

УДК 577:[597.552.512: 639.3.043.2]

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО И УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА У СЕГОЛЕТОК РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ (*ONCORHYNCHUS MYKISS* WALB.) ПРИ КОРМЛЕНИИ ДВУМЯ ВИДАМИ КОММЕРЧЕСКИХ КОРМОВ

© 2024 г. М. А. Родин, М. В. Кузнецова, М. Ю. Крупнова, А. Е. Курицын, С. А. Мурзина, Н. Н. Немова

Институт биологии – обособленное подразделение Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр РАН», ул. Пушкинская 11, Петрозаводск, 185910 Россия,
@E-mail: mikhail.rodin.mr@yandex.ru

Поступила в редакцию 25.06.2024 г.

После доработки 28.06.2024 г.

Принята к публикации 28.06.2024 г.

Исследовали активность ферментов энергетического и углеводного обмена (цитохром с оксидазы, лактатдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, 1-глицерофосфатдегидрогеназы, пируваткиназы, альдолазы) в мышцах и печени радужной форели *Oncorhynchus mykiss* Walb. трех размерных групп (РГ) возрастом 5, 10 и 12 месяцев при влиянии двух видов коммерческих кормов с различающимся составом. Уровни активности ферментов Г6ФДГ, 1-ГФДГ и альдолазы в печени были достоверно выше у рыб из группы «Корм №2». Выявленные различия в активности ферментов в печени рыб позволяют предположить, что корм №2 в большей степени (по сравнению с кормом №1) способствует использованию углеводов в биосинтезе липидов. Различия в активности ферментов ЦО, ЛДГ, альдолазы, Г6ФДГ и 1-ГФДГ в печени и мышцах рыб в зависимости от месяца сбора проб и принадлежности к размерной группе связаны, вероятнее всего, с перестройками в метаболизме рыб по мере увеличения массы в сторону генеративного обмена.

Ключевые слова: радужная форель, энергетический обмен, активность ферментов, состав корма
DOI: 10.31857/S1026347024060038, **EDN:** ukxmgf

Наиболее важной характеристикой организма рыб, которая определяет состояние отдельной особи и популяции в целом (как в естественной среде, так и в аквакультуре), является их рост. Для оценки темпов роста используют линейно-весовые показатели, но для понимания механизмов влияния внешних факторов важно оценить пути регуляции роста на уровне метаболизма и распределение энергетических ресурсов между жизненно важными процессами в организме рыб. Важнейшим метаболическим фактором, определяющим процессы роста и развития рыб, является уровень энергетического обмена. Достаточный уровень образования АТФ определяет активный рост и развитие организма рыб, особенно в период раннего онтогенеза и в первые годы жизни, когда требуются большие энергетические затраты на синтез структурных, функциональных и запасных соединений (Озернюк, 1985). В качестве индикаторов интенсивности биохимических процессов в клетке, связанных с аэробным и анаэробным

генерированием энергии, а также синтезом различных промежуточных соединений, выступают ключевые ферменты энергетического и углеводного метаболизма. Основываясь на анализе их активности, можно судить о функционировании органов рыб и особенностях метаболизма, обеспечивающих рост и адаптацию к различным факторам среды (Somero, Childress, 1980; Gauthier *et al.*, 2008; Чурова и др., 2015).

Важным фактором, который влияет на уровень энергетического обмена (перераспределение энергетических субстратов), является состав пищи, соотношение белков, жиров и углеводов в ней (Talukdar *et al.*, 2019). Белок является наиболее предпочтительным питательным веществом в рационе рыб, поскольку служит главным строительным материалом для мышечных тканей. Липиды играют важную роль в энергетическом и пластическом обмене, служат предшественниками стероидных гормонов и эйкозаноидов. Достаточный уровень углеводов в составе корма снижает катаболизм

белка в энергетическом обмене и способствует использованию белка пищи в биосинтезе, обеспечивая тем самым увеличение мышечного роста. На примере радужной форели было показано, что отсутствие углеводов усиливает распад и снижает скорость синтеза белка в белых мышцах (Pegagon, 1999). В этом случае важная часть аминокислот, высвобождаемая в результате переваривания пищевых белков и распада мышечных белков, будет использоваться для целей глюконеогенеза, а не для синтеза белка и роста. Из-за ограниченного доступа к углеводам в природе пищеварительная система рыб приспособилась к использованию белков и липидов в качестве главного источника энергии. При этом степень использования углеводов у разных видов различается и зависит от источника углеводов и их состава, влияющих на чувствительность к ферментативным реакциям для полного переваривания (Yengkokram *et al.*, 2007; Kumar *et al.*, 2010). Поскольку рыба обычно потребляет мало углеводов, их избыток может привести к стрессу и подавлению иммунитета (Small, Soares, 1999), поэтому уровень углеводов в рационе должен находиться в пределах нормы. На примере плотоядной рыбы дорады (*Sparus aurata*) показано, что питание высокоуглеводной диетой с низким содержанием белка стимулирует в печени активность ключевых ферментов гликолиза и пентозофосфатного пути, что способствует использованию высокоуглеводной диеты и экономии белка (Meton *et al.*, 1999).

Выбор качественного сбалансированного корма является одной из важных задач в аквакультуре. При выборе корма с целью достижения максимального роста искусственно выращиваемых рыб необходимо понимание влияния состава корма (применяемых источников основных нутриентов) на метаболические пути в органах рыб. Цель данного исследования – проанализировать активность ферментов энергетического и углеводного обмена (цитохром *c* оксидазы, лактатдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, 1-глицерофосфатдегидрогеназы, пируваткиназы и альдолазы) в мышцах и печени особей радужной форели *Oncorhynchus mykiss* Walb., выращиваемых с использованием двух видов коммерческих кормов с различающимся составом. Дополнительно были поставлены следующие задачи: изучить активность ферментов в органах рыб в зависимости от времени суток после кормления, месяца исследования и размеров рыб.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на радужной форели, выращиваемой на предприятии в Северной Осетии – Алании. Данный регион обладает характерными

экологическими особенностями, отличающими его от северных регионов. Температура питающих бассейнов подземных вод меняется в узком диапазоне (8°–18°C) без выраженного зимнего периода, позволяя рыбе питаться и расти круглый год. Также следует отметить высокие температуры воздуха летом, световой режим без периода «белых ночей», относительно высокие показатели рН, минерализации воды и степени насыщения кислородом. Исследовали молодь форели из трех размерных групп (РГ) возрастом 5, 10 и 12 месяцев, со средней массой на начало эксперимента 192.2 ± 11.8 , 425.5 ± 23.7 и 1380.1 ± 31.0 г соответственно. Эксперимент длился два месяца с августа по октябрь. В этот период кормление проводили 4 раза в день, используя два вида коммерческих кормов разных производителей (корм №1 и №2). Согласно составу, заявленному производителями, соотношение сырых протеина–жира–клетчатки в кормах №1 и №2 составило (40–43)–(24–27)–(1–2.9) % и 45–25–2.8 % соответственно. В составе используемых кормов из общих ингредиентов указаны рыбная мука, рыбий жир, рапсовое масло, соевый жмых, пшеница, гемоглобиновая мука и бобовые (для корма №1 расписанные как гуаровая белковая мука, горох, кормовые бобы). Помимо этого, в корм №1 входит кровяная мука, в корм №2 – птичий жир, кукурузный глютен, льняное масло и гидролизованная перьевая мука. Оба корма содержат витаминно-минеральный премикс (для корма №1 указаны витамины А, D3 и Е, для корма №2 – Е). До начала эксперимента рыбы питались кормом №2. Пробы для анализа собирали через 30 мин и через 24 ч после последнего кормления на 30 и 60 день эксперимента. Линейно-весовые характеристики рыб, взятых для анализа, представлены в таблице 1.

Активность ферментов определяли в пробах мышц и печени методом спектрофотометрии (CLARIOSTAR, BMG Labtech). В мышцах определяли активность цитохром *c* оксидазы (ЦО, КФ 1.9.3.1), лактатдегидрогеназы (ЛДГ, КФ 1.1.1.27), пируваткиназы (ПК, КФ 2.7.1.40) и альдолазы (КФ 4.1.2.13), в печени – активность ЦО, ЛДГ, ПК, альдолазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ, КФ 1.1.1.49) и 1-глицерофосфатдегидрогеназы (1-ГФДГ, КФ 1.1.1.8). Образцы тканей гомогенизировали в 0.05 М TrisHCl-буфере (рН = 7.5). Активность ЦО определяли по увеличению окисленного цитохрома *c* (Smith, 1955). Активность ЛДГ, Г6ФДГ и 1-ГФДГ определяли по общепринятым методикам, измеряя количества восстановленных НАД и НАДФ (Кочетов, 1980). Активность ПК определяли по количеству образовавшегося НАД в системе, содержащей НАДН и ЛДГ (Bücher, 1955). Активность альдолазы измеряли колориметрическим методом, определяющим динитрофенилгидразоны свободных триоз (Колб, Камышников, 1976). Активность ферментов выражали

Таблица 1. Линейно-весовые характеристики рыб, взятых для анализа

Размерная группа (РГ)	Группа	30 дней		60 дней	
		30 мин	24 ч	30 мин	24 ч
Масса, г					
РГ1	Корм 1	282.0 ± 6.7	307.0 ± 10.8	480.8 ± 16.5	423.6 ± 9.1
	Корм 2	249.1 ± 10.1	252.0 ± 16.7	402.8 ± 12.6	483.6 ± 31.0
РГ2	Корм 1	677.4 ± 30.2	650.1 ± 46.1	928.9 ± 40.8	981.8 ± 11.2
	Корм 2	622.2 ± 12.4	648.3 ± 38.8	927.0 ± 29.3	988.5 ± 54.7
РГ3	Корм 1	1724.8 ± 23.4	1656.7 ± 30.2	2105.5 ± 44.2	2239.1 ± 48.9
	Корм 2	1756.0 ± 11.5	1563.1 ± 34.5	2405.7 ± 36.4	2292.5 ± 63.4
Длина, см					
РГ1	Корм 1	27.2 ± 4.1	27.8 ± 2.5	30.9 ± 2.9	30.6 ± 2.9
	Корм 2	26.0 ± 3.5	25.8 ± 4.4	30.4 ± 3.3	31.8 ± 3.4
РГ2	Корм 1	38.4 ± 4.7	37.2 ± 4.8	40.6 ± 4.7	41.4 ± 4.1
	Корм 2	36.4 ± 3.3	36.6 ± 4.1	39.4 ± 2.9	40.6 ± 3.9
РГ3	Корм 1	48.6 ± 3.6	48.8 ± 7.5	52.0 ± 2.7	52.8 ± 4.1
	Корм 2	49.2 ± 4.1	46.4 ± 2.6	52.4 ± 3.5	52.0 ± 2.7

в мкмоль/мин/мг белка. Концентрацию белка определяли по методу Брэдфорд (Bradford, 1976).

Статистический анализ полученных результатов проводили общепринятыми методами вариационной статистики. Данные были проверены на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро–Уилкса. Применен многофакторный дисперсионный анализ MANOVA для оценки степени влияния факторов (вид корма, размерная группа, время и дата сбора проб) на активность исследуемых ферментов. Для сравнения средних значений в выборках по исследуемым показателям применяли тест Краскела–Уоллиса, после чего выборки сравнивали с использованием критерия Манна–Уитни. Различия считались значимыми при $p < 0.05$. Все данные представлены как $M \pm SE$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Активность ферментов в печени

Межгрупповые различия. Выявлены различия в активности ферментов в печени особой форели между группами, различающимися по используемому корму (рис. 1–3). Для разных размерных групп эти отличия имели свои особенности.

Для размерной группы 1 были установлены различия в активности ферментов ЛДГ, Г6ФДГ, 1-ГФДГ, пируваткиназы, альдолазы уже через 30 дней исследования (рис. 1). При этом активность Г6ФДГ, 1-ГФДГ была выше у рыб из группы «Корм №2» как через 30 минут после кормления, так и через сутки ($p < 0.05$, рис. 1 в, г). Активность ЛДГ, альдолазы и пируваткиназы также была выше в группе «Корм №2», при этом различия по ЛДГ

и альдолазе были зафиксированы через 30 минут после кормления ($p < 0.05$, рис. 1б, е), а для пируваткиназы – через сутки ($p < 0.05$, рис. 1д). Достоверных различий в активности ЦО не было выявлено (рис. 1а). Через 60 дней эксперимента активность 1-ГФДГ была выше у рыб в группе «Корм №2» через сутки после кормления ($p < 0.05$, рис. 1г), а активность Г6ФДГ имела тенденцию к повышенным значениям у рыб из этой группы (рис. 1в). Ферменты Г6ФДГ и 1-ГФДГ играют немаловажную роль в метаболических процессах рыб. Активность данных ферментов отражает связь углеводного обмена с обменом липидов. Г6ФДГ является ключевым ферментом пентозофосфатного пути (ПФП). В ходе данного процесса происходит образование пентоз и генерируется НАДФН – восстановитель, необходимый для реакций биосинтеза липидов (Tian *et al.*, 1998). Различия в активности Г6ФДГ могут свидетельствовать об усиленном синтезе эквивалентов НАДФН в группе «Корм №2», использующихся в дальнейших путях биосинтеза, в особенности в липогенезе (Meton *et al.*, 1999, Gauthier *et al.*, 2008). В исследовании Talukdar с соавт. (2019) было показано, что посредством изменения уровня углеводов в корме можно оказывать влияние на миогенез и липогенез. Так, при использовании желатинизированного крахмала в составе корма на уровне 35% наблюдались высокие темпы роста у *Clarias batrachus* и увеличивался уровень экспрессии ответственных за рост скелетных мышц генов (*MyoD* и *Myf5*). В этом же исследовании содержание крахмала в корме в количестве 45% приводило к снижению темпов роста мышц и повышению уровня синтеза липидов. При этом было показано, что активность Г6ФДГ положительно коррелирует с количественным содержанием углеводов в пище (Talukdar *et al.*, 2019).

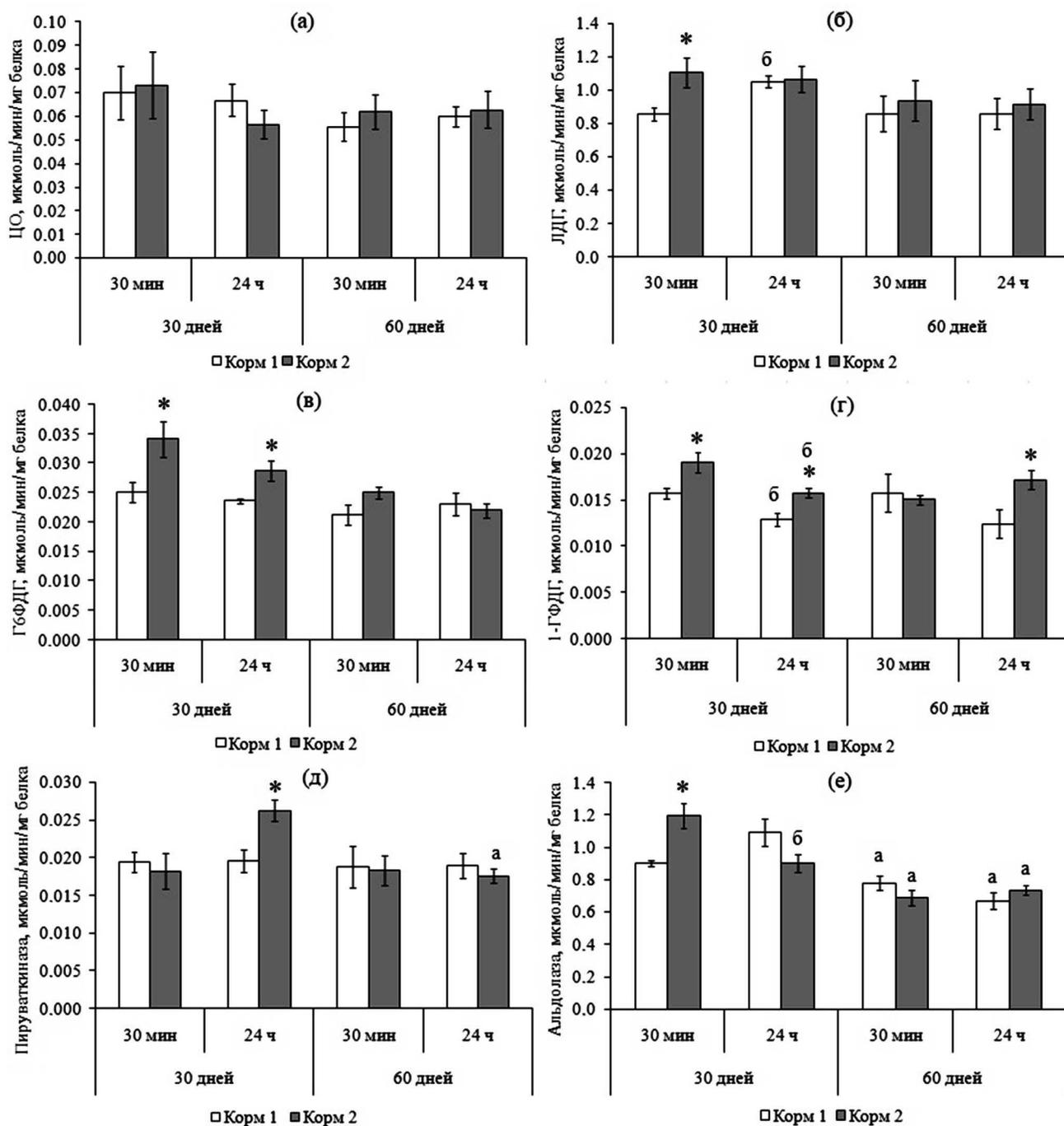


Рис. 1. Активность ферментов: (а) АСТ, (б) АЛТ, (в) Г6ФДГ, (г) 1-ГФДГ, (д) ПК, (е) альдолазы ($\mu\text{кмоль}/\text{мин}/\text{мг}$ белка) в печени особей форели из РГ1, питавшихся разными кормами. * – различия между группами «Корм №1» и «Корм №2» достоверны, а – различия между месяцами (30 дней и 60 дней) в соответствующей группе достоверны, б – различия по времени суток в соответствующей группе достоверны, $p < 0.05$.

В других исследованиях также было показано, что у радужной форели, дорады и некоторых других видов рыб активность этого фермента растет с увеличением количества углеводов в корме, снижается при голодании и коррелирует с размером

рациона (Bastrop *et al.*, 1992; Barroso *et al.*, 1993; Meton *et al.*, 1999). Фермент 1-ГФДГ является катализатором реакции, в ходе которой образуется предшественник структурных и запасных липидов – 1-глицерофосфат (Harmon, Sheridan, 1992;

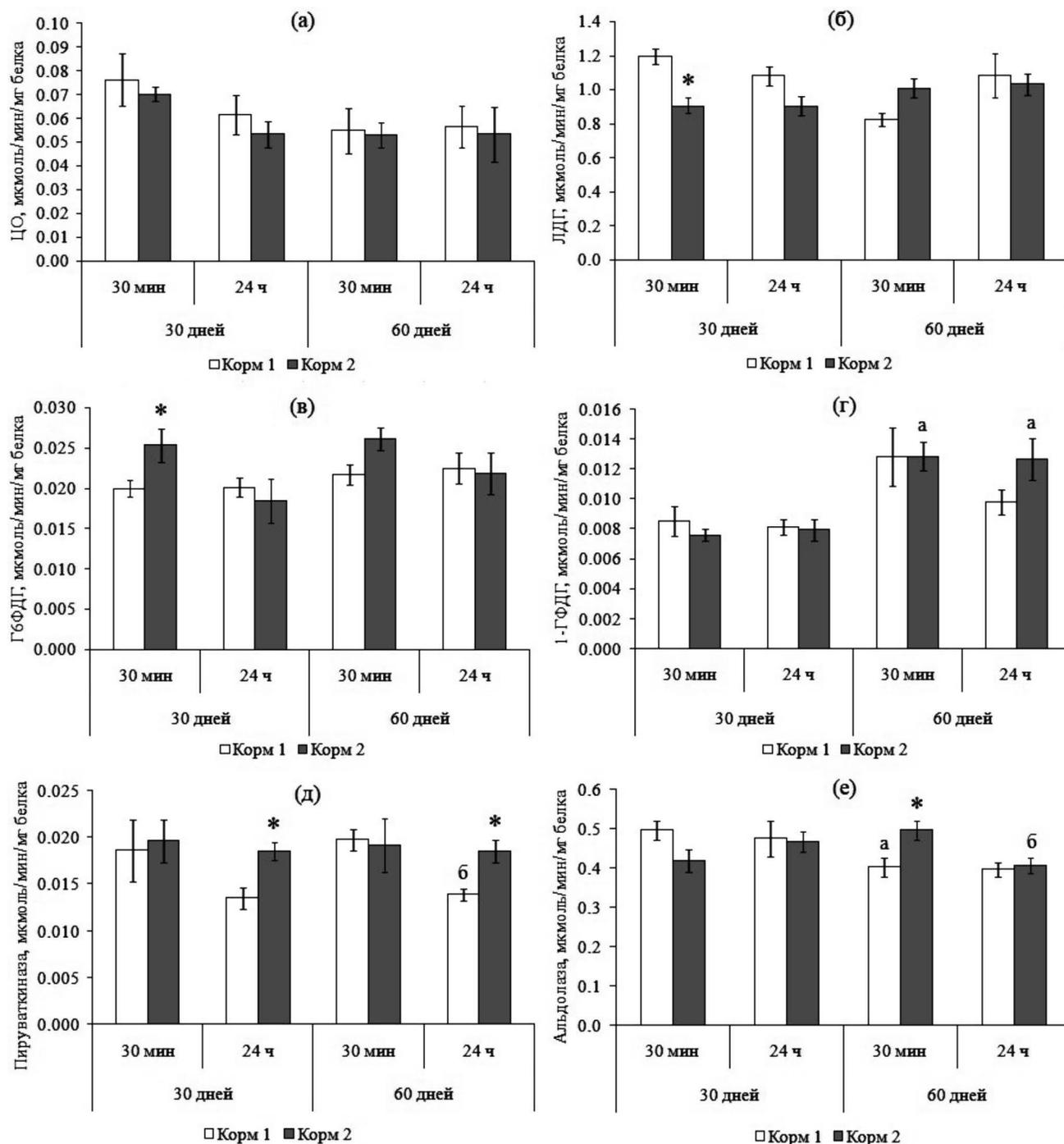


Рис. 2. Активность ферментов: (а) ЦО, (б) ЛДГ, (в) Г6ФДГ, (г) 1-ГФДГ, (д) ПК, (е) альдозаза (мкмоль/мин/мг белка) в печени особей форели из РГ2, питавшихся разными кормами. * – различия между группами «Корм №1» и «Корм №2» достоверны, а – различия между месяцами (30 дней и 60 дней) в соответствующей группе достоверны, б – различия по времени суток в соответствующей группе достоверны, $p < 0.05$.

Treberg *et al.*, 2002). Высокая активность этого фермента в печени рыб при использовании корма №2, вероятно, указывает на высокий уровень использования продуктов распада углеводов в липидном обмене. Таким образом, высокий

уровень активности Г6ФДГ и 1-ГФДГ у рыб, питавшихся кормом №2, характеризует более интенсивное использование углеводов в этой группе и направленность их применения в процессах биосинтеза липидов.

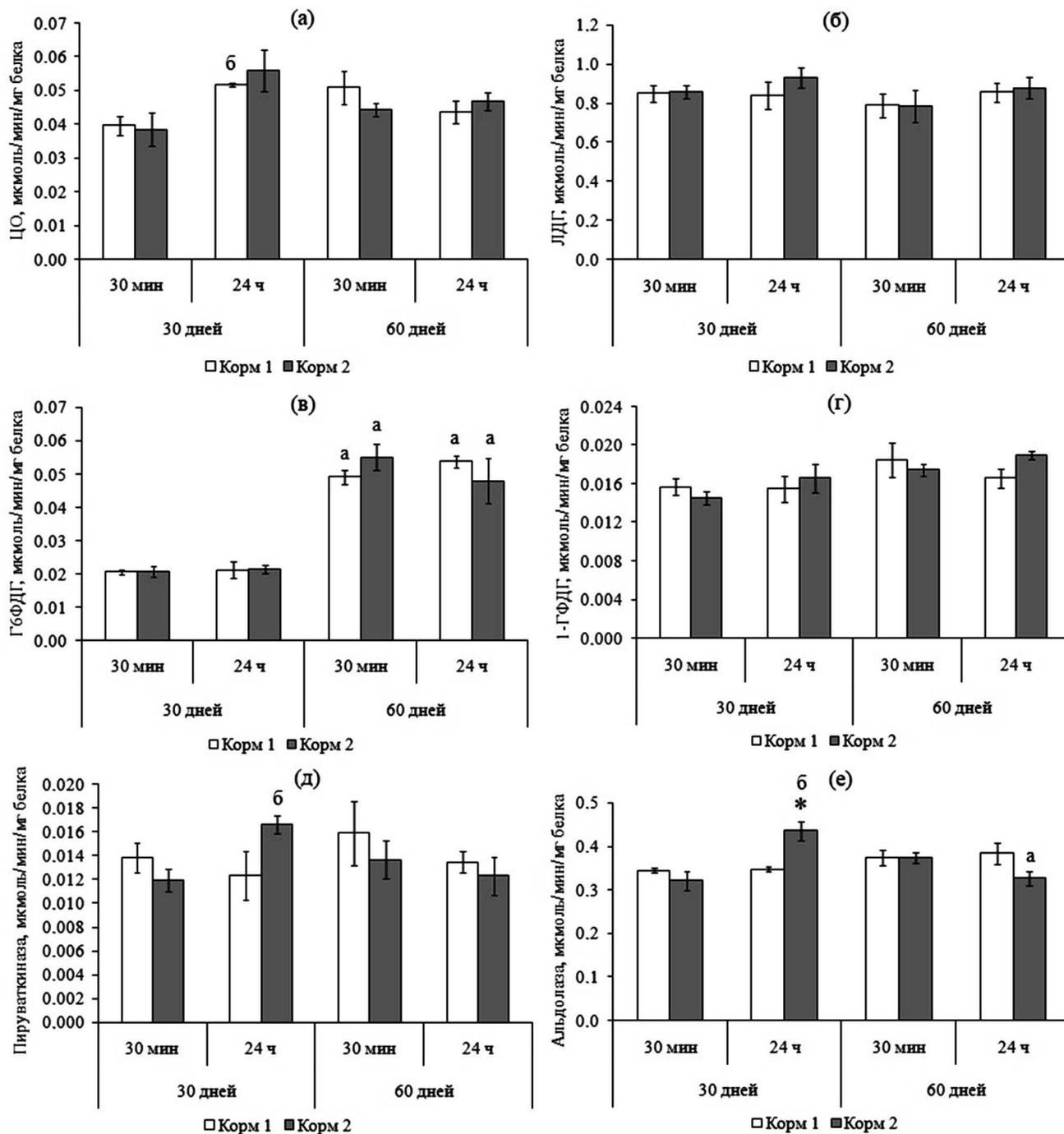


Рис. 3. Активность ферментов: (а) ЦО, (б) ЛДГ, (в) Г6ФДГ, (г) 1-ГФДГ, (д) ПК, (е) альдозаза (мкмоль/мин/мг белка) в печени особей форели из РГЗ, питавшихся разными кормами. * – различия между группами «Корм №1» и «Корм №2» достоверны, а – различия между месяцами (30 дней и 60 дней) в соответствующей группе достоверны, б – различия по времени суток в соответствующей группе достоверны, $p < 0.05$.

Аэробный синтез АТФ является важнейшим процессом образования энергии, обуславливая активный рост организма, особенно на ранних стадиях развития. ЦО является ключевым ферментом дыхательной цепи митохондрий, характеризующим

интенсивность аэробного метаболизма (Gauthier *et al.*, 2008). Согласно результатам, различий в активности ЦО в печени а, следовательно, и в уровне аэробного синтеза АТФ, между группами «Корм №1» и «Корм №2» не установлено (рис. 1а).

Пируваткиназа – фермент гликолиза, катализирующий реакцию превращения фосфоенолпирувата в пируват. Активность пируваткиназы может использоваться как индикатор интенсивности образования пирувата, который используется в аэробном синтезе АТФ, а также в качестве предшественника для синтеза жирных кислот (Meton *et al.*, 1999). Согласно результатам, активность пируваткиназы аналогично уровням Г6ФДГ и 1-ГФДГ была выше в группе «Корм №2» ($p < 0.05$, рис. 1д). При этом отсутствие различий в уровне активности ЦО позволяет предположить, что более высокая интенсивность образования пирувата у рыб, питавшихся кормом №2, может быть связана с повышением синтеза липидов по сравнению с рыбами из группы «Корм №1».

ЛДГ – ключевой фермент анаэробного гликолиза, катализирующий взаимопревращение пирувата в лактат (Somero, Childress, 1980). Альдолаза – фермент, катализирующий четвертую обратимую реакцию гликолиза с образованием дигидроксиацетонфосфата и глицеральдегид-3-фосфата, участвующих в дальнейших метаболических реакциях (Llewellyn, 1998). В печени активность ферментов ЛДГ и альдолазы преимущественно характеризует уровень глюконеогенеза (ресинтеза глюкозы из неуглеводных фрагментов) (Llewellyn, 1998; Konradt, Braunbeck, 2001; Johansen, Overturf, 2006; Enyu, Shu-Chien, 2011). Согласно полученным данным, значения активности ЛДГ и альдолазы могут указывать на более высокий уровень протекания глюконеогенеза в печени у рыб из группы «Корм №2» через 30 минут после последнего кормления на 30 день исследования ($p < 0.05$, рис. 1б, е). Выявленные различия в активности этих ферментов на следующие сутки не сохранялись.

В печени рыб из размерной группы 2 через 30 дней исследования были установлены различия в активности ЛДГ, Г6ФДГ, пируваткиназы (рис. 2). Активность ЛДГ была выше у форели в группе «Корм №1» через 30 минут после кормления ($p < 0.05$, рис. 2б). Активность ферментов Г6ФДГ и пируваткиназы была выше у рыб «Корм №2», при этом в случае Г6ФДГ различия были через 30 минут после кормления ($p < 0.05$, рис. 2в), а в случае пируваткиназы – через сутки ($p < 0.05$, рис. 2д). Через 60 дней эксперимента наблюдались различия в активности альдолазы и пируваткиназы. Значения активностей этих ферментов были выше в группе «Корм №2», при этом различия в активности альдолазы были выявлены через 30 минут после кормления ($p < 0.05$, рис. 2е), а различия в активности пируваткиназы – через сутки ($p < 0.05$, рис. 2д). Таким образом, для рыб из этой размерной группы, так же как и для особей из РГ1, различия между группами касались путей использования углеводов в последующем синтезе липидов, который был выше при применении корма №2.

Следует отметить, что основные межгрупповые различия были зафиксированы в РГ1 и РГ2. В РГ3 выявлены различия только в активности альдолазы, которая, как и в первых двух размерных группах, была выше у рыб, питавшихся кормом №2 ($p < 0.05$, рис. 3е). Других различий в РГ3 между группами по корму не было выявлено.

Таким образом, различия в активности ферментов печени могут указывать на то, что рыбы разных размерных групп (возраста) по-разному реагируют на исследуемые корма и содержащийся в них набор питательных веществ.

Динамика изменения активности ферментов. Что касается динамики изменения активности исследуемых ферментов в печени, стабильных различий, наблюдающихся и повторяющихся во всех размерных и экспериментальных группах и на протяжении двух месяцев исследования, между временем сбора проб через 30 мин и 24 ч после кормления установлено не было (рис. 1–3). При этом необходимо отметить, что разница в активности пируваткиназы между выборками особей из исследуемых групп «Корм №1» и «Корм №2», установленная для размерных групп РГ1 через месяц и РГ2 – в первый и во второй месяц, наблюдается на следующие сутки после кормления. Кроме того, изменения в активности ПК за сутки были разнонаправленными в экспериментальных группах, питающихся разными кормами. Так, на 30 день эксперимента через 24 часа после кормления у рыб, питающихся кормом №1, активность ПК либо не изменялась как в РГ1 и РГ3, либо уменьшалась как в РГ2 ($p < 0.05$, рис. 2д), а у рыб из группы «Корм №2» либо не изменялась как в РГ2, либо увеличивалась как в РГ3 ($p < 0.05$ рис. 3д) и РГ1. Таким образом, в данных экспериментальных условиях для активности пируваткиназной реакции, вероятно, имеет значение период времени после последнего кормления рыб, а именно их суточное голодание.

Характер различий в уровне активности ферментов на протяжении эксперимента (между первым и вторым месяцем исследования) зависел от размеров рыб. У форели из РГ1 выявлены различия в активности альдолазы между месяцами отбора проб ($p < 0.05$, рис. 1е). Особи форели на 60 день эксперимента из обеих экспериментальных групп отличались более низким уровнем альдолазы, что, вероятно, указывает на снижение уровня использования углеводов и интенсивности глюконеогенеза (Llewellyn *et al.*, 1998). Показано, что на второй месяц эксперимента значения активности 1-ГФДГ у рыб в группе «Корм №2» из РГ2 выросли по сравнению с особями, отобранными в первый месяц исследования (рис. 2г). У рыб из РГ3 активность Г6ФДГ различалась в зависимости от месяца эксперимента (рис. 3в): установлен резкий скачок

активности этого фермента у форели на 60 день эксперимента, что, скорее всего, связано с возрастными особенностями рыб.

Возрастные различия (различия между размерными группами). Установлены различия в активности ферментов в печени особей форели разных размерных групп (РГ) (рис. 1–3). Активность ЦО и пируваткиназы была ниже в РГ3 относительно первых двух размерных групп. Активность альдолазы у рыб была выше в РГ1 по сравнению с РГ2 и РГ3, значения этого фермента у особей в РГ3 были самыми низкими. Активность 1-ГФДГ у рыб была ниже в РГ2 относительно РГ1 и РГ3. Различия в активности исследуемых ферментов у рыб разных размерных групп могут быть обусловлены их созреванием и, соответственно, увеличением

размеров, что сопровождается метаболическими перестройками, направленными на усиление генеративного обмена в процессе роста рыб (Чурова и др., 2010, Soengas *et al.*, 1993).

Активность ферментов в мышцах

При исследовании активности ферментов ЦО, ЛДГ, альдолазы и пируваткиназы в мышцах особей форели стабильных различий между группами «Корм №1» и «Корм №2» не было выявлено (табл. 2).

Уровень активности ЛДГ в мышцах форели во всех размерных группах, как правило, увеличивался на втором месяце исследования (относительно первого месяца) (табл. 2), что может

Таблица 2. Активность ферментов в мышцах особей форели из разных размерных групп, питавшихся разными кормами (мкмоль/мин/мг белка)

Показатель	Группа	30 дней		60 дней	
		30 мин	24 ч	30 мин	24 ч
Размерная группа 1 (РГ1)					
ЦО	Корм 1	0.010 ± 0.001	0.010 ± 0.001	0.012 ± 0.003	0.010 ± 0.001
	Корм 2	0.012 ± 0.001	0.009 ± 0.001	0.013 ± 0.003	0.009 ± 0.001
ЛДГ	Корм 1	2.26 ± 0.23	1.86 ± 0.19	3.81 ± 0.33 ^a	3.67 ± 0.11 ^a
	Корм 2	2.35 ± 0.22	1.80 ± 0.17	3.69 ± 0.20 ^a	4.18 ± 0.16 ^{*a}
Альдолаза	Корм 1	0.47 ± 0.02	0.52 ± 0.03	0.42 ± 0.03	0.39 ± 0.04
	Корм 2	0.48 ± 0.04	0.46 ± 0.04	0.46 ± 0.03	0.40 ± 0.03
ПК	Корм 1	2.23 ± 0.18	2.42 ± 0.12	2.22 ± 0.09	1.83 ± 0.17
	Корм 2	2.72 ± 0.13	3.47 ± 0.52	1.78 ± 0.20 ^a	2.01 ± 0.12
Размерная группа 2 (РГ2)					
ЦО	Корм 1	0.010 ± 0.002	0.009 ± 0.001	0.013 ± 0.004	0.015 ± 0.003
	Корм 2	0.009 ± 0.001	0.014 ± 0.001 ^{*b}	0.016 ± 0.003	0.014 ± 0.002
ЛДГ	Корм 1	2.50 ± 0.26	2.65 ± 0.35	3.66 ± 0.17 ^a	3.75 ± 0.25 ^a
	Корм 2	2.58 ± 0.26	2.98 ± 0.17	4.43 ± 0.41 ^a	3.56 ± 0.38
Альдолаза	Корм 1	0.41 ± 0.08	0.32 ± 0.03	0.57 ± 0.08	0.40 ± 0.04
	Корм 2	0.41 ± 0.04	0.34 ± 0.04	0.41 ± 0.03	0.32 ± 0.04
ПК	Корм 1	2.79 ± 0.19	2.87 ± 0.31	3.59 ± 0.26 ^a	3.36 ± 0.43
	Корм 2	2.96 ± 0.07	3.24 ± 0.26	3.21 ± 0.28	3.34 ± 0.35
Размерная группа 3 (РГ3)					
ЦО	Корм 1	0.019 ± 0.003	0.013 ± 0.001	0.014 ± 0.002	0.013 ± 0.001
	Корм 2	0.013 ± 0.002	0.011 ± 0.001	0.013 ± 0.001	0.013 ± 0.002
ЛДГ	Корм 1	4.72 ± 0.31	4.18 ± 0.15	6.04 ± 0.36	6.26 ± 0.32 ^a
	Корм 2	5.15 ± 0.43	4.46 ± 0.40	6.40 ± 0.36	7.27 ± 0.73 ^a
Альдолаза	Корм 1	0.38 ± 0.04	0.40 ± 0.02	0.38 ± 0.01	0.37 ± 0.05
	Корм 2	0.39 ± 0.02	0.47 ± 0.02	0.28 ± 0.03 ^{*a}	0.35 ± 0.04
ПК	Корм 1	4.35 ± 0.29	4.36 ± 0.21	5.45 ± 0.33 ^a	4.38 ± 0.46
	Корм 2	4.77 ± 0.39	4.76 ± 0.34	4.61 ± 0.42	4.20 ± 0.47

Примечание. * – различия между группами «Корм №1» и «Корм №2» достоверны, ^a – различия между месяцами (30 дней и 60 дней) в соответствующей группе достоверны, ^b – различия по времени суток в соответствующей группе достоверны, $p < 0.05$.

указывать на увеличение роли анаэробного синтеза АТФ в мышцах (Voeuf, Le Bail, 1999). Анаэробный гликолиз, как известно, играет главную роль при высокой физической активности особей, характеризующейся быстрыми сокращениями белых мышц (Ellerby *et al.*, 2001). Наблюдаемое повышение активности ЛДГ в мышцах форели к концу эксперимента может быть связано с необходимостью в большем количестве энергии для плавательной рывковой активности рыб по мере увеличения их размеров (Burness *et al.*, 1999; Чурова и др., 2015).

Установлены различия в активности ферментов в мышцах особей форели разных размерных групп. Самый высокий уровень активности ЛДГ и пируваткиназы отмечен в мышцах рыб из РГЗ (табл. 2). Таким образом, активность данных ферментов была тем выше, чем крупнее особи, что, вероятно, объясняется интенсификацией анаэробного метаболизма в связи с необходимостью более высокого уровня образования АТФ для энергообеспечения физической активности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ уровня активности ферментов энергетического и углеводного обмена в печени позволил оценить влияние кормов с отличающимся составом их ингредиентов на направление метаболических путей. Установлен повышенный уровень активности ферментов Г6ФДГ и 1-ГФДГ в печени у рыб из группы «Корм №2» по сравнению с группой «Корм 1», что указывает на увеличение степени использования углеводов в процессах биосинтеза липидов. Эти результаты позволяют предположить, что, несмотря на то что, согласно данным производителей, процент содержания БЖУ в кормах сходный, прежде всего имеют значение состав и количественное соотношение ингредиентов, и, главным образом, источник происхождения белков, жиров и углеводов (животного и растительного).

В первый год развития наиболее чувствительны к использованию кормов отличающегося состава рыбы, меньшие по массе (с массой в начале исследования 200 и 500 грамм). Время отбора проб, а именно наличие суточного голодания рыб, на активность исследуемых ферментов в мышцах и печени не оказывало влияния, за исключением изменения активности пируваткиназы в печени. Различия в активности ферментов ЦО, ЛДГ, альдолазы, Г6ФДГ и 1-ГФДГ в печени и мышцах рыб в зависимости от месяца сбора проб и принадлежности к размерной группе связаны, вероятнее всего, с перестройками в метаболизме в сторону генеративного обмена по мере увеличения их массы.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа финансировалась из средств федерального бюджета, выделенных на выполнение темы государственного задания КарНЦ РАН FMEN-2022-0006. 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, протокол № 8 от 12.12.2023.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Колб В.Г., Камышников В.С. Клиническая биохимия // Минск: Изд-во Беларусь. 1976. 311 с.
- Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии // М.: Высш. шк. 1980. 272 с.
- Озернюк Н.Д. Энергетический обмен в раннем онтогенезе рыб // М.: Наука. 1985. 175 с.
- Чурова М.В., Мещерякова О.В., Веселов А.Е., Немова Н.Н. Активность ферментов энергетического и углеводного обмена и уровень некоторых молекулярно-генетических показателей у молоди лосося (*Salmo salar* L.), различающейся возрастом и массой // Онтогенез. 2015. Т. 46. № 5. Р. 304–312. <https://doi.org/10.1134/S1062360415050021>
- Чурова М.В., Мещерякова О.В., Немова Н.Н., Шатуновский М.И. Соотношение роста и некоторых биохимических показателей рыб на примере микижи *Parasalmo mykiss* Walb. // Известия РАН. Сер. Биол. 2010. № 3. С. 289–299.
- Barroso J.B., Garcia-Salguero L., Peragon J., de la Higuera M., Lupiañez J.A. Effects of long-term starvation on the NADPH production systems in several different tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // Paris: INRA. 1993. P. 333–338.
- Bastrop R., Jurss K., Wacke R. Biochemical parameters as a measure of food availability and growth in immature rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // Comparative Biochemistry and Physiology. 1992. V. 102. P. 151–161. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(92\)90028-0](https://doi.org/10.1016/0300-9629(92)90028-0)

- Boeuf G., Le Bail P.Y.* Does light have an influence on fish growth? // *Aquaculture*. 1999. V. 177. № 1–4. P. 129–152. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00074-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00074-5)
- Bradford M.M.* Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem.* 1976. V. 72. № 1–2. P. 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Bücher T., Pfeleiderer G.* Pyruvate kinase from muscle // *Methods in Enzymology*. 1955. V. 1. P. 345–440.
- Burness G.P., Leary S.C., Hochachka P.W., Moyes C.D.* Allometric scaling of RNA, DNA, and enzyme levels in fish muscle // *Am. J. Physiol.* 1999. V. 277. P. R1164–R1170. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1999.277.4.R1164>
- Ellerby D.J., Altringham J.D.* Spatial variation in fast muscle function of the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* during fast-starts and sprinting // *J. Exp. Biol.* 2001. V. 204. P. 2239–2250. <https://doi.org/10.1242/jeb.204.13.2239>
- Enyu Y.-L., Shu-Chien A.C.* Proteomics analysis of mitochondrial extract from liver of female zebrafish undergoing starvation and refeeding // *Aquacult. Nutr.* 2011. V. 17. № 2. P. e413–e423. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2010.00776.x>
- 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. V. 151. P. 526–532. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2008.07.010>
- Harmon J.S., Sheridan M.A.* Glucose-stimulated lipolysis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver // *J. Fish Physiol. Biochem.* 1992. V. 10. P. 189–199. <https://doi.org/10.1007/bf00004513>
- Johansen K.A., Overturf K.* Alterations in expression of genes associated with muscle metabolism and growth during nutritional restriction and refeeding in rainbow trout // *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 2006. V. 144. P. 119–127. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2006.02.001>
- Konradt J., Braunbeck T.* Alterations of selected metabolic enzymes in fish following longterm exposure to contaminated streams // *J. Aquat. Ecosystem Stress Recovery*. 2001. V. 8. P. 299–318. <https://doi.org/10.1023/a:1012928914322>
- Kumar V., Sahu N.P., Pal A.K., Kumar S., Sinha A.K., Ranjan J., Baruah K.* Modulation of key enzymes of glycolysis, gluconeogenesis, amino acid catabolism, and TCA cycle of the tropical freshwater fish *Labeo rohita* fed gelatinized and non-gelatinized starch diet // *Fish Physiology and Biochemistry*. 2010. V. 36. P. 491–499. <https://doi.org/10.1007/s10695-009-9319-5>
- Llewellyn L., Sweeney G.E., Ramsurn V.P., Rogers S.A., Wigham T.* Cloning and unusual expression profile of the aldolase B gene from Atlantic salmon // *BBA Gene Structure and Expression*. 1998. V. 1443. № 3. P. 375–380. [https://doi.org/10.1016/S0167-4781\(98\)00229-2](https://doi.org/10.1016/S0167-4781(98)00229-2)
- Meton I., Mediavilla D., Caseras A., Canto E., Fernandez F., Baanante I.V.* 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 gilthead sea bream (*Sparus aurata*) // *Br. J. Nutr.* 1999. V. 82. P. 223–232. <https://doi.org/10.1017/S0007114599001403>
- Peragon J., Barroso J.B., Garcia-Salguero L., de la Higuera M., Lupianez J.A.* Carbohydrates affect protein-turnover rates, growth, and nucleic acid content in the white muscle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Aquaculture*. 1999. V. 179. P. 425–437. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00176-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00176-3)
- Small B.C., Soares J.H.Jr.* Effect of dietary carbohydrate on growth, glucose tolerance and liver composition of juveniles striped bass // *North American Journal of Aquaculture*. 1999. V. 61. P. 286–292. [https://doi.org/10.1577/1548-8454\(1999\)061%3C0286:EODCOG%3E2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8454(1999)061%3C0286:EODCOG%3E2.0.CO;2)
- Smith L.* Spectrophotometric assay of cytochrome C oxidase // *Methods in Biochem. Analysis*. 1955. V. 2. P. 427–434. <https://doi.org/10.1002/9780470110188.ch13>
- Soengas J.L., Sanmartin B., Barciela P., Aldegunde M., Rozas G.* Changes in carbohydrate metabolism related to the onset of ovarian recrudescence in domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Comp. Biochem. and Physiol. Part A: Physiology*. 1993. V. 105. P. 293–301. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(93\)90211-L](https://doi.org/10.1016/0300-9629(93)90211-L)
- Somero G.N., Childress J.J.* A violation of the metabolism-size scaling paradigm: activities of glycolytic enzymes in muscle increase in larger size fish // *Physiol. Zool.* 1980. V. 53. № 3. P. 322–337. <https://doi.org/10.1086/physzool.53.3.30155794>
- Talukdar A., Kumar S., Varghese T., Jain K.K., Sahu N.P., Sahoo S.* Feeding gelatinized carbohydrate in the diets of magur, *Clarias batrachus* (Linnaeus, 1758): Effects on growth performance, enzyme activities and expression of muscle regulatory factors // *Aquaculture Research*. 2019. V. 50. P. 765–777. <https://doi.org/10.1111/are.13933>
- Tian W.N., Braunstein L.D., Pang J., Stuhlmeier K.M., Xi Q.C., Tian X., Stanton R.C.* Importance of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity for cell growth // *J. Biol. Chem.* 1998. V. 273. P. 10609–10617. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.17.10609>
- 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. V. 132. P. 433–438. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(02\)00083-1](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(02)00083-1)
- Yengkokpam S., Sahu N.P., Pal A.K., Mukherjee S.C., Debnath D.* Gelatinized carbohydrates in the diet of *Catla catla* fingerlings: effect of levels and sources on nutrient utilization, body composition and tissue enzyme activities // *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2007. V. 20. № 1. P. 89–99. <https://doi.org/10.5713/ajas.2007.89>

**Activity of energy and carbohydrate metabolism enzymes
in Rainbow Trout fingerlings (*Oncorhynchus mykiss* Walb.)
when feeding two types of commercial feed**

**M. A. Rodin[#], M. V. Kuznetsova, M. Yu. Krupnova, A. E. Kuritsyn,
S. A. Murzina, N. N. Nemova**

*Institute of Biology is a separate division of the Federal Research Center
“Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences”, st. Pushkinskaya, 11, Petrozavodsk, 185910 Russia
[#]E-mail: mikhail.rodin.mr@yandex.ru*

We studied the activity of energy and carbohydrate metabolism enzymes (cytochrome *c* oxidase, lactate dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, 1-glycerophosphate dehydrogenase, pyruvate kinase, aldolase) in the muscles and liver of rainbow trout of three size groups aged 5, 10 and 12 months under the influence of two types of commercial feeds with different composition. The levels of activity of the enzymes G6PDH, 1-GPDH and aldolase in the liver were significantly higher in fish from the “Feed №2” group. The identified differences in the activity of enzymes in the liver of fish suggest that feed №2 to a greater extent (compared to feed №1) promotes the use of carbohydrates in lipid biosynthesis. Differences in the activity of the enzymes COX, LDH, aldolase, G6PDH and 1-GPDH in the liver and muscles of fish depending on the month of sampling and belonging to the size group are most likely associated with changes in the metabolism of fish as their weight increases towards generative metabolism.

Keywords: Rainbow Trout, energy metabolism, enzyme activity, feed composition