).

Влияние состава пищи на активность протеаз. Известно, что состав пищи значительно влияет на активность пищеварительных гидролаз рыб (Barrington, 1957; Kapoor et al., 1975; Fange, Grove, 1979; Уголев, Кузьмина, 1993; Zambonino Infante, Cahu, 2001; Кузьмина, 2005, 2015; Debnath et al., 2007; Santigosa et al., 2008; Gonzalez-Felix et al., 2010). Большинство видов рыб меняют спектр потребляемых кормов в течение онтогенеза. Независимо от дальнейшей пищевой специализации, большинство видов рыб проходят следующие этапы смены основных источников питания: 1) эндогенное питание за счет запасов желточного мешка; 2) смешанное питание за счет остатков желточного мешка и питания внешними кормами; 3) полностью экзогенное питание внешними кормами (в основном одноклеточные водоросли, простейшие и инфузории); 4) питание личинками насекомых и зоопланктонными ракообразными; 5) спектр питания, характерный для взрослых особей (Кузьмина, 2008). Изменение спектра потребляемой пищи и соответственно соотношения белков и других веществ тесно связано не только с изменением морфологии желудочно-кишечного тракта, но и активности пищеварительных гидролаз, осуществляющих различные этапы пищеварения. Так, у амуре *Ctenopharyngodon idella* отмечено значительное уменьшение активности трипсина по мере роста рыбы, так как с двухлетнего возраста амуров переходят на питание растительностью (Строганов, Бузинова, 1969, 1970). Однако при использовании диеты с повышенным содержанием белка в условиях аквакультуры в кишечнике рыб этого вида увеличивается активность протеолитических ферментов (Das, Tripathi, 1991). У леща *Abramis brama*, в спектре питания которого преобладают личинки хирономид, олигохеты и мелкие моллюски, активность протеиназ достоверно выше, чем у карпа, получающего в качестве подкормки комбикорм (Кузьмина, Кузьмина, 1990, Уголев, Кузьмина, 1993). При этом активность протеиназ у представителей одной экологической группы может быть достаточно близкой в случае, если спектр питания близок, или различаться, если корм различен (Кузьмина, 1990 а). Диеты с повышенным уровнем белка и с частичной заменой рыбной муки на белковые концентраты сои, клейковины пшеницы или гороха, снижают протеолитическую активность в дистальном отделе кишечника у личинок морского языка *Solea senegalensis*, и в то же время увеличивают активность кислых протеаз в желудке (Rodiles et al., 2012). У нильской тиляпии *Oreochromis niloticus* при замене рыбной муки на соевый белок максимальная активность щелочных протеиназ наблюдается у особей, в рационе которых заменено 50% рыбной муки (Gonzalez-Felix et al., 2010). При значительном ограничении пищи (до 1/8 порции) у личинок лаврака *Dicentrarchus labrax* уровень активности трипсина уменьшается (Peres et al., 1998). При исследовании мальков гольца *Salvelinus fontinalis* установлено, что при сокращении рациона на 50 и, особенно, на 75% активность трипсина также уменьшается (Roche-Mayzaud et al.,

1998). При исследовании лаврака *Dicentrarchus labrax* установлено, что добавление водорослей в воду, в которой выращиваются личинки рыб, приводит к увеличению активности трипсина, но не влияет на активность химотрипсина (Cahu et al., 1999). Увеличение активности пептидаз происходит раньше у личинок лаврака, в рационе которых содержится гидролизат белка, чем у личинок, в рационе которых присутствует нативный белок (Cahu et al., 1999). У мальков карпа *Cyprinus carpio* протеолитическая активность значительно возрастает при увеличении количества натурального корма в рационе (Dabrowski, Glogowski, 1977b). Также есть сведения о том, что активность кишечных протеаз у молоди рыб этого вида увеличивается по мере увеличения в рационе рыбной муки, что свидетельствует об адаптивных изменениях активности протеолитических ферментов (Kawai, Ikeda, 1972).

Однако прямая зависимость уровня активности протеаз от типа питания рыб может отсутствовать не только на уровне экзопептидаз (Уголев и др., 1989), но и на уровне эндопептидаз (Кузьмина, 1990 б). Так, при исследовании 11 видов рыб, принадлежащим по типу питания к разным экологическим группам, более высокий уровень активности «кислых» и «щелочных» протеиназ, с использованием в качестве субстрата казеина, был выявлен у планкто- и бентофагов, чем у ихтиофагов (Chakrabarti et al., 1995). У 6 видов рыб, также различающихся по типу питания, максимальный уровень общей протеолитической активности наблюдался у ихтиофага форели *Oncorhynchus mykiss* и бентофага карпа *Cyprinus carpio*, минимальный – у ихтиофага угря *Anguilla anguilla* (Hidalgo et al., 1999). Более того, у ихтиофагов и фитофагов из сем. стихеевых Stichaeidae не выявлены существенные различия в уровне активности пепсина и трипсина (Chan et al., 2004).

Влияние возраста и суточных ритмов питания на активность протеаз. Активность протеаз пищеварительного тракта, как правило, значительно изменяется в процессе онтогенеза рыб (Коновалов, 1986; Ильина, Турецкий, 1987; Кузьмина, Гельман, 1998; Кузьмина, 2005). У многих видов рыб протеолитические ферменты (трипсин и химотрипсин) обнаружены в первые дни после вылупления личинок. Так, в пищеварительном тракте личинок сома *Pangasianodon hypophthalmus* активность кислых протеиназ обнаруживается до начала экзогенного питания, щелочных – в течение первых 3-х сут. после вылупления (Rangsin et al., 2012). Эти данные подтверждают предложение Чена (Chen et al., 2006) и Лазо (Lazo et al., 2007) о том, что раннее появление пищеварительных ферментов вызвано внутренними процессами, а не индуцировано пищей. Постепенно в процессе развития личинок активность пищеварительных протеиназ увеличивается (Kawai, Ikeda, 1973a; Тимейко, Бондаренко, 1988; Zambonino Infante, Cahu, 1994, 2001; Ribeiro et al., 1999; Lazo et al., 2000; Пономарев, Пономарева, 2003; Ma et al., 2005; Rangsin et al., 2012). Увеличение

активности ферментов в значительной мере связано с анатомическими и физиологическими изменениями личинок во время метаморфоза (Chen et al., 2006; Rangsin et al., 2012).

Помимо этого, активность протеолитических ферментов в значительной мере зависит от суточных ритмов питания. Наибольшая активность протеаз в организме рыб совпадает по времени с пиками интенсивного питания. При исследовании суточной динамики протеолитической активности в организме личинок и мальков уклейки *Alburnus alburnus* и плотвы *Rutilus rutilus* из Волжского плеса Рыбинского водохранилища показано, что наибольшая активность протеаз в организме исследуемых видов рыб наблюдалась в 9 ч, минимальная – в дневные часы, что полностью совпадает с индексами наполнения кишечника (Рудченко, 2012). Активность протеазы в желудке после кормления у трех видов рыб (тиляпия рендали *Tilapia rendalli*, мозамбикская теляпия *Oreochromis mossambicus*, африканский клариевый сом *Clarias gariepinus*) была самой высокой через 31 ч и наименьшая перед кормлением (0 ч). В проксимальном и дистальном отделах кишечника, активность протеазы достигла максимума за 12 часов после кормления у всех видов рыб (Hlophe et al., 2014).

4.2. Ферменты микроорганизмов, обеспечивающие симбионтное пищеварение у рыб

Живые бактерии непрерывно выделяют в кишечник и поглощают из него различные макромолекулы, содержащиеся в кишечнике, в том числе белки и полисахариды. Большая часть этих молекул не может транспортироваться через мембрану микроорганизма и подвергается деградации с помощью ферментов, выделяемых во внешнюю среду (Кузьмина, Скворцова, 2002). При исследовании бактерий слизистой и содержимого кишечника выявлен ряд ферментов, аналогичных гидролазам, синтезируемым пищеварительной системой рыб – протеазы, гликозидазы, липазы, фосфатазы и другие (Лубянскене и др., 1989; Шивокене, 1989; Cahill, 1990; Sugita et al., 1997; Buddington et al., 1997; Кузьмина, Скворцова, 2002; Nayak, 2010; Ganguly, Prasad, 2012; Ray et al., 2012a).

Протеолитические бактерии присутствуют практически у всех исследованных видов рыб, в то время как амилолитические бактерии встречаются только у рыб, пища которых содержит растительные компоненты (Šuvokienė et al., 1996; Шивокене и др., 1996). Наиболее подробно у разных животных исследованы характеристики протеаз энтеральной микробиоты (табл. 4.3).

Важно отметить, что микроорганизмы, обитающие в кишечнике, обычно синтезируют комплекс протеаз. В частности, различные виды бактерий, принадлежащих к р. *Pseudomonas*, характеризуются высокой

Таблица 4.3. Характеристика протеаз у микроорганизмов кишечника животных (по: Лубянский и др., 1989, с изменениями)

Классификация фермента	Название фермента	Сериновые протеиназы	Источник фермента	ММ, кДа	Оптimum pH
3.4.16.1	Сериновая карбоксипептидаза		<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	58-61	4-6
3.4.17.8	D-Аланинкар-боксипептидаза		<i>Bacillus subtilis</i>	50	7
3.4.21	Литическая протеиназа		<i>Bacillus subtilis</i>	28	
3.4.21.14	Субтилизин А		<i>Bacillus subtilis</i>	26-27	10-11
3.4.21.14	Субтилизин А (Карлсберг)		<i>Bacillus subtilis</i>	20.27	10-11
3.4.21.14	Субтилизин В		<i>Bacillus amylolaccanicus</i>	27.68	8-10
3.4.21.14	Протеиназа В		<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	32	6.5 – 7
3.4.21.14	Субтилизин А		<i>Bacillus amylolaccanicus</i>	27.53	8.5 – 9.5
3.4.21.14	Протеиназа		<i>Bacillus subtilis</i> W	28.8	7 – 9
3.4.21.14	Внутриклеточная протеиназа		<i>Bacillus subtilis</i> A-50	30	7 – 9
3.4.21.14	Протеиназа I		<i>Escherichia coli</i> (периплазматическая)	21	7-9
3.4.21.14	Протеиназа II		<i>Escherichia coli</i> (цитоплазма)	58	7-9
3.4.21.14	Протеиназа IV		<i>Escherichia coli</i> (наружная мембрана)	23.5	7.5
3.4.21.14	Щелочная протеиназа		<i>Bacillus mesentericus</i>	24	7-9
3.5.1.1	Аспарагиназа		<i>Saccharomyces cerevisiae</i> I	400	8.5
3.5.1.1	Аспарагиназа		<i>Saccharomyces cerevisiae</i> II	800	6.8
3.5.1.11	Пенициллинамидаза		<i>Escherichia coli</i>	70	7-9
3.5.1.11	Пенициллинамидаза		<i>Bacillus megaterium</i>	120	8-9
3.5.26	β -Лактамаза		<i>Escherichia coli</i>	28.5	7
3.5.26	β -Лактамаза		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32	8
3.4.11.1	Аминопептидаза (эндопептидаза)		<i>Escherichia coli</i>	45	7-8

Типовые протеазы					
3.4.11.8	Пироглютаминилпептидаза		<i>Pseudomonas fluorescens</i>	70 – 80	8
3.4.11.8	Пироглютаминилпептидаза		<i>Bacillus aminoliquefaciens</i>	72	7-8
3.4.17.8	D-Аланин-карбокси-пептидаза 1 A		<i>Escherichia coli</i>	65	7-8
3.4.22.8	Клострипаин		<i>Clostridium histolyticus</i>	55.5	7-7.2
3.4.22.10	Стрептококковая протеиназа		<i>Streptococcus</i> sp.	32	7-8
3.5.1.30	5-Аминовалерил-амидаза		<i>Pseudomonas putida</i>	67	7.5-8.5
3.5.1.42	Никотинамидонуклеотидамидаза		<i>Azotobacter vinelandii</i>	25.7-26.3	6.5-7
3.5.1.43	Пептидилглутаминаза		<i>Bacillus circulans</i>	90	8
3.5.1.44	Глютаминилпептидглутаминаза		<i>Bacillus circulans</i>	125	7.5
Карбоксильные (аспартатные) протеиназы					
3.4.23.6	Карбоксильная протеиназа микроорганизмов A		<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	60	3
Металлосодержащие протеазы					
3.4.11.5	Пролинаминилпептидаза		<i>Escherichia coli</i>	3.58	8.6
1	2		3	4	5
3.4.11.9	Аминилпептидаза		<i>Escherichia coli</i>	205-230	8.6
3.4.11.9	Аминилпептидаза		<i>Bacillus subtilis</i>	46.5	7.5-10
3.4.11.9	Аминилпептидаза		<i>Streptococcus griseus</i> K-1	23 – 25	7.5-10
3.4.11.12	Термофильная аминилпептидаза		<i>Streptococcus thermophilus</i>	62	6.4
3.4.11.12	Термофильная аминилпептидаза		<i>Bacillus stearotherm</i>	400	7
3.4.11.13	Аминилпептидаза		<i>Clostridium</i>	340	8.6
3.4.11.13	Аминилпептидаза		<i>Escherichia coli</i>	324	9-11
3.4.13.11	Дипептидаза		<i>Streptococcus thermophilus</i>	50	7.5
3.4.13.11	Дипептидаза		<i>Escherichia coli</i>	100	8
3.4.13.12	Дипептидаза M		<i>Escherichia coli</i> B	93-95	7.8-9

Окончание табл. 4.3

Классификация фермента	Название фермента	Источник фермента	ММ, кДа	Оптимум pH
3.4.15.1	Дипептидилкарбоксипептидаза	<i>Escherichia coli</i>	97	8,2
3.4.24.3	Коллагеназа А	<i>Clostridium histolyticus</i>	105	7,5
3.4.24	Эластаза	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	39,5	8
3.4.24	Щелочная протеиназа	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	48,5	7-9
3.4.24	Термолизин	<i>Bacillus thermotolerans</i>	37,5	8
3.4.24	Нейтральная протеиназа	<i>Bacillus subtilis</i> А	35,1	6,5-7,5
3.4.24	Протеиназа	<i>Escherichia coli</i> (III)	110	7,4
3.4.24	Протеиназа	<i>Escherichia coli</i> (А)	88	9
Некоторые неклассифицированные				
3.4.13.10	β -Аспартил-дипептидаза	<i>Escherichia coli</i>	120	7,4-8
3.4.99	"Сигнальная" пептидаза	<i>Escherichia coli</i>	39,0	—
3.4.99	Эндолизин	Бактериофаг λ	17,6	7,5
3.4.99	Протеиназа АТФ-зависимой системы гидролиза белков	<i>Escherichia coli</i>	450	7,5
3.5.1.2	Глютаминаза А	<i>Escherichia coli</i>	110	8
3.5.1.2	Глютаминаза	<i>Clostridium welchii</i>	110-140	5
3.5.1.4	Амидаза	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	200	7,2
3.5.1.28	N-Ацетилмурамил-L-аланинамидаза	<i>Bacillus megaterium</i>	20	6,8
3.5.2.10	Креатининаза	<i>Pseudomonas putida</i>	—	7,5-8

протеолитической активностью как внеклеточных, так и внутриклеточных гидролаз. Некоторые штаммы *Ps. aeruginosa* продуцируют три различных протеазы (нейтрально-щелочные и эластазу). Эластаза *Ps. aeruginosa* расщепляет целый ряд белков и обладает способностью створаживать молоко. Нейтральные протеиназы, как правило, являются металлоферментами с молекулярной массой 40–45 кДа. В состав их молекулы входит цинк, который для увеличения стабильности нуждается в присутствии ионов Ca^{2+} . Максимальную активность нейтральные протеиназы проявляют в зоне нейтральных значений pH, щелочная протеиназа *Ps. aeruginosa* (ММ 48.4 кДа), также содержащая Ca^{2+} в активном центре, устойчива в интервале pH 5–9 (Лубянскене и др., 1989).

Протеолитической активностью обладают также бактерии *Bacillus licheniformis* BF2 и *Bacillus subtilis* BH4, выделенные из кишечника лабео *Labeo bata*. Причем максимальная активность протеолитических ферментов этих штаммов бактерий находится при pH 6.0–6.5 и температуре 40°C (Ray et al., 2012 b). Почти все изоляты бактерий р.р. *Vibrio* и *Enterobacter*, выделенные из кишечника кефали *Mugil cephalus*, обладают протеолитической и амилолитической активностью (Hamid et al., 1979).

Более 50% штаммов микроорганизмов, выделенных из кишечника ряда видов пресноводных рыб (каrp *Cyprinus carpio*, морской угорь *Anguilla anguilla*, тилапия *Oreochromis niloticus* и другие), которые принадлежат к сем. Bacteroidaceae, а также р.р. *Aeromonas* и *Clostridium*, способны продуцировать амилазу. В то же время штаммы р.р. *Acinetobacter*, коринебактерии, микроорганизмы сем. Enterobacteriaceae, р.р. *Moraxella*, *Plesimonas* и *Streptococcus* не обладают этой способностью. При этом высокая продукция амилазы найдена у двенадцати штаммов микроорганизмов, 11 из которых принадлежат р. *Aeromonas* и один – к р. *Pseudomonas* (Sugita et al., 1997). У бактерий, выделенных из содержимого кишечника кумжи *Salmo trutta trutta*, наиболее высокие значения протеолитической и амилолитической активности обнаружены при кормлении рыб пищей животного происхождения, наименьшие – при кормлении комбикормом (Šyvkienė et al., 1997). Из кишечника щуки, леща, плотвы и окуня Рыбинского водохранилища выделена микробиота, обладающая амилолитической и протеолитической активностью. При этом протеолитическая активность бактерий содержимого пищеварительного тракта у рыб разных видов рыб находится приблизительно на одном уровне – 2–4 мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹, тогда как амилолитическая активность колеблется от 1 у плотвы до 9 мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹ у окуня (Кузьмина, Скворцова, 2002). Изучение протеолитической активности у 168 штаммов бактерий р. *Lactobacillus*, выделенных из пищеварительного тракта карпа *Cyprinus carpio*, показало, что основными продуцентами трипсино- и пепсиноподобных протеиназ являются *L. casei casei* и *L. plantarum*. При этом активность трипсиноподобных протеиназ приблизительно в 10 раз выше, чем пепсиноподобных гидролаз. (Jankauskienė, Lesauskienė, 1995).

Помимо протеаз в кишечнике рыб присутствуют бактерии, способные разрушать углеводные компоненты пищи. Так, в кишечнике плотвы *Rutilus rutilus*, уклеи *Alburnus alburnus* и трехиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* преобладают бактерии р. *Aeromonas* а также выявлены бактерии р.р. *Acinetobacter*, *Pseudomonas/Shewanella*, ферменты которых эффективно разрушают углеводы (Mickèniènè, Šyuvokienè, 2008). У бата *Labeo bata* амилолитические бактерии в большем количестве встречаются в проксимальном отделе кишечника. На основании фенотипических характеристик и анализа последовательности 16S рДНК, штаммы были идентифицированы как *Bacillus licheniformis* и *Bacillus subtilis* (Mondal et al., 2010). У роху *Labeo rohita*, напротив, наблюдалась высокая плотность амилолитических бактерий в дистальном отделе кишечника (Ghosh et al., 2010). У длинноусого сома *Mystus gulio*, обитающего в солоноватых водах, амилолитические бактерии также наиболее значительно представлены в дистальном отделе кишечника. Продуцентом фермента, предположительно является *Bacillus licheniformis*. У тигрового басса *Terapon jarbua* и зеленого ската *Scatophagus argus*, обитающих в тех же районах, выявлены липолитические бактерии, напоминающие *Brevibacillus parabrevis* (Das et al., 2014).

Помимо этого обнаружены специфические ферменты микробиоты, такие как хитиназа (Jeuniaux, 1983; Danulat, Kausch, 1984; Mac Donald et al., 1986; Itoi et al., 2006) и целлюлаза (Stickney, Shumway, 1974; Saha, Ray, 1998; Bairagiet al., 2002; Saha et al., 2006; Ghosh et al., 2010). При исследовании ряда видов японских прибрежных рыб были идентифицированы 31 альфа-хитинолитических и 275 бета-хитинолитических бактериальных изолятов, большинство из которых принадлежали к сем. *Vibrionaceae* (Itoi et al., 2006). При исследовании японской камбалы *Paralichthys olivaceus* было показано, что хитин гидролизуют три вида морских вибрионов: *Vibrio scophthalmi*-*Vibrio ichthyenteri*, 41 изолят, *Vibrio fischeri*, 39 изолятов и *Vibrio harveyi*, 2 изолята (Sugita, Ito, 2006). Некоторые изоляты р.р. *Vibrio*, *Enterobacter*, *Aeromonas*, *Achromobacter* и *Pseudomonas* обладают не только хитиназной, но и лецитиназной активностью (Hamid et al., 1979). У тигрового басса *Terapon jarbua* и зеленого ската *Scatophagus argus*, обитающих в солоноватых водах, целлюлолитические бактерии наиболее значительно представлены в дистальном отделе кишечника (Das et al., 2014). У роху *Labeo rohita* наблюдалась высокая плотность целлюлолитических бактерий в дистальном отделе кишки. При этом одиннадцать ассоциированных с поверхностью кишечника бактериальных штаммов принадлежала к *Bacillus*. Кроме того, найдено 2 штамма *Pseudomonas*, 1 штамм *Aeromonas*, 1 штамм *Enterobacter* (Ghosh et al., 2010). У длинноусого сома *Mystus gulio*, обитающего в солоноватых водах, амилолитические бактерии наиболее значительно представлены в дистальном отделе кишечника. У некоторых видов пресноводных костистых рыб в кишечни-

ке выявлена танназа, разрушающая танин, синтезируемая автохтонной микрофлорой (*Enterobacter asburiae*), а также дрожжами *Pichia kudriavzevii*, *Candida tropicalis* и *Candida parapsilosis* (Mandal, Ghosh, 2013). У сельди *Gudusia chapra* и белого толстолобика *Hypophthalmichthys molitrix*, культивируемых в прудах, обнаружена фитаза, синтезируемая кишечными бактериями и увеличивающая доступность фосфора и других важных питательных веществ в результате гидролиза фитиновой кислоты (Khan, Ghosh, 2012).

Активность протеаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у рыб из Рыбинского и Кучурганского водохранилищ. При исследовании активности протеаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты в период наиболее интенсивного питания рыб были выявлены существенные видовые различия (табл. 4.4). При этом активность протеаз у массовых видов рыб из Рыбинского водохранилища, как правило, ниже, чем у рыб Кучурганского водохранилища. Наиболее высокая активность протеаз слизистой оболочки кишечника у рыб из Рыбинского водохранилища выявлена у ти-

Таблица 4.4. Активность протеаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у рыб Рыбинского и Кучурганского водохранилищ при стандартных значениях температуры (20°C) и pH (7.4)

Вид	Активность протеаз, мкмоль/(г·мин)		
	слизистая	химус	энтеральная микробиота
Рыбинское водохранилище			
Судак <i>Sander lucioperca</i>	0.47±0.08 ^a	1.65±0.17	1.72±0.20 ^a
Щука <i>Esox lucius</i>	5.85±0.32 ^a	2.38±0.12 ^a	0.87±0.17 ^a
Налим <i>Lota lota</i>	2.80±0.18 ^a	2.74±0.17 ^a	1.75±0.13 ^a
Окунь <i>Perca fluviatilis</i>	1.37±0.15 ^a	1.87±0.11 ^a	0.58±0.20
Лещ <i>Abramis brama</i>	0.40±0.07	1.58±0.15	0.98±0.23 ^a
Плотва <i>Rutilus rutilus</i>	0.34±0.05	1.67±0.17	0.46±0.15
Кучурганское водохранилище			
Судак <i>Sander lucioperca</i>	3.68±0.23 ^b	4.7±0.27 ^b	1.62±0.13 ^b
Окунь <i>Perca fluviatilis</i>	3.74±0.27 ^b	6.03±0.13 ^b	2.20±0.15 ^b
Солнечный окунь <i>Lepomis gibbosus</i>	8.82±0.42 ^b	9.38±0.52 ^b	6.60±0.27 ^b
Лещ <i>Abramis brama</i>	0.92±0.12	1.35±0.21	1.32±0.11
Карп <i>Cyprinus carpio</i>	4.72±0.15 ^b	5.47±0.32 ^b	3.41±0.28 ^b
Карась <i>Carassius auratus</i>	8.02±0.45 ^b	5.96±0.36 ^b	5.35±0.33 ^b

Примечание: различия достоверны между минимальной активностью протеаз и активностью протеаз у других видов рыб из Рыбинского водохранилища (**a**), Кучурганского водохранилища (**b**) (в столбцах), при уровне значимости $p < 0.05$ (ANOVA-тест, *F*-критерий).

пичных (щука) и факультативных (окунь, налим) ихтиофагов. Максимальная активность протеаз слизистой оболочки у щуки превышает таковую у налима в 2.1 раза, у окуня – в 4.4 раза, у судака – в 12.8 раза. Активность протеаз химуса у рыб разных видов различается не столь значительно: максимальный уровень ферментативной активности химуса у налима превышает минимальный у леща лишь в 1.7 раза.

Как известно, активность протеаз кишечной микрофлоры не может быть сопоставлена с таковой других препаратов, поскольку пробы, содержащие микроорганизмы, предварительно культивировались. Однако возможно сопоставление активности ферментов кишечной микрофлоры у рыб разных видов. Оказалось, что активность протеаз энтеральной микробиоты у рыб из Рыбинского водохранилища, как правило, значительно ниже, чем у рыб из Кучурганского водохранилища. У рыб из обоих водохранилищ не выявлена зависимость активности протеаз энтеральной микробиоты от типа питания рыб. В первом случае активность протеаз энтеральной микробиоты у леща близка к таковой у щуки, у плотвы – к таковой у окуня. Лишь у судака и налима уровень ферментативной активности в 1.8 – 3.8 раз выше, чем у других видов рыб. Во втором случае максимальная активность протеаз слизистой оболочки наблюдается у солнечного окуня, а ферментативная активность у карася и окуня ниже в 1.6, у карпа – в 1.7, у судака – в 2, у леща – в 7 раз. Активность протеаз химуса также максимальна у солнечного окуня. У карася, карпа, окуня, судака и леща активность протеаз ниже, чем у солнечного окуня в 1.3, 1.9, 3.3, 4.1 и 5.1 раза соответственно.

Таким образом, активность протеаз слизистой оболочки, химуса и энтеральной микробиоты у рыб разных видов из Рыбинского и Кучурганского водохранилищ значительно варьирует. Зависимость активности протеаз от характера питания рыб не прослеживается. Максимальные значения активности протеаз у рыб из Рыбинского водохранилища характерны для типичного ихтиофага щуки, из Кучурганского водохранилища – у бентофага-факультативного ихтиофага солнечного окуня.

Активность гликозидаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у рыб из Рыбинского и Кучурганского водохранилищ. Данные, касающиеся активности гликозидаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты в период наиболее интенсивного питания рыб приведены в табл. 4.5.

Активность гликозидаз слизистой оболочки и химуса у рыб из обоих водохранилищ, как правило, хорошо коррелирует с типом питания рыб. У рыб из Рыбинского водохранилища наиболее высокая активность гликозидаз слизистой оболочки выявлена у плотвы (выше, чем у леща и судака в 2.5 и 11 раз соответственно). Максимальная активность гликозидаз химуса, также наблюдающаяся у плотвы, выше, чем у леща и судака в 2.2 и 10.8 раза соответственно. Различия в уровне

Таблица 4.5. Активность гликозидаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты рыб Рыбинского и Кучурганского водохранилищ при стандартных значениях температуры (20°C) и pH (7.4)

Вид	Активность гликозидаз, мкмоль/(г·мин)		
	слизистая	химус	энтеральная микробиота
Рыбинское водохранилище			
Судак <i>Sander lucioperca</i>	0.89±0.07	1.02±0.08	4.09±0.28
Лещ <i>Abramis brama</i>	3.98±0.10 ^a	5.02±0.12 ^a	5.18±0.34 ^a
Плотва <i>Rutilus rutilus</i>	9.89±0.36 ^a	10.81±0.38 ^a	5.38±0.38 ^a
Кучурганское водохранилище			
Судак <i>Sander lucioperca</i>	1.59±0.05	0.38±0.02	3.15±0.28
Окунь <i>Perca fluviatilis</i>	1.56±0.06	1.15±0.05 ^b	2.83±0.22
Солнечный окунь <i>Lepomis gibbosus</i>	7.56±0.36 ^b	7.27±0.36 ^b	6.30±0.28 ^b
Лещ <i>Abramis brama</i>	3.22±0.12 ^b	3.97±0.15 ^b	6.22±0.24 ^b
Карп <i>Cyprinus carpio</i>	18.16±0.71 ^b	16.86±0.62 ^b	12.21±0.28 ^b
Карась <i>Carassius auratus</i>	32.29±0.83 ^b	27.81±0.48 ^b	17.35±0.96 ^b

Примечание: различия достоверны между минимальной активностью гликозидаз и активностью гликозидаз у других видов рыб из Рыбинского водохранилища (^a), Кучурганского водохранилища (^b) (в столбцах), при уровне значимости $p < 0,05$ (ANOVA-тест).

активности гликозидаз энтеральной микробиоты у этих же видов рыб ниже. Активность гликозидаз энтеральной микробиоты у леща близка таковой плотвы, у судака – ниже в 1.3 раза. Максимальная активность гликозидаз слизистой оболочки у рыб из Кучурганского водохранилища выявлена у карася (выше, чем у судака и окуня в 20.2, у леща – в 11.1, у солнечного окуня – в 4.2, у карпа – в 1.8 раза). Активность гликозидаз химуса у карася выше, чем у судака в 73.1 раза, у окуня – в 24.2 раза, у карпа, солнечного окуня и леща – в 1.7, 3.8 и 7 раза соответственно. Соотношение активности гликозидаз энтеральной микробиоты у рыб из Кучурганского водохранилища близко таковой слизистой и химуса. Максимальная активность отмечена у карася. При этом достаточно высокая активность прослеживается у карпа, солнечного окуня и леща. Минимальные значения у судака и окуня в 5.5 и 6.2 раза ниже, чем у карася.

Таким образом, активность гликозидаз слизистой оболочки, химуса и энтеральной микробиоты значительно варьирует как у рыб Рыбинского, так и Кучурганского водохранилищ. При этом прослеживается связь между характером питания и активностью гликозидаз. Максимальные значения активности гликозидаз у рыб из обоих водохранилищ характерны для бентофагов, минимальные – для ихтиофагов.

4.3. Ферменты объектов питания рыб, обеспечивающие индуцированный аутолиз

Вопрос о возможной роли ферментов объектов питания в процессах пищеварения рыб был поднят Янчариком (Jančarik, 1956). Систематическое исследование экзоферментов, поступающих в пищеварительный тракт в составе кормовых объектов рыб, началось позднее (Dabrowski, Glogowski, 1977a,b). Однако значительный вклад ферментов жертвы в процессы пищеварения рыб на протяжении многих лет не удавалось выявить (Ильина, 1986; Oozekey, Bailey, 1995; Cahu et al., 1995; Kolkovski et al., 1997; Kurokawa et al., 1998). Последнее в значительной мере было связано с тем, что в большинстве работ исследовались беспозвоночные и личинки рыб. На рубеже XX-XXI веков была продемонстрирована возможность существенного вклада гидролаз объектов питания в процессы пищеварения рыб (Уголев, Кузьмина, 1988; 1993; Кузьмина, 1990a, 1993, 1996a, 2000; Kuz'mina, Golovanova, 2004). Доказательство участия механизма индуцированного аутолиза в пищеварении рыб представляет значительный интерес для понимания трофических взаимоотношений гидробионтов. Особую актуальность этот вопрос приобретает в связи с тем, что способность жертвы к аутодеградации способствует уменьшению энергетических затрат консументов на синтез собственных ферментов (Кузьмина, 2005).

Протеазы объектов питания типичных и факультативных ихтиофагов. Хорошо известно о том, что предличинки и личинки рыб обладают активностью «кислых» и «щелочных» протеиназ (Kawai, Ikeda, 1973b; Коновалов, Местечкина, 1975; Коновалов, 1978; Ильина, 1986; Кузьмина, Гельман, 1998; Кузьмина и др., 1999, 2004; Кузьмина, 2005; Голованова, 2006). Активность пепсиноподобных и трипсиноподобных протеиназ была выявлена в целом организме предличинок и личинок рыб разных таксономических групп: у ряда видов сем. осетровых *Acipenseridae* (Коржуев, Шаркова, 1967; Плотников, Проскуряков, 1984; Тимейко, Бондаренко, 1988), форели *Salmo gairdneri* (Kawai, Ikeda, 1973a), сига *Coregonus pollan* (Dabrowski, 1982) и щуки *Esox lucius* (Szalaminska, 1980). Активность лейцинаминопептидазы в слизистой оболочке кишечника продемонстрирована у личинок карпа *Cyprinus carpio* (Ильина, 1986) и бестера *Huso huso* *Acipenser ruthenus* (Тимейко, Бондаренко, 1988), аминопептидазы – у форели *Salmo irideus* и гибрида между ситами р. *Coregonus* (Lauff, Hofer, 1984), тюрбо *Scophthalmus maximus* (Cousin et al., 1987), ханоса *Chanos chanos* (Ferraris et al., 1987), ладожской палии *Salvelinus lepechini* (Тимейко, 2001).

Вместе с тем наиболее значительную роль в процессах аутодеградации играют катепсины. У миног катепсин D широко представлен в ротовой железе, иммунных органах, сердце, кишечнике, почках, пе-

чени и жабрах. При исследовании миноги *Lampetra japonica* показано, что катепсин D состоит из сигнального пептида (Met-Ala 1 20), домена пропептида (Leu-Ala 21 48) и зрелого домена (Glu-Val 76 397). Фермент имеет консервативную двудольную структуру (Xiao et al., 2015). У морского косорота *Synoglossus semilaevis* во многих тканях выявлен катепсин B. Оптимум активности наблюдается при pH 5.5 и температуре 35°C (Chen, Sun, 2012). У оранжево-пятнистого групера, или эстуарной трески *Epinephelus coioides* выделена кДНК катепсина L. Анализ тканеспецифичной экспрессии мРНК показал, что катепсин L представлен во всех исследованных тканях рыб. Максимальный уровень отмечен в печени, умеренный – в сердце, гонадах и кишечнике (Liang et al., 2012). Катепсин L, выделенный из мышц толстолобика *Hypophthalmichthys molitrix*, имеет молекулярную массу 30 кДа, оптимум pH и температуры 5.0 и 55°C соответственно (Liu et al., 2006). У китайского вьюна *Misgurnus mizolepis* катепсин L, напротив, более стабилен при нейтральном и щелочных значениях pH, а оптимальная температура ниже – 40°C. Активность фермента зависит от присутствия ионов металлов (Ahn et al., 2010). У японского палтуса *Paralichthys olivaceus* клонировали кДНК, кодирующую катепсин S. Выявлена экспрессия кДНК катепсина S во всех исследованных тканях. Оптимальное значение pH фермента – 8.0 (Kim et al., 2010). У этого же вида рыб выявлен катепсин X, отличающийся от катепсина S оптимумом pH – 5.0 (Ahn et al., 2008). Ниже приведены данные, касающиеся важнейших характеристик ферментов у рыб – потенциальных объектов питания ихтиофагов (табл. 4.6).

Протеазы объектов питания типичных и факультативных планкто- и бентофагов. Известно, что организмы, входящие в состав кормовой базы планкто- и бентофагов способны участвовать в индуцированном аутолизе (Кузьмина и др., 1999; Кузьмина и др., 2004; Голованова, 2006). При этом большинство работ, касающихся различных характеристик протеаз в организме беспозвоночных, было проведено с самостоятельными целями. Наиболее подробно исследована активность пищеварительных протеаз у морских беспозвоночных. Так, активность трипсиноподобных и химотрипсиноподобных ферментов обнаружена у калифорнийского колючего омара *Panulirus interruptus*, европейского омара *Homarus gammarus*, голубых крабов *Callinectes bellicosus* и *Callinectes arcuatus*, а также большого краба *Cancer pagurus*, (Navarrete del Toro et. al., 2006). Также активность трипсиноподобных и химотрипсиноподобных ферментов обнаружена у асцидий *Botrillus schlosseri* (Pancer et al., 1995), креветки *Penaeus vannamei* (Van-Wormhoudt et al., 1995b) и камчатского краба *Procamburus camtschatica* (Sakharov et al., 1994).

Из гепатопанкреаса атлантического краба *Callinectes sapidus* выделены трипсин и химотрипсин (Dendinger, 1987), из экстрактов желудка и гепатопанкреаса европейского омара *Homarus gammarus* – эластаза и трипсин.

Таблица 4.6. Характеристика протеаз у некоторых потенциальных объектов питания ихтиофагов
(по: Свворцова, 2002 с дополнениями)

Классификация фермента	Название фермента	Источник фермента	ММ, кДа	Оптимум pH	Источник данных
3.4.-.	Фибринолитический фермент катсуокиназа	Полосатый тунец <i>Katsuwonus pelamis</i> , М	35	-	Sumi et al., 1995
3.4.-.	протеиназа выплутения	Европейская ряпушка <i>Coregonus albula</i> , эмбрионы	12	9,0 (по казеину)	Luberda et al., 1990, 1992
3.4.-.	химотрипсино- (1) и трипсиноподобная (2) мультикаталитическая протеиназа	Атлантический лосось <i>Salmo salar</i> , М	600 (диссоциируется на субединицы по 25-30)	17.5 2)9.0	Stoknes, Rustad, 1995
3.4.-.	коллагенолитическая химотрипсин подобная протеиназа	Камбала <i>Pseudopleuronectes americanus</i> , СМ	-	7.5	Teruel, Simpson, 1995
3.4.-.	трипсиноподобная протеиназа	Хамса <i>Engraulis encrasicolus</i> , М	-	1)7.4 2)>8.5	Ishida et al., 1994
3.4.2.18	калликреин	Черный каменный окунь <i>Centropomus striatus</i> , СМ	36	9.0	Richards et al., 1997
Тяловые (цистеиновые) протеиназы					
3.4.2.2.15	катепсин L	Кета <i>Oncorhynchus keta</i> , БМ	30	5.6	Jamashita, Konagaya, 1990a
	катепсин L	Скумбрия <i>Scorpaenopsis japonicus</i> , БМ	69 (65)	-	Aoki et al., 1997
	катепсин L форма I форма II	Тихоокеанский хек <i>Merluccius productus</i> , ПЖМ	28.8 28.8	5.5 6.0	Seymour et al., 1994
	катепсин L- подобная протеиназа	Анчоус <i>Engraulis japonicus</i> , М	25.8	6.0	Heu et al., 1997

3.4.22.1	катепсин В	Кета <i>Oncorhynchus keta</i> , БМ	28	5.7	Jamashita, Konagaya, 1990 b
	катепсин В	Кефаль <i>Mujil auratus</i> , М	25	-	Bonete et al., 1984
	катепсин В- подобная протеиназа	Скумбрия <i>Scorpaenopsis japonicus</i> , БМ	55	5.5	Aoki et al., 1995
3.4.22.17	кальпаин I	Лосось <i>Salmo salar</i> , икра	120-140	-	Немова, 1992, Немова и др., 1992
	кальпаин II	Лосось <i>Salmo salar</i> , икра	76-87	-	Немова, 1992, Немова и др., 1992
Карбоксипептизные (аспартильные) протеиназы					
3.4.23.5	катепсин D	Форель <i>Salmo gairdneri</i> , икра	70	4.0	Немова, 1992
	катепсин D	Радужная форель <i>Rainbow trout</i> , яйца	67	2.8-4.0	Коновалов, 1986
	катепсин D	Форель <i>Salmo gairdneri</i> , М	42	3.6	Немова, 1992
	катепсин D	Золотой карась <i>Carassius auratus</i> , М	-	3.8	Bird et al., 1969
	катепсин D	Кефаль <i>Mujil auratus</i> , М	35	-	Bonete et al., 1984
Металлопротеиназы					
3.4.24.-	металло-протеиназа выплупления	Ланцетник <i>Branchiostoma lanceolatum</i> , эмбрионы	-	8.0	Denure, 1996

Примечание: М – мышцы, БМ – белые мышцы, СМ – скелетные мышцы, ПЖМ – плазматическая жидкость мышечной ткани.

Вместе с тем химотрипсин и пепсин в этих экстрактах не выявлены (Glass, Stark, 1994). При исследовании пилорических придатков у морских звезд (*Aphelasterias japonica*, *Asterias amurensis*, *Distolasterias nipon*, *Lethasterias* sp., *Patiria pectinifera*) обнаружена активность трипсиноподобных ферментов. При этом активность химотрипсиноподобных, пепсиноподобных и эластазаподобных ферментов не выявлена (Elyakova, Kozlovskaya, 1975). Из гепатопанкреаса лангуста *Procambarus clarkia* выделен анионный трипсин (Kim et al., 1992). У моллюска красное ушко *Haliotis rufescens* в дистальной четверти кишечника выявлена активность химотрипсинподобной протеиназы (Groppe, Morse, 1993). Важно отметить, что у моллюска зеленое ушко *Haliotis fulgens* трипсин, химотрипсин и карбоксипептидаза обнаружены по всей длине кишечника, причем трипсин более активен в дистальном отделе (Serviere-Zaragoza et al., 1997).

Кроме того, есть сведения о наличии у ряда перечисленных выше видов беспозвоночных активности экзопептидаз. У атлантического краба *Callinectes sapidus*, европейского омара *Homarus gammarus* и морских звезд (*Aphelasterias japonica*, *Asterias amurensis*, *Distolasterias nipon*, *Lethasterias* sp., *Patiria pectinifera*) выявлена активность карбоксипептидазы А и В, а также лейцинаминопептидазы (Elyakova, Kozlovskaya, 1975; Dendinger, 1987; Glass, Stark, 1995). У кольчатого червя *Ritidophtis pachyptila* и моллюсков *Bathymodiolus thermophilus* и *Lucinoma aequizonata* из гидротермальных дренажей обнаружена активность лейцинаминопептидазы (Boetius, Felbeck, 1995).

При исследовании гребешка *Chlamys farreri* показано, что m -РНК катепсина D экспрессируется в мантии, гонадах, жабрах, гемоцитах, гепатопанкреасе и приводящей мышце (Li et al., 2010). Лизосомальный катепсин D, выделенный из мягких тканей пресноводной мидии *Lamellidens corrianus* представляет собой гликопротеин с молекулярной массой ~ 43 кДа. Катепсин D гидролизует гемоглобин. Оптимум pH фермента - 3.5, температуры - 60°C (Venugopal, Siva Kumar, 2014). Молекулярная масса катепсина D из гепатопанкреаса каракатицы *Sepia officinalis* равна 37.5 кДа. Оптимум pH фермента с использованием гемоглобина в качестве субстрата равен 3.0, температуры - 50°C. Очищенный фермент полностью ингибируется пепстатином А. Однако фторид фенилметилсульфонила и этилендиаминтетрауксусная кислота не ингибируют этот фермент. Очищенный катепсин D активизируется ионами Mg^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Sr^{2+} и Co^{2+} , но не ингибируется ионами Na^{+} , K^{+} и Ca^{2+} . Особый интерес для оценки роли катепсина D в процессах индуцированного аутолиза представляют данные авторов о высокой эффективности фермента для гидролиза белков миофибрилл, извлеченных из мышц каракатицы (Balti et al., 2010).

У моллюска тихоокеанское ушко *Haliotis discus hannai* выявлен катепсин В, состоящий из 336 аминокислотных остатков (Qui et al., 2013). В

различных тканях двустворчатого моллюска *Sinonovacula constricta* идентифицирован ген В катепсина. Белок имеет типичную структуру цистеиновой протеазы. Гены катепсина В экспрессируются в различных тканях, но в наибольшей степени - в печени (Niu et al., 2013a). У этого же моллюска было выделено и охарактеризовано четыре гена лизосомальной цистеиновой протеазы - катепсина L (CTSL1, CTSL2, CTSL3 и CTSL4). Анализ экспрессии четырех транскриптов выявил тканеспецифичный паттерн с высокой экспрессией CTSL1 и CTSL3 в печени и гонадах, а также с высокой экспрессией CTSL2 и CTSL4 в печени и жабрах. Все четыре транскрипта показали наивысшую экспрессию на ювенильной стадии. При этом уровень экспрессии CTSL3 в процессе эмбриогенеза был значительно выше по сравнению с тремя другими транскриптами (Niu et al., 2013 b). Позднее в различных тканях этого моллюска был идентифицирован ген катепсина С (Niu et al., 2014). При исследовании мидии *Cristaria plicata* была обнаружена экспрессия мРНК катепсина L в гепатопанкреасе, гемоцитах, мантии, жабрах и приводящей мышце, причем самый высокий уровень экспрессии был отмечен в гепатопанкреасе (Hu et al., 2014). Однако у жемчужной устрицы *Pinctada fucata* наиболее высокий уровень кДНК катепсина L отмечен в пищеварительной железе (Ma et al., 2010).

Из тела морского огурца *Stichopus japonicus* был выделен катепсин L с молекулярной массой 63 кДа. Оптимум pH для очищенного фермента соответствовал 5.0, температуры - 50°C. Активность фермента ингибируется сульфгидрильными реагентами и активируется восстановителями (Zhu et al., 2008). Из различных тканей морской звезды *Asterina pectinifera* были выделены катепсины L (Lee et al., 2012) и X (Bak et al., 2013). Молекулярная масса последнего - около 32.7 кДа. Наиболее обильно фермент представлен в печени, что, по мнению авторов, указывает на его участие в пищеварительных процессах. Кроме того, в этой работе показано, что структурные и функциональные характеристики катепсина X иглокожих аналогичны таковым фермента млекопитающих и рыб (Bak et al., 2013). У морской звезды *Asterias rubens* выявлен катепсин D с молекулярной массой 45 кДа (Merino, Siva Kumar, 2012), а из яичника звезды *Asterina pectinifera* изолирован и очищен катепсин D с молекулярной массой 50 кДа, который ингибируется пепстатином А (Kannappan et al., 2008).

У речной креветки *Macrobrachium nipponense* во всех тканях, в том числе грудных ганглиях, сердца, мышц, кишечника, гемоцитов, яичника, яичка, жабры и гепатопанкреасе обнаружена кДНК катепсина L (Zhao et al., 2013). У белой креветки *Exopalaemon carinicauda* кДНК катепсина L также обнаружена во всех тестируемых тканях, в том числе в гемоцитах, гепатопанкреасе, мышцах, яичнике и желудке, с высоким уровнем экспрессии в гепатопанкреасе (Duan et al., 2013). У белой креветки *Litopenaeus vannamei* секвенировали и идентифицировали цистеиновую

протеиназу катепсин В. При использовании ПЦР было установлено, что катепсин В экспрессируется в большинстве тканей креветок за исключением плеоподов и глазных стебельков. Изменения мРНК катепсина В во время голодания позволяет предположить, что фермент участвует не только во внутриклеточном гидролизе белка, но и участвует внеклеточно в гидролизе пищевых белков после приема пищи. Это подтверждается высоким уровнем активности, которые авторы нашли в желудочном соке и железах средней кишки (Stephens et al., 2012).

Из ряда тканей китайской креветки *Fenneropenaeus chinensis* выделили и клонировали кДНК, кодирующую катепсин В, который действует как эндопептидаза и пептидил-дипептидаза (Li et al., 2013). У этого же вида креветок была клонирована кДНК лизосомального катепсина С - папаиновой протеиназы, способной активировать множество химотрипсинподобных сериновых протеаз. Катепсин С присутствует во всех тканях, причем наиболее высокий уровень транскрипции отмечен в гепатопанкреасе (Wang et al., 2012). Клонирование кДНК катепсина С из тканей черной тигровой креветки *Penaeus monodon* подтвердило наличие фермента во всех обследованных тканях. Однако на более высоком уровне транскрипт мРНК был обнаружен в яичнике и сердце (Qui et al., 2008). Ниже приведены данные, касающиеся характеристик ферментов у рыб – потенциальных объектов питания планкто- и бентофагов (табл. 4.7).

Важно отметить, что у артемии *Artemia sp.* активность трипсина и состав протеаз на всех исследованных стадиях онтогенетического развития (от цисты до раннего науплиуса) постоянны. Это позволило авторам предположить, что участие экзогенных гидролаз в процессах пищеварения личинок рыб равноценно на всех стадиях ее развития (Garcia-Ortega et al., 1998). У креветок *Palaemon elegans* и *Macrobrachium rosenbergii* активность трипсина также обнаружена на всех личиночных стадиях. Максимальная активность протеиназ наблюдается на 4-5-й стадии зоэа для первого вида и на 5-6-й – для второго, что совпадает с быстрым увеличением объема гепатопанкреаса и формированием фильтрационного аппарата (Kamarudin et al., 1994; Kumlu, Jones, 1995 a). При исследовании динамики ферментативной активности в процессе онтогенеза креветок *Penaeus monodon*, *P. schmitti*, *P. indicus*, *P. notialis* показано, что изменение активности протеиназ совпадает с изменением состава их пищи в зависимости от стадии индивидуального развития (Fang, Lee, 1992; Kumlu, Jones, 1995a; Jones, et al., 1997).

При изучении протеолитической активности в целом организме ряда видов пресноводных гидробионтов, относящихся к типам Mollusca, Annelida и Arthropoda, при pH 7.4 было показано, что она в 5-15 раз ниже таковой слизистой оболочки кишечника рыб. Заслуживает внимания тот факт, что у представителей бентоса уровень активности протеаз, гидро-

Таблица 4.7. Характеристика протеаз у некоторых потенциальных объектов питания рыб, относящихся по типу питания к группе типичных и факультативных бенто- и планктофагов (по: Скворцова, 2002, с дополнениями)

Классификация фермента	Название	Источник фермента	ММ, кДа	Оптимум pH	Источник данных
		Карбоксипептидазы			
3.4.12.2	Карбокси-пептидаза А	Речной рак <i>Osapestes virilis</i> , ЖС	-	6.0	De Villez, 1965
3.4.12.3	Карбокси-пептидаза В	Речной рак <i>Osapestes virilis</i> , ЖС	-	7.0	De Villez, 1965
		Сериновые протеиназы			
3.4.21.-	Протеаза кортикальных гранул	Морской еж <i>Strongylocentrotus purpuratus</i> , яйца	47 (22.5)	8.0	Антонов, 1983
	Сериновая коллагено-литическая протеаза	Зеленый краб <i>Carcinus maenas</i> , ГП	23	7.0	Roy et al., 1996
	Щелочная сериновая протеаза, активируемая цинком	Норвежский омар <i>Nephrops norvegicus</i>	42.5	8.2	Zotos, Taylor, 1996
	Химотрипсино- подобные протеиназы	Гребешок <i>Pecten maximus</i> , ГП	32	8.0-8.5	Le Chevalier et al., 1995
3.4.21.4	Трипсин	Морская звезда <i>Dermasteris imbricata</i>	23.6	8.0-8.5	Антонов, 1983
	Трипсин	Морская звезда <i>Pisaster brevispinus</i>	25-26	8.2	Gilliam, Kitto, 1976
	Трипсин	Рачок <i>Libinia sp.</i> , ГП+К	-	8.3	De Villez, Buschlen, 1967
	Трипсин	Боклопав <i>Synurella sp.</i> , ГП+К	-	8.0	De Villez, Buschlen, 1967
	Трипсин	Краб <i>Cancer sp.</i> , ЖС	-	8.3	De Villez, Buschlen, 1967
	Анионный трипсин А В С D	Лангуст <i>Procambarus clarkii</i> , ГП	23.8 27.9 24.8 31.4	-	Kim et al., 1992
	Трипсинопо-добные протеиназы	Морской желудь <i>Balanus nubilus</i> , ПС	-	6.4	De Villez, 1975
	Трипсинопо-добные протеиназы	Креветка <i>Pencils setiferus</i> , ГП	24	7.5	Gates, Trevis, 1969

Окончание табл. 4.7

Классификация фермента	Название	Источник фермента	ММ, кДа	Оптимум pH	Источник данных
	Трипсиноло-добные протеиназы	Речной рак <i>Oreopetes vilis</i> , ЖС	12	1)6.0 2)7.5-8.5	De Villez, 1965
	Трипсиноло-добные протеиназы	Краб <i>Eriochel japonicus</i>	29	1)5.8 2)6.3 3)7.0 4)7.5	Muramatsu, Morita, 1981
	Трипсиноло-добные протеиназы	Американский речной рак <i>Cambarus affinis</i>	12	8.0	Keene, Spangeberg, 1974, цит. по Muramatsu, Morita, 1981
3.4.21.16	Протеиназа	Альтернативная <i>Alternaria tenuissima</i>	24	8.0-10.0	Jonsson, 1969, цит. по Антонов, 1983
3.4.21.32	Коллагено-литическая протеиназа	Краб <i>Uca rugilator</i>	25.5	8.0	Eisenet et., 1973, цит. по Антонов, 1983
Тиоловые (цистеиновые) протеиназы					
3.4.22.-	Цистеиновая протеиназа	Кальмар <i>Onchasterphes barttrami</i> , ГП	24	5.0	Sakamoto et al., 1995
	Zn-тиоловая протеаза	Норвежский омар <i>Nephrops norvegicus</i>	22.5	6.7-8.2	Zotos, Taylor, 1996
	Тиоловая протеаза	Норвежский омар <i>Nephrops norvegicus</i>	45	6.7-8.2	Zotos, Taylor, 1996
3.4.22.17	Ca ²⁺ -активируемая протеиназа	Морской еж, <i>Strongylocentrotus droebachiensis</i>	123	-	Мухин, 1998
Карбоксильные протеиназы					
3.4.23.5	Катепсин D	Камчатский краб, <i>Paralithodes camtschatica</i>	42	3.5	Мухин, 1998
	Катепсин D	Исландский гребешок, <i>Chlamys islandica</i>	66	-	Мухин, 1998

Примечание. ММ - молекулярная масса, ЖС - желудочный сок, ПС - пищеварительный сок, К - кишечник, ГП - гепатопанкреас.

лизующих белки, значительно ниже, чем у представителей зоопланктона – относительно высокая активность протеаз выявлена лишь у олигохет и личинок хирономид (Кузьмина, Перевозчикова, 1989; Кузьмина, 1990). У циклопа *Cyclops sternuus*, поденок (отр. Ephemeroptera) и ручейника *Limnophylus flavicornus* обнаружен высокий уровень активности как щелочных, так и кислых протеиназ (Dabrowski, Glogowski, 1977 a,b). При оценке роли экзогенных протеиназ и гликозидаз с учетом спектра питания и доли каждого вида жертвы в рационе рыб (на примере леща *Abramis brama* и синца *A. ballerus*, обитающих в водохранилищах Волжского каскада) было показано, что организмы входящие в состав кормовой базы планкто- и бентофагов из естественных экосистем, обладают значительной активностью ферментов. При этом активность ферментов в тканях кормовых объектов из разных водоемов при pH 5.0, 7.4 и 8.3 может составлять от 28 до 72% активности химуса леща в случае гликозидаз и от 20 до 50% в случае щелочных протеиназ. У синца эти значения при тех же значениях pH составляют лишь 15 – 25% для ферментов обеих цепей (Кузьмина и др., 1999). При исследовании ферментов в сыром экстракте из мышц и гепатопанкреаса пресноводной креветки *Macrobrachium rosenbergii* выявлена высокая активность протеаз по гемоглобину и казеину – при pH 5.0 и температуре 50°C, а также pH 7.0 и температуре 60°C соответственно. Важно отметить, что в сыром экстракте из мышц активность была обусловлена главным образом кальпаином и катепсином L, а в гепатопанкреасе – в основном трипсином и химотрипсином (Sriket et al., 2011).

Влияние физико-химических факторов на активность протеаз объектов питания рыб. Хорошо известно, что на активность ферментов объектов питания рыб значительное влияние оказывают pH, температура и другие факторы среды. Диапазон оптимальных значений pH протеаз у объектов питания рыб достаточно широк – от 3.5 до 10.0. Однако оптимум pH большинства ферментов бенто- и планктофагов находится в зоне 7.0–8.5, соответствующим значениям, наиболее характерным для энтеральной среды рыб, входящих по типу питания в эти экологические группы. Показано, что у креветок *Penaeus vannamei* химотрипсин из гепатопанкреаса имеет оптимум при pH 8.0 (Hernandez-Cortes et al., 1997). При исследовании протеолитической активности экстрактов желудка и гепатопанкреаса европейского омара *Homarus gammarus* выявлено два оптимума pH – 2.3 и 5.8 (Glass, Stark, 1994).

У моллюска зеленое ушко *Haliotis fulgens* максимальная протеолитическая активность экстракта гепатопанкреаса выявлена при pH 8.0 и температуре 60°C (Hernandez-Santoyo et al., 1998). Однако, согласно данным других авторов, у этих же видов моллюсков оптимум pH протеиназ гепатопанкреаса и слизистой желудка равен 5.7, переднего отдела кишечника – 6.0, заднего отдела кишечника – 6.4. При этом активность трипсина

обнаружена только в переднем и заднем отделах кишечника, а оптимум pH в первом случае соответствовал 7.5, во втором – 9.0 (Serviere-Zaragoza et al., 1997). У ювенильных особей этого вида протеолитическая активность наиболее высока в гепатопанкреасе, причем максимальная активность при использовании в качестве субстрата азо-казеина и гемоглобина наблюдается при кислых значениях pH (Picos-Garcia et al., 2000). При исследовании катепсинов В, Н и L из гепатопанкреаса карпа *Cyprinus carpio* получена аналогичная закономерность. При температуре 40°C максимальная активность протеиназ наблюдается при pH 6.0, при температуре 45°C – при pH 6.5–7.0, при температуре 50°C – при pH 6.5 (Aranishi et al., 1997a,b).

Температурный оптимум трипсиноподобных протеиназ рака-отшельника *Pagurus bernhardus* и краба-отшельника *Clibanarius striolatus* составляет 50°C (Dittrich, 1992 а), эвритермного коричневого краба *Cancer pagurus* – 45°C, стенотермного антарктического южногеоргианского щуковидного узконоса *Chorismus antarcticus* – 40°C (Dittrich, 1990). Температурный оптимум протеиназы китайской белой креветки *Penaeus orientalis* при гидролизе казеина соответствует 70°C (Oh et al., 2000), трипсина флоридского рака *Procambarus clarkii* составляет 60°C (Kim et al., 1994), трипсина крабов-плавунцов *Callinectes bellicosus* и *C. arcuatus* – 55°C (Diaz-Tenorio et al., 2006). У личинок комаров *Chaoborus sp.* температурный оптимум трипсиноподобных протеиназ находится при 50°C, у олигохет *Tubifex tubifex* и личинок хирономид *Chironomus plumosus* – при 60°C (Кузьмина, 1999).

Значения температурного оптимума химотрипсина, как правило, ниже таковых трипсина: у крабов-плавунцов *Callinectes bellicosus* и *C. arcuatus* (Diaz-Tenorio et al., 2006), а также гребешка *Pecten maximus* соответствуют 50–55°C (Le Chevalier et al., 1995). У тихоокеанской коричневой креветки *Penaeus californiensis* и криля *Euphausia superba* величина температурного оптимума протеиназ пищеварительного тракта равна 50°C (Vega-Villasante et al., 1995; Yoshitomi, 2005). Температурный оптимум катепсина В из гепатопанкреаса карпа *Cyprinus carpio* соответствует 45°C (Aranishi et al., 1997 а). Оптимум температуры катепсина D карпа *Cyprinus carpio* и мозамбикской тилапии *Tilapia mossambica* соответствует 50°C (Doke et al., 1980). Температурный оптимум катепсина D у беспозвоночных варьирует от 35°C у тихоокеанского кальмара *Todarodes pacificus* (Sakai et al., 1981), до 60°C у мидии *Mytilus edulis* (Okada, Aikawa, 1986). Протеиназы мышц анчоуса *Engraulis japonica*, подобные катепсину L, имеют оптимум температуры 50°C (Heu et al., 1997), а температурный оптимум катепсина L из мышц американского стрелозубого палтуса *Atheresthes stomias* – 60°C (Visessanguan et al., 2003).

Важно отметить, что температурные характеристики протеиназ во всех тканях рыб могут значительно варьировать не только из-за видовых

особенностей структуры одноименных ферментов, но и из-за разного соотношения количества различных протеиназ. Ниже приведены результаты исследования влияния температуры на активность казеинлитических и гемоглобинлитических протеиназ всех тканей у потенциальных объектов питания ихтиофагов Рыбинского водохранилища, подтверждающие существование видовых различий (рис. 4.1).

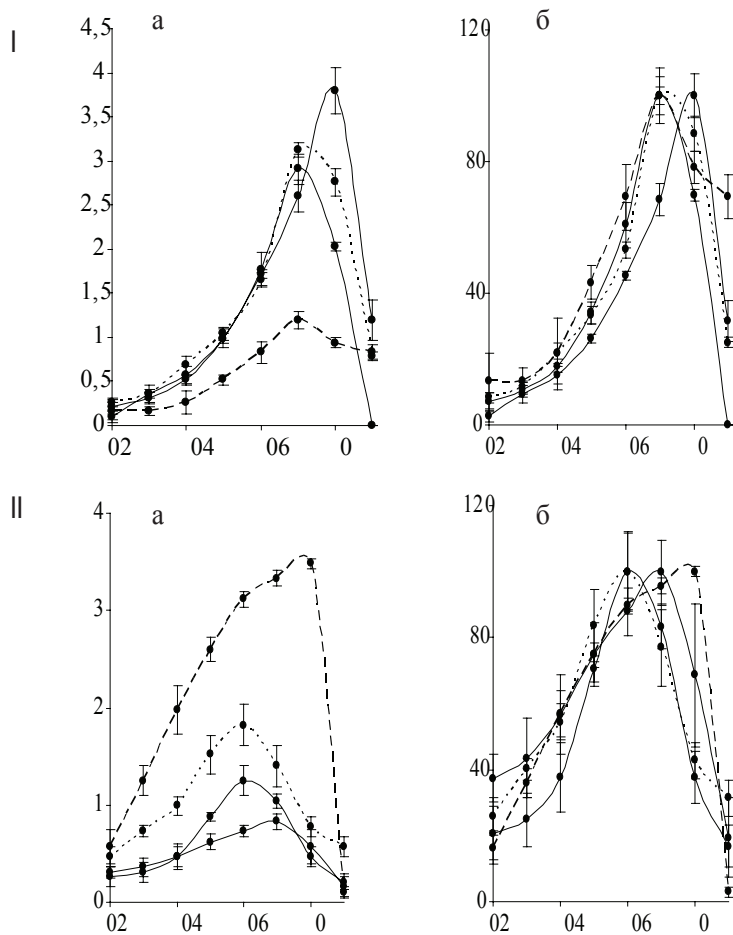


Рис. 4.1. Влияние температуры на активность казеинлитических (I)

и гемоглобинлитических (II) протеиназ всех тканей объектов питания ихтиофагов (по: Шалыгин, 2013)

Обозначения: по оси абсцисс – температура °C; по оси ординат: на а – абсолютные значения активности, мкмоль/(г·мин), на б – относительная активность, % максимальной активности, принятой за 100.

Окунь (—●—), молодь рыб сем. карповых (---●---), тюлька (- - ● - -), стерлядь (—○—)

Влияние состава пищи на активность протеаз объектов питания рыб. В ряде работ доказана зависимость уровня активности ферментов в пищеварительном тракте потенциальных объектов питания рыб от состава их пищи. Наиболее интересные результаты получены при исследовании беспозвоночных. Так, для личинок головоногих моллюсков, принадлежащих к сем. Octopodidae, Bolitaenidae, Ommastrephidae и Euploteuthidae, потребляющих плотоядную пищу, характерен высокий уровень протеолитической активности (Bouscud-Camou, Roper, 1995). У личинок креветок *Penaeus monodon* и веслоногих рачков *Temoralongi cornis*, питающихся естественной пищей, активность трипсина выше, чем у животных, потребляющих микрокапсулированную пищу, а добавление водорослей значительно повышает ферментативную активность (Kumlu et al., 1992; Kumlu, 1997). Изучение личинок креветок *P. Indicus* также показало, что добавление водорослей в капсулированную пищу на протозоальной травоядной стадии способствует увеличению активности трипсина. Однако добавление к рациону креветок на плотоядной мизической стадии науплиусов рачков *Artemia* приводит к снижению активности трипсина (Kumlu, Jones, 1995b).

Пища, содержащая казеин и муку из кальмаров, стимулирует активность трипсина и химотрипсина у креветки *Penaeus vannamei*, при кормлении креветок пищей, содержащей желатин, отмечена наиболее низкая активность (Le Moullac et al., 1994, 1996). При исследовании креветок *P. indicus*, находящихся на различных этапах онтогенетического развития, наиболее значительное увеличение активности трипсина при повышении в составе пищи белка выявлено у постличинок (Sridhar et al., 1995). Активность трипсина у личинок креветок *P. japonicus*, питающихся водорослями *Chaetoceros gracilis*, в 6 раз выше, чем у личинок, питающихся науплиусами рачков *Artemia sp.*, что авторы связывают с более низким (7%) содержанием белка в водорослях. У личинок, питающихся смешанным кормом, активность трипсина занимает промежуточное положение, однако рост и развитие наиболее интенсивны у последней группы личинок. При этом активность трипсина в большей степени зависит от режима питания, чем активность амилазы. Полученные результаты позволили авторам сделать вывод о том, что потребление водорослей необходимо для более эффективной ассимиляции зоопланктона (Rodriguez et al., 1994).

Вместе с тем при изучении зависимости уровня трипсиноподобной активности от типа питания у планктонных личинок ряда видов ракообразных выявлена парадоксальная закономерность. Так, для личинок хищных омаров *Homarus gammarus* и *Nephrops norvegicus* характерен наименьший уровень активности трипсиноподобных ферментов, для всеядных крабов *Carcinus maenas* – промежуточный, для растительноядных ракообразных *Centropages typicus* и *Temoralongi cornis* – самый высокий. Авторы объясняют высокий уровень протеолитической активности

растительной пищи планктонных личинок ракообразных тем, что им необходимо извлекать питательные вещества из трудно перевариваемых морских водорослей и макрочастиц, тогда как плотоядные личинки, находящиеся на более высоких трофических уровнях, питаются легкоусвояемой пищей, для переваривания которой не требуется столь высокой ферментативной активности (Kumlu, Jones, 1997). Активность протеиназ, выявленная у рачкового зоопланктона, в значительной мере совпадает с суточным ритмом питания (Bamstedt, 1984).

Гликозидазы объектов питания рыб. При сопоставлении активности гликозидаз (α-амилазы, глюкоамилазы и ферментов группы мальтаз) в слизистой оболочке кишечника рыб, относящихся к группе планкто- и бентофагов, а также в организме беспозвоночных было показано, что в расчете на 1 г сырой массы ткани активность одноименных гликозидаз сопоставима (Кузьмина и др., 2004; Голованова, 2006). Исследование рыб сем. Cyprinidae показало, что амилазная активность в целом организме молоди (при расчете на всю массу пищевого комка) в 10-100 раз выше, чем в слизистой оболочке желудка и кишечника ихтиофагов (Голованова, 2006). Однако для личинок головоногих моллюсков, принадлежащих к сем. Octopodidae, Bolitaenidae, Ommastrephidae и Enoploteuthidae, питающихся плотоядной пищей, характерен крайне низкий уровень амилазной активности (Boucaud-Camou, Roper, 1995). Вместе с тем у некоторых видов моллюсков и ракообразных гликозидазы играют более существенную роль в гидролизе углеводов. Так, активность α-амилазы обнаружена у брюхоногого моллюска зеленое ушко *Halotis fulgens* (Serviere-Zaragoza et al., 1997; Perez-Estrada et al., 2011). В железистой части среднего кишечника (гепатопанкреасе) активность α-амилазы выявлена у 40 видов высших раков отр. Decapoda (Van-Wormhoudt et al., 1995a). У омара *Homarus gammarus* в экстрактах желудка и гепатопанкреаса обнаружена активность не только α-амилазы, но и мальтазы (Glass, Stark, 1995). Показано, что пища, содержащая казеин и муку из кальмаров, снижает активность α-амилазы у креветки *P. vannamei* (Le Moullac et al., 1996), а активность амилазы, выявленная у рачкового зоопланктона, в значительной мере совпадает с суточным ритмом приема пищи (Bamstedt, 1984). При исследовании амилазной активности из экстрактов желудка и гепатопанкреаса европейского омара *Homarus gammarus* оптимум pH выявлен в диапазоне 4.5-5.5 (Glass, Stark, 1994).

Таким образом, протеиназы и гликозидазы тканей жертвы могут вносить существенный вклад в процессы аутодеградации, происходящие в пищеварительном тракте бенто- и планктофагов.

Ферменты микроорганизмов объектов питания рыб. Известно, что кроме собственных ферментов объекты питания приносят в процессы деградации полимеров пищи ферменты сопутствующей микрофлоры (Лубянскене и др., 1989; Шивокене, 1989; Кузьмина, Скворцова,

2002). По данным большинства исследований аэробная микробиота кишечника рыб, кожи, жабр и пищи сходна (Кузьмина, Скворцова, 2002). Микробное сообщество объектов питания пресноводных гидробионтов включает аэробные и анаэробные микроорганизмы, относящиеся к разным таксономическим группам, в частности к р.р. *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Micrococcus* и другие (Кузьмина, Скворцова 2002; Austin, 2006; Извекова и др., 2007). Ассоциированная микробиота присутствует в различных органах и тканях рыб, а ее качественные и количественные характеристики часто отражают особенности окружающей среды (Buddington et al., 1997; Кузьмина, 2005; Austin, 2006; Извекова и др., 2007).

Наиболее подробно изучена микробиота органов пищеварения пресноводных двустворчатых моллюсков – перловиц *Unio tumidus*, *U. pictorum*, жемчужницы *Margaritifera margaritifera* и беззубки *Anadonta piscinalis*. Она представлена различными физиологическими группами микроорганизмов. Численность бактерий составляет от $5 \cdot 10^5$ до $5 \cdot 10^{10}$ кл/г, максимальная численность установлена в содержимом кишечника и кристаллического стебелька у беззубок. В период интенсивного питания макроорганизма численность микроорганизмов выше, чем в период зимовки и голодания при высокой температуре. Кишечные бактерии исследованных моллюсков активно продуцируют протеазы и амилазы. Уровень их активности близок таковому микроорганизмов кишечника карпа. Для перловиц характерно наличие в кишечнике микрофлоры, обладающей амилалитической и целлюлазной активностью (Шивокене, 1989).

Микроорганизмы морских беспозвоночных также обладают различными ферментами, способными участвовать в гидролизе пищевых субстратов. В кишечнике пильчатых креветок *Upogebia africana* и *Callinectes sakraussi*, как и у рыб, доминируют бактерии рр. *Vibrio* и *Pseudomonas*, в пищеварительных железах – *Pseudomonas* (Harris et al., 1991), в гепатопанкреасе креветки *Penaeus monodon* – *Vibrio*, причем количество видов этого рода составляет более 90% от общего числа определенных микроорганизмов (Leaño et al., 1998). Бактериями пищеварительного тракта брюхоногого моллюска *Radix peregra* продуцируется хитобиаза (Brendelberger, 1997). Показано, что у представителя северного криля *Meganysiphaea norvegica*, выращенного в аквариумах с антибиотиками, численность сапрофитных и хитинолитических микроорганизмов снижается, а также снижается активность хитиназы, N-ацетил-b-D-глюкозаминидазы, протеазы и ламинариназы. Однако общее количество бактерий остается неизменным. (Donachie et al., 1995). Смешанные культуры бактерий из кишечника морского зайца *Aplysia californica* способны утилизировать целлюлозу, ксилан и целлобиозу, продуцируя ацетат и пропионовую кислоту (Kushmaro, 1995). У креветок *Upogebia africana* и *Callinectes sakraussi* кишеч-

ные бактерии проявляют активность липазы, протеазы, хитиназы и лизоцима, но не проявляется целлюлазная активность (Harris et al., 1991).

Таким образом, потенциальные объекты питания рыб обладают разнообразной симбионтной микрофлорой, продуцирующей различные гидролазы, в том числе специфические. Ферменты симбионтной микрофлоры способны участвовать как в деградации белков, жиров и углеводов, так и в разложении хитина, целлюлозы и других специфических субстратов не только в пищеварительном тракте консументов первого порядка, но и консументов второго и третьего порядка.

4.4. Заключительные замечания

Имеющиеся данные свидетельствуют о достаточно хорошей изученности закономерностей процессов пищеварения у рыб. Особенно подробно исследованы гидролазы, функционирующие в составе слизистой оболочки кишечника у рыб разных видов. При этом у рыб активность ферментов, обеспечивающих деполимеризацию крупных молекул и надмолекулярных агрегаций на порядок ниже, чем у теплокровных позвоночных животных (Ugolev et al., 1983). Ранее высказывалось предположение о том, что относительно низкий уровень пищеварительных гидролаз обусловлен не столько низким уровнем филогенетического развития, сколько особенностями экологии рыб, в частности обитанием в гипогравитационной среде. Однако исключительно большое видовое разнообразие и высокая численность рыб в различных водных экосистемах свидетельствует о достаточно высокой эффективности выработанных в процессе эволюции механизмов начальных этапов ассимиляции пищи (Уголев, Кузьмина, 1993). Как показано в этой главе, большое внимание уделялось влиянию на активность пищеварительных гидролаз рыб различных факторов среды, таких как температура, pH и спектр питания (Barrington, 1957; Kapoor et al., 1975; Fange, Grove, 1979; Уголев, Кузьмина, 1993; Неваленный и др., 2003; Кузьмина, 2005, 2008, 2015).

В последние годы доказано, что существенный вклад в процессы пищеварения рыб вносят ферменты объектов питания (Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, 2005, 2015; Kuz'mina, 2008) и энтеральной микробиоты (Лубянскене и др., 1989; Шивокене, 1989; Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, 2005, 2015). Данные, касающиеся участия ферментов объектов питания в процессах индуцированного аутолиза, опирались на многочисленные сведения о том, что их активность обусловлена наличием лизосомальных гидролаз – пептидаз, гликозидаз, липаз, фосфатаз, имеющих низкий оптимум pH 3.5-5.5 (De Duve, 1963, 1971; De Duve, Wattiaux, 1966; Покровский, Тутельян, 1976; Лизосомы, 1980; Degradative processes, 1980; Панин, Маянская, 1987; Высоцкая, Немова, 2008). Сопоставление ха-

рактеристик одноименных протеаз из разных источников свидетельствует об их значительном сходстве, что обусловлено консервативностью структуры их активного центра (Диксон, Уэбб, 1982). Это обстоятельство способствует включению в процессы пищеварения рыб ферментов, синтезируемых другими организмами, в том числе объектами питания и энтеральной микробиотой.

Важно отметить, что для рыб характерен более широкий спектр пищеварительных гидролаз, чем у большинства высших позвоночных. Это связано с тем, что помимо протеаз и гликозидаз энтеральная микробиота синтезирует специфические ферменты – целлюлазу, хитиназу, N-ацетил-b-D-глюкозаминидазу, ламинариназу и другие (Лубянскене и др., 1989; Шивокене, 1989; Cahill, 1990; Sugita et al., 1997; Buddington et al., 1997; Кузьмина, Скворцова, 2002; Bairagi et al., 2002; Saha et al., 2006; Ghosh et al., 2010; Nayak, 2010; Ganguly, Prasad, 2012; Ray et al., 2012a). При этом высокая активность хитиназы была выявлена не только у выделенных бактерий, но также в желудке и в других отделах пищеварительной системы рыб (Jeuniaux, 1983; Danulat, Kausch, 1984; Beninouna et al., 1986; Mac Donald et al., 1986; Itoi et al., 2006). Поскольку фермент был обнаружен в поджелудочной железе, предполагалось, что эта гидролаза синтезируется в организме исследованных рыб, а не привносится бактериями (Fange et al., 1979). Это предположение было подтверждено наличием активности фермента в развивающейся икре красного пагра *Pagrus major*, которая увеличивается в ходе эмбриогенеза (Kono et al., 1987). Следовательно, источники хитиназы могут быть различными.

Особо следует остановиться на данных, полученных при исследовании активности протеаз и гликозидаз слизистой оболочки, химуса и энтеральной микробиоты у разных видов рыб из Рыбинского и Кучурганского водохранилищ. Впервые было показано, что большая активность протеаз и гликозидаз всех исследованных препаратов, как правило, наблюдается у рыб из Кучурганского водохранилища, расположенного значительно южнее (46°36'00"с.ш., 29°58'00"в.д.) Рыбинского водохранилища (58°22'30"с.ш., 38°25'04"в.д.). Выявленные различия, по всей вероятности, обусловлены разными условиями среды обитания рыб, в том числе разной кормовой базой, различным соотношением объектов питания, а также видовым составом и численностью микробиоты, населяющей пищеварительный тракт рыб, обитающих в различных географических зонах. Так, в период активного питания рыб температура воды в Кучурганском водохранилище близка 25°C (Филипенко, 2005), в Рыбинском – 15°C (Литвинов, Законнова, 2012). И в том, и в другом водоеме доминируют олигохеты, хирономиды и моллюски. Однако их общая численность и биомасса различны. В конце XX – начале XXI в.в. их численность в Кучурганском водохранилище составляла 9514 экз./м², биомасса – 792.5 г/м² (Филипенко, 2005), в Рыбинском водохранилище – 7361 экз./м² и 13.0

г/м² соответственно (Щербина, 2009). При этом в Кучурганском водохранилище хорошо представлены амфиподы: численность – 761 экз./м², биомасса – 5.94 г/м² (Филипенко, 2005). Как подчеркивалось выше, состав пищи влияет не только на уровень активности ферментов, синтезируемых пищеварительной системой рыб, но также на состав и численность энтеральной микробиоты (Шивокене, 1989; Уголев, 1991; Hooper et al., 1998; Buddington, Weiher, 1999; Buddington et al., 2000; Voveriene et al., 2002; Austin, 2006).

Важно отметить, что в Кучурганском водохранилище максимальная активность протеаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты в период активного питания отмечена у бентофага-факультативного ихтиофага солнечного окуня *Lepomis gibbosus*, а минимальная – у ихтиофага судака *Sander lucioperca*. Возможно, выявленные различия объясняются тем, что солнечный окунь, будучи вселенцем, достаточно хорошо адаптирован к условиям Кучурганского водохранилища (Фулга и др., 2012), а популяция судака в последние годы деградирует (Усатый и др., 2009). Наибольшая активность гликозидаз, выявленная у бентофага карася *Carassius auratus* из Кучурганского водохранилища и бентофага плотвы *Rutilus rutilus* из Рыбинского водохранилища. Эти результаты хорошо согласуются с данными, свидетельствующими о том, что более высокая активность гликозидаз наблюдается у рыб, в состав пищи которых входит большее количество углеводных компонентов (Cockson, Bourn, 1972; Кузьмина, 1985; Кузьмина, Гельман, 1998; Hidalgo et al., 1999).

Также следует отметить, что активность протеаз и гликозидаз в целом организме потенциальных объектов питания рыб Кучурганского водохранилища сопоставима с таковой целого организма потенциальных объектов питания рыб Рыбинского водохранилища (Кузьмина, Голованова, 2001; Кузьмина, Скворцова 2003; Кузьмина и др., 2004, Голованова, 2006, Кузьмина, 2008). Активность исследованных гидролаз в целом организме потенциальных объектов питания рыб Кучурганского водохранилища, как правило, близка активности одноименных ферментов слизистой оболочки кишечника рыб-консументов. Значительное сходство этих значений и таковых гидробионтов Рыбинского водохранилища позволяет предположить, что реальная активность протеаз жертвы с учетом массы пищевого комка, как и у рыб Рыбинского водохранилища, может в 5-10, а активность гликозидаз в сотни раз превышать таковую слизистой оболочки желудка консументов (Кузьмина, 2000; Кузьмина, Скворцова 2003; Kuzmina, Golovanova, 2004). Также подтверждены данные о существовании видовых различий в уровне активности гликозидаз в целом организме рыб (Голованова, 2000). Особо следует отметить меньшую активность протеаз и гликозидаз сопутствующей микробиоты потенциальных объектов питания рыб по сравне-

нию с таковой энтеральной микробиоты (Золотарева, 2015). Этот факт подтверждает точку зрения о том, что энтеральная среда более благоприятна для развития бактерий, чем окружающая среда (вода, грунты) и, по-видимому, другие среды организмов гидробионтов (Ganguly, Prasad, 2012).

Таким образом, помимо ферментов, синтезируемых пищеварительной системой рыб, в их пищеварительном тракте функционируют ферменты объектов питания и микроорганизмов, обитающих главным образом в содержимом кишечника. Помимо гидролаз, характерных для пищеварительного тракта рыб, микроорганизмы продуцируют целый ряд специфических ферментов. Уровень активности одноименных ферментов из указанных источников в значительной мере зависит от ряда биотических и абиотических факторов.

ГЛАВА 5

ВЛИЯНИЕ pH НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ, ФУНКЦИОНИРУЮЩИХ В КИШЕЧНИКЕ РЫБ ИЗ ВОДОЕМОВ, РАСПОЛОЖЕННЫХ В РАЗНЫХ ГЕОГРАФИЧЕСКИХ ЗОНАХ, В ШИРОКОМ ДИАПАЗОНЕ ЗНАЧЕНИЙ pH

Сведения о влиянии условий среды обитания на pH-зависимость гидролаз, функционирующих в кишечнике рыб из водоемов, расположенных в разных географических зонах, появились лишь недавно (Kuz'mina et al., 2011; Кузьмина и др., 2013, 2014, 2015; Золотарева и др., 2014, 2015; Золотарева, 2015). Также до последнего времени не было сведений о pH-зависимости гидролаз потенциальных объектов питания рыб и их сопутствующей микробиоты (Кузьмина и др., 2015; Золотарева, 2015). Вместе с тем исследование этой важной характеристики ферментов, функционирующих в кишечнике, может значительно расширить представления о закономерностях процессов пищеварения у рыб, обитающих в разных водоемах и водотоках. Помимо этого сопоставление pH-зависимости гидролаз энтеральной микробиоты, потенциальных объектов питания и сопутствующей микробиоты будет способствовать оценке их вклада в процессы пищеварения у рыб при разных значениях pH. Для решения этих вопросов в единых методических условиях нами была исследована pH-зависимость гидролаз, функционирующих в кишечнике рыб из Рыбинского и Кучурганского водохранилищ, значительно различающихся по гидрологическим и биологическим показателям.

5.1. Влияние pH на активность протеаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у рыб разных видов из Рыбинского водохранилища

Как известно, большинство видов рыб обитают в водоемах и водотоках, pH в которых колеблется от 6 до 8. В водоемах с pH воды менее 5 выживают лишь немногие виды рыб, в частности окунь (Комов, 1999). Значения pH в пищеварительном тракте рыб колеблются в широком диапазоне значений от 1.6 до 10.5 (Barrington, 1957; Сорвачев, 1982; Кузьмина, Неваленный, 1983; Уголев, Кузьмина, 1993). Если для желудка характерны низкие значения pH, оптимальные для функционирования аспартатных протеиназ (пепсина), то для кишечника – щелочные и нейтральные значения, оптимальные для функционирования сериновых протеиназ (трипсина, химо tripsина). При этом важно отметить, что pH пищеварительного тракта

может изменяться в зависимости от суточных ритмов (Montoya et al., 2010). Поскольку в пище рыб доминируют белковые компоненты (Love, 1970; Шатуновский, 1980), изучение влияния pH на активность протеаз приобретает наибольшее значение (Kuz'mina, Gelman, 1997; Кузьмина, 2005, 2015).

Ниже представлены данные по влиянию pH на активность протеаз, функционирующих в составе слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микрофлоры у рыб, значительно различающихся по характеру питания, из Рыбинского водохранилища (рис. 5.1).

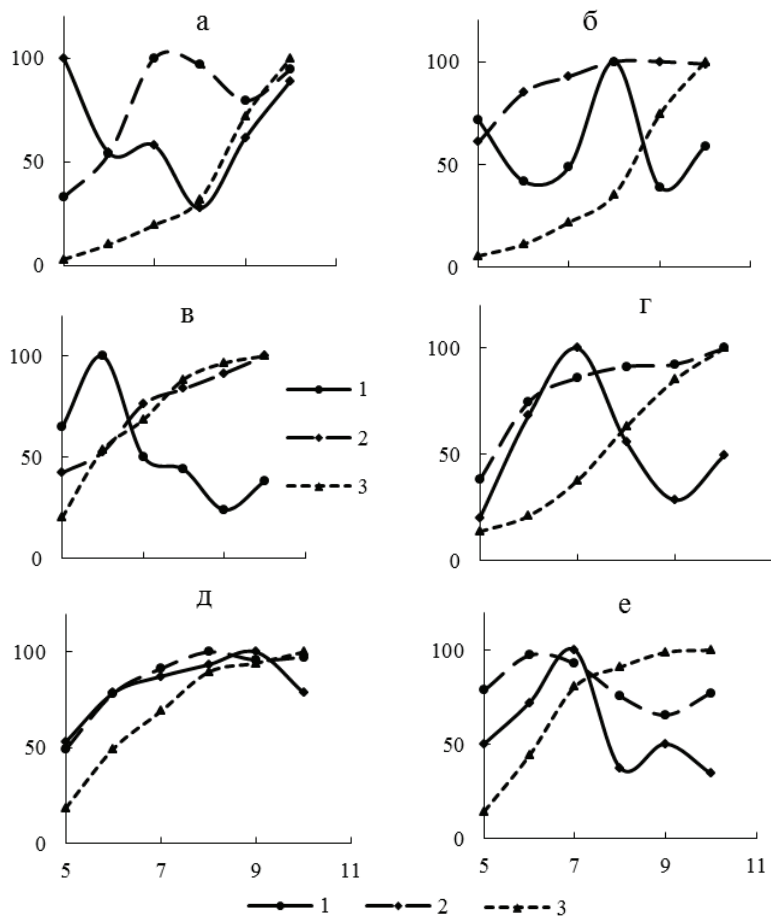


Рис. 5.1. Влияние pH на активность протеаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микрофлоры рыб из Рыбинского водохранилища.

Обозначения: По оси абсцисс – pH. По оси ординат – активность протеаз, % максимальной активности, принятой за 100. 1 – микрофлора, 2 – химус, 3 – слизистая; а, – плотва, б – лещ, в – окунь, г – судак, д – налим, е – щука

Обращает на себя внимание различный характер влияния pH на активность протеаз исследованных препаратов в диапазоне значений 5.0-10.0 у рыб разных видов. При этом оптимум pH протеаз слизистой оболочки у всех видов рыб соответствует 10.0. Оптимум pH ферментов химуса у щуки *Esox lucius* равен 6.0, у плотвы *Rutilus rutilus* – 7.0, у леща *Abramis brama* и налима – 8.0, у окуня *Perca fluviatilis* и судака *Sander lucioperca* – 10.0. Оптимум pH протеаз энтеральной микробиоты у плотвы находится при 5.0, у окуня – при 6.0, у судака и щуки – при 7.0, у леща – при 8.0, у налима – при 9.0. При этом у леща совпадает величина оптимума pH (8.0) активности протеаз энтеральной микробиоты и химуса, а у окуня и судака – слизистой оболочки и химуса (10.0).

Наблюдаемые различия характеристик ферментов приводят к существенным различиям в соотношении активности протеаз слизистой оболочки кишечника, химуса и микробиоты при разных значениях pH (табл. 5.1).

Важно отметить, что величина коэффициентов P_c/P_x в исследованном диапазоне значений pH у большинства видов <1 . При этом у бентофагов наблюдается последовательное увеличение значений P_c/P_x во всем исследованном диапазоне pH, причем максимум превышает минимум в 11.7 и 10.1 раз соответственно. Максимальные величины P_c/P_x у окуня, судака и налима превышают минимальные всего в 2.3, 3.0 и 3.6 раза соответственно. У щуки наблюдаются большие различия между максимальной и минимальной величиной P_c/P_x (в 8 раз). Следует отметить, что у щуки в диапазоне pH от 5.0 до 10.0 значения коэффициента P_c/P_x значительно выше таковых у других исследованных видов рыб.

Таким образом, протеолитическая активность слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у разных видов рыб Рыбинского водохранилища при одних и тех же значениях pH различна. Максимальная активность протеаз слизистой оболочки у всех видов

Таблица 5.1. Коэффициенты P_c/P_x (активность протеаз слизистой/активность протеаз химуса) у рыб разных видов из Рыбинского водохранилища при разных значениях pH

Вид	Значения pH					
	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0
Плотва	0.07	0.14	0.15	0.25	0.70	0.82
Лещ	0.08	0.11	0.20	0.30	0.63	0.86
Окунь	0.35	0.82	0.67	0.76	0.79	0.74
Судак	0.18	0.14	0.21	0.35	0.47	0.51
Налим	0.47	0.79	0.95	1.13	1.39	1.34
Щука	0.44	1.04	2.17	2.84	3.59	3.05

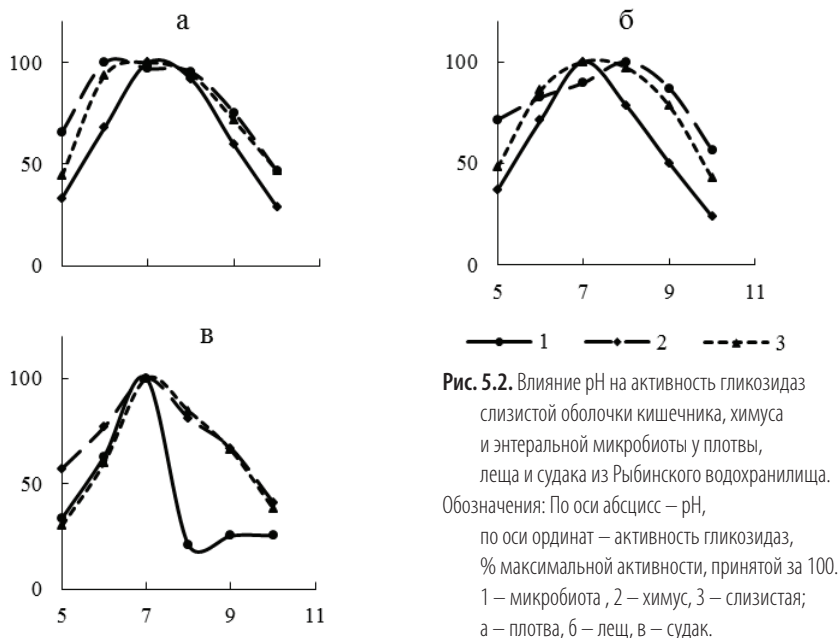
рыб соответствует 10.0, ферментов химуса так же, как правило, наблюдается при pH 10.0, энтеральной микробиоты – в диапазоне pH от 5.0 до 8.0.

5.2. Влияние pH на активность гликозидаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у рыб разных видов из Рыбинского водохранилища

Известно, что большинство гликозидаз в кишечнике рыб, независимо от типа питания, имеют оптимум pH 6.0-9.0 (Nagase, 1964; Уголев, Кузьмина, 1993; Ugwumba, 1993; Fernandez et al., 2001). Оптимум pH α -амилазы и мальтазы, функционирующих в кишечнике, еще уже и выявляется при pH 7.0-8.0 (Nagase, 1964, Кузьмина, 1986; Кузьмина, Неваленый, 1983; Munilla-Moran, Saborido-Rey, 1996 b; Alarcon et al., 2001; Fernandez et al., 2001; Неваленый и др., 2011). Однако у красного пагеля *Pagellus erythrinus* и морского карася *Diplodus annularis* отмечено два оптимума pH активности α -амилазы – при 7.0 и 9.0, а также 6.0 и 9.0 соответственно, что по мнению автора это указывает на существование изоферментов (Fernandez et al., 2001). У большинства видов рыб при pH 5.0 наблюдается резкое снижение амилолитической активности (Кузьмина, Неваленый, 1983; Fernandez et al., 2001; Alarcon et al., 2001, Munilla-Moran, Saborido-Rey, 1996 b). Вместе с тем при исследовании pH-функции α -амилазы у ихтиофага тунца *Thunnus orientalis* значения pH, близкие оптимальным, выявлены в зоне 7.0-9.0, причем в зоне pH 3.0-5.0 сохранялось до 60% от максимальной активности (Parra et al., 2007), а оптимум pH амилазы у морского окуня *Sebastes metella* находится при 4.5-5.0 (Munilla-Moran, Saborido-Rey, 1996 b).

Важно отметить, что различия в величине оптимума pH могут быть обусловлены как видовыми особенностями рыб, так и особенностями используемых методик. Так, при сопоставлении характеристик α -амилазы, функционирующей в различных средах, было установлено, что применение буферных растворов искажает характер pH-зависимости фермента. Так, фосфатный буфер вызывает смещение оптимум pH влево и сужает зону оптимальных значений. У большинства из 9 исследованных видов рыб оптимум pH α -амилазы при использовании фосфатного буфера находится в зоне 6.5-7.0, раствора Рингера – в зоне pH 7.0-8.0, причем при pH 6.0 и 9.0 сохраняется до 50% ферментативной активности (Кузьмина, Неваленый, 1983).

Ниже представлены данные по влиянию pH на активность гликозидаз, расщепляющих углеводные компоненты пищи рыб и функционирующих в составе слизистой оболочки кишечника, химуса, а также энтеральной микробиоты у некоторых видов рыб из Рыбинского водохранилища (рис. 5.2).



Обращает на себя внимание достаточное сходство pH-функции ферментов в случае слизистой и существенные различия в случае химуса у рыб разных видов. Оптимум pH ферментов слизистой у всех видов находится при pH 7.0, химуса – колеблется от pH 6.0 у плотвы *Rutilus rutilus* до 8.0 у леща *Abramis brama*. При этом у всех видов рыб ферментативная активность слизистой при pH 5.0 ниже по сравнению с таковой химуса, в зоне pH 6.0-9.0 в большинстве случаев близка. При этом у судака *Sander lucioperca* зона высоких значений ферментативной активности слизистой и химуса уже, чем таковая у леща и плотвы.

Различия pH-функции ферментов слизистой оболочки и химуса приводят к существенным различиям в соотношении их ферментативной активности при разных значениях pH (табл. 5.2).

Таблица 5.2. Коэффициенты $\Gamma_{\text{с}}/\Gamma_{\text{х}}$ (активность гликозидаз слизистой/активность гликозидаз химуса) у рыб разных видов из Рыбинского водохранилища при разных значениях pH

Вид	Значения pH					
	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0
Плотва	0.61	0.85	0.93	0.89	0.86	0.91
Лещ	0.52	0.81	0.86	0.75	0.69	0.58
Судак	0.45	0.67	0.87	0.89	0.88	0.80

Как показывает эта таблица, величины коэффициентов Γ_{ζ}/Γ_x в исследованном диапазоне значений pH варьируют в меньшей степени по сравнению с таковыми протеаз. При этом у бентофагов, особенно у плотвы, в зоне низких значений pH, величина Γ_{ζ}/Γ_x выше, чем у ихтиофага судака. Максимальные величины Γ_{ζ}/Γ_x у плотвы, леща и судака превышают минимальные в 1.5, 1.7 и 2.0 раза соответственно.

Оптимум pH гликозидаз энтеральной микробиоты у рыб разных видов находится при pH 7.0. Сопоставление активности гликозидаз энтеральной микробиоты при различных значениях pH у рыб разных видов показало, что у плотвы, леща и судака при pH 5.0 выявляется 33, 37 и 34%, при pH 10 – 29, 24 и 25% от максимальной активности соответственно. Важно отметить, что, независимо от типа питания, у всех видов рыб при этих значениях pH активность составляет приблизительно 1/3 -1/4 от максимальной активности при pH 7.0.

Таким образом, активность гликозидаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у рыб Рыбинского водохранилища, относящихся по типу питания к разным экологическим группам, при одних и тех же значениях pH различна. Максимальная активность гликозидаз слизистой оболочки кишечника и энтеральной микробиоты у всех исследованных видов рыб наблюдается при pH 7.0, максимальная активность ферментов химуса – при разных значениях pH (6.0 у леща, 7.0 у судака, 8.0 у плотвы).

5.3. Влияние pH на активность протеаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у рыб из Кучурганского водохранилища

Данные по влиянию pH на активность протеаз, функционирующих в составе слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у рыб из Кучурганского водохранилища так же значительно различаются, как у рыб из Рыбинского водохранилища (рис. 5.3).

Как показывают рисунки, оптимум pH протеаз слизистой оболочки кишечника и химуса у всех видов, как и у рыб Рыбинского водохранилища, соответствует 10.0. Оптимум pH ферментов химуса у большинства видов рыб равен 10.0, у окуня соответствует 7.0. Однако при pH 10.0 уровень ферментативной активности у рыб этого вида составляет 93% от максимальной активности. Оптимум pH энтеральной микробиоты у карпа находится при pH 6.0, у окуня – при 7.0, у судака – при 8.0, у солнечного окуня – при 9.0, у карася и леща – при 10.0. Важно отметить, что у карася, леща и окуня совпадает величина оптимума pH протеаз энтеральной микробиоты и химуса.

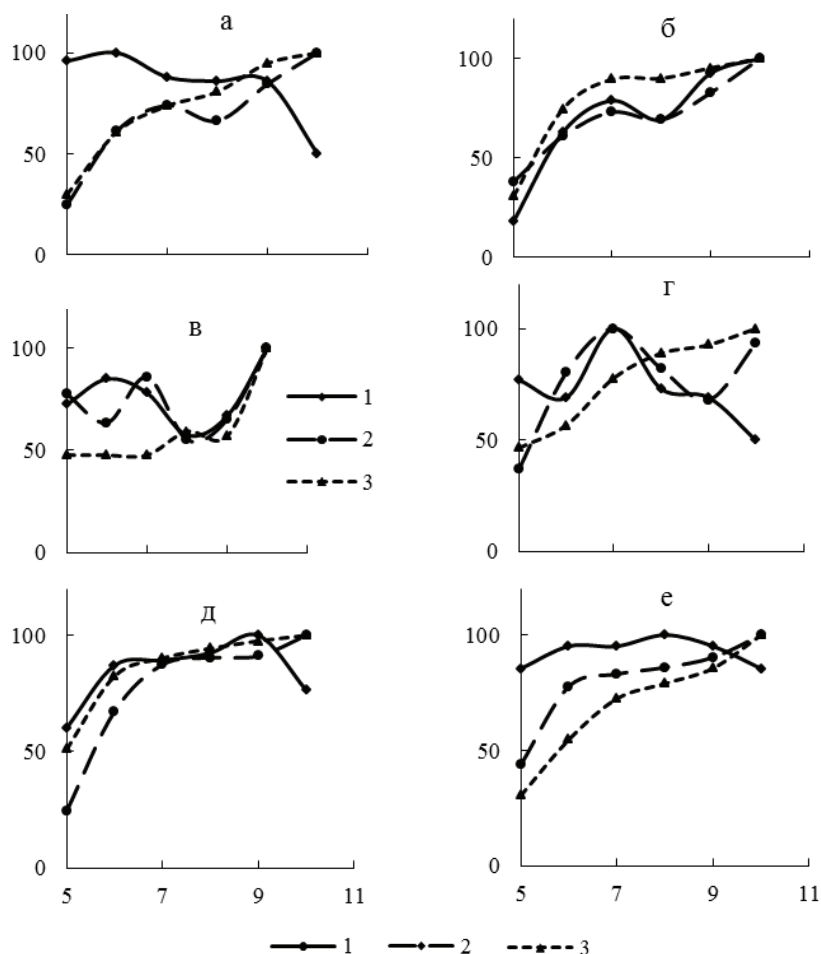


Рис. 5.3. Влияние pH на активность протеаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у типичных бентофагов и факультативных и типичных ихтиофагов из Кучурганского водохранилища.

Обозначения: По оси абсцисс – pH, по оси ординат – активность протеаз, % максимальной активности, принятой за 100. 1 – микробиота, 2 – химус, 3 – слизистая; а, – карп, б – карась; в – лещ, г – окунь, д – солнечный окунь; е – судак

Различия в степени влияния pH на активность протеаз слизистой оболочки кишечника и химуса приводят к существенным различиям в соотношении их ферментативной активности при разных значениях pH (табл. 5.3).

Таблица 5.3. Коэффициенты P_c/P_x (активность протеаз слизистой/активность протеаз химуса) у рыб разных видов из Кучурганского водохранилища при разных значениях pH

Вид	Значения pH					
	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0
Карп	0.95	0.78	0.78	0.96	0.88	0.78
Карась	0.86	1.31	1.31	1.38	1.23	1.06
Лещ	0.55	0.67	0.50	0.96	0.78	0.90
Окунь	0.58	0.40	0.37	0.55	0.63	0.52
Солнечный окунь	1.89	1.11	0.94	0.95	0.97	0.91
Судак	0.61	0.62	0.80	0.80	0.83	0.87

Как показывает эта таблица, максимальные величины коэффициента P_c/P_x наблюдаются у солнечного окуня (1.89) и карася (1.38) что выше минимальных значений в 2.1 и 1.6 раза соответственно. У остальных исследованных видов рыб наблюдаются небольшие различия между максимальной и минимальной величиной P_c/P_x , не превышающие 2 раз. Особо следует отметить, что у судака наблюдается последовательное увеличение P_c/P_x в диапазоне значений pH 5.0-10.0, у солнечного окуня – последовательное уменьшение.

Таким образом, активность протеаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микрофлоры у разных видов рыб Кучурганского водохранилища при одних и тех же значениях pH различна. Максимальная активность протеаз слизистой оболочки у всех видов рыб соответствует 10.0, ферментов химуса так же, как правило, наблюдается при pH 10.0, энтеральной микрофлоры у рыб разных видов варьирует в диапазоне pH от 6.0 до 10.0.

5.4. Влияние pH на активность гликозидаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микрофлоры у рыб из Кучурганского водохранилища

Ниже представлены данные по влиянию pH на активность гликозидаз, расщепляющих углеводные компоненты пищи рыб и функционирующих в составе слизистой оболочки кишечника, химуса, а также энтеральной микрофлоры у некоторых видов рыб из Кучурганского водохранилища (рис. 5.4).

Как показывают эти рисунки, у большинства видов рыб оптимум pH гликозидаз слизистой оболочки кишечника и химуса находится в зоне pH 7.0-8.0. При этом у окуня и солнечного окуня, а также у карпа и карася при pH 5.0 и 6.0 активность гликозидаз близка. У судака зона высо-

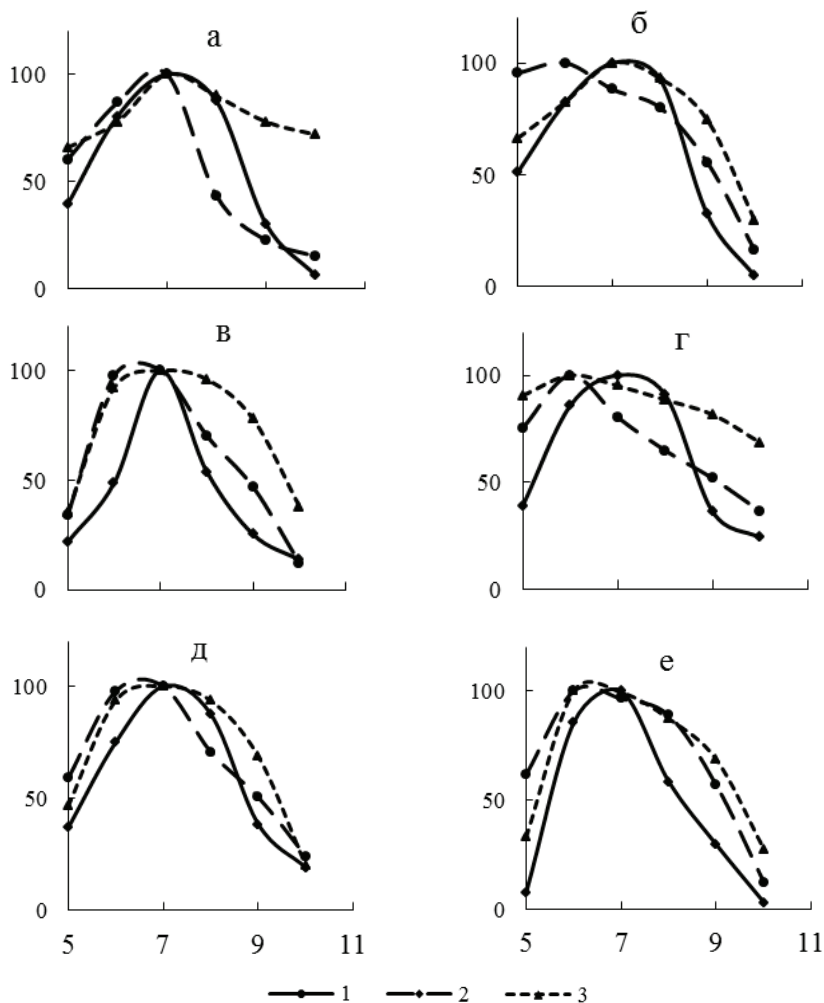


Рис. 5.4. Влияние pH на активность гликозидаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микрофлоры у типичных и факультативных ихтиофагов и бентофагов из Кучурганского водохранилища. Обозначения: По оси абсцисс — pH, по оси ординат — активность гликозидаз, % максимальной активности, принятой за 100. 1 — микрофлора, 2 — химус, 3 — слизистая; а — судак, б — окунь, в — солнечный окунь, г — лещ, д — карп, е — карась

ких значений ферментативной активности слизистой и химуса уже, чем у других видов рыб. Кроме того, обращает на себя внимание достаточное сходство значений оптимума pH ферментов в случае слизистой и химуса у судака, солнечного окуня, карпа и карася (7.0). У леща оптимум pH

гликозидаз слизистой оболочки кишечника и химуса выявлен при pH 6.0. Оптимум pH гликозидаз энтеральной микрофлоры у всех видов рыб находится при pH 7.0. Уровень относительной активности гликозидаз кишечной микрофлоры при pH 5.0 минимален у карася (7.8%), максимален у окуня – 51% максимальной активности. У остальных видов рыб, независимо от типа питания, при pH 5.0 относительная активность гликозидаз составляет приблизительно 1/3-1/4 максимальной активности.

Различия в степени влияния pH на активность гликозидаз слизистой оболочки и химуса приводят к существенным различиям в соотношении их ферментативной активности при разных значениях pH (табл. 5.4).

Данные, представленные в этой таблице, также свидетельствуют о значительной вариабельности величин коэффициентов G_c/G_x при различных pH. В первую очередь обращает на себя внимание значительно более высокие коэффициенты G_c/G_x у судака во всем диапазоне значений pH, особенно в зоне значений 8.0-10.0. Важно отметить, что всех видов рыб в зоне низких значений pH величина G_c/G_x ниже, чем в зоне высоких значений pH. Максимальные величины G_c/G_x у карпа, леща, окуня, солнечного окуня, карася, и судака превышают минимальные в 1.7, 1.9, 2.6, 3.3, 4.1 и 5.4 раза соответственно.

Таким образом, у рыб из Кучурганского водохранилища, относящихся по типу питания к разным экологическим группам, активность гликозидаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микрофлоры при одних и тех же значениях pH различна. Максимальная активность гликозидаз слизистой оболочки кишечника у карася и леща выявлена при pH 6.0, у карпа, окуня, солнечного окуня и судака – при pH 7.0, химуса – при разных значениях pH (6.0 у леща, карася и окуня, 7.0 – у карпа, судака и солнечного окуня). Максимальная активность гликозидаз энтеральной микрофлоры у всех исследованных видов рыб наблюдается при pH 7.0.

Таблица 5.4. Коэффициенты G_c/G_x (активность гликозидаз слизистой/активность гликозидаз химуса) у рыб из Кучурганского водохранилища при разных значениях pH

Вид	Значения pH					
	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0
Карп	0.75	0.91	0.95	1.26	1.29	0.78
Карась	0.62	1.15	1.19	1.13	1.39	2.56
Лещ	0.76	0.64	0.76	0.87	1.01	1.2
Окунь	0.83	0.99	1.35	1.39	1.6	2.18
Солнечный окунь	0.93	0.85	0.90	1.23	1.5	2.8
Судак	3.4	2.8	3.15	6.5	10.8	15.0

5.5. Влияние pH на активность протеаз и гликозидаз потенциальных объектов питания ихтиофагов и их сопутствующей микробиоты

Как подчеркивалось в начале этой главы, сведения о влиянии pH на активность протеаз и гликозидаз потенциальных объектов питания рыб-ихтиофагов и их сопутствующей микробиоты, были получены лишь в последнее время (Кузьмина и др., 2015; Золотарева, 2015)

Влияние pH на активность протеаз потенциальных объектов питания ихтиофагов и их сопутствующей микробиоты. В данном разделе представлены данные по влиянию pH на активность протеаз объектов питания ихтиофагов и их сопутствующей микробиоты из Кучурганского водохранилища (рис. 5.5).

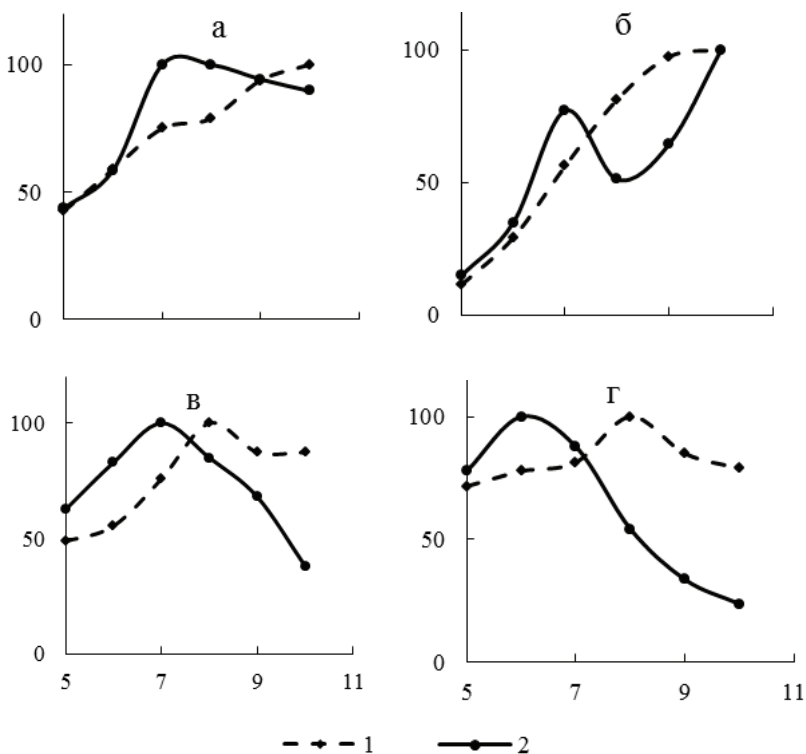


Рис. 5.5. Влияние pH на активность протеаз целого организма рыб и сопутствующей микробиоты.

Обозначения: По оси абсцисс – pH, по оси ординат – активность протеаз,

% максимальной активности, принятой за 100. 1 – целый организм рыб, 2 – микробиота;

а – тарань, б – красноперка, в – ерш, г – бычок

Нетрудно заметить, что активность протеаз рыб – потенциальных объектов питания ихтиофагов и микробиоты, выделенной из их целого организма, при одних и тех же значениях pH, как правило, различна. Оптимум pH протеаз целого организма потенциальных объектов ихтиофагов находится в зоне щелочных значений. Так, оптимум pH действия протеаз у тарани и красноперки находится при 10.0, у бычка и ерша – при 8.0. При этом у всех исследованных видов в зоне pH 8.0-10.0 активность протеаз составляет не менее 80% от максимальной. В зоне низких значений pH (5.0) у тарани, ерша и бычка сохраняется высокая ферментативная активность, составляющая 42.5, 48.7 и 71.7% максимальной активности соответственно. Однако у красноперки в этой зоне активность протеаз не превышает 11% максимальной.

Оптимум pH протеаз сопутствующей микробиоты объектов питания ихтиофагов варьирует в пределах 6.0-10.0. У красноперки оптимум pH активности протеаз совпадает с таковым целого организма рыб этих видов (10.0). У тарани оптимум pH протеаз сопутствующей микробиоты обнаружен при 7.0 и 8.0, у бычка – при pH 6.0, у ерша – при pH 7.0. В зоне pH 10.0 активность протеаз сопутствующей микробиоты у тарани, бычка и ерша уменьшается в 1.1, 2.6, 4.2 раза по сравнению с максимальной активностью соответственно. В зоне низких значений pH (5.0) ферментативная активность у тарани, ерша и бычка составляет 43.7, 62.6 и 77.9%, у красноперки – всего 14.8% от максимальной активности.

Таким образом, активность протеаз в целом организме потенциальных объектов питания ихтиофагов и сопутствующей микробиоты при разных значениях pH варьирует. Оптимум pH действия протеаз в целом организм рыб и сопутствующей микробиоты в случае тарани, бычка и ерша наблюдаются при различных значениях pH, у красноперки совпадает. Оптимум pH активности протеаз целого организма у тарани и красноперки находится при pH 10.0, у бычка и ерша – при pH 8.0.

Оптимум pH активности протеиназ сопутствующей микробиоты у бычка находится при 6.0, у ерша – при 7.0, у тарани – при 7.0 и 8.0, у красноперки – при 10.0. Протеазы целого организма и сопутствующей микробиоты тарани, ерша и бычка могут эффективно деполимеризовать белковые компоненты в зоне кислых значений pH.

Влияние pH на активность гликозидаз потенциальных объектов питания ихтиофагов и их сопутствующей микробиоты. Данные, касающиеся влияния pH на активность гликозидаз объектов питания ихтиофагов и сопутствующей микробиоты представлены на рис. 5.6.

Как показывает рисунок, активность гликозидаз потенциальных объектов питания ихтиофагов и микробиоты, выделенной из целого организма рыб, при одних и тех же значениях pH, как правило, различна. Оптимум pH действия гликозидаз целого организма объектов питания ихтиофагов во всех случаях наблюдается при pH 7.0. В зоне низких зна-

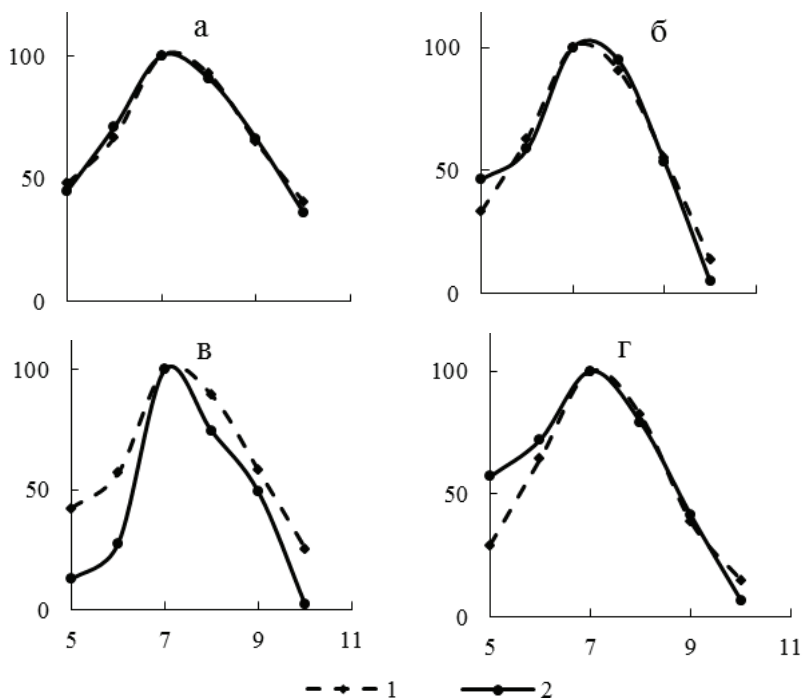


Рис. 5.6. Влияние pH на активность гликозидаз целого организма рыб и сопутствующей микробиоты.

Обозначения: По оси абсцисс – pH, по оси ординат – активность гликозидаз,

% от максимальной активности, принятой за 100. 1 – целый организм рыбы, 2 – микробиота;

а – тарань, б – красноперка, в – ёрш, г – бычок

чений pH (5.0) относительная активность ферментов колеблется от 29% у бычка до 48% у тарани. В зоне высоких значений pH (10.0) относительные величины активности гликозидаз в целом организме рыб колеблются от 15% (бычок) до 41% (тарань).

Оптимум pH гликозидаз сопутствующей микробиоты у разных видов рыб также выявлен при pH 7.0. Активность гликозидаз сопутствующей микробиоты у рыб разных видов при одном и том же значении pH отличается от такового ферментов целого организма рыб. При этом у тарани, красноперки и бычка при pH 5.0 выявляется довольно высокий уровень ферментативной активности – соответственно 44.9, 46.2 и 57%, у ерша – лишь 12.6 % максимальной активности. В зоне высоких значений pH (10.0) только у сопутствующей микробиоты тарани активность сохраняется на высоком уровне – 36.3%, у остальных видов не превышает 10% максимальной активности: у ерша – 1.9, у красноперки – 4.6, у бычка – 6.8% соответственно.

Таким образом, уровень активности гликозидаз в целом организме потенциальных объектов питания ихтиофагов и сопутствующей микробиоты в значительной степени зависит от pH. Максимальные значения активности гликозидаз у всех исследованных видов рыб и сопутствующей микробиоты наблюдаются при pH 7.0, минимальные – при pH 10.0. В зоне кислых значений pH (5.0) сохраняется до 40-50% ферментативной активности. Казеинлитические протеиназы объектов питания ихтиофагов и сопутствующей микробиоты более эффективны при функционировании в кишечнике, чем в желудке рыб.

5.6. Влияние pH на активность протеаз и гликозидаз потенциальных объектов питания бентофагов и их сопутствующей микробиоты

Данные, касающиеся влияния pH на активность протеаз потенциальных объектов питания бентофагов и сопутствующей микробиоты представлены на рис. 5.7. Как показывает рисунок, активность протеаз потенциальных объектов питания бентофагов и сопутствующей микробиоты, при одних и тех же значениях pH значительно варьирует. Максимальные значения активности протеаз у беспозвоночных находятся в зоне значений pH 8.0-9.0. Оптимум pH действия протеаз целого организма у личинок хирономид, бокоплава и олигохет находится при pH 8.0, у зоопланктона – при pH 9.0. В связи с тем, что при использовании в качестве субстрата казеина у дрейссены активность протеаз не выявлена, было исследовано влияние pH на активность протеаз по гемоглобину. Определения показали, что у дрейссены оптимум pH активности гемоглоблилитических протеаз наблюдается при pH 8.0.

При этом в зоне кислых значений pH (5.0) активность протеаз целого организма у всех видов беспозвоночных варьирует в пределах 33-63% максимальной активности, принятой за 100%. При pH 10.0 уровень ферментативной активности в целом организме беспозвоночных различается в большей степени. Так, в пробах зоопланктона и в организме бокоплава активность протеаз близка к максимальной и составляет 96 и 93% соответственно. У олигохет активность протеаз составляет 69%, у личинок хирономид и дрейссены – 33% от максимальной.

Максимальные значения активности протеаз сопутствующей микробиоты беспозвоночных находятся в зоне pH 6.0-10.0. Оптимум pH действия протеаз сопутствующей микробиоты у дрейссены выявлен при pH 6.0, у бокоплава – при pH 7.0, у олигохет – в зоне pH 8.0-9.0, у зоопланктона – при pH 9.0, у личинок хирономид – при pH 10.0. Степень изменения ферментативной активности по сравнению максимальной активностью у сопутствующей микрофлоры беспозвоночных различна в зоне кислых

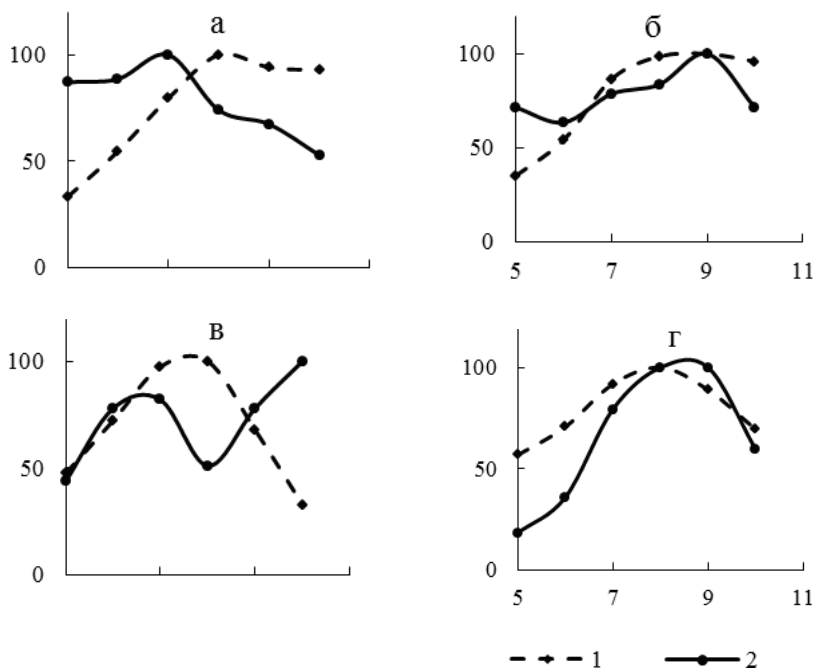


Рис. 5.7. Влияние pH на активность протеаз у некоторых видов беспозвоночных животных и сопутствующей микробиоты.
 Обозначения: По оси абсцисс – pH, по оси ординат – активность протеаз, % максимальной активности, принятой за 100.
 1 – беспозвоночные, 2 – микробиота;
 а – бокоплав, б – зоопланктон, в – личинки хирономид, г – олигохеты, д – дрейссена

и щелочных значений pH. Так, при увеличении pH от 5.0 до оптимальных значений ферментативная активность протеиназ микробиоты дрейссены увеличивается в 1.1, бокоплава – в 1.2, зоопланктона – в 1.4, хирономида – в 2.3, олигохет – в 5.5 раза.

При увеличении pH от оптимальных значений до 10.0 степень изменения ферментативной активности более значительна, за исключением ферментов микробиоты хирономид, у которых при этом значении pH находится оптимум активности протеаз. У микробиоты зоопланктона, олигохет, бокоплава и дрейссены при pH 10.0 ферментативная активность уменьшается в 1.4, 1.7, 1.9 и 7.7 раза соответственно.

Таким образом, активность протеаз объектов питания бентофагов, относящихся к разным таксономическим группам, а также сопутствующей микробиоты зависит от pH. Максимальная активности протеаз целого организма беспозвоночных находится в узком диапазоне значений pH (8.0-9.0). Оптимальные значения протеаз сопутствующей микробиоты колеблются у разных видов беспозвоночных в более широком диапазоне значений pH (6.0-10.0). Протеазы сопутствующей микробиоты дрейсены, зоопланктона, личинок хирономид и бокоплава эффективно функционируют в зоне кислых значений pH.

Влияние pH на активность гликозидаз потенциальных объектов питания бентофагов и сопутствующей микробиоты. Данные, касающиеся влияния pH на активность гликозидаз потенциальных объектов питания бентофагов и сопутствующей микробиоты представлены на рис. 5.8.

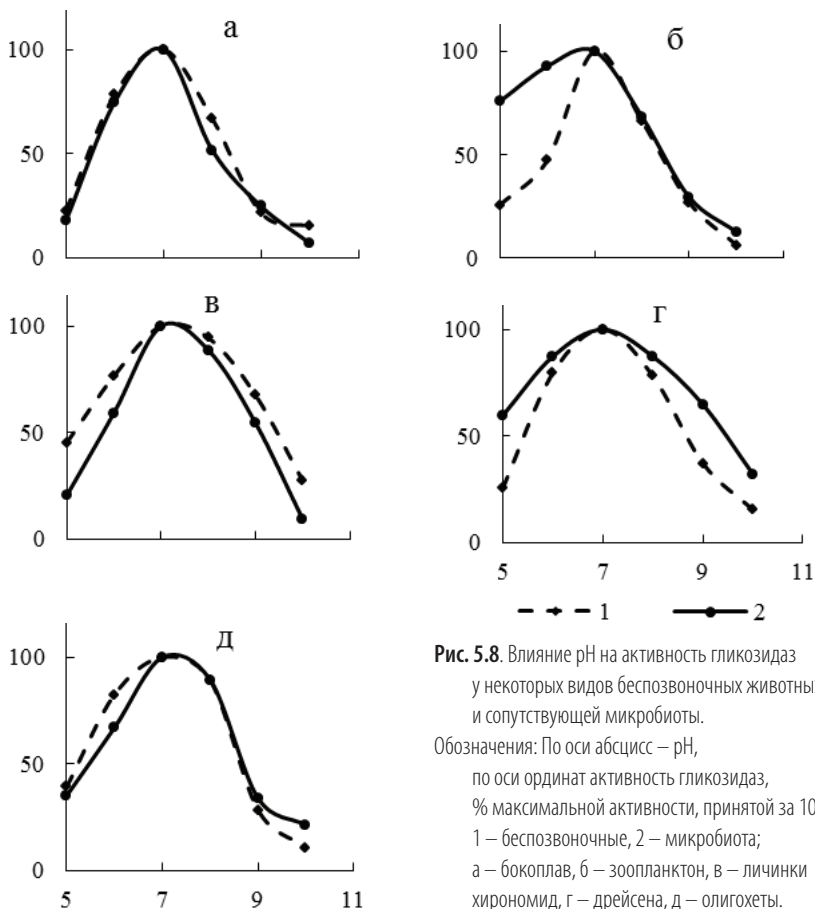


Рис. 5.8. Влияние pH на активность гликозидаз у некоторых видов беспозвоночных животных и сопутствующей микробиоты.

Обозначения: По оси абсцисс – pH, по оси ординат активность гликозидаз, % максимальной активности, принятой за 100. 1 – беспозвоночные, 2 – микробиота; а – бокоплав, б – зоопланктон, в – личинки хирономид, г – дрейсена, д – олигохеты.

Как показывает рисунок, характер pH действия гликозидаз у всех исследуемых видов беспозвоночных и их сопутствующей микробиоты достаточно близок. Максимальный уровень активности гликозидаз отмечен при pH 7.0, минимальный – при pH 10.0. Вместе с тем в зоне низких значений pH, особенно при pH 5.0, наблюдаются видовые различия в уровне активности гликозидаз, как у беспозвоночных, так и у сопутствующей микробиоты. Активность гликозидаз целого организма бокоплава и олигохет при pH 5.0 достоверно не различается, и составляет около 20 и 40% от максимальной активности. При этом же значении pH у представителей рачкового планктона и дрейссены относительная активность ферментов ниже, чем у сопутствующей микрофлоры, у личинок хирономид, напротив, выше. Особо следует отметить исключительно высокий уровень относительной активности гликозидаз у микробиоты рачкового планктона при pH 5.0 – 75% максимальной активности.

Степень изменения ферментативной активности в зоне кислых и щелочных значений pH по сравнению максимальной активностью у разных видов беспозвоночных и их сопутствующей микробиоты различна. Так, при увеличении pH от 5.0 до оптимальных значений ферментативная активность у личинок хирономид увеличивается в 2.2, у олигохет – в 2.6, у представителей зоопланктона и дрейссены – в 3.9, у бокоплава – в 4.2 раза. Активность гликозидаз сопутствующей микробиоты зоопланктона в этом же диапазоне pH увеличивается в 1.3, дрейссены – в 1.7, олигохет – в 2.9, личинок хирономид – в 4.9, бокоплава – в 5.6 раза. При увеличении pH от оптимальных значений до 10.0 степень изменения ферментативной активности еще более значительна: у хирономид ферментативная активность уменьшается в 3.6, у дрейссены – в 6.4, у бокоплава – в 6.6, у олигохет – в 9.3, у зоопланктона – в 16.4 раза. Ферментативная активность сопутствующей микробиоты при этих же значениях pH уменьшается у дрейссены в 3.1, у олигохет – 4.7, у зоопланктона – в 8, у хирономид – в 10.8, у бокоплава – в 14.3 раза. Таким образом активность гликозидаз потенциальных объектов питания планкто- и бентофагов, относящихся к разным таксономическим группам, и сопутствующей микробиоты в значительной степени зависит от pH. Максимальные значения активности гликозидаз у всех исследованных видов беспозвоночных и микробиоты наблюдаются при pH 7.0, минимальные – при pH 10.0. Микробиота дрейссены и, особенно, рачкового планктона может эффективно деполимеризовать полисахариды в зоне кислых значений pH.

5.7. Заключительные замечания

Приведенные результаты свидетельствуют о том, что активность протеаз слизистой оболочки кишечника и химуса у разных видов рыб

из Рыбинского и Кучурганского водохранилищ в зоне pH от 5.0 до 10.0 значительно варьирует. Наибольшую активность протеазы слизистой оболочки кишечника у разных видов рыб из обоих водохранилищ проявляют в зоне pH 10.0. Максимальная активность протеаз химуса наблюдается в более широком диапазоне значений pH. В связи с этим, необходимо подчеркнуть, что в полости кишечника функционируют ферменты, синтезируемые не только поджелудочной железой и энтероцитами, но также объектами питания (Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, 2000, 2005; Kuz'mina, 2008) и энтеральной микробиотой (Лубянскене и др., 1989; Шивокене, 1989; Sugita et al., 1997; Кузьмина, Скворцова, 2002; Кузьмина, 2005; Nayak, 2010; Ganguly, Prasad, 2012). При этом полостное пищеварение у большинства исследованных рыб играет большую роль на начальных этапах гидролиза белковых компонентов пищи, чем мембранное. Этот факт имеет принципиальное значение, поскольку ранее при исследовании закономерностей гидролиза углеводных компонентов пищи в полости и зоне щеточной каймы энтероцитов было показано, что летом, в период интенсивного питания, лишь у планкто- и бентофагов активность гликозидаз в полости кишечника выше, чем в слизистой, в то время как у ихтиофагов уровень ферментативной активности был близок (Уголев, Кузьмина, 1993). Также важно подчеркнуть различие pH-зависимых характеристик протеиназ слизистой оболочки кишечника и химуса и особенно энтеральной микробиоты у всех исследованных видов рыб. Данные, касающиеся pH-зависимости протеаз слизистой оболочки кишечника, близки результатам, полученным ранее при исследовании рыб других видов (Неваленый и др., 2011). Сведения о pH-зависимости протеаз химуса и энтеральной микробиоты рыб в доступной литературе отсутствуют. Особо следует отметить, что варьирует не только величина оптимума pH, но и относительная активность ферментов в зонах, лежащих за пределами оптимума. Так, у энтеральной микробиоты леща из Рыбинского водохранилища при pH 10.0 сохраняется около 60% от максимальной активности протеаз. У окуня и судака выявляется лишь 40 и 50% от максимальной активности протеаз соответственно (Kuz'mina et al., 2011).

Также важно отметить разную степень пластичности ферментов энтеральной микробиоты, относящихся к различным цепям. Приведенные данные свидетельствуют о сходстве характера влияния pH на активность гликозидаз и о различии в характере влияния pH на активность протеаз, а, следовательно, о большем консерватизме первых и значительной пластичности вторых, что расширяет представления об адаптационных возможностях протеаз энтеральной микробиоты у рыб. При этом, как подчеркивалось ранее (Kuz'mina et al., 2011), в ряде случаев, в частности при низких значениях pH, протеазы микробиоты могут компенсировать относительно низкую активность протеолитических ферментов, син-

тезируемых пищеварительной системой рыб. Различия характера pH-зависимости протеаз энтеральной микробиоты могут быть обусловлены как разным видовым составом, так и разным соотношением ферментов (нейтральные, щелочные и кислые протеазы), синтезируемых разными видами микроорганизмов. В кишечнике пресноводных рыб обычно преобладают микроорганизмы, принадлежащие к р.р. *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Bacterium*, *Pseudobacterium*, *Azotobacter* и *Sarcina*. Иногда, обычно в загрязненных водоемах, встречаются бактерии р. *Vibrio* (Лубянскене и др., 1989; Шивокене, 1989; Кузьмина, Скворцова, 2002; Кузьмина, 2005; Ganguly, Prasad, 2012). В кишечнике рыб, обитающих в Рыбинском водохранилище, чаще встречаются микроорганизмы р.р. *Pseudomonas*, *Bacillus*, а также кокковые формы, коринебактерии и микромицеты (Кузьмина, Скворцова, 2002; Кузьмина, 2005). При этом, в отличие от автохтонной, или индигенной (прикрепленной), состав транзитной (полостной) микробиоты в значительной мере зависит от изменения такового в воде и пище (Buddington et al., 1997).

Протеазы, синтезируемые энтеральной микробиотой, обычно синтезируют комплекс протеаз и способны деполимеризовать различные белковые компоненты пищи рыб. Так, почти все изоляты рр. *Vibrio* и *Enterobacter* обладают протеолитической активностью (Hamid et al., 1979). Бактерии р. *Lactobacillus*, в частности *L. casei* и *L. plantarum*, выделенные из пищеварительного тракта карпа, синтезируют трипсино- и пепсиноподобные протеазы, причем активность последних значительно выше, чем первых (Jankauskienė, Lesauskienė, 1995). Высокой протеолитической активностью отличаются виды бактерий, принадлежащих к р. *Pseudomonas*. Некоторые штаммы *Ps. aeruginosa* продуцируют три различные протеазы – две нейтрально-щелочные и эластазу (Лубянскене и др., 1989; Кузьмина, Скворцова, 2002; Кузьмина, 2005).

Также известно о большем разнообразии и большей численности энтеральной микробиоты у бентофагов (сазан) по сравнению с таковой у ихтиофагов (судак) (Зубкова, 1966 а,б, цит. по: Кузьмина, 2005). В данной работе показано, что при pH 5.0 активность протеаз у бентофагов плотвы и леща в 4.2 и 2.2, у ихтиофага-факультативного бентофага окуня – в 1.8 раза выше, чем у типичного ихтиофага судака. Большая активность протеаз микробиоты при pH 5.0 у типичных и факультативных бентофагов (у плотвы – 100, у леща – 70, у окуня – 65, у щуки 50, у судака – 20 и налива – 18%, от максимальной активности), по-видимому, связана с отсутствием пепсино-кислого пищеварения у бентофагов и участием протеаз энтеральной микробиоты в гидролизе белков при низких значениях pH. Важно отметить, что судак и щука обладают желудком с ярко выраженной кислотообразующей функцией, позволяющей эффективно функционировать кислым протеазам, в то время как у исследованных бентофагов желудок отсутствует.

По всей вероятности, функцию аспартатных протеаз желудка у исследованных бентофагов выполняют протеазы энтеральной микробиоты. Как указывалось выше, при исследовании *Lactobacillus casei* и *L. plantarum*, выделенных из кишечника карпа, обнаружена активность пепсиноподобных протеаз, уровень которой приблизительно в 10 раз выше по сравнению с таковой трипсиноподобных протеаз (Jankauskienė, Lesauskienė, 1995). Последнее подтверждает предположение о том, что протеазы микробиоты способны компенсировать относительно низкую активность протеаз, синтезируемых пищеварительной системой рыб, при значениях pH.

Еще более высокие значения относительной активности протеаз в зонах, лежащих за пределами оптимума pH, обнаружены при исследовании химуса: у плотвы при pH 10.0 сохраняется 95% от максимальной активности при pH 7.0. У леща ферментативная активность химуса достоверно не различается в зоне pH 7.0-10.0, а у окуня и судака при pH 8.0 сохраняется 80 и 90% от максимальной активности при pH 10.0 соответственно. Однако наиболее важно то обстоятельство, что максимальная активность ферментов химуса и энтеральной микробиоты наблюдается при низких и нейтральных значениях pH, которые чаще встречаются в кишечнике рыб (Уголев, Кузьмина, 1993). Выявленные в данной работе различия pH-функции протеаз химуса у рыб разных видов, по всей вероятности, обусловлены тем, что активность ферментов химуса при разных значениях pH определяется не только характеристиками ферментов, синтезируемых поджелудочной железой, но также свойствами ферментов объектов питания и энтеральной микробиоты. При этом важную роль играют различия в спектре питания рыб разных видов. Во взрослом состоянии ихтиофаги питаются рыбой, бентофаги – преимущественно беспозвоночными животными, в пище ихтиофагов-факультативных бентофагов в зависимости от местообитания может доминировать рыба или беспозвоночные. При этом активность протеаз в целом организме рыб значительно выше, чем у беспозвоночных животных (Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, 2005).

Важно отметить, что трофическая структура биоценозов водоемов Верхней Волги достаточно динамична. В состав пищи бентофагов входит более 80 видов беспозвоночных, ихтиофагов – до 20 видов рыб (Иванова и др., 1978 цит. по: Кузьмина, 2005). Различие видового состава объектов питания бентофагов и ихтиофагов не может не приводить к вариабельности биохимического состава химуса и характеристик протеаз. Вместе с тем ранее, как правило, исследовались пищеварительные ферменты кормовых объектов, оптимум pH которых находится в нейтральной или слабощелочной зоне. Вместе с тем индуцированный аутолиз белковых компонентов пищи обеспечивают не столько пищеварительные гидролазы консументов, сколько катепсины различных тканей жертвы

(Кузьмина, 2000, 2005). Наиболее значительную роль в процессах ауто-деградации играют катепсины А, В, D, H и другие, оптимум pH которых находится в зоне кислых значений pH – 3.0-6.0 (Кузьмина, 2005). При этом выявленные различия pH-функции протеаз химуса могут определяться разным соотношением различных катепсинов в тканях потенциальных жертв (рыбы и беспозвоночные, относящихся к разным таксономическим группам).

При исследовании гликозидаз также было показано, что pH зависимость изменения активности химуса не у всех видов рыб коррелируют с таковыми слизистой оболочки кишечника. Поскольку в работе был использован метод определения активности гликозидаз, охватывающий весь процесс гидролиза биополимеров, его скорость зависела как от активности α -амилазы, так и от активности мальтазы. Наибольшее сходство кривых pH-зависимости выявлено при изучении ферментов судака из Рыбинского водохранилища и судака и окуня из Кучурганского водохранилища. Совпадение максимумов активности гликозидаз химуса и слизистой (pH 7.0) у рыб этих видов может быть обусловлено тем, что и в полости кишечника, и на структурах слизистой оболочки доминирует α -амилаза, синтезируемая поджелудочной железой. В то же время у бентофагов pH-функция может определяться не только ферментами консумента, но и ферментами жертвы (Kuz'mina, 2008). Выявленные отличия pH-функции гликозидаз химуса у бентофагов от таковой ихтиофагов, по всей вероятности, обусловлены значительными различиями в их спектре питания. При этом известно, что активность гликозидаз в целом организме беспозвоночных значительно выше, чем у рыб (Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, 2005).

Твердо установлено, что уровень активности гликозидаз у рыб, относящихся по типу питания к группам планто- и бентофагов, в значительной мере зависит от спектра питания и биохимического состава их объектов питания (Уголев, Кузьмина, 1993). На примере беспозвоночных Рыбинского водохранилища показано, что у разных видов уровень активности гликозидаз различен (Голованова, 1997; Кузьмина, 1999). В данной работе при исследовании активности гликозидаз в целом организме разных видов беспозвоночных из Кучурганского водохранилища эта закономерность была подтверждена: уровень ферментативной активности при pH 7.4 варьирует от 1.7 у бокоплава до 7.0 мкмоль/(г·мин) у олигохет. Важно отметить, что виды, входящие в состав зоопланктона и отличающиеся более низкой активностью гликозидаз, обитают в толще воды, а представители бентофауны – в донных отложениях и на поверхности дна водоемов. По всей вероятности, большая активность гликозидаз в организме последних обусловлена меньшим количеством кислорода в воде и, как следствие, значительной ролью анаэробных процессов. При этом в энергетическом балансе организма возрастает доля углеводного обмена

(Горомосова, Шапиро, 1989), в том числе амилолитического пути расщепления гликогена (Плисецкая, 1975).

Полученные результаты подтверждают сведения о том, что рыбы – потенциальные объекты питания ихтиофагов обладают активностью гликозидаз, способной разрушать углеводные компоненты собственных тканей (Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, 2005). Также подтверждены данные о существовании видовых различий в уровне активности гликозидаз в целом организме рыб (Голованова, 2000). Так, при нейтральных значениях pH уровень активности гликозидаз в тканях у ерша и бычка значительно ниже, чем у тарани и красноперки. На первый взгляд ферменты тарани и красноперки, относящихся к сем. Cyprinidae, могут вносить больший вклад в начальные этапы ассимиляции углеводов по сравнению с таковыми представителей сем. Percidae (ерш) и Gobiidae (бычок). Однако в кислой среде желудка, когда при pH 5.5-6.0 функционируют не только ферменты пищеварительной системы объектов питания, но и гидролазы лизосомных тканей (Кузьмина, Цветкова, 2001; Kuz'mina, Golovanova, 2004; Высоцкая, Немова, 2008), ферменты ерша и бычка оказываются столь же эффективными. Важно отметить, что при pH 6.0 сохраняется от 57% (ерш) до 67% (тарань) активности гликозидаз от таковой при pH 7.0. Следовательно, ферменты потенциальных объектов питания рыб также могут эффективно деполимеризовать полисахариды в зоне кислых значений pH.

Ранее подчеркивалось, что вклад ферментов потенциальных объектов питания в процесс аутодеградации под влиянием ионов водорода в желудке ихтиофагов может быть особенно высоким на начальных этапах желудочного пищеварения (Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, 2005). Вместе с тем наибольший уровень активности гликозидаз у всех видов рыб выявлен при нейтральных (100%) и щелочных значениях pH – 80-90% максимальной активности при pH 8.0. При pH 9.0 у тарани активность гликозидаз сохраняется на том же уровне, у красноперки и ерша снижается приблизительно в 2 раза и лишь у бычка составляет 39% максимальной активности. Последнее может быть связано с тем, что этот вид бычков обитает на биотопах с песчаным грунтом, видовой состав микробиоты которого беднее токового биотопов с илистым грунтом (Зубкова, 1965, 1966).

Данные, касающиеся активности гликозидаз кишечной микрофлоры, подтверждают наличие в ее составе амилолитических бактерий (Шивокене, 1989). Известно, что почти все изоляты pp. *Vibrio* и *Enterobacter* обладают амилолитической активностью (Hamid et al., 1979), причем более 50% штаммов сем. *Bacteroidaceae*, а также pp. *Aeromonas* *Clostridium*, выделенных из кишечника карпа, морского угря, тиляпии и других видов рыб продуцируют амилазу (Кузьмина, Скворцова, 2002). Высокая продукция амилазы найдена у двенадцати штаммов микроорганизмов,

11 из которых принадлежат р. *Aeromonas* и один – р. *Pseudomonas* (Sugita et al., 1997). Если уровень активности гликозидаз у животных зависит от состава пищи и доминирования того или иного обмена, то активность гликозидаз микробиоты в значительной мере определяется соотношением различных физиологических групп микроорганизмов. В первой главе сообщалось о том, что разные виды микроорганизмов обладают ферментами, способными разрушать полисахариды. Так, при исследовании пресноводных двустворчатых моллюсков (перловиц *Unio tumidus*, *U. pictorum*, жемчужницы *Margaritifera margaritifera* и беззубки *Anadontapiscinalis*), близких по таксономии дрейссене, в содержимом пищеварительной системы выявлено наличие микрофлоры, обладающей амилолитической активностью (Шивокене, 1989).

В данной работе показано, что уровень активности гликозидаз у микроорганизмов, ассоциированных с зоопланктоном, не превышает 1.5 мкмоль/(г·мин), у микроорганизмов, ассоциированных с представителями бентофауны, колеблется в пределах 3-6 мкмоль/(г·мин). Наблюдаемые различия, по-видимому, связаны с различиями видового состава микрофлоры в толще и в придонных слоях воды. Следовательно, микробиота, поступающая в организм беспозвоночных, как и в организм рыб (Buddington et al., 1997) с водой и пищей, имеет разный видовой состав. Как подчеркивалось ранее, установлена большая численность и большее разнообразие кишечной микрофлоры у бентофага сазана, в пище которого доминируют олигохеты и хирономиды, по сравнению с таковой у ихтиофага судака, питающегося рыбой в толще воды (Зубкова, 1965, 1966). Более того, состав микрофлоры у водных беспозвоночных определяется составом микробиоты грунта. Так, при изучении микробиоты трепанга *Apostichopus japonicus* и грунта, на котором он обитает, было выявлено значительное сходство в микробном составе, в частности преобладание представителей р.р. *Pseudomonas* и *Bacillus* (Богатыренко, 2013).

Однако, несмотря на различия в уровне активности гликозидаз, характер влияния pH на ферментативную активность, независимо от принадлежности исследованных гидробионтов к той или иной таксономической группе, достаточно близок. Также следует отметить значительное сходство pH-зависимости активности гликозидаз целого организма беспозвоночных и сопутствующей микробиоты у большинства исследованных видов. При этом представленные данные хорошо коррелируют с результатами, полученными при исследовании влияния pH на активность гликозидаз энтеральной микробиоты рыб (Kuz'mina et al., 2011).

Заслуживает внимания то обстоятельство, что оптимальный pH гликозидаз кишечной микрофлоры у всех видов рыб независимо от места обитания соответствует 7.0. Особо следует отметить большее влияние pH на активность гликозидаз кишечной микрофлоры по сравнению с таковой химуса у всех исследованных видов рыб как в зоне кислых, так и в зоне

щелочных значений pH. Так, при увеличении pH от 5.0 до оптимальных значений ферментативная активность у разных видов рыб Рыбинского водохранилища увеличивается в 2.7-3.0. У рыб Кучурганского водохранилища активность гликозидаз увеличивается в 2.0-2.7 раз у судака, окуня, леща и карпа, а у солнечника и карася в 5.3 и 12.9 раз соответственно. При увеличении pH от оптимальных значений до 10.0 ферментативная активность кишечной микрофлоры у рыб из Рыбинского водохранилища снижается в 3.5-4.2, Кучурганского водохранилища – в 4-30 раз.

Вместе с тем сопоставление активности гликозидаз микрофлоры, ассоциированной с тем или иным видом беспозвоночных, позволяет выявить различия в зоне кислых и щелочных значений pH. Так, величины относительной активности гликозидаз сопутствующей микробиоты при значениях pH 5.0 и 10.0 составляют в случае бокоплав 17.7 и 7.0, хирономид – 20.6 и 9.3, олигохет – 35.1 и 21.3, дрейссены – 59.7 и 32.2% от максимальной активности при pH 7.0 соответственно. Особого внимания заслуживает тот факт, что у представителей отр. *Dafniiformes*, *Copepoda* и *Ostracoda*, входящих в суммарную пробу зоопланктона, при pH 5.0 относительная активность гликозидаз микробиоты составляет 75.7%, при pH 6.0 – 92.7% максимальной активности. Следовательно, микробиота дрейссены и, особенно, рачкового планктона может эффективно деполимеризовать полисахариды в зоне кислых значений pH.

Также важно отметить, что, несмотря на различия в уровне активности гликозидаз у разных видов рыб, характер влияния pH на ферментативную активность целого организма рыб и сопутствующей микробиоты, независимо от их принадлежности к той или иной таксономической группе, достаточно близок. Так, у тарани и красноперки относительная активность гликозидаз совпадают почти во всем диапазоне значений pH. У бычка и особенно ерша наблюдаются некоторые различия в характере кривых pH-зависимости исследованных препаратов. При этом у всех видов, кроме ерша, относительная активность гликозидаз целого организма рыб при pH 5.0 составляет около 50% максимальной активности. У ерша в зоне низких значений pH наблюдается более высокий уровень относительной активности ферментов сопутствующей микробиоты. Последнее может рассматриваться как адаптация гликозидаз к функционированию в кислой среде.

Если уровень активности гликозидаз в целом организме животных зависит от состава пищи и особенностей метаболизма, то активности гликозидаз микробиоты в значительной мере определяется соотношением различных физиологических групп микроорганизмов. Как указывалось во введении, разные виды микроорганизмов обладают ферментами, способными разрушать полисахариды. Так, при исследовании содержимого кишечника у ряда видов пресноводных рыб показано, что амилазу продуцируют более 50% микроорганизмов, входящие в штаммы сем.

Bacteroidaceae, а также р.р. *Aeromonas*, *Pseudomonas* и *Clostridium* (Sugita et al., 1997). В кишечнике морских рыб амилолитической активностью обладают бактерии р.р. *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Moraxella*, *Pseudomonas* и другие, а также представители сем. *Vibrionaceae* и коринеморфные бактерии (Sugita et al., 1996). При этом бактерии продуцируют ферменты, гидролизующие углеводы различной степени сложности (Извекова, Плотников, 2011). Высокий уровень активности гликозидаз в целом организме плотвы и красноперки, а также их микробиоты, может быть обусловлен присутствием в их пище растительных компонентов. Это предположение хорошо согласуется с данными, свидетельствующими о большом количестве амилолитических бактерий в кишечнике бентофагов–факультативных фитофагов по сравнению с эврифагами (Šyvokienė et al., 1996; Шивокене и др., 1996). Однако, несмотря на видовые различия, наблюдается значительное сходство pH-зависимости активности гликозидаз целого организма потенциальных объектов питания ихтиофагов и сопутствующей микробиоты. При этом представленные данные хорошо коррелируют с результатами, полученными при исследовании влияния pH на активность гликозидаз энтеральной микробиоты рыб (Kuz'mina et al., 2011).

Таким образом, приведенные данные расширяют представления о вариабельности активности протеаз и гликозидаз различного происхождения в зависимости от pH энтеральной среды. Выявлено определенное сходство pH-зависимости активности гликозидаз слизистой оболочки кишечника, химуса, энтеральной микробиоты, целого организма потенциальных объектов питания ихтиофагов, а также сопутствующей микробиоты (максимум, как правило, при pH 7.0). Протеолитическая активность слизистой оболочки кишечника, химуса, энтеральной микробиоты, а также целого организма потенциальных объектов питания ихтиофагов и сопутствующей микробиоты в том же диапазоне значений pH различна. Максимальная активность протеаз слизистой оболочки и в большинстве случаев химуса наблюдается при pH 10.0, остальных препаратов – варьирует от pH 5.0 до 10.0. Полученные данные подтверждают предположение о возможной компенсаторной роли ферментов жертвы и микрофлоры в процессах пищеварения рыб.

ГЛАВА 6

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЯ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ, ФУНКЦИОНИРУЮЩИХ В КИШЕЧНИКЕ РЫБ ИЗ ОДНОЙ ГЕОГРАФИЧЕСКОЙ ЗОНЫ В ШИРОКОМ ДИАПАЗОНЕ ЗНАЧЕНИЙ pH

В данной главе представлены данные о влиянии условий обитания на активность протеаз и гликозидаз в широком диапазоне значений pH слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты карася из Кучурганского водохранилища и разных участков р. Днестр, а также из разных биотопов Волжского плеса Рыбинского водохранилища. Сведения о влиянии особенностей среды обитания и спектра питания рыб на pH-функцию протеаз и гликозидаз, функционирующих в составе слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у одних и тех же рыб до начала наших исследований отсутствовали.

6.1. Влияние условия среды обитания на активность ферментов, функционирующих в кишечнике рыб из разных участков одной экосистемы

Удобным объектом для решения поставленной задачи был карась *Carassius auratus*, распространившийся, благодаря разведению в приднестровских рыбоводных хозяйствах, почти по всему течению Днестра и хорошо адаптированный к условиям окружающей среды (Бурмакин, 1963; Гончаренко, 1998). Для лучшего сопоставления полученных данных анализировали особей близких размерно-весовых групп (длиной около 30 см), в один и тот же период времени, совпадающий с периодом наиболее активного питания рыб. Были выбраны три станции, значительно различающиеся по гидрологическим, гидрохимическим и биологическим характеристикам: р. Днестр в районе г. Тирасполь, 1-я станция, Кучурганское водохранилище, 2-я станция и низовья р. Днестр, недалеко от впадения реки в Днестровский лиман, 3-я станция. Ниже приведены данные, касающиеся pH-зависимости протеаз и гликозидаз карася, обитающего в разных участках р. Днестр и в Кучурганском водохранилище.

Влияние условий среды обитания на активность протеаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты карася в широком диапазоне значений pH. При стандартных значениях pH (7.0) наи-

меньшая активность протеаз слизистой оболочки кишечника была выявлена у карася из р. Днестр в районе г. Тирасполь (5.37 ± 0.69 мкмоль/г·мин), наибольшая – у рыб из Кучурганского водохранилища (9.41 ± 0.87 мкмоль/г·мин). Несколько меньший уровень ферментативной активности отмечен у рыб из низовий Днестра, недалеко от впадения реки в Днестровский лиман (8.00 ± 0.61 мкмоль/г·мин). При этом у рыб всех исследованных групп активность протеаз слизистой оболочки кишечника, как правило, была выше таковой химуса.

Сопоставление уровня ферментативной активности тех же препаратов в диапазоне pH от 5.0 до 10.0 показывает, что динамика активности протеаз слизистой оболочки и химуса у всех исследованных рыб достаточно близка – минимум активности протеаз в обоих случаях наблюдается при pH 5.0, максимум – при pH 10.0 (рис. 6.1). У карасей с первой станции при pH 5.0 выявлено 36.7% и 33.1%, второй – 30.7% и 37.9% и третьей – 42.8% и 30.2 % максимальной активности слизистой и химуса при pH 10.0 соответственно. Относительная активность протеаз кишечной микрофлоры

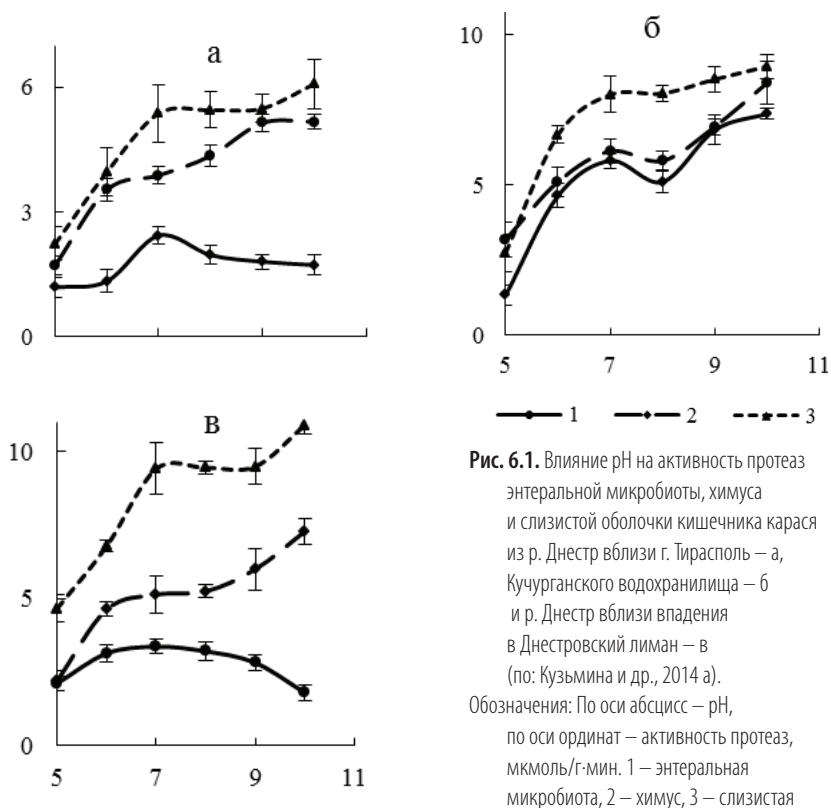


Рис. 6.1. Влияние pH на активность протеаз энтеральной микрофлоры, химуса и слизистой оболочки кишечника карася из р. Днестр вблизи г. Тирасполь – а, Кучурганского водохранилища – б и р. Днестр вблизи впадения в Днестровский лиман – в (по: Кузьмина и др., 2014 а).
Обозначения: По оси абсцисс – pH, по оси ординат – активность протеаз, мкмоль/г·мин. 1 – энтеральная микрофлора, 2 – химус, 3 – слизистая

ры карасей тех же групп при pH 5.0 значительно выше – 48.5, 18.1 и 62.9 % максимальной активности. При этом особого внимания заслуживают различие формы кривых pH-зависимости и оптимумов pH протеаз энтеральной микробиоты у рыб из разных мест обитания. Так, у карасей с первой станции оптимум pH протеаз отмечен при pH 7.0, второй – при pH 10.0, третьей – в зоне pH 6.0-8.0. У рыб с первой станции резко увеличивается ферментативная активность при pH 7.0, у рыб со второй станции наблюдаются два пика активности протеаз энтеральной микробиоты – при pH 7.0 и 10.0, а для рыб с третьей станции характерно отсутствие достоверных различий в уровне ферментативной активности в зоне pH 6.0-8.0.

Таким образом, характер pH-зависимости протеаз слизистой оболочки, химуса и, особенно, энтеральной микробиоты у карася из разных участков р. Днестр и Кучурганского водохранилища значительно варьирует. У рыб, обитающих в районе г. Тирасполь, максимальные значения активности протеаз энтеральной микробиоты выявлены при pH 7.0, у рыб из Кучурганского водохранилища, расположенном ниже по течению р. Днестр – при pH 10.0, в низовьях р. Днестр (вблизи Днестровского лимана) – в зоне pH 6.0-8.0. Различный характер pH-зависимости протеиназ энтеральной микробиоты у рыб из разных участков р. Днестр и Кучурганского водохранилища, вероятно, зависят от различий в составе и численности микроорганизмов в воде и объектах питания рыб.

Влияние условий среды обитания на активность гликозидаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты карася в широком диапазоне значений pH.

Уровень активности гликозидаз слизистой оболочки и химуса у рыб с разных станций также различен. При этом активность гликозидаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты при pH 7.0 достоверно выше у рыб из Кучурганского водохранилища по сравнению с таковой из разных участков р. Днестр. Так, при pH 7.0 у карася с первой станции активность гликозидаз слизистой оболочки кишечника и химуса соответствует 25.99 ± 0.67 и 23.96 ± 0.56 , второй – 34.37 ± 0.83 и 28.96 ± 0.36 , третьей – 26.11 ± 0.45 и 18.75 ± 0.48 мкмоль/г-мин. У рыб с первой и третьей станций активность гликозидаз энтеральной микробиоты равны (7.48 ± 0.22 и 7.44 ± 0.15 мкмоль/г-мин), со второй – значительно выше (21.88 ± 1.15 мкмоль/г-мин).

Однако динамика активности гликозидаз слизистой оболочки кишечника и химуса у рыб со всех исследованных станций в диапазоне pH от 5.0 до 10.0 достаточно близка (рис. 6.2). Действительно, минимум активности гликозидаз в обоих случаях наблюдается при pH 5.0, максимум при pH 6.0 или 7.0. При pH 5.0 у карасей с первой станции активность гликозидаз слизистой оболочки и химуса составляет 39.7% и 64.3%, со второй – 33.1% и 61.8%, с третьей – 51.1% и 46.7% от максимальной активности соответственно. Относительная активность гликозидаз энтераль-

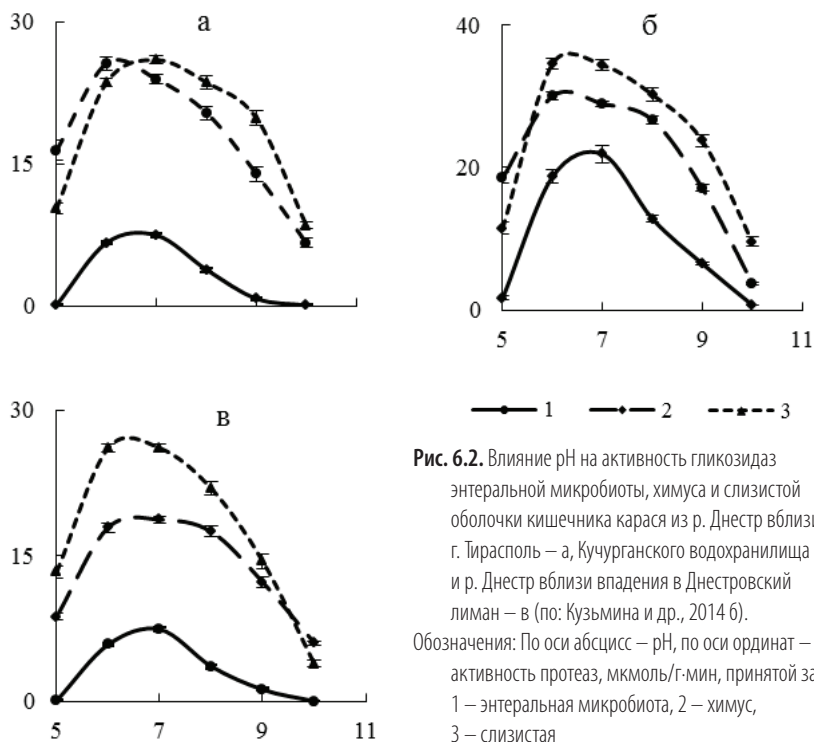


Рис. 6.2. Влияние pH на активность гликозидаз энтеральной микрофлоры, химуса и слизи оболочки кишечника карася из р. Днестр вблизи г. Тирасполь – а, Кучурганского водохранилища – б и р. Днестр вблизи впадения в Днестровский лиман – в (по: Кузьмина и др., 2014 б).

Обозначения: По оси абсцисс – pH, по оси ординат – активность протеаз, $\mu\text{моль/г} \cdot \text{мин}$, принятой за 100.
1 – энтеральная микрофлора, 2 – химус, 3 – слизистая

ной микрофлоры карасей с тех же станций при pH 5.0 составила лишь 1.7, 7.8 и 1.2 % от максимальной активности. При этом важно подчеркнуть, что оптимум pH действия гликозидаз энтеральной микрофлоры у рыб из разных мест обитания, в отличие от таковых слизи и химуса, всегда находится при pH 7.0.

Таким образом, активность гликозидаз слизи оболочки кишечника, химуса и энтеральной микрофлоры у карася из разных участков р. Днестр и Кучурганского водохранилища различна. Максимальные значения активности гликозидаз энтеральной микрофлоры, независимо от местообитания рыб, наблюдаются при pH 7.0, а форма кривой pH-зависимости исключительно близка. При этом уровень активности гликозидаз во всем диапазоне pH у рыб из Кучурганского водохранилища выше, чем у рыб, обитающих в р. Днестр. Высокий уровень активности гликозидаз у рыб из Кучурганского водохранилища, вероятно, обусловлен обилием растительности в этом водоеме, большим содержанием углеводов в организме объектов питания рыб, а также большей численностью амилотических бактерий в воде и объектах питания рыб по сравнению с таковыми других участков экосистемы.

6.2. Влияние условий среды обитания на активность протеаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у рыб из одного участка водоема (на примере Рыбинского водохранилища)

Выше было продемонстрировано разнообразие характера pH-зависимости протеаз химуса и, особенно, энтеральной микробиоты, связанное с экологическими особенностями значительно различающихся по гидрологическим и биологическим характеристикам участков одной экосистемы. В связи с этим важно было изучить влияние на исследуемые характеристики отдельных экологических зон водохранилища (литорали, сублиторали и батии) на характер pH-зависимости протеиназ химуса и энтеральной микробиоты у рыб, обитающих в одном водоеме. Удобным для такого рода работ оказался хорошо изученный Волжский плес Рыбинского водохранилища (Поддубный, 1971; Рыбинское водохранилище ..., 1972). Ниже приведены результаты изучения влияния pH на активность протеиназ слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у ихтиофагов, обитающих в разных экологических зонах Рыбинского водохранилища (на примере налима *Lota lota*, щуки *Esox lucius* и судака *Sander lucioperca*).

Активность протеаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у рыб разных видов. Определения показали, что активность протеиназ слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у исследованных рыб при стандартных значениях температуры (20°C) и pH (7.4) значительно различается (табл. 6.1).

Наиболее высокая активность протеаз слизистой оболочки кишечника выявлена у хищника-засадчика щуки, меньшая – ихтиофага-факультативного бентофага налима, минимальная – у пелагического хищника судака. При этом максимальная активность протеаз слизистой оболочки

Таблица 6.1. Активность протеаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у некоторых видов ихтиофагов Рыбинского водохранилища при стандартных значениях температуры (20°C) и pH (7.4), мкмоль/г·мин

Вид	Активность протеаз, мкмоль/г·мин			
	слизистая	химус	суммарная активность	энтеральная микробиота
Судак	0.47±0.08 ^а	1.65±0.17*	2.12	1.72±0.20 ^а
Щука	5.85±0.32 ^а	2.38±0.12 ^{а*}	8.23	0.87±0.17 ^а
Налим	2.80±0.18 ^а	2.74±0.17 ^а	5.54	1.75±0.13 ^а

Примечание: различия достоверны между минимальной активностью протеаз и активностью протеаз у других видов рыб из Рыбинского водохранилища (**а**), * – различия достоверны между уровнем активности протеаз слизистой и химуса (в строках); при уровне значимости $p < 0.05$ (ANOVA-тест).

у щуки достоверно ($p < 0.05$) превышает таковую у налима (в 2.1 раза) и судака (в 12.8 раза). Активность протеаз химуса у рыб разных видов различается не столь значительно. Так, максимальный уровень ферментативной активности химуса у налима превышает минимальный у судака лишь в 1.7 раза. При этом у налима активность протеаз слизистой оболочки и химуса близка. Активность протеаз химуса у судака превышает таковую слизистой оболочки в 3.5 раза, у щуки, напротив, активность протеаз слизистой оболочки достоверно ($p < 0.05$) выше таковой химуса (в 2.5 раза).

Активность ферментов энтеральной микрофлоры не может быть сопоставлена с таковой слизистой и химуса, поскольку пробы, содержащие микроорганизмы, предварительно культивировались. Однако сопоставление активности ферментов кишечной микрофлоры у рыб разных видов показало, что активность протеаз энтеральной микрофлоры у щуки почти в два раза ниже, чем, у судака и налима, уровень ферментативной активности которых близок.

Влияние pH на активность протеаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микрофлоры у рыб разных видов. Влияние pH на активность протеаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микрофлоры в диапазоне 5-10 у рыб разных видов различно (рис. 6.3).

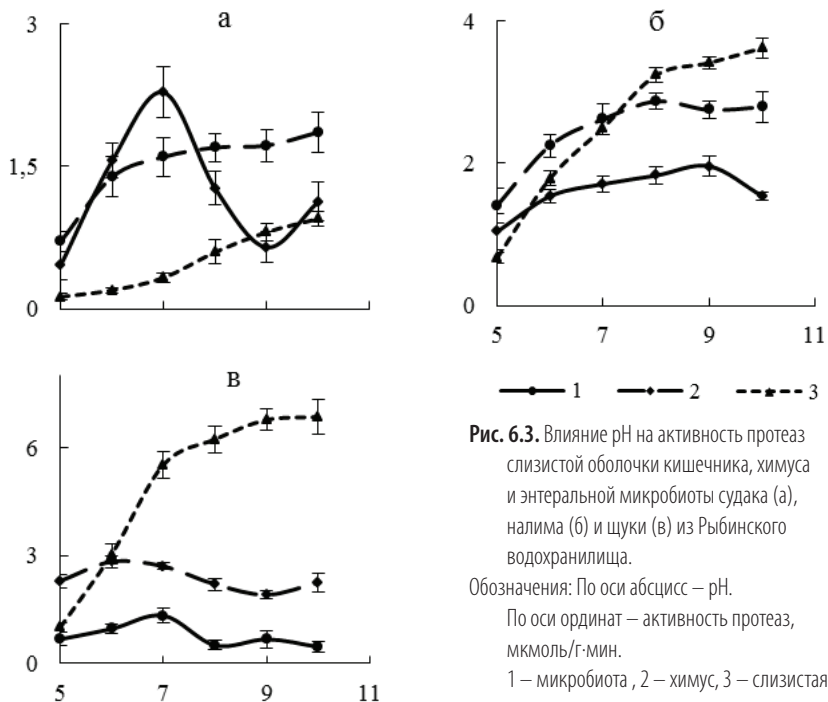


Рис. 6.3. Влияние pH на активность протеаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микрофлоры судака (а), налима (б) и щуки (в) из Рыбинского водохранилища.

Обозначения: По оси абсцисс — pH.

По оси ординат — активность протеаз, мкмоль/г·мин.

1 — микрофлора, 2 — химус, 3 — слизистая

Как видно из рисунка, оптимум pH протеаз слизистой оболочки у всех видов рыб соответствует 10. Оптимум pH ферментов химуса у щуки равен 6, у налима – 8, у судака – 10. Оптимум pH протеаз энтеральной микрофлоры у судака и щуки находится при 7, у налима – при 9. При этом у судака совпадает, у налима близка величина оптимума pH протеаз слизистой оболочки и химуса (10). Относительная активность протеаз слизистой оболочки при pH 5 находится в районе 15%. Относительная активность протеаз химуса и энтеральной микрофлоры у рыб разных видов в зоне низких значений pH значительно варьирует. При pH 5 у налима величина этого показателя составляет 50 и 52, у щуки 80 и 50, у судака – лишь 38 и 20% максимальной активности. При pH 10 активность протеаз энтеральной микрофлоры колеблется от 35 у щуки до 75% максимальной активности у налима.

Наблюдаемые различия в уровне активности ферментов приводят к существенным различиям в соотношении активности протеаз слизистой оболочки кишечника и химуса при разных значениях pH (табл. 2).

Как показывает таблица, величина коэффициентов P_c/P_x (активность протеаз слизистой/активность протеаз химуса), в исследованном диапазоне значений pH значительно варьирует. При этом у всех исследованных видов рыб почти во всем диапазоне pH наблюдается последовательное увеличение значений P_c/P_x . Максимальные величины P_c/P_x у судака и налима превышают минимальные в 2.8 и 2.9 раза соответственно. У щуки наблюдаются большие различия между максимальной и минимальной величиной P_c/P_x (8 раз).

Таким образом, максимальная активность протеаз слизистой оболочки и химуса выявлена у хищника-засадчика щуки, меньшая у икhtiофага-факультативного бентофага налима, минимальная у пелагического хищника судака. Оптимум pH протеаз слизистой оболочки у всех видов рыб соответствует 10.0, ферментов химуса так же, как правило, наблюдается при pH 10.0, энтеральной микрофлоры – в диапазоне pH от 5.0 до 9.0. В наибольшей степени варьирует характер кривых pH-зависимости энтеральной микрофлоры. В зоне низких значений pH относительная ак-

Таблица 6.2. Коэффициенты P_c/P_x (активность протеаз слизистой/активность протеаз химуса) у судака, налима и щуки из Волжского плеса Рыбинского водохранилища при разных значениях pH

Вид	Значения pH					
	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0
Судак	0.18	0.14	0.21	0.35	0.47	0.51
Налим	0.47	0.79	0.95	1.13	1.39	1.34
Щука	0.44	1.04	2.17	2.84	3.55	3.05

тивность протеаз химуса и энтеральной микробиоты выше таковой слизистой оболочки, особенно у щуки и налима.

6.3. Заключительные замечания

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у карася со всех исследованных станций, несмотря на близкие размерно-весовые характеристики, активность протеаз и гликозидаз слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты при одних и тех же значениях рН значительно варьирует. Минимальный уровень активности протеаз для всех препаратов при исследованных значениях рН отмечен у рыб, обитающих в р. Днестр в районе г. Тирасполь. Уровень активности гликозидаз у рыб тех же групп иной, причем уровень активности гликозидаз у рыб с первой станции близок таковому карасей с третьей станции, обитающих в зоне Нижнеднестровского национального природного парка, в то время как у рыб из Кучурганского водохранилища активность гликозидаз значительно выше. Это может быть связано как с различиями в температурном режиме и кормовых ресурсах водоемов, так и с различиями в степени влияния антропогенной нагрузки на ферменты разных цепей. Вероятно, на активность протеиназ в большей степени, чем на активность гликозидаз, влияет состав стоков г. Тирасполь.

Известно, что качественный состав, рН, температура, содержание тяжелых металлов и биогенных веществ, а также численность и биомасса гидробионтов в разных участках р. Днестр (от г. Тирасполь до Днестровского лимана) значительно варьируют (Филипенко, 2005; Капитальчук, Иожица, 2012; Мелиян, Кожушко, 2012). В частности, в воде р. Днестр в районе г. Тирасполь содержание таких тяжелых металлов, как Fe, Pb, выше, чем в Кучурганском водохранилище (Зубкова и др., 2008; Капитальчук, Иожица, 2012). Это связано с тем, что промышленный город Тирасполь сбрасывает без очистки в р. Днестр до 0.5 млн. м³ сточных вод в год (Филипенко, 2005). Кроме того, следует отметить, что воды первой и третьей станций характеризуются минимальным количеством бактерий и по степени загрязнения относятся к категории «слабо загрязненных» (2.75-4.40 млн. кл/мл). В воде второй станции численность бактериопланктона достигает уровня эвтрофных и гипертрофных вод, которые по степени чистоты относятся к категориям «грязные» и «очень грязные» (Мединец и др., 2008). Кроме того, в зоне отлова рыб на первой и третьей станциях рН воды составляет 7.0 на второй – 8.0 (Филипенко, 2005; Мелиян, Кожушко, 2012).

Необходимо подчеркнуть, что данные о рН-функции протеиназ слизистой оболочки и химуса исследованных рыб близки к результатам, имеющимся в литературе. Действительно, оптимум рН трипсиноподоб-

ных протеиназ у рыб разных видов находится в щелочной зоне (Нау, Benjakul, 2006; Kumar et al., 2007; Kuz'mina et al., 2011). Оптимум pH гликозидаз слизистой оболочки и химуса в зоне слабокислых и нейтральных значений pH также совпадает с опубликованными сведениями – у рыб разных видов он находится в зоне pH 6.5-8.5 (Кузьмина, Неваленый, 1983; Уголев, Кузьмина, 1993; Kuz'mina et al., 2011). Некоторые отличия pH-зависимости активности протеаз и гликозидаз слизистой оболочки и химуса могут в значительной мере определяться сложным составом ферментов химуса и соотношением количества ферментов, синтезируемых рыбами, их объектами питания и кишечной микрофлорой, функционирующей в полости кишечника.

Важно отметить, что в кишечнике пресноводных рыб, как правило, преобладают микроорганизмы, принадлежащие к родам *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Bacterium*, *Pseudobacterium*, *Azotobacter* и *Sarcina* (Кузьмина, Скворцова, 2002; Кузьмина, 2005). Данные, полученные при исследовании активности гликозидаз кишечной микрофлоры карася, подтверждают наличие в кишечнике рыб амилолитических бактерий. Как указывалось выше, почти все изоляты родов *Vibrio* и *Enterobacter* обладают гликолитической активностью (Hamid et al., 1979). Кроме того, амилазу продуцируют более 50% штаммов сем. *Bacteroidaceae*, а также р. *Aeromonasi* р. *Clostridium*, выделенных из кишечника рыб разных видов (Кузьмина, Скворцова, 2002). Высокая продукция α -амилазы найдена у 12 штаммов микроорганизмов, 11 из которых принадлежат роду *Aeromonas* и один – роду *Pseudomonas* (Sugita et al., 1997).

В настоящей работе подтверждены данные о том, что оптимум pH амилолитических ферментов энтеральной микробиоты рыб соответствует 7.0 (Kuz'mina et al., 2011), а также продемонстрировано сходство pH-зависимости у рыб одного вида из разных мест обитания. Вместе с тем заслуживает внимания различие pH-зависимости гликозидаз слизистой, химуса и энтеральной микробиоты, обеспечивающих гидролиз углеводных компонентов пищи, которые касаются не столько величины оптимума pH, сколько зон пред- и постмаксимальных значений (pH 5.0 и 6.0, а также 8.0-10.0 соответственно). В указанных зонах pH активность гликозидаз слизистой оболочки и химуса выше, чем энтеральной микробиоты, что, по-видимому, обусловлено разной структурой одноименных ферментов рыб и микроорганизмов.

Также важно отметить разную степень пластичности ферментов энтеральной микробиоты, относящихся к различным цепям. Если характеристики гликозидаз консервативны, то протеаз достаточно пластичны. Действительно, форма кривых pH-зависимости гликозидаз у карася, отловленного в разных участках Днестра и в Кучурганском водохранилище, близка. При этом уровень активности гликозидаз у рыб из реки ниже, чем у рыб из водохранилища, в котором по сравнению с рекой бо-

лее высокая температура поверхностного слоя воды и богаче кормовые ресурсы. Так, средняя летняя температура поверхностного слоя воды на участке реки в районе г. Тирасполь составляет 22°C, в Кучурганском водохранилище – 27°C, в нижнем участке р. Днестр – 23°C (Филиппенко, 2005; Мелиян, Кожушко, 2012). Высокая температура воды в Кучурганском водохранилище обуславливает высокую численность и биомассу зоопланктона, зообентоса, фитопланктона и макрофитов по сравнению с таковыми в р. Днестр (Чур, 2012; Филиппенко, 2005).

Как подчеркивалось ранее, различия в характере pH-зависимости протеаз энтеральной микробиоты могут быть обусловлены как разным видовым составом, так и разным соотношением протеаз, синтезируемых разными видами микроорганизмов. В кишечнике пресноводных рыб обычно преобладают микроорганизмы, принадлежащие к р.р. *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Bacterium*, *Pseudobacterium*, *Azotobacter* и *Sarcina*. В загрязненных водоемах могут встречаться бактерии р. *Vibrio* (Лубянскене и др., 1989; Шивокене, 1989; Кузьмина, Скворцова, 2002; Кузьмина, 2005; Ganguly, Prasad, 2012). В кишечнике рыб, обитающих в Рыбинском водохранилище, чаще встречаются микроорганизмы р.р. *Pseudomonas*, *Bacillus*, а также кокковые формы, коринебактерии и микромицеты (Кузьмина, Скворцова, 2002; Кузьмина, 2005). Известно, что высокой протеолитической активностью экстрацеллюлярных гидролаз обладают бактерии, принадлежащие к р. *Pseudomonas* (Hamid et al., 1979; Hoshino et al., 1997; Belchior, Vacca, 2006), р. *Bacillus* (Skrodenytė-Arbačiauskienė, 2000; Ghosh et al., 2002; Esakkiraj et al., 2009; Askarian et al., 2012). При этом некоторые штаммы *Ps. aeruginosa* продуцируют три различные протеазы – две нейтрально-щелочные и эластазу (Лубянскене и др., 1989; Кузьмина, Скворцова, 2002; Кузьмина, 2005).

Относительно низкий уровень активности протеаз энтеральной микробиоты у рыб, отловленных в районе г. Тирасполь, может быть обусловлен более бедным видовым составом и низкой численностью микроорганизмов, а также более бедной кормовой базой рыб, что связано не только с более низкой температурой воды, но и более быстрым течением по сравнению с другими участками водной системы. Так, скорость течения в районе первой станции составляет 1–1.5 м/с, в районе второй станции практически отсутствует, а в районе третьей станции соответствует 0.4–0.9 м/с (Заяц, 2000; Филиппенко, 2005; Мелиян, Кожушко, 2012). Не меньшую роль могут играть различия в степени минерализации воды. Так, в районах первой и третьей станций минерализация воды варьирует от 343 до 725 мг/л, в Кучурганском водохранилище колеблется в пределах 575 – 1200 мг/л (Зубкова и др., 2000).

Особенности среды обитания исследованных рыб способствуют формированию специфической энтеральной микробиоты. Действительно, среди энтеральной микробиоты карасей, обитающих в районе

г. Тирасполь, преобладают нейтральные протеазы, у микроорганизмов из Кучурганского водохранилища доминируют щелочные протеиназы, у кишечной микрофлоры рыб, отловленных в устьевом участке р. Днестр – все известные протеиназы. Полученные нами данные в основном подтверждают сведения о том, что протеазы различных микроорганизмов максимальную активность проявляют при нейтральных или щелочных значениях pH (Лубянскене и др., 1989). При этом относительно высокая активность протеаз энтеральной микробиоты у рыб с первой и третьей станций в зоне кислых значений pH свидетельствует о наличии лактобактерий. Ранее было показано (Jankauskienė, Lesauskienė, 1995), что бактерии р. *Lactobacillus*, в частности *L. casei* и *L. plantarum*, выделенные из пищеварительного тракта карпа, синтезируют трипсино- и пепсиноподобные протеазы. По-видимому, различия pH-функции протеаз энтеральной микробиоты, выявленные при исследовании карася из разных мест обитания, обусловлены разным видовым составом микрофлоры и различной активностью ферментов, синтезируемых разными видами микроорганизмов.

Приведенные данные свидетельствуют о стабильности pH-зависимости гликозидаз и расширяют представления о вариабельности pH-зависимости протеаз энтеральной микробиоты у рыб. При этом, как подчеркивалось ранее (Kuz'mina et al., 2011), в ряде случаев, в частности при низких значениях pH, протеиназы микробиоты могут компенсировать относительно низкий уровень активности протеолитических ферментов, синтезируемых пищеварительной системой рыб. Компенсаторная роль протеаз, синтезируемых энтеральной микробиотой и участвующих в симбионтном пищеварении, в большей степени характерна для рыб, обитающих в р. Днестр, чем для рыб из Кучурганского водохранилища.

При анализе данных, касающихся активности протеаз у рыб из одного биотопа, следует отметить, что результаты, полученные при исследовании слизистой оболочки кишечника и химуса при стандартных условиях, особенно у щуки и налима, в значительной мере близки отмеченным ранее, а наблюдаемые различия могут быть обусловлены разной стадией пищеварения (Уголев, Кузьмина, 1993). Соотношение активности протеаз энтеральной микробиоты у рыб этих видов отличается от такового слизистой оболочки и химуса: минимальные значения выявлены у щуки, у судака и налима активность близка. По всей вероятности, последнее обусловлено особенностями экологических зон водохранилища, в которых размножаются и обитают особи исследованных видов рыб. Известно, что налим встречается преимущественно в придонных зонах сублиторали и батии, щука – в зарослях растительности сублиторали и литорали, судак – в пелагиали (Поддубный, 1971). Население этих зон, предпочитаемые объекты питания рыб и микрофлора существенно различаются.

Это обстоятельство важно учитывать, поскольку состав и численность энтеральной микробиоты в значительной степени зависит от состава и численности микроорганизмов, обитающих в воде (Buddington et al., 1997; Ray et al., 2012).

При этом индигенная, (постоянная или прикрепленная) энтеральная микробиота рыб формируется за счет микроорганизмов, поступающих в пищеварительный тракт с водой и пищей, в начальный период экзогенного питания, транзитная (полостная) – на последующих этапах онтогенеза (Kolkovski et al, 1993, 1997; Buddington et al., 1997; Кузьмина, Скворцова, 2002). В отличие от индигенной, состав транзитной микробиоты в значительной мере зависит от изменения такового в воде и пище (Buddington et al., 1997). При этом щука размножается и нагуливается в зоне защищенного побережья литорали, на микрофлору которого большое влияние оказывает растительность. Судак и налим размножаются, а их сеголетки нагуливаются, на разных участках сублиторали и батии (Поддубный, 1971), придонные слои которых накапливают значительное количество разлагающегося органического вещества. Также известно, что бактериальные сообщества водной толщи менее разнообразны по видовому составу по сравнению с таковыми донных отложений (Копылов, Косолапов, 2011). Об этом же свидетельствует большая численность и большее разнообразие кишечной микрофлоры у бентофага сазана по сравнению с таковой у ихтиофага судака, питающегося в толще воды (Зубкова, 1965, 1966). При этом состав микрофлоры у объектов питания бентофагов – водных беспозвоночных в значительной мере определяется составом микробиоты грунта. Так, при изучении микробиоты трепанга *Apostichopus japonicus* и грунта, на котором он обитает, выявлено значительное сходство их микробного состава, в частности преобладание представителей р.р. *Pseudomonas* и *Bacillus* (Богатыренко, 2013).

Это позволяет предположить, что состав и численность микробиоты, поступающей в пищеварительный тракт личинок исследованных видов рыб по пищевым цепям, различна. Молодь рыб, питающаяся в придонных слоях, особенно молодь налима, в отличие от молоди щуки, может поглощать с пищей (зоопланктон и бентос) большое количество микроорганизмов, участвующих в разложении органического вещества. Это важно учитывать, так как активность протеаз у представителей придонного планктона и бентоса сопоставима с таковой рыб. Так, активность трипсиноподобных протеаз рачкового планктона из Кучурганского водохранилища соответствует 6.2, у представителей бентоса 3.0–3.3, сопоставляющей микробиоты – 1.5 и 0.7–2.4 мкмоль/(г·мин) соответственно (Золотарева и др., 2015).

Вместе с тем наиболее интересно сопоставление эффектов pH на активность протеаз слизистой оболочки, химуса и энтеральной микробиоты у исследованных видов рыб. Оптимум pH протеаз слизистой оболоч-

ки у исследованных видов рыб, отмеченный при 10, совпадает с ранее полученными данными (Hidalgo et al., 1999; Kumar et al., 2007; Kuz'mina et al., 2011; Кузьмина и др., 2014 а,б). Значения активности протеаз химуса, близкие максимальным величинам, наблюдаются в более широком диапазоне значений pH. В связи с этим необходимо подчеркнуть, что в полости кишечника функционируют ферменты, синтезируемые не только поджелудочной железой и энтероцитами, но также объектами питания (Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, 2000, 2005; Kuz'mina, 2008) и энтеральной микробиотой (Лубянскене и др., 1989; Шивокене, 1989; Кузьмина, Скворцова, 2002; Кузьмина, 2005, 2015; Ganguly, Prasad, 2012; Ray et al., 2012 а). Совпадение характера кривых pH зависимости протеаз химуса и энтеральной микробиоты у налима свидетельствует о значительном вкладе протеаз энтеральной микробиоты в активность ферментов, функционирующих в составе химуса.

Сведения о значительной вариабельности характера pH-зависимости протеаз химуса и, особенно, энтеральной микробиоты рыб также подтверждают ранее полученные данные (Kuz'mina et al., 2011; Кузьмина и др., 2014 а,б). Важно отметить, что варьирует не только величина оптимума pH, но и относительная активность ферментов в зонах, лежащих за пределами оптимума. При этом обращает на себя внимание отчетливый оптимум pH протеаз энтеральной микробиоты у судака и щуки (pH 7), а также исключительно высокая относительная активность протеаз энтеральной микробиоты у налима в зоне pH 6-8 (более 80% максимальной активности). Одинаковый оптимум pH протеаз энтеральной микробиоты у судака и щуки может быть обусловлен доминированием одного вида микроорганизмов или бактерий, обладающих протеазами с близкими свойствами. Так, в одном из водохранилищ, расположенном в Чехии, до 50% бактерий принадлежит к группе *β-Proteobacteria* (Simek et al., 2005, цит. по: Копылов, Косолапов, 2011). Широкая зона «оптимальных значений» протеаз энтеральной микробиоты наряду с близостью характера кривой pH-зависимости протеаз химуса у налима может свидетельствовать о большем разнообразии видового состава микрофлоры, поступающий в кишечник с водой и пищей. Это предположение подтверждают сведения о большем разнообразии видового состава микробиоты донных отложений по сравнению с таковым пелагиали (Копылов, Косолапов, 2011) и большем разнообразии кишечной микрофлоры у бентофагов по сравнению с таковой ихтиофагов, питающихся в толще воды (Зубкова, 1965, 1966).

Особо следует отметить то обстоятельство, что максимальная активность ферментов химуса и энтеральной микробиоты наблюдается при низких и нейтральных значениях pH, которые чаще встречаются в кишечнике рыб (Уголев, Кузьмина, 1993). Большая активность протеиназ энтеральной микробиоты при pH 5.0 у щуки и налима – 50 и 52%

максимальной активности по сравнению с таковой у судака (20%), по-видимому, связана с участием протеаз энтеральной микробиоты у первых двух видов в гидролизе белков при низких значениях pH. Высокий уровень относительной активности протеаз энтеральной микробиоты и химуса в зоне низких значений pH у налима и щуки, в отличие от пелагического хищника судака, свидетельствует о том, что вклад ферментов объектов питания и микрофлоры зависит от условий питания рыб. Последнее, подтверждая предположение о том, что протеазы микробиоты и объектов питания рыб способны компенсировать относительно низкую активность протеаз, синтезируемых пищеварительной системой рыб-консументов, при кислых значениях pH, позволяет предположить тесную зависимость вклада ферментов микробиоты от особенностей биотопа. Представленные результаты свидетельствуют о том, что значительную роль в формировании видового состава, а, следовательно, и набора протеаз, а также численности энтеральной микробиоты играют особенности экологических зон водоема, в частности ярус (литораль, сублитораль и батиналь).

ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Прежде всего, необходимо отметить, что анализ закономерностей пищеварения у рыб связан с большими сложностями, чем у высших позвоночных, ввиду необычайно высокого видового разнообразия, сопряженного с вариабельностью морфологических и физиолого-биохимических характеристик, обусловленной адаптациями к условиям среды обитания, спектру питания, доступности и биохимическому составу потенциальных жертв, а также к другим биотическим и абиотическим факторам. В связи со сложностью структурно-функциональной организации пищеварительной системы, в работе приведены лишь сведения, касающиеся ее базовых характеристик. При этом особое внимание обращено на механизмы пищеварения, обеспечивающие деградацию объектов питания рыб, которые были описаны лишь в конце XX в., а также обсуждению их роли в комплексе процессов, обеспечивающих начальные этапы ассимиляции пищи, в рамках предложенной А.М. Уголевым (1991) теории адекватного питания. Теория адекватного питания в значительной мере базируется на том, что разнообразие, существующее на организменном, органном, тканевом и клеточном уровнях, исчезает на уровне универсальных функциональных блоков – молекул и надмолекулярных комплексов, способных выполнять элементарные физиологические функции. В число наиболее важных типов функциональных блоков входят транспортирующие (каналы, насосы, мобильные переносчики, связывающие белки), ферментные и комбинированные блоки ($\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$). Концепция универсальных функциональных блоков ранее широко использовалась при решении проблем эволюции различных систем организм животных (Уголев, 1985, 1990). Однако она может быть не менее полезной и при анализе процессов пищеварения у животных из разных экосистем.

Ранее отмечалось, что, несмотря на значительное сходство общих закономерностей, а также механизмов деградации и усвоения пищи, соотношение механизмов пищеварения и транспорта нутриентов у рыб из естественных экосистем существенно отличается от описываемых для высших позвоночных животных (Уголев, Кузьмина, 1993). Это в первую очередь связано с тем, что в естественных условиях исключительно важную роль играет механизм индуцированного аутолиза, когда расщепление структур пищевого объекта реализуется его собственными ферментами. Возможность значительного вклада ферментов жертвы в процессы пищеварения консумента существенно изменяет представления о требованиях к качеству жертвы, которое определяется не только

ее биохимическим составом и калорийностью, но также способностью к аутодеградации, способствующей снижению энергетических затрат консумента на синтез собственных пищеварительных гидролаз (Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, 2005, 2015). Однако до сих пор введение живых кормов при выращивании рыб в условиях аквакультуры широко не практикуется.

Для оценки роли ферментов жертвы в деградацию пищевых субстратов у гидробионтов, входящих в пищевые сети разных экосистем, необходимо исследование гидролитического аппарата у большего числа видов «трофических партнеров». Сведения такого рода позволят количественно охарактеризовать молекулярные аспекты трофических взаимоотношений гидробионтов в экосистемах разного типа и выявить диапазон изменчивости характеристик трофических партнеров под влиянием важнейших природных факторов. Это даст возможность объединить их в экотипы – группы организмов, выполняющих «геохимическую работу» как единое целое и играющих аналогичную роль в трансформационных процессах, протекающих в различных экосистемах (Гладышев, 1990; Баканов, 2000; Кузьмина, Цветкова, 2001; Кузьмина, 2005).

Полученные в последнее время данные существенно дополнили сведения о молекулярных основах взаимоотношений консументов и их потенциальных жертв. При этом было показано, что эффективность трофических отношений, связанных с переносом вещества с одного трофического уровня на другой, зависит не только от особенностей функционирования ферментных систем трофических партнеров, но и энтеральной микробиоты. При исследовании некоторых видов рыб удалось выявить существенные различия в форме кривых температурной функции и pH-зависимости собственных ферментов, их объектов питания и энтеральной микробиоты. Действительно, сопоставление температурной зависимости ферментов энтеральной микробиоты и рыб подтвердило, что микроорганизмы, синтезирующие протеазы, гидролизующие те же субстраты, что и ферменты, синтезируемые пищеварительной системой рыб (Кузьмина, 2005; Лубянскене и др., 1989; Шивокене, 1989), имеют несколько другие характеристики. При этом характеристики протеаз потенциальных жертв и микробиоты в большинстве случаев оказались более адаптированными к функционированию при низких температурах, чем ферменты, синтезируемые пищеварительной системой рыб (Кузьмина, Первушина, 2003, 2004, Кузьмина и др., 2012 а, б; 2013 а, б; Шалыгин, 2013). Эти данные свидетельствуют о том, что протеазы объектов питания рыб разных экологических групп могут компенсировать крайне низкий уровень активности ферментов, синтезируемых поджелудочной железой и функционирующих в кишечнике консументов в зоне низких температур и кислых значений pH (Кузьмина, 2005). Поскольку значения оптимума pH протеаз, синтезируемых гепатопанкреасом рыб

(9-11) лежат значительно выше рН энтеральной среды (7-8), низкие величины оптимума рН протеаз энтеральной микробиоты (5-8) могут рассматриваться, как адаптации, позволяющие гидролизовать белковые компоненты пищи в широком диапазоне значений рН (Кузьмина и др., 2014 а,б, 2015, 2016; Золотарева, 2015). При исследовании раздельного и комплексного влияния температуры и рН на уровень казеинлитической активности энтеральной микробиоты наибольшие эффекты у рыб разных видов выявлены при бифакторном воздействии температуры и рН (Кузьмина, Скворцова, 2002; Кузьмина, Первушина, 2004). Также важно, что в случае объектов питания в зоне низких температур более эффективны собственные гемоглобинлитические протеазы, в то время как в случае микробиоты – казеинлитические трипсиноподобные протеазы. Это обстоятельство имеет большое значение для всего комплекса процессов, обеспечивающих деполимеризацию объектов питания рыб, так как способствует более полному гидролизу белковых компонентов тканей жертвы и снижению энергетических затрат консументов на синтез собственных ферментов. При этом протеазы, функционирующие в кишечнике рыб из естественных водоемов, в большей степени адаптированы к функционированию при низких температурах, чем таковые рыб из искусственных экосистем (Шалыгин, 2013).

К сожалению, в настоящее время нет методов корректной количественной оценки роли симбионтного пищеварения в процессах пищеварения консументов. Это в первую очередь связано с необходимостью наращивать массу микроорганизмов для определения активности гидролаз, а также разным пулом гидролаз, синтезируемых разными видами микроорганизмов. Вместе с тем поиск методов адекватной оценки вклада ферментов энтеральной микробиоты исключительно важен не только для углубления представлений о роли симбионтного пищеварения в процессах ассимиляции пищи и реализации трансформационной функции пищеварительных гидролаз, но и для выяснения роли микробиоты в процессах саморегуляции, лежащих в основе сложных форм адаптивной регуляции пищеварительной функции. Помимо этого, данные, касающиеся характеристик ферментов трофических партнеров и симбионтной микрофлоры, позволят количественно охарактеризовать молекулярные аспекты трофических взаимоотношений гидробионтов в экосистемах разного типа (Кузьмина, 2005, 2015).

Если роль ферментов жертвы и энтеральной микробиоты в увеличении эффективности начальных этапов ассимиляции пищи с той или иной долей погрешности оценить возможно, то уменьшение стоимости процессов пищеварения за счет реализующих ее элементов в настоящее время можно представить лишь в самом общем виде. Вместе с тем отсутствие полифункциональности потребовало бы от организма дополнительных затрат энергии, что существенно повлияло бы на характер и тем-

пы эволюции. Также важную роль играет соответствие жирнокислотного состава липидов различных тканей трофических партнеров. Последнее связано с тем, что поддержание высокой проницаемости мембран и быстрой передачи информации в условиях низких температур обеспечивается увеличением в составе различных липидов мембран полиненасыщенных жирных кислот, а процессы десатурации насыщенных жирных кислот требует дополнительных энергетических затрат консумента (Крепс, 1981; Кузьмина, 2005).

Особо следует отметить, что вклад ферментов жертвы в процессы пищеварения консумента зависит не только от физиолого-биохимических особенностей трофических партнеров, но и от физико-химических особенностей их среды обитания. Исследование в единых методических условиях активности одноименных гидролаз у рыб из водоемов, расположенных в разных географических зонах, позволило продемонстрировать влияние климатических условий, обуславливающих состав кормовой базы и микробиоты, на процессы пищеварения у рыб. В частности, показано, что активность протеаз и гликозидаз слизистой оболочки кишечника и химуса у массовых видов рыб из Кучурганского водохранилища, как правило, выше, чем у рыб из Рыбинского водохранилища, что обусловлено более высокой температурой воды и лучшей кормовой базой. Сопоставление активности гликозидаз и протеаз кишечной микрофлоры у рыб, различающихся по характеру питания, позволило распространить это утверждение и на энтеральную микробиоту. При этом выявлена значительная роль не только энтеральной микробиоты, но и микрофлоры, ассоциированной с покровами и различными тканями объектов питания рыб в процессах деградации белковых компонентов пищи рыб.

Важно отметить, что физико-химические условия, прежде всего температура среды обитания и спектр питания рыб при стандартных значениях pH в основном влияют на активность ферментов пищеварительного тракта, обусловленную главным образом интенсивностью их синтеза. Хотя есть сведения о том, что активность протеаз слизистой оболочки кишечника и химуса слабо зависит от типа питания рыб (Chakrabarti et al., 1995; Chan et al., 2004; Соловьев, 2011), в большинстве работ подчеркивается, что активность пищеварительных ферментов в значительной степени отражает пищевую активность и спектр питания рыб (Коштоянц, 1950; Barrington, 1957; Kapoor et al., 1975; Fange, Grove, 1979; Kuz'mina, 2008). Это утверждение в наибольшей степени относится к активности гликозидаз пищеварительного тракта рыб (Кузьмина, 1985, 2005, 2015; Уголев, Кузьмина, 1993; Hidalgo et al., 1999; Ji et al., 2012).

При этом не только уровень активности ферментов, гидролизующих одни и те же субстраты, но и характеристики ферментов рыб зависят от географического положения водоемов. В равной мере это относится к характеристикам ферментов энтеральной микробиоты. Как показывают

приведенные в монографии данные, водоемы, в которых обитают исследованные гидробионты, значительно отличаются не только по температуре воды, но и по целому ряду гидрологических и гидрохимических характеристик. Эти различия, а также продолжительная раздельная эволюция гидроэкосистем, входящих в бассейн Волги и Днестра, завершившаяся к настоящему времени созданием каскада волжских и Кучурганского водохранилищ, не могли не отразиться на структуре и функционировании населяющих их гидробионтов. Действительно, видовой состав и численность представителей флоры и фауны, в значительной мере составляющих кормовую базу рыб, в указанных водоемах различны, что отражается на функционировании ферментных систем пищеварительного тракта рыб.

Также важно отметить, что имеющиеся данные свидетельствуют о значительном сходстве характера влияния pH на активность протеаз слизистой оболочки кишечника у рыб разных видов. При этом отмечается низкая активность протеаз в зоне кислых значений pH и высокая – в зоне щелочных значений pH (Chen et al., 2006; Коростелев, 2006; Неваленный и др., 2011; Ji et al., 2012; Бедняков, 2014). Полученные результаты хорошо согласуются со сведениями об оптимуме pH трипсина и химотрипсина в зоне щелочных значений pH (Yoshinaka et al., 1984; García-Carreo et al., 2002; Hau, Benjakul, 2006). Сопоставление pH-зависимости гидролаз, функционирующих в кишечнике консументов, потенциальных объектов питания рыб, а также их сопутствующей и энтеральной микробиоты, позволило обнаружить ряд не известных ранее закономерностей. Прежде всего, следует отметить выявленную вариабельность оптимума pH протеаз энтеральной микробиоты, выделенной из кишечника рыб разных видов. Если протеазы, синтезируемые поджелудочной железой рыб, как правило, имеют оптимум pH в зоне 9-11, то микробиоты – в более широком диапазоне значений pH, в том числе при pH 5.0 и 6.0. Наблюдаемая вариабельность оптимумов pH протеаз энтеральной микробиоты может быть обусловлена как различным соотношением отдельных видов микроорганизмов, так и разной конформационной пластичностью протеаз, синтезируемых разными видами микроорганизмов. Последнее обеспечивает адаптационную пластичность и эффективность пищеварительного процесса у рыб в разных экологических условиях.

Для процессов пищеварения у рыб особенно важно, что ферменты энтеральной микробиоты, потенциальных объектов питания и сопутствующей микробиоты, как правило, более устойчивы к воздействию низких значений температуры и pH по сравнению с одноименными гидролазами рыб. Эти факты подтверждают предположение о том, что протеазы микробиоты и потенциальных объектов питания рыб, особенно бентофагов, не имеющих желудка, могут компенсировать низкую активность ферментов слизистой оболочки кишечника в зоне низких зна-

чений pH и тем самым снижать энергетические и пластические затраты рыб на синтез собственных ферментов (Уголев, Кузьмина, 1993, Кузьмина, 2005). Наконец, важно отметить, что вариабельность температурных и pH зависимых характеристик протеаз потенциальных объектов питания рыб и микробиоты, как энтеральной, так и сопутствующей, является исключительно тонким механизмом, играющим важную роль в системе адаптаций, позволяющих рыбам разных видов эффективно осваивать кормовую базу водоемов, расположенных как в пределах одной, так и разных географических зон. Последнее исключительно важно для процессов саморегуляции, лежащих в основе сложных форм адаптивной регуляции пищеварительной функции (Кузьмина, 1997; 2001). Следовательно, представленные данные расширяют представления о молекулярных основах взаимоотношений трофических партнеров в различных водных экосистемах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алекин О.А. Основы гидрохимии. Л.: Гидрометеиздат. 1970. 444 с.
- Аминева В.А., Яржомбек А.А. Физиология рыб. Легкая и пищевая промышленность. 1984. 202 с.
- Антонов В.К. Химия протеолиза. М.: Наука. 1983. 367 с.
- Баздеркина С.А. Эколого-физиологическая характеристика микрофлоры пищеварительной системы карповых рыб при выращивании на теплых водах // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Борок. 1992. 17 с.
- Безбородов А.М., Астапович И.И. Секреция ферментов у микроорганизмов. М.: Наука. 1984. 70 с.
- Баканов А.И. О некоторых методологических вопросах применения системного подхода для изучения структур водных экосистем // Биол. внутр. вод. 2000. № 2. С. 5-19.
- Барнс Р., Кейлоу П., Олив П., Голдинг Д. Беспозвоночные. Новый обобщенный подход. М.: Мир. 1992. 583 с.
- Берман Ш.А., Саленице И.К. Пристеночное пищеварение у рыб. Вopr. ихтиологии. 1966. Т. 6. вып.4 (41). С. 720-724.
- Берлунд К., Сноа Б. Трансграничное диагностическое исследование бассейна р. Днестр Проект ОБСЕ/ЕЭК ООН: Трансграничное сотрудничество и устойчивое управление бассейном реки Днестр. [Электронный ресурс] 2005. 72с. Режим доступа: http://bergbendery.org/new_resources/water/supervising/dniester-osce.pdf.
- Богатыренко Е.А. Характеристика культивируемых гетеротрофов микробного сообщества кишечника дальневосточного трепанга *Apostichopus japonicus*: Автореф. дис. канд. биол. наук. Владивосток. 2013. 23 с.
- Богатый Д.П. Состояние зообентоса Дубоссарского водохранилища в 2010-2013 г.г. // Геоэкологические и биоэкологические проблемы Северного Причерноморья. Материалы V Международной научно-практической конференции 14 ноября 2014 г. Т.: Изд-во ПГУ. 2014. С. 32-33.
- Бурлаченко И.В. Актуальные вопросы безопасности комбикормов в аквакультуре рыб. М.: Изд. ВНИРО. 2008. 183 с.
- Бурмакин Е.В. Акклиматизация пресноводных рыб в СССР // Известия ГосНИОРХ. 1963. Т.53. 317 с.
- Буторин Н.В. Уровень Рыбинского водохранилища и его колебания (1948-1960 гг.) // Тр. Инст. Биол. водохр. АН СССР. Т. 5(8). М.-Л.: Изд-во АН СССР. 1963. С. 303-321.
- Буторин Н.В., Курдина Т.Н., Бакастов С.С. Температура воды и грунтов Рыбинского в-ща. Л.: Наука. 1982. 221с.
- Веригина И.А., Жолдасова И.М. Эколого-морфологические особенности пищеварительной системы костистых рыб. Ташкент: ФАН. 1982. 154 с.

Владимиров М.З., Тодераш И.К. Качественный состав и количественное развитие макрозообентоса // Биопродукционные процессы в водохранилищах-охладителях ТЭС. Кишинев: Штиинца. 1988. С. 130-138.

Володин В.М. Динамика структуры популяции леща *Abramis brama* (L.) (Cyprinidae) Рыбинского водохранилища // Современное состояние экосистемы Рыбинского водохранилища. Тр. ИБВВ АН СССР. Вып. 67 (70). СПб.: Гидрометеиздат. 1993. С. 233-251.

Высоцкая Р.У., Немова Н.Н. Лизосомы и лизосомальные ферменты рыб. М.: Наука. 2008. 284 с.

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. С. 18-24.

Гаджиева С.Б. Биохимическая характеристика кормовой ценности планктона и бентоса Мингечаурского и Варваринского водохранилищ. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Баку. 1974. 27 с.

Гальперин Ю.М., Лазарев П.И. Пищеварение и гомеостаз // Л.: Наука. 1986. 304 с.

Гейдеман Т.С. (Ред.). Кучурганский лиман-охладитель Молдавской ГРЭС Кишинев: Штиинца. 1973. 206 с.

Герасимов Ю.В. (Ред.). Рыбы Рыбинского водохранилища: популяционная динамика и экология. Ярославль: Филигрань. 2015. 418 с.

Герасимов Ю.В., Новиков Д.А. Ихтиомасса и распределение рыб в Рыбинском водохранилище // Экологические проблемы Верхней Волги. Ярославль: ИБВВ РАН. 2001. С. 194-202.

Гладышев М.И. Концепция биогеоценоза с позиций общей теории систем // Экология. 1990. Т. 4. С. 11-19.

Голованова И.Л. Некоторые характеристики транспорта углеводов в кишечнике рыб-бентофагов на примере леща и карпа: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л.. 1991. 23 с.

Голованова И.Л. Особенности транспорта углеводов в кишечнике пресноводных рыб // Физиол. журн. 1992. Т. 78. № 8. С. 151-157.

Голованова И.Л. Анализ моно-, би- и полифакторного воздействия температуры, рН и кадмия на пищеварительные карбогидразы рыб // Биол. внутр. вод. 1997. № 2. С. 58-64.

Голованова И.Л. Влияние природных и антропогенных факторов на активность карбогидраз молодёжи рыб // Биология внутренних вод. 2000. № 1. С. 132-137.

Голованова И.Л. Влияние природных и антропогенных факторов на гидролиз углеводов у рыб и объектов их питания. Автореф. дис. докт. биол. наук. 2006. СПб. 46 с.

Голованова И.Л., Кузьмина В.В. Транспорт нутриентов в кишечнике рыб // Биол. внутр. вод. 1998. № 2. С. 62-72.

Гончаренко Н. И. Фенотипические особенности популяций серебряного карася в низовьях Дуная и Днестра // Тез. межд. конф. Проблемы Сохранения Биоразнообразия Среднего и Нижнего Днестра, Кишинев: Изд. Societateae ecologica «BIOTICA», 1998. С. 34-36.

Горбатенький Г.Г., Бызгу С.Е. Характеристика основных абиотических факторов экосистемы водохранилища-охладителя Молдавской ГРЭС // Биопродукционные процессы в водохранилищах-охладителях ТЭС. Кишинев: Штиинца. 1988. С. 5-21.

Горомосова С.А., Шапиро А.З. Основные черты биохимии энергетического обмена мидий // М. Наука. 1989. 120 с.

Грефнер Н.М., Громова Л.В., Груздков А.А., Коммиссарчик Я. Ю. Культура клеток Сасо2 как модель кишечного эпителия для изучения транспорта гексоз // Цитология. 2012. Т. 54. № 4. С. 318-323.

Груздков А.А., Громова Л.В., Грефнер Н.М., Дмитриева Ю.В., Алексеева А.С., Коммиссарчик Я.Ю. Современные представления о механизмах и регуляции всасывания глюкозы в тонкой кишке // Всерос. конфер. Междунар. участ. «Современные проблемы физиологии высшей нервной деятельности, сенсорных и висцеральных систем», посвященная 90-летию со дня основания Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. СПб. 2015. С. 70-71.

Гусаков В.А. Видовой состав и распределение мейобентоса Волжского плеса Рыбинского водохранилища // Зооценозы водоемов Верхней Волги в условиях антропогенного воздействия. СПб.: Гидрометеиздат. 1993. С. 74-94.

Диксон М., Узбб Э. Ферменты. М.: Наука. 1982. Т.1. С. 235-259.

Дин Р. Процессы распада в клетке. М.: Мир, 1981. 120 с.

Догель В.А. Зоология беспозвоночных: Учебник для ун-тов. (Ред. Ю.И. Полянский) М.: Высшая школа. 1981. 606 с.

Егорова В.В., Иезуитова Н.Н., Тимофеева Е.Х., Гурман Э.Г., Щербаков Г.Г., Уголев А.М. Некоторые температурные характеристики и температурные адаптации ферментов, обеспечивающих мембранное пищеварение у пой-килотермных и гомойотермных животных // Журн. эволюц. биохим. физиол. 1974. Т. 26. № 9. С. 223-231.

Житенева Т.С. О питании леща в Рыбинском водохранилище. Труды Биологии станции Борок. МЛ.: Изд-во АН СССР. Вып. 3 1958. С. 259-272.

Заяц Д.В. Днестр // География. 2000. № 39. С. 26–31.

Законнов В.В., Зиминова Н.А. Балансы биогенных элементов в водохранилищах Верхней Волги // Взаимодействие между водой и седиментами в озерах и водохранилищах. Л.: Наука, 1984. С. 114–122.

Зозуля Л.В. Очистка и свойства пищеварительных ферментов белого толстолобика: Автореф. дис. ...канд. биол. наук. Ростов-на-Дону. 1996. 22 с.

Золотарева Г.В. Влияние среды обитания на активность и рН-зависимость пищеварительных гидролаз у рыб, их потенциальных объектов питания и микробиоты: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Астрахань: Госун-т. 2015. 23 с.

Золотарева Г.В., Кузьмина В. В., Залевская Т.Г., Шептицкий В.А. Активность протеиназ химуса и энтеральной микробиоты в естественном для кишечника рыб диапазоне рН // Probl. биол. продукт жив. 2013. № 2. С. 85-92.

Золотарева Г.В., Кузьмина В.В., Шептицкий В.А., Залевская Т.Г. Влияние рН на активность протеиназ слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у рыб с разным типом питания из Кучурганского водохранилища // Геоэкологические и биоэкологические проблемы северного

Причерноморья: Материалы V Междунар. науч.-практ. конф., 14 нояб. 2014 г., Приднестр. гос. ун-т им. Т.Г. Шевченко, 2014. С.92-95.

Золотарева Г.В., Кузьмина В.В., Шептицкий В.А. Активность протеиназ объектов питания и сопутствующей микробиоты рыб-бентофагов в широком диапазоне рН // Проблемы биологии продуктивных животных. 2015. № 1. С. 61-69.

Зубкова Л.А. Бактериальная флора органов и тканей сазана (*Cyprinus carpio* Linné) // Труды КаспНИРХ. Т. 20. 1965. С. 117-121.

Зубкова Л.А. К вопросу о нормальной микрофлоре Волжского судака (*Lucioperca lucioperca*) // Труды КаспНИРХ. Т. 22. 1966. С. 81-85.

Зубкова Е.И., Багрин Н.И., Зубкова Н.Н., Богонин З.С., Мунжиу О.В., Бородин Н.Н., Билецки Л.И., Лебеденко Л.Н. Гидроэкологические исследования днестра в пределах молдовы, 2008-2009 годы // Международное сотрудничество и управление трансграничным бассейном для оздоровления реки Днестр. Матер. межд. конф. Одесса, 30 сентября -1 октября 2009г. Одесса. С. 77- 82.

Зубкова Е.И., Зубкова Н.Н., Бойченко Н.И., Богонина З.С. Мониторинг качества воды и рыб Днестра // Вода и здоровье-2000: Сб. научн. статей. Одесса, 2000. С.60-63.

Зубкова Е.И., Багрин Н.И., Зубкова Н.Н., Богонин З.С., Мунжиу О.В., Бородин Н.Н., Билецки Л.И., Лебеденко Л.Н. Гидроэкологические исследования днестра в пределах молдовы, 2008-2009 годы // Международное сотрудничество и управление трансграничным бассейном для оздоровления реки Днестр. Матер. межд. конф. Одесса, 30 сентября -1 октября 2009г. Одесса. С. 77- 82.

Иванова М.Н. Сезонные изменения в питании хищных рыб Рыбинского водохранилища // Вопр. ихтиол. 1965. Т. 5. Вып. 1 (34). С. 127-134.

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.: Наука. 1978. С. 55-77.

Ивлев В.С. Экспериментальная экология питания рыб. Киев: Наукова думка. 1977. 272 с.

Извекова Г.И. Гидролитическая активность ферментов микрофлоры, ассоциированной с пищеварительно-транспортными поверхностями кишечника и паразитирующего в нем *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda, Pseudophyllidae) // Ж. эволюц. биохим. физиол. 2005. Т. 41. № 2. С. 146-153.

Извекова Г.И. Функциональное значение микрофлоры кишечника для рыб и паразитирующих в их пищеварительном тракте цестод // Усп. совр. биол. 2008. Т. 128. № 5. С. 497-507.

Извекова Г.И., Ивеков Е.И., Плотников А.О. Симбионтная микрофлора рыб разных экологических групп // Изв. РАН. Сер. Биологическая. 2007. № 6. С. 1-10.

Извекова Г.И., Плотников А.О. Гидролитическая активность ферментов симбионтной микрофлоры кишечника щуки (*Esox Lucius* L.). Биол. Внутр. Вод. 2011. Т. 4. № 1. С. 72-77.

Извекова Г.И., Соловьев М.М. Активность пищеварительных гидролаз рыб при заражении цестодами // Усп. совр. биол. 2012. Т. 132, № 6, С. 601-610.

- Ильина И.Д. Физиолого-биохимические аспекты белкового питания личинок карпа: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М. 1986. 23 с.
- Ильина И.Д., Турецкий В.И. Развитие пищеварительной функции у рыб // Вопр. ихтиологии. 1987. Т. 27. № 5. С. 835-843.
- Касумян А.О. Обонятельная система рыб. 2002. М: МГУ. 87с.
- Касумян А.О. Боковая линия рыб. 2003. М: МГУ. 93с.
- Касумян А.О. Тактильная рецепция и поведение рыб: учебное пособие к курсу лекций «Физиология рыб». 2011. М: ООО «МАКС Пресс». 162 с.
- Капитальчук М.В., Иожица М.А. Железо, никель, селен, кадмий в поверхностных водах Кучурганской степной равнины // Матер. IV межд. науч.-практ. конф. Геоэкологические и биоэкологические проблемы Северного Причерноморья, Тирасполь: Изд. Приднестр. ун-та, 2012. С. 131–135.
- Кашинская Е.Н., Суханова Е.В., Соловьев М.М., Извекова Г.И. Разнообразие симбионтной микрофлоры кишечника некоторых видов рыб оз. Чаны // Матер. Всерос. конф. с межд. участием «Физиологические, биохимические и молекулярно-генетические механизмы адаптации гидробионтов» (Борок, 22 сентября 2012г) Изд. Борок. 2012. С. 176-180.
- Комов В.Т. Природное и антропогенное закисление малых озер Северо-Запада России: причины, последствия, прогноз // Автореф. дис. ... докт. биол. наук. СПб. 1999. 45 с.
- Кожухарь И.Ф., Бызгу С.Е. Химический состав иловых растворов донных отложений Кучурганского лимана (сообщение второе) // Биологические ресурсы водоемов Молдавии. Кишинев, 1972. Вып. 10. С. 17-24.
- Коновалов Ю.Д. Активность протеиназ на ранних этапах развития карпа // Журн. эволюц. биохим. физиол. 1978. Т. 12, № 1. – С. 24-28.
- Коновалов Ю.Д. Свойства, локализация, роль и возможные пути регуляции активности протеиназ и аминотрансфераз в раннем онтогенезе рыб // Усп. совр. биол. Т. 101, вып. 3. М.: Наука. 1986. С. 359-373.
- Коновалов Ю.Д., Местечкина А.Я. Активность пептидгидролаз в эмбриональном развитии карпа // Онтогенез. 1975. Вып. 6. № 2. С. 201-205.
- Копылов А.И., Косолапов Д.Б. Микробная «петля» в планктонных сообществах морских и пресноводных экосистем. Ижевск: КнигоГрад. 2011. 332 с.
- Коржув П.А. Влияние высокой температуры на трипсин теплокровных и холоднокровных животных // Физиол. журн. 1936. Т.21. № 3. С. 433-437.
- Коржув П.А., Шаркова Л.Б. Об особенностях пищеварения каспийского осетра // Обмен веществ и биохимия рыб. М.: Наука, 1967. С. 205-209.
- Корнева Ж.В., Плотников А.О. Симбионтная микрофлора, колонизирующая тегумент *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda) и кишечника его хозяина – щуки // Паразитология. 2006. Т. 40. № 6. С. 535-546.
- Корнева Ж.В., Бедняков Д.А. Сравнительная характеристика ультраструктуры кишечного эпителия осетровых рыб // Биол. внутр. вод. 2011. № 4. С. 48–57.
- Косолапов Д.Б. Анаэробные процессы деструкции органического вещества в донных отложениях Рыбинского водохранилища и оз. Плещеево: Автореф. дис... канд. биол. наук. Борок. 1996. 24 с.
- Коштыянец Х.С. Основы сравнительной физиологии. Т. 1. М.: Изд. МГУ. 1950.

Коштовац Х.С., Коржув П.А. Материалы к сравнительной физиологии пищеварительных ферментов. I: Трипсин холоднокровных и теплокровных животных: температурный оптимум и теплоустойчивость // Зоол. журн. 1934. Т. 13. Вып. 1. С. 71-82.

Краюхин Б.В. Физиология пищеварения пресноводных костистых рыб. М.: Изд. АН СССР. 1963. 140 с.

Крепс Е.М. Липиды клеточных мембран. Эволюция липидов мозга. Адаптационная функция липидов // Л.: Наука. 1981. 339 с.

Крепс О.И., Усатый М.А., Шантефрац Н.Г., Усатый А.М., Усатый Н. Изменения биоразнообразия ихтиофауны в процессе экологических сукцессий Среднего и Нижнего Днестра // Геоэкологические и биоэкологические проблемы Северного Причерноморья. Материалы V Международной научно-практической конференции 14 ноября 2014 г. Т.: Изд-во ПГУ. 2014. С. 140-143.

Куасси Э.А., Сопрунова О.Б. Некоторые особенности бактериальной микрофлоры *Distichodus rostratus* озера Таабо (Республика Кот-д'Ивуар). // Вестник АГТУ. Сер. Рыбное хозяйство. 2011. Вып. 1. С. 31-35.

Куваева И.В. Обмен веществ организма и кишечная микрофлора. М.: Медицина. 1976. 248 с.

Кузьмина В.В. Применение метода последовательной десорбции α -амилазы с отрезка кишки при изучении мембранного пищеварения у рыб // Вопр. ихтиологии. 1976. Т. 16. Вып. 5. № 100. С. 944-946.

Кузьмина В.В. Особенности мембранного пищеварения у пресноводных костистых рыб // Вопр. ихтиологии. 1977. Т. 17. Вып. 1. № 102. С. 111-119.

Кузьмина В.В. Мембранное пищеварение у круглоротых и рыб // Вопр. Ихтиологии. 1978. Т. 18. Вып. 4. № 111. С. 684-696.

Кузьмина В.В. Распределение активности α -амилазы вдоль кишечника у пресноводных костистых рыб // Вопр. ихтиологии. 1979. Т. 19. Вып. 4. № 117. С. 698-709.

Кузьмина В.В. Биохимический состав и калорийность кормовых объектов рыб Рыбинского водохранилища // Деп. ВИНТИ 21.12.81. РЖ Биология. 1981. № 5922-5981 39 с.

Кузьмина В.В. Об оценке биохимического состава и калорийности основных энергетических компонентов кормовых объектов рыб // Ошибки методов гидробиологических исследований. Рыбинск. 1982. С. 135-143.

Кузьмина В.В. Влияние температуры на рН-функцию фосфатаз, функционирующих в кишечнике рыб // Вопр. ихтиологии. 1984. Т. 24. в. 1. С. 151-157.

Кузьмина В.В. Температурные адаптации ферментов, осуществляющих мембранное пищеварение у пресноводных костистых рыб // Журн. общей биол. 1985. Т. 46. № 6. С. 824-837.

Кузьмина В.В. Общие закономерности мембранного пищеварения у рыб и его адаптивные перестройки: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Л. 1986. 39 с.

Кузьмина В.В. Биоценоотические аспекты физиологии питания гидробионтов // Экология. 1990 а. № 5. С. 52-58.

Кузьмина В.В. Влияние температуры на уровень общей протеолитической активности пищеварительного тракта у некоторых видов пресноводных костистых рыб // Вопр. ихтиологии. 1990 б. Т. 30. Вып. 4. С. 668-677.

Кузьмина В.В. Сравнительная физиология мембранного пищеварения // Физиол.журн. им. И.М.Сеченова. 1992. № 8. С. 145-150.

Кузьмина В.В. Роль индуцированного аутолиза в процессе пищеварения рыб // Физиол. ж. им. И. М. Сеченова. 1993. Т. 79. № 6. С. 102-108.

Кузьмина В.В. Трофология рыб (физиолого-биохимические аспекты) // Биол. внутр. вод. 1996. № 1. С.86-93.

Кузьмина В.В. Оценка полифакторных воздействий на активность протеиназ слизистой кишечника рыб // Биол. внутр. вод. 1997. № 2. С. 50-57.

Кузьмина В.В. Влияние температуры на пищеварительные гидролазы беспозвоночных животных // Журн. эвол. биохим. физиол. 1999. Т. 35. № 1. С. 15-19.

Кузьмина В.В. Вклад индуцированного аутолиза в процессы пищеварения вторичных консументов на примере гидробионтов // Докл. РАН. 2000. Т. 373. № 1. С. 132-134.

Кузьмина В.В. Физиологические адаптации (на примере процесса экзотрофии у рыб) // Журн. эволюц. биохим. физиол. 2001. Т. 37. № 3. С. 215-224.

Кузьмина В.В. Физиолого-биохимические основы экзотрофии рыб. М.: Наука. 2005. 300 с.

Кузьмина В.В. Физиология питания рыб. Влияние внешних и внутренних факторов (Ред. Ю.В. Герасимов). Борок: ООО Принтхаус. 2008. 276 с.

Кузьмина В.В. Процессы экзотрофии у рыб. Организация. Регуляция. Адаптации. Москва: Полиграф-Плюс. 2015. 260 с.

Кузьмина В.В., Гельман А.Г. Особенности становления пищеварительной функции рыб // Вопр. ихтиол. 1998. Т. 38. № 1. С. 113-122.

Кузьмина В.В., Голованова И.Л. Влияние антропогенных факторов на активность пищеварительных ферментов рыб // Биол. внутр. вод. 1997. № 3. С. 72-77.

Кузьмина В.В., Голованова И.Л. Вклад карбогидраз объектов питания в процессы пищеварения хищных рыб // Вопр. ихтиол. 2001 Т. 41. № 5. С. 691-698.

Кузьмина В.В., Извекова Г.И. Механизмы транспорта углеводов в кишечнике пресноводных костистых рыб // Биол.внутр.вод. Информ.бюлл. 1988 а. № 79. С. 42-44.

Кузьмина В.В., Извекова Г.И. Сравнительная характеристика некоторых особенностей транспорта углеводов у цестод и в кишечнике их хозяев рыб // Биол.внутр.вод. Информ.бюлл. 1988 б. № 79. С. 38-41.

Кузьмина В.В., Кузьмина Е.Г. Уровень общей протеолитической активности у некоторых видов рыб Волжского бассейна // Вопр. ихтиологии. 1990. Т.30. №1. С.119-125.

Кузьмина В.В., Неваленный А.Н. Влияние концентрации водородных ионов на активность карбогидраз пищеварительного тракта рыб // Вопр. ихтиол. 1983. Т. 23. № 3. С. 481-490.

Кузьмина В.В., Первушина К.А. Роль протеиназ энтеральной микробиоты в температурных адаптациях рыб и гельминтов // ДАН. 2003. Т. 391. № 1. С. 160-164.

Кузьмина В.В., Первушина К.А. Влияние температуры и pH на активность протеиназ слизистой оболочки кишечника и энтеральной микробиоты рыб // Журн. эволюц. биохим. физиол. 2004. Т. 40. № 3. С.214-219.

Кузьмина В.В., Перевозчикова О.Б. Роль экзоферментов в процессах пищеварения рыб // Биол. внутр. вод. Информ. бюл. 1989. № 80. С. 60-63.

Кузьмина В.В., Скворцова Е.Г. Активность протеолитических ферментов потенциальных объектов питания хищных рыб. Влияние природных и антропогенных факторов // Вопр. Ихтиологии. 2001. Т. 41. № 2. С. 239-248.

Кузьмина В.В., Скворцова Е.Г. Бактерии желудочно-кишечного тракта и их роль в процессах пищеварения у рыб // Усп. совр. биол. 2002. Т. 122. № 6. С. 569-579.

Кузьмина В.В., Скворцова Е.Г. Вклад протеолитических ферментов объектов питания в процессы пищеварения хищных рыб // Вопр. ихтиологии. 2003. Т. 43. № 2 С. 209-214.

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) // Биол.внутр.вод. Информ. бюлл. 1990. № 88. С. 85-92.

Кузьмина В.В., Ушакова Н.В. Протеиназы тюльки *Clupeonella cultriventris* (Nordmann) Рыбинского водохранилища // Вопр. ихтиологии. 2009. Т. 49. № 2 С. 277-283.

Кузьмина В.В., Ушакова Н.В. Протеиназы потенциальных объектов питания рыб // Журн. эволюц. биохим. физиол. 2011. Т.47. № 2. С. 142-150.

Кузьмина В.В., Цветкова В.А. Индуцированный аутолиз: роль в процессах пищеварения рыб // Биол. внутр. вод. 2001. № 3. С. 3-10.

Кузьмина В.В. Голованова И.Л., Скворцова Е.Г. Вклад ферментов кормовых объектов в процессы пищеварения рыб // Вопр. ихтиол. 1999. Т.39. № 3.С. 384-393.

Кузьмина В.В., Голованова И.Л., Скворцова Е.Г. Методические подходы к оценке вклада ферментов объектов питания в процессы пищеварения рыб // Вопр. ихтиол. 2003. Т.43. № 5. С. 705-710.

Кузьмина В.В. Голованова И.Л., Скворцова Е.Г. Вклад протеиназ и карбогидраз в процессы пищеварения планкто- и бентогагов // Биол. внутр. вод. 2004. № 1. С. 99-107.

Кузьмина В.В., Золотарева Г.В., Шентицкий В.А. Влияние условий среды обитания на pH-зависимость протеиназ и гликозидаз кишечной микрофлоры караса // Экология. 2014а. № 4. С. 301-308.

Кузьмина В.В., Золотарева Г.В., Шентицкий В.А. Влияние pH на активность протеиназ слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у рыб из Кучурганского водохранилища // Вопр. ихтиологии. 2014б. Т. 54. № 5. С. 599-606.

Кузьмина В.В., Золотарева Г.В., Шентицкий В.А. Активность протеиназ объектов питания и сопутствующей микробиоты у рыб-ихтиофагов в широком диапазоне pH // Проблемы биологии продуктивных животных. 2015а. № 1. С. 42-52.

Кузьмина В.В., Золотарева Г.В., Шептицкий В.А. Влияние pH на активность гликозидаз потенциальных объектов питания бентофагов и сопутствующей микрофлоры // Биол. Внутр. Вод. 2015 б. № 2. С. 85-90.

Кузьмина В.В., Золотарева Г.В., Шептицкий В.А. Влияние pH на активность гликозидаз потенциальных объектов питания бентофагов и сопутствующей микрофлоры // Биол. Внутр. Вод. 2015 б. № 2. С. 85-90.

Кузьмина В.В., Ландсберг Д.Е., Голованова И.Л., Извекова Г.И. Изменение активности карбогидраз в течение онтогенеза щуки (*Esox lucius* L.) // Биол. внутр. вод. Информ. бюлл. 1982. № 54. С. 58-61.

Кузьмина В.В., Латов В.К., Пасконова Е.А. Молекулярно-массовые характеристики белковых компонентов некоторых кормовых объектов рыб // Биол. внутр. вод. Информ. бюлл. 1990. № 88. С. 73-77.

Кузьмина В.В., Николаичев К.А., Скворцова Е.Г. Активность и температурные характеристики протеиназ пищеварительного тракта полосатого окуня *Morone saxatilis* (Walbaum) // Пробл. биол. продукт жив. 2013. № 2. С. 93-101.

Кузьмина В.В., Скворцова Е.Г., Шалыгин М.В. Влияние температуры на активность протеиназ химуса и слизистой оболочки кишечника рыб разных экологических групп // Журн. эволюц. биохим. физиол. 2008. Т. 44. С. 482-487.

Кузьмина В.В., Скворцова Е.Г., Шалыгин М.В. Влияние температуры на активность протеиназ энтеральной микробиоты и слизистой оболочки кишечника рыб разных экологических групп // Журн. эволюц. биохим. физиол. 2012а. Т. 48. № 2. С. 120-125.

Кузьмина В.В., Шалыгин М.В., Скворцова Е.Г. Влияние температуры на активность протеиназ слизистой оболочки кишечника, химуса и энтеральной микробиоты у налима и щуки // Проблемы биол. продукт. животных. 2012б. № 3. С. 22-29.

Куперман Б.И., Кузьмина В.В. Ультраструктура кишечного эпителия щуки *Esox lucius* L. // Вopr. ихтиологии. 1984. Т. 24. Вып. 3. С. 431-437.

Куперман Б.И., Кузьмина В.В., Веригина И.А. Ультраструктура кишечного эпителия налима *Lota lota* (L.) (Gadidae) // Вopr. ихтиологии. 1985. Т. 25. Вып. 2. С. 275-282.

Кушак Р.И. Пищеварительно-транспортная система энтероцитов // Рига: Зинатне. 1983. 234 с.

Лазарева В.И., Лебедева И.М., Овчинникова Н.К. Изменение в сообществе зоопланктона Рыбинского водохранилища за 40 лет // Биол. внутр. вод. 2001. № 4. С. 62-73.

Лазарева В.И. Структура и динамика зоопланктона Рыбинского водохранилища. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2010. 183 с.

Лешану М.Г., Сокиркэ В.М., Пурчик В.Ф. Экспедиция «Днестр-2012» – мониторинг современного состояния экосистем Днестра // Геоэкологические и биоэкологические проблемы Северного Причерноморья. Материалы IV Международной научно-практической конференции 9-10 ноября 2012 г. Т.: Изд-во ПГУ. 2012. С. 173-175.

Литвинов А.С., Законнова А.В. Термический режим Рыбинского водохранилища при глобальном потеплении // Метеор. гидрол. 2012. № 9. С. 91-96.

Лизосомы. В кн.: Методы исследования (ред. Дингл Дж). М.: Мир. 1980. 342 с.

Лубянскене В., Ястюгинене Р. Микроорганизмы пищеварительного тракта плотвы озера Друкшяй и их активность // *Ekologija (Vilnius)*. 1995. № 3. С. 17-22.

Лубянскене В., Янкавичус К. Роль микроорганизмов пищеварительного тракта в питании прудовых рыб (12. Микрофлора пищеварительного тракта рыб при естественном питании) // *Тр. АН ЛитССР*. 1975. Сер. В. Т. 4. № 72. С. 77-86.

Лубянскене В., Вирбицкас Ю., Янкавичус К., Лясаускене Л., Грибаускене В., Тряпшине О., Юзоленене Ю., Ястюгенене Р., Бабянскас М., Янкаускене Р. Облигатный симбиоз микрофлоры пищеварительного тракта и организма. Вильнюс: Моклас. 1989. 191 с.

Луферова Л.А., Монаков А.В. Зоопланктон в Рыбинском водохранилище в 1956-1963 гг // *Планктон и бентос водоемов*. М.: Изд. АН СССР. 1966. С. 34-40.

Лушников Е.Ф., Шапиро Н. А. Аутолиз. Морфология и механизмы развития. М. Медицина. 1974. 199 с.

Лысенко Л.А., Немова Н.Н., Канцерова Н.П. Протеолитическая регуляция биологических процессов. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 2011. 482 с.

Марковский Ю.М. Фауна беспозвоночных низовьев рек Украины: условия ее существования и пути использования. Ч. 1. Водоемы дельты Днестра и Днестровский лиман. К.: Изд-во АН Украины. 1953. 196 с

Мединец В.И., Конарева О.П., Ковалева Н.В. и др. Результаты исследовательского мониторинга в районе бассейна Нижнего Днестра // *Мат-лы. межд. конф. Управление бассейном трансграничной реки Днестр и Водная Рамочная Директива Европейского Союза*, Кишинев: Изд. Есо-TIRAS, 2008. С. 192-195.

Мелеховец С.Г., Погожий Л.М., Усатый М.А., Кренис О.И., Мошу А.Я., Стругуля О.В., Усатый А.М. Биоэкологические проблемы Кучурганского водохранилища и пути их решения в современной экологической ситуации // *Геоэкологические и биоэкологические проблемы Северного Причерноморья. Материалы III Международной научно-практической конференции 22-23 октября 2009 г.* Тирасполь: Изд-во ПГУ. 2009. С. 128-131.

Мелиян Р., Кожушко А. Отчет совместной молдовоукраинской гидрохимической экспедиции 2011 года на реке Днестр (проект "Днестр III"). Руководители ОБСЕ, ЕЭК ООН и ЮНЕП в рамках инициативы "Окружающая среда и безопасность" (ENVSEC). 2012. 78 с. Режим доступа: <http://dnriester.org/wpcontent/uploads/2012/03/ Report Dniester expedition. 2011. FINAL>.

Мечников И.И. О внутриклеточном пищеварении у кишечнополостных. Акад. собр. соч. М.: Изд. мед. лит. (1880) 1954. Т. 5. С. 9-10.

Михеев В.Н. Размерная селективность питания рыб: эффекты неоднородного размещения корма и конфликт мотиваций // *Изд. МГУ*. 2001. С. 113-124.

Михеев В.Н. Неоднородность среды и трофические отношения у рыб. М: Наука. 2006. 191 с.

Монаков А.В. Питание пресноводных беспозвоночных. М.: Типография Россельхозакадемии. 1998. 322 с.

- Морозов И.А., Лысиков Ю.А., Питран В.В., Хвыля С.И. Всасывание и секреция в тонкой кишке (субмикроскопические аспекты). М.: Медицина. 1988. 224 с.
- Мордухай-Болтовской Ф.Д. Проблема влияния тепловых и атомных электростанций на гидробиологический режим водоемов (обзор) // Экология организмов водохранилищ-охладителей. Л.: Наука. 1975. С. 7-69.
- Мордухай-Болтовской Ф.Д. Беспозвоночные // Волга и ее жизнь. (Ред. Н.В. Буторин). Л.: Наука. 1978. С. 153-202.
- Мосс Д.В., Баттерворт П.Дж. Энзимология и медицина. М.: Медицина. 1978. 288 с.
- Нартыш О.М. Молдавская ГРЭС: дела и люди (Исторический очерк). Днестровск: ГИПП «Типар». 1998. 120 с.
- Неваленный А.Н., Бедняков Д.А., Новинский В.Ю. Комплексное исследование особенностей процессов мембранного пищеварения у севрюги. // Вестник АГТУ. Сер. рыб. хоз. 2011. № 2. С. 93-98.
- Неваленный А. Н., Туктаров А. В., Бедняков Д. А. Функциональная организация и адаптивная регуляция процессов пищеварения у рыб. Астрахань: Изд. АГТУ. 2003. 152 с.
- Немова Н.Н. Катепсины животных тканей // Экологическая биохимия животных. Петрозаводск. 1978. С. 76-88.
- Немова Н.Н. Внутриклеточные протеиназы в эколого-биохимических адаптациях у рыб : Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М.: Институт биохимии им. А. Н. Баха РАН 1992. 42 с.
- Немова Н.Н. Внутриклеточные протеолитические ферменты у рыб. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН. 1996. 104 с.
- Никольский Г.В. Частная ихтиология. М.: Советская наука. 1954. 458 с.
- Никольский Г.В. Теория динамики стада рыб. М.: Пищ. пром. 1974. 447 с.
- Николаичев К.А., Кузьмина В.В., Скворцова Е.Г. Активность и температурные характеристики протеиназ пищеварительного тракта стерляди *Acipenser ruthenus* (L.) // Пробл. биол. продукт. жив. 2014. № 1. С. 33-41.
- Номенклатура ферментов. (ред. А.Е. Браунштейн). М.: Производственно-издательский комбинат ВИНТИ. 1979. 321 с.
- Одум Ю. Основы экологии. М.: Мир. 1975. 740 с.
- Остроумова И.Н. Биологические основы кормления рыб. СПб: ГосНИОРХ. 2001. 372 с.
- Павлов Д.С., Касумян А.О. Разнообразие рыб по характеру и способам питания (трофическая классификация рыб). М.: МГУ. 2002. 50 с.
- Панин Л.Е., Маянская Н.Н. Лизосомы: роль в адаптации и восстановлении. Новосибирск: Наука. 1987. 198 с.
- Пегель В.А. Физиология пищеварения рыб. Томск: Изд. Томского государственного университета. 1950. 200 с.
- Пегель В.А., Реморов В.А. Сравнительная характеристика амилолитической активности желудочно-кишечного тракта хищных и мирных рыб // Биохимические, фармакологические и токсикологические аспекты исследования адаптаций. Новосибирск. 1967. С. 83-86.

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. шк. Биол. науки. 1971. Т. 94. № 10. С. 30-33.

Плисецкая Э.М. Гормональная регуляция углеводного обмена у низших позвоночных. Л.: Наука. 1975. 215 с.

Плотников Г.К., Проскуряков М.Т. Пищеварительные ферменты осетровых рыб на ранних стадиях онтогенеза // Журн. эволюц. биохим. физиол. 1984. Т. 20. № 1. С. 21-25.

Поддубный А.Г. Экологическая топография популяций рыб в водохранилищах. Л.: Наука. 1971. 312 с.

Покровский А.А., Тутельян В.А. Лизосомы. М.: Наука. 1976. 382 с.

Пономарев С.В. Пономарева Е.Н. Биологические основы разведения осетровых и лососевых рыб на интенсивной основе. Астрахань: Изд-во АГТУ, 2003. 256 с.

Проссер Л., Браун Ф. Сравнительная физиология животных. М.: Мир, 1967. 766с.

Расс Т.С. Жизнь животных. Т. 4. ч. 1. М. Просвещение. 1971. 655 с.

Решетников Ю.С. (ред.) Аннотированный каталог круглоротых и рыб континентальных вод России. 1998. М.: Наука. 220 с.

Розенберг Г.С., Мозговой Д.П., Гелашвили Д.Б. Экология. Элементы теоретических конструкций современной экологии (Учебное пособие). Самара: Самарский научный центр РАН. 2000. 396 с.

Рощина Г.М. Особенности всасывания углеводов у некоторых видов костистых рыб // Журн. эволюц. биохим. физиол. 1981. Т. 17. №1. С. 93-94.

Рудченко А.Е. Суточная динамика интенсивности питания и общей протеолитической активности ферментов в организме некоторых видов рыб на ранних этапах онтогенеза // Молодёжь и наука: Сборник материалов VIII Всероссийской научно-технической конференции студентов, аспирантов и молодых учёных, посвященной 155-летию со дня рождения К. Э. Циолковского [Электронный ресурс]. Красноярск: Сибирский федеральный ун-т, 2012. Режим доступа: <http://conf.sfu-kras.ru/sites/mn2012/section31.html>, свободный.

Рыбинское водохранилище и его жизнь. Л.: Наука, 1972. 364 с.

Семенова Л.М. Некоторые данные по биологии *Bosmina coregoni* Barb в Рыбинском водохранилище // Биотические и трофические связи пресноводных и рыб.- М.: Изд. АН СССР.1968. С. 21-27.

Скворцова Е.Г. Роль протениаз потенциальных объектов питания и энтеральной микробиоты в процессах пищеварения рыб. Дисс. ... канд. биол. наук. Борок: ИБВВ РАН. 2002. 192 с.

Слынько Ю.В., Терещенко В.Г. Рыбы пресных вод Понто-Каспийского бассейна (Разнообразие, фауногенез, динамика популяций, механизмы адаптации). М.: ПОЛИГРАФ-ПЛЮС. 2014. 328 с.

Смирнова Л.Ф. О некоторых особенностях всасывания аминокислот у костистых рыб // Журн. эволюц. биохим. физиол. 1981. Т. 17. № 1. С. 94-95.

Соловьев М.М., Кашинская Е.Н., Извекова Г.И., Глунов В.В. Значения pH и активность пищеварительных ферментов в желудочно-кишечном тракте рыб озера Чаны (Западная Сибирь) // Вопр. ихтиологии. 2015. Т. 55. № 2. С. 207-214.

Соловьев М.М. Характеристика пищеварительных ферментов рыб озера Чаны на ранних этапах онтогенеза // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск. 2011. 22 с.

Сорвачев К.Ф. Основы биохимии питания рыб. М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982. 247 с.

Столбунова В.Н. Особенности зоопланктона мелководий верхневолжских водохранилищ и условия его существования // Зооценозы водоемов Верхней Волги в условиях антропогенного воздействия. СПб: Гидрометеоздат. 1993. С. 20-39.

Строганов Н.С. Экологическая физиология рыб. М.: Изд. МГУ. 1962. 444 с.

Строганов Н.С., Бузинова Н.С. Активность ферментов кишечного тракта белого амура. Сообщение 2. Протеолитические ферменты // Вестник МГУ. Сер. Биология. 1969. N 4. С. 3-7.

Строганов Н.С., Бузинова Н.С. Сезонные и возрастные изменения обеспеченности амура и толстолобика пищеварительными ферментами // Вестник МГУ. Сер. Биология. 1970. № 5. С. 11-15.

Стругуля О.В. Пространственно-временное развитие ихтиокомплекса Кучурганского водохранилища // Чтения памяти кандидата биологических наук, доцента Л.Л. Попа. Тирасполь: Изд-во ПГУ. 2015. С. 108-121.

Суханова Е.В. Сообщества микроорганизмов, ассоциированных с лососевидными рыбами озера Байкал. Автореф. Дис. ...канд. биол. наук. 2012. 20 с.

Сравнительная физиология животных. (ред. Л. Проссер). М.: Мир. 1977. Т. 1. 608 с.

Тимейко В.Н. Активность кишечной аланинаминопептидазы у личинок ладожской палии *Salvelinus lepechini*, акклиматизированных в процессе эмбрионального развития к различным температурам // Вопр. ихтиологии. 2001. Т. 2. № 2. С. 252-260.

Тимейко В.Н., Бондаренко Л.Г. Исследование пищеварительных ферментов у бестера *Huso huso* x *Acipenser ruthenus* в постэмбриональный период // Вопр. ихтиологии. 1988. Т. 28. Вып. 1. С. 117-123.

Тихоненкова Л.А. Гидрохимический режим Кучурганского водоема-охладителя Молдавской ГРЭС - как показатель антропогенного воздействия тепловой электростанции // Чтения памяти кандидата биологических наук, доцента Л.Л. Попа. Тирасполь: Изд-во ПГУ. 2015. С. 121-125.

Тутельян В.А., Васильев А.В. Ферментные системы лизосом в реализации клеточного питания // Вопр. мед. хим. 1987. Т. 33. № 5. С. 65-74.

Уайт А., Хендлер Ф., Смит Э., Хилл Р., Леман И. Основы биохимии. Т.3. М.: Мир. 1981. 1878 с.

Уголев М.А. О существовании пристеночного (контактного) пищеварения // Бюл. эксперим. биол. мед. 1960. Т. 49. № 1. С. 12-17.

Уголев А.М. Пищеварение и его приспособительная эволюция. М. 1961. 306 с.

Уголев М.А. Пристеночное (контактное) пищеварение. М., Л.: Изд. АН СССР, 1963. 170 с.

Уголев М.А. Мембранное пищеварение. Л.: Наука. 1972. 358 с.

Уголев А.М. Физиология и патология пристеночного (контактного) пищеварения // Л.: Наука. 1967. 230 с.

Уголев М.А. Эволюция пищеварения и некоторые принципы эволюции функций // Журн. эволюц. биохим. физиол. 1979. Т.15. С. 239-248.

Уголев А. М. Трофология – новая междисциплинарная наука // Вестник АН СССР. 1980. № 1. С. 50-61.

Уголев А.М.. Л.: Наука. 1985. 544 с.

Уголев А.М. Некоторые принципы физиологической эволюции // Дарвинизм: история и современность. Л. 1988. С. 124-130.

Уголев А.М. Концепция универсальных функциональных блоков и дальнейшее развитие учений о биосфере, экосистемах и биологических адаптациях // Журн. эволюц. биохим. физиол. 1990. Т.26. № 4. С. 441-454.

Уголев А.М. Теория адекватного питания и трофология. СПб: Наука. 1991. 271 с.

Уголев А.М., Кузьмина В.В. Роль процессов индуцированного аутолиза в пищеварении гидробионтов // Журн. эволюц. биохим. физиол. 1988. Т.24. № 5. С. 768-771.

Уголев А.М., Кузьмина В.В. Распределение активности пищеварительных гидролаз в эпителиальном, субмукозном и мышечно-серозном слоях кишечника рыб // ДАН СССР. 1992. Т. 326. № 3. С. 566-569.

Уголев А.М., Кузьмина В.В. Пищеварительные процессы и адаптации у рыб. СПб.: Гидрометеиздат. 1993. 238 с.

Уголев А.М., Цветкова В.А. Индуцированный аутолиз как важный механизм начальных стадий пищеварения в естественных условиях // Физиол. журн. 1984. Т.70. № 11. С. 1542-1550.

Уголев А.М., Иезуитова Н.Н., Цветкова В.А. Эволюционная физиология пищеварения // Эволюционная физиология (Руководство по физиологии). Л.: Наука. 1983. Ч. 2. С. 301-370.

Уголев А.М., Кузьмина В.В., Гурман Э.Г., Пономаренко Е.Д. Глицеринизированные модели энтероцитов и некоторые их свойства // Физиол. журн. СССР. 1979. № 12. С. 1359-1363.

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 // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1989. № 3. С.341-349.

Уголев А.М., Кузьмина В.В., Рощина Г.М., Груздков А.А., Неваленный А.Н. Влияние температуры на мембранный гидролиз и транспорт у рыб // Изв. АН СССР. 1990. № 1. С 30-38.

Усатый И.М., Шатуновский М.А., Усатый М.А., Крепис О.И., Бобырев А.Е. Биоразнообразие и динамика популяций рыб в реконструированных водоемах бассейна Днестра // Геоэкологические и биоэкологические проблемы Северного Причерноморья. Матер. Докл. III Междунар. науч.-практ. конф. Тирасполь. 22-23 октября 2009. Тирасполь: изд. Придн. ун-та, 2009. С. 212-214.

Ушакова Н.В., Кузьмина В.В. Активность протеиназ у рыб различных экологических групп и их потенциальных объектов питания // Вопр. ихтиологии. 2010. Т. 50. № 4. С. 554-560.

Ушакова Н.В., Кузьмина В.В. Протеиназы потенциальных объектов питания рыб // Журн. эволюц. биохим. физиол. 2011. Т. 47. № 2. С. 142-150.

Филипенко С.И. Характеристика донной фауны р. Турунчук // Problemele conservării biodiversității din cursul medial și inferior al fluviului Nistru. Tezele Conferinței Internaționale. Chișinău, 6-7 noiembrie 1998. Chișinău: Eco-TIRAS. 1998. P. 177-180.

Филипенко С.И. Сукцессионные процессы в донной малакофауне Кучурганского водохранилища // Академику Л.С. Бергу – 125 лет: Сб. научн. статей. Бендеры: BIOTICA. 2001. С. 103-105.

Филипенко С.И. Зообентос Кучурганского водохранилища: динамические процессы и использование в биологическом мониторинге. Тирасполь: Изд-во Приднестр. ун-та. 2005. 160 с.

Филипенко С.И. О появлении пресноводной восточной креветки *Macrobrachium nipponense* (De Haan, 1849) в Днестре // Sustainable use and protection of animal world diversity: International Symposium dedicated to 75th anniversary of professor Andrei Munteanu. - Chișinău: AȘM. 2014. P. 206-207.

Филипенко С.И. Роль зообентоса в питание рыб-бентофагов Кучурганского водохранилища // Вестник Приднестровского университета. 2014. Сер.: Медико-биологические и химические науки. № 2(47). С. 107-112.

Филипенко С.И. Вариабельность динамики биомассы «мягкого» зообентоса Кучурганского водохранилища // Чтения памяти кандидата биологических наук, доцента Л.Л. Попа. Т.: Изд-во ПГУ. 2015. С. 160-165.

Филипенко Е.Н., Шука Т.В., Тихоненкова Л.А. Ретроспектива изменения содержания некоторых химических соединений в Кучурганском водохранилище // Геоэкологические и биоэкологические проблемы Северного Причерноморья. Матер. III Межд. научно-практ. конфер. 22-23 октября 2009 г. Тирасполь: Изд-во ПГУ. 2009. С. 219-221.

Филипенко Е.Н., Тищенко В.С. Заращение тростником (*Phragmites australis*) Кучурганского водохранилища – охладителя Молдавской ГРЭС // Бассейн реки Днестр: экологические проблемы и управление трансграничными природными ресурсами. Материалы Междун. научно-практ. конф. Тирасполь: Изд-во ПГУ. 2010. С. 248-250.

Филипенко Е.Н., Касапова Л.В., Траян Л.И. Гидрохимический режим нижнего течения р. Днестр // Геоэкологические и биоэкологические проблемы Северного Причерноморья. Материалы IV Международной научно-практической конференции 9-10 ноября 2012 г. Т.: Изд-во ПГУ. 2012. С. 311-313.

Филипенко Е.Н., Тищенко В.С., Филипенко С.И. Заращение водоема-охладителя Молдавской ГРЭС массовыми видами макрофитов Кучурганского водохранилища // Материалы Международной конференции «Управление бассейном трансграничного Днестра в рамках нового бассейнового Договора». Кишинев 20-21 сентября 2013 г. Кишинев: Международная ассоциация хранителей реки "Есо-TIRAS". 2013. С. 445-449.

Фортулатова К.Р., Попова О.А. Питание и пищевые взаимоотношения хищных рыб в дельте Волги // М.: Наука. 1973. 298 с.

Фулга Н.И., Кренус О.И., Булат Д.Е., Булат Е., Стругуля О.В. Биологическая характеристика самок Солнечного окуня (*Lepomis gibbosus*) и цитоморфоло-

гическое состояние его репродуктивной системы в водоемах Молдовы // Геоэкологические и биоэкологические проблемы Северного Причерноморья. Матер. Докл. IV Междунар. научн.-практ. конф. Тирасполь. 9-10 ноября 2012. Тирасполь: изд. Придн. ун-та, 2012. С. 324-326.

Хаблюк В.В. Очистка и свойства пищеварительных ферментов из гепатопанкреаса карпа. Автореф.дис. ...канд.биол.наук. Краснодар. 1984. 21 с.

Хаблюк В.В., Проскуряков Т.М. Особенности пищеварительных ферментов карпа. М. 1983. Рукопись деп. в ВИНТИ. N 1774-83. Деп. 1983. № 9. 15 с.

Хаблюк В.В., Тищенко М.А., Шустин А.Г. Сравнительный анализ состава протеолитических ферментов в слизистой кишечника и гепатопанкреасе карпа методами гель-хроматографии и изоэлектрического фокусирования // Тез. докл. 8 Науч. конф. по экол. физиол. и биохимии рыб. 1992. Т. 2. Петрозаводск: КНЦ РАН. Ин-т биологии. 1992. С. 145-146

Чахава О.В. Гнотобиология. М: Медицина. 1972. 200 с.

Чахава О. В. Горская Е.М., Рубан С.З. Микробиологические и иммунологические основы гнотобиологии. М.: Медицина. 1982. 159 с.

Чукаловская Р. Н. Гистотлогия рыб. Л. 1971. 256 с.

Чур С.В. Изменение численности и биомассы зоопланктона Кучурганского водохранилища периода 2008-2011 гг. // Геоэкологические и биоэкологические проблемы Северного Причерноморья. Материалы IV Международной научно-практической конференции 9–10 ноября 2012 г. Тирасполь: Изд-во ПГУ. 2012. С. 349-351.

Чур С.В. Распределение зоопланктона по участкам Кучурганского водохранилища в 2010-2014 годах // Чтения памяти кандидата биологических наук, доцента Л.Л. Попа. Т.: Изд-во ПГУ. 2015. С. 173-177.

Шалыгин М.В. Роль протеиназ объектов питания и энтеральной микробиоты в температурных адаптациях пищеварительной системы рыб разных экологических групп // 2013. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Борок. ИБВВ РАН. 21 с.

Шатуновский М.И. Экологические закономерности обмена веществ морских рыб. М.: Наука. 1980. 288 с.

Шивокене Я.С., Янкиявичус К.К., Лубянскене В.Н. Роль микроорганизмов пищеварительного тракта в питании прудовых рыб (15. Синтезирование свободных аминокислот бактериями пищеварительного тракта карпа при искусственном кормлении) // Тр. АН ЛитССР. 1976. Сер. В. Т. 3 (75). С. 95-104.

Шивокене Я., Мицкенене Л., Милерене Э., Репечка Р., Вайтонис Г. Микрофлора пищеварительного тракта гидробионтов Каунасского водохранилища // Ekologija (Vilnius). 1996. № 1. Р. 29-34.

Шивокене Я.С. Симбионтное пищеварение у гидробионтов и насекомых. Вильнюс: Моклас. 1989. 223 с.

Шмидт-Нильсен К. Физиология животных: приспособление и среда (ред. Е.М.Крепс). Т. 2. М.: Мир. 1982. 384с.

Шорыгин А.А. Питание и пищевые взаимоотношения рыб Каспийского моря. М. 1952. 268 с.

Щербина Г.Х. Роль *Dreissena polymorpha* Pallas в донных сообществах озера Виштынецкого // Зооценозы водоемов бассейна Верхней Волги в ус-

ловиях антропогенного воздействия. С–Петербург: Гидрометеиздат, 1993. С. 145–159.

Щербина Г.Х. Изменение видового состава и структурно-функциональных характеристик макрозообентоса водных экосистем Северо-Запада России под влиянием природных и антропогенных факторов // Автореф. дис. ... докт. биол. наук. СПб. 2009. 49 с.

Щербина М. А., Гамыгин Е. А. Кормление рыб в пресноводной аквакультуре. М.: Изд. ВНИРО. 2006. 360 с.

Ярошенко М.Ф. Гидрофауна Днестра. М.: Наука. 1957. 169 с.

Ярошенко М.Ф., Горбатенький Г.Г. Морфометрия, гидрология и термический режим // Кучурганский лиман-охладитель Молдавской ГРЭС. Кишинев: Штиинца. 1973.С. 8-18.

Яковлев В.Н., Слынько Ю.В., Кияшко В.И. Аннотированный каталог круглоротых и рыб бассейна Верхней Волги // Экологические проблемы Верхней Волги (ред. А.И. Копылов). Ярославль. Изд-во ЯрГУ. 2001. С. 52-69.

Ahn S.J., Kim N.Y., Jeon S.J., Sung J.H., Je J.E., Seo J.S., Kim M.S., Kim J.K., Chung J.K., Lee H.H. Molecular cloning, tissue distribution and enzymatic characterization of cathepsin X from olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) // Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol. 2008. V. 151. N 2. P. 203-212.

Ahn S.J., Sung J.H., Kim N.Y., Lee A.R., Jeon S.J., Lee J.S., Kim J.K., Chung J.K., Lee H.H. Molecular cloning, expression, and characterization of cathepsin L from mud loach (*Misgurnus mizolepis*) // Appl Biochem Biotechnol. 2010. V. 162. N 7. P. 1858-1871.

Ahn H, Yamada Y, Okamura A, Tsukamoto K, Kaneko T, Watanabe S. Intestinal expression of peptide transporter 1 (PEPT1) at different life stages of Japanese eel, *Anguilla japonica* // Fish Physiol Biochem. 2013. V. N 2. P. 325-34.

Alarcon F.J., Martinez T.F., Diaz M., Moyano F.J. Characterization of digestive carbohydrase activity in the gilthead seabream (*Sparus aurata*) // Hydrobiologia 2001.V. 445. P. 199-204.

Al-Harbi A. H., Uddin M.N. Seasonal variation in the intestinal bacterial flora of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*) cultured in earthen ponds in Saudi Arabia // Aquaculture 2004. V. 229. P. 37-44.

Al-Salim N.K., Khamees N.R., Al-Niaeem K.S. Intestinal Bacteria in the University of Basrah fish ponds, Iraq // J. Al-Anbar univer. pure sci. 2009. V.3. N.1. P 1-7.

Austin B., Austin D.A. Bacterial fish Pathogens: Disease in farmed and wild fish. Chichester: J. Wiley and Sons. 3rd Ed., Springer-Praxis, Chichester, UK. 1999. P. 457

Anderson J.I.W., Conroy D.A. The pathogenic myxobacteria with special reference to fish diseases // J. Appl. Bact. 1969. V. 32. N 1. P. 30-39.

Angert E.R., Clements K.D., Pace N.R. The largest bacterium. // Nature. 1993. V. 362. P 239–241.

Aranishi F., Hara K., Osatomi K., Ishihara T. Purification and characterization of cathepsin B from hepatopancreas of carp *Cyprinus carpio* // Comparar. Biochem. Physiol. 1997a. V. 117B. N 4. P. 579-587.

Aranishi F., Hara K., Osatomi K., Ishihara T. Cathepsin B, H and L in peritoneal macrophages and hepatopancreas of carp *Cyprinus carpio* // Comparar. Biochem. Physiol. 1997b. V. 117B. N 4. P. 601-605.

Aranishi F., Ogata H., Hara K., Osatomi K., Ishihara T. Purification and characterization of cathepsin L from hepatopancreas of Carp *Cyprinus carpio* // Compar. Biochem. Physiol. 1997c. V. 118B. N 3. P. 531-537.

Åsgeirsson B., Fox J. W., Bjarnason J. B. Purification and characterization of trypsin from the poikilotherm *Gadus morhua* // Eur. J. Biochem. 1989. V.180. P.85-94.

Askarian F., Zhou Z., Olsen R.E., Sperstad S., Ringo E. Culturable autochthonous bacteria in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets with or without chitin. Characterization by 16S rRNA gene sequencing, ability to produce enzymes and *in vitro* growth inhibition of four fish pathogens // Aquacult. Res. 2012. V. 326-329. P. 1-8.

Austin B. The bacterial microflora of fish // Scientific World J. 2002. V. 2. P. 558-572.

Austin B. The Bacterial Microflora of Fish, Revised // Sci. World J. 2006 V. 6. P. 931-945.

Austin B., Austin D.A. Bacterial fish Pathogens: Disease in farmed and wild fish. Chichester UK: J. Wiley and Sons, Springer-Praxis. 1999. 457 p.

Bairagi A., Ghosh K.S., Sen S.K., Ray A.K. Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts // Aquaculture Int. 2002. V. 10. P. 109-121.

Bak H.J., Kim M.S., Kim N.Y., Go H. J., Han J.W., In Jo.H., Ahn S.J., Park N.G., Chung J.K., Lee H.H. Molecular cloning, expression, and enzymatic analysis of cathepsin X from starfish (*Asterina pectinifera*) // Appl Biochem Biotechnol. 2013. V. 169. N 3. P. 847-861.

Bakke A.M., Glover Ch., Krogdahl A. Feeding, digestion and absorption of nutrients // Fish physiology. The Multifunctional Gut of Fish (Eds M.Grosell, A.P. Farrell, C.J. Brauner). Amsterdam , Boston: Academic Press. 2011. V. 30. P. 57-110.

Bakke A.M., Tashjian D.H., Wang C.F., Lee S.H., Bai S.C., Hung S.S.O. Competition between selenomethionine and methionine absorption in the intestinal tract of green sturgeon (*Acipenser medirostris*) // Aquat. Toxicol. 2010. V. 96. P. 62-69.

Bakke-McKellep, A.M.; Nordrum, S.; Krogdahl, Å.; Buddington, R.K. 2000. Absorption of glucose, amino acids, and dipeptides by the intestines of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) // Fish Physiology and Biochemistry. V. 22. P. 33-44.

Bakke-McKellep A.M., Sanden M., Danieli A., Acierno R., Hemre G.-I., Maffia M., Krogdahl A. Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr fed genetically modified soybeans and maize: histological, digestive, metabolic, and immunological investigations // Res. Vet. Sci. 2008. V. 84. P. 395-408.

Balti R., Hmidet N., Jellouli K., Nedjar-Arroume N., Guillochon D., Nasri M. Cathepsin D from the hepatopancreas of the cuttlefish (*Sepia officinalis*): purification and characterization // J Agric Food Chem. 2010. V. 58. N 19. P. 10623-10630.

Balcázar J. L., Vendrell D., de Blas I., Ruiz-Zarzuola I., Muzquiz J.L., Girones O. Characterization of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from intestinal microbiota of fish //Aquaculture 2008. V. 278. P. 188-191.

Barrington E.J.W. The alimentary canal and digestion // The Physiology of Fishes. New York - London: Acad. Press. 1957. V. I. P. 109-161.

Bates J. M., Mittge E., Kuhlman J., Baden K. N., Cheesman S. E., Guillemin K. Distinct signals from the microbiota promote different aspects of zebrafish gut differentiation // Develop. Biology 2006. V. 297. P. 374-386.

- Bayliss L.E. Digestion in the plaice // J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 1935, V. 20. P. 73-91.
- Begon M., Harper J.L., Townsend C. Individuals, populations and communities // Ecology. Boston-Oxford-London-Edinburg-Melburn: Blackwell Scientific Publications. 1990. 945 p.
- Belchior S.G., Vacca G. Fish protein hydrolysis by a psychrotrophic marine bacterium isolated from the gut of hake (*Merluccius hubbsi*) // Can J Microbiol. 2006. V. 52. N 12. P. 1266-1271.
- 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. Ecol. 1986. V. 14. N 4. P. 435-437.
- Bergot P. Demonstration par le rouge de ruthenium d'invasions profondes de la membrane plasmique applicale des enterocytes dans l'intestin posterieur chez la bruite arcenciel // Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys., 1976. T. 16. N 1. P. 37-42.
- Bergot P., Flechon J. Forme et voie d'absorption intestinale des acides gras a'chaine longue chez la truite arcen-ciel (*Salmo gairdneri* Rich.). I. Lipides en particules // Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys., 1970. T. 10. N 3. P. 459-472.
- Begon M., Harper J.L., Townsend C. Ecology. Individuals, populations and communities: Boston; Oxford; London; Edinburg; Melburn: Blackwell Scientific Publications, 2-nd edition. 1990.
- Bezerra R.S., Santos J.F., Paiva P.M.G., Correia M.T.S., Coelho L.C.B.B., Vieira V.L.A., Carvalho Jr. L.B. Partial purification and characterization of a thermostable trypsin from pyloric caeca of tambaqui (*Colossoma macropomum*) // J. Food Biochem. 2001. V. 25. P. 199-210.
- Bjarnason J.B., Maentylae E.O., Asgeirsson B. Purification and characterization of proteolytic digestive enzymes from the pyloric caeca of Atlantic cod // Physiology and biochemical aspects of fish development. Univ. Bergen, Bergen (Norway). 1993. P. 240-246.
- Bjornsdottir R., Johannsdottir J., Coe J., Smaradottir H., Agustsson T., Sigurgisladottir S., Gudmundsdottir B. K. Survival and quality of halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus* L.) in intensive farming: Possible impact of the intestinal bacterial community/ // Aquaculture 2009 N. 286. P. 53-63.
- Boetius A., Felbeck H. Digestive enzymes in marine invertebrates from hydrothermal vents and other reducing environments // Marine biol. Berlin, Heidelberg. 1995. V. 122. N 1. P. 105-113.
- Boge G., Rigal A., Peres G. A study of energized transport mechanisms of glycine absorption by the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) // Compar. Biochem. Physiol. 1979. V. 64A. P. 537-541.
- Boge G., Rigal A., Peres G. Effect of environmental oxygen tensions on in vivo intestinal absorption of glycine by the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) // Compar. Biochem. Physiol. 1980. V. 67A. N 4. P. 679-682.
- Boge G., Roche H., Balocco C. Amino acid transport by intestinal brush border vesicles of a marine fish, *Boops salpa* // Comp. Biochem. Physiol. B. 2002. V. 131. P. 19-26.
- Boucaud-Camou E., Roper C.F.E. Digestive enzymes in paralarval cephalopods // Bull. Mar. Sci. 1995. V. 57. N. 2. P. 313-327.

Brendelberger H. Bacteria and digestive enzymes in the alimentary tract of *Radix peregra* (Gastropoda, Lymnaeidae) // Limnol. Oceanogr. 1997. V. 42. N 7. P. 1635-1638.

Bullock G.L. Characteristics and pathogenicity of a capsulated *Pseudomonas* isolated from goldfish // Appl. Microbiol. 1965. V. 13. N 1. P. 89-92.

Bullock G.L., Snieszko S.F., Dunbar C.E. Characteristics and identification of oxidative *Pseudomonas* isolated from diseased fish // J. Gen. Microbiol. 1965. V. 38. N 1. P. 1-7.

Buchet V., Zambonino Infante J.L., Cahu C.L. Effect of lipid level in a compound diet on the development of red drum (*Sciaenops ocellatus*) larvae. 2000 // Aquacult. V. 184. C. 339-347.

Buddington R.K., Doroshov S.I. Digestive enzyme complement of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) // Compar. Biochem. Physiol. 1986. V. 83A N. 3 P. 561-567.

Buddington R.K., Doroshov S.I. Development of digestive secretions in white sturgeon juveniles (*Acipenser transmontanus*) // Compar. Biochem. Physiol. 1986 V. 83A. N 2. P. 233-238.

Buddington R.K., Chen J.W., Diamond J.M. Genetic and phenotypic adaptation of intestinal nutrient transport to diet in fish // J. Physiol. 1987. V. 393. P. 261- 281.

Buddington R.K., Kroghdal A., Bakke-Mckellep Å. The intestines of carnivorous fish: structure and functions and relations with diet // Acta Physiol. Scand. 1997. P. 67-80.

Buddington R.K., Weiher E. The application of ecological principles and fermentable fibers to manage the gastrointestinal tract ecosystem // J. Nutr. 1999. V. 129. P. 1446S-1450S.

Buddington R.K., Williams C.H., Nagata Y. Fermentable fibers and the gastrointestinal tract bacteria: comparisons of fiber types and mouse strains // Microb. Ecol. Health Disease. 2000. V. 12. P. 225-232.

Bullock G.L. Characteristics and pathogenicity of a capsulated *Pseudomonas* isolated from goldfish // Appl. Microbiol. 1965. V. 13. N 1. P. 89-92.

Bullock G.L., Snieszko S.F., Dunbar C.E. Characteristics and identification of oxidative *Pseudomonas* isolated from diseased fish // J. Gen. Microbiol. 1965. V. 38. N 1. P. 1-7.

Castillo-Yáñez F.J., Pacheco-Aguilar R., García-Carreño F.L., Navarrete-Del Toro M.Á. Isolation and characterization of trypsin from pyloric caeca of Monterey sardine (*Sardinops sagax caeruleus*) // Comp. Biochem. Physiol. 2005. V. 140 B. P. 91-98.

Castillo-Yanez F.J., Pacheco-Aguilar.R., Garcia-Carreno F.L., Navarrete-Del Toro M. de los A., Lopez M.F. Purification and biochemical characterization of chymotrypsin from the viscera of Monterey sardine (*Sardinops sagax caeruleus*) // Food Chemistry. 2006. V. 99. P. 252-259.

Caruso G., Genovese L., Greco S. Effect of two diets on the enzymatic activity of *Pagellus acarne* (Brunnich 1768) in intensive rearing // European Aquaculture Society. Special Publication. 1993. N 19. P. 332.

Cahill M.M. Bacterial flora of fishes: a review // Microb. Ecol. 1990. V. 19. P. 21-41.

Cahu C.L., Zambonino Zambonino Infante J.L.Z. Maturation of the pancreatic and intestinal digestive functions in sea bass (*Dicentrarchus labrax*): Effect of weaning with different protein sources // Fish Physiol. Biochem. 1995. V. 14. № 6. P. 431-437.

Cahu C.L., Zambonino Infante J.L., Quazuguel P., Le Gall M.M. Protein hydrolysate vs. fish meal in compound diets for 10-day old sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae // Aquaculture. 1999. V. 171 N. 109-119.

Chakrabarti I., Gani Md.A., Chaki K.K. Sur R., Misra K.K. Digestive enzymes in 11 freshwater teleost fish species in relation to food habit and niche segregation // Comp. Biochem. Biol. 1995. V.112A. №1. P.167-177.

Chakrabarti R., Rathore R.M., Kumar S. Study of digestive enzyme activities and partial characterization of digestive proteases in a freshwater teleost, *Labeo rohita*, during early ontogeny // Aquaculture Nutrition. 2006. V.12. P.35-43.

Chan A.S., Horn M.H., Dickson K.A., Gawlicka A. Digestive enzyme activities in carnivores and herbivores: comparisons among four closely related rickleback fishes (Teleostei: Stichaeidae) from a California rocky intertidal habitat // J. Fish Biol. 2004. V.65. P.848-858.

Chen B.N., Qin J.G., Kumar M. S., Hutchinson W.G., Clarke S.M. Ontogenetic development of digestive enzymes in yellowtail kingfish *Seriola lalandi* larvae // Aquaculture 2006. V. 260 P. 264-271

Chen L., Sun L. Cathepsin B of *Cynoglossus semilaevis*: identification, expression, and activity analysis // Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol. 2012. V. 161. N 1. P. 54-59.

Chong A., Hashim R., Lee L.-Ch., Ali A. Characterization and protease activity in developing discus *Symphysodon aequifasciata* larva // Aquaculture Research. 2002. V. 33. P. 663-672.

Chun B.-S., Kishimura H., Nalinanon S., Klomklao S., Benjakul S. Mackerel Trypsin Purified from Defatted Viscera by Supercritical Carbon Dioxide // J. Amino Acids. V. 2011. Article ID 728082. 7 p. doi:10.4061/2011/728082

Clark J., MacDonald N.L., Stark J.R. Metabolism in marine flatfish-II. Protein digestion in Dover sole (*Solea solea* L.) // Compar. Biochem. Physiol. 1985. V. 81B. N. 1 P. 217-222.

Clemets K.D. Fermentation and gastrointestinal microorganisms in fishes // In.: Gastrointestinal ecosystems and fermentations. New York. 1997. Ch. 6. P. 156-198.

Clements K.D., Bullivant S. An unusual symbiont from the gut of surgeonfishes may be the largest known prokaryote // J. Bacteriol. Sept. 1991. P. 5359-5362.

Climenco V. Structura și funcționarea comunităților de zooplancton în ecosistemele acvatice din bazinul hidrografic al fluviului Nistru // Autoreferat al tezei de doctorat în științe biologice. Chișinău. 2005. 24 p.

Cockson A., Bourne D. Enzymes in the digestive tract of two species of euryhaline fish // Compar. Biochem. Physiol. 1972. V. 41A. P. 715-718.

Collie N. L. Intestinal nutrient transport in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and the effects of development, starvation, and seawater adaptation // J. Compar. Physiol. 1985. V. 156 B. P. 163-174.

Collie N.L., Ferraris R.P. Nutrient fluxes and regulation in fish intestine // Metabolic Biochemistry. Biochemistry and Molecular Biology of Fishes Series (Eds P.W.Hochachka, T.P. Mommsen). Amsterdam: Elsevier Science. 1995. V. 4. P. 221-239.

Concha M.I., Santander C.N., Villanueva J., Amthauer R. Specific binding of the endocytosis tracer horseradish peroxidase to intestinal fatty acid-binding protein (I-FABP) in apical membranes of carp enterocytes // J. Exp. Zool. 2002. V. 293. P. 541-550.

Corrêa C.F., de Aguiar L.H., Lundstedt L.M., Moraes G. Responses of digestive enzymes of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to dietary cornstarch changes and metabolic inferences // Comp. Biochem. Physiol. 2007. V. 147A. P.857-862.

Crane R.K., Boge G., Rigal A. Isolation of brush border membranes in vesicular form from the intestinal spiral valve of the small dogfish (*Scyliorhinus canicula*) // Biochim. Biophys. Acta. 1979. V. 554. P. 264-267.

Cousin J.C.B., Baudin-Laurencin F., Gabaudan J. Ontogeny of enzymatic activities in fed and fasting turbot, *Scophthalmus muximus* L. // J. Fish Biol. 1987. V. 30. P. 15-33.

Cuvier-Péres A., Kestemont P. Development of some digestive enzymes in Eurasian perch larvae *Perca fluviatilis* // Fish Physiol. Biochem. 2002. V. 24. P. 279-285.

Chun B.-S., Kishimura H., Nalinanon S., Klomklao S., Benjakul S. Mackerel Trypsin Purified from Defatted Viscera by Supercritical Carbon Dioxide // J. Amino Acids. V. 2011. Article ID 728082. 7 p. doi:10.4061/2011/728082

Dabrowski K. Proteolytic enzyme activity decline in starving fish alevins and larvae // Euv. Biol. Fish. 1982. V. 7. N 1. P. 73-76.

Dabrowski K., Glogowski J. Studies on proteolytic enzymes of invertebrates constituting fish food // Hydrobiologia. 1977a. V. 52. P. 171-174.

Dabrowski K., Glogowski J. The role of exogenic proteolytic enzymes in digestion processes in fish // Hydrobiologia (Hagua). 1977b. V. 54. P. 129-134

Danulat E., Kausch H. Chitinase activity in the digestive tract of the cod, *Gadus morhua* (L.) // J. Fish Biol. 1984. V. 24. N 2. P. 125-133.

Das K.M., Tripathi S.D. Studies on the digestive enzymes of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.) // Aquaculture 1991. V. 92. P. 21-32.

Das P., Mandal S., Khan A., Manna S.K., Ghosh K. Distribution of Extracellular Enzyme Producing Bacteria in the Digestive Tracts of Four Brackishwater Fish Species // Turkish J. Zool. 2014. V. 38. Iss. 1. P. 79-88.

De Almeida L.C., Lundstedt L.M., Moraes G. Digestive enzyme responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed on different levels of protein and lipid // Aquaculture Nutrition. 2006. V.12. P. 443-450.

De Duve C. The lysosomae concept // In: Lysosomes (Eds. A.V.S. de Reuck, M.P. Cameron). Ciba Found. Symp. Boston: Little, Brown and Co. 1963. P. 1-31.

De Duve C. Tissue Fractionation past and present // J. Cell Biol. 1971. V. 50 P. 20-55.

De Duve C., Wattiaux R. Functions of Lysosomes //Annu. Rev. Physiol. 1966. V. 28 P. 435-492.

Debnath M., Malik C.P., Bisen P.S. Clonal Propagation of *Chlorophytum borivilianum*, A Endangered Medicinal Plant. Phytomorphol. 2007. V.57. P. 117-121.

Degradative processes in heart and skeletal muscle. (Ed. K.Wildenthal) Amsterdam: Elsevier, Biomedical Press, 1980. P. 461.

Deguara S., Jauncey K., Agius C. Enzyme activities and pH variations in the digestivetract of gilthead sea bream // *J. Fish Biol.* 2003. V. 62. P. 1033–1043

Deplano M., Connes R., Diaz J.P., Barnabe G. Variation in the absorption of macromolecular protein in larve of the sea bass (*Dicentrarchus labrax*) during transition to the exotrophic phase // *Mar. Biol.* 1991. V. 110. P.

Dendinger J.E. Digestive proteases in the midgut gland of the Atlantic blue crab, *Callinectes sapidus* // *Compar. Biochem. Physiol.* 1987. V. 88 B. N 2. P. 503–516.

Denstadli V., Vegusdal A., Krogdahl Å., Bakke-McKellep A.M., Berge G.M., Holm H., Hillestad M., Ruyter B. Lipid absorption in different segments of the gastrointestinal tract of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) // *Aquaculture.* 2004. V. 240. Iss.1–4. P. 385–398.

Diaz-Tenorio L.M., Garcia-Carreño F.L., Navarrete del Toro Á.M. Characterization and comparison of digestive proteinases of the Cortez swimming crab, *Callinectes bellicosus*, and the arched swimming crab, *Callinectes arcuatus* // *Invertebrate Biol.* 2006. V. 125. N 2. P. 125–135.

Dittrich B. Temperature dependence of the activities of trypsin-like proteases in decapod crustaceans from different habitats // *Naturwissenschaften.* 1990. Bd. 77. P. 491–492.

Dittrich B. Comparative studies on the thermal properties of a trypsin-like protease in two hermit crabs // *Helgoländer Meeresuntersuchungen: Helgoländer Meeresunters.* 1992a. V. 46. P. 45–52.

Dittrich B. Life under extreme conditions: aspects of evolutionary adaptation to temperature in crustacean proteases // *Polar Biol.* 1992b. V. 12. P. 269–274.

Doke S.N., Ninjoor V., Nadkarni G.B. Characterization of cathepsin D from the skeletal muscle of fresh water fish, *Tilapia mossambica* // *Agric. Biol. Chem.* 1980. V. 44. P. 1521–1528.

Donachie S.P., Saborowski R., Peters G., Buchholz F. Bacterial digestive enzyme activity in the stomach and hepatopancreas of *Meganyctiphanes norvegica* (M. Sars, 1857) // *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 1995. V. 188. N. 2. P. 151–165.

Duan Y.F., Liu P., Li J.T., Li J., Gao B.Q., Chen P. Cloning and expression analysis of Cathepsin L cDNA of *Exopalaemon carinicauda* // *Dongwuxue Yanjiu.* 2013. V. 34. N 1. P. 39–46.

Duan Y., Liu P., Li J., Wang Y., Li J., Chen P. Molecular responses of calreticulin gene to *Vibrio anguillarum* and WSSV challenge in the ridgetail white prawn *Exopalaemon carinicauda* // *Fish Shellfish Immunol.* 2014. V. 36. N 1. P. 164–171.

Eddy S. D., Jones S. H. Microbiology of summer flounder *Paralichthys dentatus* fingerling production at a marine fish hatchery // 2002 V. *Aquacult.* N. 211. P. 9–28.

El-Shemy M.G., Levin R.E. Characterization of affinity-purified trypsin from hybrid tilapia (*Tilapia nilotica/aurea*) // *J. Food Biochem.* 1997. V. 21. P.163–175.

Elyakova L.A., Kozlovskaya E.P. Proteinases of starfishes-I // *Compar. Biochem. Physiol.* 1975. V. 50B. N 2. P. 249–253.

Esakkiraj P., Immanuel G., Sowmya S.V., Iyapparaj P., Palavesam A. Evaluation of protease-producing ability of fish gut isolate *Bacillus cereus* // *Food Bioprocess Technol.* 2009. V. 2. P. 383–390.

Establier R., Gutiérrez M. Actividad proteolítica del estómago, intestino y ciegos pilóricos del boqueron (*Engraulis encrasicolus* L.) // Inform. técn. Inst. Invest. Pesq. 1978. N 60. P. 75-91.

Egorova V.V., Kuz'mina V.V., Gruzdkov A.A. Comparative-molecular characterization of membrane digestion in fish and mammals // Compar. Biochem. Physiol. (England). 1983. N 3. P.627-635.

Fang L.S., Lee B.N. Ontogenic change of digestive enzymes in *Penaetus monodon* // Compar. Biochem. Physiol. B. 1992. V. 103B. N 4. P. 1033-1037.

Fange R., Grove D. Digestion // Fish physiology. Eds. Hoar W.S., Randall D.J., Brett J. R. Acad. Press New York; San Francisco; London. 1979. V. 8. P.162-260.

Fange, R., Grove, D. Digestion. In: Hoar, W.S., Randall, D.J., Brett, J. R. (eds) Fish physiology, Vol. 8. Bioenergetics and growth. Academic Press, Inc., New York, 1979. P. 161-260.

Farmafarmaian A.A., Ross A., Mazal A. In vivo intestinal absorption of sugar in the toadfish (marine teleost, *Opsanus tau*) // Biol. Bull. 1972. V. 142. P. 427-445.

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. V. 61. N 3-4. P. 241-257.

Ferraris R.P. Does glucose uptake in marine fish intestines occur by active transport? // Pasif. Sci. 1982. V. 36. № 4. P. 510-522.

Ferraris R.P., Ahearn G.A. Sugar and amino acid transport in fish intestine // Compar. Biochem. Physiol. (1983). 1984. V. 77 A. N 3. P. 397-413.

Ferraris R.P., Lee P.P., Diamond J.M. Origin of regional and species differences in intestinal glucose uptake // Am. J. Physiol. 1989. V. 257. P. G689-G697.

Fernández Gimenez A.V., García-Carreño F.L., Navarrete del Toro M.A., Fenucci J.L. Digestive proteinases of red shrimp *Pleoticus muelleri* (Decapoda, Penaeoidea): partial characterization and relationship with molting // Compar. Biochem. Physiol. 2001. V.130B. P. 331-338.

Fidopiastis P. M., Bezdek D. J., Horn M. H., Kandel J. S. Characterizing the resident, fermentative microbial consortium in the hindgut of the temperate-zone herbivorous fish, *Hermosilla azurea* (Teleostei: Kyphosidae) // Mar. Biol. 2006. V. 148. N 3. P. 631-642.

Fjellheim A., Tysse A., Bjerknes V. Fish stomachs as a biomonitoring tool in studies of invertebrate recovery // Water Air Soil Pollution: Focus. 2007. V. 7. P. 293-300.

Floris R., Manca S., Fois N. Microbial ecology of intestinal tract of gilthead sea bream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758) from two coastal lagoons of Sardinia (Italy) // Transit. Waters Bull. 2013. V. 7. N. 2. P. 4-12.

Freitas-Júnior A.C.V., Costa H.M.S., Icimoto M.Y., Hirata I.Y., Marcondes M., Carvalho Jr. L.B., Oliveira V., Bezerra R.S. Giant Amazonian fish pirarucu (*Arapaima gigas*): Its viscera as a source of thermostable trypsin // Food Chemistry. 2012. V. 133 P. 1596-1602.

Fuchise T., Sekizaki H., Kishimura H., Klomklao S., Nalinanon S., Benjakul S., Chun B.-S. Simple Preparation of Pacific Cod Trypsin for Enzymatic Peptide Synthesis // J. Amino Acids. 2011. Article ID 912382. <http://dx.doi.org/10.4061/2011/912382>

Ganguly S., Prasad A. Microflora in fish digestive tract plays significant role in digestion and metabolism // Rev. Fish Biol. Fisheries. 2012. V. 22. P. 11-16.

Gatesoupe, F.J., Zambonino Infante, J.L., Cahu, C., Quazuguel, P. Early weaning of sea bass larvae, *Dicentrarchus labrax*: the effect on microbiota, with particular attention to iron supply and exoenzymes // Aquacult. 1997. V. 158. P. 117-127.

Garcia-Ortega A., Verreth J.A.J., Coutteau P., Segner H., Huisman E.A., Sorgeloos P. Biochemical and enzymatic characterization of decapsulated cysts and nauplii of the brine shrimp *Artemia* at different developmental stages // Aquaculture, 1998. V. 161. № 1-4. P. 501-514.

Gawlicka A.K., Horn M.H. Trypsin gene expression by quantitative in situ hybridization in carnivorous and herbivorous prickleback fishes (Teleostei: Stichaeidae): ontogenetic, dietary, and phylogenetic effects // Physiol. Biochem. Zool. 2006. V. 79. N 1. P. 120-132.

Gelman A.G., Cogan U., Mokady S. Enzymes as indicators of evolution and potential adaptation of fish // Trends in Comparative Biochemistry and Physiology. (Ed. A.J.L. Menon). Delhi. India. 1993. P. 1241-1253.

Gelman A.G., Kuz'mina V.V., Drabkin V., Glaltman L. Temperature dependant characteristics of intestinal glycyl-L-leucine dipeptidase in boreal zone fish // Compar. Biochem. Physiol. 2003. V. 136 B. P. 323-329.

Ghiasi F. Predominant lactic acid bacteria isolated from the intestines of silver carp in low water temperature // African J. Biotechnol. 2011. V. 10 N. 59. P. 12717-12721.

Ghosh K., Sen S.K., Ray A.K. Characterization of bacilli isolated from gut of rohu, *Labelio rohita*, fingerlings and its significance in digestion // J. Appl. Aquacult. 2002. V. 12. P. 33-42.

Ghosh K., Roy M., Kar N., Ringø E. Gastrointestinal bacteria in rohu, *Labeo rohita* (Actinopterygii: Cypriniformes: Cyprinidae): scanning electron microscopy and bacteriological study // Acta Ichthyol. Piscat. 2010. V. 40. N 2. P. 129-135.

Georgopoulou I.I., Sire M.F., Vernier J.M. Macromolecular absorption of proteins by epithelial cells of the posterior intestinal segment and their intracellular digestion in the rainbow trout // Biol. Cell. 1985. V. 53. N 3. P. 269-282.

Gerking S.D. Feeding ecology of fish // Acad. Press. 1994. 416 p.

German D. P. Do herbivorous minnows have "plug-flow reactor" guts? Evidence from digestive enzyme activities, gastrointestinal fermentation, and luminal nutrient concentrations // J. Compar. Physiol. 2009. V. 179B. P. 759-771.

Gillberg A. Aspartic proteinases in fishes and aquatic invertebrates // Compar. Biochem. Physiol. 1988. V. 91B. P. 425-435.

Glass H.J., Stark J.R. Protein digestion in the European lobster, *Homarus gammarus* (L.) // Compar. Biochem. Physiol. 1994. V. 108B. N 2. P. 225-235.

Glass H.J., Stark J. R. Carbohydrate digestion in the European lobster *Homarus gammarus* (L.) // J. Crustacean Biol. 1995. V. 15 N. 3. P. 424-433.

Glass H.J., MacDonald N.L., Moran R.M., Stark J.R. Digestion of protein in different marine species // Compar. Biochem. Physiol. 1989. V. 94B. N 2. P. 607-611.

Glover C.N., Bucking C., Wood C.M. Characterisation of L-alanine and glycine absorption across the gut of an ancient vertebrate // Compar. Biochem. Physiol // Biochem. Mol. Biol. 2011. V. 166. N 2. P. 157-164.

Glover C.N., Wood C.M. Histidine absorption across apical surfaces of freshwater rainbow trout intestine: mechanistic characterization and the influence of copper // J. Membr. Biol. 2008. V. 221. N 2. P. 87-95.

Goncalves A.F., Castro L.F.C., Pereira-Wilson C., Coimbra J., Wilson J.M. Is there a compromise between nutrient uptake and gas exchange in the gut of *Misgurnus anguillicaudatus*, an intestinal air-breathing // Compar. Biochem. Physiol. Genomics Proteomics. 2007. V. 2D. P. 345-355.

Gonzalez-Felix M.L., Castillo-Yanez F.J., Ocano-Higuera V.M., Perez-Velazquez M., Cota-Moreno V., Lozano-Taylor J. Effect of dietary protein source and time on alkaline proteolytic activity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) // Fish Physiol. Biochem. 2010. V. 36. P. 779-785.

Goodrich T.D., Morita R.Y. Incidence and estimation of chitinase activity associated with marine fish and other estuarine samples // Mar. Biol. 1977. V. 41. N 4. P. 355-360.

Govoni J.J., Boehlert G.W., Watanabe Y. The physiology of digestion in fish larvae // Environ. Biol. Fish. 1986. V. 16. N 1-3. P. 59-77.

Groppe J.C., Morse D.E. Molluscan chymotrypsin-like protease: structure, localization, and substrate specificity // Arch. Biochem. Biophys. 1993. V. 305. P. 159-169.

Gui Yu., Wu Y., Liu H., Han P., Wang L., Li Q. The effect of temperature on the main digestive enzyme activities of grass carp, common carp, silver carp and big-head carp // J. Dalian Fish. College. Dalian, 1992. V. 7. N 4. P. 1-8.

Hajjon M., LeGal J. Purification and characterization of an aminopeptidase from tuna (*Thunnus albacares*) pyloric caeca // BBA. 1994. V. 1204. N 1. P. 1-13.

Hakim Y., Harpaz S., Uni Z. Expression of brush border enzymes and transporters in the intestine of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) following feed deprivation // Aquacult. 2009. V. 290. P. 110-115.

Hall J.R., Short C.E., Driedzic W.R. Sequence of Atlantic cod (*Gadus morhua*) GLUT4, GLUT2, and GPDH: developmental stage expression, tissue expression and relationship to starvation-induced changes in blood glucose // J. Exp. Biol. 2006. V. 209. P. 4490-4502.

Hamid A, Sakata T, Kakimoto D. Microflora in the alimentary tract of grey mullet. Estimation of enzymic activities of the intestinal bacteria // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish 1979. V. 45. P. 99-106.

Harpaz S., Uni Z. Activity of intestinal mucosal brush border membrane enzymes in relation to the feeding habits of three aquaculture fish species. Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol. 1999. P. 155-160.

Harris J.M., Seiderer L.J., Lucas M.I. Gut microflora of two saltmarsh detritivore thalassinid prawns, *Upogebia africana* and *Callinassa kraussi* // Microb. Ecol. NY. 1991. V. 21. N 3. P. 277-296.

Hagi T., Tanaka D., Iwamura Y., Hoshino T. Diversity and seasonal changes in lactic acid bacteria in the intestinal tract of cultured freshwater fish // Aquaculture. 2004. V. 234. P. 335- 346.

Hau P.V., Benjakul S. Purification and characterization of trypsin from pyloric caeca of bigeye snapper (*Pricanthus macracanthus*) // J. Food Biochem. 2006. V. 30. P. 478-495.

Heu M.S., Kim H.R., Pyeun J.H. Comparison of trypsin and chymotrypsin from the viscera of anchovy, *Engraulis japonica* // Comp. Biochem. Physiol. 1995. V.112 B. P. 557-567.

Heu, M.S., Kim, H.R., Cho, D.M., Godber, J.S., Pyeun, J.H. Purification and characterization of cathepsin L - like enzyme from the muscle of Anchovy, *Engraulis Japonica* // Compar. Biochem. Physiol. 1997. V. 118B. N 3. P. 523-529.

Hernandez-Blazquez, F.J., Guerra, R.R., Kfoury Jr, J.R., Bombonato, P.P., Cogliati, B., Silva, J.R.M.C. Fat absorptive processes in the intestine of the Antarctic fish (Richardson, 1844) // Polar Biol. 2006. V. 29. N 10. P. 831-836.

Hernandez-Cortes A., Whitaker J.R., Garcia-Carreño F.L. Purification and characterization of chymotrypsin from *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda) // J. Food Biochem. 1997. V. 21. P. 497-514.

Hernandez-Santoyo A., Hernandez-Arana A., Arreguin-Espinosa R., Rodriguez-Romero A. Purification and characterization of several digestive proteases from the blue abalone, *Haliotis fulgens* // Aquaculture 1998. V. 159. P. 203-216.

Hidalgo M.C., Urea E., Sanz A. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities // Aquaculture. 1999. V. 170. P. 267-283.

Hjelmeland K., Raa J. Characterization of trypsin type isozymes isolated from the arctic fish capelin (*Mallotus villisus*) // Comp. Biochem. Physiol. 1982. V. 71 B. P. 557-562.

Hochachka P.W., Somero G.N. Strategies of Biochemical Adaptation // W.B. Saunders Company. Philadelphia, London -Toronto. 1973. 418 p.

Hofer R. The adaptation enzymes to temperature, season and diet in roach, *Rutilus rutilus* and rudd *Scardinius erythrophthalmus*: Proteases // Journ. Fish Biol. 1979. V. 15. N 4. P. 373-379.

Hofer R. Protein digestion and proteolytic activity in the digestive tract of an omnivorous cyprinid // Comp. Biochem. Physiol. 1982 V. 72 A. P. 55-63.

Holm J. C., Torrissen K.R. Growth depression and acclimatization of protease activity in atlantic salmon first-feeding fry responding to a diet supplemented with zooplankton // Aquaculture. 1987. V. 65. N. 2. P. 171-174.

Holben W.E., Williams P., Saarinen M., Särkilahti L.K., Apasalahti J.H.A. Phylogenetic analysis of intestinal microflora indicates a novel *Mycoplasma phylotypes* in farmed and wild Salmon // Microb. Ecol. 2002. V. 44. P. 175-185.

Hooper L.V., Bry L., Falk P.G., Gordon J.I. Host-microbial symbiosis in the mammalian intestine: xploring an internal ecosystem // BioEssays. 1998. V. 20. P. 336-343.

Hooper L.V., Gordon J.I. Commensal Host-Bacterial Relationships in the Gut // Science 2001. V. 292. P. 1115-1118.

Hlophe S.N., Moyo N.A.G., Ncube I. Postprandial changes in pH and enzyme activity from the stomach and intestines of *Tilapia rendalli* (Boulenger, 1897), *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852) and *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) // J. Appl. Ichthyol. 2014. V. 30. P. 35-41.

Horsley R.W. A review of the bacterial flora of teleosts and elasmobranchs, including metods for its analysis // J. Fish. Biol. 1977. V. 10. P. 529-553.

Hoshino T., Ishizaki K., Sakamoto T., Kumeta H., Yumoto I., Matsuyama H., Ohgiya S. Isolation of a *Pseudomonas* species from fish intestine that produces a protease active at low temperature // Lett. Appl. Microbiol. 1997. V. 25. P. 70-72.

Houpe K.L., Malo C., Oldham P.B., Buddington R.K. Thermal modulation of channel catfish intestinal dimensions, BBM fluidity, and glucose transport // Am. J. Physiol. 1997. V. 270. P. R1037-R1043.

Huang F., Yan A., Mu S., Wang X. The proteases and amylases *Hypophthalmichthys molitrix* and *Aristichthys nobilis* // J. Fish. Sei. China, 1999. V. 6. N 2. P. 14-17.

Hu K.J., Leung P.Ch. Food digestion by cathepsin L and digestion-related rapid cell differentiation in shrimp hepatopancreas // Compar. Biochem. Physiol. 2007. V. 146 B. P. 69-80.

Hu X., Hu X., Hu B., Wen C., Xie Y., Wu D., Tao Z., Li A., Gao Q. Molecular cloning and characterization of cathepsin L from freshwater mussel, *Cristaria plicata* // Fish Shellfish Immunol. 2014. V. 40. N 2. P. 446-454.

Itoi S., Okamura T., Koyama Y., Sugita H. Chitinolytic bacteria in the intestinal tract of Japanese coastal fishes // Can J Microbiol. 2006. V. 52. N 12. P. 1158-1163.

Jamashita M., Konagaya S. Purification and characterization of cathepsin L from the white muscle of chum salmon, *Oncorhynchus keta* // Compar. Biochem. Physiol. 1990 a. V. 96 B. N 2. P. 247-252.

Jamashita M., Konagaya S. Purification and characterization of cathepsin B from the white muscle of chum salmon, *Oncorhynchus keta* // Compar. Biochem. Physiol. 1990 b. V. 96 B. N 4. P.733-737.

Jankauskienė R., Lesauskienė L. Antagonistic and proteolytic activity of intestinal bacteria of the genus *Lactobacillus* in carps // Biologija. 1995. N 1-2. P. 161-165.

Jansson B., Olsson R. The cytology of caecal epithelial cells of Perca // Acta Zool. 1960. V. 41. P. 267-276.

Jančařík A. Über die Verdauung des Karpfen // Arch. Tierernähr. 1956. Bd 6. S. 129-138.

Jeuniaux Ch. Quelques considerations sur la plas des poisons dans les cycles biogeochimiques, a la lumiere de la cjinnaissance de leur arsenal enzymatique digestif // Ann. Soc. Roy. Zool. Belg. 1983. T. 113. N 1. P. 73-79.

Jones D.A., Kumlu M., Le Vay L., Fletcher D.J. The digestive physiology of herbivorous, omnivorous and carnivorous crustacean larvae: a review // Aquacult. 1997. V. 155. P. 285-295.

Jónás E., Rágyanszki M., Oláh J., Boross L. Proteolytic digestive enzymes of carnivorous (*Silurus glanis* L.), herbivorous (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) and omnivorous (*Cyprinus carpio* L.) fishes // Aquaculture. 1983. V. 30. P. 145-154.

Jutfelt, F., Olsen, R.E., Björnsson, B.T., Sundell, K. Parr-smolt transformation and dietary vegetable lipids affect intestinal nutrient uptake, barrier function and plasma cortisol levels in Atlantic salmon // Aquaculture. 2007. V. 27. P. 298-311.

Kannappan R., Satoh Y., Iriyama N., Ando M., Sawada M.T., Takahashi N., Furuhashi K., Uda Y. Identification and characterization of cathepsin D in a highly purified sialidase from starfish *A. pectinifera* // J Biochem. 2008. V. 143. N 1. P. 117-122.

Kanno G., Yamaguchi T., Kishimura H., Yamaha E., Saeki H. Purification and characteristics of trypsin from masu salmon (*Oncorhynchus masou*) cultured in fresh-water // Fish Physiol. Biochem. 2010. V. 36. N 3. P. 637-645

Kamarudin M., Jones D.A., le Vay L., Zainal Abidin A. Ontogenetic change in digestive enzyme activity during larval development of *Macrobrachium rosenbergii* // Aquaculture, 1994. V. 123. № 3-4. P. 323-333.

Kapoor B.G., Smit H., Verighina I.A. The alimentary canal and digestion in teleosts // Adv. mar. biol. 1975. V. 13. P. 109-239.

Kaláč I. Studies on herring (*Clupea harengus* L.) and capelin (*Mallotus villosus* L.). Pyloric caeca proteases: partial purification and identification of proteases // Biologia (Bratislava). 1978. V. 33. N 6. P. 485-495.

Karasov W.H., Buddington R.K., Diamond J.M. Adaptation of intestinal sugar and amino acid transport in vertebrate evolution // Transport Processes, Iono- and Osmoregulation (Eds R. Gilles, M. Gilles-Baillien). Berlin: Springer Verlag 1985. P. 227-239.

Kashinskaya E.N., Belkova N.L., Izvekova G.I., Simonov E.P., Andreev K.B., Glupov V.V., Baturina O.A., Kabilov M.R., Solovyev M.M. A comparative study on microbiota from the intestine of Prussian carp (*Carassius gibelio*) and their aquatic environmental compartments, using different molecular methods // J. Applied Microbiol. 2015. V. 119. P. 948-961.

Kawai S., Ikeda S. Studies on digestive enzymes of fishes. I. Carbohydrases in digestive organs of several fishes // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1971. V. 37. P. 333-337.

Kawai S., Ikeda S. Studies on digestive enzymes of fishes. II. Effect of dietary change on the activities of digestive enzyme in carp intestine // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1972. V. 38. N 3. P. 265-270.

Kawai S., Ikeda S. Studies on digestive enzymes of fishes. III. Development of the digestive enzymes of rainbow trout after hatching and the effect of dietary change on the activities of digestive enzymes in the juvenile stage // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1973 a. V. 39. N 7. P. 819-823.

Kawai S., Ikeda S. Studies on digestive enzymes of fishes. IV. Development of the digestive enzymes of carp and black sea bream after hatching // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1973 b. V. 39. N 7. P. 877-881.

Khan A., Ghosh K. Characterization and identification of gut-associated phytase-producing bacteria in some fresh water fish cultured in ponds // Acta Ichthyol. Piscat. 2012. V. 42. N 1. P. 37-45.

Khangembam B.K., Chakrabarti R. Trypsin from the digestive system of carp *Cirrhinus mrigala*: Purification, characterization and its potential application // Food Chemistry. 2015. V. 175 P. 386-394.

Khandagale A.S., Sarojini B.K., Kumari S.N., Suman Joshi S.D., Nooralabettu K. Isolation, Purification, and Biochemical Characterization of Trypsin from Indian Mackerel (*Rastralliger kanagurta*) // J. Aquatic Food Product Technol. 2015. V. 24. N. 4. P. 354-367.

Kim N.Y., Ahn S.J., Lee A.R., Seo J.S., Kim M.S., Kim J.K., Chung J.K., Lee H.H. Cloning, expression analysis and enzymatic characterization of cathepsin S from olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) // Compar. Biochem. Physiol. Biochem. Mol. Biol. 2010. V. 157 B. N 3. P. 238-247.

Kim H.R., Meyers S.P., Godber J.S. Purification and characterization of anionic trypsin from the hepatopancreas of crayfish, *Procambarus clarkia* // Compar. Biochem. Physiol. 1992. V. 103B. P. 391-398.

Kim H.R., Meyers S.P., Pyeun J.H., Godber J.S. Enzymatic properties of anionic trypsin from the hepatopancreas of crayfish, *Procambarus clarkii* // Comp. Biochem. Physiol. 1994. V. 107B. P. 197-203

Kishimura H., Hayashi K., Miyashita Y., Nonami Y. Characteristics of two trypsin isozymes from the viscera of Japanese anchovy (*Engraulis japonica*) // J. Food Biochem. 2005. V. 29. P. 459-469.

Kishimura H., Klomklao S., Benjakul S., Chun B.- S. Characteristics of trypsin from the pyloric ceca of walleye pollock (*Theragra chalcogramma*) // Food Chem. 2008. V. 106. P. 194-199.

Kitomicado M., Tachino S. Digestive enzymes of rainbow trout. I. Carbohydrases. II. Proteases. III. Esterases // Chem. Abstr. 1961. N 5789.

Kofuji P.Y.M., Akimoto A., Hosokawa H., Masumoto T. Seasonal changes in proteolytic enzymes of yellowtail *Seriola quinqueradiata* (Temminck & Schlegel; Carangidae) fed extruded diets containing different protein and energy levels // Aquacult. Res. 2005. V. 36. P. 696-703.

Kolodziejska I., Sikorski Z.E. The digestive proteases of marine fish and invertebrates // Bull. Sea Fish. Inst., Gdynia. 1996. N 137. P. 51-56.

Kolkovski S., Tandler A., Izquierdo M.S. Effects of live food, dietary digestive enzymes on the efficiency of microdiets for seabass *Dicentrarchus labrax* larvae // Aquacult. 1997. V. 148. P. 313-322.

Kolkovsky S., Tandler A., Kissil G.W., Gertler A. The effect of dietary exogenous digestive enzymes on ingestion, assimilation, growth and survival of gilthead sea bream (*Sparus aurata*, Sparidae, Linnaeus) larvae // Fish Physiol. Biochem. 1993. V. 12. P. 203-209.

Kono M., Matsui T., Shimizu C. Chitin-decomposing bacteria in digestive tracts of cultured red sea bream and Japanese eel // Nippon Suisan Gakkaishi. 1987. V. 53. P. 305-310.

Kono M., Matsui T., Shimizu Ch. Chitin-deComparosing bacteria in digestive tracts: of cultured red sea bream and Japanese eel // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1987. V. 53. N2. P. 131-136.

Krasnov A., Teerijoki H., Molsa H. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatic glucose transporter // Biochim. Biophys. Acta. 2001. V. 520. P. 174-178.

Krementz A.B., Chapman G.B. Ultrastructure of the posterior half of the intestine of the Catfish, *Ictalurus punctatus* // J. morphol. 1975. V. 145. N 4. P. 441-461.

Kristjánsson M.M., Gudmundsdottir S., Fox J.W., Bjarnason J.B. Characterization of a collagenolytic serin proteinase from the Atlantic cod (*Gadus morhua*) // Compar. Biochem. Physiol. 1995. V. 110B. N 4. P. 707-717.

Krogdahl, A., Hemre G. I., Mommsen T. P. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. Aquat. Nutr. 2005. V. 11. P. 103-122.

Kurokawa T., Shiraishi M., Suzuki T. Qualification of exogenous protease derived from zooplankton in the intestine of Japanese sardine *Sardinops melanoticus* larvae // Aquaculture 1998. V. 161. P. 491-499.

Kumar S., Garcia-Carreno F.L., Chakrabarti R., Toro M.A.N., Cordova-Murueta J.H. Digestive proteases of three carps *Catla catla*, *Labeo rohita* and *Hypophthalmichthys molitrix*: partial characterization and protein hydrolysis efficiency // Aquacult. Nutr. 2007. V. 13. P. 381-388.

Kumlu M. The effect of feed types on survival and trypsin activity in *Temora longicornis* (Crustacea: Copepoda) // Israel. J. Aquacult. 1997. V. 49. N 4. P. 199-204.

Kumlu M., Sarihan E., Tekelioglu N. Trypsin activity in larvae of *Penaeus monodon* Fabricius, 1789 (Crustacea; Decapoda; Penaeidae) in relation to their diet // Israel. J. Aquacult. 1992. V. 44. N 4. P. 103-110.

Kumlu M., Jones D.A. Feeding and digestion in the caridean shrimp larvae *Palaemon elegans* Rathke and *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) (Crustacea: Palaemonidae) on live and artificial diets // Aquaculture, 1995a. V. 1. N 1. P. 3-12.

Kumlu M., Jones D.A. The effect of live and artificial diets on growth, survival, and trypsin activity in larvae of *Penaeus indicus* // J. World Aquacult. Soc. 1995b. V. 26. N 4. P. 406-415.

Kumlu M., Jones D.A. Digestive protease activity in planktonic crustaceans feeding at different trophic levels // J. Mar. Biol. Assoc. UK. Plymouth. 1997. V. 77. N 1. P. 159-165.

Kuperman B.I., Kuz'mina V.V. Ultrastructure of the intestinal epithelium in fishes with different type of feeding // J. Fish Biol. 1994. V. 44. P. 181-193.

Kuz'mina V.V. Classical and Modern conceptions of fish digestion. In: Feeding and Digestive Functions in Fishes. (Eds. J.E.P. Cyrino, D. Bureau, B.G. Kapoor). Ch. 4. Enfield, NH etc.: Science Publishers. 2008. P. 85-154.

Kuz'mina V.V. Digestive enzyme as an indicator of feeding ecology of wild fish // Feeding ecology and nutrition in fish. San-Francisco. 1996. P. 9-13.

Kuz'mina V.V., Gelman A.G. Membrane-linked digestion // Rev. Fish. Sci. 1997. V. 5 (2). P. 99-129.

Kuz'mina V.V., Golovanova I.L. Contribution of prey proteinases and carbohydrases in fish digestion // Aquacult. 2004. V. 234. P. 347-360.

Kuz'mina V.V., Skvortsova E.G., Zolotareva G.V., Sheptitskiy V.A. Influence of pH upon the activity of glycosidases and proteinases of intestinal mucosa, chyme and microbiota in fish // Fish Physiol. Biochem. 2011. V. 37. N 3. P. 345-357.

Kuz'mina V. V., Shalygin M.V., Skvortsova E.G. The effect of temperature on chyme proteinase activities in perch *Perca fluviatilis* L. and roach *Rutilus rutilus* L. // Inland Water Biology. 2012. V. 5. № 1. P. 155-156.

Kuz'mina V.V., Skvortsova E.G., Shalygin M.V., Kovalenko E.E. Role of peptidases of the enteral microbiota and preys in temperature adaptations of the digestive system in planktivorous and benthivorous fish // Fish Physiol. Biochem. 2015. V.41. № 6. P. 1359-1368.

Lazo J.P., Holt G.J., Arnold C.R. Ontogeny of pancreatic enzymes in larval red drum *Sciaenops ocellatus* // Aquaculture Nutr. 2000. V. 6. P. 183-192.

Lazo, J.P., Mendoza R., Holt G.L., Aguilera C., Arnold C.R. Characterization of digestive enzymes during larval development of red drum (*Sciaenops ocellatus*) // Aquaculture. 2007. V. 265 P. 194-205.

Lauff M., Hofer R. Proteolytic enzymes in fish development and the importance of dietary enzymes // Aquacult. 1984. V. 33. P. 335-346.

LeaMaster B.R., Walsh W.A., Brock J.A., Fujioka R.S. Cold stress-induced changes in the aerobic heterotrophic gastrointestinal tract bacterial flora of red hybrid tilapia // J. Fish Biol. 1997. V. 50. N 4. P. 770-780.

Leaño E.M., Lavilla-Pitogo C.R., Paner M.G. Bacterial flora in the hepatopancreas of pond-reared *Peneus monodon* juveniles with luminous vibriosis // Aquaculture. 1998. V. 164. P. 367-374.

Le Chevalier P., Sellos D., Van Wormhoudt A. Purification and partial characterization of chymotrypsin-like proteases from the digestive gland of the scallop *Pecten maximus* // Compar. Biochem. Physiol. 1995. V. 110B. N 4. P. 777-784.

Lee A.R., Bak H.J., Kim N.Y., Kim M.S., Go H.J., Han J.W., Ahn S.J., Park N.G., Chung J.K., Lee H.H. Cloning, heterologous expression, and enzymatic characterization of cathepsin L from starfish (*Asterina pectinifera*) // Biosci. Biotechnol. Biochem. 2012. V. 76. N 12. P. 2342-2346

Le Moullac G., Van Wormhoudt A. Adaptation of digestive enzymes to dietary protein, carbohydrate and fibre levels and influence of protein and carbohydrate quality in *Penaeus vannamei* larvae (Crustacea, Decapoda) // Aquatic living resources (Ressources vivantes aquatiques) Nantes. 1994. V. 7. № 3. P. 203-210.

Le Moullac G.L., Klein B., Sellos D., Van Wormhoudt A. Adaptation of trypsin, chymotrypsin and α -amylase to casein level and protein source in *Penaeus vannamei* (Crustacea Decapoda) // J. Experim. Marine Biol. Ecol. 1996. V. 208. P. 107-125.

Lesel R. Microbiology of the digestive tract and relations with bacterial populations of water // The 2 lakes 4-th fishery management training course report. 1972. P. 21-26.

Lesel R., Peringer P. Influence of temperature on the bacterial microflora in *Salmo gairdneri* Richardson // Arch. Hydrobiol. 1981. V. 93. N 1. P. 109-120.

Lesel R., Fromageot C., Lesel M. Cellulose digestibility in grass carp, *Ctenopharyngodon idella* and in goldfish, *Carassius auratus* // Aquacult. 1986. V. 54 P. 11-17.

Li X., Meng X., Kong J., Luo K., Luan S., Cao B., Liu N., Pang J., Shi X. Molecular cloning and characterization of a cathepsin B gene from the Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis* // Fish Shellfish Immunol. 2013. V. 35. N 5. P. 1604-1612.

Li C., Zhang H., Li L., Song L. Identification of a cathepsin D potentially involved in H2A cleavage from scallop *Chlamys farreri* // Mol Biol Rep. 2010. V. 37. N 3. P. 1451-1460.

Liang J.Z., Rao Y.Z., Lun Z.R., Yang T.B. Cathepsin L in the orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*: molecular cloning and gene expression after a *Vibrio anguillarum* challenge // Fish Physiol. Biochem. 2012. V. 38. N 6. P. 1795-1806.

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. V. 26. N 3. P. 255-266.

Litvinov A.S., Roshchupko V.F. Long-term Variations of Elements of Hydrometeorological Regime of the Rybinsk Reservoir. // Russian Meteorology and Hydrology. 2010. V. 35. N 7. P. 75-84.

Lopez-Vazquez C.M., Hooijmans C.M., Brdjanovic D., Gijzen H., van Loosdrecht M. C.M. Temperature effects on glycogen accumulating organisms // Water Res. 2009. V. 43. N11. P. 2852-2864.

- Love P.M. Chemical biology of fishes. New York-London: Acad. Press, 1970. 547 p.
- Liu H., Yin L., Zhang N., Li S., Ma C. Purification and characterization of cathepsin L from the muscle of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) // J Agric Food Chem. 2006. V. 54. N 25. P. 9584-9591.
- Lubianskienė V., Jastiuginienė R. Antibiotic and fermentative activity of bacteria found in water and digestive tract of fish from lake Druksiai at Ignalina Nuclear Power Plant // Ekologija (Vilnius). 1996. V. 2. P. 3-7.
- Ma H., Cahub C., Zambonino J., Yua H., Duana Q., Gall Le M.-M., Mai K. Activities of selected digestive enzymes during larval development of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) // Aquaculture. 2005. V. 245. P. 239-248.
- Ma J., Zhang D., Jiang J., Cui S., Pu H., Jiang S. Molecular characterization and expression analysis of cathepsin L1 cysteine protease from pearl oyster *Pinctada fucata* // Fish Shellfish Immunol. 2010. V. 29. N 3. P. 501-507.
- MacDonald N.L., Stark J.R., Austin B. Bacterial microflora in the gastrointestinal tract of Dover sole (*Solea solea* L.), with emphasis on the possible role of bacteria in the nutrition of the host // Microb. Letters. 1986. V. 35. P. 107-111.
- Makinodan Y., Toyohara H., Ikeda S. Comparison of Muscle Proteinase Activity among Fish Species // Compar. Biochem. Physiol., 1984. V. 79 B, N 2, P. 129-134.
- Mandal S., Ghosh K. Isolation of tannase-producing microbiota from the gastrointestinal tracts of some freshwater fish // J. Appl. Ichthyol. 2013. V. 29. N 1. P. 145-153.
- Mattheis T. Das Vorkommen von *Vibrio anguillarum* in Ostseefischen // Ztschr. Fish. N.F. 1964. Bd 12. N 3/5. S. 259-263.
- Margolis L. Aerobic bacteria in the intestines and slime of the pike (*Esox lucius*) // Rev. Canad. Biol. 1953. V. 11. P. 20-48.
- Mondal S., Roy T., Ray A.K. Characterization and identification of enzyme-producing bacteria isolated from the digestive tract of bata, *Labeo bata* // J. World Aquacult. Soc. 2010. V. 41. P. 369-377.
- Montoya A., López-Olmeda J.F., Yúfera M., Sánchez-Muros M.J., Sánchez-Vázquez F.J. Feeding time synchronises daily rhythms of behaviour and digestive physiology in gilthead seabream (*Sparus aurata*) // Aquaculture. 2010. V. 306 P. 315-321.
- McLean E., Ash R. Uptake of horseradish peroxidase in intact form from the gut of the goldfish (*Carassius auratus*) // Arch. Int. Physiol. Biochem. 1989. V. 97. N 5. P. 34-39.
- Meisner A., Burns J. Viviparity in the Halfbeak Genera *Dermogenys* and *Nomorhamphus* (Teleostei: Hemiramphidae) // J. Morphol. 1997. V. 234 P.295-317.
- Merino V., Siva Kumar N. Isolation, affinity purification and biochemical characterization of a lysosomal cathepsin D from the deuterostome *Asterias rubens* // Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol. 2012. V. 161. N 3. P. 240-246.
- Mickėnienė L., Šyvokienė J. The measurement of hydrocarbon-degrading bacteria in the digestive tract of fish as component of contaminated site assessment [Электронный ресурс] // Institute of Ecology of Vilnius University, 2008. Akademijos 2. Vilnius-21 Jun. Lithuania. Режим доступа: <http://www.srcosmos.gr/srcosmos/showpub.aspx?aa=11140>

Moriarty D.J.W. Interactions of microorganisms and aquatic animals, particularly the nutritional role of the gut flora // Microbiol. Poikilotherms. 1990. P. 217-223.

Munilla-Morán R., Stark J.R. Metabolism in marine flatfish. VI. Effect of nutritional state on digestion in turbot, *Scophthalmus maximus* (L.) // Compar. Biochem. Physiol. 1990. V. 95B. N 3. P. 625-534.

Munilla-Morán R., Saborido-Rey F. Digestive enzymes in marine species. I. Proteinase activities in gut from redfish (*Sebastes mentella*), seabream (*Sparus aurata*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) // Comp. Biochem. Physiol. 1996 a. V. 113 B. P. 395-402.

Munilla-Morán R., Saborido-Rey F. Digestive enzymes in marine species. 2. Amylase activities in gut from redfish (*Sebastes mentella*), seabream (*Sparus auratus*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) // Ibid. 1996 b. V. 113B. N 4. P. 827-834.

Murakami K., Noda M. Studies on proteinases from the digestive organs of sardine. I Purification and characterization of three alkaline proteinases from the pyloric caeca // Biochim. Biophys. Acta. 1981. V. 658. P. 17-26.

Muramatsu T., Morita T. Anionic trypsin-like enzymes from the crab *Eriocheir japonicus* De Haan active in more acidic media // Compar. Biochem. Physiol. 1981. V. 70. N 3 B. P. 527-533.

Nagase Y. Contribution to the physiology of digestion in *Tilapia mossambica* Peters: Digestive enzymes and the effects of diets on their activity // Z. Vergl. Physiol. 1964. Bd. 49. S. 270-284.

Natalia Y., Hashim R., Ali A., Chong A. Characterization of digestive enzymes in acarnivorous ornamental fish, the Asian bony tongue *Scleropages formosus* (Osteoglossidae) // Aquacult. 2004. V. 233. P. 305-320.

Nayak S.K. Role of gastrointestinal microbiota in fish // Aquacult. Res. 2010. V. 41. P. 1553- 1573.

Navarrete del Toro M.D.L.A., García-Carreño F., Lopez M.D., Celis-Guerrero L., Saborowski R. Aspartic proteinases in the digestive tract of Marine decapod crustaceans // J. Exp. Zool. 2006. V. 305A. P. 645-654.

Niu D., Xie S., Bai Z., Wang L., Jin K., Li J. Identification, expression, and responses to bacterial challenge of the cathepsin C gene from the razor clam *Sinonovacula constricta* // Dev Comp Immunol. 2014. V. 46. N 2. P. 241-245.

Niu D., Jin K., Wang L., Sun F., Li J. Identification of cathepsin B in the razor clam *Sinonovacula constricta* and its role in innate immune responses // Dev. Compar. Immunol. 2013 a. V. 41. N 1. P. 94-99.

Niu D., Jin K., Wang L., Feng B., Li J. Molecular characterization and expression analysis of four cathepsin L genes in the razor clam, *Sinonovacula constricta* // Fish Shellfish Immunol. 2013 b. V. 35. N 2. P. 581-588.

Noaillac-Depeyre J., Gas N. Fat absorption by the enterocytes of the carp (*Cyprinus carpio* L.) // Cell. Tissue Res. 1974. V. 155. N 3. P. 353-365.

Nordrum S., Bakke-McKellep A.M., Krogdahl A., Buddington R.K. Effects of soybean meal and salinity on intestinal transport of nutrients in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // Compar. Biochem. Physiol. 2000. V. 125 B. P. 317-335.

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. Bd Can. 1966. V. 23. P. 1841-1843.

Oh E.-S., Kim D.-S., Kim J.H., Kim H.-R. Enzymatic properties of a protease from the hepatopancreas of shrimp, *Penaeus orientalis* // J. Food Biochem. 2000. V. 24. P. 251-264.

Ojeda F.P., Caceres C.W. Digestive mechanisms in *Aplodactylus punctatus* (Valenciennes). A temperature of marine herbivorous fish // Mar. Ecol. Progr. 1995. V. 118. N 1-3. P. 37-42.

Ooshiro L. Studies of proteinase in the Pyloric Caeca. Properties of proteinase purified from the Pyloric Caeca of mackerel // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1971. V. 37. N 2. P. 638-641.

Oozeki Y., Bailey K.M. Ontogenetic development of digestive enzyme activities in larval walleye pollock, *Theragra chalcogramma* // Mar. Biol. Berlin, Heidelberg, 1995. V. 122. № 2. P. 177-186.

Okada S., Aikawa T. Cathepsin D-like acid proteinase in the mantle of the marine mussels, *Mytilus edulis* // Compar. Biochem. Physiol. 1986. V. 84B. P. 333-341.

Okuzumi M., Horie S. Studies on the bacterial flora in the intestines of various marine fish // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1969. V. 35. P. 93-100.

Olafsen J.A. Interactions between fish larvae and bacteria in marine aquaculture // Aquaculture. 2001. V. 200. P. 223-247.

Outzen H., Berglund G.I., Smalas A.O., Willassen N.P. Temperature and pH sensitivity of trypsin from Atlantic Salmon (*Salmo salar*) in comparison with bobine and porcine trypsin // Compar. Biochem. Physiol. 1996. V. 115B. N 1. P. 33-45.

Oxley A., Jutfelt F., Sundell K., Olsen R. E. Sn-2-monoacylglycerol, not glycerol, is preferentially utilised for triacylglycerol and phosphatidylcholine biosynthesis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) intestine // Comp. Biochem. Physiol. 2007. V. B146. P. 115-123.

Pancer Z., Leuck J., Rinkevich B., Steffen R., Mueller I., Mueller W.E.G. Molecular cloning and sequence analysis of two cDNAs coding for putative anionic trypsinogens from the colonial urochordate *Botryllus schlosseri* (Ascidacea) // Mol. Mar. Biol. Biotechnol. 1996. V. 5. N 4. P. 326-333.

Parra A. M. Rosas A., Lazo J. P., Viana M. T. Partial characterization of the digestive enzymes of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* under culture conditions // Fish Physiol. Biochem. 2007. V. 33 P. 223-231.

Papoutsoglou E.S., Lyndon A.R. Digestive enzymes along the alimentary tract of the parrotfish *Sparisoma cretense* // J. Fish Biol. 2006. V. 69. P. 130-140.

Pavios M., Anders F., Sorunn S., Olav V. Colonization of the gut in first feeding turbot by bacterial strains added to the water of bioencapsulated in rotifers // Aquaculture. 2000. V. 8. N 5. P. 367-380.

Pavlov D.S., Kasumyan A.O. Feeding diversity in fishes: trophic classification of fish // J. Ichthyol. 2002. V.42. N 2. P. 137-159.

Pederson B.H., Nilssen E.M., Hjelmeland K. Variations in the content of trypsin and trypsinogen in larval herring (*Clupea harengus*) digesting copepod nauplii // Mar. Biol. 1987. V. 94. N 2. P. 171-181.

Péres A., Zambonino-Infante J.L., Cahu C. Dietary regulation of activities and mRNA levels of trypsin and amylase in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae // Fish Physiol. Biochem. 1998. V. 19. P. 145-152.

Perez-Estrada C.J., Civera-Cerecedo R., Hernández-Llamas A., Serviere-Zaragoza E. Growth and biochemical composition of juvenile green abalone *Haliotis fulgens* fed rehydrated macroalgae // Aquaculture Nutr. 2011. V. 17. P. e62-e69.

Phillips A.M.J. Nutrition, digestion and energy utilization // Fish physiology. (Eds. W.S. Hoar, D.J. Randall). New York, London: Acad. Press. 1969. V. 1. P. 391-432.

Philipenko S. The benthic Ponto-Caspian fauna of the Kuchurgan storage reservoir of the Moldavian central steam power station // J. Wetlands Biodiversity. 2015. N 5. P. 7-11.

Philipenko S., Philipenko E., Fomenko V. Kuchurgan storage reservoir – as one of the key component of the wetlands of the lower portions of Dniester river // J. Wetlands Biodiversity. 2013. N 3. P. 67-75.

Plantikov H. Einfluss der Milieutemperatur und des Protein / Fettgehaltes in der Diet auf die Protease aktivitat in den Fylorushangen der Redenbogenforelle (*Salmo gairderi* R.) // Wess. Z. Wilhelm-Pieck-Univ. Rostock Naturwiss. E. 1982. Bd. 31. N 6. P. 45-50.

Poddubny A. G., Galat D.L. Habitat associations of Upper Volga river fishes: effects of reservoirs // Regulated rivers: research & management. 1995. V. 11. P. 67-84.

Pyeun J.H., Cho D.M., Heu M.S. Comparative studies on the enzymatic properties of trypsins from cat-shark and mackerel. 1. Purifications and reaction conditions of the trypsins // Bull. Korean Fisher. Soc. Pusan, 1991. V. 24. N 5. P. 273-288.

Qiu L., Jiang S., Huang J., Wang W., Zhang D., Wu Q., Yang K. Molecular cloning and mRNA expression of cathepsin C gene in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) // Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. 2008. V. 150. N 3. P. 320-325.

Qiu R., Liu X., Hu YH, Sun BG. Expression characterization and activity analysis of a cathepsin B from Pacific abalone *Haliotis discus hannai* // Fish Shellfish Immunol. 2013. V. 34. N 5. P. 1376-1382.

Raksakulthai N., Haard N.F. Fish sauce from capelin (*Mallotus villosus*): Contribution of cathepsin C to the fermentation // Asean food j. Kuala Lumpur. 1992. V. 7. N 3. P. 147-151.

Rangsin W., Areechon N., Yoonpundh R. Digestive enzyme activities during larval development of Striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878) // Kasetsart J. (Nat. Sci.) 2012. V. 46. P. 217-228.

Ray A.K, Ghosh K., Ringø E. Enzyme-producing bacteria isolated from fish gut: a review // Aquacult. Nutr. 2012a. V. 18. N 5. P. 465-492.

Ray A.K., Mondal S., Roy T. Optimization of culture conditions for production of protease by two bacterial strains, *Bacillus licheniformis* BF2 and *Bacillus subtilis* BH4 isolated from the digestive tract of Bata, *Labeo bata* (Hamilton) // Proc. Zool. Soc. 2012b. V. 65. N. 1. P. 33-39.

Ray A.K., Roy T., Mondal S., Ringi E. Identification of gut-associated amylase, cellulase, and protease-producing bacteria in three species of Indian major carps // Aquacult. Res. 2010. V. 41. P. 1462-1469.

- Reeck Y.R., Newrath H. Pancreatic trypsinogen from the African lungfish // Biochemistry. 1972. V. 11. N 4. P. 503-510.
- Reichenbach-Klinke H.-H. Grundlagen der verdauung bei fishen // Münch. Beitz. Abwasser Fishen und Flussbiol. 1972. Bd. 23. S. 13-20.
- Reimer G. The influence of diet on the digestive enzymes of the Amason fish metrinche, *Brycon melanopterus* // Sourn. Fish Biol. 1982. V. 21. N 6. P. 637-642.
- Rekecki A., Dierckens K., Laureau S., Boon N., Bossier P., Van den Broeck W. Effect of germ-free rearing environment on gut development of larval sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) // Aquacult. 2009. V. 293. P. 8-15.
- Reid H. I., Treasurer J.W., Adam B., Birkbeck T. H. Analysis of bacterial populations in the gut of developing cod larvae and identification of *Vibrio logei*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio splendidus* as pathogens of cod larvae. Aquacult. 2009. N. 288 P. 36-43.
- Reshkin S., Ahearn G. Intestinal glucose transport and salinity adaptation in a euryhaline teleost // Amer. J. Physiol. 1987. V. 252. N 3. Pt 2. P. R567-R578.
- Ribeiro L., Zambonino-Infante J.L., Cahu C., Dinis M.T. Development of digestive enzymes in larvae of *Solea senegalensis*, Kaup 1858 // Aquaculture. 1999 V. 179 P. 465-473
- Richards G.P., Liang Yu-M., Chao J., Chao L. Purification, characterization and activation of fish muscle prokallikrein // Compar. Biochem. Physiol. 1997. V. 118C. N 1. P. 39-48.
- Richter-Otto W., Fehrmann M. Zur methodik von darmflora untersuchungen // Ernährungsforsch. 1956. Bd. 1. N. 3. S. 584-586.
- Ringo E. Does dietary linoleic acid affect intestinal microflora in Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.) // Aquaculture Fish. Manage. 1993. V.24. P. 133-135.
- Ringo E., Olsen R.E. The effect of diet on aerobic bacterial flora associated with intestine of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.)// J. Appl. Microbiol. 1999. V. 86. P. 22-28.
- Ringø E., Olsen R. E., Mayhew T. M., Myklebust R. Electron microscopy of the intestinal microflora of fish // Aquacult. 2003. V. 227. P. 395-415.
- Ringo E., Strom E. Microflora of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.): gastrointestinal microflora of free-living fish and effect of diet and salinity on intestinal microflora // Aquaculture Fish. Manage. 1994. V. 25. P. 623-62.
- Ringø E., Strøm E., Tabachek J.A. Intestinal microflora of salmonids: a review // Aquaculture Res. 1995. V. 26. P. 773-789.
- Roche-Mayzaud O., Mayzaud P., Audet C. Changes in lipid classes and trypsin activity during the early development of brook charr, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill), fry // Aquacult. Res. 1998. V. 29. N 2. P. 137-152.
- Rodiles A., Santigosa E., Herrera M., Hachero-Cruzadol., Cordero M. L., Martí nez-Llorens S., Lall S. P., Alarco n F. J. Effect of dietary protein level and source on digestive proteolytic enzyme activity in juvenile Senegalese sole, *Solea senegalensis* Kaup 1850 // Aquacult. Int. 2012. V. 20. P. 1053-1070.
- Rodriguez A., Le Vay L., Mourente G., Jones D.A. Biochemical composition and digestive enzyme activity in larvae and postlarvae of *Penaeus japonicus* during herbivorous and carnivorous feeding // Mar. Biol. 1994. V. 118. N 1. P. 45-51.
- Romano A., Kottra G., Barca A., Tiso N., Maa M., Argenton F., Daniel H., Storelli C., Verri T. High-affinity peptide transporter PEPT2 (SLC15A2) of the zebrafish *Danio*

erio: functional properties, genomic organization, and expression analysis // Physiol. Genomics. 2006. V. 24. P. 207-217.

Rombaut G., Suantika G., Boon N., Maertens S., Dhert P., Top E., Sorgeloos P., Verstraete W. Monitoring of the evolving diversity of the microbial community present in rotifer cultures // *Aquaculture. 2001. V. 198. P. 237-252.*

Romero J., Navarrete P. 16S rDNA-Based Analysis of Dominant Bacterial Populations Associated with Early Life Stages of Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*) // *J. Microbiol. Ecol. 2006. V. 51. P. 422-430*

Sabapathy U., Teo L.H. A quantitative study of some digestive enzymes in the rabbitfish, *Siganus canaliculatus* and the sea bass, *Lates calcarifer* // *J. Fish Biol. 1993. V. 42. N. 4. P. 595-602.*

Sabapathy U., Teo L.H. A quantitative study of some digestive enzymes in the rabbitfish, *Siganus canaliculatus* and the sea bass, *Lates calcarifer* // *J. Fish Biol. 1993. V. 42. N. 4. P. 595-602.*

Saha A.K., Ray A.K. Cellulase activity in rohu fingerlings // *Aquacul. Int. 1998. V. 6. P. 281-291.*

Saha S., Roy R.N., Sen S.K., Ray A.K. Characterization of cellulase-producing bacteria from the digestive tract of tilapia, *Oreochromis mossambica* (Peters) and grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes) // *Aquaculture Research. 2006. V. 37. P. 380-388.*

Sakai J., Sakaguchi Y., Matsumoto J.J. Acid proteinase activity of squid mantle muscle: some properties // *Compar. Biochem. Physiol. 1981. V. 70B. P. 791-794.*

Sakata T., Okabayashi J., Kakimoto D. Variations in the intestinal microflora of tilapia reared in fresh and seawater // *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 1980. V. 46. P. 313-317.*

Sakharov I.Yu., Litvin F.E., Mitkevitch O.V., Samokhin G.P., Bessalova Z.D. Substrate specificity of collagenolytic proteases from the king crab *Paralithodes camtschatica* // *Compar. Biochem. Physiol. 1994. V. 107B. N. 3. P. 411-417.*

Sala-Rabanal M., Gallardo M. A., Sanchez J., Planas J.M. Na-dependent D glucose transport by intestinal brush border membrane vesicles from gilthead sea bream (*Sparus aurata*) // *J. Membr. Biol. 2004. V. 201. P. 85-96.*

Salmerón C., Navarro I., Johnston I.A., Gutiérrez J., Capilla E. Characterisation and expression analysis of cathepsins and ubiquitin-proteasome genes in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) skeletal muscle // *BMC Res. Notes. 2015. V. 15. N. 8. 149-155. doi: 10.1186/s13104-015-1121-0*

Sangaletti R., Terova G., Peres A., Bossi E., Cora S., Saroglia M. Functional expression of the oligopeptide transporter PepT1 from the sea bass (*Dicentrarchus labrax*) // *Pflügers Arch.-Eur. J. Physiol. 2009. V. 459. P. 47-54.*

Santigosa E., Sánchez J., Médale F., Kaushik S., Pérez-Sánchez J., Gallardo M.A. Modifications of digestive enzymes in trout (*Oncorhynchus mykiss*) and sea bream (*Sparus aurata*) in response to dietary fish meal replacement by plant protein sources // *Aquaculture. 2008. V. 282. P. 68-74*

Scott P. Livebearing Fishes. 1997. Tetra Press. 13 p.

Serviere-Zaragoza E., Navarrete del Toro M.A., Garcia-Carreno F.L. Protein hydrolyzing enzymes in the digestive systems of the adult Mexican blue abalone, *Haliotis fulgens* (Gastropoda) // *Aquaculture. 1997. V. 157. N. 3-4. P. 323-332.*

- Sire M.-F., Dorin D., Vernier J.-M. Intestinal absorption of macromolecular proteins in rainbow trout // *Aquacult.* 1992. V. 100. P. 234-235.
- Sire M.-F., Vernier J.-M. Intestinal absorption of protein in teleost fish // *Compar. Biochem. Physiol.* 1992. V. A103. P. 771-781.
- Siringan P., Raksakulthai N., Yongsawatdigul J. Partial purification and characterization of trypsin-like proteinases in Indian anchovy (*Stolephorus* spp.) // *Food Chemistry.* 2007. V. 101. P. 82-89.
- Sivasubramanian K., Ravichandran S., Kavitha, R. Isolation and characterization of gut microbiota from some estuarine fishes // *Marine Sci.* 2012. V. 2. N 2. P. 1-6.
- Skrodenyte-Arbačiaskiene V. Proteolytic activity of the roach (*Rutilus rutilus*) intestinal microflora // *Acta Zool. Lit.* 2000. V. 10. P. 69-77.
- Skrodenyte-Arbaciauskiene V., Sruoga A., Butkauskas D., Skrupskelis K. Phylogenetic analysis of intestinal bacteria of freshwater salmon *Salmo salar* and sea trout *Salmo trutta trutta* and diet // *Fish. Sci.* 2008. V. 74. P. 1307-1314.
- Spallanzani L. Experiences sur la digestion de l'homme et de differentes especes d'animaux. Geneve. 1783. 298 p.
- Spanggaard B., Huber I., Nielsen J., Nielsen T., Appel K.F., Gram L. The micro flora of rainbow trout intestine. A comparison of traditional and molecular identification // *Aquaculture.* 2000. V. 182. N 1. P. 1-15
- Squires E.J., Haard N.F., Felthaw L.A.W. Gastric proteases of the greenland cod *Gadus ogac*. II Structural properties // (Can. J.) *Biochem. Cell. Biol.* 1986. V. 64. N 3. P. 215-222.
- Sriket C., Benjakul S., Visessanguan W. Characterisation of proteolytic enzymes from muscle and hepatopancreas of fresh water prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) // *J Sci Food Agric.* 2011. V. 91. N 1. P. 52-59.
- Sridhar M., Nair R., Sridhar N. Trypsin activity as a function of variation in shrimp *Penaeus indicus* (Crustacea/Arthropoda) // *Ind. J. Mar. Sci.* 1995. V. 24. P. 110-112.
- Stephens A.1., Rojo L., Araujo-Bernal S., Garcia-Carreño F., Muhlia-Almazan A. Cathepsin B from the white shrimp *Litopenaeus vannamei*: cDNA sequence analysis, tissues-specific expression and biological activity // *Compar. Biochem. Physiol. Biochem. Mol. Biol.* 2012. V. 161 B. N 1. P. 32-40.
- Stickney R.R., Shumway S. Occurrence of cellulase activity in the stomach of fishes // *Fish Biol.* 1974. V. 6. P. 779-790.
- Știrbu S., Luchianova V., Gudzi T., Ialovitchi N., Rusu E. Starea ecologica a fluviului Nistru conform elementelor hidrobiologice pentru anul 2007 // *Managementul bazinului transfrontalier al fl. Nistru și directiva-cadru a apelor a Uniunii Europene.* Chișinău: Eco-TIRAS. 2008. P. 290-293.
- Stokes R., Fromm P. Glucose absorption and metabolism by the gut of rainbow trout // *Compar. Biochem. Physiol.* 1964. V. 13. P. 53-69.
- Smith M.W. Membrane transport in fish intestine // *Compar. Biochem. Physiol.* 1983. V. 75 A. N 3. P. 325-335.
- Storelli C., Vilella S., Romano A., Maffia M., Cassano G. Brush-border amino acid transport mechanisms in carnivorous eel intestine // *Am. J. Physiol.* 1989. V. 257. P. R506-R5.

Smith C.C.R., Snowberg L.K., Caporaso J.G., Knight R., Bolnick D.I. Dietary input of microbes and host genetic variation shape among-population differences in stickleback gut microbiota // ISME J. 2015. P. 1-12.

Sugita H., Ito Y. Identification of intestinal bacteria from Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) and their ability to digest chitin // Lett Appl Microbiol. 2006. V. 43. N 3. P. 336-342.

Sugita H., Iwata J., Miyajima C., Kubo T., Noguchi T., Hashimoto K., Deguchi Y. Changes in microflora of a puffer fish *Fugu niphobles*, with different water temperatures // Mar. Biol. 1989. V. 101. N 3. P. 299-304.

Sugita H., Kawasaki J., Deguchi Y. Production of amylase by the intestinal microflora in cultured freshwater fish // Lett. Appl. Microbiol. 1997b. V. 24. P. 105-108.

Sugita H., Kawasaki J., Kumazawa J., Deguchi Y. Production of amylase by the intestinal bacteria of Japanese coastal animals // Lett. Appl. Microbiol. 1996. V. 23. P. 174-178.

Sugita H., Matsuo N., Hirose Y., Iwato M., Deguchi Y. *Vibrio* sp. strain NM 10 with an inhibitory effect against *Pasteurella piscicida* from the intestine of Japanese coastal fish // Appl. Environ. Microbiol. 1997c. V. 63. P. 4986-4989.

Sugita H., Miyajima C., Deguchi Y. The vitamin B12- producing ability of the intestinal microflora of freshwater fish // Aquacult. 1991. V. 92. P. 267-276.

Sugita H., Miyajima C., Iwata J., Arai S., Kubo T., Igarashi S., Deguchi Y. Intestinal microflora of Japanese coastal fishes // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1988. V. 54. N 5. P. 875-882.

Sugita H., Oshima K., Tamura M., Deguchi Y. Bacterial flora in the gastrointestinal of freshwater fishes in the river // Bull. Jap. Soc. Sci. Fisheries. 1983. V. 49. P. 1387-1395.

Sugita H., Shibuya K., Hanada H., Deguchi Y. Antibacterial abilities of intestinal microflora of the river fish. // Fish. Sci. 1997a. V. 63. N. 3. P. 378-383. 345.

Sugita H., Takahashi J., Deguchi Y. Production and consumption of biotin by the intestinal microflora of cultured freshwater fishes. // Biosci. Biotechn. Biochem. 1992. V. 56 P. 1678-1679.

Sullam K.E., Essinger S.D., Lozupone C.A., O'Connor M.P., Rosen G.L., R. Knight, Kilham S.S., Russell J.A. Environmental and ecological factors that shape the gut bacterial communities of fish: a meta-analysis // Mol. Ecol. 2012. V. 21. N 13. P. 3363-3378.

Sullam K.E., Rubin B.E.R., Dalton Ch.M., Kilham S.S., Flecker A.S., Russell J.A. Divergence across diet, time and populations rules out parallel evolution in the gut microbiomes of Trinidadian guppies // ISME J. 2015. P. 1-15.

Sunde J., Eiane S.A., Rustad A., Jensen H.B., Opstvedt J., Nygård E., Venturini G., Rungruangsak-Torrissen K. Effect of fish feed processing conditions on digestive protease activities, free amino acid pools, feed conversion efficiency and growth in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) // Aquacult. Nutrit. 2004. V. 10. P. 261-277.

Suzer C., Firat K., Saka S. Ontogenic development of the digestion enzymes in common pandora, *Pagellus erythrinus*, L. larvae // Aquacult. Res. 2006. V. 37. P. 1565-1571.

Šyvokienė J., Mickėnienė L., Bubinas A. The influence of nutrition and microbiological relations on variability of commercial fish from the Baltic sea // Polish-Swedish symp. Baltic coastal fisheries resources and management. 1996. P. 269-270.

Šyvokienė J., Mickėnienė L., Kazlauskienė N., Stasiūnaitė P. Macro- ir mikroorganizmų tarpusavio santykių įvertinimas lašišinėse žuvyse imant pavyzdžiu šlakį // Ekologija (Vilnius). 1997. N 4. P. 40-48.

Szalaminska M. A histochemical study of digestive enzymes in pike larvae // Fish Manage. 1980. V. 12. N 2. P. 83-91.

Tanjii M., Kageyama T., Takahashi K. Tuna pepsinogens and pepsins Purification, characterization and amino-terminal sequences // Eur. J. Biochem. 1988. V. 177. P. 251-259.

Tapia-Paniagua ST., Chabrillón M., Díaz-Rosales P., García de la Banda I., Lobo C. Intestinal microbiota diversity of the flat fish *Solea senegalensis* following probiotic administration // Microbiol. Ecol. 2010. V. 60. P. 310-319.

Terova G., Cora S., Verri T., Rimoldi S., Bernardini G., Saroglia M. Impact of feed availability on PepT1 mRNA expression levels in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) // Aquaculture. 2009. V. 294. P. 288-299.

Thamotharan M., Gomme J., Zonno V. et al. Electrogenic, proton-coupled, intestinal dipeptide transport in herbivorous and carnivorous teleosts // Amer. J. Physiol. 1996. V. 270. P. R939-R947.

Thongprajukaew K., Kovitvadhi U. Effects of sex on characteristics and expression levels of digestive enzymes in the adult guppy *Poecilia reticulata* // Zool. Studies. 2013. V. 52: 3. doi:10.1186/1810-522X-52-3

Torrissen K.R. Characterization of proteases in the digestive tract of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in comparison with rainbow trout (*Salmo gairdneri*) // Comp. Biochem. Physiol. 1984. V. 77 B. P. 669-674.

Trust T.J., Bull L.M., Currie B.R., Buckley J.T. Obligate Anaerobic Bacteria in the Gastrointestinal Microflora of the Grass Carp (*Ctenopharingodon idella*), Goldfish (*Carassius auratus*), and Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) // J. Fish. Res. Bd Canada, 1979. V. 36. N. 10. P. 1174-1179.

Trust T.J., Sparrow R.A.H. The bacterial flora in the alimentary tract of freshwater salmonid fishes. // Can. J. Microbiol. 1974. V. 20. P. 1219-1228.

Uchii K., Matsui K., Yonekura R., Tani K., Kenzaka T., Nasu M., Kawabata Z. Genetic and physiological characterization of the intestinal bacterial microbiota of bluegill (*Lepomis macrochirus*) with three different feeding habits // Microbial Ecology. 2006. V. 51. P. 277-283.

Ungureanu L. Diversitatea și particularitățile funcționării comunităților fitoplanctonice în ecosistemele acvatice ale Republicii Moldova // Autoreferat al tezei de doctor habilitat în biologie. Chișinău. 2011. 62 p

Ugolev A.M. (Ed.) Membrane digestion. New facts and concepts. Moscow: Mir. 1989. 288 p.

Ugolev A.M., Iezuitova N.N. Membrane digestion and modern concepts of food assimilation // World Rev. Nutr. Diet. 1982. V. 40. P. 113-187

Ugolev A.M., Kuz'mina V.V. Membrane hydrolases of fish enterocytes. Temperature adaptation // Compar. Biochem. Physiol. 1993. V. 106 B. N 2. P. 443-452.

Ugolev A. M., Kuz'mina V. V. Fish enterocyte hydrolases. Nutrition adaptation // Compar. Biochem. Physiol. 1994. V. 107A № 1. P. 187-193.

Ugolev A.M., Egorova V.V., Kuz'mina V.V., Gruzdkov A.A. Comparative-molecular characterization of membrane digestion in fish and mammals. // Compar. Biochem. Physiol. (England). 1983. N 3. P. 627-635.

Ugwumba A.A.A. Carbohydrases in the digestive tract of the African bony-tongue *Heterotis niloticus* (Pisces: Osteoglossidae) // Hydrobiol. 1993. V. 257. P. 95-100.

Usatii M. Evoluția, conservarea și valorificarea durabilă a diversității ihtiiofaunei ecosistemelor acvatice ale Republicii Moldova // Teză de doctor habilitat în științe biologice. Chișinău. 2004. 34 p.

Usatii A., Crepis O., Șaptefrați N., Strugulia O., Cebanu A. Particularitățile acțiunilor complexe a factorilor antropogeni asupra schimbărilor structurii ihtiiofaunei și populațiilor de pești în lacurilor bazinului fl. Nistru // Академику Л.С. Берг - 135 лет: Сб. науч. статей. Бендеры: Eco-TIRAS. 2011. С. 176-181.

Ungureanu L., Toderas I., Tumanova D., Ungureanu G., Gheorghita C. Structure and functioning of phytoplankton in the Dniester river // Геоэкологические и биоэкологические проблемы Северного Причерноморья. Материалы V Международной научно-практической конференции 14 ноября 2014 г. Т.: Изд-во ПГУ. 2014. С. 273-276.

Uys W., Hecht T., 1987. Assays on the digestive enzymes of sharptooth catfish, *Clarias gariepinus* (Pisces: Claridae). Aquaculture. 1987. V.63. P. 301-313.

Valle A.Z, Iriti M., Faoro F., Berti C., Ciappellano S. In vivo prion protein intestinal uptake in fish // Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. 2008. V. 116. P. 173-180.

Van Wormhoudt A., Bourreau G., Le Moullac G. Amylase Polymorphism in Crustacea Decapoda: Electrophoretic and Immunological Studies. // Biochem. System. Ecol. 1995a. V. 23. N. 2. P. 139-149.

Van Wormhoudt A., Sellos D., Donval A., Plaire-Goux S., Moullac Le G. Chymotrypsin gene expression during the intermolt cycle in the shrimp *Penaeus vannamei* (Crustacea; Decapoda). // Experientia. 1995b. V. 51. N. 2. P. 159-163.

Venugopal A., Siva Kumar N. Biochemical characterization of cathepsin D from the mussel *Lamellidens corrianus*. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol. 2014. V. 169. P. 25-30. doi:10.1016/j.cbpb.2013.12.003.

Verri T., Romano A., Barca A.R. Transport of di- and tripeptides in teleost fish intestine // Aquacult. Res. 2010. V. 41. P. 641-653.

Verri T., Danieli A., Bakke S., Romano A., Barca A.R., Storelli C. A rapid and inexpensive method to assay transport of short chain peptides across intestinal brush-border membrane vesicles from the European eel (*Anguilla anguilla*) // Aquacult. Nutr. 2008. V. 14. P. 341-349.

Verri T., Kottra G., Romano A., Tiso N., Peric M., Maffia M., Boll M., Argenton F., Daniel H., Storelli C. Molecular and functional characterisation of the zebrafish (*Danio rerio*) PEPT1-type peptide transporter // FEBS Letters. 2003. V. 549. P. 115-122.

Villalba-Villalba A. G., Ramírez-Suárez J. C., Valenzuela-Soto E.M., Sánchez G.G., Ruiz G.C., Pacheco-Aguilar R. Trypsin from viscera of vermiculated sailfin catfish, *Pterygoplichthys disjunctivus*, Weber, 1991: Its purification and characterization // Food Chemistry. 2013. V. 141, Iss. 2. P. 940-945.

- Vilella S., Ahearn G. A., Cassano G., Storelli C. How many Na-dependent carriers for L-alanine and L-proline in the eel intestine? Studies with brush border membrane vesicles // Biochim. Biophys. Acta. 1989. V. 984. P. 188-192.
- Visessanguan W., Benjakul S., An H. Purification and characterization of cathepsin L in arrowtooth flounder (*Atheresthes stomias*) muscle // Compar. Physiol. Biochem. 2003. V. 134B. N 3. P. 474-487.
- Voverienė G., Mickėnienė L., Šyvokienė J. Hydrocarbon-degrading bacteria in the digestive tract of fish, their abundance, species composition, and activity // Acta Zool. Lituanica. 2002. V. 12. N 3. P. 333-339.
- Wang Y.-B., Li J.-R., Lin J. Probiotics in aquaculture: Challenges and outlook // Aquaculture. 2008. V. 281. P. 1-4.
- Wang S., Shi L.J., Liu N., Chen A.J., Zhao X.F., Wang J.X. Involvement of *Fenneropenaeus chinensis* Cathepsin C in antiviral immunity // Fish Shellfish Immunol. 2012. V. 33. N 4. P. 821-828.
- Wei S., Huang Y., Cai J., Yan Y., Guo C., Qin Q. Characterization of cathepsin B gene from orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides* involved in SGIV infection // Fish Shellfish Immunol. 2014. V. 36. N 1. P. 194-205.
- Xiao R., Zhang Z., Wang H., Han Y., Gou M., Li B., Duan D., Wang J., Liu X., Li Q. Identification and characterization of a cathepsin D homologue from lampreys (*Lampetra japonica*) // Dev Comp Immunol. 2015. V. 49. N 1. P. 149-156.
- Yamamoto T. An electron microscopic study of the columnar epithelial cell in the intestine of fresh water teleosts: goldfish (*Carassius auratus*) and rainbow trout (*Salmo irideus*) // Z. Zeilforsch. Mikroskop. 1966. Bd. 72. S. 66-87.
- Yamashita M., Suzuki M. Elevation of catheptic activity in the muscle of juvenile chum salmon during starvation // Bull. Nat. Res. Inst. Fish. Sci. (Japan). Yokohama. 1996. N 8. P. 29-34.
- Yang G., Bao B., Peatman E., Li H., Huang L., Ren D. Analysis of the composition of the bacterial community in puffer fish *Takifugu obscurus* // Aquaculture. 2007. N 262. P. 183-191.
- Ye L., Amberg J., Chapman D., Gaikowski M., Liu W.-T. Fish gut microbiota analysis differentiates physiology and behavior of invasive Asian carp and indigenous American fish // ISME J. 2014. V. 8. P. 541-551.
- Yoshinaka R., Sato M., Suzuki T., Ikeda S. Enzymatic characterization of anionic trypsin of the catfish (*Parasilurus asotus*) // Compar. Biochem. Physiol., 1984. V. 77B. N 1. P. 1-6.
- Yoshinaka R., Sato M., Suzuki T., Ikeda S. Purification and some properties of two anionic trypsins from the eel (*Anguilla japonica*) // Compar. Biochem. Physiol. 1985. V. 80B. N 1. P. 5-9.
- Yoshitomi B. Seasonal variation of crude digestive protease activity in Antarctic krill *Euphausia superba* // Fish. Sci. 2005. V. 71. N. 1. P. 12-19.
- Zambonino Infante, J.L., Cahu, C.L. Influence of diet on pepsin and some pancreatic enzymes in sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae // Compar. Biochem. Physiol. 1994. V. 109 A. P. 209-212.
- Zambonino Infante, J.L., Cahu, C.L. High dietary lipid levels enhance digestive tract maturation and improve *Dicentrarchus labrax* larval development. J. Nutr. 1999. V. 129. P. 1195-1200.

Zambonino Infante, J.L., Cahu, C.L. Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae. *Compar. Biochem. Physiol.* 2001. V. 130 C. P. 477-448.

Zhou L., Budge S.M., Ghaly A.E., Brooks M.S., Dave D. Extraction, Purification and Characterization of Fish Chymotrypsin: A Review // *Amer. J. Biochem. Biotechnol.* 2011. V. 7. N 3. P. 104-123.

Zhao W., Chen L., Zhang F., Wu P., Li E., Qin J. Molecular characterization of cathepsin L cDNA and its expression during oogenesis and embryogenesis in the oriental river prawn *Macrobrachium nipponense* (Palaemonidae) // *Genet. Mol. Res.* 2013. V. 12. N 4. P. 5215-5225.

Zhou Z., Liu Y., He S., Shi P., Gao X., Yao B., Ringø E. Effects of dietary potassium diformate (KDF) on growth performance, feed conversion and intestinal bacterial community of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* ♀ × *O. aureus* ♂) // *Aquaculture*. 2009. V. 291. P. 89-94.

Zhu B.W., Zhao L.L., Sun L.M., Li D.M., Murata Y., Yu L., Zhang L. Purification and characterization of a cathepsin L-like enzyme from the body wall of the sea cucumber *Stichopus japonicus* // *Biosci Biotechnol Biochem.* 2008. V. 72. N 6. P. 1430-1437.

Научное издание

**Виктория Вадимовна Кузьмина
Галина Викторовна Золотарева
Владимир Александрович Шептицкий
Сергей Иванович Филипенко**

РОЛЬ ОБЪЕКТОВ ПИТАНИЯ И МИКРОБИОТЫ
В ПРОЦЕССАХ ПИЩЕВАРЕНИЯ РЫБ ИЗ РАЗНЫХ ЭКОСИСТЕМ

Монография

Издается в авторской редакции

Компьютерная верстка *А.Н. Федоренко*

ИЛ № 06150. Сер. АЮ от 21.02.02.

Подписано в печать 19.02.16. Формат 60 × 90/16.

Усл. печ. л. 12,25. Тираж 150 экз. Заказ № 93.

Отпечатано в Изд-ве Приднестр. ун-та. 3300, г. Тирасполь, ул. Мира, 18.