

ЛЕВЧЕНКО ОЛЬГА ЕВГЕНЬЕВНА

**ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ И КОНЦЕНТРАЦИИ ВОДОРОДНЫХ
ИОНОВ СРЕДЫ НА УРОВЕНЬ АКТИВНОСТИ
ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ НЕКОТОРЫХ
ЛОСОСЕОБРАЗНЫХ РЫБ**

Специальность: 03.00.10 - ихтиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук



Астрахань - 2005

Работа выполнена на кафедре гидробиологии и общей экологии Астраханского государственного технического университета

Научный руководитель:
доктор биологических наук, профессор А.Н. Неваленный

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, заслуженный деятель науки РФ, профессор Воробьев В.И.
кандидат биологических наук Егоров С.Н.

Ведущая организация:

Калмыцкий государственный университет

Защита состоится «28» июня 2005 года в 12 ч. на заседании диссертационного совета К. 307.001.01 при Астраханском государственном техническом университете (АГТУ) по адресу: 414025, г. Астрахань, ул. Татищева, 16, АГТУ.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Астраханского государственного технического университета.

Автореферат разослан «26» мая 2005 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических
наук, доцент



Мелякина Э.И.

ЛЕВЧЕНКО ОЛЬГА ЕВГЕНЬЕВНА

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ И КОНЦЕНТРАЦИИ ВОДОРОДНЫХ
ИОНОВ СРЕДЫ НА УРОВЕНЬ АКТИВНОСТИ
ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ НЕКОТОРЫХ
ЛОСОСЕОБРАЗНЫХ РЫБ

Специальность: 03.00.10 - ихтиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук



Астрахань - 2005

Работа выполнена на кафедре гидробиологии и общей экологии Астраханского государственного технического университета

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор А.Н. Неваленный

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, заслуженный деятель науки РФ, профессор Воробьев В.И.

кандидат биологических наук Егоров С.Н.

Ведущая организация:

Калмыцкий государственный университет

Защита состоится «___» _____ 2005 года в ___ ч. на заседании диссертационного совета К. 307.001.01 при Астраханском государственном техническом университете (АГТУ) по адресу: 414025, г. Астрахань, ул. Татищева, 16, АГТУ.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Астраханского государственного технического университета.

Автореферат разослан «___» мая 2005 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических
наук, доцент



Мелякина Э.И.

Общая характеристика работы

Актуальность проблемы. В настоящее время известно, что одними из наиболее важных параметров, определяющих ряд свойств ферментов, является температуры и рН среды (Диксон, Уэбб, 1982). Объясняется это тем, что указанные параметры вызывают изменения кинетических характеристик химических реакций и трансформацию структуры активного центра ферментов (Диксон, Уэбб, 1982; Плакунов, 2001). Способность изменять фундаментальные характеристики ферментов, делает указанные факторы важными при изучении процессов биохимической адаптации.

Для гидроэкоцистем также установлено, что изменения характеристик биохимических процессов в организмах гидробионтов определяются температурой (Александров, 1975; Голованов, Валтонен, 2000; Голованов, 2001, и др.) и концентрацией водородных ионов (Кузьмина, Неваленный, 1983; Виноградов, 1986; Иванов и др., 2000, и др.).

Полифункциональность пищеварительной системы, реализующей ряд функций, среди которых необходимо отметить пищеварительную, транспортную и эндокринную, с учетом открытости по отношению к воздействию факторов внешней среды (Кузьмина, 1986; Кузьмина, 2000; Туктаров, 2002; Пономарев, Пономарева, 2003, и др.), делает ее одной из наиболее интересных и доступных для исследований такого фундаментального свойства жизни, как адаптация.

В течение последних лет появился ряд работ, посвященных как исследованиям температурных адаптаций пищеварительных ферментов рыб (Голованов, 2001; Озернюк, 2002), так и влиянию на них различных концентраций водородных ионов (Виноградов, 1986; Иванов и др., 2000; Morgan et al., 2000; Голованова, 2000). Необходимо отметить, что указанные исследования выполнены, как правило, на пресноводных видах рыб, в то время как сведений, касающихся ферментативных адаптаций к данным факторам среды у проходных и, в частности, лососеобразных рыб, обитающих как в дальневосточных, так и южных регионах, являющихся ценными объектами промысла и аквакультуры, ограниченное количество (Швыдкий, 2000; Lee et al., 2003).

Цель и задачи исследований. Целью данной работы явилось изучение *in vitro* влияния температуры инкубации и концентрации ионов водорода на уровень активности некоторых пищеварительных ферментов лососеобразных рыб (нерка (*Oncorhynchus nerka*), горбуша (*O.gorbusha*), кета (*O.keta*), голец (*Salvelinus malma*), микижа (*Salmo gairdneri gairdneri*), радужная форель (*S. gairdneri Richardson*), белорыбица (*Stenodus Leucichtys L.*)).

В связи с этим были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать влияние различных температур инкубации на гидролитическую активность пищеварительных ферментов некоторых видов рыб отряда лососеобразных (Salmoniformes).

2. Изучить влияние различных концентраций водородных ионов на уровень активности пищеварительных ферментов некоторых лососеобразных рыб.

3. Выявить видовые различия характера ответной реакции гидролитических систем кишечника лососеобразных рыб, обитающих в различных экологических условиях, на действие температуры и концентрации водородных ионов.

Научная новизна и практическая значимость работы. Впервые получены данные по исследованию влияния температуры инкубации и концентрации водородных ионов на уровень активности комплекса пищеварительных ферментов (α -амилазы, мальтазы, щелочной фосфатазы, суммарной протеиназы) слизистой оболочки кишечника некоторых лососеобразных рыб, обитающих в различных климатических зонах.

Продемонстрированы видовые отличия в уровне ферментативной активности исследуемых лососеобразных рыб при действии на них факторов среды обитания.

Впервые был исследован процесс адаптивных перестроек пищеварительной системы белорыбицы, филогенетически адаптированной к условиям южного аквакомплекса.

Получены регрессионные модели, которые могут использоваться в рыбоводной практике, а также специалистами для изучения вопросов пищеварения лососеобразных рыб.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы представлялись на NPAFC International Workshop "BASIS-2004: Salmon and Marine Ecosystems in the Bering Sea and Adjacent Waters" (Япония, 2004), Международной конференции 6-9 сентября 2004г. (Петрозаводск, 2004), научно-методических конференциях профессорско-преподавательского состава АГТУ.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 7 работ.

Объем и структура работы. Диссертация представлена на 149 страницах машинописного текста, иллюстрирована 42 рисунками и двумя таблицами. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, трех глав с изложением собственных результатов исследований, обсуждения результатов, выводов, указателя цитируемой литературы. Список литературы включает 222 источника, в том числе 152 работы отечественных и 69 работ зарубежных авторов.

Материалы и методы исследований

Работа выполнена в лабораторных условиях в течение 2002 - 2003 годов на кафедре гидробиологии и общей экологии Астраханского государственного технического университета. Объектами исследований являлись наиболее массовые половозрелые виды рода тихоокеанских лососей - горбуша (*Oncorhynchus gorbuscha*), кета (*O. Keta*), нерка (*O. nerka*), выловленные закидным неводом в Авачинской губе; дикая жилая форма радужной форели (*Salmo gairdneri gairdneri*) или микижа, голец (*Salvelinus malma*), выловленные в р. Плотникова (бассейн р. Большая); белорыбица (*Stenodus leutichthys leutichthys*), выловленная в ноябре месяце в период нерестового хода в предплотинных участках р. Волга, и радужная форель (*Salmo gairdneri Richardson*), выловленная в форелевом хозяйстве г. Адлера.

Отлов дальневосточных рыб и первичная обработка материала (изъятие и заморозка кишечника) производилась сотрудниками лаборатории "Прибрежные экосистемы" Камчатского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии. Выражаем личную благодарность заведующему лабораторией "Прибрежные экосистемы" КамчатНИРО, кандидату биологических наук Коростелеву Сергею Георгиевичу.

Эксперименты проводились в условиях *in vitro*. Активность суммарной протеиназы определяли модифицированным методом Лоури (Алейникова, Рубцов, 1988), мальтазы - глюкозооксидазным методом (Балаховский, 1987), уровень активности щелочной фосфатазы — по степени гидролиза п-нитрофенилфосфата Na, а - амилазы — методом Smith Рос Б модификации А.М. Уголева (1969).

Полученные результаты обрабатывали методами вариационной статистики (Бейли, 1962; Лакин, 1990). Достоверность различий определяли при помощи критерия Стьюдента с вероятностью $p < 0,05$. Для выявления силы и направления связи между исследованными признаками использовали процедуру корреляционного анализа, с целью определения формы связи - регрессионный анализ. Полученные результаты обрабатывались на IBM PC/AT. Основная часть статистической обработки выполнена с использованием пакетов статистической обработки информации STATGRAPHICS и STATISTIKA for WINDOWS v. 5.0.

Результаты исследований и их обсуждение

1. Влияние температуры инкубации на уровень ферментативной активности слизистой кишечника некоторых лососеобразных рыб

В последние годы интерес к температурным характеристикам гидролаз пищеварительного тракта рыб возрос в связи с усилившимся вниманием исследователей к проблеме адаптации, а также и увеличением термического загрязнения водоемов (обзоры: Ушаков, 1984; Александров, 1975, 1985; Хочачка, Сомеро, 1977, 1988; Северцов, 1990; Уголев, Кузьмина, 1993 и др.). В литературе продемонстрировано множество примеров адаптивных изменений свойств различных групп ферментов как в процессе эволюции, так и при акклимации животных к повышенной и пониженной температуре. При этом неоднократно подчеркивалось, что компенсация негативного влияния изменений температуры среды обитания осуществляется на молекулярном уровне либо посредством изменения концентрации ферментов, либо за счет изменения их свойств (Хочачка, Сомеро, 1988).

Наиболее убедительные доказательства адаптивного изменения температурных характеристик пищеварительных гидролаз рыб были получены при исследовании ферментов, обеспечивающих процессы мембранного пищеварения у видов, обитающих в разных температурных условиях и различающихся по характеру питания (Уголев, Кузьмина, 1993; Немова и др. 1998; Murgick, Cech, 2000; Озернюк, 2001). Так же было показано, что температура оказывает различное влияние на характеристики одноименных ферментов у рыб разных видов и экологических групп (Уголев, 1972; Егорова и др. 1974, 1986; Уголев и др., 1976, 1986; Кузьмина, 1985; Уголев, Кузьмина, 1993; Немова и др., 1998; Murgick, Cech, 2000; Голованов, 2001; Озернюк, 2001; Озернюк, 2002; Кузьмина, Первушина, 2004).

Проведенные в нашей работе исследования по влиянию температуры инкубации на уровень активности мальтазы позволили установить, что температурный оптимум мальтазы кишечника лососеобразных рыб находится при 40-50°C (рис.1, 2).

Как видно из приведенных рисунков, уровень активности мальтазы при увеличении температуры инкубации от 0°C до оптимальных значений (40-50°C) изменяется у нерки от $1,69 \pm 0,04$ до $3,25 \pm 0,04$ мкмоль/гхмин, у гольца - от $2,10 \pm 0,07$ до $4,03 \pm 0,05$ мкмоль/гхмин, у белорыбицы - от $2,10 \pm 0,09$ до $8,49 \pm 0,15$ мкмоль/гхмин, у микижи - от $1,47 \pm 0,01$ до $3,61 \pm 0,07$ мкмоль/гхмин. При дальнейшем увеличении температуры инкубации (до 60°C) отмечался спад ферментативной активности слизистой оболочки кишечника исследованных видов по

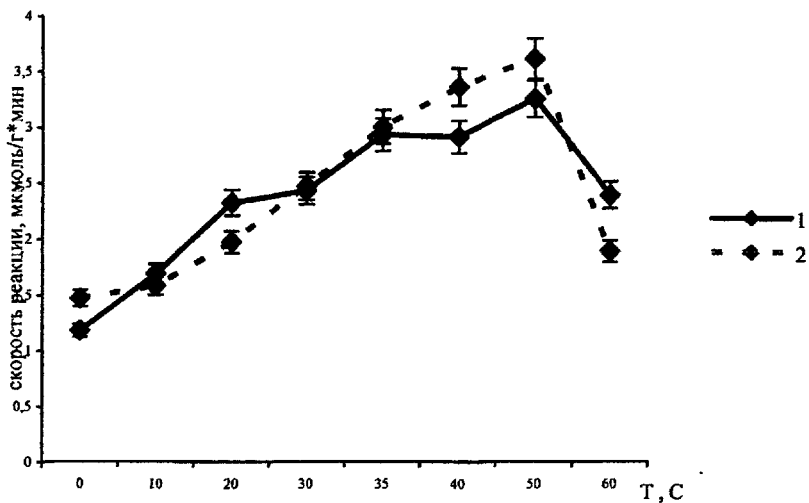


Рис. 1. Влияние температуры инкубации на уровень активности мальтазы слизистой оболочки кишечника нерки – 1, мижи – 2

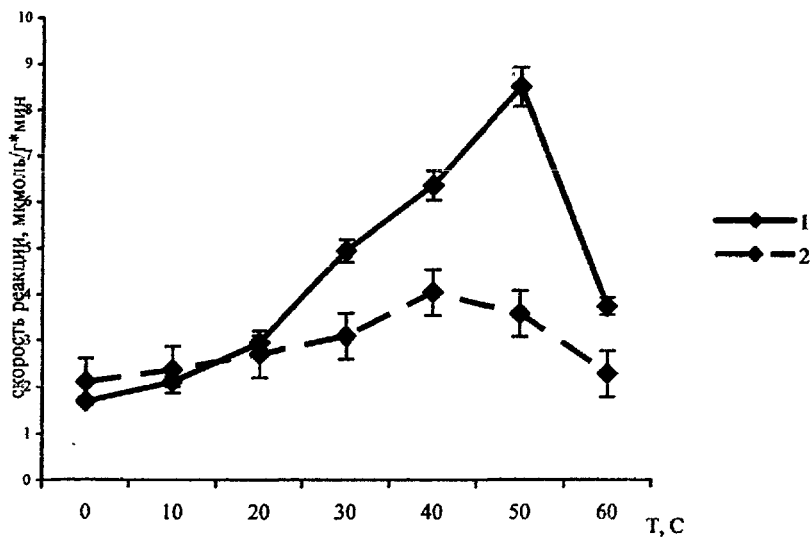


Рис. 2. Влияние температуры инкубации на уровень активности мальтазы слизистой оболочки кишечника белорыбца – 1, гольца – 2

сравнению с оптимальным значением температуры. Например, у нерки произошло снижение уровня активности мальтазы на 27%, у гольца - на 44%, у микижи - на 48%, у белорыбицы - 57% от максимальной величины.

Аналогичные результаты получены при исследовании мальтазы слизистой оболочки кишечника горбуши, нерки, радужной форели.

Сопоставление полученных нами результатов с литературными данными позволяет обнаружить максимальную активность мальтазы кишечника исследованных рыб при более низких значениях температуры, чем у пресноводных рыб Европейской части России (Уголев, Кузьмина, 1993; Неваленный и др. 2003).

Наши исследования уровня активности кишечной мальтазы слизистой оболочки кишечника лососеобразных рыб, обитающих в водоемах Камчатки, показывают наличие широкой зоны оптимальных значений температуры, в то время как А.М. Уголевым и В.В. Кузьминой (1993) была отмечена довольно узкая зона оптимальных значений температуры для мальтазы рыб, являющихся представителями южного комплекса.

Установлено, что уровень активности α -амилазы слизистой оболочки кишечника рыб характеризуется сходными температурными оптимумами независимо от систематического положения и температуры среды обитания.

В литературе имеются данные о том, что температурный оптимум щелочной фосфатазы у пресноводных видов рыб находится при 40-50°C (Егорова и др., 1974; Уголев и др., 1981; Уголев и др., 1983а; Кузьмина, 1986; Myrick, Cech, 2000; Watabe, 2002).

Наши исследования показывают, что у дальневосточных лососеобразных рыб температурный оптимум данного фермента находится при 30-35°C (рис. 3,4), а у белорыбицы - при 20°C (рис. 4).

В результате проведенных исследований нами установлены значительные изменения уровня активности щелочной фосфатазы слизистой оболочки кишечника исследованных лососеобразных рыб при повышении температуры инкубации. Так, у нерки уровень активности фермента при 0°C составляет $1,11 \pm 0,01$ мкмоль/гхмин, а при оптимальном значении температуры (35°C) - $2,06 \pm 0,03$ мкмоль/гхмин, у гольца уровень активности щелочной фосфатазы изменяется от $0,21 \pm 0,01$ при 0°C до $1,77 \pm 0,08$ мкмоль/гхмин при оптимальных значениях (35°C), у микижи - от $0,65 \pm 0,02$ до $2,62 \pm 0,05$ мкмоль/гхмин ($T_{opt}=30^\circ\text{C}$), у белорыбицы - от $0,59 \pm 0,02$ до $1,48 \pm 0,03$ мкмоль/гхмин ($T_{opt}=20^\circ\text{C}$).

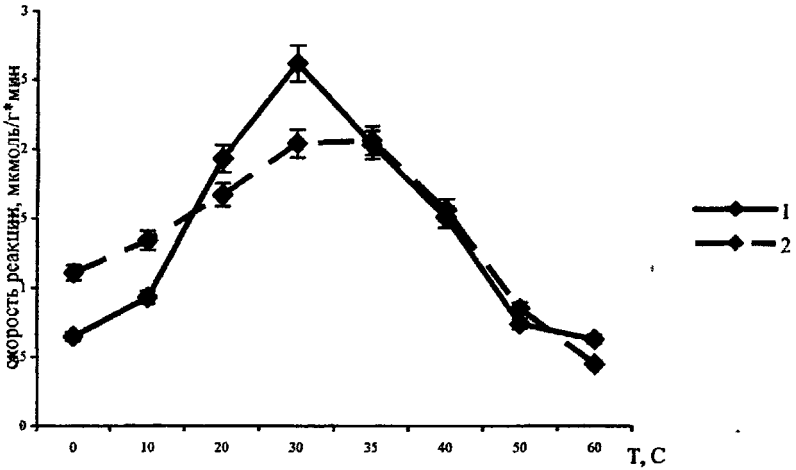


Рис. 3. Влияние температуры инкубации на уровень активности щелочной фосфатазы слизистой оболочки кишечника микижи – 1, нерки-2

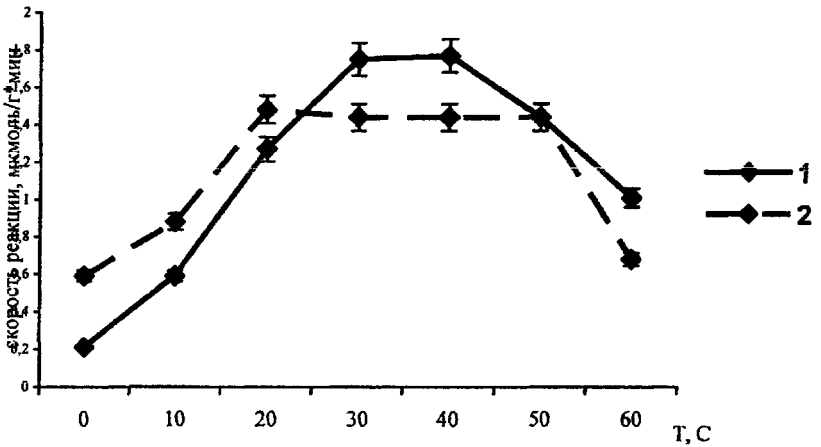


Рис. 4. Влияние температуры инкубации на уровень активности щелочной фосфатазы слизистой оболочки кишечника гольца-1, белорыбицы-2

Аналогичные результаты получены при исследовании щелочной фосфатазы слизистой оболочки кишечника горбуши, нерки, радужной форели.

При температурах, лежащих выше температурных оптимумов (60°C), относительная активность щелочной фосфатазы у всех исследованных лососеобразных рыб составляет от 21 до 31% от максимума.

При физиологических значениях температуры отмечается высокая относительная активность щелочной фосфатазы слизистой оболочки кишечника исследованных в данной работе гидробионтов.

У большинства исследованных проходных лососеобразных рыб максимальная активность суммарной протеиназы обнаружена при $30\text{--}40^{\circ}\text{C}$. Так, например, на рисунке 5 представлены данные по влиянию температуры инкубации на уровень активности суммарной протеиназы нерки и микижи.

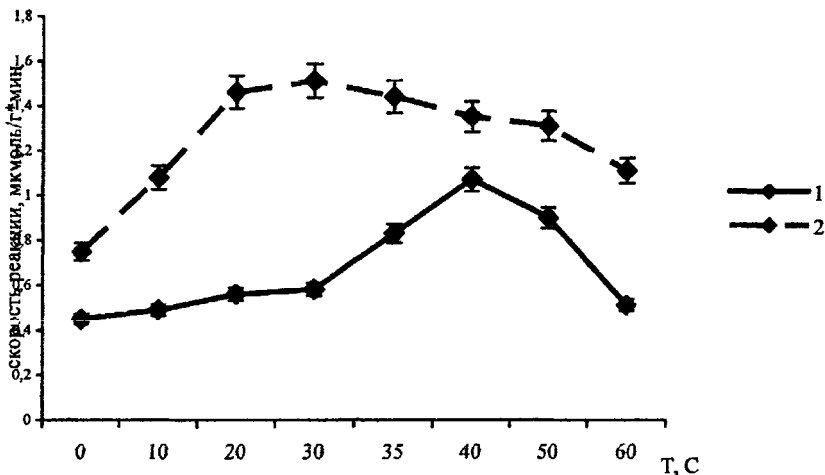


Рис. 5. Влияние температуры инкубации на уровень активности суммарной протеиназы слизистой оболочки кишечника нерки – 1, микижи-2

Проведенные ранее исследования В.В. Кузьминой (1985, 1986а) по влиянию температуры инкубации на уровень активности протеиназ слизистой оболочки кишечника пресноводных видов рыб показали наличие температурного оптимума суммарной протеиназы данных видов рыб при более высоких температурах – 60°C .

Результаты исследования влияния температуры инкубации на уровень активности суммарной протеиназы слизистой оболочки кишечника радужной форели продемонстрировали сходство данного показателя с температурным оптимумом аналогичной группы ферментов у пресноводных видов рыб европейской части России.

У рыб было отмечено значительное изменение уровня активности суммарной протеиназы слизистой оболочки кишечника при увеличении температуры инкубации. Например, повышение температуры от 0°C до оптимальной величины вызывает изменение уровня активности суммарной протеиназы нерки от $0,45 \pm 0,02$ до $1,07 \pm 0,03$ мкмоль/гхмин ($T_{\text{opt}}=40^{\circ}\text{C}$), у гольца - от $0,75 \pm 0,02$ до $1,88 \pm 0,04$ мкмоль/гхмин ($T_{\text{opt}}=35^{\circ}\text{C}$), у микижи - от $0,75 \pm 0,01$ до $1,51 \pm 0,02$ мкмоль/гхмин ($T_{\text{opt}}=30^{\circ}\text{C}$), у белорыбицы - от $1,26 \pm 0,27$ до $13,81 \pm 0,11$ мкмоль/гхмин ($T_{\text{opt}}=30^{\circ}\text{C}$).

Дальнейшее увеличение температуры инкубационной среды (до 60°C) приводит к снижению гидролитической активности суммарной протеиназы слизистой оболочки кишечника нерки на 53%, гольца - на 43%, микижи - на 27%, белорыбицы - на 18% от максимального значения.

Аналогичные данные были получены и при исследовании суммарной протеиназы слизистой оболочки кишечника горбуши, кеты, радужной форели.

Из литературы известно, что протеиназы, локализованные на структурах щеточной каймы энтероцитов, не адаптированы к функционированию при низких температурах. Эти данные подтвердились в многочисленных работах А.М. Уголева (1985), а также В.В. Кузьминой и К.А. Первушиной (2004), в которых отмечалось, что относительная активность протеиназ рыб Волжского региона при 0°C составляет 5% от максимальной.

У большинства исследованных нами лососеобразных рыб относительная активность суммарной протеиназы при 0°C составила от 21 до 55% от максимума. И только результаты, полученные при изучении температурных характеристик ферментов группы протеиназ кишечника белорыбицы, близки к таковым пресноводных рыб.

Таким образом, показано, что для пищеварительных ферментов кишечника исследованных проходных видов рыб, обитающих в условиях севера, температурные оптимумы находятся при более низких значениях температуры, чем у пресноводных видов рыб. Нами установлено, что относительно высокий уровень ферментативной активности наблюдается при более низких температурах (0 - 10°C) и относительно низкий - при повышенных температурах, что свидетельствует об адаптированности

исследованных гидролаз к условиям существования видов при пониженных температурах среды их обитания.

Обнаруженные значения довольно широкого диапазона температурных оптимумов (от 20°C до 50°C) для ферментов слизистой оболочки кишечника белорыбицы может свидетельствовать как об условиях среды обитания вида в прошлом, так и об идущей адаптации данного вида к современным условиям среды обитания.

Нами показано, что оптимумы ферментов кишечника радужной форели находятся при более высоких значениях, чем те же характеристики пищеварительных гидролаз всех исследуемых проходных лососеобразных рыб.

Необходимо отметить, что различия в характере температурных зависимостей разноименных ферментов выражены более значительно, чем видовые особенности одноименных гидролаз.

Полученные нами данные по влиянию температуры инкубации на уровень активности пищеварительных ферментов позволили рассчитать кажущуюся энергию активации, которая, как известно, является одной из важнейших температурных характеристик ферментов.

При исследовании данной характеристики мальтазы слизистой оболочки кишечника лососеобразных рыб установлено постоянное значение энергии активации у дальневосточных видов рыб, что может свидетельствовать об отсутствии каких-либо изменений свойств мальтазы кишечника данных видов рыб при изменении температуры инкубации. Сопоставляя эти данные с полученными ранее, можно видеть, что эффективность мальтазы у пресноводных видов рыб Европейской части России более чем в два раза превышает таковую большинства исследованных рыб.

Нами установлено, что при температуре 0-10°C, являющейся физиологической температурой для видов рыб, обитающих в Дальневосточных морях, эффективность мальтазы была в 1,5 раза выше, чем при температурах от 10 до 30°C. Для фермента белорыбицы, обитающей при более высоких температурах среды, большая эффективность фермента обнаружена при 10-20°C, а у радужной форели - при 20-30°C.

Анализ данных, касающихся энергии активации α -амилазы, позволил отметить наибольшую эффективность фермента слизистой оболочки кишечника южных видов рыб при 20°C, а у большинства дальневосточных рыб - при 10°C. Похожие результаты обнаружены и для щелочной фосфатазы большинства исследованных рыб, когда эффективность ферментов при 0-10°C в несколько раз превышает таковую при температуре от 10 до 30°C.

У исследованных видов рыб показана высокая эффективность суммарной протеиназы при физиологических значениях температуры.

Анализ полученных результатов с учетом экологических особенностей исследованных видов рыб позволил установить идентичность ряда температурных характеристик пищеварительных гидролаз. Так, в частности, нами установлено, что наиболее высокий уровень активности пищеварительных ферментов при 10°C характерен для видов рыб, обитающих в бассейне Тихого океана (нерка, горбуша, кета, голец, микижа), в отличие от аналогичных гидролаз белорыбицы и радужной форели, населяющих воды бассейнов Каспийского и Азово-Черноморского морей. В тоже время, уровень активности пищеварительных ферментов радужной форели при температуре 50°C значительно превышает таковой показатель белорыбицы и всех исследованных дальневосточных рыб.

Аналогичные данные получены нами при определении энергии активации пищеварительных гидролаз лососеобразных рыб. Так, величина кажущейся энергии активации пищеварительных ферментов дальневосточных видов рыб, указывает на оптимальное значение температуры среды, при которой наблюдается максимальная эффективность пищеварительных гидролаз в диапазоне температур от 0 до 10°C. Определение кажущейся энергии активации пищеварительных ферментов слизистой оболочки кишечника белорыбицы и радужной форели позволило установить максимальную эффективность гидролаз в диапазоне температур 10-30°C, что превышает таковой для обитателей бассейна Тихого океана.

Таким образом, при исследовании влияния температуры инкубации на уровень активности ферментов слизистой оболочки кишечника лососеобразных рыб нами установлено, что основные температурные характеристики (температурный оптимум, относительная активность ферментов при низких и высоких температурах инкубации, энергия активации) различаются у разных видов рыб в зависимости от экологических особенностей этих видов рыб.

2. Влияние концентрации водородных ионов на уровень активности пищеварительных ферментов слизистой оболочки кишечника некоторых лососеобразных рыб

Известно, что на изменение реактивности ферментов для рыб наряду с температурой среды обитания, большое влияние оказывает и концентрация ионов водорода (Немова и др., 1998),

В литературе имеются данные о влиянии pH среды на амилолитическую активность слизистой кишечника рыб, однако они весьма противоречивы. Так, в ряде работ, выполненных на японском угре *Anguilla japonica* Temm. et Schl., щуке *Esox lucius* L., карпе *Cyprinus carpio* L., тиляпии *Tilapia mossambica* Peters и клариевом соме *Clarias batrachus* L., в качестве оптимальных приводятся значения pH 6,5-7,0

(Oya et al., 1927; Vonk, 1927; Nagase, 1964; Фальге, Шпанихов, 1976; Mukhopadhyay, 1977); на леще *Abramis Brama L.*, судаке *Stizostedion lucioperca L.* и налиме *Lota lota L.* - 7,0-7,5 (Ананичев, 1959); на камбале *Pleuronectes platessa L.* - 7,5-8,0 (Bayliss, 1935), на усаче *Barbus paladinus* - 5,0 и 8,0-9,0 (Cockson, Bourn, 1973).

Работа, проведенная на нескольких видах пресноводных костистых рыб в условиях, максимально приближенных к естественным (субстрат и ферментативно-активный препарат готовились на растворе Рингера для холоднокровных животных), показала, что зона оптимальных значений рН для суммарной активности карбогидраз, функционирующих на слизистой кишечника, находятся в интервале 7,0-8,0 (Уголев, Кузьмина, 1993).

Ранее было показано, что обнаруженные различные значения рН могут объясняться не только видовыми отличиями, но и методами определения амилалитической активности и способами приготовления ферментативно - активных препаратов. В частности, отмечалось, что применение фосфатного буфера вызывает смещение оптимума рН влево и сужение зоны* оптимальных значений, в то время как раствор Рингера для холоднокровных животных не вызывал таких изменений в уровне ферментативной активности (Кузьмина, Неваленный, 1983). Поэтому в нашей работе проводились исследования на эквивилибризованном солевом растворе (раствор Рингера) для лучшего понимания механизма изменения уровня активности пищеварительных гидролаз кишечника исследуемых гидробионтов при различных значениях рН среды.

Полученные нами результаты по исследованию влияния различных концентраций водородных ионов на уровень активности мальтазы лососеобразных рыб представлены в таблице 1. Из таблицы видно, что для данного фермента слизистой оболочки кишечника большинства исследованных видов рыб отмечается широкая зона оптимальных значений рН, а максимальная гидролитическая активность мальтазы обнаружена, как правило, при рН 8,0-9,0.

Согласуя наши данные с полученными ранее, можно отметить, что у ранее исследованных рыб Волжского бассейна оптимумы рН кишечной мальтазы сдвинуты вправо и отмечаются при рН 7,0-8,0 (Кузьмина, Неваленный, 1983). Близкие значения в нашей работе отмечены для фермента кишечника белорыбицы, у которой максимум ферментативной активности обнаружен при рН 6,0 (табл. 1). Обнаруженная широкая зона оптимальных значений рН для кишечной мальтазы у всех исследованных лососеобразных рыб, смещена в сторону щелочных значений рН.

В большинстве случаев снижение значений рН в инкубационной среде как до 5,0, так и повышение до 10,0 вызывало снижение относительной активности мальтазы на 10-30% от максимума.

Литературные данные показывают снижение относительной активности мальтазы при рН 5,0 на 40-60% у других видов рыб (Кузьмина, Неваленный, 1983).

Таблица 1
Влияние различных концентраций ионов водорода на уровень активности мальтазы лососеобразных рыб (мкмоль/гхмин)

Значение рН	Виды			
	нерка	голец	микижа	белорыбца
3	2,65±0,07	1,96±0,04	1,84±0,05	-
4	2,92±0,04	2,06±0,04	2,05±0,03	-
5	3,09±0,1	2,23±0,06	2,08±0,04	6,00±0,11
6	3,46±0,09	2,33±0,07	2,44±0,05	6,41±0,09
7	3,67±0,12	2,43±0,02	2,63±0,04	6,22±0,24
8	3,76±0,07	2,47±0,11	2,64±0,04	5,84±0,07
9	3,67±0,06	2,51±0,02	1,92±0,02	5,65±0,09
10	3,59±0,12	2,20±0,04	1,90±0,06	4,04±0,12
11	3,36±0,10	1,84±0,04	1,86±0,05	-
12	3,18±0,12	1,51±0,06	1,75±0,05	-

Похожие результаты получены и при исследовании уровня активности α -амилазы слизистой оболочки кишечника у большинства исследованных гидробионтов, у которых максимальная гидролитическая активность α -амилазы обнаружена при рН 8,0-9,0 (табл. 2).

Сопоставляя полученные результаты с литературными данными, можно отметить, что у видов рыб, исследованных ранее, рН - оптимум α -амилазы находится в диапазоне рН-значений от 6,5 до 7,5 (Кузьмина, 1978; Vonk, 1927; Nagase, 1964; Ананичев, 1959).

Снижение рН инкубационной среды до 5,0 вызывает снижение относительной активности α -амилазы до 40-80% от максимума, в то время как у различных видов рыб, исследованных ранее, при данных значениях рН относительная активность фермента снижается гораздо значительнее - до 15-40% от максимальной величины (Кузьмина, Неваленный, 1983; Уголев, Кузьмина, 1993). Те же различия прослеживаются и при увеличении рН среды до 10,0, когда у исследованных нами лососеобразных рыб относительная активность фермента сохраняется до 50-90%, а у представителей Волжского бассейна - до 40-80% от максимального значения (Уголев, Кузьмина, 1993).

В наших экспериментах в большинстве случаев для α -амилазы, как и для мальтазы слизистой кишечника лососеобразных рыб, отмечена широкая зона оптимальных значений рН.

Таблица 2
Влияние различных концентраций ионов водорода на уровень активности α -амилазы лососеобразных рыб (мг/г×мин)

Значение рН	Виды			
	нерка	голец	микижа	белорыбица
3	0,90±0,13	0,76±0,18	3,76±0,40	-
4	1,70±0,13	1,52±0,27	4,16±0,20	-
5	3,48±0,22	2,05±0,09	4,64±0,20	7,74±0,20
6	6,16±0,18	2,10±0,22	5,56±0,48	11,58±0,19
7	7,41±0,17	2,99±0,22	6,00±0,24	11,92±0,24
8	9,24±0,18	3,79±0,18	6,92±0,28	13,08±0,09
9	7,73±0,63	4,15±0,18	7,00±0,20	10,92±0,14
10	4,01±0,22	3,55±0,22	5,52±0,20	7,98±0,19
11	3,17±0,27	3,50±0,13	3,88±0,48	-
12	1,83±0,14	1,43±0,27	2,68±0,32	-

Таким образом, сопоставление данных, полученных для мальтазы и α -амилазы кишечника лососеобразных рыб, позволяет обнаружить значительную общность их характеристик.

Исследования уровня активности щелочной фосфатазы в большинстве случаев показывают результаты, сходные с полученными данными для карбогидраз кишечника лососеобразных рыб (табл. 3).

Зона оптимальных значений рН, обнаруженная для щелочной фосфатазы слизистой оболочки кишечника исследованных видов, отмечается в диапазоне рН 7,0 - 9,0.

При дальнейшем снижении концентрации водородных ионов (рН 10,0-12,0) отмечается снижение уровня активности щелочной фосфатазы на 54% у нерки, на 59% у гольца, на 71% у микижи, на 35% от максимального значения у белорыбицы.

Исследование влияния различных концентраций водородных ионов на уровень активности суммарной протеиназы слизистой оболочки кишечника различных видов рыб Волжского региона показал, что оптимум рН данной группы ферментов варьирует от 7,5 до 10,0 (Kalac, 1978; Хаблюк, Проскуряков, 1983).

В наших исследованиях было показано, что максимальная активность суммарной протеиназы кишечника большинства Тихоокеанских лососей обнаружена при рН 11,0 (табл. 4). В то же время

для ферментов белорыбицы это значение отмечено при рН 7,0 (табл. 4). Для суммарной протеиназы слизистой оболочки кишечника большинства исследованных лососеобразных рыб показана широкая зона оптимальных значений рН (7,0-11,0) и сохранение высокой относительной активности при смещении рН как влево, так и вправо.

Таблица 3
Влияние различных концентраций ионов водорода на уровень активности щелочной фосфатазы лососеобразных рыб (мкмоль/г×мин)

Значение рН	Виды			
	нерка	голец	микижа	белорыбица*
3	0,58±0,02	0,58±0,02	0,50±0,02	-
4	0,68±0,02	0,84±0,01	0,55±0,02	-
5	0,78±0,02	1,10±0,03	0,65±0,02	1,37±0,01
6	0,83±0,02	1,16±0,04	0,66±0,03	1,53±0,01
7	0,93±0,03	1,23±0,01	0,66±0,02	1,71±0,01
8	1,13±0,01	1,29±0,02	0,77±0,01	1,82±0,01
9	1,02±0,01	1,36±0,01	0,64±0,01	1,93±0,02
10	0,86±0,02	1,38±0,01	0,52±0,02	2,22±0,02
11	0,69±0,01	0,63±0,01	0,44±0,01	-
12	0,53±0,02	0,57±0,03	0,23±0,02	-

Примечание: оптимум рН при 9,5 – 2,6±0,03

Таблица 4
Влияние различных концентраций ионов водорода на уровень активности суммарной протеиназы лососеобразных рыб (мкмоль/г×мин)

Значение рН	Виды			
	нерка	голец	микижа	белорыбица
6	0,26±0,01	0,20±0,02	0,14±0,03	12,16±0,16
7	0,33±0,02	0,62±0,06	0,12±0,03	18,85±0,24
8	0,38±0,03	1,06±0,04	0,25±0,02	17,90±0,24
9	0,37±0,02	1,12±0,06	0,28±0,03	17,34±0,46
10	0,44±0,02	1,03±0,02	0,31±0,01	16,00±0,31
11	0,42±0,03	1,18±0,06	0,50±0,05	-
12	0,19±0,03	1,12±0,02	0,32±0,02	-

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о значительной адаптированности исследованных гидролаз к функционированию при физиологических значениях рН. Сохранение

высокой относительной активности всех исследованных пищеварительных ферментов слизистой оболочки кишечника лососеобразных рыб при смещении рН как в кислую, так и щелочную сторону свидетельствует о высокой устойчивости белковой глобулы фермента к различным концентрациям ионов водорода. Наши исследования подтверждают мнение о том, что максимальная активность одноименных гидролаз разных видов рыб обнаруживается при более близких значениях рН, чем ферменты, катализирующие гидролиз разных групп субстратов.

3. Оценка корреляционных зависимостей, характеризующих степень активность пищеварительных ферментов некоторых лососеобразных рыб

При исследовании уровня активности карбогидраз у разных видов пресноводных костистых рыб показана зависимость между активностью ферментов и принадлежностью рыб к той или иной экологической группе (Шербина, 1977; Остроумова, 1986 и др.). Так, по данным А.М. Уголева и В.В. Кузьминой (1988), активность карбогидраз возрастает в ряду (типичные хищники) - (хищники-факультативные бентофаги и планктофаги) - (типичные бентофаги и планктофаги).

Анализ полученных результатов, касающихся изучения зависимости уровня активности пищеварительных ферментов слизистой оболочки кишечника лососеобразных рыб от экологической принадлежности видов, показывает некоторую общность характеристик пищеварительных ферментов у исследованных рыб и отсутствие зависимости уровней активности исследованных гидролаз от особенностей их спектра питания.

Для выявления направлений и степени статистических связей между физиологическими и морфометрическими показателями исследуемых видов рыб стало необходимым проведение корреляционного анализа, представляющего собой меру зависимости переменных.

Нами была предпринята попытка исследования зависимости уровня активности пищеварительных ферментов лососеобразных рыб от таких морфометрических показателей как длина тела по Смитту и масса тела.

Проведенные в нашей работе корреляционные зависимости между морфометрическими показателями и физиологическими характеристиками исследованных гидробионтов показали преимущественно наличие слабых обратных связей между исследуемыми параметрами. Например, корреляционная связь уровня активности пищеварительных ферментов и массы тела рыб обнаружена лишь у нерки, горбуши и белорыбицы. Причем для разных видов исследованных

нами рыб характерно наличие различных связей морфометрического показателя с пищеварительными ферментами. Так, у нерки отмечена связь слабая отрицательная для ферментов α -амилазы и щелочной фосфатазы и коэффициент корреляции r для обоих ферментов равен $-0,5$. Также слабая связь прослеживается между мальтазой и массой тела белорыбицы, однако коэффициент r в данном случае имеет положительное значение ($r=0,5$).

У горбуши обнаружено наличие сильной связи массы тела с уровнем активности пищеварительных ферментов, но различной для двух ферментов: положительной для щелочной фосфатазы ($r=0,7$) и отрицательной для суммарной протеиназы ($r=-0,8$).

Сопоставление зависимости уровня активности пищеварительных ферментов от длины тела рыб показало наличие таковой у большинства исследованных лососеобразных рыб, но лишь для некоторых ферментов конкретного вида. Так, наличие связей для α -амилазы отмечено только у нерки и кеты. Причем у нерки она сильная отрицательная ($r=-0,7$), а у кеты - слабая положительная ($r=0,6$).

Сопоставление уровня активности мальтазы кишечника лососеобразных рыб с длиной их тела не показало видимых зависимостей ни у одного вида исследованных рыб, кроме белорыбицы, у которой обнаружено наличие слабой прямой связи ($r=0,6$).

Для нерки, горбуши и кеты показана корреляция уровня активности щелочной фосфатазы с длиной их тела. Причем у некоторых из них продемонстрирована связь слабая обратная и только у одного вида - положительная. Так, у нерки и кеты коэффициент корреляции r для данного фермента равен $-0,6$. Для щелочной фосфатазы слизистой оболочки кишечника горбуши показаны сходные результаты по сравнению с вышеописанными видами, однако коэффициент r отмечен при положительном значении ($0,6$).

Наличие слабых обратных связей между уровнем активности суммарной протеиназы и длиной тела обнаружено у горбуши ($r=-0,6$) и белорыбицы ($r=-0,5$). Такие же низкие значения коэффициента корреляции r характерны и для суммарной протеиназы кишечника гольца, однако в данном случае показана прямая зависимость между исследуемыми величинами ($r=0,6$).

Таким образом, в результате проведенного корреляционного анализа установлено, что в большинстве случаев наблюдается связь уровня активности пищеварительных ферментов рыб и длины их тела, в то время как масса тела рыб показывает значительно меньшую степень корреляции с исследуемыми физиологическими параметрами. Кроме того, нами установлено, что ферменты слизистой оболочки кишечника лососеобразных рыб в большинстве случаев показывают наличие слабой отрицательной связи между уровнем активности ферментов и длиной

тела. Показано, что наличие обратных связей преимущественно можно наблюдать у нерки, активность ферментов которой отрицательно связана как с длиной, так и с массой тела. При этом установлено, что наличие связей одних ферментов с массой тела исследованных рыб, показывает и наличие таковых и с длиной их тела. Отсутствие корреляции между уровнем ферментативной активности и массой тела обнаружено у кеты, гольца и микижи. Следует отметить, что для микижи характерно отсутствие связей с длиной тела.

Кроме того, наблюдается различие характера связей для одноименных ферментов с длиной тела у разных видов рыб. Так, если у нерки обнаружено наличие отрицательной связи α -амилазы от ее длины, то у кеты она положительная. Аналогичные результаты можно наблюдать для суммарной протеиназы кишечника гольца (связь прямая), горбуши и белорыбицы (обратная связь) и щелочной фосфатазы горбуши (коэффициент корреляции имеет положительное значение) и нерки и кеты (коэффициент корреляции отрицательный). Таким образом, максимальным сходством, характеризующимся наличием связей между физиологическими параметрами организма рыб с морфометрическими, обладают нерка и горбуша, у которых отмечена зависимость как от массы, так и от длины их тела большего количества ферментов, однако общей у них является только щелочная фосфатаза. Минимальной зависимостью характеризуется голец, для которого показана связь с длиной тела лишь суммарной протеиназы из всех исследованных пищеварительных ферментов.

Выявить форму связей между одной зависимой и одной или более независимыми переменными позволяет процедура регрессионного анализа, которая использует метод наименьших квадратов для оценки регрессионной модели. Регрессионный анализ полезен при построении модели, если имеется большое число возможных независимых переменных и нельзя точно определить необходимость введения каждой из них.

При построении математических моделей процессов пищеварения в слизистой оболочке кишечника лососеобразных рыб из исследованных объектов нами были выбраны представители всех типов питания, которыми являются изучаемые виды рыб, отличающиеся высокой степенью корреляционной связи зависимых и независимых переменных. В нашей работе при проведении регрессионного анализа в качестве зависимых переменных использовали данные об уровне активности суммарной протеиназы, а в качестве независимых - данные об уровне активности мальтазы и щелочной фосфатазы слизистой оболочки кишечника лососеобразных рыб. В частности, нами были проанализированы пищеварительные ферменты горбуши, которая по типу питания является планктофагом-факультативным хищником;

микижи, являющейся хищником - факультативным бентофагом; и типичного хищника - белорыбицы.

Результаты проведенного регрессионного анализа показывают, что активность суммарной протеиназы слизистой оболочки кишечника горбуши может быть выражена линейной функцией двух аргументов - активностью мальтазы и щелочной фосфатазы. Причем обе величины вносят отрицательный вклад в формируемое значение зависимой переменной. Форма статистической связи при этом представляется уравнением:

$$ASP=1,297-0,472 \times AP-0,254 \times AM, \text{ где}$$

ASP - активность суммарной протеиназы, мкмоль/г*мин

AP - активность щелочной фосфатазы, мкмоль/г*мин

AM - активность мальтазы, мкмоль/г*мин

Коэффициент детерминации, характеризующий степень обусловленности зависимого признака от факторов, включенных в регрессионную модель, составил 0,67.

Регрессионный анализ, проведенный для исследуемых ферментов кишечника белорыбицы, показал, что отрицательный вклад в значение формируемого значения функции вносит только мальтаза, в то время как между активностью щелочной фосфатазы и зависимой величиной статистических связей не было обнаружено.

Уравнение регрессии при коэффициенте детерминации, 0,72 в данном случае имеет вид:

$$ASP=0,019+5,369 \times AP-0,626 \times AM$$

Линия регрессии выражает наилучший прогноз зависимости функции (X) от показателей независимых переменных (Y).

В реальных условиях существует вполне надежная и предсказуемая с точки зрения статистики флуктуация наблюдаемых величин вокруг «идеальной» линии регрессии, вызванная биологической разнокачественностью объектов исследования. Такое отклонение эмпирических значений в каждой конкретной точке наблюдений от значений на линии регрессии (предсказанной величины) называется остаточной оценкой.

Как свидетельствуют результаты анализа остатков (табл. 5) на всем протяжении эксперимента прогнозируемые значения мало отличаются от наблюдаемых.

Важно отметить, что проведение процедуры регрессионного анализа для физиологических характеристик слизистой оболочки кишечника микижи не показало наличие связей между исследуемой зависимой (суммарная протеиназа) и независимыми характеристиками (мальтаза и щелочная фосфатаза). Однако, как и в предыдущих моделях, значения остатков представлены ничтожно малыми значениями, что положительно характеризует полученную регрессионную модель с точки

зрения её приложения в научных исследованиях и практической деятельности (табл.5).

Таблица 5

Анализ остатков (уровень активности суммарной протеиназы, мкмоль/г*мин)

Виды	Наблюдаемые значения	Прогнозируемые значения	Остатки	Стандартная ошибка прогноза
горбуша	0,59	0,58	0,01	0,0011
микижа	1,07	1,09	-0,02	0,12
белорыбица	3,41	3,48	-0,07	0,19

В результате проведения регрессионного анализа между уровнем активности суммарной протеиназы и мальтазы слизистой оболочки кишечника горбуши и белорыбицы обнаружена статистическая связь слабого отрицательного характера. Аналогичные результаты обнаружены и при исследовании статистических зависимостей между уровнем активности суммарной протеиназы и щелочной фосфатазы кишечника горбуши.

Таким образом, все полученные регрессионные модели, могут быть успешно использованы на практике в целях прогнозирования активности суммарной протеиназы лососеобразных рыб. Актуальность подобного прогнозирования продиктована важностью наблюдения за процессами потребления, гидролиза и утилизации компонентов пищи у хищных видов рыб при выращивании на естественной кормовой базе. Кроме того, наличие статистических моделей позволяет в некоторых случаях определить значение того или иного показателя, используя данные о других факторах, без применения трудоемких методик.

Таким образом, понимание механизмов ответной реакции гидролитических систем кишечника рыб позволяет приблизиться к раскрытию сущности фундаментального свойства всех живых организмов - глубокой трансформации качеств биохимической среды организма рыб и скорости протекающего в ней метаболизма в условиях постоянно изменяющейся интенсивности воздействия комплекса абиотических факторов, среди которых особенно необходимо подчеркнуть температуру и активную реакцию среды. Полученные данные важны для оптимизации условий искусственно выращиваемых лососеобразных рыб.

ВЫВОДЫ

1. При исследовании влияния температуры инкубации на уровень активности пищеварительных ферментов слизистой оболочки кишечника лососеобразных рыб установлено, что температурный оптимум пищеварительных гидролаз дальневосточных видов смещен в сторону более низких температур (30°-40°C), по сравнению с пресноводной форелью (50°).
2. Значения энергии активации и температурных оптимумов у рыб, обитающих в различных климатических зонах, свидетельствуют о существовании функциональной адаптации гидролитической системы кишечника лососеобразных рыб к температуре среды обитания.
3. Показана идентичность температурных характеристик пищеварительных гидролаз белорыбицы, обитающей в водах Каспийского бассейна, таковым лососеобразных бассейна Тихого океана.
4. Установлено, что максимальные уровни гидролитической активности пищеварительных ферментов лососеобразных рыб бассейна Тихого океана находятся в диапазоне pH от 8,0 (щелочная фосфатаза, *α*-амилаза, мальтаза) до 11,0 (суммарная протеиназа).
5. Для пищеварительных гидролаз белорыбицы максимальные значения уровня активности зарегистрированы в диапазоне pH от 6,0 (мальтаза) до 9,5 (щелочная фосфатаза), что характерно для рыб Волго-Каспийского бассейна.
6. Анализ результатов изменения уровня активности пищеварительных ферментов лососеобразных рыб под действием различных концентраций водородных ионов свидетельствует о стеноионном характере изменения активности пищеварительных гидролаз слизистой оболочки кишечника рыб Тихоокеанского бассейна.
7. Определение направлений и степени статистических связей между физиологическими и морфометрическими показателями исследуемых видов рыб показало наличие преимущественно слабых обратных корреляционных связей.
8. Продемонстрированные видовые отличия ответных реакций пищеварительных гидролаз на воздействие температуры и концентрации водородных ионов свидетельствуют о высокой степени адаптации гидролитической системы слизистой оболочки кишечника лососеобразных рыб к действию исследуемых факторов среды обитания.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Alexander N. Nevalenny, Olga E. Levchenko, and Sergey G. Korostelev. Activity Level and Temperature Correlations between Intestine α -Amilase and Maltase of Mass Species of Pacific Salmon, Reproducing in the Rivers of Eastern Kamchatka NPAFC International Workshop "BASIS-2004: Salmon

and Marine Ecosystems in the Bering Sea and Adjacent Waters", October 30-31, 2004, Sapporo, Hokkaido, Japan. PROGRAM & ABSTRACTS. P. 60.

2. Левченко О.Е., Неваленный А.Н., Коростелев С.Г. Влияние модификаторов на процесс мембранного пищеварения на примере рыб семейства лососевые (Salmonidae)/Успехи современного естествознания, №12, 2004. Стр. 89.

3. Левченко О.Е., Неваленный А.Н., Коростелев С.Г. Влияние температуры инкубации на уровень активности некоторых пищеварительных ферментов лососевых видов рыб // Естественные науки: Журнал фундаментальных и прикладных исследований. Астрахань: Изд. Дом «Астр. Университет», 2004, № 3(9). С. 8-12.

4. Левченко О.Е. Влияние температуры инкубации на уровень активности некоторых пищеварительных ферментов белорыбицы (*Stenodus leutichthys* L.)// Сб. научн. статей, наука «Поиск», Т. 2, Вып.2, Астр. гос. техн. ун-т, Астрахань, 2004. С. 162-165.

5. Коростелев С.Н., Неваленный А.Н., Левченко О.Е. Характеристика пищеварительных ферментов кишечника у некоторых камбаловых рыб, обитающих в Дальневосточных морях// Совр. пробл. физиол. и биохим. водн. организмов. Матер, междунар. конф. 6-9 сент. 2004, Петрозаводск, 2004. С. 70-71.

6. Левченко О.Е., Неваленный А.Н., Коростелев С.Г. Влияние концентрации водородных ионов на активность некоторых пищеварительных ферментов лососевых видов рыб *Oncorhynchus gorbuscha* и *Salvelinus malma*// Совр. пробл. физиол. и биохим. водн. организмов. Матер, междунар. конф. 6-9 сент. 2004, Петрозаводск, 2004. С. 81-82.

7. Левченко О.Е., Коростелев С.Г. Влияние различных концентраций ионов водорода на изменение уровня активности пищеварительных карбогидраз лососевых видов рыб// Успехи совр. естествозн., 2005, № 4, с. 34-35.

ВЫВОДЫ

1. При исследовании влияния температуры инкубации на уровень активности пищеварительных ферментов слизистой оболочки кишечника лососеобразных рыб установлено, что температурный оптимум пищеварительных гидролаз дальневосточных видов смещен в сторону более низких температур (30°-40°C), по сравнению с пресноводной форелью (50°).
2. Значения энергии активации и температурных оптимумов у рыб, обитающих в различных климатических зонах, свидетельствуют о существовании функциональной адаптации гидролитической системы кишечника лососеобразных рыб к температуре среды обитания.
3. Показана идентичность температурных характеристик пищеварительных гидролаз белорыбицы, обитающей в водах Каспийского бассейна, таковым лососеобразных бассейна Тихого океана.
4. Установлено, что максимальные уровни гидролитической активности пищеварительных ферментов лососеобразных рыб бассейна Тихого океана находятся в диапазоне рН от 8,0 (щелочная фосфатаза, а-амилаза, мальтаза) до 11,0 (суммарная протеиназа).
5. Для пищеварительных гидролаз белорыбицы максимальные значения уровня активности зарегистрированы в диапазоне рН от 6,0 (мальтаза) до 9,5 (щелочная фосфатаза), *с-ио* характерно для рыб Волю-Каспийского бассейна.
6. Анализ результатов изменения уровня активности пищеварительных ферментов лососеобразных рыб под действием различных концентраций водородных ионов свидетельствует о стеноионном характере изменения активности пищеварительных гидролаз слизистой оболочки кишечника рыб Тихоокеанского бассейна.
7. Определение направлений и степени статистических связей между физиологическими и морфометрическими показателями исследуемых видов рыб показало наличие преимущественно слабых обратных корреляционных связей.
8. Продемонстрированные видовые отличия ответных реакций пищеварительных гидролаз на воздействие температуры и концентрации водородных ионов свидетельствуют о высокой степени адаптации гидролитической системы слизистой оболочки кишечника лососеобразных рыб к действию исследуемых факторов среды обитания.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Alexander N. Nevalenny, Olga E. Levchenko, and Sergey G. Korostev. Activity Level and Temperature Correlations between Intestine α -Amylase and Maltase of Mass Species of Pacific Salmon, Reproducing in the Rivers of Eastern Kamchatka NPAFC International Workshop "BASIS-2004: Salmon

and Marine Ecosystems in the Bering Sea and Adjacent Waters", October 30-31, 2004, Sapporo, Hokkaido, Japan. PROGRAM & ABSTRACTS. P. 60.

2. Левченко О.Е., Неваленный А.Н., Коростелев С.Г. Влияние модификаторов на процесс мембранного пищеварения на примере рыб семейства лососевые (Salmonidae)/Успехи современного естествознания, №12, 2004. Стр. 89.

3. Левченко О.Е., Неваленный А.Н., Коростелев С.Г. Влияние температуры инкубации на уровень активности некоторых пищеварительных ферментов лососевых видов рыб // Естественные науки: Журнал фундаментальных и прикладных исследований. Астрахань: Изд. Дом «Астр. Университет», 2004, № 3(9). С. 8-12.

4. Левченко О.Е. Влияние температуры инкубации на уровень активности некоторых пищеварительных ферментов белорыбицы (*Stenodus leutichthys* L.)// Сб. научн. статей, наука «Поиск», Т. 2, Вып.2, Астр. гос. техн. ун-т, Астрахань, 2004. С.162-165.

5. Коростелев С.Н., Неваленный А.Н., Левченко О.Е. Характеристика пищеварительных ферментов кишечника у некоторых камбаловых рыб, обитающих в Дальневосточных морях// Совр. пробл. физиол. и биохим. водн. организмов. Матер, междунар. конф. 6-9 сент. 2004, Петрозаводск, 2004. С. 70-71.

6. Левченко О.Е., Неваленный А.Н., Коростелев С.Г. Влияние концентрации водородных ионов на активность некоторых пищеварительных ферментов лососевых видов рыб *Oncorhynchus gorbuscha* и *Salvelinus malma*// Совр. пробл. физиол. и биохим. водн. организмов. Матер, междунар. конф. 6-9 сент. 2004, Петрозаводск, 2004. С. 81-82.

7. Левченко О.Е., Коростелев С.Г. Влияние различных концентраций ионов водорода на изменение уровня активности пищеварительных карбогидраз лососевых видов рыб// Успехи совр. естествозн., 2005, № 4, с. 34-35.

11 ИЮЛ 2005

