

УДК 576.895.121

**ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ПЛЕРОЦЕРКОИДОВ
LIGULA INTESTINALIS НА ПИЩЕВАРИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ
ЛЕЩА РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП**

© Г. И. Извекова

Установлено влияние заражения плероцеркоидами *Ligula intestinalis* на активность пищеварительных ферментов, обеспечивающих начальные этапы ассимиляции белков и углеводов в слизистой кишечника у двух возрастных групп леща (4+ и 8+). При этом наблюдается снижение активности исследованных ферментов как с увеличением возраста рыб, так и при заражении. Заражение оказывает более значительное влияние на ферментные системы взрослых рыб, чем молодых. Возраст и инвазия лещей плероцеркоидами *L. intestinalis* изменяют соотношение активностей ферментов цепи карбогидраз и протеаз.

Многочисленные данные свидетельствуют об отрицательном воздействии плероцеркоидов *L. intestinalis* — паразитов, обитающих в полости тела различных рыб семейства карповых, на ряд жизненно важных функций организма хозяина, проявляющемся в снижении темпа роста, упитанности и массы тела, редукции гонад и печени, изменении картины крови и др. (Arme, Owen, 1970; Taylor, Hoole, 1989, и др.). Однако сведения, касающиеся влияния заражения плероцеркоидами *L. intestinalis* на активность пищеварительных ферментов рыб, малочисленны (Извекова, Кузьмина, 1996). Плероцеркоиды встречаются у рыб разных возрастных групп, достигая независимо от возраста хозяина крупных размеров. В связи с этим целью работы было определение возрастных особенностей влияния плероцеркоидов *L. intestinalis* на активность ферментов, обеспечивающих начальные этапы гидролиза белков и углеводов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили лещи *Abramis brama* L. Рыбинского водохранилища, не зараженные и зараженные плероцеркоидами *Ligula intestinalis* (L.). Активность пищеварительных гидролаз исследовали в слизистой оболочке кишечника у рыб 2 возрастных групп: 4+ и 8+. В слизистой кишечника леща обеих возрастных групп определяли общую протеолитическую (ОПА), общую амилолитическую (ОАА) активности и активность сахаразы.

Общую протеолитическую активность (общая активность трипсина КФ 3.4.21.4, химотрипсина КФ 3.4.21.1 и дипептидаз КФ 3.4.13.1—3.4.13.11) определяли методом Ансона (Anson, 1938). В качестве субстрата при определении ОПА использовали 1%-ный раствор казеина, приготовленный на растворе Рингера. Скорость гидролиза субстрата выражали в мкмоль тирозина за 1 мин инкубации в расчете на 1 г влажной массы ткани. Общую амилолитическую активность (общая активность амилазы КФ 3.2.1.1, глюко-амилазы КФ 3.2.1.3 и мальтазы КФ 3.2.1.20), активность сахаразы

(КФ 3.2.1.48) определяли модифицированным методом Нельсона (Уголев, Иезуитова, 1969). Скорость гидролиза субстрата (1.8 % -ного раствора растворимого крахмала для определения ОАА и 75 мМ и 200 мМ сахарозы для определения активности сахаразы) выражали в мкмольях глюкозы за 1 мин инкубации в расчете на 1 г влажной массы ткани.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Инвазия *L. intestinalis* существенно влияет на активность пищеварительных ферментов, обеспечивающих начальные этапы ассимиляции белков и углеводов в слизистой кишечника у обеих возрастных групп леща (рис. 1, 2). При этом установлено достоверное ($P < 0.05$) снижение активности исследованных протеиназ и карбогидраз с возрастом рыб, что согласуется с имеющимися литературными данными (Кузьмина, 1986; Уголев, Кузьмина, 1993). У зараженных рыб обеих групп уровень ОПА и ОАА также понижается. При этом заражение оказывает более значительное влияние на ферментные системы взрослых рыб (8+), чем на гидролазы молодых (4+). Так, если у молодых рыб активность указанных ферментов уменьшается на 33 и 24 %, то у взрослых — на 46 и 47 % соответственно. Важно отметить, что у зараженных рыб активность исследованных ферментов с возрастом падает сильнее, чем у здоровых, причем ОАА снижается в большей степени, чем ОПА. Так, ОАА у здоровых взрослых рыб по сравнению с молодыми уменьшается в 4.4 раза, а у зараженных — в 6.3, а ОПА — в 6 и 7.3 раза соответственно. На основании полученных данных были рассчитаны коэффициенты К/П (активность карбогидраз/активность протеаз), которые оказались различными для незараженных и зараженных рыб. С возрастом у всех исследованных рыб коэффициент К/П увеличивается, у незараженных рыб с 1.65 до 2.26, у зараженных — лишь с 1.90 до 2.2.

При исследовании собственно кишечного фермента сахаразы также установлено снижение его активности с увеличением возраста рыб (см. таблицу). При этом у незараженных рыб с возрастом активность сахаразы снижается примерно на 50 % при обеих исследованных концентрациях сахарозы. У зараженных рыб она снижается на 62 % при концентрации сахарозы 200 мМ

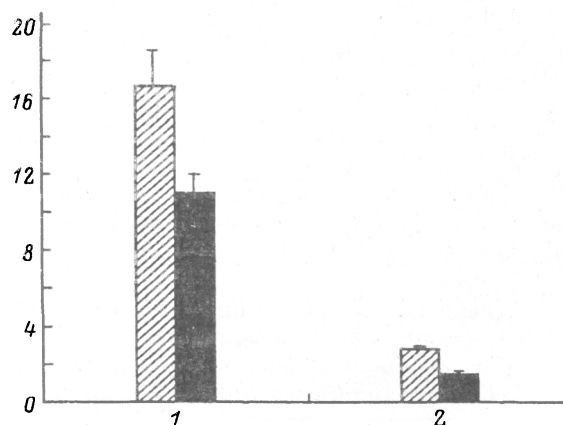


Рис. 1. Влияние *L. intestinalis* на общую протеолитическую активность слизистой кишечника леща.

По оси ординат: ОПА, мкмоль/г · мин; по оси абсцисс: 1 — лещ в возрасте 4+; 2 — лещ в возрасте 8+; светлые столбики — незараженный лещ, черные столбики — зараженный лещ.

Fig. 1. The influence of *L. intestinalis* on the total proteolytic activity of intestinal mucosa of bream.

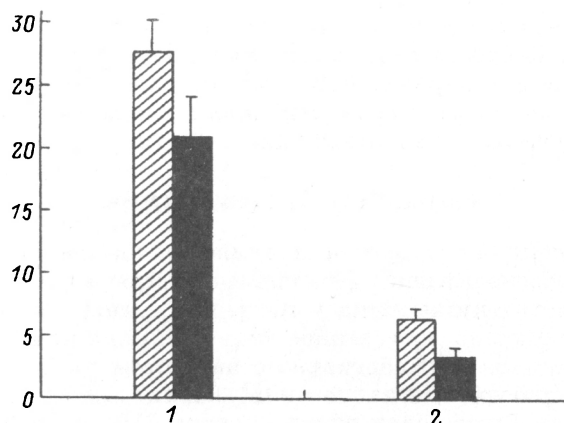


Рис. 2. Влияние *L. intestinalis* на общую амилолитическую активность слизистой кишечника леща.

По оси ординат: ОАА, мкмоль/г · мин.
Обозначения те же, что на рис. 1.

Fig. 2. The influence of *L. intestinalis* on the total amylolytic activity of intestinal mucosa of bream.

и на 18% — при 75 мМ концентрации. Заметного влияния заражения плероцеркоидами *L. intestinalis* на активность этого щеточно-каемного фермента при исследованных концентрациях не обнаружено (лишь у молодых рыб отмечалось снижение уровня ферментативной активности при 75 мМ концентрации сахарозы).

Таким образом, исследование возрастных особенностей влияния плероцеркоидов *L. intestinalis* на активность пищеварительных ферментов в слизистой кишечника леща показало, что наблюдается снижение активности всех исследованных ферментов как при увеличении возраста рыб, так и при их заражении. Возрастным изменениям в большей степени подвержены ферменты, осуществляющие начальные этапы гидролиза нутриентов (главным образом панкреатические по происхождению α -амилаза, трипсин и химо-трипсин), чем собственно кишечный фермент сахараза. Заражение плероцеркоидами также сильнее сказывается на активности полостных ферментов, причем с возрастом рыб это влияние усиливается. Возраст и инвазия лещей *L. intestinalis* также изменяют соотношение активностей ферментов цепи карбогидраз и протеаз, о чем свидетельствует изменение коэффициента К/П. У молодых рыб заражение плероцеркоидами *L. intestinalis* вызывает более заметное изменение в соотношении активностей этих ферментов, чем у взрослых. При исследовании сахаразы установлена зависимость эффекта от кон-

Сахаразная активность слизистой кишечника у двух возрастных групп леща, не зараженного и зараженного *L. intestinalis*

The sucrase activity of intestinal mucosa two different age of bream, infected and uninfected with *L. intestinalis*

Концентрация сахарозы, мМ	Возраст леща			
	4+		8+	
	незараженный	зараженный	незараженный	зараженный
200	3.58 ± 0.39	4.49 ± 0.85	1.84 ± 0.1	1.65 ± 0.17
75	2.91 ± 0.6	1.65 ± 0.55	1.37 ± 0.16	1.35 ± 0.26

центрации субстрата. При высоких концентрациях субстрата заражение *L. intestinalis* существенно не сказывается на активности фермента. Вместе с тем ранее было показано, что при заражении происходит изменение кинетических характеристик сахаразы, существенно влияющее на скорость гидролиза сахарозы (Извекова, Кузьмина, 1996). Снижение с возрастом активности различных ферментов в слизистой кишечника леща свидетельствует не только об уменьшении интенсивности обмена веществ, но и о значительной адаптированности ферментов, функционирующих в кишечнике рыб, к меняющимся с увеличением возраста потребностям организма (Кузьмина, Голованова, 1984). Усиление влияния заражения с возрастом рыб, по всей вероятности, связано с понижением защитных функций и ослаблением иммунитета у взрослых особей (Бутенко и др., 1982).

Ранее было показано, что уровень активности ферментов, обеспечивающих начальные и промежуточные этапы гидролиза белков и углеводов, в большей степени подвержен влиянию различных факторов, таких как тип и интенсивность питания, температура среды обитания и другие, чем уровень активности ферментов той же цепи, но осуществляющих заключительные этапы этого процесса (Уголев, Кузьмина, 1993). Вероятно, этим можно объяснить и большее влияние заражения *L. intestinalis* на ОАА и ОПА по сравнению с его воздействием на активность сахаразы. При заражении леща плероцеркоидами существенно снижается эффективность питания, что усугубляется с возрастом рыб. Интересно отметить, что изменения в пищеварительной активности леща, вызываемые инвазией плероцеркоидами *L. intestinalis* и возрастом, сходны, т. е. у молодых зараженных рыб так же, как и у взрослых здоровых рыб, активность пищеварительных ферментов снижается. Можно предположить, что заражение *L. intestinalis* вызывает преждевременное «старение» рыб, хотя для окончательных выводов этих данных недостаточно.

Сравнение полученных данных с известными из литературы показывает, что полостной паразит в ряде случаев воздействует на пищеварительную активность хозяина сильнее, чем кишечный. Так, не обнаружено различий в активности трипсина, уровне общей протеолитической активности и скорости гидролиза углеводов у крыс, не инфицированных и инфицированных *Hymenolepis diminuta* (Parras, 1983). Отмечено лишь некоторое увеличение активности амилазы в кишечнике у зараженных *Bothriocephalus gowkongensis* годовиков карпа (Давыдов, Куровская, 1991). Активность протеаз при этом оставалась без изменений. Только в одном случае при исследовании сеголеток карпов показано достоверное снижение активности амилазы, протеазы и кислой фосфатазы в слизистой и химусе кишечника при заражении рыб цестодами *B. acheilognathi*, причем активность амилазы и протеазы, функционирующих в полости кишечника, изменяется в большей степени, чем активность ферментов, функционирующих в составе слизистой (Куровская, 1991). Очевидно, что наблюдаемые различия связаны с возрастными изменениями и большей чувствительностью карпа на ранних стадиях онтогенеза.

В заключение следует отметить, что в результате проведенной работы установлено значительное влияние заражения плероцеркоидами *L. intestinalis* на активность пищеварительных гидролаз леща, которое с возрастом хозяина увеличивается, что проявляется в уменьшении активности основных групп ферментов — протеаз и карбогидраз, а также в изменении соотношения их активности. Вероятно, метаболиты паразита прямо или опосредованно влияют на процессы гидролиза нутриентов, вызывая ослабление эффективности питания рыб.

Работа поддержана грантом РФФИ 96—04—49 080.

Список литературы

- Давыдов О. Н., Куровская Л. Я. Паразито-хозяйные отношения при цестодо-зах рыб. Киев: Наукова думка, 1991. 169 с.
- Бутенко Г. М., Андрианова Л. Ф., Губрий И. В., Харази А. И. Старение клеток иммунной системы // Физиологические механизмы старения. Л.: Наука, 1982. С. 70—80.
- Извекова Г. И., Кузьмина В. В. Влияние заражения плероцеркоидами *Ligula intestinalis* на активность пищеварительных ферментов и содержание гликогена в тканях леща // Паразитология. 1996. Т. 30, вып. 1. С. 45—52.
- Кузьмина В. В. Общие закономерности мембранного пищеварения у рыб и его адаптивные перестройки: Автореф. дис. ... док. биол. наук. Л., 1986. 39 с.
- Кузьмина В. В., Голованова И. Л. Возрастная изменчивость активности карбогидраз кишечника рыб // Биология внутренних вод. Инф. бюл. 1984. № 64. С. 50—54.
- Куровская Л. Я. Сопряженность процессов пищеварения в системе *Bothriosephalus acheilognathi* — карп // Паразитология. 1991. Т. 25, вып. 5. С. 441—449.
- Уголев А. М., Иезуитова Н. Н. Определение активности инвертазы и других дисахаридаз // Исследование пищеварительного аппарата у человека (Обзор современных методов). Л.: Наука, 1969. С. 192—196.
- Уголев А. М., Кузьмина В. В. Пищеварительные процессы и адаптации у рыб. СПб.: Гидрометеоздат, 1993. 238 с.
- Anson M. The estimation of pepsin, tripsin, papain and cathepsin with hemoglobin // J. Gener. Phys. 1938. Vol. 22, N 1. P. 79—83.
- Arme C., Owen R. W. Observations on a tissue response within the body cavity of fish infected with the plerocercoid of *Ligula intestinalis* (L.) (Cestoda) // J. Fish Biol. 1970. Vol. 2. P. 35—37.
- Pappas P. W. Host — parasite interface // Biology of the Eucestoda. Vol. 2. Academic Press, 1983. P. 297—334.
- Taylor M., Hoole D. *Ligula intestinalis* (L.) (Cestoda: Pseudophyllidae): plerocercoid induced changes in the spleen and pronephros of roach, *Rutilus rutilus* (L.) and gudgeon, *Gobio gobio* (L.) // J. Fish Biol. 1989. Vol. 34, N 4. P. 583—596.
- ИБВВ им. И. Д. Папанина
Борок, 152742
- Поступила 25.05.1997

PECULIARITIES OF *LIGULA INTESTINALIS* INFLUENCE ON DIGESTIVE ACTIVITY IN BREAMS OF DIFFERENT AGE GROUPS

G. I. Izvekova

Key words: *Ligula intestinalis*, bream, age, digestion, enzyme.

SUMMARY

The influence of the *Ligula intestinalis* plerocercoids onto the activity of digestive enzymes in the intestine of two different age groups (4+ and 8+) of the bream (*Abramis brama*) was carried out. The reliable decrease of proteinase and carbohydrase activities was observed in fishes of elder group and in cases of plerocercoid infection.