

ВЛИЯНИЕ РАЗНЫХ РЕЖИМОВ ОСВЕЩЕНИЯ И КОРМЛЕНИЯ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА У СЕГОЛЕТКОВ АТЛАНТИЧЕСКОГО ЛОСОСЯ В УСЛОВИЯХ АКВАКУЛЬТУРЫ

© 2023 г. М. В. Кузнецова^а, *, М. А. Родин^а, Н. С. Шульгина^а, М. Ю. Крупнова^а,
А. Е. Курицын^а, С. А. Мурзина^а, Н. Н. Немова^а

^аИнститут биологии — обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук”,
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, 185910 Россия

*e-mail: kuznetsovamvi@yandex.ru

Поступила в редакцию 11.10.2022 г.

После доработки 03.04.2023 г.

Принята к публикации 04.04.2023 г.

Исследовали влияние постоянного и естественного режимов освещения в сочетании с разными режимами кормления на активность ферментов энергетического и углеводного обмена в мышцах и печени сеголетков лосося, искусственно выращиваемых в аквакультуре в условиях южного региона России. Выявленные межгрупповые различия в активности исследуемых ферментов у сеголетков указывают на отличия в уровне энергетического обмена и использования углеводов в процессах синтеза АТФ и других путях биосинтеза в мышцах и печени в зависимости от условий освещения, в том числе в сочетании с режимом кормления. Высокий уровень аэробного обмена в мышцах и усиление использования углеводов в гликолизе в печени рыб у сеголетков лосося, выращенных при постоянном освещении, соответствовали их наибольшему среднему приросту массы. У особей из всех экспериментальных групп установлены изменения в активности исследуемых ферментов в зависимости от времени после начала эксперимента, свидетельствующие об увеличении уровней аэробного и анаэробного обмена в мышцах и гликолиза в печени, необходимых для осуществления процессов биосинтеза.

Ключевые слова: фотопериод, атлантический лосось, активность ферментов энергетического обмена

DOI: 10.31857/S0475145023020039, **EDN:** XEWVOW

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что свет — жизненно важный абиотический фактор, который оказывает существенное воздействие на развитие и рост рыб на протяжении всего их жизненного цикла. Прямо или косвенно он влияет на пищевое поведение, плавательную активность, обучение, миграцию и размножение рыб, а у лососевых так же и на наступление периода смолтификации, посредством влияния на эндогенные ритмы и уровни циркулирующих гормонов роста (Boeuf, Le Bail, 1999; Bjornsson et al., 2000; Taylor et al., 2006; Sonmez et al., 2009; Migaud et al., 2010). В аквакультуре удлинение светового дня используется для увеличения скорости роста рыб, что, в свою очередь, обусловлено адаптивными изменениями биохимического метаболизма.

Важным параметром оценки состояния организма на разных этапах индивидуального развития является энергетический обмен. Так, например, вклад в суммарное потребление энергии таких

процессов, как рост, дифференцировка и формирование значительно меняется на разных стадиях развития (Озернюк, 1985). Для оценки уровня энергетического метаболизма исследуют активность основных ферментов дыхательной цепи и гликолиза. Активность цитохром с оксидазы (ЦО) дыхательной цепи митохондрий используется при оценке уровня аэробного обмена в тканях (Gauthier et al., 2008). Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) в белых мышечных волокнах катализирует конечную реакцию анаэробного гликолиза, в связи с чем активность этого фермента указывает на уровень анаэробного обмена (Somero, Childress, 1980). Значения активности ферментов путей окисления глюкозы могут рассматриваться при характеристике уровня использования углеводов в биосинтезе и энергетическом метаболизме. Пируваткиназа (ПК) является ключевым ферментом гликолиза, катализирует реакцию превращения фосфоенолпирувата в пируват, и уровень ее активности харак-

Таблица 1. Средняя масса рыб, используемых для анализа

Группа	6 сентября		6 октября		9 ноября	
	масса	длина	масса	длина	масса	длина
Контроль			5.59 ± 0.30	8.01 ± 0.43	11.87 ± 1.74	10.88 ± 0.53
Опыт 1	3.85 ± 0.45	7.42 ± 0.27	5.92 ± 0.58	8.12 ± 0.23	9.19 ± 1.37	9.189 ± 0.47
Опыт 2			6.11 ± 0.91	8.05 ± 0.40	11.93 ± 1.33	10.13 ± 0.39

теризует интенсивность этого процесса. Альдолаза (фермент гликолиза) — катализирует образование дигидроксиацетонфосфата и глицеральдегид-3-фосфата, которые впоследствии участвуют в процессах гликолиза, глюконеогенеза и образования липидов (Llewellyn, 1998). Фермент 1-глицерофосфатдегидрогеназа (1-ГФДГ) катализирует реакцию образования 1-глицерофосфата, который является предшественником структурных и запасных липидов. Фермент глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г-6-ФДГ) — ключевой фермент пентозофосфатного пути окисления глюкозы (ПФП).

Ранее в исследованиях влияния фотопериода на искусственное выращивание молоди лосося в условиях северных широт (регион Белого моря), естественных для данного холодолюбивого вида было показано, что непрерывный свет (режим 24 свет: 0 темнота) способствовал ускорению роста особей, что сопровождалось изменением аэробного и анаэробного обмена в мышцах (Chugova et al., 2020). Следует отметить, что экологические условия южных регионов отличаются от северных широт по ряду факторов: световым режимом без периода “белых ночей”, гидрохимическими параметрами воды в виде высокого pH, значительной минерализацией, высокой степенью насыщения кислородом, высокой концентрацией микроэлементов и ионов металлов. При этом появляется возможность выращивания молоди лосося при температуре воды в диапазоне 8–18°C, в отсутствие зимних периодов низких температур, что позволяет рыбе питаться и расти круглый год. Исходя из этого, был поставлен эксперимент по влиянию постоянного освещения на рост и развитие сеголетков лосося *Salmo salar* L. (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 сеголетков атлантического лосося в процессе роста и развития, выращиваемых в условиях постоянной температуры воды при воздействии двух режимов фотопериода (постоянного и естественного) в сочетании с разным режимом кормления.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Описание эксперимента

Исследование влияния разных режимов освещения на рост и развитие сеголетков лосося про-

водили на предприятии ООО “Остров аквакультура” (Республика Северная Осетия-Алания).

Мальки лосося 0+ (выклев 10–15 марта 2022 г., (производитель Benchmark Genetics, Исландия)) с августа до начала эксперимента (сентябрь) содержались в выростных лотках размером 4 × 1.2 м, объемом 2.5–2.7 м³, (изначально в количестве 4900 особей/лоток) в условиях непрерывного освещения (24 свет: 0 темнота, 24C). Кормление проводилось в круглосуточном режиме каждые два часа. С начала сентября сеголетков разделили на три экспериментальных группы по 2 лотка (при средней массе рыб 2.9 грамма в каждом лотке):

— группа № 1 (контроль, 24C КК) — режим освещения постоянный (24C:0T), кормление круглосуточное (КК);

— группа № 2 (опыт № 1, ЕстФ КД) — экспериментальный — естественный фотопериод (ЕстФ), кормление в светлое время суток (с 06:00 до 18:00 в сентябре, с 08:00 до 18:00 в октябре, с 08:00 до 17:00 в ноябре) через каждые два часа (КД);

— группа № 3 (опыт № 2) — экспериментальный (24C КД), режим освещения постоянный (24C), кормление проводилось только в светлое время суток как у рыб из группы № 2 (КД).

Лотки с постоянным освещением были оборудованы светодиодными LED лампами (36W, 6500K). Освещение над поверхностью воды при освещении лампами в темное время суток составило 450–650 lx (для контроля и опыта № 2). Использовали коммерческий корм; расчет объема корма проводили согласно нормам возрастной группы и с учетом биомассы. Вода в лотки поступала из скважины со скоростью 2.7–3 л/с на лоток. Температура воды была постоянной — 12.5°C.

Взвешивание рыб проводили каждый месяц на предприятии (по 2 раза в месяц при трех повторных взвешиваниях по 50–100 особей вместе). Отход за весь период исследования составил 24, 33 и 19% особей в контроле (24C КК), опыте № 1 (ЕстФ КД) и опыте № 2 (24C КД) соответственно.

Для исследования отбирали сеголетков лосося 6 сентября (до эксперимента), 6 октября и 9 ноября; из каждой группы было взято до 15 особей из лотка. Средние масса и длина особей, взятых для анализа, представлены в табл. 1.

Таблица 2. Коэффициент корреляции активности ферментов в мышцах с массой и длиной особей

Показатель	Контроль		Опыт 1		Опыт 2	
	масса	длина	масса	длина	масса	длина
ЦО	0.25	0.06	0.25	0.06	0.75*	0.70*
ЛДГ	0.83*	0.79*	0.83*	0.79*	0.81*	0.80*
Альдолаза	0.64*	0.52*	0.64*	0.52	0.64*	0.61

* — достоверные значения коэффициента корреляции при $p < 0.05$.

Определение активности ферментов

Активность ферментов определяли в мышцах и печени спектрофотометрически (CLARIOSTAR, BMG Labtech). Образцы тканей гомогенизировали в 0.05 М Tris-HCl буфере (pH 7.5) на гомогенизаторе Tissue Lyser (Qiagen, Германия).

Активность ферментов энергетического и углеводного обмена в мышцах (ЦО, ЛДГ, альдолаза) и печени (ЦО, ЛДГ, ПК, Г-6-ФДГ, 1-ГФДГ, альдолаза) определяли индивидуально для каждой особи. Активность цитохром с оксидазы (ЦО, КФ 1.9.3.1) определяли по методу Смита (Smith, 1955), измеряя увеличение количества окисленного цитохрома с. Общую активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ, КФ 1.1.1.27), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ, КФ 1.1.1.49) и 1-глицерофосфатдегидрогеназы (1-ГФДГ, КФ 1.1.1.8) определяли по общепринятым методикам, измеряя количества восстановленных НАД и НАДФ (Кочетов, 1980). Активность пируваткиназы (ПК, КФ 2.7.1.40) определяли в системе, содержащей НАДН и лактатдегидрогеназу по количеству образовавшегося НАД (Bücher, 1955). Активность альдолазы (КФ 4.1.2.13) определяли по методике Векс в модификации Ананьева и Обуховой (Колб, Камышников, 1976). Активность ферментов выражали в мкмоль субстрата (продукта)/мин/мг белка. Концентрацию белка определяли методом Брэдфорд (Bradford, 1976).

Статистический анализ полученных результатов проводили общепринятыми методами вариационной статистики (Ивантер, Коросов, 2010). Данные были проверены на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро—Уилкса. Многофакторный дисперсионный анализ MANOVA был применен для оценки степени влияния факторов (режим освещения, принадлежность к группе (режимы освещения и кормления) и дата отбора проб) на активность исследуемых ферментов. Для сравнения выборок по исследуемым показателям использовали тест Краскела—Уоллиса с последующим сравнением выборок с использованием критерия Манна—Уитни. Для изучения взаимосвязи между значениями активности ферментов и массой особей использовался корреляционный анализ Пирсона. Все результаты считались значимыми при $p < 0.05$. Все данные представлены как $M \pm SE$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Активность ферментов в мышцах сеголетков лосося

Согласно дисперсионному анализу, уровень активности всех исследуемых ферментов в мышцах зависел от режимов освещения и кормления (принадлежности к экспериментальной группе) и времени отбора проб. Активность ЦО в мышцах через месяц от начала исследования (в октябре) была ниже у особей в группе ЕстФ КД по сравнению с группой 24С КД и контролем (24С КК) ($p < 0.05$, рис. 1а), и в ноябре наблюдалась тенденция к более низким значениям активности ЦО у сеголетков лосося в группе с естественным освещением. В октябре уровень активности ЦО в мышцах рыб в группах с постоянным освещением увеличился по сравнению с предыдущим месяцем, а в группе с естественным освещением эти изменения обнаруживались только в ноябре (рис. 1а). Активность ЦО в мышцах сеголетков лосося из всех исследуемых групп увеличивалась от сентября к ноябрю (рис. 1а).

Самые низкие значения активности ЛДГ в мышцах рыб в ноябре были характерны для группы ЕстФ КД по сравнению с группами с постоянным освещением, при этом достоверные различия установлены с группой 24С КД ($p < 0.05$, рис. 1б). Активность ЛДГ повышалась во всех исследуемых группах сеголетков с каждым последующим месяцем (рис. 1б).

По уровню активности альдолазы в мышцах особей различия между группами были установлены в ноябре ($p < 0.05$, рис. 1в). При этом значения активности этого фермента у рыб в группе ЕстФ КД были самыми высокими, а в группе 24С КК — самыми низкими ($p < 0.05$). Значения активности альдолазы в мышцах особей постепенно увеличивались с каждым последующим месяцем во всех исследуемых группах сеголетков (рис. 1б, 1в).

Наблюдалась положительная корреляция активности ЦО с массой и длиной рыб (с достоверным значением для группы 24С КД ($p < 0.05$, табл. 2)). Установлена положительная корреляция уровня активности ЛДГ и альдолазы в мышцах с массой лосося во всех группах ($p < 0.05$, табл. 2).

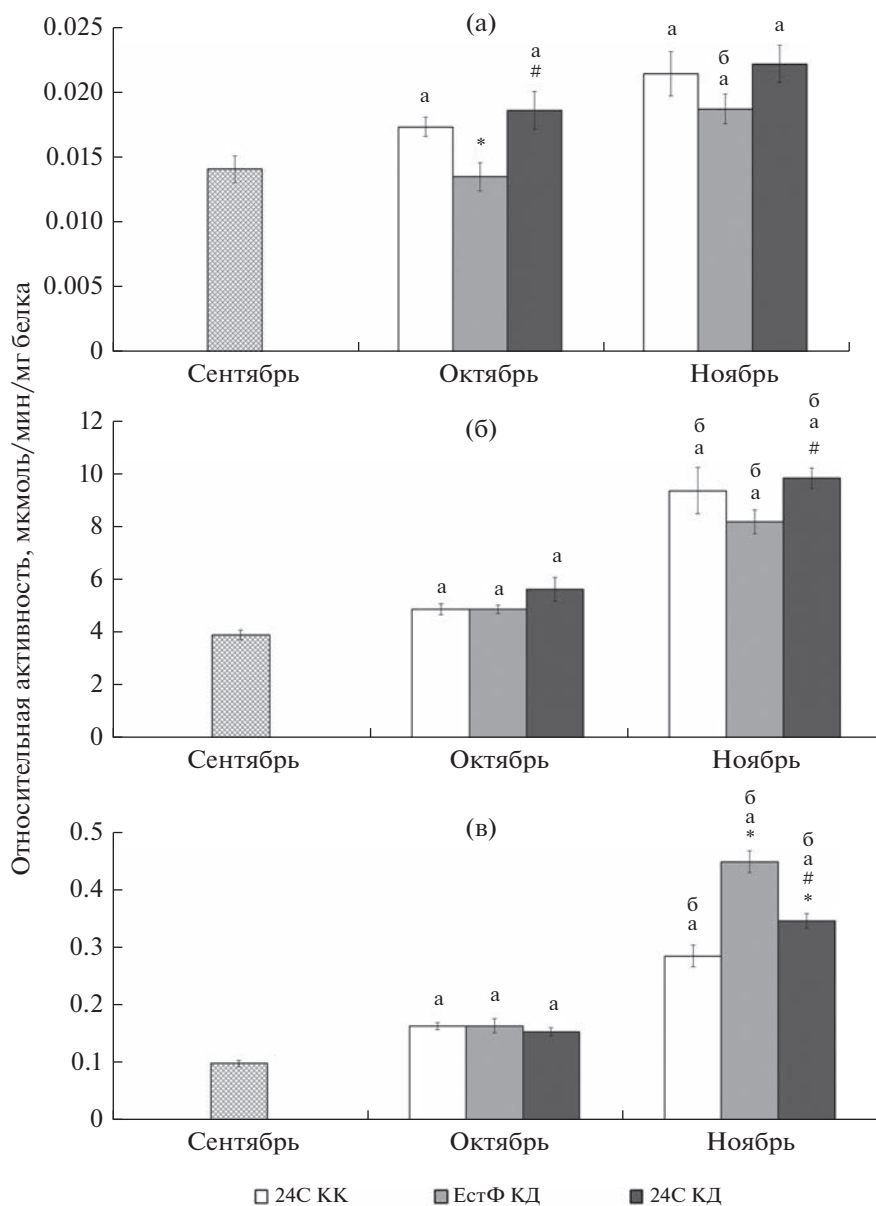


Рис. 1. Относительная активность ферментов в мышцах атлантического лосося *Salmo salar* в группах, выращиваемых с разными режимами освещения и кормления (24С КК – режим освещения постоянный, кормление круглосуточное; ЕстФ КД – естественный фотопериод, кормление в светлое время суток; 24С КД – режим освещения постоянный, кормление проводится только в светлое время суток): (а) цитохром с оксидаза, (б) лактатдегидрогеназа, (в) альдолаза. Различия достоверны при $p < 0.05$: * – по отношению к контролю, # – в сравнении с группой ЕстФ КД; а – по сравнению со значениями в сентябре, б – по сравнению со значениями в октябре в соответствующей группе.

Активность ферментов в печени сеголетков лосося

Активность всех исследуемых ферментов в печени рыб (кроме ЛДГ) зависела от месяца исследования. В ноябре активность ЦО в печени рыб в группе ЕстФ КД была выше, чем в группе 24С КД (рис. 2а). В октябре уровень активности ЦО в печени у рыб из групп ЕстФ КД и 24С КД снижался по сравнению с предыдущим месяцем (рис. 2а). У

рыб в группе с естественным освещением активность ЦО значительно повышалась в ноябре, тогда как в группе 24С КД оставалась на том же уровне (рис. 2а). Уровень активности ЦО в печени рыб в группе 24С КК не изменялся за период исследования.

На активность ПК оказывал влияние фактор принадлежности к исследуемой группе. Уже через месяц после начала эксперимента (в октябре)

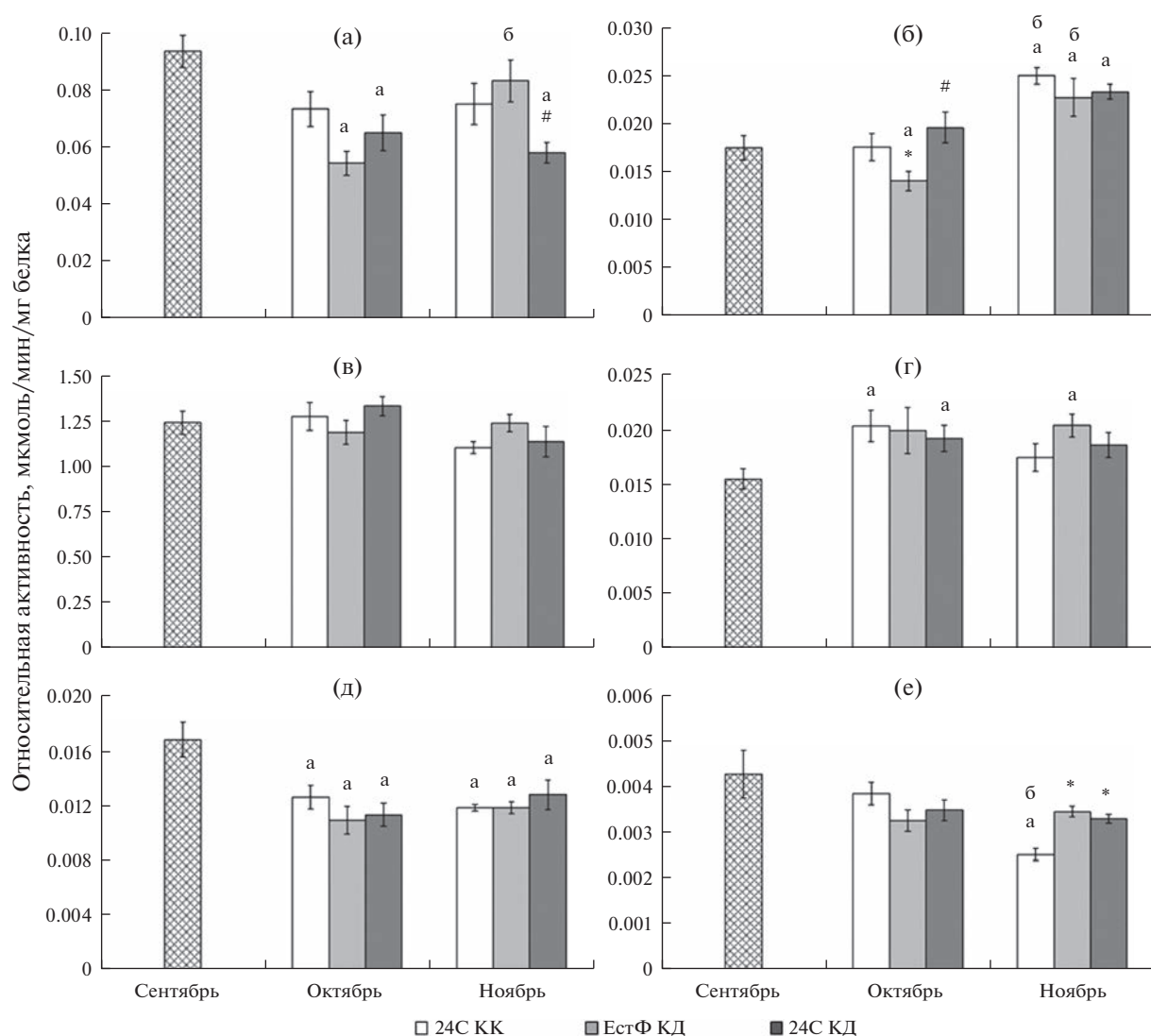


Рис. 2. Относительная активность ферментов в печени атлантического лосося *Salmo salar* в группах, выращиваемых с разными режимами освещения и кормления (24С КК – режим освещения постоянный, кормление круглосуточное; ЕстФ КД – естественный фотопериод, кормление в светлое время суток; 24С КД – режим освещения постоянный, кормление проводится только в светлое время суток): (а) цитохром с оксидаза, (б) пируваткиназа, (в) лактатдегидрогеназа, (г) глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, (д) 1-глицерофосфатдегидрогеназа, (е) альдолаза. Различия достоверны при $p < 0.05$: * – по отношению к контролю, # – в сравнении с группой ЕстФ КД; а – по сравнению со значениями в сентябре, б – по сравнению со значениями в октябре в соответствующей группе.

активность ПК была ниже в печени сеголетков в группе ЕстФ КД по сравнению с рыбами из групп с постоянным освещением ($p < 0.05$, рис. 2б). В октябре уровень активности ПК у рыб в группе ЕстФ КД был ниже по сравнению с предыдущим месяцем. Уровень активности ПК в печени у сеголетков во всех группах увеличивался к ноябрю (рис. 2б).

Активность альдолазы была выше в печени молоди лосося в группах ЕстФ КД и 24С КД по сравнению с рыбами из группы 24С КК в ноябре ($p < 0.05$, рис. 2е). У особей, выращиваемых при постоянном режиме освещения и круглосуточном кормлении (24С КК), в ноябре уровень ак-

тивности альдолазы был ниже, чем в предыдущие месяцы ($p < 0.05$).

Межгрупповых различий по уровню активности ферментов 1-ГФДГ и Г-6-ФДГ в печени молоди рыб не обнаружено (рис. 2г, 2д), однако значения этих показателей у особей из всех исследуемых групп изменялись на протяжении эксперимента (сентябрь–ноябрь). Активность Г-6-ФДГ в печени повышалась в октябре и оставалась на тех же уровнях в ноябре ($p < 0.05$, рис. 2г). Уровень активности 1-ГФДГ в печени рыб во всех группах в октябре снижался по сравнению с таковым в сентябре и оставался на том же уровне в ноябре ($p < 0.05$, рис. 2д).

ОБСУЖДЕНИЕ

*Активность ферментов в мышцах
сеголетков лосося*

Согласно полученным данным, наибольший средний прирост массы на группу был установлен у сеголетков лосося, выращенных при постоянном освещении. За весь период исследования прирост составил 14.1 ± 0.1 , 12.2 ± 0.2 , 13.1 ± 0.2 г у рыб из групп 24С КК, ЕстФ КД и 24С КД соответственно. Ранее было высказано предположение (Wootton, 2011), что повышенные темпы роста рыб могут быть обусловлены рядом факторов: увеличением светлого периода времени, когда рыбы активно питаются, и изменениями в нейро-эндокринной регуляции процессов, стимулирующих аппетит и пищевое поведение особей, и влияющих на метаболизм таким образом, что энергетические ресурсы направляются преимущественно на прирост массы тела, а не на другие пути обмена (в частности, генеративного).

Показано, что уровень активности всех исследуемых ферментов в мышцах рыб изменялся в зависимости, как от используемых режимов освещения и кормления (принадлежность к экспериментальной группе), так и от времени отбора проб. Значения активности ЦО указывают на более высокий уровень аэробного обмена в мышцах особей из групп с постоянным освещением. Более того, уровень аэробного обмена в мышцах рыб в группах с постоянным освещением возрастал с каждым месяцем, а в группе с естественным освещением эти изменения обнаруживались только в ноябре. Имеются сведения о том, что свет может влиять на рост рыбы двумя способами: стимулируя кормовую активность и повышая эффективность конверсии поступающих питательных веществ (Boeuf, Le Bail, 1999; Biswas et al., 2005). Таким образом, возможно, что доступность корма и высокий уровень аэробного обмена позволяют рыбам, выращиваемым при постоянном освещении, использовать энергию не только для поддержания основного обмена веществ и физической активности, но и в процессах биосинтеза структурных и резервных соединений в мышцах, которые требуют большого количества АТФ. Эти результаты согласуются с данными, полученными для молоди лосося, выращиваемой в условиях постоянного освещения на Выгском рыбоводном заводе (район Белого моря) (Churova et al., 2020). Уровень аэробного обмена в мышцах сеголетков лосося из всех исследуемых групп был наиболее высоким в ноябре, и при этом наблюдалась положительная корреляция активности ЦО с массой и длиной рыб. Повышение активности ЦО также может быть связано с подготовкой молоди лосося к смолтификации (Churova et al., 2017). Так, определенные показатели липидного обмена, исследованные у сеголетков лосося в этом же эксперименте

(Мурзина и др., 2023), свидетельствовали об инициации процессов подготовки к смолтификации.

Низкий уровень анаэробного обмена, согласно данным по активности ЛДГ в мышцах рыб в ноябре, был характерен для группы ЕстФ КД. Ранее подобные результаты были получены для сеголетков лосося, выращиваемых в условиях Выгского рыбоводного завода (Churova et al., 2020), при этом масса рыб и уровень анаэробного обмена мышц были выше у рыб, взятых для биохимического анализа спустя месяц после включения постоянного освещения по сравнению с контрольной группой (без дополнительного освещения). Таким образом, высокий уровень анаэробного обмена мышц коррелировал с высокой скоростью роста рыб. Постоянное освещение могло косвенно повлиять на темпы прироста мышечной массы рыб посредством стимуляции их двигательной активности (Boeuf, Le Bail, 1999). Анаэробный гликолиз является основным механизмом, который обеспечивает энергией мышечные сокращения во время рывкового плавания. Повышение активности ЛДГ у мальков лосося связано с необходимостью обеспечения энергетических потребностей работающих мышц при движении рыбы против течения во время двигательной пищевой активности. Положительная корреляция между активностью изофермента ЛДГ-А4 в мышцах и увеличением мышечной массы (Ahmad, Hasnain, 2005), а также между общей активностью ЛДГ и скоростью плавания (Guderley, 2004) была показана для некоторых видов рыб.

Положительная корреляция уровня активности ЛДГ в мышцах с массой лосося во всех группах, вероятно, связана с возрастающей потребностью в энергетическом обеспечении процессов роста рыб по мере увеличения их массы и плавательной активности. Согласно результатам исследований, проведенных на пятнистой зубатке (Immsland et al., 2006), атлантической треске (Couture et al., 1998; Koedijk et al., 2010), молоди сайды (Mathers et al., 1992), радужной форели (Чурова и др., 2010) и личинках лосося (Чурова и др., 2015), активность ЛДГ в белых мышцах рыб положительно коррелирует с темпами их роста, а также с массой и длиной тела.

Альдолаза в мышцах характеризует уровень использования углеводов в гликолизе (Llewellyn et al., 1998) и в последующем аэробном и анаэробном синтезе АТФ. Значения активности этого фермента в ноябре у рыб в группе ЕстФ КД были самыми высокими, а в группе 24С КК — самыми низкими. Можно предположить, что у рыб из группы с естественным освещением в энергетическом обмене преимущественно используются углеводы, в то время как у рыб из группы 24С КК для этих целей могут расходоваться и другие субстраты. Так, согласно исследованию (Мурзина

и др., 2023) в рамках обсуждаемого эксперимента было установлено, что значение соотношения энергетических липидов к структурным — ТАГ/ФЛ достоверно ниже у сеголетков из “контроля” (24С КК), что указывает на усиление энергетического обмена и на участие именно запасных липидов в поддержании энергетических потребностей организма в этот период.

Динамика изменений активности ЛДГ и альдолазы за период исследования и положительная корреляция этих показателей с массой рыб может указывать на увеличение использования углеводов в анаэробном гликолизе по мере того, как рыба набирает вес, что достигается за счет повышения пищевой активности сеголетков, содержащихся при постоянном освещении (Boeuf, Le Bail, 1999).

В нашем раннем исследовании влияния световых режимов на рост сеголетков лосося в условиях естественного колебания температур в северном регионе (Chugova et al., 2020) активность альдолазы в мышцах была выше у особей в группе, содержащейся при постоянном освещении в период с сентября до конца октября. Вероятно, в условиях уменьшения светового дня осенью, дополнительное освещение позволяло рыбам лучше видеть корм и активнее питаться по сравнению с молодь, выращиваемой при других режимах освещения. Следует отметить, что по сравнению с данными настоящего исследования, активность альдолазы во всех группах молоди лосося, выращиваемой на Выгском рыбзаводе (регион Белого моря), снизилась к концу октября, что, очевидно, связано со снижением кормовой активности и уменьшением количества подаваемого корма при снижении температуры воды. Условия постоянных температур в южном регионе (Северная Осетия-Алания) позволяют сеголеткам продолжать активно питаться и расти в осенний период.

Активность ферментов в печени сеголетков лосося

Установлено, что активность всех исследуемых ферментов в печени рыб (кроме ЛДГ) изменялась в зависимости от месяца исследования, а на активность ПК оказывал влияние также и фактор принадлежности к исследуемой группе. Уже через месяц после начала эксперимента (в октябре) в печени сеголетков в группе ЕстФ КД активность ПК была самой низкой по значению, а также наблюдалась тенденция к сравнительно более низкому уровню ЦО, что также согласовывалось с низкой активностью этого фермента в мышцах. Можно сделать предположение, что у сеголетков при естественном освещении ниже интенсивность образования пирувата и использования его в аэробном синтезе АТФ. Такие различия в активности ПК наблюдались только в первый месяц исследования. Согласно данным Метон с коллегами (Meton et al.,

1999), уровень активности ПК в печени отражает условия кормления, в частности, он снижается во время голодания рыб. Возможно, что в результате введения новых условий выращивания, связанных с ограничением времени освещения и изменением режима кормления (только в светлое время), у сеголетков из группы ЕстФ КД в последующем произошла перестройка метаболизма, что могло привести к снижению интенсивности питания. Свет является для лосося обязательным условием для питания, он необходим для поиска пищи. Вероятно, что, когда количество естественного света уменьшается, молодь, выращиваемая при введении в технологический цикл дополнительного постоянного освещения, получает достаточное количество корма. Имеются сведения о том, что увеличение продолжительности светового дня вызывает повышение уровня гормона роста (соматотропина) у атлантического лосося (Bjornsson et al., 1989), что, в свою очередь, повышает плавательную активность и аппетит рыб и стимулирует их пищевую активность.

Уровень аэробного обмена в печени рыб в группе ЕстФ КД повышался к ноябрю и был выше, чем в группе 24С КД. Следует отметить, что уровень активности ПК в печени у сеголетков во всех группах увеличивался к ноябрю (рис. 26). При этом у особей в группе ЕстФ КД, активность ПК увеличивалась вместе с активностью ЦО, что говорит об усилении интенсивности аэробного пути гликолиза. У особей в группе 24С КК, так же, как и в группе 24С КД, уровень активности ПК к ноябрю повышался, а уровень активности ЦО не изменялся. Это позволяет предположить, что повышается интенсивность образования пирувата, который может использоваться как в аэробном синтезе АТФ, так и в качестве предшественника для синтеза жирных кислот (Meton et al., 1999). На это указывают и данные аналогичного эксперимента (Мурзина и др., 2023), показавшие увеличение у сеголетков к ноябрю содержания некоторых классов жирных кислот, в том числе свидетельствующих о начале подготовки лососей к смолтификации.

Особь, выращиваемые при постоянном режиме освещения и круглосуточном кормлении (24С КК), ко второму месяцу исследования отличались от таковых из других групп более низким уровнем альдолазы в печени, а также в мышцах, что, как известно (Llewellyn et al., 1998), указывает на снижение уровня использования углеводов в энергообеспечении мышц и интенсивности глюконеогенеза в печени.

Значения активности ферментов 1-ГФДГ и Г-6-ФДГ из всех исследуемых групп изменялись на протяжении эксперимента (сентябрь–ноябрь). Г-6-ФДГ является ключевым ферментом пентозофосфатного пути, в котором происходит

образование пентоз и генерируется восстановитель в форме НАДФН, использующийся в реакциях биосинтеза жирных кислот, холестерина (Tian et al., 1998). Повышение активности Г-6-ФДГ в печени лососей в октябре может свидетельствовать о том, что глюкоза используется в ПФП и дальнейших путях биосинтеза, в частности в процессах синтеза жирных кислот (Meton et al., 1998; Gauthier et al., 2008). Роль 1-ГФДГ в печени связана главным образом с процессом образования глицерофосфата из углеводов, который используется для синтеза структурных и запасных липидов (Hartman, Sheridan, 1992; Treberg et al., 2002). Уровень активности 1-ГФДГ в печени рыб во всех группах в ноябре и октябре был ниже, чем в сентябре. Поэтому можно предположить снижение уровня использования продуктов распада углеводов в липидном обмене у исследуемых особей на протяжении эксперимента по сравнению с первоначальными значениями в сентябре. Эти результаты согласуются со снижением содержания общих липидов и основных липидных классов у сеголетков лосося в аналогичном эксперименте (Мурзина и др., 2023).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования указывают на то, что постоянное освещение оказывало положительное влияние на прирост массы сеголетков лосося в процессе развития, что согласовывалось с повышением уровня аэробного обмена в мышцах и усилением использования углеводов в гликолизе в печени рыб. Порядок кормления, как самостоятельный фактор, не повлиял на активность ферментов. Однако сочетания различных режимов освещения и кормления оказали влияние на характер использования субстратов в энергетическом обмене в мышцах и печени. Установлена положительная динамика активности ЦО и ЛДГ в мышцах и ПК в печени сеголетков лососей из всех исследуемых групп в процессе роста и развития с сентября по октябрь, свидетельствующая об увеличении уровней аэробного и анаэробного обмена в мышцах и гликолиза в печени, необходимых для осуществления процессов биосинтеза, способствующих росту особей и, возможно, подготовке к смолтификации.

Представленные в настоящей работе результаты дополняют сведения о роли факторов среды в реализации биохимических адаптаций у молоди лососевых рыб в условиях аквакультуры с учетом климатических и экологических особенностей региона.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают глубочайшую благодарность главному рыбоводу предприятия М. Горбунову за курирование эксперимента, проведение необходимых

рыбохозяйственных мероприятий, сбор биоматериала, компетентные консультации и рекомендации в ходе реализации исследования. Исследование было выполнено на научном оборудовании ЦКП КарНЦ РАН.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа проведена при финансовой поддержке проекта Российского научного фонда № 19-14-00081-П “Влияние физических факторов на эффективность искусственного (заводского) воспроизводства молоди атлантического лосося *Salmo salar*: физиолого-биохимическая и молекулярно-генетическая характеристика”.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и институциональные принципы использования животных в экспериментах и условия ухода за ними были соблюдены.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что какой-либо конфликт интересов отсутствует.

ИНФОРМАЦИЯ О ВКЛАДЕ АВТОРОВ

М.В. Кузнецова — обсуждение результатов исследования, написание и подготовка публикации; М.А. Родин, сбор биологического материала в ходе экспедиции, пробоподготовка и проведение лабораторного анализа образцов, анализ и статистическая обработка полученных данных, подготовка публикации; М.Ю. Крупнова, пробоподготовка и проведение лабораторного анализа образцов; Н.С. Шульгина обсуждение результатов исследования; подготовка публикации; А.Е. Курицын — постановка и ведение эксперимента, обсуждение результатов исследования, подготовка публикации; С.А. Мурзина — обсуждение результатов исследования, подготовка публикации, Н.Н. Немова — руководитель проекта, обсуждение результатов исследования, подготовка публикации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ивантер Э.В., Коросов А.В. Элементарная биометрия. Петрозаводск, 2010. 104 с.
- Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. М.: Высшая школа, 1980. 272 с.
- Мурзина С.А., Провоторов Д.С., Воронин В.П., Кузнецова М.В., Курицын А.Е., Немова Н.Н. Показатели липидного обмена у сеголетков атлантического лосося *Salmo salar*, выращиваемых в условиях аквакультуры в Южном Регионе РФ при дифференциальных режимах освещения и кормления // Известия РАН. Сер. Биол. 2023. № 2.
- Озернюк Н.Д. Энергетический обмен в раннем онтогенезе рыб. М.: Наука, 1985. 175 с.

- Чурова М.В., Мецзякова О.В., Немова Н.Н. Взаимосвязь линейно-весовых характеристик с активностью некоторых ферментов и молекулярно-генетическими показателями в белых мышцах сигов разных возрастных групп из озера Каменное (Республика Карелия) // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 2010. С. 304–311.
- Чурова М.В., Мецзякова 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. С. 304–312.
- Ahmad R., Hasnain A.U. Ontogenetic changes and developmental adjustments in lactate dehydrogenase isozymes of an obligate air-breathing fish *Channa punctatus* during deprivation of air access // Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology. 2005. V. 140. № 2. P. 271–278.
- Biswas A.K., Seoka M., Inoue Y., Takii K., Kumai H. Photoperiod influences the growth, food intake, feed efficiency and digestibility of red sea bream (*Pagrus major*) // Aquaculture. 2005. V. 250. № 3–4. P. 666–673.
- Björnsson B.T. et al. Photoperiod and temperature affect plasma growth hormone levels, growth, condition factor and hypothyroidism ability of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) during parr-smolt transformation // Aquaculture. 1989. V. 82. № 1–4. P. 77–91.
- Björnsson B.T., Hemre G.I., Bjørnevik M., Hansen T. Photoperiod regulation of plasma growth hormone levels during induced smoltification of underyearling Atlantic salmon // General and Comparative Endocrinology. 2000. V. 119. № 1. P. 17–25.
- Boeuf G., Le Bail P.Y. Does light have an influence on fish growth? // Aquaculture. 1999. V. 177. № 1–4. P. 129–152.
- 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. V. 72. P. 248–254.
- Bücher T., Pfleiderer G. Pyruvate kinase from muscle // Methods in Enzymology. 1955. V. I. P. 345–440.
- Churova M.V., Meshcheryakova O.V., Veselov A.E., Efremov D.A., Nemova N.N. Activity of metabolic enzymes and muscle-specific gene expression in parr and smolts Atlantic salmon *Salmo salar* L. of different age groups // Fish Physiology and Biochemistry. 2017a. V. 43. № 4. P. 1117–1130.
- Churova M.V., Shulgina N., Kuritsyn A., Krupnova M.Y., Nemova N.N. 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. V. 239. P. 110330.
- Couture P., Dutil J.D., Guderley H. Biochemical correlates of growth and condition in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) from Newfoundland // Canadian J. Fisheries and Aquatic Sciences. 1988. V. 55. № 7. P. 1591–1598.
- 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.
- Guderley H. Locomotor performance and muscle metabolic capacities: impact of temperature and energetic status // Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology. 2004. V. 139. № 3. P. 371–382.
- Harmon J.S., Sheridan M.A. Glucose-stimulated lipolysis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver // J. Fish Physiol. and Biochem. 1992. V. 10. P. 189–199.
- Imsland A.K., Le Francois N.R., Lammare S.G., Ditlecadet D., Sigurosson S., Foss A. Myosin expression levels and enzyme activity in juvenile spotted wolffish (*Anarhichas minor*) muscle: a method for monitoring growth rates // Can J. Fish Aquat. Sci. 2006. V. 63. P. 1959–1967.
- Koedijk R.M., Le François N.R., Blier P.U., Foss A., Folkvord A., Ditlecadet D., Lammare S.G., Stefánsson S.O., Imsland A.K. Ontogenetic effects of diet during early development on growth performance, myosin mRNA expression and metabolic enzyme activity in Atlantic cod juveniles reared at different salinities // Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology. 2010. V. 156. № 1. P. 102–109.
- 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 // Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression. 1998. V. 1443(3). P. 375–380.
- Mathers E.M., Houlihan D.F., Cunningham M.J. Nucleic acid concentrations and enzyme activities as correlates of growth rate of the saithe *Pollachius virens*: growth-rate estimates of open-sea fish // Marine Biology. 1992. V. 112. P. 363–369.
- Metón I., Mediavilla D., Caseras A., Cantó E., Fernández 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*) // British J. Nutrition. 1999. V. 82. № 3. P. 223–232.
- Migaud H., Davie A., Taylor J.F. Current knowledge on the photoneuroendocrine regulation of reproduction in temperate fish species // J. Fish Biol. 2010. V. 76. № 1. P. 27–68.
- Smith L. Spectrophotometric assay of cytochrome c oxidase // Methods in Biochem Analysis. 1995. V. 2. P. 427–434.
- 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.
- Sonmez A.Y., Hisar O., Hisar S.A., Alak G., Aras M.S., Yanik T. The effects of different photoperiod regimes on growth, feed conversion rate and survival of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry // J. Anim. Vet. Adv. 2009. V. 8. P. 760–763.
- Taylor J.F., North B.P., Porter M.J.R., Bromage N.R., Migaud H. Photoperiod can be used to enhance growth and improve feeding efficiency in farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // Aquaculture. 2006. V. 256. № 1–4. P. 216–234.
- Tian W.N., Braunstein L.D., Pang J., Stuhlmeier K.M., Xi Q.C., Tian X., Stanton R.C. Importance of glucose-6-phos-

- phate dehydrogenase activity for cell growth // J. Biol. Chem. 1998. V. 273. P. 10609–10617.
- 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.
- Wootton R.J. Growth: environmental effects // Encyclopedia of Fish Physiology: From Genome to Environment / Ed. Farrell A.P. San Diego: Academic Press, 2011. V. 3. P. 1629–1632.

The Influence of Different Lighting and Feeding Regime on the Activity of Energy Metabolism Enzymes in Farmed Atlantic Salmon Fingerlings

M. V. Kuznetsova^{1, *}, M. A. Rodin¹, N. S. Shulgina¹, M. Yu. Krupnova¹,
A. E. Kuritsyn¹, S. A. Murzina¹, and N. N. Nemova¹

¹*Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences,
ul. Pushkinskaya 11, Petrozavodsk, 185910 Russia*

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

The effect of constant and natural lighting modes in combination with different feeding regimes on the activity of energy and carbohydrate metabolism enzymes in the muscles and liver of salmon under-yearlings artificially grown in aquaculture in the southern region of Russia was investigated. The revealed differences in the activity of the studied enzymes in under-yearlings indicate changes in the level of energy metabolism and the use of carbohydrates in the processes of ATP synthesis and other biosynthesis pathways in muscles and liver, depending on lighting conditions and in combination with the feeding regime. The high level of aerobic metabolism in the muscles and the increased use of carbohydrates in glycolysis in the liver in salmon fingerlings raised under constant light corresponded to their highest average weight gain. In individuals from all experimental groups, changes in the activity of the studied enzymes were found in dependence on the time after the start of the experiment, that indicated an increase in the levels of aerobic and anaerobic metabolism in muscles and glycolysis in the liver, necessary for the biosynthesis processes during growth.

Keywords: photoperiod, Atlantic salmon, activity of enzymes of energy metabolism