

О. Ф. ЯВОНЕНКО, доктор біологічних наук

В. В. ГРУБІНКО, А. О. ЖИДЕНКО, кандидати біологічних наук

Чернігівський педагогічний інститут

## ДИНАМІКА ВУГЛЕВОДІВ У ТКАНИНАХ МОЛОДІ КОРОПА В ПРОЦЕСІ ЗИМІВЛІ

*Досліджено динаміку вуглеводів і можливість їх утворення в тканинах молоді коропа при зимівлі в умовах виробничих ставів. Встановлено, що основним механізмом утворення глюкози у зимуючих риб є глюконеогенез, який відбувається переважно в печінці. Порушення даного адаптивного механізму передбачається розглядати як одну з основних причин загибелі коропа в умовах зимового голодання.*

Вуглеводи — найбільш лабільні й легко мобілізовані енергетичні субстрати в тканинах хребетних, що використовуються як в аеробних, так і анаеробних умовах. Відомо, що у пойкилотермних організмів вони відіграють суттєву роль у енергетичному обміні мозку, нервової тканини, червоних кров'яних тілець, статевих залоз (Walton M. J., 1982). Проте достатньо повно вуглеводний обмін вивчено тільки у морських риб. Щодо ставових, то дещо відомо про зміни вмісту вуглеводів та рівень активності ферментів їх обміну в умовах дії деяких факторів зовнішнього середовища, наприклад, температури, в лабораторних умовах (Малиновська М. В., 1988). Метою нашого дослідження стало вивчення динаміки вуглеводів і можливості їх утворення шляхом глюконеогенезу протягом зимівлі.

**Методика досліджень.** Дослідження проводили на ставовому коропі (*Surgipus sagrio* L.) віком до одного року масою 30—40 г. У літній період молодь риби годували за фізіологічними нормами. Спочатку поряд з природною кормовою базою використовували стартові корми. Згідно з рекомендаціями по годівлі далі застосовували гранульований концентрат (рецепт К III—3/86/7 укр. 894 рг.) Густота посадки у вирощувальних ставах перед зимівлею становила 50 тис. на 1 га. В зимувальних ставах її показник досягав 500 тис. на 1 га. Дослідження проводили протягом зимівлі: у вересні — перед зимівлею, у лютому — всередині зимівлі і у квітні — вихід риб із зимівлі. В останньому випадку за зворотною реакцією на подразнення, поведінкою та зовнішніми ознаками риб розділяли на дві групи: 1-а — сильні і 2-а — слабкі (Лизенко Е. М. та ін., 1985). Показники гідрохімічного режиму води зимувального ставу наведено в таблиці 1.

Подвижку риби, що зимує, не спостерігали. Вміст глюкози і глікогену визначали за Зейфтером фотометричним методом, вимірюючи інтенсивність кольорової реакції з о-Толуїдиновим реактивом (Асатиани В. С., 1957).

Можливість утворення в організмі коропа глюкози з неуглеводних компонентів оцінювали за інтенсивністю реакцій глюконеогенезу. Активність глюкозо-6-фосфатази та фруктозо-1,6-дифосфатази визначали згідно з рекомендаціями С. П. Львова (1985) та В. Н. Ореховича (1964) по утворенню ортофосфату, який визначали за Фіске і Суббароу (1925).

Для глюкозо-6-фосфатази інкубаційна суміш містила 0,3 мл 0,087 М цитратного буферу рН 6,5; 0,1 мл М Г-6-фосфату; 0,2 мл досліджуваного ферментного розчину. Для фруктозо-1,6-дифосфатази інкубаційна суміш складалася із 0,5 мл 0,2 М трис-вСІ буферу рН 7,5; 0,3 мл 0,1 М СІ<sub>2</sub>; 0,15 мл 0,0 М Ф-1,6-дифосфату, 0,2 мл досліджуваного ферментного розчину. Ферментативну активність виражали у мікромолях Р<sub>i</sub> на 1 мг білка за 1 хв. Ферментний препарат одержували загальноприйнятим методом диференційного центрифугуван-

ня гомогенатів тканин, виготовлених на 0,25M р-ині сахарози у співвідношенні 1:10.

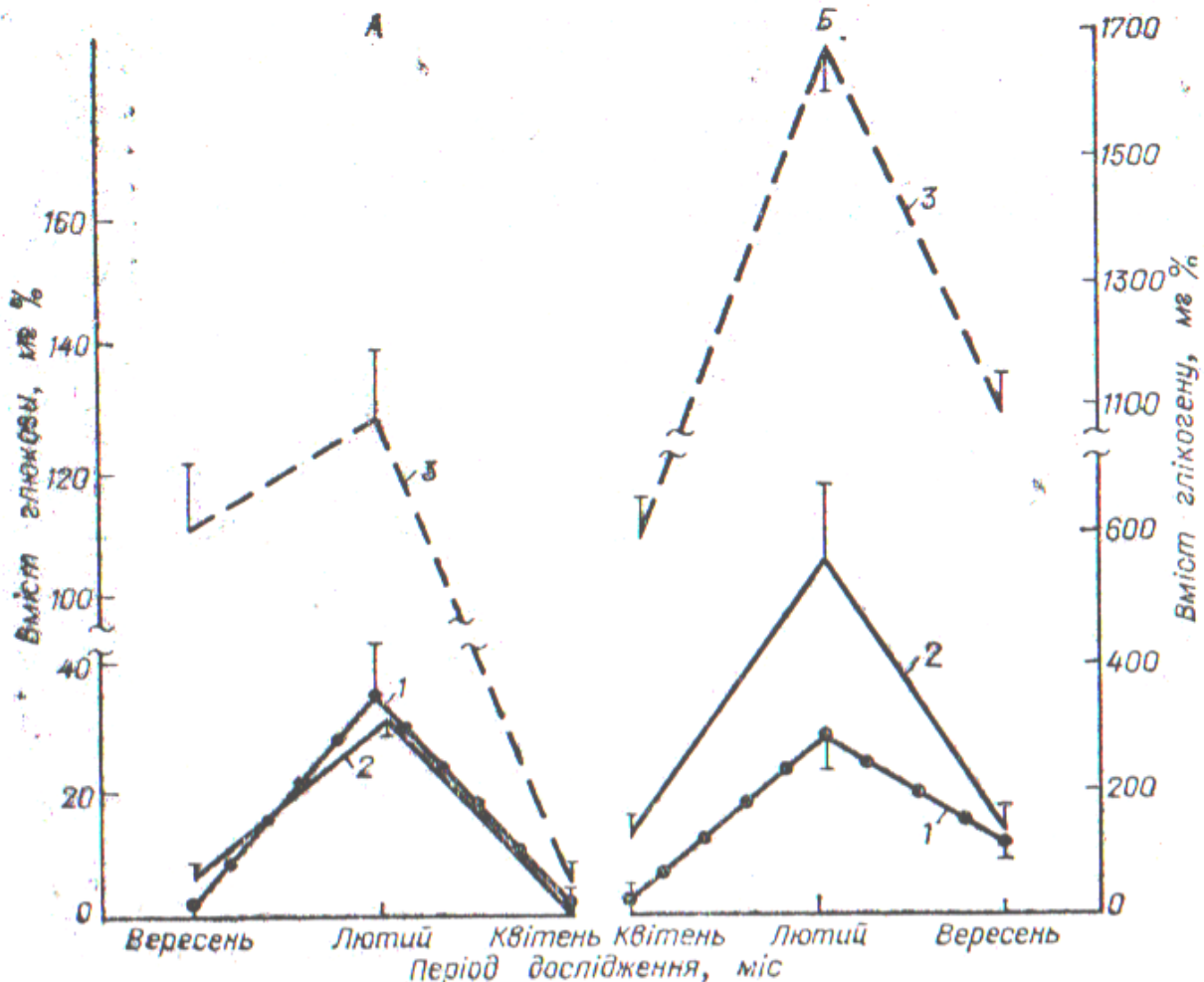
Вміст білка визначали за методом Лоурі. Результати були піддані статистичній обробці за Ойвіним І. А.

**Результати досліджень.**

Установлено, що восени вміст глікогену в печінці у вісім разів перевищує його нагромадження у мозку і в 10 разів — у скелетних м'язах (рис. 1) Розподіл глюкози в тканинах у цей період аналогічний. Максимальну кількість її знайдено в печінці, у мозку — у 23 рази менше, у скелетних м'язах — у 45 разів (див. рисунок 1). До середини зими вміст глікогену й глюкози зростає в усіх тканинах. Цей факт пов'язуємо як із зниженням активності ферментів катаболізму вуглеводів, так і із збільшенням інтенсивності їх утворення. Раніше встановлено, що в період переднерестової міграції у тривало голодуючих риб, наприклад, у міноги та лососів, можливе утворення глікогену з білків та ліпідів (Романенко В. Д., 1978, Walton M. J., 1982). Нами досліджена можливість такого шляху в молоді коропа при зимовому голодуванні. Вивчаючи активність ключових ферментів глюконеогенезу — глюकोзо-6-фосфатази і фруктозо-1,6-дифосфатази, — ми встановили збільшення активності першого з них у м'язах та активності обох у печінці в лютому порівняно із жовтнем. Активність глюконеогенезу в печінці імовірно пов'язана з недостатнім на-

### 1. Гідрохімічний аналіз води дослідного зимувального ставу

Показник	Вересень	Лютий	Квітень
Температура води, °C	6,1	3,2	4,0
Вміст O <sub>2</sub> , мг/л	7,3	12,5	10,4
Окислюваність за Кубелем	14,3	9,0	9,7
Вміст CO <sub>2</sub> , мг/л	6,4	5,1	6,0
Кальцій, мг/л	41,0	56,0	43,0
Магній, мг/л	10,2	28,1	10,4
Залізо (загальне), мг/л	0,07	0,8	0,08



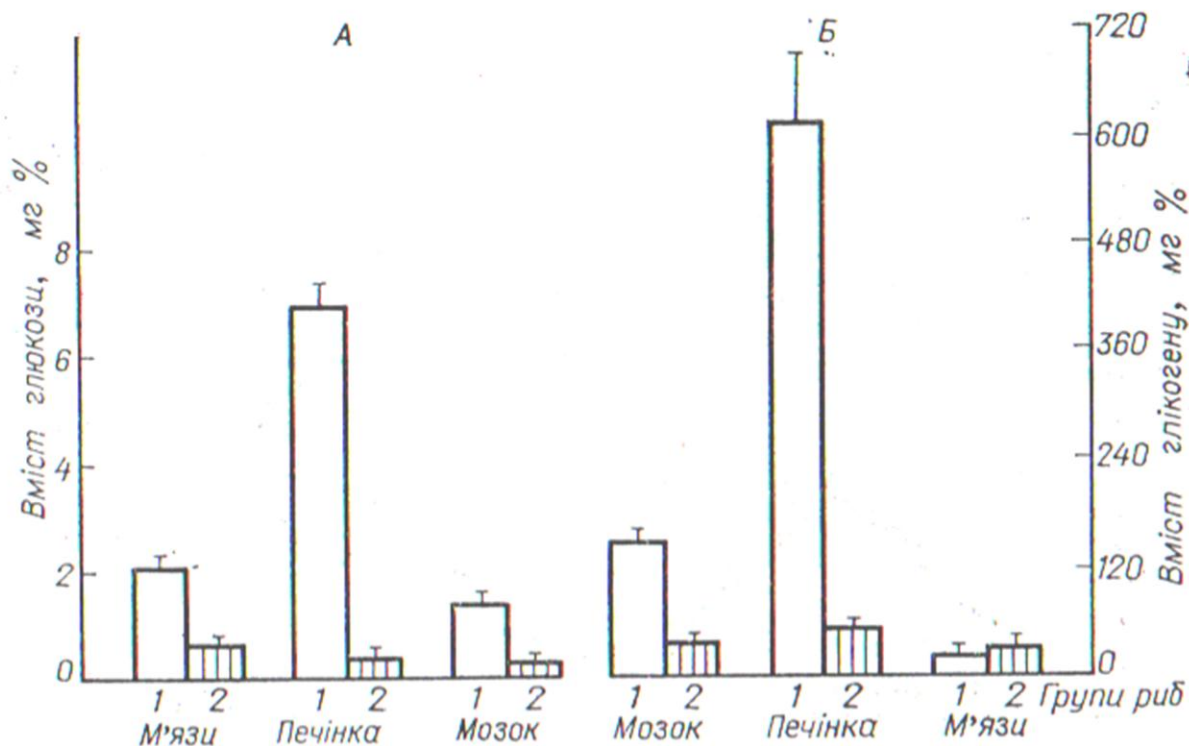
1. Вміст глюкози (А) і глікогену (Б) у тканинах молоді коропа в процесі зимівлі: 1 — м'язи; 2 — мозок; 3 — печінка

2. Активність глюкозо-6-фосфатази, фруктозо-1,6-дифосфатази в м'язах та печінці молоді коропа у процесі зимівлі (мкмоль P<sub>1</sub> на 1 мг білка за 1 хв; M±m; n = 9)

Дата дослідження	Активність			
	глюкозо-6-фосфатази		фруктозо-1,6-дифосфатази	
	м'язи	печінка	м'язи	печінка
Жовтень	0,12±0,02	1,56±0,28	0,88±0,11	0,34±0,06
Лютий	0,24±0,04	2,02±0,13	0,42±0,05	0,56±0,08
Квітень				
Група:				
перша	0,07±0,01	1,58±0,14	0,76±0,15	0,28±0,05
друга	0,09±0,02	0,81±0,16 *	0,50±0,01	—

Примітка. — активність не виявлено; різниця показників між досліджуваними групами статистично вірогідна: \* — p < 0,02

громадженням вуглеводів у передзимувальний період. Виявлено переважання збільшення швидкості глюконеогенезу в печінці, де активність досліджуваних ферментів у 8—22 рази вища, ніж у м'язовій тканині. Дані про переважання вмісту вуглеводів у печінці під час зимівлі, наведені раніше, а також факт посилення процесів глюконеогенезу в середині зимівлі підтверджують висновок про провідну роль печінки у вуглеводній адаптації риб до умов зимового голодування (Романенко В. Д., 1978). Субстратне забезпечення глюконеогенезного шляху утворення вуглеводів відбувається внаслідок посилення використання запасних енергетичних субстратів — білків та ліпідів. У період зимового голодування відмічено зростання активності протеолітичних ферментів, ферментів деамінування амінокислот (Сидоров В. С., 1987). Крім того, наприклад, у японського вугра виявлено високий рівень глюконеогенезу з використанням гліцеролу у якості вихідного субстрату (Repaud J. M. No on T., 1980). Нами було показано (Жиденко А. А., 1990), що до середини зимівлі посилюється гліколітичне окислення глюкози у м'язовій тканині. Це призводить до збільшення вмісту лактату. Відомо, що молочна кислота — один із основних субстратів глюконео-



2. Вміст глюкози (А) і глікогену (Б) у тканинах двох груп риб після зимівлі:

1 — сильні; 2 — слабкі

генезу (Suarez R. K., 1986). У зв'язку з цим у печінці збільшення вмісту лактату є доказом активації глюконеогенезу в лютому. Як наслідок, відбувається нагромадження вуглеводів. Створений таким чином надлишок глікогену у тканинах коропа весною дає можливість організму одержувати глюкозу, як звичайно, шляхом глікогенолізу, зберігаючи тим самим дефіцитні макроенергетичні сполуки, які могли б бути використані за умов перебігу глюконеогенезу з тією ж швидкістю. Як доказ цього є зниження активності Г-6-фосфатази і Ф-1,6-дифосфатази у квітні (табл. 2). Цим пояснюємо і зменшення порівняно з лютим вмісту глюкози та глікогену (див. рисунок 1). Зіставляючи показники у жовтні за вмістом глікогену в мозку, глюкози — у м'язах з аналогічними показниками в квітні, відмічаємо деякі відмінності. Вміст глікогену в мозку після зимівлі перевищує осінні показники. Тому можна вважати, що суттєвого нагромадження вуглеводів у жовтні немає. Звідси можна стверджувати про недостатню участь вуглеводів у енергозабезпеченні периферійних тканин, а це в свою чергу стимулює глюконеогенез у печінці. За умов зниження вмісту вуглеводів у квітні, особливо у слабких особин (рис. 2), спостерігається порушення в адаптивному механізмі енергозабезпечення вуглеводами у молоді коропа в кінці зимівлі, що ми вважаємо як одну з причин їх загибелі.

**Висновки.** Нагромадження резервних вуглеводів у молоді коропа перед зимівлею не виявлено. У зв'язку з цим головним механізмом утворення глюкози у зимуючих риб є глюконеогенез, який здійснюється переважно в печінці. Розлад зазначеного адаптивного механізму розглядаємо як можливу причину загибелі зимуючого коропа. Пропонуємо активність ферментів глюконеогенезу в печінці риб як тест-метод для оцінки стану молоді коропа у процесі зимівлі.

## БІБЛІОГРАФІЧНИЙ СПИСОК

1. Асатиани В. С. Определение гликогена по Зейфтеру // Биохимическая фотометрия.— М.: Изд-во АН СССР, 1957.— С. 452—453.
2. Жиденко А. А., Яковенко Б. В., Явоненко А. Ф. Состояние энергогенерирующей системы в тканях у зимующей молодежи карпа // Гидробиол. журн.— 1990.— № 61.— 26 с.
3. Львова С. П. Фосфорилазная и глюкозо-6-фосфатазная активность в тканях крыс в онтогенезе // Укр. биохим. журн.— 1985.— 57, № 1.— С. 36—41.
4. Малиновская М. В. Особенности липидного и углеводного обмена у карпа (*Cyprinus carpio* L.) при температурной акклимации: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— К., 1988.— 17 с.
5. Романенко В. Д. Печень и регуляция межклеточного обмена.— К.: Наук. думка, 1978.— 184 с.
6. Сидоров В. С., Калиман П. А., Яржомбек А. А. Биохимические изменения в печени и мышцах сеголеток карпа в период зимовки // Биохимия молодежи рыб в зимовальный период.— Петрозаводск: Кар. фил. АН СССР, 1987.— С. 5—16.
7. Современные методы в биохимии / Под ред. В. Н. Ореховича.— М.: Медицина, 1964.— 345 с.
8. Renaud J. M., Moon T. W. Starvation and metabolism of hepatocytes isolated from the American cel. *Anguilla rostrata* Le Sucur // J. Comp. Physiol.— 1980.— 135.— P. 127—137.
9. Fiske C. H., Subbarow J. The colorimetric determination of phosphorus // Ibid.— 1925.— 66, N 1.— P. 375—400.
10. Suarez R. K., Mommsen T. P. Gluconeogenesis in teleost fishes // Can. J. Zool.— 1986.— 65, N 8.— P. 1869—1882.
11. Walton M. J., Cowey C. B. Aspects of intermediary metabolism in salmonid fish // Comp. Biochem. Physiol.— 1982.— 73, N 1.— P. 59—79.

Одержано редколегією 25.06.92.

*Исследовано динамику углеводов и возможность их образования в тканях молодежи карпа при зимовке в условиях производственных прудов. Определено, что основным механизмом образования глюкозы у зимующих рыб является глюконеогенез, который происходит преимущественно в печени. Нарушения данного адаптивного механизма предполагается рассматривать как одну из основных причин гибели молодежи карпа в условиях зимнего голодания.*