



УДК 597.5-113.32(282.253.11.05)

АКТИВНОСТЬ ПЕПТИДАЗ И ГЛИКОЗИДАЗ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА У НЕКОТОРЫХ ВИДОВ КОСТИСТЫХ РЫБ ВЬЕТНАМА

© 2022 г. **В. В. Кузьмина¹**, **Е. Е. Слынько^{1,2}**, **Е. А. Куливацкая¹**,
Е. П. Карпова², **Динь Ку Нгуен²**

¹Институт биологии внутренних вод имени И. Д. Папанина Российской академии наук, пос. Борок,
Российская Федерация

²Южное отделение Совместного российско-вьетнамского тропического научно-исследовательского
и технологического центра, Хошимин, Вьетнам

E-mail: elena.slynko.76@mail.ru

Поступила в редакцию 16.12.2020; после доработки 11.08.2021;
принята к публикации 24.12.2021; опубликована онлайн 22.03.2022.

Впервые исследованы активность и pH-зависимость пищеварительных ферментов у рыб, обитающих в дельте р. Меконг: стеклянного окуня *Parambassis wolfyii*, мелкочешуйного горбыля *Boesemania microlepis*, пангасиуса *Pangasius macronema* и представителей семейства Сурприниде. Выявлены значительные межвидовые различия в уровне активности пептидаз и гликозидаз, обеспечивающих гидролиз белковых и углеводных компонентов пищи. Наибольшие межвидовые различия характерны для гликозидаз: уровень ферментативной активности у рыб сем. Сурприниде превышает таковой у стеклянного окуня *P. wolfyii* в 13,6 раза. Различия в уровне активности пептидаз у рыб разных видов ниже: в случае активности ферментов желудка у стеклянного окуня *P. wolfyii* значения выше таковых для пангасиуса *P. macronema* в 1,8 раза, в случае суммарной активности ферментов желудка и кишечника у тех же видов — в 1,5 раза. Полученные данные подтверждают представления о зависимости активности пищеварительных гидролаз от спектра питания рыб. Активность ферментов кишечника значительно снижается в кислой зоне pH, чем в щелочной. Следовательно, закисление энтеральной среды будет негативно влиять на процессы пищеварения у этих видов рыб.

Ключевые слова: Вьетнам, пищеварительные ферменты, *Parambassis wolfyii*, *Boesemania microlepis*, *Pangasius macronema*, Сурприниде

В дельте реки Меконг расположены две крупные экосистемы — пресноводная и эстуарная. В настоящее время из-за сокращения речного стока, климатических изменений и ряда других факторов природного и антропогенного характера отмечено экстремальное осолонение воды в дельте Меконга (Tuan et al., 2007). В связи с этим необходимым является изучение различных аспектов биологии и физиологии пресноводных индикаторных видов. В качестве одного из таких видов рыб, обитающих в р. Меконг, предложено использовать стеклянного окуня *Parambassis wolfyii* (Bleeker, 1850), регулярно мигрирующего из мест нереста и нагула в пойме реки в глубокие участки главного русла. Рыбы этого вида являются ихтиофагами — факультативными бентофагами, рацион которых составляют мелкие пелагические рыбы, ракообразные и насекомые (Rainboth, 1996 ; Tran et al., 2013).

В отличие от стеклянного окуня *P. wolfii*, мелкочешуйный горбыль *Boesemania microlepis* (Bleeker, 1858) — это немигрирующий вид, постоянно обитающий в пресной воде. Питается преимущественно ракообразными (креветками), а также рыбой и насекомыми (Baird et al., 2001). Пангасиус *Pangasius macronema* — эврифаг, в состав пищи которого входят представители бентоса, в том числе моллюски, а также зоопланктон, водоросли, мелкая рыба и детрит (Kottelat & Widjanarti, 2005 ; Taki, 1978). Одними из самых многочисленных мигрирующих видов р. Меконг являются рыбы семейства карповых (Cyprinidae) — *Henicorhynchus lobatus* Smith, 1945, *Henicorhynchus siamensis* (Sauvage, 1881) и серебряный (яванский) барбус *Barbonymus gonionotus* (Bleeker, 1849), совершающий региональные миграции (Jasmine & Begum, 2016). Пища рыб рода *Henicorhynchus* — это представители бентоса и в меньшей степени зоопланктона (Baird et al., 2003); рацион серебряного барбуса *B. gonionotus* — растительность и в меньшей степени мелкие беспозвоночные (Mohsin & Ambak, 1983).

Столь значительные различия в характере питания рыб не могут не отражаться на процессах пищеварения. Как известно, о процессах пищеварения у рыб традиционно судят по уровню активности ферментов слизистой оболочки желудка и кишечника (Кузьмина, 2018 ; Уголев и Кузьмина, 1993 ; Bakke et al., 2011 ; Fange & Grove, 1979 ; Kapoor et al., 1975). Вместе с тем слизистая оболочка желудка и кишечника, помимо однослойного эпителия, включает подслизистую оболочку или строму, основу которой составляет коллагеновый каркас (Веригина и Жолдасова, 1982 ; Kapoor et al., 1975). При сравнении активности одноимённых ферментов в эпителии и строме оказалось, что их уровень сопоставим, а в случае дипептидаз может быть выше в строме, чем в эпителии (Уголев и Кузьмина, 1992). Изначально предполагали, что ферменты стромы выполняют защитную функцию (Кузьмина, 1995), а впоследствии — что они также участвуют в процессах постэпителиального пищеварения (Кузьмина, 2018).

Важно отметить и то, что в желудочном пищеварении рыб особую роль играют ферменты жертвы, участвующие в процессах индуцированного аутолиза, а в кишечном пищеварении — ферменты энтеральной микробиоты (Кузьмина, 2018 ; Уголев и Кузьмина, 1993). При этом в индуцированном аутолизе главную роль играют лизосомальные ферменты различных тканей жертвы, в частности катепсины, гидролизующие белковые компоненты (Высоцкая и Немова, 2008 ; Ashie & Simpson, 1997 ; Wang et al., 2000). Также существуют многочисленные доказательства наличия у разных штаммов энтеральной микробиоты ферментов, аналогичных таковым рыб. Так, протеолитической активностью обладают бактерии родов *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Vibrio*, *Acinetobacter* и *Enterobacter* (Askarian et al., 2012 ; Austin, 2006 ; Belchior & Vacca, 2006 ; Esakkiraj et al., 2009 ; Ganguly & Prasad, 2012 ; Hoshino et al., 1997 ; Ray et al., 2012), а амилолитической — представители родов *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Moraxella* и *Micrococcus* (Austin, 2006 ; Ganguly & Prasad, 2012 ; Izvekova & Plotnikov, 2011 ; Ray et al., 2012 ; Sugita et al., 1997). Поскольку сведения о статусе ферментных систем пищеварительного тракта рыб Вьетнама отсутствуют, представлялось целесообразным оценить интегральные характеристики ферментов, обеспечивающих гидролиз белковых и углеводных компонентов пищи в желудке и кишечнике рыб из этого региона.

Целью работы было оценить активность пептидаз и гликозидаз, обеспечивающих гидролиз белковых и углеводных компонентов пищи в желудке и кишечнике рыб Вьетнама, в широком диапазоне значений pH.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материал собран в реке Хау, входящей в состав дельты Меконга, в паводковый период, 12–17 октября 2019 г. Исследованы желудочные рыбы трёх видов из разных семейств:

- 1) сем. Pangasiidae — пангасиус *Pangasius macronema* (4 экз., масса 15,6–16,5 г);

- 2) сем. Sciaenidae — мелкочешуйный горбыль *Boesemania microlepis*, единственный монотипный вид *Boesemania* (7 экз., масса 29,5–34,1 г);
- 3) сем. Ambassidae — стеклянный окунь *Parambassis wolfii* (18 экз., масса 39,5–74,8 г.).

Также исследованы безжелудочные рыбы сем. Cyprinidae — преимущественно представители родов *Barbonymus* и *Henicorhynchus* (13 экз., масса 6,9–10,7 г.).

Представителей сем. Cyprinidae и пангасиуса *P. macronema* отлавливали в провинции An Giang, район Long Xuyên. Координаты траления (начало — конец): N10.48851°, E105.34119° – N10.47775°, E105.35133°. Стеклянный окунь и мелкочешуйный горбыль отловлены в провинции Cần Thơ, район Thốt Nốt. Координаты траления для первого вида: N10.29886°, E105.52441° – N10.25485°, E105.57977°. Координаты для второго вида: N10.26297°, E105.54821° – N10.21951°, E105.58443°. Температура придонного слоя воды составляла +30,3...+34,1 °С.

У исследованных групп рыб в качестве ферментативно активных препаратов использовали слизистую оболочку кишечника и химус (суммарно). Слизистую оболочку и химус тщательно перемешивали, брали аликвоту и взвешивали для приготовления гомогената. Кишечники каждой рыбы, кроме *P. wolfii* и представителей сем. Cyprinidae, исследовали индивидуально. В случае *P. wolfii* материал был включён в 7 проб, по 2–3 экз. в каждой; в случае представителей Cyprinidae — в 4 пробы, по 3–4 экз. в каждой. Каждую суммарную пробу рассматривали как одну биологическую.

Анализ проводили в широком диапазоне значений pH (2,0–4,0 с интервалом 1,0 в случае желудка и 5,0–11,0 с интервалом 1,0 в случае кишечника) при температуре +25 °С. Протеолитическую активность (суммарная активность трипсина ЕС 3.4.21.4, химотрипсина ЕС 3.4.21.1 и дипептидаз ЕС 3.4.13.1 – ЕС 3.4.13.11) оценивали по увеличению концентрации тирозина с использованием реактива Фолина — Чокалтеу (Kuz'mina et al., 2019); амилалитическую активность (суммарная активность α -амилазы ЕС 3.2.1.1, γ -амилазы ЕС 3.2.1.3 и мальтазы ЕС 3.2.1.20) — по увеличению гексоз с использованием мышьяково-молибденового реактива (Уголев и Иезуитова, 1969). При оценке pH-зависимости ферментов активность определяли в 5 повторах для каждой точки (с учётом начальных количеств тирозина или гексоз в пробе) и выражали в мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹.

Результаты были статистически обработаны с использованием стандартного пакета программ (Microsoft Excel) и представлены в виде «среднее значение \pm стандартная ошибка среднего». Распределение изученных показателей не отличалось от нормального (тест Шапиро — Уилка), поэтому значимость различий оценивали с помощью критерия Стьюдента для малых выборок при $p < 0,001$; $p < 0,01$; $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Активность ферментов. Активности пептидаз в желудке существенно различаются у рыб разных видов (табл. 1).

Так, активность пептидаз в желудке стеклянного окуня *P. wolfii* выше таковой у мелкочешуйного горбыля *B. microlepis* в 1,3 раза, у пангасиуса *P. macronema* — в 1,8 раза. В свою очередь, активность пептидаз в желудке мелкочешуйного горбыля выше таковой у пангасиуса в 1,4 раза. Активность пептидаз в кишечнике оказалась максимальной у мелкочешуйного горбыля *B. microlepis*, минимальной — у стеклянного окуня *P. wolfii*. Вместе с тем суммарная активность пептидаз желудка и кишечника у этого вида была наиболее высокой — 22,75 мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹. Суммарная активность пептидаз желудка и кишечника у мелкочешуйного горбыля *B. microlepis* из этого же района (Cần Thơ) была исключительно близка к таковой стеклянного окуня *P. wolfii* — 21,91 мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹; у пангасиуса *P. macronema* значение

было существенно ниже — $15,08 \text{ мкмоль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$. Активность гликозидаз была значительно выше у безжелудочных рыб, чем у желудочных. Максимальные различия (в 13,6 раза) выявлены при сопоставлении уровня ферментативной активности у рыб сем. Cyprinidae и у стеклянного окуня *P. wolfii*.

Таблица 1. Активность пептидаз и гликозидаз в пищеварительном тракте рыб, обитающих в дельте реки Меконг

Table 1. Activity of peptidases and glycosidases in the digestive tract of fish inhabiting the Mekong Delta

Вид рыбы	Активность ферментов, $\text{мкмоль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$			П/Г
	Желудок	Кишечник		
	Пептидазы	Пептидазы	Гликозидазы	
<i>Pangasius macronema</i>	$9,73 \pm 2,09^*$	$5,35 \pm 1,04^*$	$2,80 \pm 0,10^{**}$	1,9
<i>Boesemania microlepis</i>	$13,86 \pm 0,42^*$	$8,05 \pm 0,94$	$1,85 \pm 0,32^{**}$	4,4
<i>Parambassis wolfii</i>	$17,82 \pm 0,61$	$4,93 \pm 0,77^*$	$0,88 \pm 0,17^{***}$	5,6
Cyprinidae sp.	–	$7,88 \pm 0,26$	$12,0 \pm 0,83$	0,7

Примечание: ферменты желудка исследованы при pH 3,0; ферменты кишечника — при pH 7,4. П/Г — коэффициент отношения пептидаз и гликозидаз в кишечнике. Различия статистически значимы между максимальным и другими значениями в колонке при $p < 0,05$ (*); $p < 0,01$ (**); $p < 0,001$ (***)

Note: gastric enzymes were studied at pH 3.0; intestinal enzymes, at pH 7.4. П/Г is the ratio of peptidases and glycosidases in the intestines. The differences between the maximum and other values in the column are statistically significant at $p < 0.05$ (*); $p < 0.01$ (**); and $p < 0.001$ (***)

Определён коэффициент отношения пептидаз и гликозидаз (П/Г). С учётом активности всех пептидаз желудочно-кишечного тракта у ципринид значение остаётся равным 0,7. У желудочных рыб П/Г существенно выше — 25,9 у стеклянного окуня *P. wolfii* (максимальный), 5,4 у пангасиуса *P. macronema* (минимальный) и 11,8 у мелкочешуйного горбыля *B. microlepis*. Сравнение отношения активности гликозидаз к таковой пептидаз продемонстрировало, что характер изменения показателя будет противоположным — 0,2; 0,08; 0,04 для этих же трёх видов соответственно.

pH-зависимость ферментов. Максимальная активность пептидаз желудка у мелкочешуйного горбыля *B. microlepis* и стеклянного окуня *P. wolfii* выявлена при pH 3,0 — $(12,85 \pm 0,26)$ и $(14,44 \pm 0,12)$ $\text{мкмоль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ соответственно (рис. 1). Однако уровень активности при pH 2,0 в обоих случаях ниже максимального лишь в 1,1 раза. Большие различия выявлены при pH 4,0: у первого вида активность снижается в 2,4 раза, у второго — лишь в 1,4 раза по сравнению с таковой при pH 3,0. Характер pH-зависимости ферментов кишечника значительно отличается от такового желудка. Максимальная активность пептидаз кишечника у мелкочешуйного горбыля *B. microlepis* и стеклянного окуня *P. wolfii* выявлена при pH 7,0 — $(4,08 \pm 0,3)$ и $(5,20 \pm 0,4)$ $\text{мкмоль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ соответственно. При этом уровень активности в обоих случаях снижается резко в кислой зоне и более плавно — в щелочной. Также важно отметить, что при pH 6,0 и 5,0 статистически значимые видовые различия в уровне активности пептидаз отсутствуют, в то время как в щелочной зоне уровень активности пептидаз у стеклянного окуня *P. wolfii* выше, чем у мелкочешуйного горбыля *B. microlepis*. При этом степень различий последовательно возрастала от 1,2 при pH 8,0 до 2,2 при pH 11,0.

Из-за небольшого количества материала pH-зависимость гликозидаз была определена лишь у представителей сем. Cyprinidae (рис. 2).

Максимальная активность (см. рис. 2) выявлена при pH 7,0 — $(13,46 \pm 0,69)$ $\text{мкмоль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$. При pH 8,0 уровень ферментативной активности близок к таковому при pH 7,0 — $(12,88 \pm 0,56)$ $\text{мкмоль} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$. В зоне кислых значений pH активность гликозидаз снижается

более резко, чем в зоне щелочных значений pH. Минимальная активность наблюдается при pH 5,0 — $(1,88 \pm 0,20)$ мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹. Уровень ферментативной активности при pH 11,0 несколько выше, чем при 5,0, — $(2,11 \pm 0,40)$ мкмоль·г⁻¹·мин⁻¹.

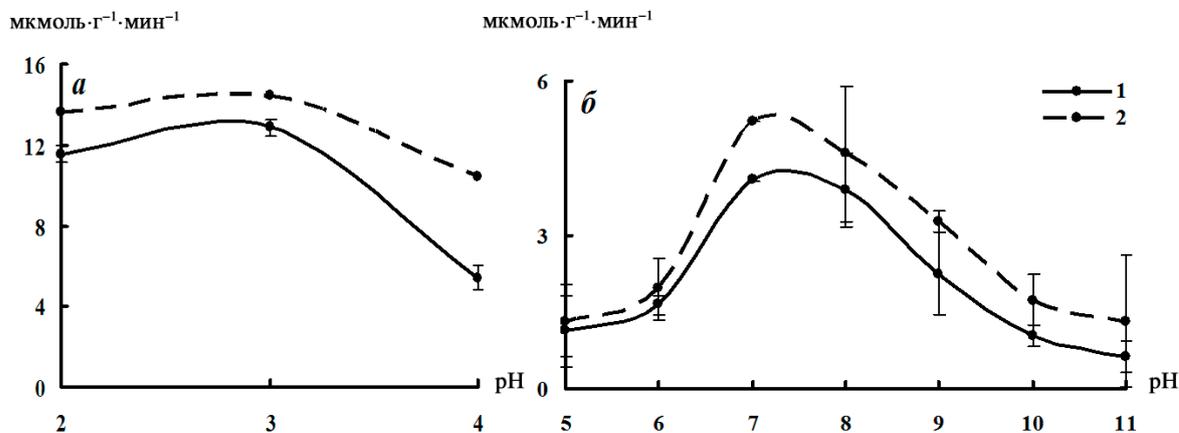


Рис. 1. Влияние pH на активность пептидаз желудка (а) и кишечника (б) у мелкочешуйного горбыля *Boesemania microlepis* (1) и стеклянного окуня *Parambassis wolffii* (2) из дельты реки Меконг

Fig. 1. Effect of pH on peptidase activity in the stomach (a) and intestines (б) in *Boesemania microlepis* (1) and *Parambassis wolffii* (2) from the Mekong Delta

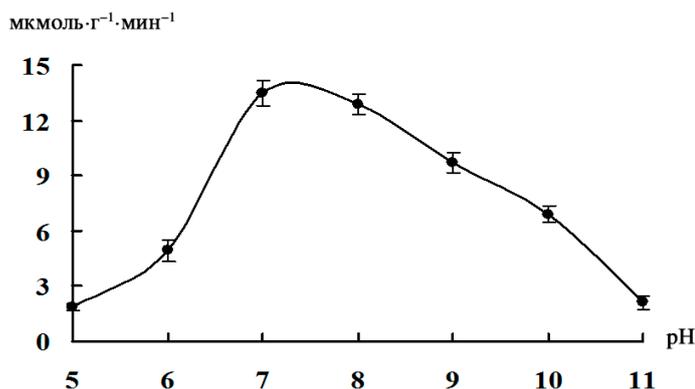


Рис. 2. Влияние pH на активность гликозидаз кишечника у рыб сем. Cyprinidae из дельты реки Меконг

Fig. 2. Effect of pH on intestinal glycosidase activity in Cyprinidae fish from the Mekong Delta

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют о значительных видовых различиях в уровне активности пептидаз и гликозидаз, что хорошо согласуется со сведениями о характере питания исследованных рыб. Действительно, активность пептидаз желудка у стеклянного окуня *P. wolffii* в 1,3 раза выше, чем у мелкочешуйного горбыля *B. microlepis*, и в 1,8 раза выше, чем у пангасиуса *P. macropoma*. Вместе с тем различия в уровне суммарной активности пептидаз в желудке и кишечнике значительно ниже: активность у первого вида превышает таковую у третьего лишь в 1,5 раза, в то время как различия в значениях для первого и второго вида практически отсутствуют. Эти данные свидетельствуют о том, что у первых двух видов в пище доминирует рыба, а у пангасиуса, помимо рыбы, присутствуют другие объекты питания, в частности беспозвоночные.

Активность гликозидаз значительно выше у безжелудочных рыб, чем у желудочных. При этом П/Г у представителей безжелудочных рыб сем. *Syrinidae* ниже единицы (0,7), а у желудочных — выше (1,9–5,6). Это хорошо согласуется с многочисленными данными, полученными при исследовании других видов рыб (Кузьмина, 2018; Уголев и Кузьмина, 1993; Bakke et al., 2011; Fange & Grove, 1979). Важно отметить, что в группе желудочных рыб максимальная активность гликозидаз у пангасиуса *P. macronema* в 1,5 раза выше, чем у мелкочешуйного горбыля *B. microlepis*, и в 3,2 раза выше, чем у стеклянного окуня *P. wolffii*. При этом величина отношения суммарной активности пептидаз в желудке и кишечнике к активности гликозидаз, максимальная у стеклянного окуня *P. wolffii*, превышает таковую у мелкочешуйного горбыля *B. microlepis* в 2,2 раза, а у пангасиуса *P. macronema* — в 4,8 раза. Эти данные подтверждают, что количество рыбной пищи в рационе стеклянного окуня *P. wolffii* выше, чем в рационе мелкочешуйного горбыля *B. microlepis* и особенно пангасиуса *P. macronema*.

Результаты, касающиеся рН-зависимости ферментов, хорошо согласуются с литературными сведениями (Кузьмина, 2018; Уголев и Кузьмина, 1993; Bakke et al., 2011). Действительно, значения оптимума рН кислых пептидаз желудка у большинства видов рыб находятся в диапазоне 2–4 (Gawlicka et al., 2001; Natalia et al., 2004). Величина оптимума рН пептидаз желудка у исследованных видов рыб, равная 3,0, близкие значения ферментативной активности при рН 2,0 и слабое снижение при рН 4,0 свидетельствуют о том, что, помимо пепсина, у рыб функционируют и другие пептидазы, синтезируемые гастроцитами, а также различные катепсины тканей жертвы. Определённую роль могут играть и ферменты объектов питания.

Оптимум рН панкреатических по происхождению пептидаз кишечника, преимущественно трипсина и химотрипсина, у большинства видов рыб колеблется от 7,5 до 10 (Castillo-Yáñez et al., 2005; García-Carreño et al., 2002; Hau & Benjakul, 2006; Hidalgo et al., 1999; Kishimura et al., 2008; Krogdahl et al., 2015; Kumar et al., 2007; Kuz'mina et al., 2011, 2017; Natalia et al., 2004). По всей вероятности, оптимум рН пептидаз кишечника у мелкочешуйного горбыля *B. microlepis* и стеклянного окуня *P. wolffii*, равный 7,0, обусловлен активностью панкреатических пептидаз и одноимённых гидролаз энтеральной микробиоты, активность которой определяется высокой численностью бактерий в дельте р. Меконг. Низкая активность пептидаз в зоне кислых значений рН может быть связана с тем, что у большинства видов рыб трипсин неустойчив при рН < 6 (Hau & Benjakul, 2006; Pavlisko et al., 1999).

Оптимум рН гликозидаз, в частности α -амилазы, обеспечивающей начальные этапы гидролиза полисахаридов, находится в более узкой зоне по сравнению с таковым пептидаз — от 6,5 до 8,5 (Ushiyama et al., 1965) или от 7,0 до 8,0 (при использовании для приготовления гомогената и субстрата эквilibрированных солевых растворов) (Уголев и Кузьмина, 1993). Оптимум рН гликозидаз энтеральной микробиоты — 7,0 (Kuz'mina et al., 2011). Поскольку у абсолютного большинства видов рыб, исследованных нами в тех же методических условиях, оптимум рН гликозидаз соответствовал 7,0, можно ожидать, что у рыб, населяющих пресноводные водоёмы Вьетнама, характер рН-зависимости близок к выявленному в этой работе.

Заключение. Исследованные виды рыб, обитающие в дельте р. Меконг, характеризуются достаточно высокой активностью пептидаз и гликозидаз, обеспечивающих гидролиз белковых и углеводных компонентов пищи. Наибольшие межвидовые различия выявлены при анализе активности гликозидаз. Уровень ферментативной активности у рыб семейства *Syrinidae* превышает таковой у стеклянного окуня *Parambassis wolffii* в 13,6 раза. Различия в уровне активности пептидаз у рыб разных видов ниже: в случае активности ферментов желудка у стеклянного окуня *P. wolffii* значения выше таковых для пангасиуса *Pangasius macronema* в 1,8 раза, в случае суммарной активности ферментов желудка и кишечника у тех же видов — в 1,5 раза. Полученные результаты хорошо согласуются со сведениями о спектре питания исследованных рыб.

Данные, касающиеся рН-зависимости кишечных ферментов, свидетельствуют о том, что активность ферментов обеих цепей значительно снижается в кислой зоне рН, чем в щелочной. Следовательно, существенное закисление энтеральной среды будет негативно влиять на процессы пищеварения у этих видов рыб.

Работа выполнена в рамках государственного задания «Систематика, разнообразие, биология и экология водных и околоводных беспозвоночных, структура популяций и сообществ в континентальных водах» (№ 121051100109-1) и «Популяционные, морфологические и структурно-физиологические адаптации паразитов пресноводных гидробионтов в изменяющихся условиях среды» (№ 121051100100-8), а также по теме проекта «Эколан Э-3.4» «Экосистема реки Меконг в условиях глобальных климатических изменений и антропогенного воздействия».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Веригина И. А., Жолдасова И. М. *Эколого-морфологические особенности пищеварительной системы костистых рыб*. Ташкент : ФАН, 1982. 154 с. [Verigina I. A., Zholdasova I. M. *Ekologo-morfologicheskie osobennosti pishchevaritel'noi sistemy kostistyykh ryb*. Tashkent : FAN, 1982, 154 p. (in Russ.)]
2. Высоцкая Р. У., Немова Н. Н. *Лизосомы и лизосомальные ферменты рыб*. Москва : Наука, 2008. 284 с. [Vysotskaya R. U., Nemova N. N. *Lizosomy i lizosomal'nye fermenty ryb*. Moscow : Nauka, 2008, 284 p. (in Russ.)]
3. Кузьмина В. В. Защитная функция пищеварительного тракта рыб // *Вопросы ихтиологии*. 1995. Т. 35, № 1. С. 86–93. [Kuz'mina V. V. *Zashchitnaya funktsiya pishchevaritel'nogo trakta ryb*. *Voprosy ikhtiologii*, 1995, vol. 35, no. 1, pp. 86–93. (in Russ.)]
4. Кузьмина В. В. *Процессы пищеварения у рыб. Новые факты и гипотезы*. Ярославль : Филигрань, 2018. 300 с. [Kuz'mina V. V. *Protsessy pishchevareniya u ryb. Novye fakty i gipotezy*. Yaroslavl : Filigran', 2018, 300 p. (in Russ.)]
5. Уголев А. М., Иезуитова Н. Н. Определение активности инвертазы и других дисахаридаз // *Исследование пищеварительного аппарата у человека* / под ред. А. М. Уголева. Ленинград : Наука, 1969. С. 192–196. [Ugolev A. M., Iezuitova N. N. *Opredelenie aktivnosti invertazy i drugikh disakharidaz*. In: *Issledovanie pishchevaritel'nogo apparata u cheloveka* / A. M. Ugolev (Ed.). Leningrad : Nauka, 1969, pp. 192–196. (in Russ.)]
6. Уголев А. М., Кузьмина В. В. Распределение активности пищеварительных гидролаз в эпителиальном, субмукозном и мышечно-серозном слоях кишечника рыб // *Доклады Академии наук*. 1992. Т. 326, № 3. С. 566–569. [Ugolev A. M., Kuz'mina V. V. *Distribution of digestive hydrolases activity in epithelial, submucosal and musculoserosous layers of fish intestine*. *Doklady Akademii nauk*, 1992, vol. 326, no. 3, pp. 566–569. (in Russ.)]
7. Уголев А. М., Кузьмина В. В. *Пищеварительные процессы и адаптации у рыб*. Санкт-Петербург : Гидрометеоиздат, 1993. 238 с. [Ugolev A. M., Kuz'mina V. V. *Pishchevaritel'nye protsessy i adaptatsii u ryb*. Saint Petersburg : Gidrometeoizdat, 1993, 238 p. (in Russ.)]
8. Ashie I. N. A., Simpson B. K. Proteolysis in food myosystems – A review. *Journal of Food Biochemistry*, 1997, vol. 21, iss. 5, pp. 91–123. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.1997.tb00218.x>
9. Askarian F., Zhou Z., Olsen R. E., Spersstad S., Ringo E. Culturable autochthonous bacteria in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets with or without chitin. Characterization by 16S rRNA gene sequencing, ability to produce enzymes and *in vitro* growth inhibition of four fish pathogens. *Aquaculture Research*, 2012, vols 326–329, pp. 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.10.016>
10. Austin B. The bacterial microflora of fish, revised. *The Scientific World Journal*, 2006, vol. 6, pp. 931–945. <https://doi.org/10.1100/tsw.2006.181>
11. Bakke A. M., Glover Ch., Krogh Dahl A. Feeding, digestion and absorption of nutrients. In: *The Multifunctional Gut of Fish* / M. Grosell, A. P. Farrell, C. J. Brauner (Eds). Amsterdam ; Boston : Academic Press, 2011, pp. 57–110. (Series: Fish Physiology ; vol. 30). [https://doi.org/10.1016/S1546-5098\(10\)03002-5](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(10)03002-5)

12. Baird I. G., Flaherty M. S., Phylavanh B. Rhythms of the river: Lunar phases and migrations of small carp (Cyprinidae) in the Mekong River. *Natural History Bulletin of the Siam Society*, 2003, vol. 51, pp. 5–36.
13. Baird I. G., Phylavanh B., Vongsenesouk B., Xaiyamanivong K. The ecology and conservation of the smallscale croaker *Boesemania microlepis* (Bleeker, 1858–1859) in the mainstream Mekong River, Southern Laos. *Natural History Bulletin of the Siam Society*, 2001, vol. 49, pp. 161–176.
14. Belchior S. G. E., Vacca G. Fish protein hydrolysis by a psychrotrophic marine bacterium isolated from the gut of hake (*Merluccius hubbsi*). *Canadian Journal of Microbiology*, 2006, vol. 52, no. 12, pp. 1266–1271. <https://doi.org/10.1139/w06-083>
15. Castillo-Yáñez F. J., Pacheco-Aguilar R., García-Carreño F. L., Navarrete-Del Toro M. Á. Isolation and characterization of trypsin from pyloric caeca of Monterey sardine *Sardinops sagax caeruleus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2005, vol. 140, iss. 1, pp. 91–98. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpc.2004.09.031>
16. Esakkiraj P., Immanuel G., Sowmya S. V., Iyapparaj P., Palavesam A. Evaluation of protease-producing ability of fish gut isolate *Bacillus cereus*. *Food and Bioprocess Technology*, 2009, vol. 2, pp. 383–390. <https://doi.org/10.1007/s11947-007-0046-6>
17. Fange R., Grove D. Digestion. In: *Bioenergetics and Growth* / W. S. Hoar, D. J. Randall, J. R. Brett (Eds). New York : Academic Press, 1979, pp. 161–260. (Book series: Fish Physiology ; vol. 8).
18. Ganguly S., Prasad A. Microflora in fish digestive tract plays significant role in digestion and metabolism. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 2012, vol. 22, pp. 11–16. <https://doi.org/10.1007/s11160-011-9214-x>
19. García-Carreño F. L., Albuquerque-Cavalcanti C., Navarrete del Toro M. A., Zaniboni-Filho E. Digestive proteinases of *Brycon orbignyanus* (Characidae, Teleostei): Characteristics and effects of protein quality. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2002, vol. 132, iss. 2, pp. 343–352. [https://doi.org/10.1016/S1096-4959\(02\)00038-6](https://doi.org/10.1016/S1096-4959(02)00038-6)
20. Gawlicka A., Leggiadro C. T., Gallant J. W., Douglas S. E. Cellular expression of the pepsinogen and proton pump genes in the stomach of winter flounder as determined by *in situ* hybridization. *Journal of Fish Biology*, 2001, vol. 58, iss. 2, pp. 529–536. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2001.tb02271.x>
21. Hau P. V., Benjakul S. Purification and characterization of trypsin from pyloric caeca of bigeye snapper (*Pricanthus macracanthus*). *Journal of Food Biochemistry*, 2006, vol. 30, iss. 4, pp. 478–495. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2006.00089.x>
22. Hidalgo M. C., Urea E., Sanz A. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. *Aquaculture*, 1999, vol. 170, iss. 3–4, pp. 267–283. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00413-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00413-X)
23. Hoshino T., Ishizaki K., Sakamoto T., Kumeta H., Yumoto I., Matsuyama H., Ohgiya S. Isolation of a *Pseudomonas* species from fish intestine that produces a protease active at low temperature. *Letters in Applied Microbiology*, 1997, vol. 25, iss. 1, pp. 70–72. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.1997.00183.x>
24. Izvekova G. I., Plotnikov A. O. Hydrolytic activity of symbiotic microflora enzymes in pike (*Esox lucius* L.) intestines. *Inland Water Biology*, 2011, vol. 4, no. 1, pp. 72–77. <https://doi.org/10.1134/S1995082911010081>
25. Jasmine S., Begum M. Biological aspects of *Barbonymus gonionotus* (Bleeker, 1849) in the Padma River, Bangladesh. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 2016, vol. 4, pp. 661–665.
26. Kapoor B. G., Smit H., Verighina I. A. The alimentary canal and digestion in teleosts. *Advances in Marine Biology*, 1975, vol. 13, pp. 109–239.
27. Kishimura H., Klomkloa S., Benjakul S., Chun B.-S. Characteristics of trypsin from the pyloric caeca of walleye pollock (*Theragra chalcogramma*). *Food Chemistry*, 2008, vol. 106, iss. 1, pp. 194–199. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.056>
28. Kottelat M., Widjanarti E. The fishes of Danau Sentarum National Park and the Kapuas Lakes area, Kalimantan Barat, Indonesia. *Raffles Bulletin of Zoology – Supplement*, 2005, vol. 13, pp. 139–173.
29. Krogdahl Å., Sundby A., Holm H. Characteristics of digestive processes in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Enzyme pH optima, chyme

- pH, and enzyme activities. *Aquaculture*, 2015, vol. 449, pp. 27–36. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.02.032>
30. Kumar S., Garcia-Carreño F. L., Chakrabarti R., Toro M. A. N., Cordova-Murueta J. H. Digestive proteases of three carps *Catla catla*, *Labeo rohita* and *Hypophthalmichthys molitrix*: Partial characterization and protein hydrolysis efficiency. *Aquaculture Nutrition*, 2007, vol. 13, iss. 5, pp. 381–388. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00488.x>
31. Kuz'mina V. V., Skvortsova E. G., Zolotareva G. V., Sheptitskiy V. A. Influence of pH upon the activity of glycosidases and proteinases of intestinal mucosa, chyme and microbiota in fish. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2011, vol. 37, no. 3, pp. 345–357. <https://doi.org/10.1007/s10695-010-9426-3>
32. Kuz'mina V. V., Komov V. T., Tarleva A. F., Sheptitskiy V. A. Effect of dietary metal exposure on the locomotor reactions and food consumption in common carp *Cyprinus carpio* (L.). *Inland Water Biology*, 2019, vol. 12, no. 3, pp. 356–364. <https://doi.org/10.1134/S1995082919030106>
33. Kuz'mina V. V., Zolotareva G. V., Sheptitskiy V. A. Proteolytic activity in some freshwater animals and associated microflora in a wide pH range. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2017, vol. 43, iss. 2, pp. 373–383. <https://doi.org/10.1007/s10695-016-0293-4>
34. Mohsin A. K. M., Ambak M. A. *Freshwater Fishes of Peninsular Malaysia*. Serdan : Penerbit Universiti Pertanian Malaysia, 1983, 284 p.
35. Natalia Y., Hashim R., Ali A., Chong A. Characterization of digestive enzymes in a carnivorous ornamental fish, the Asian bony tongue *Scleropages formosus* (Osteoglossidae). *Aquaculture*, 2004, vol. 233, iss. 1–4, pp. 305–320. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.08.012>
36. Pavlisko A., Rial A., Coppes Z. Purification and characterization of a protease from the pyloric caeca of menhaden (*Brevoortia* spp.) and mullet (*Mugil* spp.) from the southwest Atlantic region. *Journal of Food Biochemistry*, 1999, vol. 23, iss. 2, pp. 225–241. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.1999.tb00016.x>
37. Rainboth W. J. *Fishes of the Cambodian Mekong*. Rome : FAO, 1996, 265 p. (FAO species identification field guide for fishery purposes).
38. Ray A. K., Ghosh K., Ringø E. Enzyme-producing bacteria isolated from fish gut: A review. *Aquaculture Nutrition*, 2012, vol. 18, iss. 5, pp. 465–492. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2012.00943.x>
39. Sugita H., Kawasaki J., Deguchi Y. Production of amylase by the intestinal microflora in cultured freshwater fish. *Letters in Applied Microbiology*, 1997, vol. 24, iss. 2, pp. 105–108. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.1997.00360.x>
40. Taki Y. *An Analytical Study of the Fish Fauna of the Mekong Basin as a Biological Production System in Nature*. Tokyo : Research Institute of Evolutionary Biology, 1978, 77 p. (Research Institute of Evolutionary Biology special publications ; no. 1).
41. Tran D. D., Shibukawa K., Nguyen P. T., Ha H. P., Tran L. X., Mai H. V., Utsugi K. *Fishes of the Mekong Delta, Vietnam*. Can Tho : Can Tho University Publishing House, 2013, 174 p.
42. Tuan L. A., Hoanh C. T., Miller F., Sinh B. T. Flood and salinity management in the Mekong Delta, Vietnam. In: *Challenges to Sustainable Development in the Mekong Delta: Regional and National Policy Issues and Research Needs: Literature Analysis* / T. T. Be, B. T. Sinh, F. Miller (Eds). Bangkok : The Sustainable Mekong Research Network (Sumernet), 2007, pp. 15–68.
43. Ushiyama H., Fujimori T., Shibata T., Yoshimura K. Studies on carbohydrases in the pyloric caeca of the salmon *Oncorhynchus keta*. *Bulletin of the Faculty of Fisheries Hokkaido University*, 1965, vol. 16, no. 3, pp. 183–188.
44. Wang B., Wang C., Mims S. D., Xiong Y. L. Characterization of the proteases involved in hydrolyzing paddlefish (*Polyodon spathula*) myosin. *Journal of Food Biochemistry*, 2000, vol. 24, iss. 6, pp. 503–515. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2000.tb00719.x>

ACTIVITY OF PEPTIDASES AND GLYCOSIDASES OF THE DIGESTIVE TRACT IN SOME SPECIES OF BONY FISH OF VIETNAM

V. V. Kuz'mina¹, E. E. Slynko^{1,2}, E. A. Kulivatskaya¹,
E. P. Karpova², and Dinh Cu Nguyen²

¹Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences, Borok, Russian Federation

²Southern Branch of the Joint Russian–Vietnamese Tropical Research and Technological Center,

Ho Chi Minh City, Vietnam

E-mail: elena.slynko.76@mail.ru

For the first time, the activity and pH dependence of digestive enzymes were studied in fish inhabiting the Mekong Delta: duskyfin glassy perchlet *Parambassis wolffii*, smallscale croaker *Boesemania microlepis*, catfish *Pangasius macronema*, and representatives of the family Cyprinidae. Significant interspecific differences were revealed in the level of peptidase and glycosidase activity providing hydrolysis of protein and carbohydrate food components. The greatest interspecific differences are characteristic of glycosidases: the level of enzymatic activity in Cyprinidae fish exceeds that in *P. wolffii* by 13.6 times. The differences in the level of peptidase activity in fish of different species are lower: in the case of the activity of stomach enzymes in *P. wolffii*, the values are 1.8 times higher than those in *P. macronema*, and in the case of total activity of stomach and intestinal enzymes in the same species, the values are 1.5 times higher. The data obtained confirm the concept that the digestive hydrolase activity depends on the fish feeding spectrum. The activity of intestinal enzymes decreases more significantly in the acidic pH zone than in the basic one. Consequently, acidification of the intestinal environment will negatively affect the digestive processes in these fish species.

Keywords: Vietnam, digestive enzymes, *Parambassis wolffii*, *Boesemania microlepis*, *Pangasius macronema*, Cyprinidae