

УДК 577.121:[597.552.512: 639.3.04]

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО И УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА У РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ (*ONCORHYNCHUS MYKISS* WALB.) ПРИ ВВЕДЕНИИ КРУГЛОСУТОЧНОГО ОСВЕЩЕНИЯ В УСЛОВИЯХ АКВАКУЛЬТУРЫ ЮЖНОГО РЕГИОНА РФ

© 2024 г. М. А. Родин, М. В. Кузнецова*, М. Ю. Крупнова, А. Е. Курицын,
академик РАН Н. Н. Немова

Поступило 10.08.2024 г.

После доработки 25.08.2024 г.

Принято к публикации 30.08.2024 г.

У радужной форели *Oncorhynchus mykiss* Walb., выращиваемой в условиях аквакультуры на предприятии в Северной Осетии — Алании, исследовали активность ферментов энергетического и углеводного обмена (цитохром *c* оксидазы, пируваткиназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, 1-глицерофосфатдегидрогеназы, лактатдегидрогеназы, альдолазы) при введении режима, включающего круглосуточное освещение и ночное кормление. Согласно результатам исследования, активность цитохром *c* оксидазы и пируваткиназы в печени рыб из экспериментальной группы была достоверно выше, чем у контрольных особей, что свидетельствует о повышении уровня аэробного обмена синтеза АТФ. Активность альдолазы в органах рыб, выращиваемых при круглосуточном освещении, была ниже по сравнению с рыбами из контрольной группы, что указывает на снижение уровня использования углеводов в гликолизе в мышцах и интенсивности глюконеогенеза в печени. Выявленные различия позволяют предположить, что при введении круглосуточного освещения и ночного кормления наблюдаются метаболические перестройки в энергетическом и углеводном обмене, способствующие процессам биосинтеза и, соответственно, приросту массы рыб.

Ключевые слова: радужная форель, энергетический обмен, активность ферментов, фотопериод

DOI: 10.31857/S2686738924060144

ВВЕДЕНИЕ

Фотопериод (отношение количества световых часов к часам темноты за 24 часа) влияет на некоторые показатели продуктивности рыб в культуре, инициируя ряд изменений в их росте, питании и репродуктивной функции [1]. На основании экспериментальных данных [2] было высказано предположение о том, что влияние длительного искусственного фотопериода на ростовые характеристики рыб, вероятно, связано с перераспределением доступной энергии, которая “перенаправляется” от развития гонад на соматический рост. В связи с этим в искусственных условиях предприятий аквакультуры (преимущественно за рубежом

в странах Северного полушария) используются методы увеличения скорости роста лососевых видов рыб за счет удлинения светового дня [2–4]. Большинство исследований посвящены влиянию фотопериода на физиологические параметры рыб, однако недостаточно информации о биохимических механизмах регуляции метаболизма во время роста, стимулируемого светом. Фотопериод влияет на процессы регуляции роста, что приводит к изменению уровней экспрессии генов регуляторных и структурных белков, которые определяют скорость метаболизма и синтеза структурных и резервных веществ. Энергетический обмен — важнейший параметр, который может быть использован для оценки состояния отдельных особей и популяции в целом. Активный рост рыб, в особенности на стадии раннего онтогенеза, а также в первые годы жизни, обеспечивается высокоэнергетическими процессами биосинтеза [5]. Ранее, в наших исследованиях влияния фотопериода

Институт биологии — обособленное подразделение
Федерального исследовательского центра
“Карельский научный центр РАН”, Петрозаводск, Россия
*e-mail: kuznetsovamvi@yandex.ru

на искусственное выращивание молоди лосося в условиях северных широт (регион Белого моря) показано, что непрерывный свет (режим 24 свет:0 темнота) способствовал ускорению роста особей, что сопровождалось изменением аэробного и анаэробного обмена в мышцах [6].

В условиях климата Южного региона России есть возможность выращивания форели при температуре воды в диапазоне 8–18°C, в отсутствие зимних периодов низких температур, что позволяет рыбе питаться и расти круглый год. Введение дополнительного освещения в условиях Южного региона позволило бы ускорить темпы роста форели, обеспечивая повышение эффективности использования кормов и получение рыб необходимой товарной массы в более короткий период. Исходя из этого, был поставлен эксперимент по влиянию постоянного освещения на рост и развитие молоди радужной форели (0+) в условиях аквакультуры в южном регионе России (Республика Северная Осетия – Алания). Целью данной работы было изучение изменений в активности ферментов энергетического и углеводного обмена в мышцах и печени молоди форели в процессе роста и развития, при введении дополнительного освещения и кормления в ночное время суток.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом данного исследования были двухлетки радужной форели (1+), выращиваемые в бассейнах на предприятии ООО “Остров аквакультура” в Северной Осетии – Алании. Исследовали влияние круглосуточного освещения на рост рыб. В начале сентября особей форели со средней массой 500 грамм разделили на две группы: контрольная группа (контроль) – режим освещения естественный, кормление в светлое время суток через каждые 2 ч; экспериментальная группа (опыт) – режим освещения постоянный (24С:0Т), кормление ночью, через каждые 2 ч. Бассейны с круглосуточным освещением были снабжены светодиодными LED лампами (36W, 6500K) по всему периметру вдоль стен, уровень освещенности составлял 700–800 lx под каждой лампой. Дополнительное освещение включали с наступлением сумерек. Условия естественного освещения: 10000–12000 lx – в сентябре и октябре, 6500 lx – в ноябре, в пасмурную погоду– 500 lx. В эксперименте использовали

коммерческий корм марки Scretting Nutra HP (Италия). Для исследования отбирали двухлеток в начале сентября (стартовая дата забора материала), октября и ноября; из каждой группы было взято по 10 особей. В азот фиксировали кусочки белых мышц, печень. Для лабораторных исследований отобраны средние по размерно-весовым характеристикам особи (табл. 1).

Активность ферментов энергетического и углеводного обмена в мышцах (цитохром с оксидаза (ЦО, КФ 1.9.3.1), лактатдегидрогеназа (ЛДГ, 1.1.1.27), альдолаза (КФ 4.1.2.13)) и печени (ЦО, ЛДГ, пируваткиназа (ПК, КФ 2.7.1.40), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г6ФДГ, 1.1.1.49), 1-глицерофосфатдегидрогеназа (1-ГФДГ, КФ 1.1.1.8), альдолаза) определяли индивидуально для каждой особи методом спектрофотометрии. Исследования проводили на микропланшетном ридере CLARIOSTAR (BMG Labtech) по общепринятым методикам [7–10]. Активность ферментов выражали в мкмоль субстрата (продукта)/мин/мг белка. Концентрацию белка определяли методом Брэдфорд [11]. Статистический анализ полученных результатов проводили общепринятыми методами вариационной статистики с использованием критерия Шапиро–Уилкса, теста Краскела–Уоллиса с последующим сравнением выборок по критерию Манна–Уитни. Все результаты считались значимыми при $p < 0.05$. Все данные представлены как $M \pm SE$. Исследования выполнены на оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук”.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования указывают на то, что при введении круглосуточного освещения радужная форель, выращиваемая в бассейнах рыбоводного хозяйства в условиях Северной Осетии – Алании, активно питается в ночное время, при этом имеет хорошие параметры роста и выживаемости. Удельная скорость роста была в выше при опытном ночном кормлении по сравнению с контролем (10.6 г/день против 9.03 гр/день за первый месяц, 11.9 г/день против 10.2 г/день за второй месяц ($p < 0.05$)).

Результаты исследования активности ферментов в печени особей радужной форели демонстрируют различия между группами с круглосуточным и естественным освещением (рис. 1). В качестве

Таблица 1. Средняя масса (г) и длина (см) молоди форели

Группа рыб	9 сентября		9 октября		10 ноября	
	масса	длина	масса	длина	масса	длина
Контроль	507.9±47.9	33.0±0.7	836.4±38.6	38.4±0.8	1370.0±74.4	43.5±1.0
Опыт	572.5±28.1	35.0±0.4	895.0±38.8	39.6±0.6	1335.0±61.4	44.2±0.9

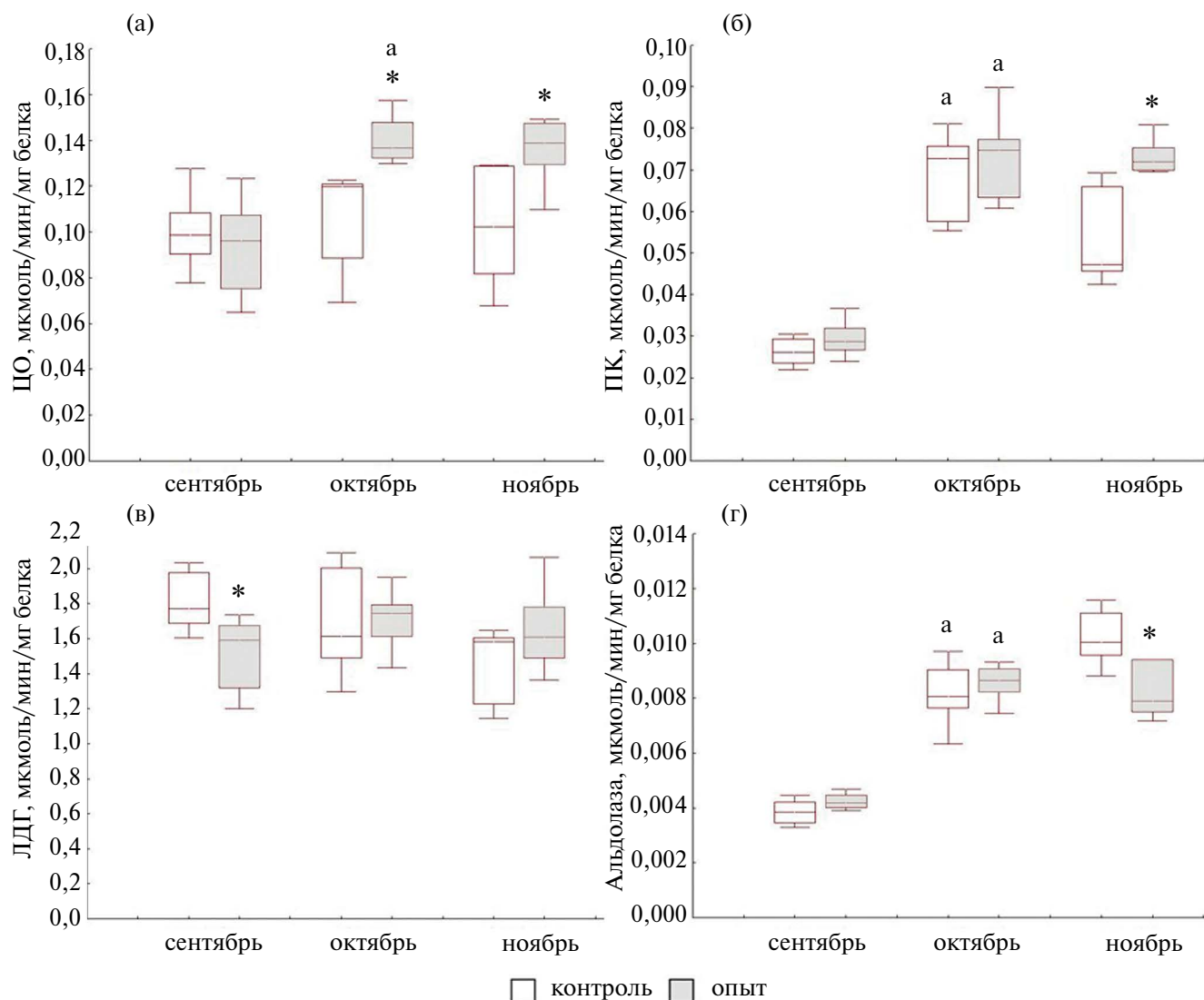


Рис. 1. Относительная активность ферментов ($\mu\text{моль}/\text{мин}/\text{мг}$ белка) в печени особей радужной форели (1+) из контрольной группы (режим освещения естественный, кормление в светлое время суток) и экспериментальной группы (режим освещения постоянный, кормление ночью): а) ЦО, б) ПК, в) ЛДГ, г) альдолаза. Различия достоверны при $p < 0.05$: * — между контролем и опытом, а — в сравнении со значениями в предыдущем месяце в соответствующей группе.

показателя аэробного обмена использовали значение активности фермента дыхательной цепи митохондрий цитохром *c* оксидазы [12]. Согласно результатам, активность ЦО повышалась через месяц исследования в группе с круглосуточным освещением и была выше по отношению к группе с естественным освещением в течение дальнейшего эксперимента (рис. 1а). Эти данные свидетельствуют о более высоком уровне аэробного обмена в печени рыб из экспериментальной группы. Вероятно, что при включении дополнительного освещения и кормления рыб в ночное время создаются условия, благоприятно влияющие на состояние рыб и усвоение корма, в том числе

за счет более низких температур и стабильного уровня кислорода по сравнению с дневным временем суток. Имеются сведения о том, что высокий уровень аэробного обмена позволяет рыбам использовать энергию не только для поддержания основного обмена веществ и физической активности, но и в процессах биосинтеза структурных и резервных соединений, требующих большого количества АТФ [13]. Активность ПК в печени рыб из экспериментальной группы в ноябре была выше по сравнению с рыбами из контроля (рис. 1б). Значение активности пируваткиназы может использоваться как индикатор интенсивности образования пирувата, который используется в аэробном

синтезе АТФ, а также в качестве предшественника для синтеза жирных кислот [13]. Эти результаты (с учетом высокой активности ЦО) указывают на высокую интенсивность образования пирувата и его использование в аэробном синтезе АТФ. Согласно данным Метон с коллегами [13], уровень активности ПК в печени отражает условия кормления, в частности, он снижается во время голодания рыб. Возможно, ночное освещение выступает фактором, стимулирующим пищевую активность. Известно, что увеличение продолжительности светового дня вызывает повышение уровня гормона роста (соматотропина) у атлантического лосося [14], что, в свою очередь, повышает плавательную активность и аппетит рыб.

Круглосуточное освещение и перенос кормления на ночное время отражались на перераспределении субстратов, используемых в энергетическом обмене. По уровню активности альдолазы в печени различия между группами были установлены в ноябре (рис. 1г). Альдолаза катализирует образование дигидроксиацетонфосфата и глицеральдегид-3-фосфата, которые впоследствии участвуют в процессах гликолиза, глюконеогенеза и образования липидов. Значения активности этого фермента у рыб в группе с круглосуточным освещением были ниже, что указывает на снижение интенсивности глюконеогенеза в печени [15].

Различий между группами особей форели в активности ферментов 1-ГФДГ и Г6ФДГ

в печени не обнаружено. Г6ФДГ является ключевым ферментом пентозофосфатного пути, в котором происходит образование пентоз и генерируется восстановитель в форме НАДФН, использующийся в реакциях биосинтеза жирных кислот, холестерина [16]. Роль 1-ГФДГ в печени связана главным образом с процессом синтеза глицерофосфата из углеводов, который используется для синтеза структурных и запасных липидов [17–18]. Таким образом, ночное освещение и изменение в режиме питания не повлияли на процессы связывающие пути распада глюкозы с другими процессами биосинтеза.

Закономерности, установленные в динамике активности ферментов в печени рыб показывают, что через месяц эксперимента уровень активности пируваткиназы, альдолазы и Г6ФДГ повышался как в экспериментальной группе, так и в контрольной (рис. 1б,в,г). Это свидетельствует об увеличении уровня использования углеводов в гликолизе и пентозофосфатном пути, что необходимо для осуществления процессов биосинтеза в процессе роста форели.

В мышцах молоди форели межгрупповых различий по активности ЦО не было выявлено (рис. 3а), но при этом в ноябре у рыб из группы с естественным освещением уровень активности ЦО снижался, в то время как при круглосуточном освещении оставался стабильным (рис. 3а). Это может свидетельствовать о поддержании уровня аэробного обмена в экспериментальной группе за счет влияния

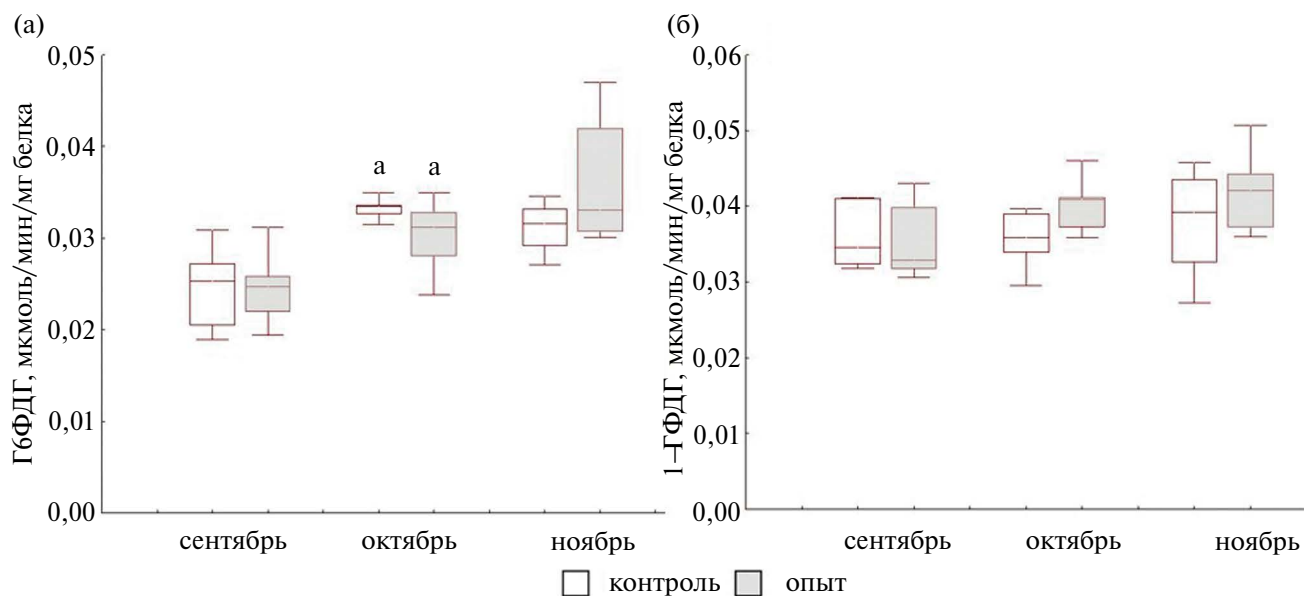


Рис. 2. Относительная активность ферментов (мкмоль/мин/мг белка) в печени особей радужной форели (1+) из контрольной группы (режим освещения естественный, кормление в светлое время суток) и экспериментальной группы (режим освещения постоянный, кормление ночью): а) Г6ФДГ, б) 1-ГФДГ. Различия достоверны при $p < 0.05$: а — в сравнении со значениями в предыдущем месяце в соответствующей группе.

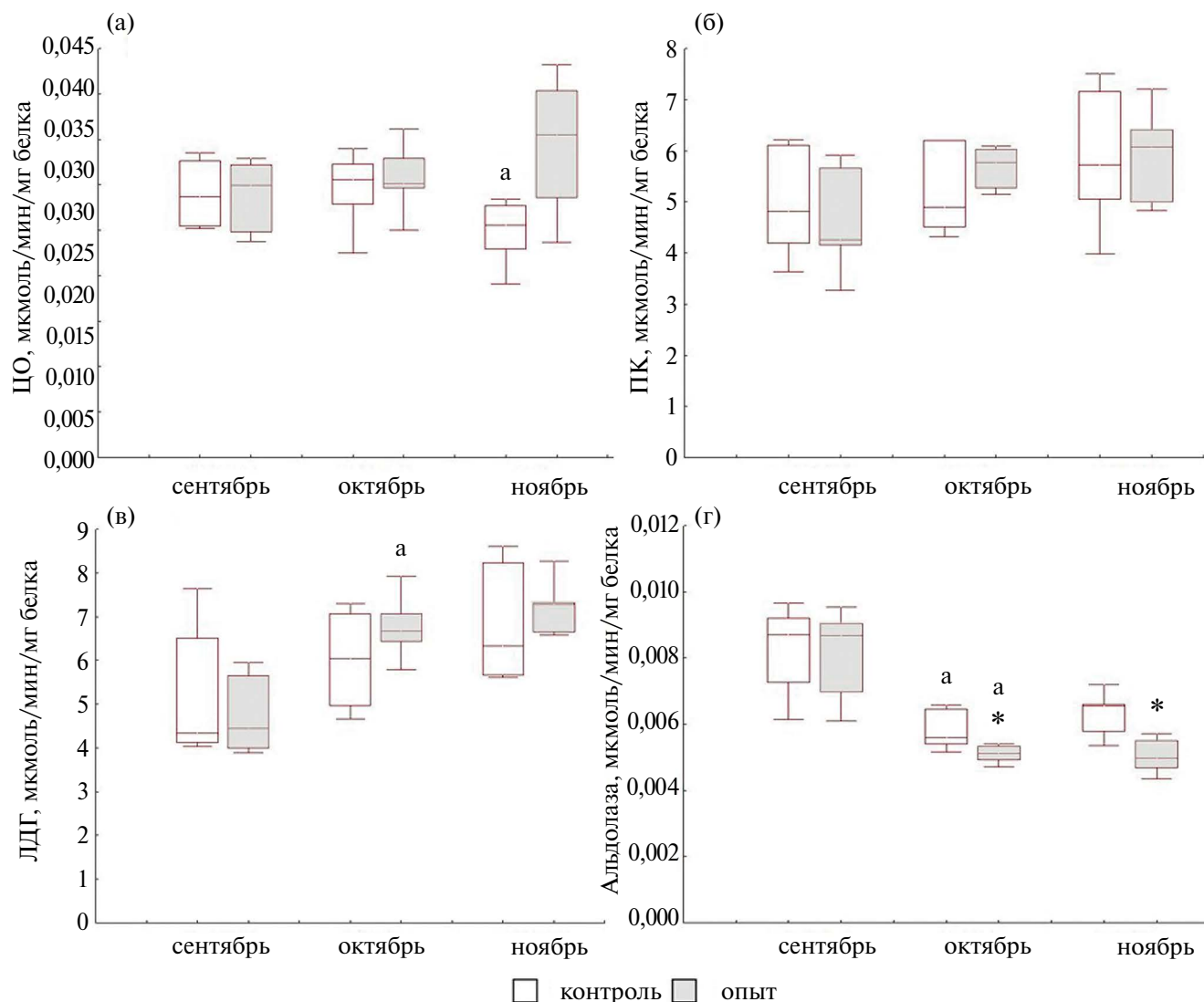


Рис. 3. Относительная активность ферментов (мкмоль/мин/мг белка) в белых мышцах особей радужной форели (1+) из контрольной группы (режим освещения естественный, кормление в светлое время суток) и экспериментальной группы (режим освещения постоянный, кормление ночью): а) ЦО, б) ПК, в) ЛДГ, г) альдолаза. Различия достоверны при $p < 0.05$: * – между контролем и опытом, а – в сравнении со значениями в предыдущем месяце в соответствующей группе.

света на кормовую активность и эффективность усвоения поступающих питательных веществ [1, 19].

Наблюдались различия в уровне активности альдолазы между исследуемыми группами в октябре и в ноябре (рис. 3г). Значения активности данного фермента у форели в группе с круглосуточным освещением были ниже, характеризую снижение уровня использования углеводов с целью энергообеспечения мышц в пользу других субстратов (Llewellyn et al., 1998).

Полученные результаты по влиянию дополнительного освещения и кормления ночью на состояние форели согласуются с данными нашего

исследования, проведенного на атлантическом лососе в условиях выращивания на предприятии в Северной Осетии. Согласно данным эксперимента [20] активность альдолазы в печени и мышцах была ниже, а активность пируваткиназы в печени выше у сеголеток лосося, выращиваемых при постоянном режиме освещения и круглосуточном кормлении. Можно предположить о наличии определенных закономерностей в перестройке метаболизма при введении круглосуточного освещения, заключающихся в перераспределении субстратов, используемых в энергетическом обмене.

Таким образом, результаты эксперимента указывают на то, что режим выращивания форели в условиях аквакультуры с круглосуточным освещением и ночным кормлением, когда наблюдаются более низкие температуры и стабильный уровень кислорода, благоприятно сказывается на состоянии рыб и способствует лучшему усвоению корма и приросту массы форели за счет метаболических перестроек в энергетическом и углеводном обмене. Полученные данные могут быть использованы для разработки научно-методического обоснования внедрения круглосуточного освещения и ночного кормления в технологию выращивания форели в экологических условиях Северной Осетии, что может способствовать повышению прироста выращиваемых рыб и, соответственно, увеличению выхода товарной продукции.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа финансировалась из средств федерального бюджета, выделенных на выполнение темы в рамках проекта Российского научного фонда № 23-24-00617. Работа выполнена с использованием научного оборудования ЦКП КарНЦ РАН.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

“Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям биоэтического комитета ИБ КарНЦ РАН в протоколе № 11, 03 сентября 2024 года”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Boeuf G., Falcon J., Photoperiod and growth in fish // *Vie Milieu*. 2002. Vol. 51. P. 237–246.
2. Noori A., Mojazi Amiri B., Mirvaghefi A., et al. Enhanced growth and retarded gonadal development of farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) following a long-day photoperiod // *Aquac. Res.* 2015. Vol. 46. P. 2398–2406.
3. Lundova K., Matousek J., Prokesova M., et al. The effect of timing of extended photoperiod on growth and maturity of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) // *Aquac. Res.* 2019. Vol. 50, №6. P. 1697–1704.
4. Sonmez A.Y., Hisar O., Hisar S.A., et al. The effects of different photoperiod regimes on growth, feed conversion rate and survival of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry // *J Anim Vet Adv.* 2009. Vol. 8. P. 760–763.
5. Озернюк Н.Д. Энергетический обмен в раннем онтогенезе рыб // М.: Наука. 1985. 175 с.
6. Churova M.V., Shulgina N., Kuritsyn A., et al. Muscle-specific gene expression and metabolic enzyme activities in Atlantic salmon *Salmo salar* L. fry reared under different photoperiod regimes // *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 2020. Vol. 239. P. 110330.
7. Smith L. Spectrophotometric assay of cytochrome c oxidase // *Methods in Biochem Analysis*. 1995. Vol. 2. P. 427–434.
8. Колб В.Г., Камышиников В.С. Клиническая биохимия // Минск: Изд-во Беларусь. 1976. 311 с.
9. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии // М.: Высш. шк. 1980. 272 с.
10. Bücher T., Pfeleiderer G. Pyruvate kinase from muscle // *Methods in Enzymology*. 1955. Vol. 1. P. 345–440.
11. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem.* 1976. Vol. 72. P. 248–254.
12. Gauthier C., Campbell P., Couture P. Physiological correlates of growth and condition in the yellow perch (*Perca flavescens*) // *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A*. 2008. Vol. 151. P. 526–532.
13. Metón I., Mediavilla D., Caseras A., et al. Effect of diet composition and ration size on key enzyme activities of glycolysis–gluconeogenesis, the pentose phosphate pathway and amino acid metabolism in liver of gilt-head sea bream (*Sparus aurata*) // *British J. Nutrition*. 1999. Vol. 82, №3. P. 223–232.
14. Björnsson B.T., Thorarensen H., Hirano T., et al. Photoperiod and temperature affect plasma growth hormone levels, growth, condition factor and hypoxia-regulatory ability of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) during parr-smolt transformation // *Aquaculture*. 1989. Vol. 82, №1–4. P. 77–91.
15. Llewellyn L., Sweeney G.E., Ramsurn V.P., et al. Cloning and unusual expression profile of the aldolase B gene from Atlantic salmon // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*. 1998. Vol. 1443(3). P. 375–380.
16. Tian W.N., Braunstein L.D., Pang J., et al. Importance of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity for cell growth // *J. Biol. Chem.* 1998. Vol. 273. P. 10609–10617.
17. Harmon J.S., Sheridan M.A. Glucose-stimulated lipolysis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver // *J. Fish Physiol. and Biochem.* 1992. Vol. 10. P. 189–199.
18. Treberg J.R., Lewis J.M., Driedzic W.R. Comparison of liver enzymes in osmerid fishes: key differences between a glycerol accumulating species, rainbow smelt (*Osmerus mordax*), and a species that does not accumulate glycerol, capelin (*Mallotus villosus*) // *Comp.*

- Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol. 2002. Vol. 132. P. 433–438.
19. Biswas A.K., Seoka M., Inoue Y., et al. Photoperiod influences the growth, food intake, feed efficiency and digestibility of red sea bream (*Pagrus major*) // Aquaculture. 2005. Vol. 250, №3–4. P. 666–673.
20. Kuznetsova M.V., Rodin M.A., Shulgina N.S., et al. The Influence of Different Lighting and Feeding Regimes on the Activity of Metabolic Enzymes in Farmed Atlantic Salmon Fingerlings // Russian Journal of Developmental Biology. 2023. T. 54, №2. C. 147–155.

**ACTIVITY OF ENERGY AND CARBOHYDRATE METABOLISM ENZYMES
IN RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS* WALB.)
WITH THE INTRODUCTION OF 24-HOUR LIGHTING
IN AQUACULTURE CONDITIONS OF THE SOUTHERN REGION
OF THE RUSSIAN FEDERATION**

**M. A. Rodin, M. V. Kuznetsova*, M. Yu. Krupnova, A. E. Kuritsyn,
Academician of the RAS N. N. Nemova**

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

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

The activity of energy and carbohydrate metabolism enzymes (cytochrome *c* oxidase, pyruvate kinase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, glycerophosphate dehydrogenase, lactate dehydrogenase, aldolase) was studied in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* Walb. grown in aquaculture conditions at an enterprise in North Ossetia-Alania under a regime including 24-hour lighting and night feeding. According to the results of the study, the activity of cytochrome *c* oxidase and pyruvate kinase in the liver of fish from the experimental group was significantly higher than in the control individuals, indicating an increase in the aerobic metabolism level of ATP synthesis. The activity of aldolase in the organs of fish grown under 24-hour lighting was lower compared to fish from the control group, indicating a decrease in the level of carbohydrate utilization in glycolysis in muscles and the intensity of gluconeogenesis in the liver. The differences revealed suggest that with the introduction of 24-hour lighting and night feeding, metabolic changes are observed in energy and carbohydrate metabolism, facilitating biosynthesis processes and, accordingly, an increase in fish weight

Keywords: rainbow trout, energy metabolism, enzyme activity, photoperiod