

Зараженность метацеркариями сем. Diplostomidae и активность пищеварительных ферментов молоди ельца сибирского *Leuciscus leuciscus baicalensis* (Dyb) в реке Каргат бассейна озера Чаны

М. М. СОЛОВЬЕВ, Е. Н. КАШИНСКАЯ, В. В. ГЛУПОВ

Институт систематики и экологии животных СО РАН
630091, Новосибирск, ул. Фрунзе, 11
E-mail: laelia_ly@inbox.ru

АННОТАЦИЯ

В 2008 и 2009 гг. на р. Каргат (бассейн оз. Чаны) проведены исследования активности кишечных пищеварительных ферментов (общей активности протеаз, α -амилазы, неспецифических эстераз и панкреатической липазы) у молоди ельца сибирского *Leuciscus leuciscus baicalensis* (Dyb), зараженной метацеркариями сем. Diplostomidae. Изучена зависимость между интенсивностью инвазии метацеркариями сем. Diplostomidae и активностью кишечных пищеварительных гидролаз. Выявлена отрицательная корреляция активности пищеварительных ферментов с интенсивностью инвазии метацеркариями как в различных отделах, так и в кишечнике в целом.

Ключевые слова: протеолитические ферменты, амилаза, пресноводные костистые рыбы, неспецифические эстеразы, липазы, питание рыб.

В процессе коэволюции паразитов и их хозяев происходит постоянное усложнение механизмов взаимоотношения в системе “паразит – хозяин”. С одной стороны, паразиту необходимо адаптироваться к хозяину для использования ресурсов его организма, с другой – хозяин вырабатывает ряд приспособлений, позволяющих избегать контакта с паразитом или элиминировать его. В результате формируется динамичная система, которая может длительно существовать в природе [1].

Паразиты могут влиять на различные физиологические системы хозяина, что приводит к изменениям различных параметров как самого организма хозяина, так и популяции хозяина в целом. Влияние паразитов может

сказаться на функционировании пищеварительной системы хозяев. Причем паразиты могут влиять как непосредственно на пищеварительную систему, если они инвазируют кишечник, так и опосредованно при поражении различных органов хозяина [2].

Известно, что елец может быть хозяином трематод из семейств Vucephalididea, Allocreadidae, Diplostomidae, Opistorchidae и др., которые способны поражать различные органы (кишечник, мышцы, глаза) рыб. Особый интерес представляют тканевые паразиты сем. Diplostomidae, способные вызывать ряд тяжелых заболеваний, особенно опасных для молоди рыб. При высокой интенсивности инвазий этот паразит может приводить к замедлению темпов роста, поражению органов зрения, искривлению позвоночника, разрушению тканей и часто к гибели молоди рыб [3]. Метацеркарии различных видов этого

Соловьев Михаил Марьянович
Кашинская Елена Николаевна
Глупов Виктор Вячеславович

семейства локализуются в глазах, мышцах и мозге рыб [4].

Ранее для разных видов пресноводных рыб показано влияние полостных и кишечных паразитов как на морфологические показатели кишечника (уменьшение числа или деградацию микроворсинок), так и на активность пищеварительных ферментов, таких как протеазы и карбогидразы [5–7]. Исследований влияния тканевых паразитов на активность пищеварительных ферментов рыб не проводилось.

Цель данной работы – выявление и оценка степени влияния паразитов сем. Diplostomidae на активность пищеварительных гидролаз, отвечающих за начальные этапы пищеварения у молоди ельца сибирского, обитающего в р. Каргат (бассейн оз. Чаны).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали: азо-казеин, фенол-метил-сульфонил-флуорид (PMSF), диметилсульфооксид (DMSO), *p*-нитрофенил-ацетат, 3,5-динитросалициловую кислоту (98 %) (Sigma), этилендиаминтетрауксусную кислоту (EDTA), *N*-(транс-эпоксисукцинил)-*L*-леуцин-4-гуанидинобутиламид (E-64), 4-нитрофенил-миристал (Fluka).

Сбор материала проводили с июля по август 2008 и 2009 гг. на р. Каргат (N 54° 37,76'; E 78° 13,07'). Работы проводились с двумя группами ельцов. К первой группе относились ельцы, пойманные в 2008 г. и помещенные в аквариумы (объемом 200 л) с проточной системой подачи речной воды (вода для предотвращения повторного заражения молоди ельца церкариями трематод пропускалась через фильтр с диаметром пор 5 мкм). Температура в аквариумах поддерживалась на уровне 22–24 °С. В течение всего времени эксперимента ельцов кормили науплиями *Artemia salina* (Linnaeus, 1758) (возраст 1 день). Перед измерением активности пищеварительных ферментов ельцов содержали в описанных условиях не менее 10 дней. Ельцов второй группы (пойманных в 2009 г.) сразу после поимки в течение 1–2 ч доставляли в лабораторию, где проводили анализ морфометрических показателей, зараженности и активности пищеварительных ферментов. Всего проанализировано 104 ельца (по 52 в 2008 и в 2009 гг.).

Морфометрическое исследование рыб включало: определение общей длины тела (L), длины тела по Смитту (l) и массы тела с внутренностями (Q). Затем проводили вскрытие и неполный паразитологический анализ компрессионным методом; исследовали жабры, глаза, мышцы, гепатопанкреас и покровы тела. Паразитологический анализ проводили с применением бинокулярного микроскопа МБС-10. Для более детального определения таксономической принадлежности гельминтов использовали световой микроскоп (ЛОМО, Россия). Кишечник до гомогенизации исследовали на наличие гельминтов под бинокуляром [8]. Видовая идентификация обнаруженных паразитов проведена по имеющимся определителям паразитов рыб [4]. Проверка таксономической принадлежности обнаруженных паразитов подтверждена Н. И. Юрловой.

Для определения активности ферментов кишечник ельцов полностью вырезали, освобождали от пищевого комка, разделяли на 3 равные по длине части и затем гомогенизировали ручным гомогенизатором в 100 мкл 0,1 М *tris*-HCl буфере (pH 8,5). После гомогенизации для разбавления гомогената добавляли 900 мкл 0,1 М *tris*-HCl буфер (pH 8,5). Гомогенаты кишечников центрифугировали при 10 000 g в течение 10 мин. Супернатант использовали для определения активности ферментов.

Суммарную активность протеиназ определяли по рекомендациям работы [9]. Инкубацию проводили с 800 мкл 0,3 % азо-казеина в 0,1 М *tris*-HCl буфере (pH 8,5) в качестве субстрата при температуре 25 °С, в течение 60 мин.

Для идентификации различных классов протеиназ использовали ингибиторный анализ с преинкубацией супернатанта с ингибитором в течение 20 мин: для первой группы рыб в 2008 г. к 100 мкл супернатанта добавляли 5 мкл ингибитора, для второй группы рыб в 2009 г. – 15 мкл. Для определения сериновых протеаз использовали PMSF (100 мМ в DMSO). Для определения металлопротеаз использовали EDTA (0,5 М в 1 М NaOH). Для определения цистеиновых протеаз использовали ингибитор E-64 (1 мМ в дистиллированной воде). После инкубации анализируемого образца с ингибиторами и субстратом реакцию останавливали добавлени-

ем 200 мкл 30 % ТХУ и оставляли на 20 мин при температуре 4 °С. Затем образец центрифугировали 10 мин при 10 000 g. После центрифугирования в 600 мкл супернатанта добавляли 300 мкл 1М NaOH. Измерение активности протеаз проводили при 440 нм на спектрофотометре Specol 21.

Активность α -амилазы (КФ 3.2.1.1) в супернатанте (использовали 50 мкл) определяли методом Бернфелда [10] с растворимым крахмалом (1 % в *tris*-HCl pH 8,5) в качестве субстрата (использовали 50 мкл). Инкубацию проводили при температуре 25 °С в течение 60 мин. Реакцию останавливали добавлением 100 мкл 3,5-динитросалициловой кислоты (1,6 %), затем смесь нагревали до 100 °С и кипятили на водяной бане в течение 10 мин. Смесь охлаждали до комнатной температуры и добавляли 1 мл дистиллированной воды. Измерение активности α -амилазы проводили при 540 нм.

Активность липазы (неспецифические липазы КФ 3.1.1) (использовали 200 мкл) определяли методом Албро с соавторами [11] с 4-нитрофенил-миристатином (0,4 мМ) в качестве субстрата в 600 мкл аммоний-бикарбонатном буфере 24 мМ (pH 8,5) с добавлением тритона X-100 (0,5 %) при температуре 25 °С в течение 40 мин. Измерение активности липазы проводили при 405 нм.

Активность эстераз (неспецифические эстеразы КФ 3.1.1) определяли как описано у Прабхакаран [12], 10 мкл образца инкубировали с 800 мкл субстрата *p*-нитрофенилацетата (0,27 мМ в 0,1М фосфатном буфере с 150 мМ NaCl (pH 8,5)) при температуре 25 °С

в течение 25 мин. Измерение активности неспецифических эстераз проводили при 410 нм.

Концентрацию белка определяли по методу Бредфорда [13] при 595 нм. Для построения калибровочной кривой использовали бычий сывороточный альбумин. Удельную активность ферментов выражали в единицах изменения оптической плотности (ΔA) инкубационной смеси в ходе реакции в расчете на 1 мин и 1 мг белка.

Полученные данные представлены как среднее арифметическое и его ошибка. Для проверки нормальности распределения данных использовали *W*-критерий Шапиро – Уилка. Корреляцию между интенсивностью инвазии и активностью ферментов рассчитывали с помощью непараметрического теста по Спирману. Для сравнения активности ферментов в различных отделах кишечника и между разными размерными группами ельца использовали непараметрический тест Вилконсона. Для расчетов использовали программу STATISTICA 7.0 [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Зараженность паразитами. В 2009 г. зафиксирована достоверная корреляция между длиной тела (по Смитсу) и интенсивностью заражения метацеркариями диплостомид *Posthodiplostomum cuticola* ($r = 0,61$, $p < 0,05$) для *Posthodiplostomum brevicaudatum* ($r = 0,45$, $p < 0,05$) и *Diplostomum* ($r = 0,72$, $p < 0,05$).

В 2008 г. у молоди ельца сибирского выявлено заражение только метацеркариями трематод семейства Diplostomidae (табл. 1).

Т а б л и ц а 1

Ин- и экстенсивность (%) инвазии паразитами (метацеркариями трематод сем. Diplostomidae) молоди ельца сибирского в р. Каргат в 2008 г.

Вид (род) паразита	1-я декада июля		3-я декада июля – 1-я декада августа			
	Размерная группа, мм					
	20–30		30–40		40–50	
	ИИ	ЭИ	ИИ	ЭИ	ИИ	ЭИ
<i>Diplostomum</i>	16,4 ± 1,88	–*	18,2 ± 2,13	94,1	24,8 ± 4,8	90
<i>Posthodiplostomum brevicaudatum</i>	3,6 ± 1	–	3,7 ± 0,45	88,2	4,0 ± 1,18	70
<i>P. cuticola</i>	6,9 ± 2,6	–	4,2 ± 0,88	79,4	2,8 ± 0,74	80
Объем выборки, экз.	6		34		10	

П р и м е ч а н и е. * – для выборки меньше 10 особей ельца ЭИ не рассчитывали.

В хрусталике, стекловидном и пигментном теле глаз рыб обнаружены представители рода *Diplostomum* (Poirier, 1886) с интенсивностью инвазии (ИИ) от $(16,4 \pm 1,88)$ экз. для размерной группы 20–30 мм и $(18,2 \pm 2,13)$ и $(24,8 \pm 4,8)$ экз. для размерных групп 30–40 и 40–50 мм соответственно. Экстенсивность инвазии (ЭИ) р. *Diplostomum* для размерных групп ельца 30–40 и 40–50 мм составила в среднем 92 %. В пигментном теле глаза рыб также встречался вид *Posthodiplostomum brevicaudatum* (Nordmann, 1832) с ИИ = $(3,6 \pm 1)$ экз. для размерной группы 20–30 мм и $(3,7 \pm 0,45)$ и $(4 \pm 1,18)$ экз. для размерных групп 30–40 и 40–50 мм соответственно, ЭИ составила в среднем 76 %. В мышечной ткани рыб обнаружен вид *Posthodiplostomum cuticola* (Nordmann, 1832), вызывающий чернопятнистую болезнь с ИИ = $(6,9 \pm 2,6)$ экз. для размерной группы 20–30 мм и $(4,2 \pm 0,88)$ и $(2,8 \pm 0,74)$ экз. для размерных групп 30–40 и 40–50 мм соответственно. ЭИ *Posthodiplostomum cuticola* для размерных групп 30–40 и 40–50 мм составила в среднем 80 %.

В начале июля 2009 г. (табл. 2) в размерной группе от 20 до 30 мм зафиксирована зараженность метацеркариями рода *Diplostomum* с ИИ = $(0,5 \pm 0,28)$ экз. В конце июля – начале августа 2009 г. обнаружена зараженность метацеркариями рода *Diplostomum* ельца сибирского размерной группы от 30 до 40 мм с ИИ = $(6,2 \pm 1,38)$ экз., ЭИ = 100 %; метацеркариями *Posthodiplostomum brevicaudatum* с ИИ = $(0,5 \pm 0,36)$ экз., ЭИ = 16,7 %; метацеркариями *Posthodiplostomum cuticola* с ИИ = $(0,5 \pm 0,41)$ экз., ЭИ = 16,7 %. У размерной группы от 40 до 50 мм зараженность метацеркариями рода *Diplostomum* с ИИ = $(9,3 \pm 1,62)$ экз., ЭИ = 100 %, метацеркариями *Posthodiplostomum brevicaudatum* с ИИ = $(0,9 \pm 0,24)$ экз., ИЭ = 43,5 %; метацеркариями *Posthodiplostomum cuticola* ИИ = $(2,3 \pm 0,7)$ экз., ЭИ = 52,2 %. В первой декаде августа 2009 г. зараженность размерной группы от 50 до 60 мм метацеркариями рода *Diplostomum* составила с ИИ = $(21,2 \pm 2,54)$ экз., ЭИ = 100 %, метацеркарии *Posthodiplostomum brevicaudatum* ИИ = $(2 \pm 0,51)$, ЭИ = 76,9 %, метацеркариями *Posthodiplostomum cuticola* с ИИ = $(10,2 \pm 2,28)$ экз., ЭИ = 76,9 %. Данные по остальным паразитам представлены в табл. 2.

Т а б л и ц а 2
Ип- и экстенсивность (%) инвазии паразитами молоди ельца сибирского в р. Каргаг в 2009 г.

Вид (род) паразита	3-я декада июля – 1-я декада августа							
	1-я декада июля		Размерная группа, мм					
	ИИ	ЭИ	20–30	30–40	40–50	50–60		
<i>Diplostomum</i>	$0,5 \pm 0,28$	–*	6,2 ± 1,38	100	9,3 ± 1,62	100	21,2 ± 2,54	100
<i>Posthodiplostomum brevicaudatum</i>	0	0	0,5 ± 0,36	16,7	0,9 ± 0,24	43,5	2 ± 0,51	76,9
<i>P. cuticola</i>	0	0	0,5 ± 0,41	16,7	2,3 ± 0,7	52,2	10,2 ± 2,28	76,9
<i>Rhipidocotyle</i> sp.	0	0	0,8 ± 0,36	41,7	0,1 ± 0,36	13,0	0	0
<i>Argulus foliaceus</i> (L., 1757)	$0,25 \pm 0,25$	–	0,08 ± 0,08	8,3	0,2 ± 0,1	13,0	0,3 ± 0,24	15,4
<i>Lernaea suprinacea</i> (L., 1758)	0	0	0,08 ± 0,08	8,3	0,04 ± 0,04	4,4	0	0
<i>Allocreadium</i> sp.	0	0	1,6 ± 1,07	16,7	0,2	8,7	0	0
Объем выборки, экз.		4	12	23		13		

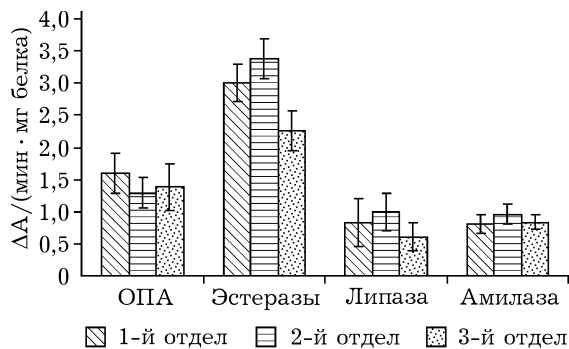


Рис. 1. Соотношение пищеварительных гидролаз в различных отделах кишечника у одноразмерных особей ельца сибирского (размерной группы 30–40 мм) в 2008 г.

Активность пищеварительных ферментов. У ельцов 1-й группы (размерная группа 30–40 мм) активность пищеварительных гидролаз в первом и во втором отделах кишечника в среднем выше, чем в третьем отделе. Наибольшая активность неспецифических эстераз, липазы и α -амилазы отмечена во втором отделе кишечника, в то время как наибольшая общая протеолитическая активность (ОПА) – в первом отделе (рис. 1).

В 2009 г. общая протеолитическая активность и активность α -амилазы отрицательно коррелируют с длиной тела рыбы ($r = -0,28$ и $-0,65$, $p < 0,05$). Достоверной корреляции между длиной тела и активностью липаз и неспецифических эстераз не установлено. Выявлена достоверно большая активность липаз (рис. 2) и неспецифических эстераз (рис. 3) у ельцов размерной группы 30–40 мм по сравнению с ельцами размерной группы 20–30 мм, однако активность липаз в раз-

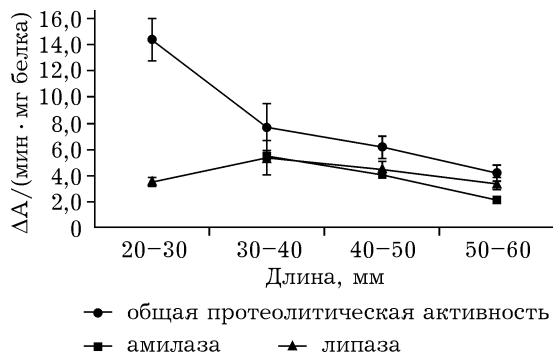


Рис. 2. Активность пищеварительных гидролаз (общей протеолитической активности, липазы и α -амилазы) в кишечнике разноразмерных особей ельца сибирского в 2009 г.

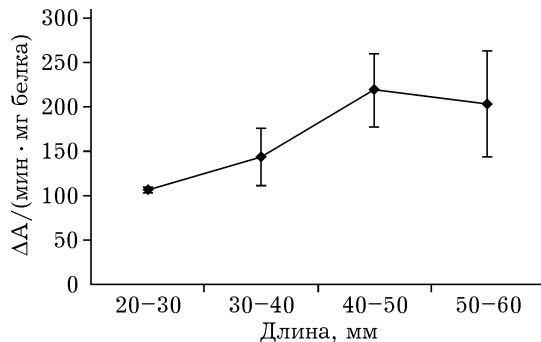


Рис. 3. Активность неспецифических эстераз в кишечнике у разноразмерных особей ельца сибирского в 2009 г.

мерной группе от 30–40 до 50–60 мм достоверно ($p < 0,05$) уменьшается. Активность неспецифических эстераз ельцов различных размерных групп достоверно не отличалась между собой, но наблюдалась тенденция увеличения активности от группы 20–30 к группе 40–50 мм (рис. 3).

Доля сериновых протеиназ, ингибируемых PMSF, достоверно снижалась ($p < 0,05$) от $(65 \pm 10) \%$ у ельцов размерной группы 20–30 мм до $(10 \pm 3) \%$ у ельцов размерной группы 50–60 мм. При этом доля металлопротеиназ в группах увеличивалась незначительно, а цистеиновых протеиназ – практически не изменялась (рис. 4). Происходит увеличение доли и протеаз с (25 ± 5) до $(75 \pm 7) \%$, актив-

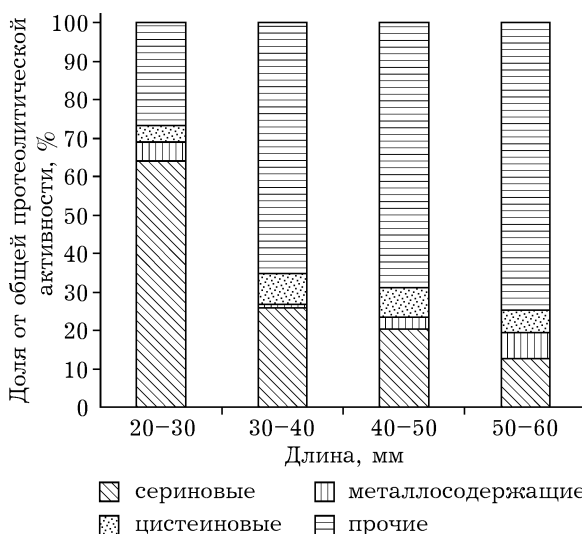


Рис. 4. Соотношение пищеварительных протеиназ (сериновых, цистеиновых и металлопротеиназ) в кишечнике разноразмерных групп ельца сибирского в 2009 г.

Значимые ($p < 0,05$) корреляции между интенсивностью инвазии метацеркариями сем. Diplostomidae и активностью пищеварительных ферментов в кишечнике молоди ельца (30–40 мм) в 2008 г.

№ отдела кишечника	Фермент	Паразит	Коэффициент корреляции	Объем выборки, экз.
1	ОПА	<i>Posthodiplostomum brevicaudatum</i>	-0,42	33
2	»	Тот же	-0,39	32
2	Липаза	»	-0,58	22
2	Эстераза	»	-0,47	33
1	Амилаза	<i>P. cuticola</i>	-0,42	23
3	»	Тот же	-0,59	21
2	Липаза	»	-0,41	29
2	Эстераза	»	-0,36	33
3	»	»	-0,36	34
1	Амилаза	<i>Di plostromum</i>	-0,41	23

ность которых не изменялась под действием используемых нами ингибиторов.

Влияние зараженности метацеркариями на активность пищеварительных ферментов.

В 2008 г. у молоди ельца сибирского 30–40 мм отмечена достоверная отрицательная корреляция между интенсивностью заражения метацеркариями и активностью пищеварительных гидролаз в различных отделах кишечника (табл. 3). ИИ метацеркарий *Posthodiplostomum brevicaudatum*, локализующихся в пигментном теле глаз, отрицательно коррелировала ($p < 0,05$) с общей протеолитической активностью в первом и во втором отделах кишечника и с активностью неспецифических эстераз и липазы во втором отделе кишечника. ИИ метацеркарий *Posthodiplostomum cuticola*, местом локализации которых является мышечная ткань, отрицательно коррелировала ($p < 0,05$) с активностью амилазы в первом и во втором отделах кишечника, а также с активностью липазы во втором отделе и с активностью неспецифических эстераз во втором и третьем отделах кишечника соответственно. ИИ метацеркарий рода *Diplostomum*, локализующихся в стекловидном, пигментном теле и хрусталике глаза, отрицательно коррелировала ($p < 0,05$) с активностью α -амилазы в первом отделе кишечника. В 2009 г. у ельцов из размерной группы 30–40 мм отмечена достоверная отрицательная корреляция между активностью α -амилазы и липазы с интенсивностью инвазии *Posthodiplostomum cuticola*, а для размер-

ной группы 40–50 мм – с активностью α -амилазы (табл. 4).

Достоверных корреляций между интенсивностью инвазий другими паразитами с активностью пищеварительных ферментов не выявлено.

В результате проведенной работы установлена достоверная корреляция между длиной тела ельца и интенсивностью инвазии метацеркариями *Posthodiplostomum cuticola*. Ранее схожую зависимость обнаружили для голавля *Leuciscus cephalus*, также зараженного метацеркариями *Posthodiplostomum cuticola*. Авторы связывают это с биотопической особенностью карповых рыб, которые могут легко заплывать в заросли водной растительности, где находятся зараженные моллюски, и таким образом заражаться церкариями *Posthodiplostomum cuticola* и другими видами сем. Diplostomidae [15].

Т а б л и ц а 4

Значимые ($p < 0,05$) корреляции между интенсивностью инвазии метацеркариями *P. cuticola* и активностью пищеварительных ферментов в кишечнике в целом у ельца в 2009 г.

Фермент	Коэффициент корреляции	Объем выборки
Амилаза	-0,66	11*
Эстераза	-0,66	11*
Амилаза	-0,56	23**

П р и м е ч а н и е. * – размерная группа 30–40 мм; ** – 40–50 мм.

В то же время обнаружена существенная разница в ин- и экстенсивности зараженности ельцов различными паразитами, в том числе из сем. Diplostomida, в разные годы изучения. Возможно, это связано с влиянием многих факторов: численностью промежуточных и окончательных хозяев, температурными условиями, уровнем обводненности в водоеме и т. д., которые могут значительно варьировать в оз. Чаны и его бассейне [16]. Однако в течение сезона, вне зависимости от года наблюдений, мы зафиксировали достоверный рост зараженности ельца метацеркариями рода *Diplostomum*. Подобные изменения в зараженности паразитами ранее отмечены и для других видов рыб в данном озере. Так, Бочарова с соавторами отмечали рост зараженности окуня, судака и золотого карася метацеркариями рода *Diplostomum* в августе, а метацеркариями рода *Posthodiplostomum* – в июле – августе, что связывают с высокой численностью моллюсков, являющихся первыми промежуточными хозяевами для данной группы паразитов, а также пониженным уровнем воды в водоеме [16].

При изучении пищеварительных ферментов мы выявили изменение активности данных ферментов молоди ельца сибирского в течение сезона. В частности, отмечено достоверное снижение активности α -амилазы ($r = -0,65$) и общей протеолитической активности ($r = -0,28$) с увеличением возраста молоди. Достоверной связи активности липазы и неспецифических эстераз с возрастом у ельцов не найдено. Мы не можем точно объяснить подобные изменения, так как для этого необходимы дополнительные экспериментальные работы. Это связано с тем, что для некоторых рыб обнаружена жесткая корреляция активности пищеварительных ферментов с наличием различных пищевых субстратов в пище. Для других рыб зависимости между активностью пищеварительных ферментов и составом пищевых субстратов не наблюдается, а изменения строго связаны с определенным возрастом рыб. Например, в зависимости от возраста у личинок лаврака *Dicentrarchus labrax* меняется активность α -амилазы в кишечнике [17]. У молоди индийского карпа *Labeo rohita* наблюдается рост активности α -амилазы при увеличении содержания углеводов в пище, и в данном случае

углеводы являются своеобразными индукторами экспрессии ферментов в кишечнике этого вида рыб [18].

По результатам ингибиторного анализа можно оценить вклад каждой группы ферментов в пищеварение. Так, мы обнаружили, что доля сериновых протеиназ, ингибируемых PMSF, снижается в зависимости от возраста рыб. Подобные результаты получены для желтохвоста *Seriola quinqueradiata* [19]. Авторы отмечают снижение активности трипсина и химотрипсина в кишечнике начиная с июня, в то время как активность пепсина остается постоянной [19]. Не исключено, что подобные изменения в активности пищеварительных ферментов могут быть следствием влияния окружающей среды (изменений кормовой базы или условий обитания в течение сезона) или изменений, связанных с физиологическими перестройками, происходящими в организме во время роста молоди ельца сибирского.

Для большинства рыб характерна разная активность пищеварительных ферментов в различных отделах кишечника, что подтверждается многими исследованиями [цит. по 20]. Полученные нами данные по активности пищеварительных гидролаз в разных отделах кишечника свидетельствуют о неодинаковой роли разных отделов кишечника в гидролизе пищевых компонентов. Более высокая активность неспецифических эстераз и липазы в первом и во втором отделах кишечника свидетельствует о преобладающей роли этих отделов в гидролизе жиров. Для α -амилазы характерна достоверно более высокая активность во втором отделе по сравнению с третьим ($p > 0,05$), что показывает высокую значимость этого отдела в гидролизе сахаров. Дегура с соавторами на примере королевской дорады *Sparus aurata* выявили неоднородность распределения исследованных ими ферментов (кроме пепсина): преобладание протеаз в переднем и среднем отделах кишечника, а α -амилазы – в среднем и заднем отделах [21].

Нами зарегистрировано влияние ряда паразитов, местом локализации которых были мышцы, хрусталик, стекловидное и пигментное тело глаз, на активность пищеварительных ферментов хозяина. В частности, метацеркарии видов *Posthodiplostomum cuticola*,

P. brevicauatum и рода *Diplostomum* оказывают существенное влияние на ферментативную активность гидролаз кишечника ельца. Прежде всего это относится к первому и второму отделам кишечника. Некоторые различия в корреляционных связях между активностью пищеварительных ферментов и интенсивностью инвазии паразитов у ельца в разные годы исследования, возможно, связаны с разными экспериментальными условиями и разной интенсивностью инвазий ельцов паразитами. Характер и степень влияния паразитов на активность пищеварительных ферментов как в целом кишечнике, так и в отдельных его частях, по-видимому, зависят от интенсивности инвазии каждой группы паразитов и могут меняться по сезонам года.

К сожалению, исследования по опосредованному влиянию паразитов на функционирование тканей хозяина, в которых они не локализируются, крайне редки. В основном изучаются изменения функционирования тканей и органов, которые повреждаются паразитами. При изучении изменений в кишечнике исследователи основное внимание уделяют влиянию полостных и кишечных паразитов на активность пищеварительных ферментов рыб [22, 23]. Так, обнаружили, что полостные гельминты *Ligula intestinalis* способны подавлять активность протеаз и карбогидраз в кишечнике у леща [6].

Чтобы установить степень влияния на активность пищеварительных ферментов паразитов, локализирующихся не в кишечнике, необходимо провести дополнительные экспериментальные исследования. Трудно говорить об определенной степени влияния интенсивности инвазии паразитов на активность пищеварительных ферментов, основываясь только на результатах корреляционного анализа.

Авторы выражают благодарность сотрудникам ИСиЭЖ СО РАН канд. биол. наук Наталье Ильичне Юрловой и канд. биол. наук Ивану Михайловичу Дубовскому за помощь при написании статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шульмае С. С., Добровольский А. А. Паразитизм и смежные с ним явления // Паразитология. Л., 1977. С. 230–248.
2. Исси И. В. Взаимоотношение микроспоридий с клеткой хозяина // Сер. Протозоология / под ред. Т. В. Бейера, И. В. Исси. Л., 1986. Вып. 10. С. 6–136.
3. Ихтиопатология / под ред. Н. А. Головиной, О. Н. Бауера. М.: Мир, 2007. 448 с.
4. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. Т. 3. Паразитические многоклеточные. (Вторая часть). Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1987. 583 с.
5. Пронина С. В., Пронин Н. М. Взаимоотношения в системах гельминты – рыбы (на тканевом, органном и организменном уровнях). М.: Наука, 1988. 176 с.
6. Извекова Г. И. Особенности влияния плероцеркоидов *Ligula intestinalis* на пищеварительную активность леща разных возрастных групп // Паразитология. 1999. Т. 33, № 4.
7. Matskasi, I. The effect of *Bothriocephalus acheilognathi* Yamaguti, 1934 infection on the protease activity in the gut of carp fry // Parasitol. Hung. 1984. Vol. 11. P. 51–56.
8. Быховская-Павловская И. Е. Паразиты рыб. Руководство по изучению. Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1985. 121 с.
9. Alarcón F. J., Martínez T. F., Barranco P., Cabello T., Díaz M., Moyano F. J. Digestive proteases during development of larvae of red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) (Coleoptera: Curculionidae) // Insect Biochemistry and Molecular Biology. 2002. Vol. 32. P. 265–274.
10. Deguara S., Jauncey K., Agius C. Enzyme activities and pH variations in the digestive tract of gilthead sea bream // J. Fish Biol. 2003. Vol. 62. P. 1033–1043.
11. Gawlicka A., Parent B., Horn M. H., Ross N., Opstad I., Torrissen O. J. Activity of digestive enzymes in yolk-sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): indication of readiness for first feeding // Aquaculture. 2000. Vol. 184. P. 303–314.
12. Prabhakaran S. K., Kamble S. T. Purification and characterization of an esterase isozyme from insecticide resistant and susceptible strains of German Cockroach, *Blattella germanica* (L.) // Insect Biochemistry and Molecular Biology. 1995. Vol. 25. P. 519–524.
13. Bradford Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Analytical Biochemistry. 1976. Vol. 72. P. 248–254.
14. Плохинский Н.А. Биометрия. М.: МГУ, 1970. 367 с.
15. Zrncic S., Oraic D., Mihaljevic Z., Caleta M., Zanella D., Jelic D., Jelic M. First observation of *Posthodiplostomum cuticola* (Nordmann, 1832) metacercariae in cypriniformes from Croatia // Helminthologia. 2009. Vol. 46, N 2. P. 112–116.
16. Бочарова Т. А., Головки Г. И., Гундризер С. М., Соусь С. М. Экология озера Чаны. Новосибирск, 1986. С. 147–158.
17. Zambonino Infante J. L., Cahu C. L. Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae // Comparative Biochemistry and Physiology. Part C. 2001. Vol. 130. P. 477–487.
18. Debnath D., Pal A. K., Sahu N. P., Yengkokpam S., Baruah K., Choudhury D., Venkateshwarlu G. Digestive enzymes and metabolic profile of *Labeo rohita* fingerlings fed diets with different crude protein levels // Comparative Biochemistry and Physiology. Part B. 2007. Vol. 146. P. 107–114.
19. Kofuji Patricia, Yumi Morimoto, Atsushi Akimoto, Hidetsuyo Hosokawa, Toshiro Masumoto. Seasonal changes in proteolytic enzymes of yellowtail *Seriola quinqueradiata* (Temminck & Schlegel; Carangidae)

- fed extruded diets containing different protein and energy levels // *Aquaculture Research*. 2005. Vol. 36. P. 696–703.
20. Кузьмина В. В. Физиолого-биохимические основы экзотрофии рыб. М.: Наука, 2005. 300 с.
21. Deguara S., Jauncey K., Agius C. Enzyme activities and pH variations in the digestive tract of gilthead sea bream // *J. of Fish Biology*. 2003. Vol. 62. P. 1033–1043.
22. Куровская Л. Я. Влияние низших цестод (*Pseudophyllidea*) на жизнедеятельность двухлеток белого амура // *Паразитология*. 1993. Т. 27, № 1.
23. Hoole D., Nisan H. Ultrastructural studies on intestinal response of carp, *Cyprinus carpio* L., to the pseudophyllidean tapeworm, *Bothriocephalus acheilognathi* Yamaguti, 1934 // *J. of Fish Diseases*. 2006. Vol. 17. P. 623–629.

Infectiousness with the Metacercarias of Diplostomidae Family and the Activity of Digestive Enzymes in Young Siberian Dace *Leuciscus leuciscus baicalensis* (Dyb) in the Kargat River in the Basin of Lake Chany

M. M. SOLOVYEV, E. N. KASHINSKAYA, V. V. GLUPOV

*Institute of Systematics and Ecology of Animals SB RAS
630091, Novosibirsk, Frunze str., 11
E-mail: laelia_ly@inbox.ru*

Investigation of the activity of intestinal digestive enzymes (total activity of proteases, α -amylase, nonspecific esterases and pancreatic lipase) in young Siberian dace *Leuciscus leuciscus baicalensis* (Dyb) infected with the metacercarias of Diplostomidae family was carried out in 2008 and 2009 in the Kargat river (the basin of Lake Chany) The dependence between the intensity of invasion with the metacercarias of Diplostomidae family and the activity of intestinal hydrolases was studied. A negative correlation of the activity of digestive enzymes with the intensity of invasion with metacercariasm both in different sections and in intestines in general was revealed.

Key words: proteolytic enzymes, amylase, freshwater bony fish, nonspecific esterases, lipases, fish nutrition.