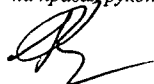


на правах рукописи



КАЗАКОВА Лейли Хыдыркулыевна

ОБМЕН МАКРОЭЛЕМЕНТОВ
У КЛАРИЕВОГО СОМА *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822)
ПРИ РАЗНЫХ ИСТОЧНИКАХ ЭКЗОГЕННОГО КАЛЬЦИЯ

03.00.13 – физиология



АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2009

Работа выполнена на кафедре физиологии и биохимии животных
Российского государственного аграрного университета –
МСХА имени К.А. Тимирязева

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Иванов Алексей Алексеевич

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Панов Валерий Петрович
доктор сельскохозяйственных наук, профессор
Раденко Вера Николаевна

Ведущая организация: ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский
институт ирригационного рыбоводства»

Защита диссертации состоится «09» ноября 2009 г. в 16-30 часов на
заседании диссертационного совета Д 220.043.09 при Российском
государственном аграрном университете – МСХА имени К.А. Тимирязева по
адресу 127550, Москва, Тимирязевская ул., д. 49, ученый совет РГАУ-МСХА
имени К.А. Тимирязева.

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНБ им. Железнова ФГОУ ВПО
РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева.

Автореферат разослан «07» октября 2009 г и размещен на сайте
университета www.timacad.ru.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат биологических наук



А.А. Ксенофонтова

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

БГКП – бактерии группы кишечной палочки

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

КМАФАнМ – количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов

КОЕ – колониеобразующая единица

мг% – миллиграммов в 100 г

ПСР – полусинтетический рацион

ПЧ – пищевые частицы

ПЭФ – плотная эндогенная фракция

РФ – растворимая фракция

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

СВ – сухое вещество

ЦХ – цельный химус

I. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Важным условием полноценного кормления является обеспечение организма животных минеральными веществами в необходимых количествах и соотношениях.

В настоящее время подробно описаны внешние проявления недостатка и избытка макроэлементов в организме животных, пути поступления и выведения из организма, особенности минерального обмена у разных видов (Георгиевский В.И., 1979, Кальницкий Б.Д., 1985, Хеннинг А., 1976). Показано, что макроэлементы, присутствующие в химусе, имеют четко выраженную локализацию у животных, принадлежащих к разным таксономическим группам (Полякова Е. П., 1996, 2003, 2005; Полякова Е.П., Ксенофонтов Д.А., Ксенофонтова А.А., 2000; Кибеб Л. Г., Каширина Н.А., 2001; Полякова Е.П., Иванов А.А., Ревякин А.О. и др. 2003; Ксенофонтов Д. А., 2008).

Преобладающим макроэлементом в животном организме является кальций (1,2 – 1,5% в сыром веществе). Он является основным структурным компонентом скелета, участвует в процессах генерации нервных импульсов, работы мышц, свертываемости крови. В последнее время обнаружено его присутствие в большом количестве в полостной слизи и высказано предположение о важности кальция для слизистых образований желудочно-кишечного тракта птиц и млекопитающих, участвующих в процессе полостного гидролиза (Полякова Е. П., 1996; Полякова Е.П., Иванов А.А., Ревякин А.О. и др., 2003; Ксенофонтова А.А., 2004).

Процессы пищеварения у рыб изучены в меньшей степени. Однако исследования последних лет показали, что для этих животных характерны основные закономерности образования химуса, содержания и распределения в нем минеральных элементов, обнаруженные у птиц и млекопитающих (Полякова Е. П., 2003). Однако особенности пищеварения и минерального обмена у рыб изучены недостаточно. Это в равной мере касается и такого перспективного объекта рыборазведения, как клариевый сом.

Цель и задачи исследования. Целью нашей диссертационной работы являлось изучение влияния экзогенного кальция на обмен макроэлементов и особенностей формирования химуса у рыб.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. изучить влияние кальция рациона и кальция воды на рост и физиолого-биохимические показатели рыб;
2. выяснить особенности структурирования химуса рыб и локализацию катионов в нем;
3. изучить роль экзогенного кальция в структурировании химуса рыб;

4. выяснить влияние кальция на метаболизм фосфора, магния, натрия и калия у рыб;
5. изучить участие кожной слизи рыб в минеральном обмене.

Научная новизна и практическая значимость работы. Впервые на фоне разного уровня Са в воде и в рационе изучена взаимосвязь энтерального метаболизма макроэлементов с их гомеостазированием во внутренней среде на примере клариевого сома. Изучен метаболизм кальция у клариевого сома при ограничении его поступления в организм через экзогенные источники. Изучена структура химуса рыб. Показана локализация макроэлементов в энтеральной среде рыб. Выявлена адсорбирующая способность слизи ЖКТ рыб по отношению к минеральным элементам. Обнаружены идентичные свойства полостной и наружной слизи накапливать макроэлементы, а также бактериостатические свойства кожной слизи рыб.

Результаты исследований позволяют скорректировать сложившийся в современном научном сообществе взгляд на процессы пищеварения и роль в них катионов. Полученные данные могут быть использованы в учебных целях, для планирования дальнейших исследований процессов пищеварения, при уточнении минерального состава рационов кормления рыб, для разработки концепций питательного гомеостаза, диетического питания и пищеварения.

Апробация результатов исследований. Основные положения диссертационной работы доложены, обсуждены и одобрены на Международной конференции молодых ученых и специалистов, посвященной 140-летию РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (Москва, 2005), Международной научной конференции молодых ученых «Приоритетный национальный проект «Развитие АПК» - новые возможности для молодых ученых» (Москва, 2006), Международной научной конференции молодых ученых и специалистов, посвященной выдающимся педагогам Петровской академии (Москва, 2008), XVI Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2009», Международной научной конференции молодых ученых и специалистов «Вклад молодых ученых в развитие инноваций аграрной науки» (Москва, 2009).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 6 работ.

На защиту выносятся положения

1. клариевый сом (возраст 1 год) устойчив к длительной депривации экзогенного кальция;
2. уровень кальция в химусе рыб относится к жестким константам гомеостаза;
3. кальций участвует в структурировании содержимого желудочно-кишечного тракта рыб;

4. кальций оказывает влияние на энтеральный обмен других макроэлементов.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 160 страницах компьютерного текста, включает в себя следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методика исследований, результаты собственных исследований, выводы, заключение, список литературы, включающий 211 наименований, из них 64 на иностранном языке, приложения. Работа иллюстрирована 2 рисунками и 39 таблицами.

II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования были разделены на 2 этапа.

1. Изучение формирования энтеральной среды у пресноводных рыб.
2. Изучение влияния экзогенного кальция на обмен макроэлементов у клариевого сома. Этот этап состоял из двух частей:
 - изучение влияния алиментарного кальция (опыт 1);
 - изучение влияния степени минерализации воды (опыт 2).

Схема исследований представлена на рисунке 1.

Объектом первого этапа исследований были рыбы следующих видов – ленский осетр (*Acipenser baeri*), форель (*Parasalmo mykiss*), клариевый сом (*Clarias gariepinus*).

Рыб брали из промышленных условий, где они содержались согласно технологиям, рекомендованным для каждого вида. Изучали структуру химуса и локализацию катионов во фракциях химуса.

Объектом второго этапа исследований служили самцы и самки клариевого сома (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822) в возрасте 1 года, со средней живой массой 1161 г, в количестве 29 голов.

Опыты проводились в условиях кафедры физиологии и биохимии животных РГАУ-МСХА им. К.А.Тимирязева в период с марта 2005 по март 2007 года, лабораторные анализы и обсчет результатов проводили с марта 2007 по март 2008 года.

Рыб содержали в аквариумах объемом 400 л, при температуре 27°C. Ежедневно производили подмену воды на 1/3 объема водой соответствующего состава.

На клариевых сомах провели два опыта. В первом опыте исследовали влияние поступления кальция из корма на состав энтеральной среды. Для этого в качестве корма рыбам предлагался полусинтетический рацион (ПСР) с фиксированным содержанием кальция. Для группы 1 использовался вариант рациона с очень низким содержанием кальция, для группы 2 – с добавлением

элемента. Состав рационов представлен в таблицах 1 и 2. Рацион сходной рецептуры использовал Гусев Е.Е. (1970; 1970а) на карпах. Поэтому мы посчитали его пригодным для кормления всеядных рыб, к которым относится и клариевый сом.

Во втором опыте изучали влияние кальция в составе воды на минеральный обмен. Для этого группу 3 содержали в дистиллированной воде, а группу 4 – в водопроводной, дехлорированной путем отстаивания. Обе группы получали промышленный комбикорм «AQUA VALENT» FM 44/18 EX (Табл. 2).

Таблица 1. Состав полусинтетических рационов

Ингредиент	ПСР без Са (группа 1)	ПСР с Са (группа 2)
Манная крупа, г	100	100
Кукурузная крупа, г	200	200
Дрожжи, г	70	70
Желатин, г	220	220
Казеин, г	220	220
Масло кукурузное, г	130	130
Фильтровальная бумага, г	0,065	0,065
Тривитамин, мл	0,27	0,27
Глюконат кальция, г	–	105
NaCl, г	2,4	2,4
KH_2PO_4 , г	40,4	40,4
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, мг	13,4	13,4
ZnCl_2 , мг	19,7	19,7

Рыб в начале первого опыта в течение двух недель адаптировали к дистиллированной воде, используя дистиллят вместо водопроводной воды при ежедневной подмене. Затем в течение недели рыб приучали к новым кормам.

Аналогично во втором опыте рыб из группы 3 адаптировали к дистиллированной воде. Тридцать дней рыб в обоих опытах содержали в экспериментальных условиях, затем проводили взятие образцов органов, тканей и химуса.

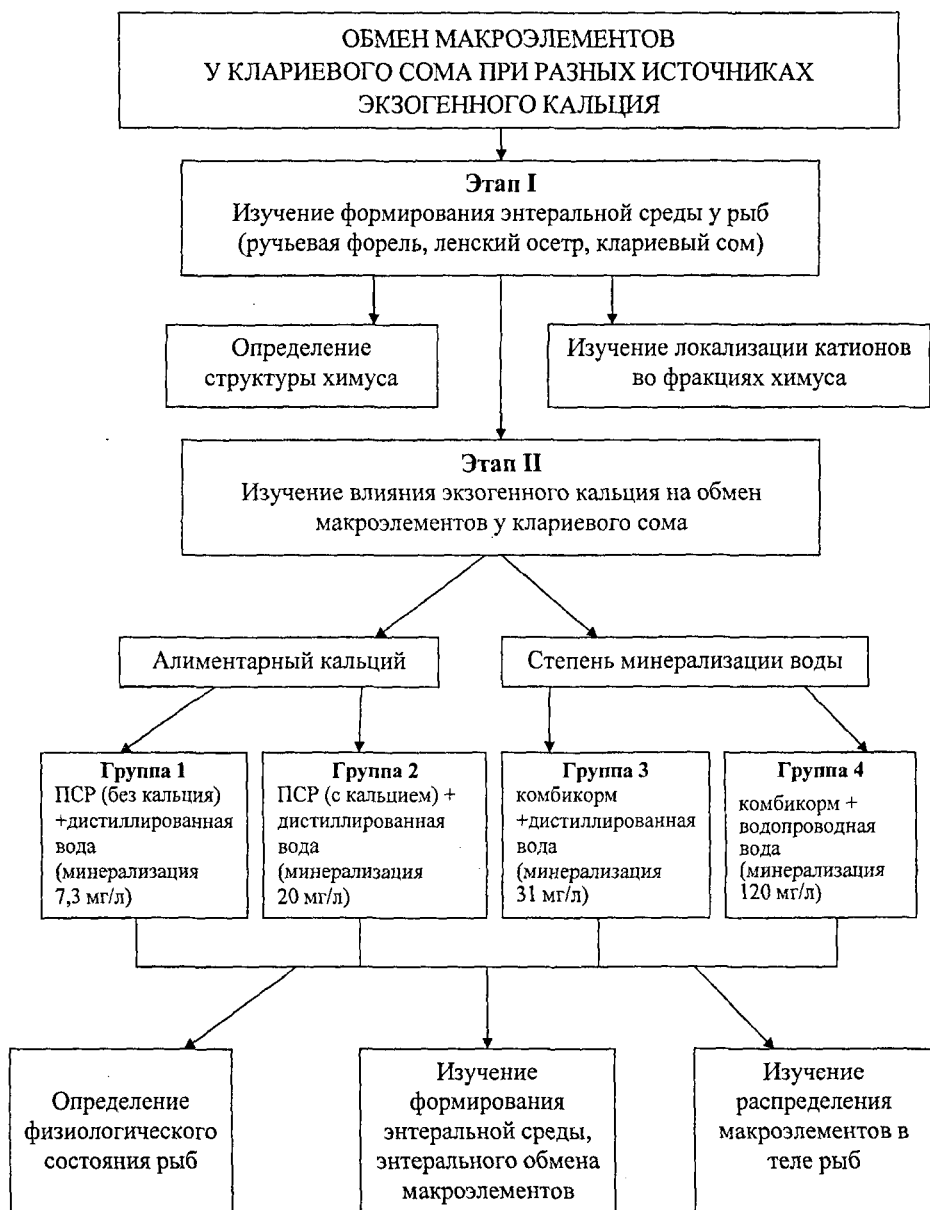


Рис. 1. Схема исследований

Часть химуса фракционировали по методике, разработанной на кафедре физиологии и биохимии животных с выделением пищевых частиц (ПЧ), плотной эндогенной фракции (ПЭФ) и растворимой фракции (РФ) (Георгиевский В. И., Полякова Е. П., 1998).

Все образцы высушивали до абсолютно сухого вещества, определяли массу и процентное содержание сухого вещества в сыром, озоляли и определяли массу и процентное содержание золы в сухом веществе по общепринятым методикам. Далее определяли содержание кальция, магния, калия и натрия методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии, фосфора – колориметрическим методом (Георгиевский В.И., Полякова Е.П., 1977).

В образцах цельной крови определяли следующие показатели: СОЭ, содержание гемоглобина, осмотическую резистентность эритроцитов по традиционным методикам. В сыворотке крови и кожной слизи изучали содержание альбуминов, глюкозы и мочевины с использованием тест-наборов «Агат» и «Ольвекс Диагностикум».

Таблица 2. Химический состав полусинтетического рациона и комбикорма «AQUA VALENT» FM 44/18 EX, %

	ПСР	Комбикорм
Протеин	49	44
Жир	14	18
Углеводы	21	21
Зола	1,2 – 2,2	7,4
Клетчатка	1,6	1,6

Микробиологические исследования кожной слизи проводили в лаборатории кафедры микробиологии. Исследовали рыб, содержащихся в водопроводной воде. Брели образцы кожной слизи и воды из аквариума. Определяли количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) чашечным методом Коха, *Clostridium perfringens* и бактерий группы кишечной палочки (БГКП) методом предельных разведений. Определяли состав доминирующих форм бактерий в воде и слизи и способность кожной слизи подавлять рост представителей таких родов бактерий как *Bacillus* sp., *Sarcina* sp., *Erwinia* sp., а также микромицетов родов *Mucor*, *Penicillium*, *Aspergillus*. Изучение антибиотической активности проводилось методом диффузии с применением бумажных дисков.

Полученные результаты были статистически обработаны с использованием программы MS Excel.

III. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Структура химуса рыб и локализация катионов в его фракциях

Данные, полученные при изучении химуса разных видов рыб, показали, что содержание сухого вещества в ЦХ этой группы животных подчиняется общим закономерностям.

Максимальное содержание СВ у всех рыб наблюдалось в химусе желудка (18-34%). После эвакуации химуса в проксимальный отдел кишечника, концентрация сухого вещества снижалась до 11-15%. В химусе дистального отдела кишечника содержание сухого вещества в среднем по трем видам рыб составило 13-15%.

Повышение влажности химуса в кишечнике объясняется разбавлением химуса секретами пищеварительных желез и пилорических придатков (у форели) в проксимальном отделе кишечника и выведением лишней воды из организма в дистальном. Последнее характерно для ЖКТ пресноводных рыб и не свойственно наземным животным.

Структура химуса у рыб не зависела от видовой принадлежности (Рис. 2). В желудке на долю ПЧ приходилось 13-39% сухого химуса, на долю ПЭФ – 32-35%, на долю РФ – 26-54%. В проксимальном отделе кишечника межвидовые различия были еще менее выражены. На долю ПЧ приходилось 2-10%, на долю ПЭФ – 19-23%, РФ – 65 – 81% сухого вещества химуса. В химусе дистального отдела кишечника содержалось 14-19% ПЧ, 19-27% ПЭФ, 59-64% РФ.



Рис. 2. Структура химуса рыб.

Высокое содержание растворимой фракции в дистальном отделе кишечника характерно только для пресноводных рыб. У наземных животных наблюдается снижение концентрации этой фракции в химусе толстого

кишечника из-за всасывания воды. Вместе с тем, ПЭФ + РФ в нативном химусе рыб образуют единое целое и составляют его основной объем, как и у наземных животных.

Изучение локализации катионов во фракциях химуса рыб показало следующее. Кальций накапливался в ПЭФ по мере продвижения по желудочно-кишечному тракту от 979 мг% в СВ у форели, 317 мг% в СВ у осетра и 823 мг% в СВ у сома в желудке до 7422 мг% в СВ, 3146 мг% в СВ и 2501 мг% в СВ соответственно в дистальном отделе кишечника. В ПЧ концентрация элемента снижалась с 7101 мг% в СВ в желудке форели, 2324 мг% в СВ в желудке осетра и 1860 мг% в СВ у сома до 6258 мг% в СВ, 1930 мг% в СВ и 595 мг% в СВ соответственно в дистальном отделе кишечника. В РФ содержание кальция было минимальным и составляло в среднем у форели 1791 мг% в СВ, у осетра – 1664 мг% в СВ, у сома – 3416 мг% в СВ.

Натрий у всех видов рыб, как и у птицы и млекопитающих (Полякова Е. П., Сунатро К., Георгиевский В. И., 1990; Полякова Е.П., Ксенофонтов Д.А., Ксенофонтова А.А., 2000), концентрировался преимущественно в РФ. У форели содержание элемента в растворимой фракции было на уровне 4772 мг% в СВ, тогда как в ПЧ и ПЭФ кальция содержалось в среднем 1036 мг% и 300 мг% в расчете на СВ. В химусе осетра в РФ содержание натрия было на уровне 2849 мг% в СВ, в ПЧ и ПЭФ – 452 и 652 мг% в СВ соответственно. У клариевого сома в сухом веществе РФ обнаруживалось 3526 мг% натрия, ПЧ и ПЭФ – 315 и 1298 мг% соответственно.

Полученные данные позволяют сделать выводы о важности ПЭФ для энтерального обмена кальция у рыб. Помимо того, что в ее составе элемент выводится из организма, вероятно, кальций необходим для нормального функционирования этой фракции и ее участия в полостном гидролизе. Мы предполагаем, что химус, и в первую очередь ПЭФ, гомеостатируются по содержанию кальция, с использованием эндогенных ресурсов рыбы.

3.2. Влияние экзогенного кальция на обмен макроэлементов у клариевого сома

Для подтверждения тезиса о влиянии экзогенного кальция на обмен макроэлементов мы ограничивали поступление кальция в организм клариевых сомов из корма (опыт 1) и из воды (опыт 2). После 30-дневной выдержки в экспериментальных условиях определяли физиологическое состояние сомов, параметры энтерального обмена макроэлементов, распределение минеральных элементов в их организме. Результаты этих опытов представлены ниже.

3.2.1. Минеральный состав воды и кормов

Анализ воды, используемой для содержания рыбы, показал, что зольность дистиллята была более чем в 44 раза ниже, чем водопроводной воды. При этом в дистиллированной воде концентрация кальция оказалась в 50 раз, магния – в 80 раз, натрия – в 58 раз, калия – в 46 раз ниже, чем в водопроводной.

Также мы изучали минеральный состав ПСР и комбикорма (табл. 3). Основные различия были обнаружены в содержании сухого вещества (50 % в ПСР и 90% в комбикорме), золы (1,2% в ПСР без кальция, 2,7% в ПСР с кальцием и 6,6 % в комбикорме (в сухом веществе)) и кальция (220 мг% в СВ в ПСР без кальция, 906 мг% в СВ в ПСР с кальцием, 1008 мг% в СВ в комбикорме). Концентрация остальных макроэлементов в кормах находилась на одном уровне. Содержание фосфора во всех видах кормов было 1391 мг%, магния – 234 мг%, натрия – 383 мг%, калия – 96 мг% в расчете на сухое вещество.

Таблица 3. Содержание сухого вещества, золы и минеральных элементов в кормах, мг% в сухом веществе

Показатель	Опыт 1		Опыт 2	
	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
Сухое вещество, %	50	50	90	90
Зола, % в СВ	1,2	2,7	6,6	6,6
Кальций	220	906	1008	1008
Магний	238	238	224	224
Фосфор	1348	1348	1477	1477
Натрий	333	445	371	371
Калий	109	84	96	96

Анализ макроминерального состава воды из первого опыта (группы 1 и 2) показал, что содержание кальция было на уровне 0,5 мг/л в группе 1 и 1,5 мг/л в группе 2. Концентрация магния в воде составляла 0,5 мг/л. Фосфор, калий и натрий не были обнаружены в дистиллированной воде.

Был проведен мониторинг суточного накопления макроэлементов в воде из бассейнов в опыте 2 (группы 3 и 4). Отбирали пробы воды объемом 500 мл непосредственно перед ее подменой и после подмены.

Наши исследования показали, что в воде концентрация всех макроэлементов, кроме фосфора, увеличивалась на протяжении суток. Так, за сутки содержание кальция в аквариуме с использованием дистиллята

изменялось с 2,1 до 3,7 мг/л, в случае с водопроводной водой - с 18 до 33 мг/л. Концентрация магния в аквариуме с использованием дистиллированной воде изменялась в пределах с 0,51 до 0,71 мг/л. В аквариуме с водопроводной водой содержание магния не изменялось в течение суток (9,1 мг/л). Содержание натрия при использовании дистиллята увеличивалось с 1,2 до 2,7 мг/л, в воде из аквариума с водопроводной водой - с 4,1 до 6,8 мг/л. Калий возрастал - с 0,18 до 0,3 мг/л, и с 0,7 до 1,6 мг/л соответственно. Концентрация фосфора в течение суток снижалась как при использовании дистиллированной воды (с 3,8 до 3,3 мг/л), так и водопроводной (8 - 4,8 мг/л).

Полученные данные подтверждают, что для рыб, содержащихся в дистиллированной воде, основным источником кальция являлся корм.

3.2.2. Общее состояние, рост и развитие рыбы

Наблюдение за рыбой показало, что ограничения потребления кальция и тип рациона не повлияли на поведение и общее состояние рыб. Рыбы во всех вариантах опытов активно питались, вели придонный образ жизни, демонстрировали типичное для своего вида поведение - всплывали для заглатывания воздуха, проявляли агрессию при выяснении иерархических отношений в группе.

Определение степени развития половой системы самцов и самок показало, что гонады у рыб находились на IV - V стадии по шкале зрелости (Анисимова И.М., Лавровский В.В., 1983).

За время опыта изменялась живая масса рыб. В группах 3 и 4 - отмечалось ее увеличение (с 1229 ± 196 г до 1289 ± 286 г и с 1304 ± 105 г до 1435 ± 86 г соответственно). В первом опыте наблюдалось недостоверное снижение живой массы рыбы на в каждой группе.

В результате измерения гематологических показателей установлено, что скорость оседания эритроцитов (СОЭ) (1,9 мм/ч) и содержание гемоглобина (12,1 г%) у рыб разных групп не различались. Осмотическая резистентность эритроцитов в группах 1 и 2 (0,14 % NaCl) была достоверно выше ($P < 0,001$), чем у групп 3 и 4 (0,32 % NaCl). Вероятно, это объясняется адаптацией рыб к воде с низким осмотическим давлением.

Концентрация глюкозы крови в группах 1 и 2 находилась на уровне 7,9 ммоль/л и была достоверно выше ($P < 0,001$), чем у рыб из групп 3 и 4 (4,8 ммоль/л). Содержание мочевины у всех рыб составляло в среднем 1,52 ммоль/л. Интересно, что в сыворотке крови рыб, которых содержали на полусинтетическом рационе, альбумины не обнаруживались, что указывает на напряженный пластический обмен и объясняет отсутствие приростов живой массы.

Во втором опыте живая масса рыб увеличивалась. На этом фоне концентрация альбумина в пределах 19-33 г/л сыворотки может быть оценена как физиологическая норма для растущего клариевого сома.

Снижение живой массы сомов в первом опыте можно объяснить недостатком какого-то компонента, содержавшегося в воде или корме и необходимом для роста рыб. Недостаток кальция в корме на живую массу не повлиял, так как ее снижение происходило как в группе 1, так и в группе 2.

Депривация экзогенного кальция не повлекла за собой нарушений общего физиологического состояния клариевого сома, как в первом, так и во втором опыте.

3.2.3. Влияние экзогенного кальция на структуру химуса рыб

На втором этапе исследований мы определяли содержание СВ в цельном химусе клариевых сомов. Полученные данные представлены в таблице 4.

Таблица 4. Структура сухого химуса клариевого сома при различных источниках поступления кальция, %

Отдел ЖКТ	Фракция химуса	Опыт 1		Опыт 2	
		Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
Желудок	ПЧ	36±12* ²	14±4	20±3* ⁴	13±4
	ПЭФ	21±5	34±8	39±5* ⁴	32±4
	РФ	36±6	49±10	41±4* ⁴	54±8
Проксимальный отдел кишечника	ПЧ	17±7* ²	6±1	13±6	10±4
	ПЭФ	26±6	30±5	29±4	23±5
	РФ	57±12	69±8	60±7	65±8
Дистальный отдел кишечника	ПЧ	25±15	21±3	14±6	19±4
	ПЭФ	25±4	30±4	33±7	27±4
	РФ	46±16	49±4	58±6	59±9

Здесь и далее: * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$.

* - различия достоверны по сравнению с группой, указанной около знака.

В целом наблюдалась картина, сходная с ранее изученными видами. У сомов, получавших ПСР, содержание сухого вещества в цельном химусе во всех отделах ЖКТ было ниже, чем у тех, которые питались комбикормом. По мере продвижения химуса по желудочно-кишечному тракту содержание сухого вещества в нем снижалось с 17 – 31% в желудке до 11-24 % в дистальном отделе кишечника. Разделение химуса на фракции показало, что независимо от

условий содержания меньшую часть сухого химуса во всех отделах ЖКТ занимали ПЧ - от 6 до 36%, большую – РФ (31-69%).

Ограничение поступления кальция с кормом в первом опыте оказало определенное влияние на структуру химуса. В группе 1 в желудке и проксимальном отделе кишечника достоверно ($P \leq 0,05$) увеличилось содержание ПЧ на 12 и 11% соответственно. В свою очередь, несколько снизилось содержание эндогенных фракций (ПЭФ и РФ). В дистальном отделе кишечника различий между группами не наблюдалось.

При ограничении поступления кальция с водой (опыт 2) достоверно изменялась структура химуса в желудке. В группе 3 увеличивалось содержание ПЧ и ПЭФ на 7% ($P \leq 0,05$), и снижалось содержание РФ на 13% ($P \leq 0,01$). В кишечнике достоверных изменений не наблюдалось. ПЧ в проксимальном отделе кишечника занимали 12%, ПЭФ – 26%, РФ – 62,5%. В дистальном отделе – 16,5%, 30% и 58,5% соответственно.

Исходя из полученных данных, можно сказать, что ограничение поступления кальция в организм рыб повлияло на процессы формирования энтеральной среды в желудке. При воздействии через корм происходило снижение количества эндогенных образований химуса (ПЭФ и РФ). В связи с этим возрастало содержание ПЧ. В случае ограничения поступления кальция в организм рыб из воды, происходило снижение доли РФ в желудке и увеличение доли остальных фракций.

3.2.4. Обмен и распределение кальция в организме клариевого сома при ограничении поступления элемента из корма

Результаты, полученные при изучении содержания кальция в органах и тканях клариевых сомов, представлены в таблице 5. В целом разный уровень кальция в рационах (опыт 1) не оказал влияния на концентрацию элемента в костной, мышечной тканях, коже, сыворотке крови, почках, долях гепатопанкреаса, лежащих за грудными плавниками, жабрах, наджаберном органе, глоточных зубах, сердце и селезенке. Наши исследования показали, что низкий уровень поступления кальция с кормом достоверно повлиял на концентрацию элемента в гепатопанкреасе ($P \leq 0,05$) и кожной слизи рыб ($P \leq 0,01$).

В стенке всех отделов желудочно-кишечного тракта отмечалось более высокое содержание кальция в слизистых оболочках, чем в серозно-мышечных (табл. 6). Достоверных различий между группами не было, однако в группе 2 наблюдалась тенденция к увеличению всех показателей по сравнению с группой 1.

В полости желудочно-кишечного тракта наблюдалась следующая картина. Концентрация кальция в цельном химусе желудка клариевого сома зависела от содержания элемента в корме. В группе 1 содержание элемента в сухом веществе ЦХ (167 мг% в желудке, 439 мг% в проксимальном отделе кишечника и 400 мг% в дистальном отделе кишечника) было значительно ниже, чем в группе 2 (648 мг%, 745 мг% и 767 мг% соответственно).

Таблица 5. Содержание кальция в органах и тканях рыб, мг% в СВ

Образец	Опыт 1		Опыт 2	
	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
Позвонки	8490±459	8723±224	7949±746	7867±1233
Лучи плавника	18549± 921	19377± 988	17583± 1028	16895± 2592
Коракоид	18349±752	18345±834	17781±940* ⁴	15626±1689
Мышечная ткань	42±13	65±7	55±2*** ⁴	40±4
Кожа	122±15	106±24	49±9	57±22
Сыворотка крови	294±19	298±55	220±50	243±31
Кожная слизь	2972±659** ²	1100±241	1810±374	1881±693
Почки, краниальная часть	166±22	165±19	8±3	5±3
Почки, каудальная часть	199±64	235±18	16±3	22±10
Гепатопанкреас	27±3* ²	126±26	14±11	39±23
Доли гепатопанкреаса	33±12	44±15	6±2** ⁴	30±12
Жабры	4213±660	4367±470	4208±847	5024±615
Наджаберный орган	376±153	213±44	182±165	138±65
Глоточные зубы	5558±521	5761±261	3567±250	3365±642
Сердце	185±59	175±31	70±22	48±21
Селезенка	228±68	161±43	30±13	21±3

Во фракциях химуса (рис. 3) в желудке и дистальном отделе кишечника кальций накапливался в основном в РФ, в проксимальном отделе кишечника – распределялся между ПЭФ и РФ. В группе 2 во всех отделах желудочно-кишечного тракта наблюдалась тенденция к увеличению концентрации элемента в ПЭФ. В ПЧ химуса всех отделов отмечалось минимальное содержание кальция.

Исходя из полученных данных, можно сказать, что при ограничении поступления кальция из корма клариевые сомы адаптировались к столь жестким условиям содержания.

Таблица 6. Содержание кальция в оболочках желудочно-кишечного тракта рыб, мг% в СВ

Отдел ЖКТ	Оболочка	Опыт 1		Опыт 2	
		Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
Желудок	Слизистая	480±108	650±234	229±86	272±117
	Серозно-мышечная	72±18	124±52	206±33	233±159
Проксимальный отдел кишечника	Слизистая	976±189	1566±851	487±213	234±109
	Серозно-мышечная	374±85	770±400	128±26	189±104
Дистальный отдел кишечника	Слизистая	1900±387	1955±89	2956±1474	435±97
	Серозно-мышечная	374±61	302±110	160±53	175±52

Затем, вероятно, элемент выводился из организма. Таким образом, можно говорить скорее об избытке элемента в рационе группы 2, нежели о недостатке в группе 1. Элемент не извлекался ни из костей, ни из мягких тканей. При добавлении в виде легко усваиваемого соединения кальций всасывался в кишечнике, накапливался в печени, почках и кожной слизи, а также адсорбировался ПЭФ и стенке ЖКТ.

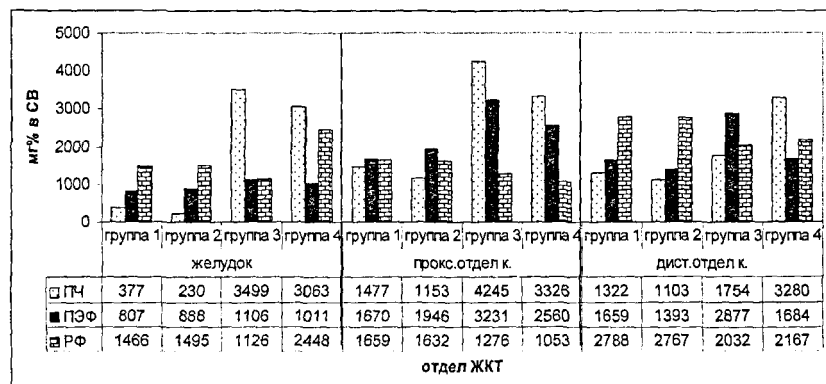


Рис. 3. Содержание кальция во фракциях химуса клариевого сома

В то же время эндогенные фракции химуса (ПЭФ и РФ), независимо от уровня поступления экзогенного кальция, практически не различались по его

концентрации. Высокое содержание элемента отмечалось и в кожной слизи. Вероятно, кальций играет важную роль для этих образований.

3.2.5. Обмен и распределение кальция в организме клариевого сома при ограничении поступления элемента из воды

При исключении воды как источника кальция (опыт 2), наблюдалось достоверное снижение концентрации элемента в долях гепатопанкреаса, лежащих за грудными плавниками с 30 мг% в СВ в группе 4 до 6 мг% в группе 3 ($P \leq 0,01$). В мышцах и коракоидной кости наблюдалась обратная картина – содержание кальция достоверно увеличивалось у рыб, содержавшихся в дистиллированной воде. В остальных органах и тканях различий между группами не наблюдалось (табл. 6).

По содержанию кальция в стенке желудка различий между группами не наблюдалось. Однако концентрация кальция в слизистой оболочке желудка была несколько выше, чем в серозно-мышечной. В проксимальном и, особенно, дистальном отделах кишечника содержание кальция в слизистой оболочке было значительно выше, чем в серозно-мышечной оболочке (табл. 6).

Энтеральная среда рыб второго опыта была более выровнена по содержанию кальция по сравнению с первым опытом. В сухом веществе ЦХ концентрация элемента отмечалось снижение показателя по мере продвижения по ЖКТ.

При рассмотрении состава отдельных фракций химуса наблюдалась следующая картина (рис. 2). В группе 4 кальций локализовался в основном в ПЧ (3223 мг% в СВ). В группе 3 в желудке и проксимальном отделе кишечника элемент также накапливался в ПЧ (3872 мг% в СВ). В дистальном отделе показатель снижался до 1754 мг% и был достоверно ниже соответствующего значения в группе 4 ($P \leq 0,05$). В сухом веществе ПЭФ уровень кальция был наиболее постоянным во всех отделах ЖКТ и составлял в желудке 1057 мг%, в проксимальном отделе кишечника – 2895 мг%, в дистальном отделе кишечника – 2280 мг%. В РФ желудка у рыб, содержавшихся в дистиллированной воде, концентрация кальция была достоверно ниже, чем в контрольной группе ($P \leq 0,01$). То есть в желудке элемент еще не вышел из ПЧ в обеих группах, поэтому его концентрация в ПЧ наиболее высока. В проксимальном отделе кишечника из ПЧ высвобождалась органика, увеличивая концентрацию золь и, в том числе, кальция в этой фракции. В дистальном отделе кишки элемент накапливался в РФ химуса. В отличие от наземных животных, у пресноводных рыб в дистальном отделе кишечника не происходит всасывание воды.

Полученные данные показали, что ограничение поступления кальция с водой не оказало существенного влияния на его энтеральный обмен и

распределение в организме. Очевидно, поступление элемента из корма восполняло недостаток кальция в воде. У рыб, содержащихся в дистиллированной воде (группа 3), в дистальном отделе кишечника элемент активно извлекался из ПЧ и всасывался.

3.2.6. Влияние кальция на обмен и распределение фосфора, магния, натрия и калия в организме клариевого сома

По результатам проведенных исследований можно заключить, что изменение энтерального обмена кальция повлекло за собой изменение энтерального обмена магния и калия.

Полученные нами данные не показали закономерного влияния ограничения поступления кальция на обмен и распределения фосфора. Вероятно, это объясняется многообразием роли фосфора в организме. Так, помимо минерального обмена, он участвует в белковом, углеводном, липидном обменах, изучение которых не являлось целью данного исследования.

Влияние кальция на магний прослеживалось на уровне энтеральной среды – при добавлении кальция в ПСР в группе 2 отмечалась тенденция к увеличению связывания магния ПЭФ на 42% в желудке, на 18% в дистальном отделе кишечника и снижению концентрации элемента в слизистых оболочках ЖКТ на 2-64%.

Низкое содержание кальция в корме и воде не оказало заметного влияния на обмен и распределение натрия в организме клариевого сома.

Ограничение поступления в организм рыб экзогенного кальция повлияло на энтеральный обмен калия. При ограничении поступления с кормом происходило достоверное увеличение содержания элемента на 61% в ПЭФ и более, чем в 2 раза – в РФ дистального отдела кишечника ($P \leq 0,05$). При низкой степени минерализации воды происходило достоверное снижение концентрации калия на 9 – 83% в ПЭФ химуса всех отделов ЖКТ ($P \leq 0,01$).

3.3. Некоторые свойства кожной слизи рыб

Кожная слизь рыб выполняет ряд важных функций. Это образование принимает активное участие в таких физиологических процессах, как осморегуляция, газообмен, иммунная защита.

Наши исследования показали, что кожная слизь рыб обладает способностью к накоплению макроэлементов, участвуя при этом в осморегуляции и минеральном обмене с окружающей водой. Концентрация кальция и магния в кожной слизи различалась между группами в первом опыте. Содержание кальция у рыб из группы 1 достоверно увеличивалось, магния – снижалось ($P < 0,01$ в обоих случаях). Во втором опыте Концентрация калия

(167-975 мг% в СВ) по группам рыб достоверно не различалась. Содержание фосфора зависело от типа рациона. Показатели группы 1 были меньше показателей групп 3 и 4. В слизи рыб группы 2 элемент не был обнаружен. Содержание натрия в слизи в группе 4 (786 мг% в СВ) было достоверно ниже, чем у рыб других групп ($P < 0,01$). Это можно объяснить участием кожной слизи в обмене макроэлементов с окружающей водой. Из литературных источников известно, что у пресноводных рыб в воде с низким уровнем минерализации хорошо развито свойство слизистых оболочек и кожи избирательно удерживать катионы (Иванов А.А., 2003).

Концентрация кальция в слизи рыб всех четырех групп в расчете на сухое вещество была очень высокой и составляла 1-3%. Причем просматривается зависимость этого показателя от степени минерализации среды обитания рыб.

Наименьшие различия между группами наблюдались в содержании кальция, несмотря на то, что в воде концентрация элемента значительно различалась в разных группах. Очевидно, что данный катион имеет большое значение для нормального функционирования слизи и ее структурирования. Таким образом, наши исследования подтвердили общие способности кожной и энтеральной слизи к связыванию и накоплению макроэлементов.

Микробиологическое изучение кожной слизи показало, что она обладает бактериостатическими свойствами, подавляя рост ряда патогенных бактерий (*Bacillus* sp., *Sarcina* sp., *Erwinia* sp.) и грибов (*Mucor* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp.). Кроме того, в кожной слизи были обнаружены микроорганизмы, не встречающиеся в окружающей воде («диплококки»), жизнедеятельность которых препятствует росту других микробов. Слизь, освобожденная от «диплококков» также обладает бактериостатическими свойствами.

Выводы

1. Клариевый сом устойчив к экзогенной депривации кальция. При производстве товарной рыбы в кормлении клариевого сома можно использовать комбикорма с различным содержанием кальция (от 200 мг/кг и выше) и воду с разной степенью минерализации.
2. Снижение уровня кальция в рационе и/или воде не приводит к деминерализации органов и тканей клариевого сома.
3. Содержание макроэлементов в органах и тканях клариевого сома не может служить критерием алиментарной обеспеченности макроэлементами.

4. Макроэлементы Са, Р, Mg, Na и К распределяются по органам и тканям клариевого сома неравномерно. Наиболее высокая концентрация кальция, фосфора и магния обнаружена в сухом веществе костной ткани (18101 мг% , 5467 мг% и 298 мг% соответственно). Максимальное содержание натрия приходилось на сыворотку крови (3710 мг%). Калия больше всего было в мышцах (1734 мг%).
5. Химус рыб является структурированной гомеостатичной средой, состав которой не зависит от видовой принадлежности. На долю ПЧ приходится в среднем 17 %, ПЭФ – 27 %, РФ – 55% сухого остатка химуса. Большую часть химуса желудка и кишечника составляет гидратированная плотная эндогенная фракция (ПЭФ+РФ), в норме занимающая более 80 % объема натурального химуса.
6. Пониженная концентрация кальция в корме и воде изменяет структуру сухого химуса в желудке клариевого сома, в частности, приводит к увеличению доли ПЧ на 22% и снижению доли ПЭФ на 13%, РФ - на 13%.
7. Концентрация кальция в плотной эндогенной фракции химуса является жесткой константой гомеостаза и составляет в среднем для химуса желудка 952 мг%, для химуса проксимального отдела кишечника – 2352 мг%, для химуса дистального отдела кишечника - 1762 мг% в сухом веществе. Депривация поступления кальция с водой и кормом не оказала достоверного влияния на концентрацию элемента в ПЭФ химуса желудка и кишечника.
8. Кальций функционально связан с магнием на уровне энтеральной среды. В ПЭФ клариевых сомов по мере продвижения химуса по ЖКТ динамика магния имела высокую степень корреляции с динамикой кальция ($r=0,86 - 0,99$).
9. Клариевый сом демонстрирует обильное кожное слизиобразование, что обеспечивает рыбам высокую устойчивость к асфиксии в воздушной среде. Кожная слизь клариевого сома содержит (в расчете на 100 г) 200-500 мг сухого вещества. Сухое вещество слизи имеет высокую зольность (25-45%) и включает 1-3% кальция, 0,6-2,0% фосфора, 0,2 – 0,6 % магния, 1-4 % натрия, 0,1-1,0% калия. Кожная слизь клариевого сома обладает бактериостатической активностью по отношению к *Bacillus* sp., *Sarcina* sp., *Erwinia* sp. и элиминирует рост ряда плесневых грибов (*Mucor* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp.).

Практические предложения

1. При производстве товарной рыбы для клариевого сома дополнительное введение кальция в рационы нецелесообразно в случае использования в бассейнах воды средней и высокой минерализации.
2. Полученные в экспериментах данные о механизмах гомеостазирования энтеральной среды могут быть использованы в учебных курсах физиологии и биохимии животных.

Список опубликованных работ

1. Полякова Е.П. Локализация катионов в химусе жкт рыб /Е.П. Полякова, А. А. Иванов, Л.Х Казакова // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии– М., 2005. – Т. XV. – Приложение № 26. – С. 116.
2. Казакова Л.Х. Минеральный состав тела ленского осетра и клариевого сома/ Л.Х. Казакова // Материалы Международной научной конференции молодых ученых и специалистов, посвященной 140-летию РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, 1-2 июня 2005 г. – М., 2006. – С. 528 – 533.
3. Казакова Л.Х. Видовые особенности состава кожной слизи экологически разных видов рыб/ Л.Х. Казакова // Сборник статей Международной научной конференции молодых ученых «Приоритетный национальный проект «Развитие АПК» - новые возможности для молодых ученых». – М., 2006 – С.234 - 237.
4. Казакова Л.Х. Распределение кальция в теле клариевого сома (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822) при его лимитированном поступлении из экзогенных источников/ Л.Х. Казакова // Международная научная конференция молодых ученых и специалистов, посвященной выдающимся педагогам Петровской академии: сборник статей. – М.: Издательство РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, 2008. – С. 158 – 165.
5. Полякова Е.П. Влияние недостатка кальция на структуру химуса рыб/ Е.П. Полякова, А.А. Иванов, Л.Х. Казакова // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – М., 2008. – Т. XVIII. – Приложение № 32. – С. 144.
6. Казакова Л.Х. Гематологические показатели клариевого сома *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) при лимитировании поступления кальция из

экзогенных источников/ Л.Х. Казакова, А.А. Иванов, Е.П. Полякова//
Естественные и технические науки. – М., 2009. - № 1 (39). – С. 51 – 55.

Отпечатано с готового оригинала-макета

Формат 60×84¹/₁₆ Усл. печ. л. 1,4. Тираж 100 экз. Зак. 502.

Издательство РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева
127550, Москва, ул. Тимирязевская, 44
Тел.: 977-00-12, 977-26-90