


На правах рукописи



ГАРИНА

Дарина Владимировна

ВЛИЯНИЕ ГЛЮКОЗЫ И НЕКОТОРЫХ
ГОРМОНОВ НА ПИЩЕВОЕ ПОВЕДЕНИЕ РЫБ
(НА ПРИМЕРЕ КАРАСЯ И КАРПА)

03.00.16 — экология

03.00.13 — физиология человека и животных

Автореферат

диссертации на соискание учёной степени

кандидата биологических наук

Борок 2005

Работа выполнена в 1998—2004 гг. в Институте биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН

Научный руководитель: доктор биологических наук, с.н.с. Кузьмина Виктория Вадимовна

Научный консультант: кандидат биологических наук Герасимов Юрий Викторович

Официальные оппоненты: доктор биологических наук Ордян Наталья Эдуардовна

кандидат биологических наук, с.н.с. Непомнящих Валентин Анатольевич

Ведущая организация: Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова

Защита диссертации состоится «28» июня 2005 г. в 9 час 30 мин на заседании специализированного совета К 002.036.01 по защите диссертаций на соискание учёной степени кандидата биологических наук при Институте биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН по адресу: 152742, п. Борок Некоузского р-на Ярославской обл. Тел./факс: (08547)24042.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН

Автореферат разослан «21» мая 2005 г.

Учёный секретарь

диссертационного совета

кандидат биологических наук



Л.Г. Корнева

2006-4
7924

2152823

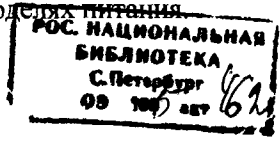
1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Поведение представляет собой лабильную и необычайно важную систему приспособлений, позволяющую животным не только существовать в постоянно меняющихся условиях среды, но и входить в качестве составной части в организованные и регулируемые группы и сообщества (Одум, 1975). В связи с этим исследование поведения рыб занимает важное место при рассмотрении традиционных проблем экологии, таких как питание, размножение, миграции и другие (Павлов, Касумян, 1987; Экспериментальные и полевые исследования..., 1989).

Важнейшими биотическими факторами, определяющими успешное существование особи и вида в целом, являются питание и пищевые отношения животных (Ивлев, 1977). Пищевое поведение рыб традиционно изучается по двум основным направлениям — экологическому и физиологическому. Питание и пищевые взаимоотношения рыб в водохранилищах Волжского каскада исследованы достаточно подробно (Житинёва, 1958, 1959, 1960; Фортунова, Попова, 1973; Иванова и др., 1978; Столбунов, 2003 и другие). Закономерности пищевого поведения рыб интенсивно изучаются в экспериментальных условиях (Ивлев, 1977; Герасимов, Линник, 1988; Михеев, 1984, 1988, 1999; 2001; Михеев, Пакульская, 1989; Герасимов, 2003; Gerasimov, 1996; Mikheev, 2000 и другие). Данные, касающиеся характера и способов питания, а также структуры пищевого поведения рыб, обобщены в ряде фундаментальных обзоров (Павлов, Касумян, 1998; Pavlov, Kasumyan, 2002).

В то же время, пищевое поведение — один из важнейших регуляторов гомеостаза. Современные представления о регуляции пищевого поведения животных весьма противоречивы и в настоящее время бесспорным представляется лишь то, что оно не может регулироваться каким-либо одним компонентом внутренней среды, а определяется сложной цепью превращений, затрагивающих разные звенья метаболизма (Кассиль, 1990). Проблема регуляции аппетита у рыб изучена в значительно меньшей степени по сравнению с млекопитающими. При этом в большинстве работ традиционно исследуется влияние гормонов, нейротрансмиттеров, утилизонов лишь на один критерий пищевого поведения рыб — количество потребляемой пищи. Однако известно, что пищевое поведение рыб — сложная, состоящая из нескольких фаз, форма поведения (Павлов, Касумян, 1998). В связи с этим, большой интерес представляет изучение физиологических основ целостного пищевого поведения рыб, включающего комплекс временных характеристик питания и подвижности, интенсивности и скорости питания.

Цель работы: исследование роли глюкозы, инсулина и адреналина в регуляции целостного пищевого поведения и связанных с ним групповых отношений рыб в условиях, приближенных к естественным, а также его отдельных характеристик в упрощённых моделях питания.



Задачи исследования:

1. Оценить влияние глюкозы, инсулина и адреналина, введённых внутривнутрибрюшинно, на целостное пищевое поведение и латентное время питания трёх близкородственных видов рыб сем. карповых: серебряного карася *Carassius auratus* (L.), обыкновенного карася *C. carassius* (L.) и карпа *Cyprinus carpio* L.

2. Сопоставить влияние различных доз глюкозы и гормонов на пищеводобывательную и двигательную активность рыб в различных схемах поведенческих экспериментов.

3. Оценить влияние исследуемых агентов на биохимические показатели углеводного обмена (содержание гликогена в гепатопанкреасе и концентрацию глюкозы в крови).

4. На основании сопоставления данных поведенческих экспериментов и биохимического анализа предложить физиологические механизмы, лежащие в основе изменения поведенческих реакций рыб под воздействием глюкозы и гормонов.

Защищаемые положения:

1. Все изученные агенты вызывают изменения пищеводобывательной активности рыб; наиболее выраженный эффект оказывает инсулин.

2. Характер влияния глюкозы и гормонов на пищевую и двигательную активность рыб сложен и зависит как от дозы, так и от времени воздействия препарата.

Научная новизна. Впервые исследовано влияние глюкозы — важнейшего утилизиона, а также инсулина и адреналина — гормонов, участвующих в регуляции метаболизма, накопления и расходования резервных веществ, на целостное пищевое поведение рыб. Впервые установлен зависящий от дозы и времени эффект экзогенных гормонов и глюкозы на пищеводобывательную и двигательную активность рыб. Выявлено слабое стимулирующее действие на интенсивность питания малых доз адреналина и глюкозы, и угнетающее — больших. Установлен выраженный дозозависимый эффект инсулина, проявляющийся в первоначальной гипофагии и последующей гиперфагии, сходный с наблюдаемым у млекопитающих. Показано стрессирующее действие адреналина в высоких дозах, а также процедуры инъекции на поведение рыб. Предложены метаболические механизмы, опосредующие влияние гормонов и глюкозы на интенсивность питания рыб. Показано принципиальное сходство механизмов влияния глюкозы и гормонов на метаболизм и пищевое поведение рыб с таковыми у млекопитающих.

Теоретическая и практическая значимость работы. Исследование механизмов реализации рыбами сложного комплекса биологических реакций, связанных с питанием, представляет значительный интерес для анализа закономерностей функционирования сообществ водных организмов. В частности, детальное изучение регуляции пищевого поведения рыб необходимо для понимания механизмов, лежащих в основе формирования рациона рыб и их распределения в пространстве. Разработка этой фундаментальной проблемы

важна и для решения таких вопросов аквакультуры, как оптимизация и создание новых способов и технологий кормления, а также для разработки принципов и способов управления поведением рыб в рыбохозяйственных целях.

Работа выполнена в рамках программ, поддержанных Российским фондом фундаментальных исследований (проекты №№ 98-04-49099, 01-04-49120).

Апробация работы. Материалы диссертационной работы доложены на XI Всероссийской конференции молодых учёных «Проблемы экологии и биоразнообразия водных и прибрежно-водных экосистем» (Борок, 1999); International Symposium dedicated to Academician Ivan Pavlov's 150-anniversary "Mechanisms of adaptive behaviour" (SPb, 1999); VII Молодежной научной конференции «Актуальные проблемы биологии и экологии» (Сыктывкар, 2000); Международной конференции студентов и аспирантов по фундаментальным наукам «Ломоносов-2000» (Москва, 2000); IX Всероссийской конференции «Экологическая физиология и биохимия рыб» (Ярославль, 2000); Юбилейной научной конференции, посвящённой 30-летию Ярославского государственного университета им. П.Г. Демидова «Актуальные проблемы естественных и гуманитарных наук на пороге XXI века: Биология. Химия» (Ярославль, 2000); Международной конференции, посвящённой 75-летию со дня рождения А.М. Уголева «Механизмы регуляции висцеральных систем» (Санкт-Петербург, 2001); Всероссийской конференции «Физиология организма в нормальном и экстремальном состоянии» (Томск, 2001); Международной конференции «Трофические связи в водных сообществах и экосистемах» (Борок, 2003); Международной конференции «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов» (Петрозаводск, 2004).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 14 работ, в том числе 4 статьи и 10 тезисов.

Структура и объём работы. Диссертация изложена на 119 страницах машинописного текста, состоит из введения, 3 глав, выводов, списка литературы, включающего 153 наименований, в том числе 81 на иностранном языке, и содержит 7 таблиц и 25 рисунков.

2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проведена в 1998—2004 гг. в Институте биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН. Проведено 9 серий экспериментов по изучению целостного пищевого поведения рыб; 19 серий — по исследованию латентного времени питания; 3 серии — по определению показателей углеводного обмена. Общее количество экземпляров рыб для биохимического анализа составило 196, для поведенческих экспериментов — 235.

Объекты исследования — серебряный карась *Carassius auratus* (L.), обыкновенный карась *Carassius carassius* (L.) и карп *Cyprinus carpio* L. Рыбы для экспериментов были выращены на экспериментальной прудовой базе ИБВВ

РАН «Сунога» (серебряный карась и карп в возрасте 0+, 1+, 2+) или пойманы в прудах п. Борок и его окрестностей (серебряный и обыкновенный карась в возрасте 0+). Средняя масса сеголеток карася и карпа составляла $6 \pm 0,4$ г, двухлеток — $20 \pm 0,9$ г и трёхлеток — 90 ± 6 г.

Исследование целостного пищевого поведения рыб проводили в установке оригинальной конструкции (Pavlov et al., 1992), состоящей из 4-х аквариумов объёмом 200 л и площадью дна $0,6 \text{ м}^2$, с укрепленными над ними зеркалами. На дне аквариумов грунт (речной песок) слоем 2—3 см. Освещение обеспечивалось лампами дневного света. Режим освещения: 8 час «свет» — 16 час «темнота». Температура воды в весенний и осенний период $20\text{—}23^\circ\text{C}$, в летний $25\text{—}28^\circ\text{C}$, в зимний $15\text{—}18^\circ\text{C}$. Для проведения эксперимента формировали три опытных и одну контрольную группы рыб (сеголетки карася или карпа), по 3 особи в каждой, и помещали в аквариумы установки. Корм давали два раза в сутки. В качестве корма использовали обездвиженных личинок *Chironomus riparius*, в количестве 90 экз. на группу рыб, что превышало количество корма, съедаемое рыбами за время эксперимента, и составляло около 3,3 % от массы тела. Личинки раскладывались группами на 3 ситечка диаметром 8 см, имитирующих «кормовые пятна». Ситечки закапывались в донный субстрат таким образом, что часть личинок была видна на поверхности. Перед началом опыта рыб отсаживали в стартовый отсек и раскладывали «кормовые пятна». Затем рыб выпускали из стартового отсека и в течение 5 мин производили видеосъёмку их поведения. После съёмки рыб изолировали, «кормовые пятна» с несъеденными личинками хируномид удаляли и подсчитывали остаток корма.

В каждом эксперименте измерялось 4 основных показателя, характеризующих различные аспекты пищевого поведения рыб: 1 — рацион (количество корма, съеденного за время эксперимента), экз. личинок хируномид; 2 — время питания (продолжительность поиска и захвата пищевых частиц рыбами в «кормовом пятне»), сек., где выделяли 2.1 — время питания одной рыбы, 2.2 — время питания двух рыб (продолжительность питания одновременно двух рыб на одном или разных пятнах), 2.3 — время питания трёх рыб (продолжительность питания одновременно трёх рыб на одном или разных пятнах); 2.4 — суммарное время питания, рассчитанное как сумма времени питания 1-й, 2-х и 3-х рыб; 2.5 — время отсутствия питания (ни одна из рыб не питается); 3 — скорость питания (отношение рациона к суммарному времени питания), экз./сек.; 4 — время плавания (перемещение рыб вне «кормовых пятен», рыба не делает попыток питаться), сек., где выделяли 4.1 — время неподвижности (ни одна из рыб не совершает поступательных движений), 4.2 — время одиночного движения (рыбы перемещаются порознь), 4.3 — время группового движения (все три особи перемещаются группой). Оцифровку полученных результатов проводили с помощью специальной компьютерной программы.

Каждая серия состояла из 3—4-х экспериментов, длительностью по 5 сут. В начале недели производилась однократная внутривентральная инъекция гормона или глюкозы рыбам опытных групп и раствора Рингера для холоднокровных животных — рыбам контрольной группы. Наблюдение за пищевым поведением рыб осуществляли через 1, 5, 24, 48, 72 и 96 час после инъекции. Через 2 сут после последней видеосъёмки, в начале следующей недели начинали следующий эксперимент и т.д. до конца серии.

Данные нескольких опытов усредняли; оценивали эффект вводимого вещества на показатели пищедобывательной и двигательной активности рыб как за все время эксперимента, так и для каждого временного интервала.

Для экспериментов по исследованию латентного времени питания формировали две группы рыб (контрольную и опытную), по 5 особей в каждой. Каждая группа содержалась в отдельном непроточном аквариуме одинакового объёма (20 л — для сеголетков, 65 л — для двухлетков и 300 л — для трёхлетков; в последнем случае опытная и контрольная группа рыб находились в одном аквариуме, перегородженном сеткой). Освещение и температурный режим естественные. Измерение латентного времени питания производили двумя способами: 1) «планктонный» тип питания: латентное время питания оценивали по времени от момента соприкосновения корма с поверхностью воды до схватывания его рыбами. В качестве корма использовали кусочки филе рыбы. Рыбы питаются группой; 2) «бентосный» тип питания: латентное время питания оценивали от момента выхода рыбы из стартовой камеры, расположенной на дне аквариума, до схватывания ею корма, расположенного в противоположном от стартового отсека углу. Данная схема эксперимента позволяет фиксировать также количество съеденной пищи (рацион). Корм — обездвиженные личинки хирономид в количестве 30 экз. на одну особь. Рыбы помещаются в стартовый отсек аквариума по очереди; продолжительность эксперимента от момента выхода из камеры — 2 мин, после чего рыба изымается, подсчитывается остаток корма, на её место помещается вторая рыба и т.д. Наблюдения производили через 0,5, 1, 3, 8, 24, 48, 72 и 96 час после инъекции (при исследовании эффекта гормонов), а также в течение более короткого периода (60—90 мин после инъекции) с интервалом 15 мин (при исследовании эффекта глюкозы). Для каждой временной точки производили не менее 5—10 измерений. Данные нескольких опытов одной серии усредняли.

Измерение показателей углеводного обмена производили в острых опытах. Пробы крови и навески гепатопанкреаса отбирали во временные интервалы, соответствующие таковым в поведенческих экспериментах (через 1, 5, 24, 48, 72 и 96 час после инъекции). Уровень гликемии определяли антроновым методом Роя (Roe, 1955) в модификации П.М. Бабаскина (1964). Концентрацию гликогена определяли с помощью антронового реактива — метод Зейфтера и соавторов (Seifter et al., 1950) с очисткой тканей по Брандту (Brandt, 1936).

Статистическую обработку данных осуществляли биометрическими методами (Лакин, 1973) с использованием программных пакетов EXCEL'2000, STATISTICA 6.0.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Влияние глюкозы на пищевое поведение рыб

Исследование влияния глюкозы в дозах 300, 600, 3000 и 6000 мг/кг на комплекс поведенческих пищедобывательных и двигательных реакций рыб проводили в трёх сериях экспериментов. Во всех сериях экспериментов обнаружено дозозависимое изменение времени одиночного и суммарного питания, скорости питания рыб, в двух сериях— времени питания 2-х рыб, рациона, времени одиночного движения и неподвижности, лишь в одной серии экспериментов дозозависимо изменяется время группового движения. Изменение времени питания трёх рыб не зависит от дозы ни в одной серии экспериментов (табл. 1).

Таблица 1

Анализ дисперсии параметров пищевого поведения рыб под влиянием глюкозы в разных сериях экспериментов

Характеристики пищевого поведения рыб	1-я серия			2-я серия			3-я серия		
	F	p	df	F	p	df	F	p	df
Время отсутствия питания	6,19	0,003*	3	8,31	0,0002*	3	66,3	0,000000*	5
Время питания 1-й рыбы	6,24	0,003*	3	7,99	0,0003*	3	52,7	0,000000*	5
Время питания 2-х рыб	2,75	0,067	3	4,57	0,008*	3	10,0	0,000000*	5
Время питания 3-х рыб	0,76	0,529	3	0,84	0,48	3	1,97	0,09	5
Суммарное время питания	6,24	0,003*	3	8,59	0,0002*	3	63,0	0,000000*	5
Рацион	2,92	0,057	3	7,39	0,0005*	3	10,0	0,000000*	5
Скорость питания	7,02	0,002*	3	4,32	0,01*	3	20,9	0,000000*	5
Время неподвижности	7,03	0,002*	3	0,34	0,80	3	26,1	0,000000*	5
Время одиночного движения	6,78	0,002*	3	2,17	0,11	3	22,9	0,000000*	5
Время группового движения	0,08	0,969	3	1,13	0,35	3	6,21	0,00004*	5

Обозначения: F—критерий Фишера, p—уровень значимости, df—число степеней свободы. Значком «*» обозначены значения $p < 0,05$.

Динамика интенсивности питания под воздействием различных доз глюкозы (на примере 3-й серии экспериментов) представлена на рис. 1а, б.

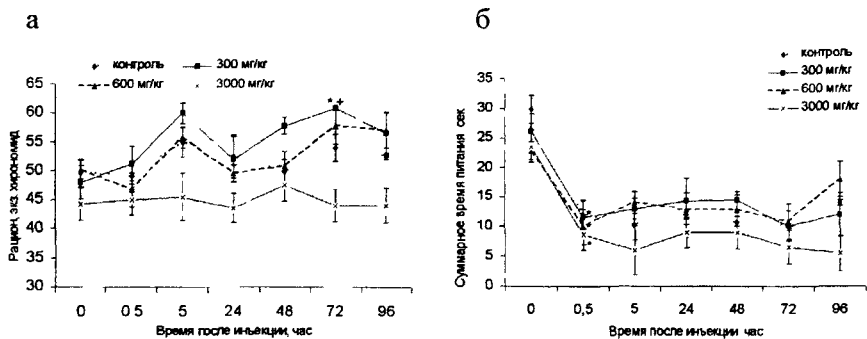


Рис. 1. Влияние глюкозы в дозах 300, 600 и 3000 мг/кг на рацион (а) и суммарное время питания (б) серебряных карасей

Не выявлено значимых изменений рациона ни по сравнению с интактными, ни с контрольными животными, за исключением точки 72 час (рис. 1а), однако тенденция к изменению этой характеристики сходна у рыб контрольной и двух опытных групп, инъецированных низкими дозами: наблюдается два пика подъёма рационов — через 5 и 72 час после инъекции. У рыб, инъецированных наибольшей дозой глюкозы, рацион варьирует очень слабо и при этом численно всегда ниже такового рыб других опытных и контрольной групп. При рассмотрении динамики суммарного времени питания рыб (рис. 1б) обнаружена сходная тенденция: незначительное увеличение показателя под воздействием низких доз и снижение — под воздействием наибольшей дозы глюкозы по сравнению с контрольной группой рыб.

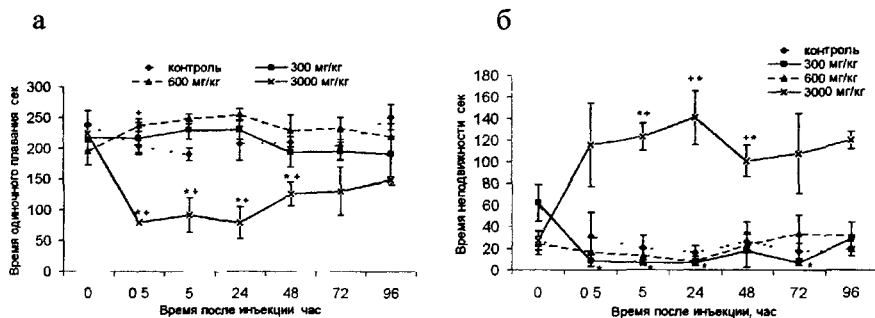


Рис. 2. Влияние глюкозы в дозах 300, 600 и 3000 мг/кг на время одиночного движения (а) и время отсутствия подвижности (б) у серебряных карасей

Характеристики подвижности изменяются более значительно. Под воздействием наименьшей дозы глюкозы достоверно снижается время неподвижности рыб через 0,5, 5, 24 и 72 час после инъекции (рис. 2б). Под

воздействием самой высокой дозы глюкозы наблюдается значительное достоверное снижение времени подвижности за счёт одиночного движения как по сравнению с интактными, так и контрольными животными (рис. 2а, б).

В опытах по измерению *латентного времени питания* (ЛВП) показано достоверное увеличение показателя (через 30 мин после инъекции), а также снижение рациона (через 30, 45, 60 и 90 мин после инъекции) лишь под воздействием высокой дозы глюкозы (4500 мг/кг). Доза глюкозы 600 мг/кг не влияет ни на латентное время питания, ни на рацион рыб.

В опытах по измерению показателей углеводного обмена обнаружено, что инъекция глюкозы в дозе 600 мг/кг вызывает через 30 мин после инъекции более чем двукратное увеличение уровня гликемии у серебряного карася ($6,8 \pm 0,3$ и $3,3 \pm 0,17$ ммоль/л у опытных и интактных особей соответственно, $p < 0,05$).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что введённая внутривентриально глюкоза отчётливо снижает пищедобывательную активность рыб лишь в высоких дозах (3000 мг/кг и более). Снижение подвижности под воздействием высоких доз глюкозы может свидетельствовать о возникновении у рыб физиологического состояния, сходного с сытостью, как это наблюдается при естественном насыщении (Зданович, Пушкарь, 2004; Asaeda et al., 2001). Предположено, что снижение пищевой мотивации рыб под воздействием высокой дозы обусловлено выбросом инсулина. В то же время, низкие дозы глюкозы, по-видимому, даже незначительно стимулируют питание рыб. Достоверное увеличение плавательной активности под воздействием низких доз глюкозы также может свидетельствовать об усилении пищевой мотивации рыб.

3.2. Влияние адреналина на пищевое поведение рыб

Исследование влияния адреналина в дозах 0,14, 0,70 и 1,5 мг/кг на комплекс поведенческих пищевых реакций рыб проводили в трех сериях экспериментов. Дисперсионный однофакторный анализ результатов трёх серий экспериментов показал наличие достоверной зависимости большинства исследованных параметров пищевого поведения рыб от дозы адреналина (табл. 2): времени одиночного и суммарного питания, времени одиночного движения и времени неподвижности (во всех сериях), скорости питания (в двух сериях). Достоверная зависимость рациона, времени питания 2-х и 3-х рыб, а также времени группового плавания от дозы препарата установлена лишь в одной серии.

Анализ динамики интенсивности питания рыб под воздействием адреналина (на примере 1-й серии экспериментов) показал двухфазный характер изменения пищедобывательной активности рыб (рис. 3а, б).

Кратковременное снижение интенсивности и времени питания через 1 час после инъекции сменяется последующим возрастанием, максимальным через 2 сут после инъекции. Выявлен интересный феномен: степень снижения

Анализ дисперсии параметров пищевого поведения рыб под влиянием адреналина в разных сериях экспериментов

Характеристики пищевого поведения рыб	1-я серия			2-я серия			3-я серия		
	F	p	df	F	p	df	F	p	df
Время отсутствия питания	15,5	0,000000*	3	12,0	0,000001*	3	8,3	0,00008*	3
Время питания 1-й рыбы	12,1	0,000004*	3	13,7	0,000000*	3	10,2	0,000009*	3
Время питания 2-х рыб	9,7	0,00003*	3	2,3	0,09	3	1,1	0,35	3
Время питания 3-х рыб	1,5	0,23	3	0,35	0,79	3	10,9	0,000005*	3
Суммарное время питания	15,3	0,000000*	3	12,0	0,000001*	3	9,7	0,00002*	3
Рацион	12,7	0,000002*	3	1,4	0,24	3	2,3	0,06	4
Скорость питания	3,4	0,02*	3	6,7	0,0004*	3	2,0	0,12	3
Время неподвижности	3,0	0,04*	3	13,0	0,000000*	3	5,6	0,002*	3
Время одиночного движения	5,0	0,004*	3	13,8	0,000000*	3	17,7	0,000000*	3
Время группового движения	1,2	0,31	3	2,7	0,05	3	6,8	0,0004*	3

Обозначения как в табл. 1.

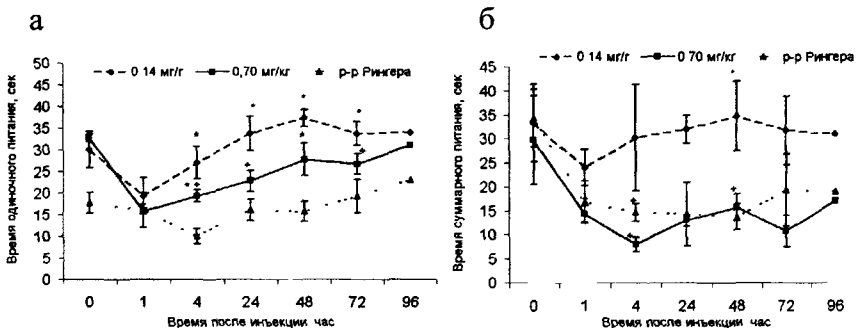


Рис. 3. Влияние адреналина в дозах 0,14 и 0,70 мг/кг на рацион (а) и суммарное время питания (б) серебряных карасей.

интенсивности питания под воздействием «ложной» инъекции выше, чем под воздействием адреналина в низкой дозе. Через 48 час после инъекции адреналина в дозе 0,14 мг/кг рацион рыб был выше, чем у интактных особей (рис. 3а). На основании собственных и литературных данных высказано предположение о наличии двух механизмов влияния адреналина на метаболизм рыб, опосредующих соответствующие изменения их пищевой мотивации: быстрый и медленный, или отсроченный эффект; последний связан с усилением биосинтеза белка в клетках.

Анализ динамики временных характеристик подвижности не выявил чёткой тенденции их изменения, однако обнаружено характерное двухфазное изменение латентного времени питания. Выявлено два пика увеличения показателя: через 1 и 8 час после инъекции (рис. 4).

Динамика рационов в серии экспериментов с одновременной регистрацией ЛВП и рационов сходна с наблюдаемой в сериях по исследованию целостного пищевого поведения (снижение через 1 час и возрастание — через 2 сут после инъекции).

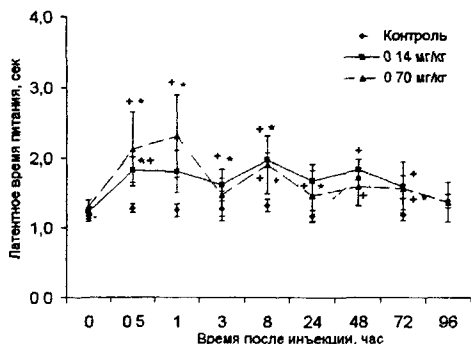


Рис. 4. Влияние адrenalина на латентное время питания карпа (планктонный тип питания).

Для выяснения возможной роли адrenalина как стресс-агента в регуляции пищевого поведения карасей было проведено две серии поведенческих экспериментов с использованием препарата, обладающего стресс-протекторным свойством — пирacetамом. Выявлена стойкая тенденция к снижению ЛВП у карасей под воздействием пирacetама в дозе 1,4 мг/кг во все сроки наблюдения по сравнению с рыбами контрольной группы, достоверное через 10, 24 и 72 час после инъекции. В повторном эксперименте осенью часть карасей контрольной группы после процедуры инъекции не принимала пищу. Однако после введения пирacetама рыбы контрольной группы начинали питаться. Кроме того, ЛВП рыб, инъекцированных пирacetамом, всегда было достоверно ниже, чем у питавшихся рыб контрольной группы. Таким образом, выявленное восстановление пищевых реакций карася в осенний и снижение латентного времени питания в летний периоды под воздействием пирacetама подтверждает изначальное предположение о возникновении у рыб под воздействием инъекций адrenalина и раствора Рингера стресс-реакции.

Динамика концентрации глюкозы в крови и содержания гликогена в гепатопанкреасе рыб под воздействием инъекций адrenalина и «ложной» инъекции также свидетельствуют о развивающейся дозозависимой стресс-реакции у рыб. Обнаружено, что введение адrenalина в дозе 0,14 мг/кг и «ложная инъекция» вызывают значительное увеличение уровня гликемии у карася уже через 1 час после инъекции: с $2,8 \pm 0,2$ ммоль/л у интактных рыб до $4,3 \pm 0,3$ и $7,3 \pm 0,8$ ммоль/л в контроле и опыте соответственно, $p < 0,05$. Через 5 час уровень глюкозы в крови рыб опытной группы заметно снижается, однако остается достоверно выше таковых контрольных рыб ($3,3 \pm 0,2$ и $1,9 \pm 0,1$ ммоль/л соответственно, $p < 0,05$). Через 1 сут после инъекции наблюдается ещё более

значительное снижение уровня гликемии ($1,8 \pm 0,3$ и $1,4 \pm 0,1$ ммоль/л в опыте и контроле соответственно, $p < 0,05$). Несмотря на недостоверное увеличение показателя через 2 сут после инъекции ($2,8 \pm 0,8$ и $3,3 \pm 1,0$ ммоль/л в опыте и контроле соответственно, $p > 0,05$), значимых изменений концентрации глюкозы в крови рыб после 1 сут уже не регистрируется. Прослеживается также чёткая тенденция к снижению содержания гликогена в печени рыб как под воздействием «ложной» инъекции, так и адреналина в дозе 0,14 мг/кг.

Таким образом, результаты экспериментов свидетельствуют о снижении пищедобывательной активности рыб как под воздействием инъекций адреналина во всех изученных дозах, так и раствора Рингера, однако интенсивность и время питания рыб под воздействием низкой дозы адреналина выше таковых у рыб остальных опытных и даже контрольной групп. Как меньшая, так и большие дозы препарата, а также сама процедура внутривентриальной инъекции оказывают дозозависимое стрессорирующее воздействие, проявляющееся в снижении локомоторной активности, увеличении в общем балансе времени доли группового плавания, появлении «бросковых» движений. Этот вывод подтверждают и результаты экспериментов с использованием пираретама, и данные по измерению показателей углеводного обмена, согласующиеся с данными других исследователей (Плисецкая, 1975; Pavlov et al., 1994). Результаты экспериментов хорошо описываются в рамках представления о конкурирующем взаимоотношении двух основных поведенческих доминант: пищевой и оборонительной. Так, в случае инъекций больших доз адреналина и раствора Рингера у рыб преобладает оборонительная мотивация, подавляющая пищевую; напротив, при введении низкой дозы возросшая в результате метаболических сдвигов пищевая мотивация существенно усиливает пищедобывательную активность стрессированных рыб, выравнивая характеристики питания до уровня интактных особей.

3.3. Влияние инсулина на пищевое поведение рыб

Влияние экзогенного инсулина на пищевое поведение серебряного карася исследовали в трёх сериях экспериментов: в первой серии — в дозах 12 и 40 ед./кг, во второй — в дозах 6, 12, 24 и 36 ед./кг, в третьей исследовали сочетанное влияние инсулина в дозе 6 ед./кг и глюкозы в дозе 300 мг/кг.

Дисперсионный однофакторный анализ данных установил наличие значительной (особенно во 2-й серии) достоверной зависимости всех временных характеристик и скорости питания от дозы вводимого гормона. Рацион и время одиночного движения достоверно изменяется лишь в одной серии экспериментов, для остальных характеристик подвижности достоверной зависимости от дозы не выявлено (табл. 3).

Результаты экспериментов показали отчётливую тенденцию к сокращению у рыб затрат времени на питание, как группового, так и одиночного, с увеличением дозы вводимого гормона. При этом рацион дозозависимо

возрастает. Это приводит к почти линейному росту скорости питания с возрастанием дозы гормона, что отличается от наблюдаемой картины при воздействии других препаратов.

Таблица 3

Анализ дисперсии параметров пищевого поведения рыб под влиянием инсулина в разных сериях экспериментов

Характеристики пищевого поведения рыб	1-я серия			2-я серия		
	F	p	df	F	p	df
Время отсутствия питания	8,4	0,0003*	3	15,8	0,000000*	5
Время питания 1-й рыбы	4,7	0,008*	3	9,2	0,000000*	5
Время питания 2-х рыб	5,3	0,004*	3	19,8	0,000000*	5
Время питания 3-х рыб	4,1	0,01*	3	5,7	0,000113*	5
Суммарное время питания	8,2	0,0003*	3	16,0	0,000000*	5
Рацион	3,4	0,02*	3	1,6	0,158	5
Скорость питания	3,8	0,02*	3	15,6	0,000000*	5
Время неподвижности	1,7	0,18	3	1,4	0,223	5
Время одиночного движения	1,2	0,3	3	3,0	0,014*	5
Время группового движения	2,5	0,08	3	1,9	0,108	5

Обозначения как в табл.1.

Анализ динамики интенсивности питания под воздействием инсулина (на примере 2-й серии экспериментов) показал двухфазный характер изменения пищедобывательной активности рыб, как и в случае с адреналином, однако степень падения и последующего возрастания рациона при введении высокой дозы гормона гораздо более значительна (рис. 5а, б). Максимальное снижение рациона наблюдается через 24 час ($18 \pm 6,6$, $40 \pm 0,4$ и $41 \pm 1,6$ экз. личинок хирономид у опытных, контрольных и интактных рыб соответственно, $p < 0,05$), максимальное увеличение — через 9 сут ($70 \pm 3,7$ и $49 \pm 5,9$ экз. личинок хирономид у опытных и контрольных особей соответственно, $p > 0,05$). Сходная, но с небольшим опережением динамика рационов наблюдается и для дозы 12 ед./кг: 6 час ($31 \pm 8,0$, $35 \pm 2,6$ и $41 \pm 1,6$ экз. личинок хирономид у опытных, контрольных и интактных рыб соответственно, $p > 0,05$) и 8-е сут ($60 \pm 6,5$ и $47 \pm 1,8$ экз. личинок хирономид у опытных и контрольных особей соответственно, $p > 0,05$) (рис. 5а).

Характер изменения суммарного времени питания в целом сходен с таковым рационов (рис. 5б). Максимальное снижение показателя наблюдается в те же сроки. Заметным отличием динамики затрат времени на питание является то, что несмотря на первоначальное весьма значительное и дозозависимое снижение показателя, последующее его увеличение выражено не столь сильно.

В 3-й серии экспериментов обнаружено, что при совместном введении инсулина (6 ед./кг) с глюкозой (300 мг/кг) гиперфагический эффект инсулина не выявляется. Однако инсулин в той же дозе на фоне ежедневных инъекций раствора Рингера также практически перестает действовать на характеристики питания рыб; следовательно, учитывая низкую дозу вводимой глюкозы, этот феномен можно объяснить действием процедуры ежедневной инъекции.

Результаты опытов по исследованию влияния инсулина на латентное время питания рыб не выявили достоверного изменения показателя ни при одной из изученных доз препарата,

за исключением точки «1 час» в случае дозы 24 ед./кг.

Обнаруженные нами закономерности действия инсулина на потребление пищи рыбами совпадают с данными, полученными при исследовании млекопитающих. Под воздействием экзогенного инсулина у последних первоначально наблюдается гипофагия, сменяющаяся затем гиперфагией и даже ожирением при многократном введении гормона (Кассиль, 1990). При этом инсулин на фоне глюкозной нагрузки не оказывал гиперфагического эффекта. Уиллинг (Willing, 1995) показал, что периферическое введение крысам инсулина в дозе от 2 до 3 ед. в сутки вызывает у последних увеличение суточного рациона на 30—40%, и экспериментально проверил возможные механизмы такого эффекта.

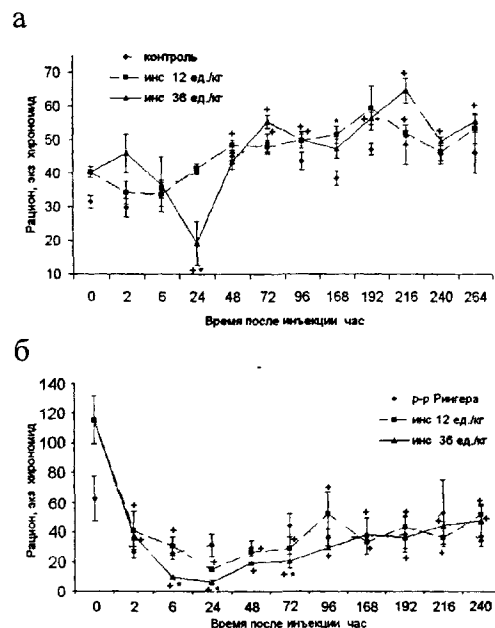


Рис. 5. Влияние инсулина в дозах 12 и 36 ед./кг на рацион (а) и суммарное время питания (б) серебряного карася

Согласно результатам его работы, гиперфагический эффект инсулина не обусловлен возникающей гипогликемией, а также, по-видимому, изменением метаболизма в печени (в частности, усилением утилизации глюкозы), и предположил два возможных механизма его влияния на потребление пищи: 1) прямое влияние на нейроны, чувствительные к инсулину; 2) изменение клеточного метаболизма в мышечной, жировой или другой периферической ткани. Результаты приведенных выше опытов в целом совпадают с выводами этого автора. Так, характер динамики рационов отвергает первоначальное предположение о том, что изменение интенсивности питания под воздействием инсулина связано с изменением уровня

гликемии, т.к. падение рационов в первые часы после инъекции гормона совпадает по времени с падением уровня гликемии (Кузьмина, 1971), и наоборот, последующее восстановление уровня гликемии сопровождается возрастанием потребления пищи. Вероятно, как и в случае с адреналином, разнонаправленные эффекты инсулина в различные сроки после инъекции на потребление пищи у рыб опосредованы двумя различными по длительности механизмами: быстрым и медленным. Известно, что к ранним эффектам инсулина относится его действие на проницаемость плазматических мембран некоторых клеток (миоцитов, адипоцитов, фибробластов, лимфоцитов), что приводит к облегчению диффузии глюкозы и аминокислот в клетки (Розен, 1994). Аналогичные процессы наблюдаются при естественной выработке инсулина после приёма пищи. Возможно, далее включаются поздние эффекты, связанные с депонированием резервных веществ (жира), что в конечном итоге и приводит к усилению пищевой мотивации рыб.

Значительное дозозависимое возрастание скорости питания под воздействием инсулина является его отличительной чертой по сравнению с действием глюкозы и адреналина. Отсутствие влияния инсулина на двигательную активность рыб объясняет эту особенность действия инсулина. По-видимому, подвижность рыб в результате действия препарата не была нарушена, и рыбам не требовалось большого количества времени для отыскания корма. Поэтому возрастающая пищевая мотивация рыб сопровождалась (как это и наблюдается у интактных рыб при «естественном» усилении мотивации) увеличением скорости питания рыб.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты работы подтверждают высказанную ранее мысль, что «долгосрочные механизмы поиска и потребления пищи <у рыб> связаны с метаболизмом» (Шпарковский, 1996: 107). Установлено, что периферически введенные глюкоза, адреналин и инсулин вызывают неоднозначные по характеру и величине изменения пищедобывательной и двигательной активности рыб, зависящие как от дозы, так и от времени, прошедшего после введения препарата. Глюкоза и адреналин оказывают незначительный стимулирующий эффект на питание рыб в низких дозах и ингибирующий — в высоких. Эффект инсулина вне зависимости от дозы однонаправлен, а его величина напрямую зависит от дозы гормона. При этом оба гормона оказывают двухфазное воздействие на интенсивность питания рыб: кратковременное снижение, сменяющееся последующим возрастанием, обусловленное, по-видимому, двумя различными механизмами влияния гормонов на метаболизм рыб: быстрым и медленным. Предположено, что эффекты инсулина на пищевую мотивацию связаны с метаболическими сдвигами на клеточном и тканевом уровнях и не зависят от уровня гликемии. Снижение пищедобывательной активности рыб под воздействием высоких доз глюкозы может быть опосре-

довано выбросом инсулина, вызванным глюкозной нагрузкой, как это происходит у млекопитающих. Выявлено снижение подвижности рыб под воздействием высоких доз глюкозы и незначительное увеличение — под воздействием низких. Снижение подвижности под воздействием высоких доз глюкозы может быть связано как с угнетением пищевой мотивации, так и в результате изменения состояния нервной системы рыб. Увеличение подвижности рыб под воздействием низких доз глюкозы может быть связано с усилением пищевой мотивации рыб. Напротив, эффекты адреналина на подвижность, по всей вероятности, не зависят от изменения пищевой мотивации. Инсулин не влияет на подвижность рыб, вследствие чего скорость их питания под воздействием гормона растет пропорционально усилению пищевой мотивации.

Обнаруженные закономерности влияния гормонов и глюкозы на метаболизм и пищевое поведение рыб указывают на их сходство с таковыми у млекопитающих. Однако влияние этих агентов на пищевое поведение рыб, в силу его специфики, имеет характерные особенности. Данные поведенческих экспериментов указывают на более сложный характер пищевых реакций рыб, питающихся группой в условиях, приближенных к естественным, по сравнению с поведением одиночных особей в опытах с упрощенными моделями питания. Это обусловлено конфликтом основных поведенческих мотиваций: пищевой, оборонительной, социальной. Показано, что в ряде случаев о снижении пищевой мотивации рыб можно судить не только по интенсивности и затратам времени на питание, но и усилению других — оборонительной и социальной, — мотиваций. Результаты работы подтверждают важную роль мотивационной компоненты в осуществлении сложного комплекса поведенческих реакций рыб, связанных с питанием.

ВЫВОДЫ

1. Впервые показано влияние глюкозы, адреналина и инсулина не только на конечную фазу пищевого поведения рыб (количество съеденной пищи), но и на фазу поиска пищи.

2. Продемонстрировано неоднозначное, зависящее от дозы, влияние периферически введенного адреналина и глюкозы на пищевое поведение карася и карпа: низкие дозы незначительно стимулируют пищедобывательную активность рыб, высокие — угнетают. Влияние инсулина, напротив, однозначно вне зависимости от дозы, а величина эффекта напрямую зависит от дозы гормона.

3. Глюкоза в дозе 3000 мг/кг и выше вызывает снижение двигательной активности рыб. При введении меньших доз, напротив, наблюдается незначительное увеличение времени подвижности рыб. Скорость плавания рыб снижается под воздействием только высоких доз глюкозы.

4. Выявлен двухфазный характер влияния адреналина на интенсивность питания рыб: кратковременное снижение через 1 ч после инъекции и увели-

чение в последующие часы наблюдения, максимальное через 2 сут. Наиболее выраженное увеличение рациона и суммарного времени питания во второй фазе наблюдается при меньшей дозе.

5. Периферически введённый адреналин и процедура внутрибрюшинной инъекции оказывают дозозависимое стрессирующее воздействие на поведение рыб, проявляющееся в снижении локомоторной активности, увеличении в общем балансе времени доли группового плавания, появлении «бросковых» движений. Возникновение стресса у рыб подтверждается характерным изменением показателей углеводного обмена: увеличением уровня гликемии и снижением концентрации гликогена в печени в первые часы после инъекции.

6. Периферическое введение инсулина оказывает наиболее значительное и пролонгированное влияние на пищедобывательную активность рыб. Наблюдается двухфазное изменение интенсивности питания: 1) снижение интенсивности питания, максимальное через 6—24 час после инъекции; 2) увеличение потребления пищи, максимальное на 9-е сутки. Влияния инсулина на двигательную активность рыб не выявлено.

7. Предполагается, что влияние адреналина на пищевую мотивацию рыб обусловлено двумя метаболическими эффектами: быстрым и медленным (увеличение биосинтеза белка в клетках). Воздействие высоких доз глюкозы опосредовано увеличением секреции инсулина. Эффекты экзогенного инсулина на пищевую мотивацию не зависят от уровня гликемии, а предположительно связаны с изменением концентрации резервных веществ (жира).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Гарина Д.В. Влияние глюкозы на пищевое поведение карася // Проблемы экологии и биоразнообразия водных и прибрежно-водных экосистем: Тез. докл. XI всеросс. конф. молодых учёных. Борок, 1999 г. С. 90—91.
2. Kuz'mina V.V., Garina D.V., Gerasimov Yu.V., Polivanov V.Yu., Smirnova N.A. Effect of glucose on feeding behaviour of fish // Mechanisms of adaptive behaviour: International Symposium dedicated to Academician Ivan Pavlov's 150-anniversary. SPb, 1999. P. 116—117.
3. Гарина Д.В. Влияние глюкозы и аминокислот на пищевое поведение рыб // Актуальные проблемы биологии и экологии: Тез. докл. VII молодёж. науч. конф. Сыктывкар, 2000. Т. 2. С. 45.
4. Гарина Д.В. Влияние глюкозы и инсулина на пищевое поведение рыб // Матер. Междунар. конф. студентов и аспирантов по фундаментальным наукам «Ломоносов-2000». Москва, 2000. Вып. 4. С. 22.
5. Гарина Д.В., Кузьмина В.В. Влияние глюкозы, аминокислот и цитрата натрия на пищевое поведение рыб // Экологическая физиология и биохимия рыб: Тез. докл. IX Всеросс. конф. Ярославль, 2000. Т. 1. С. 162—165.
6. Кузьмина В.В., Гарина Д.В., Герасимов Ю.В. Влияние инсулина и адреналина на пищевое поведение рыб // Экологическая физиология и биохимия рыб: Тез. докл. IX Всеросс. конф. Ярославль, 2000. Т. 1. С. 165—168.
7. Кузьмина В.В., Гарина Д.В. Влияние глюкозы, инсулина и адреналина на некоторые аспекты пищевого поведения рыб // Ж. эвол. биохим. физиол. 2001. Т. 37. № 2. С. 118—123.
8. Кузьмина В.В., Гарина Д.В., Герасимов Ю.В. Роль глюкозы в регуляции пищевого поведения рыб // Вопр. ихтиол. 2002. Т. 42. № 2. С. 253—258.
9. Кузьмина В.В., Гарина Д.В., Яблочкина Е.В. Влияние адреналина на процесс гидролиза полисахаридов, уровень гликемии и концентрацию гликогена в тканях рыб // Ж. эвол. биохим. физиол. 2003. Т. 39. № 2. С. 140—143.
10. Кузьмина В.В., Илюшкина А.Г., Гарина Д.В. Влияние адреналина и пираретама на пищевое поведение рыб // Ж. эвол. биохим. физиол. 2003. № 4. С. 338—342.
11. Кузьмина В.В., Герасимов Ю.В., Гарина Д.В., Голованова И.Л., Комарова Т.В., Скворцова Е.Г., Первушина К.А., Яблочкина Е.В. Гуморальная регуляция процессов экзо- и эндотрофии у рыб // Физиология организма в нормальном и экстремальном состоянии: Матер. Всерос. конф. Томск, ТГУ. 2001. С. 209—212.
12. Гарина Д.В., Герасимов Ю.В. Влияние адреналина на некоторые характеристики пищевого поведения карася обыкновенного *Carassius carassius* (L.) // Трофические связи в водных сообществах и экосистемах: Матер. Междунар. конф. Борок, 2003. С. 18—19.

13. Гарина Д.В., Герасимов Ю.В. Влияние внутривбрюшинных инъекций адреналина на пищевое поведение карпа // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов: Матер. Междунар. конф. Петрозаводск, 2004. С. 29.

14. Кузьмина В.В., Гарина Д.В., Герасимов Ю.В., Смирнова Е.С., Шишин М.М. Механизмы регуляции пищевого поведения рыб // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Петрозаводск, 2004. С. 75.

РНБ Русский фонд

2006-4

7927