

На правах рукописи



**ВОЛКОВА ИРИНА ВЛАДИМИРОВНА**



**ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ  
СИСТЕМЫ РЫБ РАЗЛИЧНЫХ ТРОФИЧЕСКИХ ГРУПП**

03.03.01 - физиология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
доктора биологических наук

21 ОКТ 2010

АСТРАХАНЬ – 2010

Работа выполнена на кафедре гидробиологии и общей экологии  
ФГОУ ВПО «Астраханский государственный технический университет»

**Официальные оппоненты:**

Доктор биологических наук, профессор Корниенко Галина Гавриловна  
Доктор биологических наук, Голованова Ирина Леонидовна  
Доктор биологических наук, профессор Егоров Михаил Алексеевич

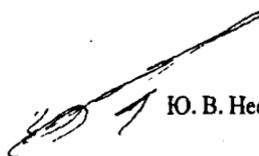
**Ведущая организация:** ГОУ ВПО «Дагестанский государственный университет»

Защита состоится 29 октября 2010 года в 13 часов на заседании диссертационного совета ДМ 212.009.01 при Астраханском государственном университете по адресу: 414000, г. Астрахань, пл. Шаумяна, 1

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Астраханского государственного университета по адресу: 414056 г. Астрахань, ул. Татищева, 20а.

Автореферат разослан «27» 09 2010

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор биологических наук,  
доцент



Ю. В. Нестеров

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Рыбы – наиболее многочисленная группа позвоночных животных, отличающаяся разнообразием среды обитания, характера питания, а также структурно-функциональной организации пищеварительной системы. В связи с этим они являются классическим объектом исследований в области трофологии – современной междисциплинарной науки о питании, созданной и разработанной А. М. Уголевым (1980). В настоящее время рамки этой науки заметно расширились (Уголев, 1985; Кузьмина, 2005), и предметом ее изучения стали не только особенности характера и спектра питания, рационов животных, биохимического состава и калорийности объектов питания, но и общие закономерности ассимиляции жизненно важных пищевых веществ на всех уровнях организации биологических систем. Свойственные трофологии подходы и методы исследования, учитывающие эволюционные аспекты, позволяют диагностировать особенности функционирования пищеварительной системы рыб. С их помощью возможно не только решать теоретические и практические проблемы питания, разработки рецептуры кормов, но и формулировать перспективные направления научного и технологического поиска.

Представления о роли пищеварительной системы в последние десятилетия значительно расширились. Исследование процессов ассимиляции пищи у рыб позволило раздвинуть рамки представлений об изменчивости важнейших характеристик пищеварительной системы, связанных с реализацией не только трофической, но и других, не менее важных функций. Работы последних десятилетий (Buddington et al., 1997; Кузьмина, 2000 б, 2005) свидетельствуют о полифункциональности процессов, происходящих в пищеварительной системе рыб, когда одни и те же ферментативно-транспортные системы на различных уровнях организации обеспечивают разнонаправленные функции. Полифункциональность пищеварительной системы в значительной мере базируется на полифункциональности ее ферментов, а наибольшее значение имеет триединая функция пищеварительных гидролаз: трофическая, защитная и трансформационная (Проссер, 1977; Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, 1999). Несмотря на кажущуюся изученность физиолого-биохимических аспектов питания у рыб, многие вопросы остаются слабо разработанными и требуют дальнейшего детального исследования. Это особенно важно в связи с увеличивающимся антропогенным прессом на водоемы, приводящим к ослаблению интенсивности гидролитических процессов и, как следствие, к снижению трофической функций, что может вызывать уменьшение численности популяций рыб и изменение структуры биоценозов (Кузьмина, 1999).

Следует подчеркнуть, что состояние пищеварительной функции характеризуется не только уровнем организации животного, но и степень его приспособляемости к меняющимся условиям среды, способность адаптироваться к ним, и соответствует образу его жизни и стадии жизненного цикла. Для определения эффективности усвоения пищи у рыб из естественных и искусственных экосистем необходимо детальное исследование различных аспектов пищеварения, в том числе изучение влияния на экотрофию комплекса экологических факторов

среды. Анализ влияния внешней среды на начальные звенья ассимиляции пищи у рыб должен включать различные факторы, такие как композиция пищи, наличие корма, адекватного для каждого этапа развития, трофичность объектов питания, сезон, возраст, абиотические факторы.

За годы эволюции возникли виды рыб, адаптированные к локальным условиям существования и имеющие специфические особенности поиска, добычи, потребления и переваривания пищи. Естественно предположить, что у представителей столь разнообразной группы животных, наряду с общими закономерностями функционирования пищеварительной системы, существуют и некоторые различия. Сведения об особенностях состояния ферментативного аппарата желудочно-кишечного тракта рыб различных трофических групп, в значительной мере влияющего на эффективность питания, а следовательно, и на скорость трансформации веществ в конечных звеньях трофических цепей, важны как для понимания эволюции живых организмов, механизмов их адаптаций к разнообразным условиям существования, разработки проблем эволюции функций, так и для решения многих задач, связанных с искусственным разведением хозяйственно ценных видов рыб. Анализ общих закономерностей начальных этапов ассимиляции пищи и разработка мероприятий, направленных на увеличение эффективности этих процессов, возможны лишь при условии комплексного исследования пищеварительной системы рыб.

**Цель и задачи исследований.** Основная цель работы заключалась в выявлении морфофизиологических закономерностей функционирования пищеварительной системы у рыб различных таксономических и трофических групп.

В связи с этим были поставлены следующие задачи:

1. Изучить структурно-функциональную организацию пищеварительного тракта у рыб различных трофических групп в ранний период онтогенеза.
2. В идентичных методических условиях исследовать динамику активности гидролаз, обеспечивающих процессы полостного и мембранного пищеварения, в процессе онтогенеза у рыб с различным типом питания.
3. Определить скорость продвижения пищи по пищеварительному тракту у молоди лососевых видов рыб при различных температурах.
4. Установить видовые и возрастные особенности кинетики пищеварительных процессов у рыб.
5. Охарактеризовать изменения ферментативной активности пищеварительного тракта рыб, обусловленные циркадными и сезонными ритмами, с учетом влияния ряда абиотических факторов.
6. Изучить видовые адаптации пищеварительной функции рыб к изменению характера субстратной нагрузки.
7. Выявить статистические закономерности связей параметров, характеризующих питание и процессы пищеварения у изучаемых видов рыб.

**Научная новизна.** Впервые в сравнительном аспекте проведено комплексное исследование активности ферментов, осуществляющих гидролиз белковых и углеводных компонентов пищи, в онтогенезе рыб разных таксономических групп (осетровые, лососевые, карповые, сиговые), различающихся типом питания. При этом выявлены как общие черты, так и различия в пищеваритель-

ной функции. Показано, что свойства пищеварительных ферментов у исследованных групп рыб свидетельствуют об их значительной адаптированности к условиям функционирования, обеспечивающей оптимальную реализацию пищеварительной функции. Динамика активности пищеварительных ферментов носит стадиеспецифичный характер. Полученные данные позволили установить ряд закономерностей гидролитического расщепления компонентов пищи у рыб различных таксономических групп, которые могут служить биохимическим тестом при разработке сбалансированных кормов.

Выявлены особенности формирования пищеварительной системы рыб различных таксономических групп: у карповых и лососевых видов рыб формирование пищеварительной системы и становление ее функций завершается в личиночном периоде, у осетровых – в мальковом. Отмечено наличие видовых адаптивных перестроек пищеварительной системы у изученных рыб на разных этапах онтогенеза. Установлено наличие статистических связей между скоростью гидролиза пищи у изучаемых рыб и показателями факторов среды. На примере молоди стальноголового лосося показаны количественные характеристики изменений времени прохождения пищи через кишечник рыб, содержащихся в зарегулированных условиях. Проведено комплексное исследование циркадной и сезонной ритмики активности пищеварительных ферментов кишечника, осуществляющих расщепление углеводных и белковых компонентов корма, и параметров, характеризующих питание у мирных и хищных рыб, выращенных в искусственных условиях. Отмечены возрастные особенности суточной ритмики потребления пищи, а также гидролиза её компонентов.

Впервые в идентичных методических условиях проведено сопоставление динамики активности ряда пищеварительных ферментов, функционирующих в слизистой оболочке кишечника эврифагов и зоофагов, а также изменений морфометрических характеристик рыб в ответ на введение различных добавок к комбикормам. Показано, что замена рациона, состоявшего только из естественной пищи, на рацион с комбикормом оказывает значительное влияние на перестройки пищеварительной функции кишечника рыб. В частности, для эффективного расщепления углеводных компонентов пищи личинкам лососевых рыб необходимо большее напряжение гидролитической функции при потреблении сухих кормов по сравнению с личинками, потребляющими живой корм. Установлено, что пищеварительная функция способна адаптироваться в ответ на введение в корм различного рода добавок.

Посредством корреляционного анализа определены сила и направление статистических связей между некоторыми морфометрическими и физиологическими показателями у карповых и лососевых рыб, а также влияние на эти показатели факторов биотической и абиотической природы. Наличие корма, выступающего в роли субстратной нагрузки на пищеварительную систему, является наиболее сильным среди биотических факторов. Впервые использованы методы кластерного и дисперсионного анализов для определения сходства и различия между отдельными видами растительноядных рыб, а также для установления факторов, оказывающих значимое влияние на формирование ферментативной активности.

**Практическая значимость работы.** Сведения об особенностях морфологии и физиологического состояния пищеварительной системы рыб на разных этапах развития позволяют решать проблемы трофологии, возникающие при искусственном способе получения рыбной продукции, за счет рационального использования кормовой базы и ее направленного формирования в отдельные периоды жизни рыб. Использование при подращивании молоди только искусственных кормов по сравнению с живыми вызывает адекватный сдвиг в обменных процессах рыб, что сопровождается задержкой роста, развития молоди и повышением уровня смертности. В связи с этим необходимо осуществлять поиск кормовых источников, способных обеспечить нормальный рост молоди в ранний постэмбриональный период в условиях индустриального воспроизводства.

Решение вопроса о наличии в пищеварительном тракте молоди ферментов, а также определение уровня их активности имеет принципиальное значение, т. к. данные критерии свидетельствуют о подготовленности организма рыб к приему пищи и о возможности эффективного использования того или иного рациона. Исследования, отражающие скорость продвижения пищи по пищеварительному тракту разновозрастных групп рыб, способствуют более эффективному расчету суточных рационов в различные периоды их жизни.

Полученные результаты могут быть использованы в практике кормопроизводства и при кормлении рыбы в индустриальных условиях. В частности, характер суточной динамики активности ферментов может выступать в роли фактора, определяющего режим кормления рыбы при использовании индустриальных технологий рыборазведения. Одновременное наблюдение за параметрами, характеризующими процессы потребления и утилизации компонентов пищи в процессе выращивания, позволит оперативно вносить коррективы в нормирование кормления, ставя его в соответствие с потребностями рыбы на данный момент.

Полученные регрессионные модели могут быть применены на практике в целях прогнозирования активности пищеварительных ферментов в кишечнике рыб. Наличие статистических моделей позволяет в условиях производственного процесса без применения трудоемких методик определить значение того или иного показателя, используя данные о других исследуемых факторах (например, температуру, рН среды и др.), получение которых не связано с проведением лабораторных экспериментов и наличием подготовленных соответствующим образом специалистов. Появляется возможность прогнозировать значения исследуемых показателей в любой момент времени наблюдения.

Материалы диссертационной работы включены в курсы лекций по экологии, трофологии гидробионтов, физиологии, предназначенные для студентов Астраханского государственного технического университета, а также используются в рыбоводном процессе на Адлерском производственно-экспериментальном рыбоводном лососевом заводе, в Чаганском рыбопитомнике Астраханской области. Результаты работы могут использоваться в курсах лекций по методам рыбохозяйственных исследований, биохимии и физиологии

рыб, гистологии и энзимологии.

**Апробация работы.** Материалы диссертации докладывались и представлялись на научно - технических конференциях профессорско - преподавательского состава АГТУ, Втором Международном симпозиуме «Ресурсосберегающие технологии в аквакультуре» (Адлер, 1999), IX Всероссийской конференции «Экологическая физиология и биохимия рыб» (Ярославль, 2000), Международной конференции (International conference) AQUA 2000 (Франция, 2000), Международной конференции «Структурные преобразования органов и тканей на этапах онтогенеза в норме и при воздействии антропогенных факторов. Экология и здоровье населения. Актуальные проблемы биологии и медицины» (Астрахань, 2000), IV Международном симпозиуме по осетровым (4th international symposium on sturgeon) (США, 2001), I Международной научной конференции «Современные проблемы органической химии, экологии и биотехнологии» (Луга, 2001), Международном форуме по проблемам науки, техники и образования (Москва, 2001), Научно-практической конференции «Перспективы развития рыбохозяйственного комплекса России – XXI век» (Москва, 2002), Международной конференции Европейского совета аквакультуры (International conference European aquaculture society) «Seafarming today and tomorrow» (Италия, 2002), II общероссийской конференции «Проблемы морфологии (теоретические и клинические аспекты)» (Сочи, 2003), научно-практической конференции «Водные биоресурсы России: решение проблем их изучения и рационального использования» (Москва, 2003), Международной научной конференции «Инновации в науке и образовании – 2003», посвященной 90-летию высшего рыбохозяйственного образования в России (Калининград, 2003), Международной конференции «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов» (Петрозаводск, 2004), Международной научно-практической конференции «Научно-производственное обеспечение развития сельского социума» (с. Соленое Займище, Астраханская область, 2005), II Международном форуме «Актуальные проблемы современной науки» (Самара, 2006), ежегодной Всероссийской научной конференции «Актуальные проблемы экологии и природопользования» (Москва, 2007), III Общероссийской научной конференции «Перспективы развития вузовской науки», осенней сессии РАЕ (Сочи, 2007), III Конференции «Современные проблемы науки и образования», весенней сессии РАЕ (Москва, 2008), Международной научной конференции «Европейская интеграция высшего образования» (Черногория, 2008), Общероссийской научной конференции "Актуальные вопросы науки и образования" (Москва, 2009).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 39 работ, в том числе 2 монографии.

**Объем и структура работы.** Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, 7 глав, 5 из которых содержат описание результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, библиографического списка и приложения. Диссертация изложена на 405 страницах, содержит 5 таблиц, 81 рисунок и приложение с 27 таблицами и 3 рисунками. Список литературы включает 437 источников, в том числе 94 иностранных.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена на кафедре гидробиологии и общей экологии Астраханского государственного технического университета. Основу работы составляют многолетние данные, собранные в процессе исследований в водоемах дельты Волги, на рыбоводных хозяйствах Астраханской области и Краснодарского края.

**Объекты исследования.** В работе исследованы 9 видов рыб - представителей нескольких таксономических групп, относящихся к разным трофическим группам и обитающих в различных экологических условиях: карп *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758), белый амур *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes, 1844), белый толстолобик *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes, 1844), пестрый толстолобик *Aristichthys nobilis* (Richardson, 1846), белорыбца *Stenodus leucichthys leucichthys* (Guldenstadt, 1772), стальноголовый лосось *Parasalmo mykiss* (Walbaum, 1792), черноморская кумжа *Salmo trutta labrax* (Pallas, 1814), русский осетр *Acipenser gueldenstaedtii* (Brandt, 1833), севрюга *Acipenser stellatus* (Pallas, 1771).

Согласно трофической классификации (Pavlov, Kasumayn, 2002), часть изученных рыб относится к фитофагам (белый амур - макрофитофаг, белый толстолобик - фитопланктофаги), представители лососеобразных (белорыбца, черноморская кумжа и стальноголового лосося) - к зоофагам, пестрый толстолобик принадлежит группе зоопланктофагов, представители осетровых - группе зообентофагов, а карп - зврифагов.

Отбор проб личинок и мальков карповых, лососевых и сиговых рыб был приурочен к постэмбриональным периодам развития (Смолянов, 1957; Соин, 1963; Игнатьева, 1976; Павлов, 1989). Кроме личинок и мальков белого амура, белого и пестрого толстолобиков, стальноголового лосося, черноморской кумжи и белорыбцы, для исследований были взяты рыбы этих видов старших возрастных групп: молодь в возрасте от трех до девяти месяцев, половозрелые особи в возрасте от одного года до восьми лет. Осетровые рыбы были представлены половозрелыми особями в возрасте от 8 до 24 лет. Объем собранного материала представлен в табл. 1.

**Методы исследования.** В работе использованы ихтиологические (морфометрические), физиолого-биохимические, гистологические и статистические методы.

В зависимости от цели исследования определяли: общую амилолитическую активность, отражающую суммарную активность ферментов, гидролизующих крахмал ( $\alpha$ -амилазы КФ 3.2.1.1, глюкоамилазы КФ 3.2.1.3 и ферментов группы мальтаз КФ 3.2.1.20) методом Нельсона (Nelson, 1944) в модификации А. М. Уголева и Н. Н. Иезуитовой (1969), активность мальтазы (КФ 3.2.1.20) методом Городецкого в модификации А. М. Уголева и Н. Н. Иезуитовой (1969),  $\alpha$ -амилазы (КФ 3.2.1.1) методом Смита и Роя (Smith, Roe, 1949) в модификации А. М. Уголева (1969), активность сахаразы КФ 3.2.1.48 методом Нельсона (Уголев, Иезуитова, 1969), казеинлитическую активность протеиназ (КФ 3.4.21)

в нейтральной (рН = 7,4) и щелочной (рН = 9) среде модифицированным методом Лоури (Алейникова, Рубцова, 1988).

Скорость ферментативной реакции выражали в микромолях или миллиграммах образовавшихся продуктов реакции за 1 мин инкубации ферментативно-активного препарата и субстрата в расчете на 1 г влажной массы слизистой оболочки или влажной массы ткани (мг или мкмоль / г × мин).

Методика расчета индекса потребления и содержания комбикорма в рационе представляет собой модифицированный метод Д. Байкова (Bajkov, 1935) для рыб с равномерным типом питания и ритмическим циклом продолжительностью одни сутки (Щербина и др, 1987).

Таблица 1

Вид	Объем собранного материала	
	Возрастные группы	Количество экземпляров
Белый амур	I – IV этапы личиночного периода	400
	I – III этапы малькового периода	1 000
	половозрелые особи	100
Белый толстолобик	I – IV этапы личиночного периода	3 700
	I – III этапы малькового периода	1000
	половозрелые особи	100
Пестрый толстолобик	I – IV этапы личиночного периода	3 500
	I – III этапы малькового периода	1000
	половозрелые особи	100
Карп	мальки 7 месяцев	4 650
Белорыбица	I – VI этапы личиночного периода	1 285
	I – III этапы малькового периода	397
Стальноголовый лосось	30 - 37 стадии личиночного периода	500
	мальки 3 - 9 месяцев	278
	половозрелые особи	80
Черноморская кумжа	30 - 37 стадии личиночного периода	780
	мальки 3 - 9 месяцев	250
	половозрелые особи	70
Русский осетр	половозрелые особи	114
Севрюга	половозрелые особи	168

Морфометрические измерения проводили по стандартным методикам, принятым в ихтиологии (Правдин, 1966). При изготовлении гистологических срезов использовали традиционную методику (Волкова, Елецкий, 1989).

Результаты, представленные в виде средних значений и их ошибок

( $M \pm m$ ), обработаны статистически с использованием пакета статистического анализа Analysis ToolPack MS Excel, статистических пакетов Statistica 6.0 и S-Plus 2000. Для оценки значимости различий между двумя показателями использовался критерий Стьюдента (Кокрен, 1976; Плохинский, 1982;). Для установления зависимостей между показателями и степени связи между ними проводились корреляционный, регрессионный и многофакторный дисперсионный анализы (Тюрин, Макаров, 2004; Боровиков, 2001). Для проведения классификации использовался кластерный анализ (Труон, 1939; Шитиков и др., 2005).

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 1. Возрастные изменения строения пищеварительной системы рыб в ранний период онтогенеза

Характер питания оказывает значительное влияние на структурную организацию пищеварительной системы рыб, а также на ее функциональные особенности. В процессе онтогенеза в связи с изменением состава пищи меняется строение органов питания и пищеварения рыб. Именно трофическая функция определяет морфологические и гистологические особенности строения пищеварительного тракта. Следует отметить, что темп и сроки формирования структуры пищеварительной системы, становление её функций обусловлены также видовыми особенностями рыб.

Особенности формирования структуры пищеварительной системы ряда видов рыб в ранний период онтогенеза достаточно хорошо изучены. Так, в работах Н. Е. Васильевой и В. М. Коровиной (1968), И. А. Веригиной и И. М. Жолдасовой (1982) и других авторов продемонстрированы морфологические особенности развития пищеварительного тракта у некоторых видов костистых рыб, в частности рыб семейства карповых. Ранний онтогенез пищеварительной системы осетровых отражен в работах М. Ф. Вернидуба с соавт. (1971), С. В. Пономарева, Е. Н. Пономаревой (2003), Г. М. Абдурахманова с соавт. (2006) и др. Пищеварительная система некоторых представителей лососеобразных рыб (*Salmoiformes*) также изучена достаточно подробно. Однако необходимо отметить, что в ранее опубликованных руководствах и монографиях ее строение рассмотрено на примере ручьевой форели (Jacobshagen, 1913, 1937 и др.), модельным объектом более поздних работ стала радужная форель (Щербина, 1980; Meistet et al., 1983; Воронина 1997; Пономарева, 2005). Гораздо менее исследованы другие виды лососеобразных. Поскольку в большинстве работ основной акцент сделан на изучение анатомо-морфологического строения пищеварительной системы, была предпринята попытка исследовать пищеварительный тракт некоторых представителей отряда лососеобразных на гистологическом уровне.

Развитие органов пищеварения тесно связано с морфологическими и экстерьерными показателями рыб. В эмбриональный период у осетровых и у лососевых рыб не происходит окончательного формирования пищеварительного аппарата, его развитие и совершенствование продолжают на последующих этапах онтогенеза. В связи с этим особое внимание было уделено личиночному периоду развития.

Пищеварительная система личинок черноморской кумжи к моменту выклева (рис. 1) уже относительно дифференцирована на отделы, однако не подготовлена к восприятию пищи извне, т. к. в ней имеются две физиологические атрезии: отсутствие связи между глоткой и пищеводом и между анальным отверстием и внешней средой. Поджелудочная железа личинок черноморской кумжи незначительных размеров, однако клетки ее проявляют признаки функциональной активности. На этапе желточного питания (XI этап личиночного развития) продолжается формирование пищеварительного канала личинок: происходит объединение полостей пищеварительного тракта, формирование желудка как самостоятельного органа. Анатомически желудок черноморского лосося формируется значительно позже кишечника (к концу этапа желточного питания). На 13–15 сутки после выклева (конец XI этапа личиночного развития), завершается подготовка личинок к переходу на смешанное питание: образуется единая полость пищеварительного канала, в ротовой полости прорезаются зубы. XII этап личиночного развития (14–16 сутки после выклева) характеризуется переходом на смешанное питание, когда пищеварительная система достигает относительно высокого уровня развития и функционирования и рыба готова потреблять экзогенную пищу. Формирование отделов пищеварительного тракта (секреторные железы желудка и кишечника) при переходе личинок черноморской кумжи на активное питание практически завершается, сформированы печень и поджелудочная железа.

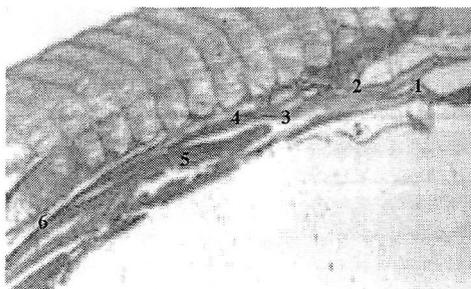


Рис. 1. Общий план строения пищеварительного тракта личинки черноморской кумжи (возраст - 3 дня):

1 – глотка; 2 – атрезия; 3 – пищевод; 4 – воздушный канал,  
5 – желудок; 6 – кишечник.

Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение  $\times 100$

В момент вылупления личинок стальноголового лосося (X этап личиночного периода) пищеварительный канал имеет вид трубки, уже относительно дифференцированной на отделы, но так же, как и у черноморской кумжи, не подготовленной к восприятию экзогенной пищи из - за физиологических атрезии.

зий. Трехдневная личинка имеет гепатопанкреас. Несмотря на незначительные размеры поджелудочной железы, ее клетки проявляют признаки функциональной активности: в апикальных частях клеток, уже объединенных в ацинусы, видна эозинофильная зернистость. На данном этапе развития поджелудочная железа и кишечник личинок черноморского лосося вырабатывают ферменты, активность которых весьма незначительна. Зачатки челюстных зубов у стальноголового лосося присутствуют уже в возрасте 3-х дней (рис. 2). На 6 сутки (XI этап личиночного периода) продолжается подготовка пищеварительной системы к принятию экзогенной пищи (рис. 3), начинают прорезаться глоточные зубы, завершается формирование печени и поджелудочной железы как самостоятельных органов. Все атрезии у личинок стальноголового лосося исчезают уже в возрасте 10 дней, а следовательно, часть особей уже в этом возрасте способна потреблять экзогенную пищу, в отличие от осетровых, чей желудок и промежуточная кишка становятся самостоятельными органами, сообщающимися с другими органами пищеварительной системы, на 43-й стадии развития, но при этом анальное отверстие остается еще закрытым.



Рис. 2. Челюстные зубы личинки стальноголового лосося (возраст - 3 дня).  
Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение  $\times 100$



Рис. 3. Пищеварительный тракт стальноголового лосося (возраст - 6 дней).  
Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение  $\times 100$

Впервые выявлены некоторые видовые особенности формирования пищеварительной системы у личинок исследованных видов рыб. В частности, у стальноголового лосося по сравнению с черноморской кумжей становление гидролитического аппарата происходит более быстрыми темпами, что проявляется в более ранней закладке челюстных и глоточных зубов, исчезновении атрезий и появлении полости внутри пищеварительной трубки на всем протяжении. В кишечнике стальноголового лосося присутствует складка с мощным мышечным слоем, который разделяет средний и задний отделы кишечника, что свидетельствует о более длительном формировании пищевого комка у стальноголового лосося по сравнению с черноморской кумжей.

Согласно Е. Н. Пономаревой (2005), «белорыбица, являясь эндемиком Каспийского моря, за много лет претерпела изменения, связанные с переменой условий окружающей среды, что сказалось и на развитии пищеварительной системы». Особенности развития пищеварительного тракта белорыбицы в раннем онтогенезе обусловлены как характером морфогенеза, так и временем наступления отдельных этапов по сравнению с молодью рыб подсемейства *Salmoninae*. Однако, близкие кормовые потребности определяют и некоторое сходство в развитии пищеварительной системы. К моменту перехода на экзогенное питание несформированным остается желудок, а также некоторые структуры кишечника и ротового аппарата. Если у представителей р. *Salmo* и р. *Parasalmo* к началу экзогенного питания желудок уже развит, то у белорыбицы к этому моменту появляется лишь его зачаток. Поджелудочная железа, напротив, функционально организована, хотя ее ферментативная активность низка. Она представляет собой компактный орган, расположенный снизу от печени, и, подобно шлейфу, тянется параллельно стенке средней кишки вплоть до начала спирального клапана. Поджелудочная железа покрыта снаружи соединительнотканной капсулой (рис. 4). Отходящие от капсулы перегородки делят железу на дольки.

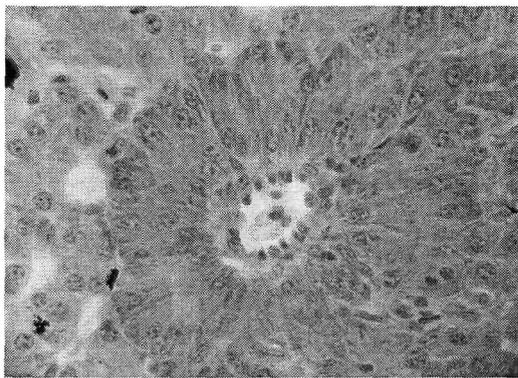


Рис. 4. Поджелудочная железа личинок белорыбицы. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение  $\times 100$

Важно отметить, что, несмотря на значительные видовые различия в темпах становления пищеварительного тракта, у исследованных лососеобразных рыб его формирование в основном завершается к окончанию личиночного периода. Очевидно, что пищеварительная система изученных рыб уже на ранних этапах постэмбриогенеза хорошо дифференцирована и имеет относительно развитые железы, выделяющие ферменты, которые способны переваривать основные компоненты пищи.

Сопоставляя полученные данные с результатами исследований, выполненных на других видах рыб, следует отметить, что, в отличие от кишечника исследуемых хищных лососевых рыб, кишечник четырехнедельной молодежи растительноядного белого амура (Василевский, Василевская, 1993) имеет дифинитивные черты строения, а развитие печени в постэмбриональном онтогенезе заметно опережает развитие поджелудочной железы. Кроме того, в строении пищеварительных органов у месячных рыб данного вида не выявлено специализации к растительной пище. Ключевые моменты развития пищеварительной функции личинок карповых, смена пищевых потребностей в эти моменты, связанные с хорошо изученными морфобиологическими этапами, изложены в работе И. Н. Остроумовой (1983). Следует подчеркнуть, что питание у карповых рыб начинается очень рано и первая пища проходит по пищеварительному тракту непереваренной. После начала питания и полной резорбции желтка в процессе прохождения этапов С1, С2, Д1 кишечник личинок представлен прямой полой трубкой с небольшим изгибом. Согласно И. Н. Остроумовой (1983), «переломным моментом в раннем онтогенезе карповых является начало активного функционирования поджелудочной железы (этап Е)». Полностью сформированный и готовый к перевариванию искусственного корма пищеварительный тракт у карпа наблюдается лишь на этапах F и G.

Пищеварительная система осетровых по своему строению отличается от аналогичной системы других семейств и ближе к таковой бесхвостых амфибий (Шмальгаузен, 1968; Абдурахманов и др., 2006). В отличие от костистых рыб, у предличинок осетровых к моменту вылупления ротовое отверстие еще не открыто, но при этом уже сформирован спиральный клапан, в области которого при одновременном появлении секреции в области поджелудочной железы начинается полостное пищеварение. Другой особенностью является асинхронность развития пищеварительного тракта осетровых, формирование которого идет в направлении «спиральный клапан - средняя кишка - желудок». Следует отметить, что, подобно исследуемым лососевым рыбам, у предличинок осетровых к моменту вылупления имелись также физиологические атрезии, которые наблюдаются сразу после выхода зародыша из оболочек: рот был закрыт, отсутствовали соединения между желточным мешком и глоткой; желточным мешком и будущим спиральным клапаном; анальное отверстие не было сформировано (Абдурахманов и др., 2006). Желудок и промежуточная кишка осетровых становятся самостоятельными органами, сообщающимися с другими органами пищеварительной системы, лишь на 43-й стадии развития, но анальное отверстие остается еще закрытым. Способность пищеварительной системы у осетровых усваивать заглатываемую добычу отмечается к началу активного пи-

тания, т. к. в течение периода желточного питания развивались все необходимые для этого структуры и функции. Следует отметить, что формирование системы пищеварения у осетровых начинается в период эмбриогенеза, а завершаются процессы развития пищеварительного тракта в возрасте 40 - 50 суток, т. е. в мальковый период развития (Вернидуб и др., 1971; Пономарев, Пономарева, 2003; Абдурахманов и др., 2006).

Таким образом, развитие рыб различных таксономических и трофических групп на ранних этапах постэмбриогенеза характеризуется определенной последовательностью появления усложнения морфологических структур пищеварительной системы. При этом особенность развития пищеварительной системы у рыб состоит в том, что условия, в которых происходит формирование системы, неодинаковы для разных видов рыб. Существуют различия в формировании пищеварительной системы карповых, лососевых и осетровых рыб. Установлено, что у одних видов формирование пищеварительной системы и становление ее функций завершается в личиночном периоде (карповые и лососевые рыбы), у других – в мальковом (осетровых).

## **2. Возрастная динамика активности пищеварительных ферментов**

Поскольку изменения в структуре пищеварительной системы неизменно связаны с формированием пищеварительных функций при развитии рыб, изучена этапность развития ферментативных систем рыб как в раннем онтогенезе, так и в последующие периоды жизни. Проведено комплексное изучение пищеварительной функции у рыб, различающихся строением и темпами формирования пищеварительного тракта, а также типом питанием.

В процессе онтогенеза рыб, включающего значительно отличающиеся друг от друга периоды (эмбриональный, предличиночный, личиночный, мальковый, неполовозрелого организма, половой зрелости и старости), активность ферментов претерпевает значительные изменения. Анализируя изменение физиологических процессов, связанных с формированием пищеварительных функций при развитии рыб, следует отметить, что у большинства видов окончательного формирования пищеварительного аппарата в эмбриональный период не происходит, его развитие и совершенствование наблюдается на этапах постэмбриогенеза (Василевский, Василевская, 1993; Пономарев, Пономарева, 2003; Абдурахманов и др., 2006). При этом наиболее существенное увеличение уровня ферментативной активности приходится на личиночный период, т. к. в это время происходят основные процессы морфогенеза и становления гидролитического аппарата. Темп и сроки формирования как структуры пищеварительной системы, так и ее функций имеют видовые особенности, связанные с характером питания, в значительной мере зависят от типа ферментативной цепи, а также могут быть обусловлены врожденной генетической информацией.

В раннем онтогенезе рыб наблюдается тесная взаимосвязь развития структуры и функции пищеварительной системы, определяющей на каждом этапе особенности питания и пищевые потребности рыб. Филогенетическая диссоциация ферментов выявляется уже на самых ранних этапах онтогенеза – в период перехода рыб на внешнее питание. Ключевые моменты развития пище-

варительной функции личинок карпа и осетровых рыб достаточно полно описаны в ряде работ (Ильина, 1983; Остроумова, 1983; Плотников, 1984 и др.). Поэтому этапность функционирования различных ферментных систем в ранний период онтогенеза рассмотрена на примере стальноголового и черноморского лососей, белорыбицы, белого амура, белого и пестрого толстолобиков (рис. 5).

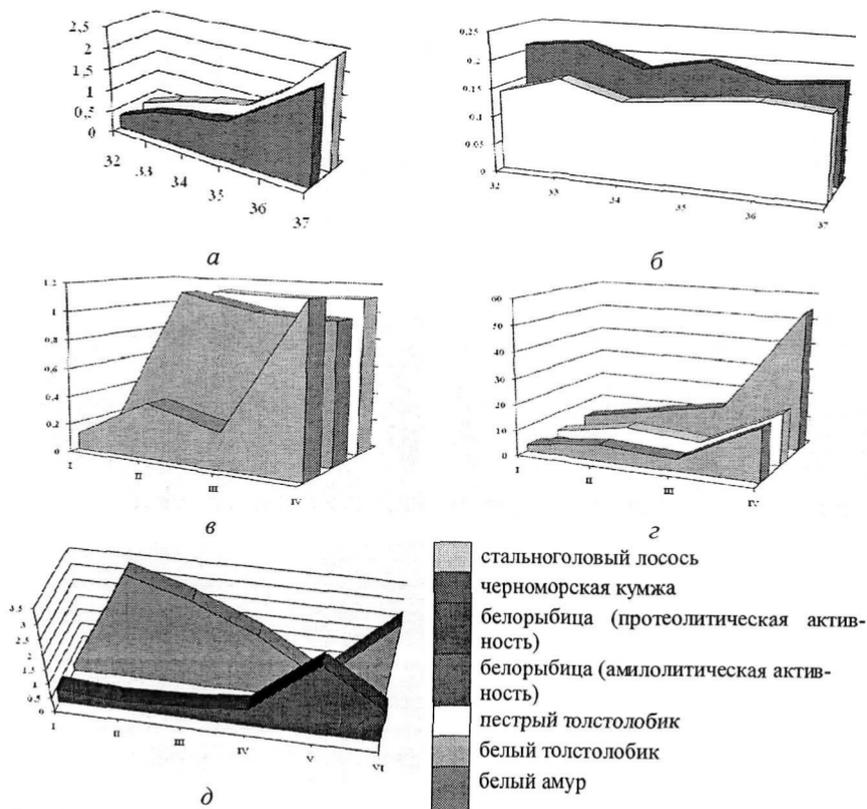


Рис. 5. Динамика общей амилолитической и протеолитической активности у личинок рыб: а, в – динамика протеолитической активности, б, г – динамика общей амилолитической активности, д – динамика протеолитической и общей амилолитической активности у белорыбицы

По вертикали: активность фермента, мкмоль/(г×мин);

по горизонтали: а, б - стадии личиночного периода развития;

в, г, д – этапы личиночного периода развития

Первое увеличение общей амилолитической активности у лососевых рыб (момент перехода на смешанное питание) отражает начало функционирования желез желудка. Пищеварительный тракт в это время отчетливо дифференциро-

ван на отделы, в которых развита складчатость слизистой; начинает меняться форма желудка. Следующее значительное увеличение активности пищеварительных ферментов совпадает с окончанием личиночного развития и переходом в мальковый период. В это время желудок приобретает окончательную сифонообразную форму, характерную для взрослых особей.

Исследование общей амилолитической активности у белорыбицы показало, что на II этапе личиночного периода наблюдалось резкое увеличение исследуемого показателя (в 26 раз по сравнению с I этапом), т. е. в период, когда рыбы полностью переходят на экзогенное питание. Резкое повышение уровня активности пищеварительных ферментов, т. е. «скачок» в функции, наблюдается у рыб с началом активного питания, т. к. прием пищи стимулирует процесс развития пищеварительного тракта и его функции. Подобная закономерность обнаружена также у форели (Дементьева, 1976) и карпа (Kawai, Ikeda, 1973; Ильина, 1983).

Переход личинок лососевых и карповых рыб на смешенное питание сопровождается заметным увеличением скорости гидролиза некоторых пищеварительных ферментов. Однако, если у черноморской кумжи и стальноголового лосося подобная тенденция в отношении общей амилолитической активности выявлена на 12 - 18 сутки, то у карповых растительноядных рыб (белый амур, белый толстолобик, пестрый толстолобик) наиболее значительное увеличение активности отмечено на 21 сутки после вылупления, когда личинки начинают активно потреблять крупные формы фито- и зоопланктона (рис. 5).

Выявленные незначительные колебания общей амилолитической активности с возрастом у исследуемых видов семейства лососевых, возможно, связаны с второстепенной ролью этой группы ферментов в их пищеварении.

Как известно, степень влияния особенностей среды на развитие рыб ярко выявляется на примере акклиматизируемых рыб. Так, у белого амура на протяжении первых пяти лет жизни происходило увеличение скорости гидролиза углеводных компонентов пищи, тогда как после пятилетнего рубежа отмечено снижение общей амилолитической активности. Изменение уровня исследуемого показателя у представителей различных возрастных групп белого толстолобика не подвержено существенным флюктуациям. По всей вероятности, это связано с тем, что рацион данного вида на протяжении исследуемого периода онтогенеза не претерпевает существенных качественных изменений. У пестрого толстолобика на протяжении изучаемого периода жизни максимальное значение активности комплекса ферментов, осуществляющих гидролиз углеводных компонентов пищи, отмечено в возрасте 5, минимальное - 8 лет. Наблюдаемое уменьшение ферментативной активности с возрастом рыб может быть связано с возрастным снижением количества потребляемой пищи на единицу массы (Hofer, 1979; Кузьмина, 1986).

У осетровых в постэмбриональный период развития интенсивный рост активности основных пищеварительных ферментов в большинстве случаев начинается после завершения формирования пищеварительного тракта и перехода личинок на экзогенное питание (Плотников, Проскураков, 1984; Пономарева, 2003). Как показали наши исследования, общая амилолитическая активность у

половозрелых особей русского осетра и севрюги на протяжении исследуемого периода не претерпевала достоверных изменений. Однако анализ данных с учетом пола позволил выявить различия в уровне общей амилолитической активности у самок и самцов исследованных видов осетровых.

Различия в уровне активности карбогидраз у рыб разных трофических и экологических групп в значительной степени коррелируют с содержанием углеводов в кормовых объектах, причем изменения уровня ферментативной активности у видов, входящих в состав одной и той же экологической группы, также может быть связано с различиями в спектре питания, а следовательно, и в концентрации углеводов (Уголев, Кузьмина, 1993). Наибольшие изменения ферментативной активности в цепи карбогидраз отмечены для  $\alpha$ -амилазы, осуществляющей начальные этапы гидролиза углеводов (Кузьмина, 1991). Кроме того, присутствие в слизистой оболочке кишечника рыб того или иного количества амилазы зависит от качества пищи и является характерным для каждого вида рыб (Бузинова, 1979).

Выявлено, что в процессе онтогенеза уровень активности  $\alpha$ -амилазы у изученных видов рыб, относящихся к различным трофическим группам, значительно варьирует. Активность панкреатической  $\alpha$ -амилазы у черноморской кумжи и стальноголового лосося в начале личиночного периода невысока. Гистологический анализ свидетельствует о низком уровне сформированности у вылупившихся личинок структур пищеварительной системы, в частности поджелудочной железы, которая еще представляет собой единый с печенью орган – гепатопанкреас. Лишь к концу личиночного периода происходит дальнейшее формирование поджелудочной железы, что и способствует подъему уровня активности  $\alpha$ -амилазы.

Необходимо обратить внимание на то, что в большинстве случаев уровень общей амилолитической активности и активности панкреатической  $\alpha$ -амилазы в кишечнике черноморской кумжи на всем протяжении изучаемого периода был несколько выше по сравнению с таковым у стальноголового лосося. Это может свидетельствовать о том, что для эффективного расщепления углеводных компонентов пищи черноморской кумже необходимо большее напряжение гидролитической функции, что следует учитывать при составлении рецептов для кормления данных видов рыб. Но, вместе с тем, показатели активности карбогидраз у обоих видов лососевых рыб были достаточно низки по сравнению с аналогичными показателями других исследованных видов рыб. По всей вероятности, это связано с незначительным количеством углеводов в комбикорме, а также физиологическим состоянием исследуемых особей (перестойный период и связанное с ним генетически детерминированное голодание).

Уровень активности амилазы в кишечнике белорыбицы зависит от качества пищи, полученной в данный период развития, и является характерным для данного вида рыб. Активность панкреатической  $\alpha$ -амилазы у белорыбицы достигала максимального значения к концу личиночного периода развития и практически не изменялась в дальнейшем.

Согласно Е. Н. Пономаревой (2003), у личинок осетровых рыб активность  $\alpha$ -амилазы на стадии эндогенного питания регистрируется в небольшом количестве и после их перехода на активное питание ее количество увеличивается незначительно. Возрастание активности этого фермента происходит несколько позже - к началу внешнего питания, когда структурная организация поджелудочной железы у осетровых завершается. Видовых, возрастных и половых особенностей изменения активности  $\alpha$  – амилазы у половозрелых особей осетровых нами не выявлено.

Наблюдаемая у черноморской кумжи, стальноголового лосося и пестрого толстолобика на протяжении изучаемого периода тенденция к снижению скорости гидролиза углеводных компонентов пищи в слизистой оболочке кишечника, по-видимому, обусловлена генетически закрепленной репрессией синтеза данных ферментов с возрастом. Следует отметить, что у половозрелых растительноядных карповых и хищных лососевых рыб наибольший вклад в формирование общей амилолитической активности вносит панкреатическая  $\alpha$ -амилаза, адсорбированная на слизистой оболочке кишечника, т. к. характер изменения активности  $\alpha$ -амилазы на протяжении изучаемого периода аналогичен таковому, выявленному для комплекса карбогидраз.

Несмотря на то что изучению активности протеиназ пищеварительного тракта рыб посвящено немало работ (Kalac, 1978; Jonas et al., 1983; Richards et al., 1995; Кузьмина, 2005 и др.), интерес к ферментным системам, обеспечивающим гидролиз белков – компонентов пищи, в значительной мере определяющих темпы роста и продуктивность популяций рыб, не ослабевает. Большое содержание белка в пище является характерной чертой питания молодежи подавляющего большинства рыб как в естественных, так и в искусственно созданных условиях существования. Наличие определенного количества белковых структур в корме обуславливает развитие соответствующих ферментных систем.

У лососевых рыб на всем протяжении личиночного периода развития наблюдалось увеличение общей протеолитической активности ( $pH = 7,4$ ). В пищеварительном тракте лососевых рыб относительно высокая активность протеолитических ферментов на фоне более низкой скорости гидролиза углеводных компонентов пищи связана с необходимостью переваривать большое количество белка, что является специфической особенностью пищеварительного тракта хищников (рис. 5).

У белорыбицы с возрастом отмечено увеличение протеазной активности на фоне снижения активности карбогидраз ( $\alpha$ -амилазы и общей амилолитической активности), что демонстрирует адаптационные перестройки ферментной системы хищника. Следует отметить, что развитие пищеварительной системы данного вида рыб происходит неравномерно и имеет свои особенности, связанные с биологическими особенностями и условиями обитания, отличными от других представителей лососевых рыб. Белорыбица приступает к внешнему питанию уже при наличии дифференцированного желудка и кишечника, и, как следствие, отмечается высокая активность кишечных протеолитических ферментов.

Если у личинок лососевых рыб увеличение протеолитической активности наблюдалось на всем протяжении личиночного периода с максимумом на заключительной стадии (пищеварительный тракт полностью сформирован), то у карповых растительноядных рыб максимальное значение показателя отмечалось уже на II этапе личиночного периода – при переходе на внешнее питание, когда активность увеличивалась по сравнению с I этапом в 7 – 10 раз (рис. 5). Следует отметить, что у исследованных растительноядных карповых видов рыб активность кишечных протеаз на протяжении всего изучаемого периода характеризуется крайне низкими значениями по сравнению с аналогичными показателями хищных лососевых рыб.

У личинок осетровых до перехода на активное питание активность протеаз достаточно низка, тогда как у мальков со сформировавшейся пищеварительной системой скорость гидролиза возрастает в 7 раз (Пономарева, 2003). Это связано с постепенным и поэтапным развитием пищеварительной системы у данных видов рыб. Только к переходу на внешнее питание, когда у личинок развит желудок с пилорическим отделом и сформированы пищеварительные железы, активность протеаз достаточно высока (Пономарев, Пономарева, 2003).

Как правило, личинки разных видов предпочитают одинаковый вид корма, независимо от того, какую экологическую нишу займут во взрослом состоянии. Так, зоопланктоном питаются личинки растительноядного толстолобика, всеядного карпа, бентофага осетра и хищного лосося. Функциональный же ответ пищеварительных желез зависит не только от генетически закрепленной программы развития ферментных систем, но и от структуры объектов питания организма (Ильина, 1983). Более быстрое увеличение протеолитической активности по сравнению с амилолитической у исследованных видов рыб свидетельствует о подготовке к перевариванию пищеварительной системы личинок к переработке зоопланктона, содержащего большое количество легкоусвояемых растворимых белков.

Анализируя полученные результаты, касающиеся общей протеолитической активности в слизистой оболочке кишечника половозрелых осетровых рыб, следует обратить внимание, что у осетра по сравнению с севрюгой отмечены достоверно более высокие значения уровня ферментативной активности (рис. 6). По всей вероятности, это связано с различиями в питании исследованных видов в период нерестовой миграции, когда и осуществлялся их вылов. Севрюга не прекращала питаться в период своей нерестовой миграции, тогда как кишечник осетра не содержал пищевого комка. Будучи, как и все осетровые, бентофагом, севрюга частично поглощает вместе с пищей и загрязненные грунты. Установлено, что в присутствии грунта активность протеаз кишечника рыб значительно снижается (в ряде случаев до нуля), причем наибольшее подавление ферментативной активности наблюдалось в присутствии грунтов, изъятых из русловых участков Нижней Волги (Кузьмина, 1999). При значительном содержании грунта в пищевом комке (до 10 %) в условиях антропогенного загрязнения водоемов могут полностью блокироваться начальные этапы гидролиза белка за счет торможения механизмов полостного и мембранного пищеварения (Кузьмина, 1999).

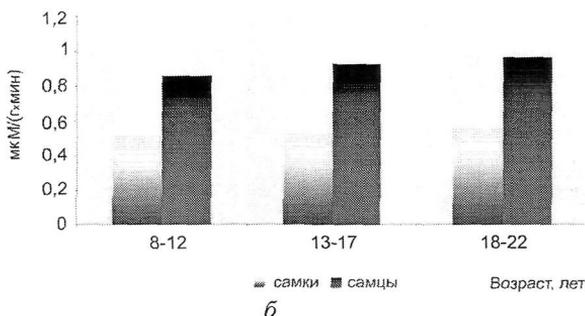
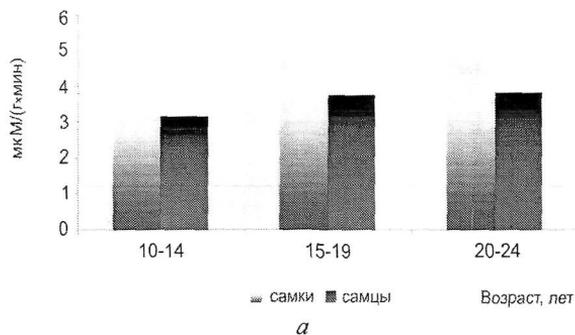


Рис. 6. Общая протеолитическая активность:  
 а — русский осетр *Acipenser gueldenstaedtii*,  
 б — севрюга *Acipenser stellatus*

Выявлена зависимость активности пищеварительных ферментов от половой принадлежности изученных видов осетровых рыб. Величина различий между особями разного пола по данному признаку колебалась от нескольких до десятков процентов. Сравнительный анализ активности протеаз у севрюги и осетра показал, что наибольшая скорость гидролиза белковых компонентов пищи наблюдалась у самок осетра по сравнению с самцами, а также самками и самцами севрюги. На зависимость активности пищеварительных ферментов от половой принадлежности рыб указывал ранее и Г. К. Плотников (1984).

Установлено, что уровень активности пищеварительных ферментов у осетровых видов рыб хорошо коррелирует со стадией зрелости гонад. Величина и характер половых различий по данному признаку определяются как видовой спецификой, так и типом ферментативной цепи. Наличие видоспецифичных половых различий может быть связано с адаптацией осетровых к существенно отличающимся процессам нерестового хода и следующими за ним покатной и нагульной миграциями у рассматриваемых видов. Русский осетр имеет четкое разделение на яровую и озимую расы. Среди анализируемых особей преобладают те, которые, совершая нерестовую миграцию, завершают её лишь на сле-

дующий год, перезимовав в реке. Этому соответствуют более низкие, чем у севрюги, значения степени зрелости гонад, с одной стороны, отражающие готовность рыбы к нересту и качество половых продуктов, с другой – соответствующие общей величине перестройки обменных процессов, а также перенаправление потока питательных веществ в половую систему рыбы и адаптационные явления, связанные с процессами осморегуляции при переходе из моря в реку. Имея протяженные миграционные пути (и соответствующую им скорость адаптивных перестроек организма), спустя значительное время после нереста осетр возвращается в морские условия и начинает нагуливаться, претерпевая обратную перестройку. У исследованных севрюг степень зрелости гонад в среднем выше, чем у русского осетра. Севрюга, нерестящаяся ближе всех к морю из проходных осетровых, проводит меньше времени в реке и с большей скоростью завершает процесс формирования половых продуктов. Кроме того, она быстрее возвращается в морские условия (вновь меняя осморегуляцию и приступая к нагулу), что, помимо относительно более высоких скоростей перестройки обмена веществ, может быть связано и с более ранними сроками такой перестройки. На своеобразии изменчивости биохимических показателей в зависимости от вида, особенностей экологии рыбы при нерестовых миграциях и сопутствующем им генетически закрепленном голодании указывала ранее Р. У. Высоцкая (1999). При этом отмечено усиление процессов катаболизма, направленных на перераспределение веществ для образования гамет.

В нашей работе установлены как адаптивные перестройки разных ферментных систем, так и адаптации в пределах одной ферментативной цепи, обусловленные изменением спектра питания и биохимического состава пищи с возрастом рыб. Выявленные видовые различия в расщеплении белков и углеводов у рыб, относящихся к различным трофическим группам, имеют характерные возрастные особенности и отражают реализацию пищеварительной функции во времени у организмов, принадлежащих к различным экологическим группам. Исследования изменения уровня активности пищеварительных ферментов, осуществляющих гидролиз углеводных и белковых компонентов пищи у рыб, позволяют судить о пищевых потребностях организма в разные периоды онтогенеза и выявлять адаптивные реакции пищеварительной функции, тем самым дают возможность рационально использовать компоненты корма.

### **3. Ритмика питания и пищеварения рыб**

Современные представления об эволюции живых систем тесно связаны с феноменом биологического ритма. Для всех организмов характерны сложные, циклические способы осуществления важнейших процессов метаболизма. Именно колебательный характер жизненных процессов обеспечивает стабильность в живых системах. Открытие периодичности в активности желудочно-кишечного тракта, обнаруженной В. Н. Болдыревым (1904) сначала у собак, затем и у человека, стало основной предпосылкой для формирования современной биоритмологии, которая интенсивно развивается специалистами в различных областях знаний, в том числе в физиологии и биохимии пищеварения у рыб.

Известно, что циркадианная система организма отличается высокой чувствительностью ко всем воздействиям, и нарушение этой системы служит одним из первых симптомов будущего неблагополучия организма. В связи с этим значительный интерес представляет изучение циркадианных ритмов функции органов желудочно-кишечного тракта.

Сложные зависимости между циркадными ритмами, интенсивностью питания и уровнем ферментативной активности были исследованы А. М. Уголевым и В. В. Кузьминой (1993) на рыбах из природной популяции. В частности авторами отмечалось, что у рыб, отличающихся низкой ферментативной активностью в утренние часы, наблюдается достоверное увеличение ее к вечеру, а у особей, обладающих высокой активностью в утренние часы, суточная динамика не обнаружена. Р. У. Высоцкая (1999) при изучении сезонной динамики активности лизосомальных ферментов в печени некоторых видов рыб, обитающих в естественных водоемах, выявила значительное возрастание их активности в зимне-весенние месяцы.

В естественных условиях практически все виды рыб обнаруживают суточные ритмы питания. В последнее время все большее число авторов склоняются к тому, что существует так называемая память на время. Сегодня этот факт описан в отношении различных видов животных. Такая предвосхищающая активность, означает не только повышение общей возбудимости, но и действительное ожидание пищи. По всей вероятности, биоритмы функций органов желудочно-кишечного тракта рыб следует рассматривать как генетически закрепленный признак. Так, при выращивании осетровых в зарегулированных условиях изменение интенсивности питания совпадало с биологическими ритмами, прослеживающимися в природе. Как в естественных условиях (Закора, 1971), так и в управляемых условиях водной среды (Коваленко, 2007) при четко выраженном ритме в течение суток было выявлено два подъема в интенсивности питания, которые приходились на утреннее (5 – 8 ч) и вечернее (18 – 19 ч 30 мин) время. Следует подчеркнуть, что при изучении сезонной ритмики питания осетровых в зарегулированных условиях (Коваленко, 2007) изменение интенсивности питания при оптимальных условиях также совпадало с биологическими ритмами, прослеживающимися в природе: замедление темпа роста рыб происходило независимо от гидрохимического режима водоемов в осенний и весенне - летний периоды, когда в естественных условиях осетровые замедляют интенсивность питания.

При определении интенсивности питания учитывают количество пищи, которое находится в пищеварительном тракте в данный момент, суточную ритмику питания и скорость продвижения пищи по тракту. Общее предварительное представление об интенсивности питания дает индекс наполнения пищеварительного тракта, который характеризует накормленность рыбы в данный момент времени. Длительность прохождения корма через пищеварительный тракт является одним из важных показателей физиологического состояния пищеварительной системы, по которому можно определить влияние корма на одну из важнейших сторон деятельности пищеварительной системы - моторику желудочно-кишечного тракта. Знание биологических ритмов питания, данные о ско-

рости продвижения пищи у рыб позволяют дать более полную количественную и качественную характеристику питания того или иного вида рыб, способствуют более эффективному расчету суточных рационов и позволяют получать хорошие результаты при выращивании рыб в индустриальных условиях.

В настоящее время опубликовано много данных, характеризующих скорость продвижения пищи по пищеварительному тракту безжелудочных рыб (Вовк, 1976; Щербина и др., 1982; Киселев, 1984; Колобова, 1997). Среди хищников подробно исследована радужная форель (Привольнев, 1969), а изучением прохождения пищи в кишечнике морских рыб занимались А.Ф. Каревич и Е.Н. Бокова (1936, 1937). Модельным объектом исследования продвижения пищи по пищеварительному тракту рыб в нашей работе служила молодь стальноголового лосося, выращенного в искусственных условиях. Определение времени прохождения пищи по кишечнику рыбы проводили при температуре 7 °С (рис. 7а) и 14 °С (рис. 7б).

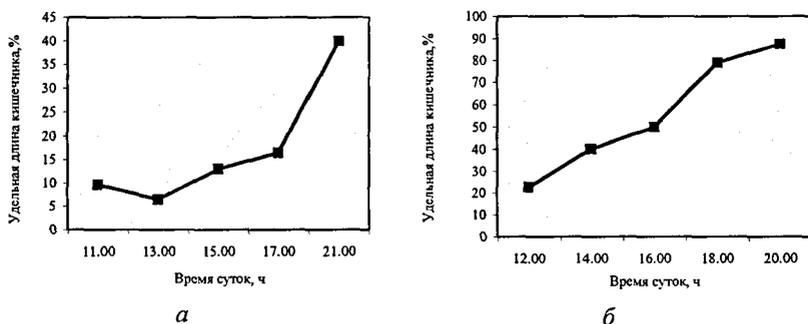


Рис. 7. Продвижение пищи по кишечнику стальноголового лосося: а – температура 7 °С, б – температура 14 °С

Следует отметить, что при температуре 7 °С пища в кишечнике стальноголового лосося продвигалась в среднем в 2 раза медленнее, чем при 14 °С (за 25 и 11,5 часов, соответственно). При повторных кормлениях новые порции пищи несколько ускоряют движение корма: при 7 °С время прохождения пищи составило менее суток, а при 14 °С - менее 10 часов. Полученные данные позволяют рекомендовать кормление молоди стальноголового лосося 2 раза в сутки при температуре воды 7 °С, тогда как при 14 °С следует кормить до 4-х раз в сутки.

Влияние морфофизиологических особенностей рыб на суточный ритм питания может быть четко выявлено путем сравнения интенсивности питания у разновозрастных особей. В связи с этим определяли индекс наполнения пищеварительного тракта у искусственно выращиваемых объектов: молоди стальноголового лосося, черноморской кумжи и карпа с учетом возраста.

Возрастные отличия в суточных ритмах питания лососевых рыб (рис. 8) заключаются в длительности периода, необходимого для максимального наполнения желудков, а также во времени суток, когда этот максимум достигается. Следует отметить, что суточный ритм у более молодых рыб (3, 5, 6 месяцев)

выражен более четко, чем у более взрослых. С возрастом и увеличением размеров рыбы захватывают пищу чаще.

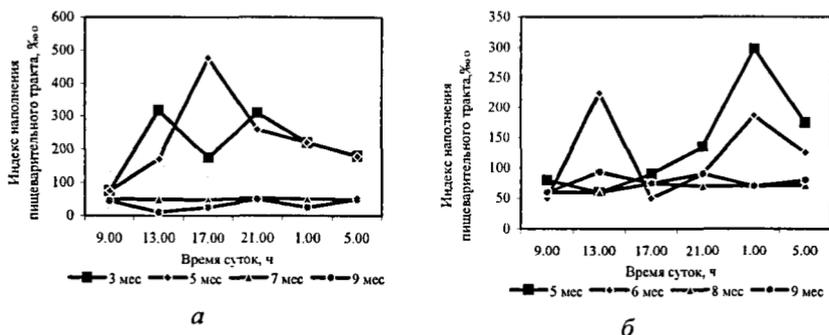


Рис. 8. Индекс наполнения пищеварительного тракта:  
 а – молодь черноморской кумжи, б – молодь стальноголового лосося

В течение суток может быть один или несколько подъемов питания. Наблюдаемые видовые различия в интенсивности питания у исследованных лососевых рыб, по всей вероятности, связаны с их разными размерно-весовыми характеристиками. Так, у стальноголового лосося, который имеет большую массу и длину тела, скорость продвижения пищи по пищеварительному тракту ниже, чем у черноморской кумжи.

Данные по интенсивности питания в течение суток у двух видов лососевых рыб позволяют отнести стальноголового лосося к сумеречным рыбам в большей степени, чем черноморскую кумжу, т. к. именно в это время наблюдались наиболее высокие значения интенсивности его питания.

Установлено, что, пик индекса потребления пищи у карпа до начала кормления комбикормом приходился на вторую половину дня (13:00). Аналогичная картина динамики суточного ритма питания отмечалась у карпа и в естественных условиях обитания (Киселев, Рекубретский, 1982; Киселев, 1985). Необходимо отметить, что после начала кормления карпа комбикормом и далее на протяжении всего эксперимента характер динамики суточного ритма питания практически не изменялся. В то же время интенсивность питания в постоянно меняющихся условиях среды оказывается довольно гибкой характеристикой, что подтверждается незначительным перемещением максимума индекса потребления пищи у карпа.

Анализируя полученные результаты, касающиеся интенсивности потребления пищи, можно предположить, что суточная динамика индекса потребления с максимумом во второй половине дня является характерной для всех исследованных рыб. Следует отметить, что данная закономерность наблюдается и в случае, когда рыба не получала пищи (в начале исследования комбикорм не являлся основной составляющей суточного рациона карпа). Подобная особенность, когда максимальное потребление пищи приходится на вечерние часы,

при заходе солнца, отмечена и для других видов рыб (Кияшко и др., 2007). Такая суточная пищевая активность свойственна рыбам, у которых основным анализатором при их питании является зрение.

Реализация пищеварительной функции у рыб зависит не только от возраста, определяющего степень сформированности пищеварительной системы, вида или половой принадлежности, но и от постоянно меняющихся условий окружающей водной среды (температура, содержание кислорода, концентрация ионов водорода), а также суточных и сезонных ритмов.

Изучение циркадной ритмики активности пищеварительных ферментов у молоди черноморской кумжи и стальноголового лосося позволило выявить экстремумы общей протеолитической активности (ранним утром и поздней ночью), свидетельствующие о генетически сформированном механизме адаптации рыб к хищничеству: в 9:00 и 1:00 – для особей в возрасте 4-х месяцев, в 9:00 и 21:00 – для особей в возрасте 6-ти и 7-ми месяцев. Колебания общей амилолитической активности у обоих видов рыб не приурочены к циркадным изменениям, что может быть связано с меньшей ролью углеводов в питании хищных рыб. Лосось и форель в естественных условиях обычно охотятся рано утром и поздно вечером, когда поток выносит ночных беспозвоночных на свет и делает их легкой добычей хищников. Возможно, именно этим объясняются первые экстремумы общей протеолитической активности, что свидетельствует о генетически сформированном механизме адаптации рыб к корму. Кроме того, возможно, утренний максимум активности фермента является результатом обострения голода после ночи. Следует отметить, что не всегда пики активности ферментов явно привязаны к моментам наибольшей доступности корма.

У белорыбицы утренние пики активности изучаемых ферментов отмечались как в период личиночного развития, так и малькового (рис. 9). Кроме того, было показано, что суточная динамика активности пищеварительных ферментов у личинок и мальков белорыбицы зависит от факторов среды и отражает видовую специфичность в онтогенезе.

Следует отметить, что длительное использование комбикорма в рационе карпа приводит к существенным изменениям циркадианной ритмики активности пищеварительных ферментов, имеющим неодинаковый характер в прудах с различными экологическими условиями, что свидетельствует об экологической неадекватности антропогенного вмешательства в режим и характер питания рыб, наблюдающегося в естественных условиях (Егоров, 1995).

Таким образом, на характер циркадианного ритма гидролитической функции кишечника карповых, лососевых и сиговых рыб оказывают влияние различные факторы. Природа факторов может быть как абиотической (температура воды, содержание кислорода, pH и др.), так и биотической (состояние естественной кормовой базы, рацион и режим кормления, мелиоративные мероприятия и др.).

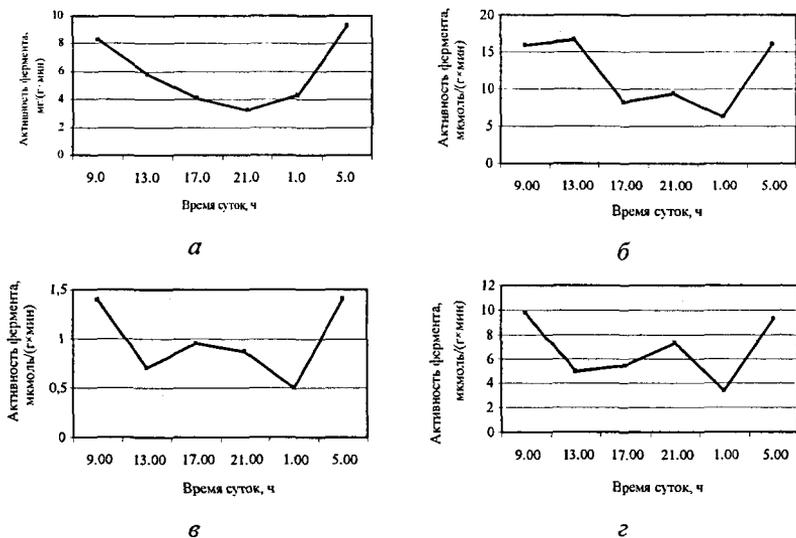


Рис. 9. Суточная динамика активности пищеварительных гидролаз в кишечнике белорыбицы: *а* – активность α-амилазы у личинок; *б* – общая протеолитическая активность у личинок; *в* – общая амилолитическая активность у мальков; *г* – общая протеолитическая активность у мальков

В границах, определяемых метаболическими потребностями, животные в ходе эволюции приурочили процесс кормления к тому времени суток, когда ожидается его наибольшая эффективность. Иногда эти пики явно привязаны к моментам наибольшей доступности жертвы. Прослеживающиеся биологические ритмы у рыб, выращенных в искусственных условиях, следует рассматривать как эволюционно-генетический закрепленный признак.

#### 4. Влияние качественного состава пищи на гидролитические ферменты пищеварительного тракта рыб различных экологических групп

Приспособление к характеру питания обнаружено у беспозвоночных животных и даже у низкоорганизованных форм живых организмов (Kumlu, 1997; Кузьмина, 2005). Способность к перестройке ферментного спектра у рыб в ответ на изменение состава пищи долгое время была предметом дискуссий (обзор: Barrington, 1957). Исследования, проведенные в последнее время, подтверждают такую возможность (Кузьмина, 1981; Неваленный, и др., 1989, 1994, 2003; Кузьмина, 2005).

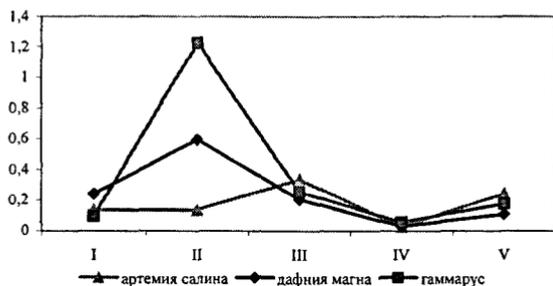
При анализе динамики активности исследуемых карбогидраз, функционирующих в слизистой оболочке кишечника карпа, была отмечена важная особенность, связанная с изменением состава корма. На примере общей амилолитической активности было показано, что любое композиционное изменение

комбикорма относительно контрольного приводит к перестройкам динамики ферментативной активности. При этом следует отметить, что чем значительнее изменение состава корма, тем больше изменяется картина динамики активности, о чем свидетельствуют данные, полученные при исследовании карпа, содержавшегося на кормах с различного рода добавками, что хорошо согласуется с ранее полученными данными (Егорова, 2001). Таким образом, пищеварительная функция карпа способна адаптироваться в ответ на введение в корм добавок. Активность пищеварительных карбогидраз и протеиназ в большей степени определяется составом пищи, который обуславливает наличие статистических связей между энзимами. При этом кишечные протеазы более лабильны в отношении качественного изменения состава комбикорма, нежели ферменты карбогидразного пула.

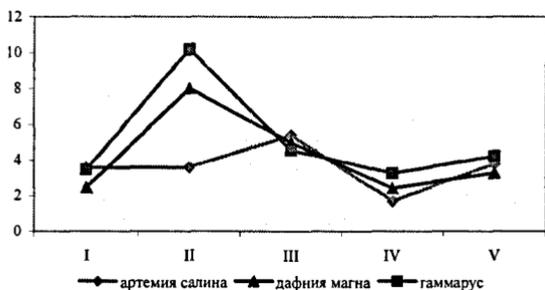
Как известно, при искусственном кормлении рыб развитие пищеварительной системы происходит быстрее, чем общее развитие организма (Ильина, Турецкий, 1987; Кузьмина, 2005). Состав искусственного корма играет немаловажную роль в обменных процессах на начальных этапах онтогенеза рыб. Использование при подращивании рыбы только сухих искусственных кормов, по сравнению с использованием живых, вызывает адекватный сдвиг в химическом статусе организма, в частности изменение природного соотношения жирных кислот в организме, что сопровождается увеличением смертности и задержкой роста и развития молоди. В связи с этим очень важно осуществлять поиск кормовых источников, способных обеспечить нормальный рост молоди в ранний постэмбриональный период в условиях индустриального подращивания.

Исследования по влиянию различных кормов (живых науплиев *Artemia salina*, сухого корма из *Daphnia magna*, сухого корма из *Gammarus*) на ферментные системы личинок белорыбицы показали, что скорость гидролиза углеводных компонентов пищи в трех исследованных случаях неодинакова и с возрастом претерпевает значительные изменения (рис. 10).

Установлено, что у личинок белорыбицы, выращиваемых на сухом корме *Daphnia magna* и *Gammarus*, как общая амилолитическая активность, так и активность  $\alpha$ -амилазы, обеспечивающих гидролиз полисахаридов, достигают своего максимального значения на II этапе развития, а при выращивании личинок на науплиях *Artemia salina* максимальное значение отмечено на III этапе постэмбрионального периода развития. Эти данные могут свидетельствовать о том, что при одинаковых условиях выращивания (объем, плотность посадки, температурный режим, pH и др.) скорость гидролиза углеводных компонентов пищи зависит от ее состава и формы. Кроме того, на активность пищеварительных гидролаз и их выработку значительное влияние оказывают технологическая обработка корма, количество и качество в нем питательных веществ.



а



б

Рис. 10. Динамика ферментативной активности у белорыбцы при кормлении различными кормами  
 а – общая амилолитическая активность, б – активность α-амилазы;  
 по горизонтали – этапы личиночного периода;  
 по вертикали – активность фермента, а – мкмоль/(г × мин), б – мг/(г × мин)

Между характером корма и деятельностью пищеварительной системы существует определенное соответствие, обеспечивающее наиболее эффективное использование кормовых средств с наименьшими затратами энергии. Было отмечено, что при кормлении сухими кормами происходит значительное (в среднем в 3 раза) увеличение активности карбогидраз. Процесс ферментной адаптации происходит не сразу после приема корма, а через несколько суток (на 11 сутки после начала подачи сухих кормов и на 20 – после начала кормления живыми *Artemia salina*). Следует отметить и различные морфологические характеристики личинок белорыбцы, выращиваемых на различных кормах. Лучший результат был отмечен у особей, получавших живой корм (увеличение навески к концу личиночного периода в 3 раза, длины – в 4 раза), в отличие от рыб, потреблявших сухие корма (увеличение навески к концу личиночного периода в 2 раза, длины – в 1,5 раза).

Таким образом, адаптационно-компенсаторные перестройки ферментных систем, реализующих мембранное пищеварение, обусловлены качественным составом пищи. Приспособление пищеварительной системы обеспечивает эффективность и экономичность функционирования. Как правило, не происходит

мгновенной реакции на введение субстрата. Стимул, возникающий при изменении композиции диеты, вызывает кратковременный ответ со стороны пищеварительной системы и должен быть повторен при неоднократном применении специализированной диеты для стабилизации нового уровня соответствующей ферментативной активности. Как правило, не происходит мгновенной реакции на введение субстрата.

## **5. Оценка корреляционных зависимостей, характеризующих питание и пищеварение рыб**

Для выявления взаимно обусловленных зависимостей между наблюдаемыми признаками (активность пищеварительных гидролаз, морфометрические показатели рыб, параметры, характеризующие питание рыб, абиотические и биотические факторы среды) проведен корреляционный анализ. Выявить форму связей между одной зависимой и одной или более независимыми переменными позволила процедура регрессионного анализа.

Следует отметить ряд важных особенностей, касающихся связи индекса потребления пищи и доли комбикорма в ней с общей амилолитической активностью слизистой кишечника. Высокий коэффициент корреляции между долей комбикорма в кишечнике карпа и активностью комплекса кишечных карбогидраз, свидетельствующий о сильной, близкой к функциональной связи ( $r > -0,9$  при  $p < 0,05$ ), подтверждает тезис о том, что уровень активности конкретного фермента зависит от количества субстрата, который гидролизует фермент (Пегель, Антипин, 1973; Кузьмина, 1980; Груздков и др., 1986 и др.). Отсутствие субстратной нагрузки приводит к ослаблению функциональной связи между скоростью гидролиза белковых и углеводных компонентов пищи у карпа, наличие же корма стимулирует увеличение силы связи.

Интегральная оценка питательности корма и влияния его на пластический обмен у рыб может быть получена лишь при комплексном анализе ряда рыбоводно-биологических показателей. В связи с этим был проведен анализ зависимости между интенсивностью роста карпа, выражавшегося в величинах абсолютного и относительного прироста (при этом карп потреблял корма с различными добавками), и ферментными индексами.

Данные, полученные при выращивании карпа на ВБС-РЖ-85 свидетельствуют об очень сильной обратной связи ( $r = -0,96$ ,  $p < 0,05$ ) между абсолютным приростом рыбы в день и коэффициентом КАП/ОАА (отношение казеинлитической активности протеиназ и общей амилолитической активности). Отрицательная умеренная связь ( $r = -0,7$ ,  $p < 0,05$ ) отмечалась и в отношении исследуемой характеристики интенсивности роста и коэффициента КАП/ААА (отношение казеинлитической активности протеиназ и активности полостной  $\alpha$ -амилазы).

Показатели корреляции, рассчитанные для наблюдаемых характеристик у молоди карпа, выращенного с использованием йод-белковой добавки к корму ВБС-РЖ-85, характеризуются такой же степенью тесноты связи, однако в этом случае зависимость положительна. Более высокие показатели коэффициента КАП/ОАА указывают на функциональную нагрузку пищевой добавки, оказы-

вающей белок сберегающий эффект.

Исследуемые ферментные индексы у карпа, получавшего в виде добавки к корму концентрат микроэлементов и йод – белковый препарат, были идентичны индексам, полученным при использовании контрольного корма, не содержащего какие-либо добавки. Подобный факт отражает равновесную активность при использовании экспериментального и контрольного корма, что указывает на нивелирующее воздействие совместного применения комплекса микроэлементов и йод – белкового препарата на функциональную активность пищеварительной системы.

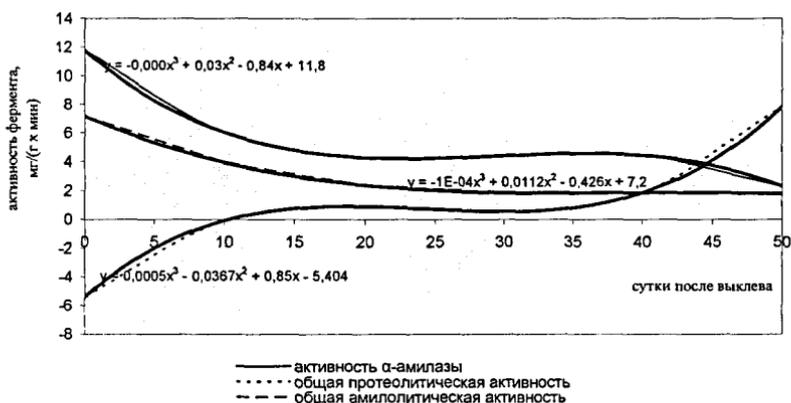
Для белого амура, белого и пестрого толстолобиков удалось выявить устойчивые линейные связи среди наблюдаемых признаков: для личинок белого амура и белого толстолобика эти связи установлены в цепи карбогидраз, для пестрого толстолобика - в цепи протеаз. Так, у белого амура снижение содержания углекислого газа, растворенного в воде, приводило к повышению активности комплекса карбогидраз ( $r = -0,86$ ), тогда как между общей амилолитической активностью в слизистой оболочке кишечника белого амура и окисляемостью воды в мальковых прудах прослеживалась тесная положительная связь ( $r = 0,86$ ). Для данного вида рыб удалось выявить очень тесные положительные корреляционные связи между общей амилолитической, общей протеолитической активностями и массой личинок ( $r = 0,96$  и  $r = 0,95$  соответственно при  $p < 0,05$ ). Как показали результаты, гидрохимические показатели воды в прудах играют важную роль в формировании значений активности исследуемых ферментов у личинок белого и пестрого толстолобиков. Одной из важных видовых особенностей пестрого толстолобика является наличие большого количества обратных связей активности пищеварительных ферментов с исследуемыми признаками (физиологическими и морфометрическими показателями, а также факторами окружающей среды).

Корреляционный анализ, проведенный на примере белорыбицы, показал, что пищеварительные ферменты личинок этого вида находятся в тесной зависимости от абиотических факторов: достоверная положительная связь установлена между общей протеолитической активностью и температурой воды ( $r = 0,91$ ); между активностью  $\alpha$ -амилазы и pH среды ( $r = 0,84$ ). Влияние температурного режима водоема на активность пищеварительных гидролаз, расщепляющих белковый субстрат у белорыбицы в период раннего онтогенеза, согласуется с данными, полученными при изучении других видов хищных рыб (Уголев, Кузьмина, 1993; Кузьмина, 2001). Кроме того, установлена тесная корреляционная связь уровня активности пищеварительных ферментов и возраста рыб.

Синдром покатной миграции молоди белорыбицы определяется совокупностью физиолого-биохимических признаков, свидетельствующих о становлении комплекса адаптивных и преадаптивных изменений. Адаптивные изменения повышают вероятность выживания покатников в речной период миграции, а преадаптивные – в ранний морской (Кычанов, 2003). Эта трансформация обусловлена значительными эндокринными и, как следствие, биохимическими изменениями. По данным В. М. Кычанова (1998), синдром покатной миграции при подращивании мальков белорыбицы в пресноводных прудах обнаружива-

ется в возрасте около 31 суток при массе 1,1–1,2 г. В этот период подрощенная в пресноводных прудах молодь способна переходить на морской тип осморегуляции, у нее характерно преобразуются лабильные системы крови, завершается этап становления гормональной регуляции водно-солевого обмена, изменяются гомеостатические функции организма. В условиях пресноводных прудов она начинает вести себя как морская рыба, т. е. не выводит из организма избыток воды, что является специфическим «предвидением» смены экологической среды обитания. При задержке в пресной воде молодь лососевых теряет преадаптационные признаки и вновь становится туводной, почти потерявшей комплекс функциональных признаков, характерных для катадромных покатников.

В этой связи представляло интерес охарактеризовать состояние пищеварительной функции молоди белорыбицы на протяжении периода подращивания в прудовых условиях и выявить её особенности в период развития синдрома покатной миграции. Регрессионный и дифференциальный анализы выявили наличие тесной связи между динамикой активности исследуемых ферментов и возрастом молоди искусственной генерации (рис. 11).



Ри

с. 11. Динамика изменения активности α-амилазы, общей протеолитической и общей амилолитической активности у белорыбицы в зависимости от возраста, где

у – активность фермента, мкмоль/(г×мин), (мг/(г×мин)); x – возраст, сутки.

Примечание: для α-амилазы  $x_{кр} = 29,4$  сут. ( $y = 4,4$  мг/(г×мин)), для протеолитической активности  $x_{кр} = 24,3$  сут. ( $y = 0,74$  мкмоль/(г×мин)), для общей амилолитической активности  $x_{кр} = 38,62$  сут. ( $y = 1,86$  мкмоль/(г×мин))

Значение точки перегиба на теоретической кривой указывает на границу оптимального уровня онтогенетически обусловленных адаптационных изменений и сигнализирует о начале изменения функционального состояния заводской молоди. Очевидно, что активность α-амилазы тесно связана с глубокими функциональными перестройками в период становления миграционного поведения мальков. Несмотря на свои специфические функции в реализации пище-

варения у рыб, данный фермент является характерным чувствительным индикатором их физиологического состояния в критические, онтогенетически обусловленные периоды.

Критическая точка на кривой зависимости общей протеолитической активности от возраста молоди белорыбицы определяется её координатой – чуть более 24 суток. Данное время указывает на границу уровня общей протеолитической активности, после которой начинаются функциональные изменения пищеварительной функции. Они, в свою очередь, отражают становление качественно нового типа белкового обмена, характерного при переходе на хищный образ жизни.

Таким образом, были впервые определены возрастные характеристики ( $x$ ) при которых происходят изменения активности пищеварительных ферментов ( $y$ ). В среднем переломная точка соответствует  $31 \pm 6,4$  сут (масса молоди белорыбицы в этом возрасте -  $0,96 \pm 0,1$  г).

Установлено, что показатель скорости гидролиза углеводных и белковых компонентов корма, с одной стороны, находится в тесной зависимости от возраста молоди белорыбицы, с другой, поскольку он демонстрирует высокую лабильность на определенных этапах онтогенеза, может быть использован для определения периода становления синдрома покатной миграции.

Такой показатель, как активность ферментов, гидролизующих белковые и углеводные компоненты корма, отражает общую тенденцию адаптивных изменений у молоди белорыбицы искусственной генерации при её физиологической готовности совершать миграцию в Каспийское море и дает возможность прогнозировать состояние организма покатников в определённое время, в конкретной экологической ситуации и, как следствие, уменьшать негативные последствия, обусловленные стрессорными факторами экзо- и эндогенной природы.

Проведенный регрессионный анализ позволил выявить форму связей между уровнями активности исследуемых пищеварительных ферментов, морфометрическими показателями рыб, гидрохимическими и гидробиологическими показателями прудов и др. Полученные регрессионные модели могут быть использованы в целях прогнозирования активности пищеварительных ферментов у карповых и лососевых рыб. Необходимость такого прогнозирования продиктована важностью наблюдения за процессами потребления, гидролиза и утилизации компонентов пищи у рыб при выращивании на естественной и искусственной кормовой базе в условиях воздействия всего комплекса экологических факторов среды. Таким образом, скорость гидролиза пищевых компонентов может быть определена расчетным методом, при этом появляется возможность расчета ошибки оценки и прогнозирования исследуемых показателей.

Как показывает анализ литературы, в настоящее время практически отсутствуют экспресс - методы определения уровня активности пищеварительных ферментов у рыб. Это связано, с одной стороны, с особенностями реализации жизненных функций организма у пойкилотермных животных (в условиях крайней изменчивости факторов, характеризующих среду обитания), с другой - с невозможностью использования трудоемких методик в условиях, отличных от лабораторных (прудовые хозяйства, рыбоводники). Следует отметить, что применение вышеупомянутых методик подразумевает наличие подготовленных

соответствующим образом специалистов.

Кластерный анализ позволяет выявить группы объектов, связи между которыми на первый взгляд неочевидны, т. е. когда отличия одного индивидуального объекта от другого невелики либо объект характеризуется значительным многомерным объемом данных. Зависимости между многими параметрами, описывающими объект, порой, невозможно проследить методами традиционной описательной статистики, корреляционного и регрессионного анализа. В процессе кластерного анализа, интегрируя многомерные параметры определенным образом, можно выбирать способ измерения расстояния между объектами и уровень, на котором объекты объединяются в кластеры, что позволяет достичь весьма высокой точности классификации объектов. Важным требованием к данным, позволяющим проводить успешные классификации, является их достаточное количество и многомерность.

Методы кластерного анализа были использованы для различных групп растительноядных рыб. Это обусловлено тем, что данные по ферментативной активности слизистой оболочки кишечника лососевых и осетровых явно отличны, характеристики одного вида рыб несложно отделить от характеристик другого, не прибегая к кластерному анализу, тогда как растительноядные рыбы характеризуются очень близкими величинами ферментативной активности (особенно на ранних стадиях онтогенеза), да и градиент изменений этой активности с возрастом весьма неоднороден. С другой стороны, по белому амуру, белому и пестрому толстолобикам имеется достаточное количество разнообразных данных для применения кластерного анализа, проводя который по другим видам рыб пришлось бы использовать более сложную методологию там, где необходимость в ней не обоснована.

Проведение кластерного анализа на примере растительноядных рыб позволяет выявить сходство по набору характеристик между рыбами, принадлежащими к разным возрастным категориям и различным видам. Выявленные общности, в свою очередь, важно учитывать в процессе выращивания и кормления рыб, поскольку они являются отражением внутренних закономерностей пищеварительных процессов.

Наиболее успешная классификация данных для выделения групп рыб по видовой принадлежности в зависимости от величины ферментативной активности происходит при использовании метода Варда (рис. 12). Обращает на себя внимание, что присутствует объединение данных в кластеры как по возрастному, так и по видовому признакам.

Распределение кластеров демонстрирует достаточно большое отличие данных по активности пищеварительных ферментов у белого амура от более сходных между собой данных по ферментативной активности у белого и пестрого толстолобиков, что, безусловно, связано с различным строением пищеварительного тракта и спецификой питания рыб. Кроме этого, следует отметить, что для амура характерна высокая трофическая пластичность: при недостатке в водоеме растительности он переходит на другие виды корма (детрит, концентрированные корма, зоопланктон).

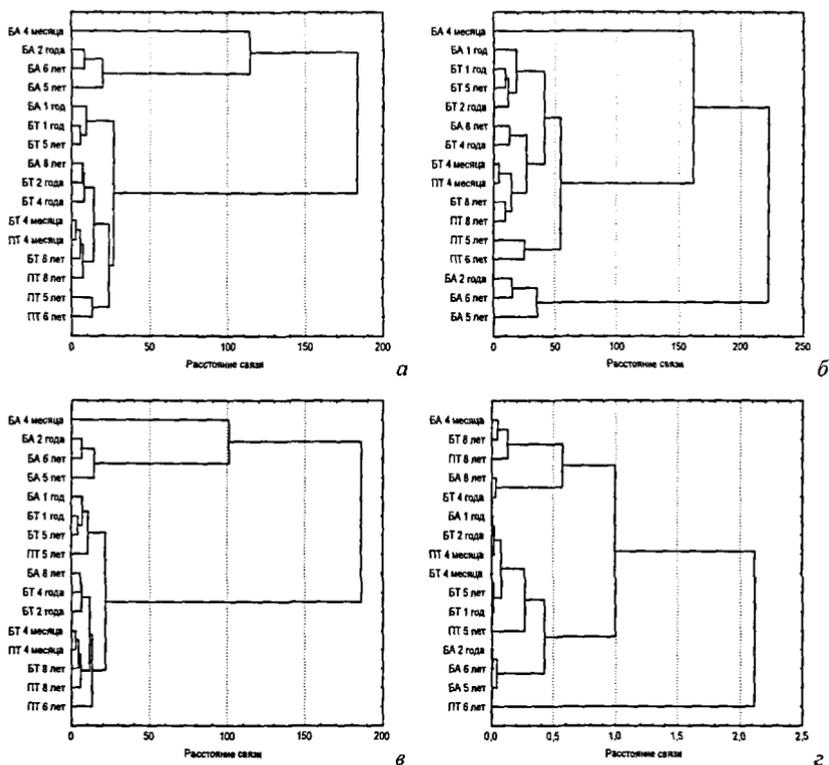


Рис. 12. Дерево классификации данных по активности пищеварительных ферментов растительноядных рыб старшего возраста; метод Варда:

а - евклидова дистанция, б - расстояние городских кварталов,  
в - расстояние Чебышева, г - коэффициент корреляции Пирсона

В результате использования дисперсионного анализа выявлено, что видовая принадлежность исследованных растительноядных рыб не оказывает значимого влияния как на общую амилолитическую, так и на общую протеолитическую активности у исследованных видов растительноядных рыб. Вместе с тем, с высокой достоверностью оказывает значимое влияние на них возраст особи. Совершенно иная ситуация наблюдалась в отношении  $\alpha$ -амилазы и сахаразы: величина ферментативной активности зависит от вида рыбы, в то время как возраст особи значимого влияния на исследуемую величину не имеет. Не обнаружено ни одного случая когда на величину ферментативной активности оказывает влияние как видовая принадлежность рыбы, так и этап развития (возраст рыбы). Также не обнаружено случая, когда на величину ферментативной активности не оказывал бы влияние ни тот, ни другой признак.

Использование многомерного статистического анализа в целом позволяет по-новому взглянуть на получаемые данные и наблюдаемые в них закономерности, а возможно, и выявить новые взаимосвязи.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Благодаря работам А. М. Уголева (1980, 1991), биосферу стали рассматривать как тропосферу, в которой организмы с их мощным гидролитическим аппаратом выполняют функцию обратной связи, способствуя функционированию биосферы по принципу трофостата (Кузьмина, 2005). Следует подчеркнуть, что именно трофология «в известной мере способна дать ответ на вопрос, какой должна быть пища животного с учетом сформировавшихся в ходе эволюции особенностей трофических процессов в его организме» (Уголев, 1980).

Физиолого-биохимические аспекты питания рыб в последние десятилетия были значительно пересмотрены и расширены, что позволило полнее охарактеризовать многообразные функции их пищеварительной системы.

Изучение морфофункциональных особенностей пищеварительного тракта рыб расширяет знания о потребностях организма и позволяет наиболее рационально проводить кормление рыб с учетом физиологической подготовленности пищеварительной системы на каждом этапе развития. Кроме того, активность пищеварительных ферментов является показателем физиологического состояния в процессе развития рыб в конкретных экологических условиях.

В сравнительном аспекте нами исследованы основные особенности развития пищеварительной системы карповых, лососевых и осетровых рыб в ранние периоды развития и в более старшем возрасте. В онтогенезе рыб, особенно на первом году жизни, происходит поэтапная смена объектов питания, связанная с физиологическим состоянием рыб, а также сезонными изменениями видового состава кормовых организмов. При этом осуществляется адаптивная перестройка ферментных систем пищеварительного тракта рыб. Особое внимание необходимо уделять изучению развития структур и функций пищеварительной системы при работе с личинками. Учитывая особенности морфологии и физиологического состояния пищеварительной системы рыб на ранних этапах развития, можно более эффективно решать проблемы трофологии, возникающие при индустриальном способе получения рыбной продукции.

Отмечены некоторые отличия в формировании пищеварительной системы исследованных видов рыб. Выявлено, что характер питания оказывает значительное влияние на структурную организацию пищеварительной системы рыб, а также на ее функциональные особенности. Темп и сроки формирования структуры пищеварительной системы, становление её функций обусловлены также видовыми особенностями рыб.

Выявлено, что пищеварительная система лососеобразных рыб уже на ранних этапах постэмбриогенеза хорошо дифференцирована и имеет относительно развитые железы, выделяющие ферменты, которые способны переваривать основные компоненты пищи. Высокая активность ферментов, гидролизующих белковые компоненты пищи, по сравнению с ферментами, разрушающими углеводные компоненты в пищеварительном тракте лососеобразных рыб, связана с необходимостью переваривать большие количества белка, что является характерной особенностью пищеварительного тракта хищника. В момент выклева личинок исследованных рыб строение их пищеварительного тракта значительно отличается от дифинитивного, и прежде чем достигнуть ор-

ганизации, свойственной взрослым особям, он должен пройти в раннем онтогенезе путь усложнения структуры. Однако, если у лососевых и карповых рыб формирование пищеварительного тракта завершается в личиночный период развития, то у осетровых - только в мальковый.

Филогенетическая диссоциация ферментов выявляется на самых ранних этапах онтогенеза – в период перехода рыб на внешнее питание. Описаны как адаптивные перестройки разных ферментных систем, так и адаптации в пределах одной ферментативной цепи, обусловленные изменением спектра питания и биохимического состава пищи рыб.

У исследованных видов рыб при развитии пищеварительной системы обнаружена этапность в функционировании различных ферментных систем. Этапы в развитии пищеварительной функции связаны с этапами в морфологическом строении рыб. У рыб, относящихся к различным таксономическим и трофическим группам, выявлены особенности возрастных изменений ферментной организации, которые лежат в основе эволюции формулы сбалансированного питания организма от его рождения до глубокой старости.

Изучение гидролитических ферментов, функционирующих в слизистой оболочке пищеварительного тракта хищных лососевых рыб, выявило тенденцию к снижению с возрастом уровня активности всех изучаемых показателей. У фитофага белого амура на протяжении первых пяти лет жизни происходило увеличение скорости гидролиза углеводных компонентов пищи, тогда как в дальнейшем отмечено снижение общей амилолитической активности. Рыбы, достигая определенного возраста, сокращают потребление пищи на единицу массы, что в большинстве случаев сопровождается снижением уровня ферментативной активности (Нофер, 1979; Кузьмина, 1986). Кроме того, по мере роста рыбы происходит уменьшение обеспеченности их ферментами (Бузинова, 1971).

Проведенные исследования показали, что эффективность функционирования ферментных систем зависит не только от их генетически обусловленных потенций, но и от условий окружающей среды, включающих абиотические (гидрохимические показатели прудов, морфометрические показатели) и биотические (показатели, характеризующие питание, биомасса фито- и зоопланктона в прудах) факторы, способные в значительной мере влиять на активность различных пищеварительных гидролаз.

Различные виды статистического анализа, реализованные нами в отношении исследуемых признаков, позволили выявить целый ряд видовых особенностей становления пищеварительной функции в онтогенезе у исследованных рыб и сделать вывод о степени дифференциации рассматриваемых видов по активности пищеварительных ферментов.

Таким образом, выявленные видовые различия в расщеплении белковых и углеводных компонентов рациона характеризуют реализацию пищеварительной функции организмов, принадлежащих к различным экологическим и трофическим группам, и являются характерными показателями для данных видов.

На современном этапе развития науки об адаптации рыб к пище главное направление исследований перемещается от изучения общих физиологических закономерностей пищеварения и энергетического обмена к более сложным за-

кономерностям ассимиляции пищевых веществ на клеточном и субклеточном уровнях. Полученные результаты показывают тесную, возникшую в процессе эволюции живых существ, связь между характером питания и биохимической конституцией тканей и организма рыб в целом. Эти взаимоотношения имеют ферментативную природу, а их изучение в значительной мере может способствовать более целенаправленному проведению научных работ по исследованию закономерностей пищеварения, входящего в систему процессов экзотрофии.

## ВЫВОДЫ

1. Определено, что на ранних этапах онтогенеза у изучаемых лососевых рыб происходят основные процессы дифференциации отделов пищеварительного тракта и становления его функциональной активности. Однако к восприятию пищи извне личинки черноморской кумжи и стальноголового лосося не готовы, т. к. у них имеются две физиологические атрезии: отсутствие связи между глоткой и пищеводом, а также между анальным отверстием и внешней средой. Выявлены видовые особенности формирования пищеварительной системы личинок исследованных видов рыб: у стальноголового лосося по сравнению с черноморской кумжей становление пищеварительного аппарата происходит более быстрыми темпами, что проявляется в более ранней закладке челюстных и глоточных зубов (на 3 и 6 сутки, тогда как у черноморской кумжи - на 10 сутки), а также в более раннем (на 4 - 5 сутки) исчезновении атрезий и появлении полости внутри пищеварительной трубки на всем протяжении.

2. Показано наличие возрастных особенностей изменения активности пищеварительных ферментов в слизистой оболочке кишечника рыб различных трофических групп. При этом перестройки ферментов, гидролизующих белковые компоненты пищи, находятся в строгом соответствии с активностью ферментов, расщепляющих углеводы. Выявленные различия в расщеплении составляющих компонентов пищи характеризуют реализацию пищеварительной функции во времени для организмов, принадлежащих к различным экологическим группировкам, и являются характерными показателями изучаемых видов карповых, лососевых и осетровых рыб.

3. Выявлено, что у личинок лососевых и карповых видов рыб активность пищеварительных гидролаз проявляется сразу после выклева личинок. Активность пищеварительных ферментов в процессе личиночного периода развития претерпевает значительные изменения к моменту перехода на мальковый период, когда происходят перестройки процесса реализации пищеварительной функции, обусловленные переходом на тип питания, характерный для старших возрастных групп.

4. Установлена зависимость активности пищеварительных ферментов от половой принадлежности осетровых видов рыб. Величина и характер половых различий по данному признаку имеют видовые особенности и в значительной мере зависят от типа ферментативной цепи. Уровень активности пищеварительных ферментов осетровых коррелирует со стадией зрелости гонад. Наличие видоспецифичных половых различий объясняется взаимообусловленным комплексом адаптивных перестроек организма рыб, связанных с первоочеред-

ной необходимостью подготовки особей к существенно отличающимся процессам нерестового хода, и следующих за ним покатной и нагульной миграций.

5. Выявлено наличие большого количества значимых прямых и обратных связей активности пищеварительных ферментов рыб, осуществляющих гидролиз белковых и углеводных компонентов пищи, с исследуемыми физиологическими, морфометрическими показателями, а также рядом факторов окружающей среды. Влияние факторов среды абиотической (гидрохимические показатели прудов) и биотической (показатели, характеризующие питание, биомасса фито- и зоопланктона в прудах) природы, морфометрических показателей на формирование уровня активности пищеварительных ферментов рыб может быть не только непосредственным, но и опосредованным.

6. Установлено, что реализация пищеварительной функции может служить показателем физиолого-биохимического статуса молоди белорыбицы и позволяет прогнозировать состояние организма в определенное время в конкретной экологической ситуации, что дает возможность снизить негативные последствия, обусловленные воздействием стрессорных факторов экзо- и эндогенной природы на ее молодь, и объяснить синдром покатной миграции. Полученные результаты демонстрируют, что в определенный возрастной период ( $31 \pm 6$  сут, масса  $0,96 \pm 0,3$  г) молодь белорыбицы готова существовать в новой для неё экологической обстановке, т. е. совершать миграцию из реки в море.

7. Циркадная ритмика активности пищеварительных ферментов исследуемых видов лососевых и карповых рыб в течение сезона выращивания претерпевает значительные изменения, обусловленные текущим гидрохимическим режимом водоема, интенсивностью питания рыбы, продолжительностью искусственного кормления, и имеет видовую особенность на различных этапах постэмбрионального периода рыб. У большинства исследуемых возрастных групп лососевых рыб был отмечен утренний (9:00) максимум активности исследованных ферментов. У карповых до начала кормления искусственными кормами максимум общей амилолитической активности отмечался в 17:00, общей протеолитической – в 5:00 и 9:00, тогда как после начала кормления максимум активности обоих ферментов сдвигается на 9:00 часов.

8. Ферментные системы, обеспечивающие мембранное пищеварение у карповых видов рыб, содержащихся на рационе с различными добавками, проявляют способность адаптироваться в ответ на изменение характера субстратной нагрузки. При этом скорость гидролиза как углеводных, так и белковых компонентов в большей степени определяется составом пищи.

9. Использование кластерного анализа впервые позволило выявить группировки растительноядных рыб, обусловленные величиной активности ряда пищеварительных ферментов и отражающие близость пищеварительных процессов у данных видов рыб разного возраста. Анализ образующихся кластеров показывает картину активности, обусловленную особенностями их питания, и демонстрирует динамику изменения пищеварительных функций у растительноядных рыб с возрастом.

10. Методами дисперсионного анализа впервые продемонстрировано влияние на величину ферментативной активности у исследованных карповых видов рыб факторов видовой принадлежности и этапа развития, причем  $\alpha$ -амилазная и сахаразная активности зависят от вида, а для общей амилолитической и общей протеолитической активностей более значимым фактором является этап развития рыб.

### **Практические рекомендации**

1. Полученные регрессионные модели могут быть использованы в практике аквакультуры в целях прогнозирования активности пищеварительных ферментов у личинок карповых и лососевых рыб.

2. В целях совершенствования способов кормления искусственными кормами при заводском воспроизводстве лососевых рыб необходимо учитывать выявленные особенности строения пищеварительной системы. Так, в момент вылупления (X этап личиночного периода) пищеварительный тракт личинок черноморской кумжи не готов к восприятию экзогенной пищи. Высокого уровня развития и функционирования их пищеварительная система достигает на этапе смешанного питания (14 – 16 сут после выклева), когда и рекомендуется начинать кормление личинок данного вида.

3. Показатели активности пищеварительных ферментов могут служить биохимическими тестами оценки функционального состояния молоди белорыбицы, в частности при определении временных границ миграционного окна, выход за пределы которых отрицательно скажется не только на функциональном статусе покатников, но и на коэффициенте промыслового возврата. Энзиматические характеристики должны являться составной частью комплексного эколого-физиологического определения параметров возникновения и угасания синдрома покатной миграции, рыбоводного стандарта заводской молоди рыб.

4. В нормировании кормления карпа при использовании индустриального способа получения товарной рыбной продукции необходимо учитывать, что чем интенсивнее происходит потребление комбикорма рыбой, тем в меньшей степени его компоненты могут быть подвергнуты гидролизу и последующей утилизации, и наоборот.

5. При использовании индустриальных технологий рыборазведения карповых и лососевых видов рыб при определении режима кормления необходимо учитывать характер суточной динамики активности ферментов. Причем наблюдение необходимо проводить одновременно и за параметрами, характеризующими процессы потребления, и за утилизацией компонентов пищи, что позволит оперативно вносить коррективы в нормирование кормления, ставя его в соответствие с потребностями рыбы на данный момент.

## Список работ, опубликованных по теме диссертации

### I. Монографии

1. Волкова, И. В. Особенности мембранного пищеварения карповых видов рыб / Г. М. Абдурахманов, И. В. Волкова, С. Н. Егоров, В. И. Егорова, В. Ф. Зайцев, С. Г. Коростелев. – М. : Наука, 2003. – 301 с.
2. Волкова, И. В. Морфофизиологические особенности пищеварительной системы некоторых видов лососевых рыб / Г. М. Абдурахманов, И. В. Волкова, Т. С. Ершова, В. Ф. Зайцев, С. В. Шипулин. - М. : Наука, 2006. – 216 с.

### II. Статьи в изданиях, рекомендованных для публикации основных результатов диссертации на соискание ученой степени доктора наук

3. Волкова, И. В. Изучение гидролиза углеводов и белковых компонентов пищи растительноядных рыб / И. В. Волкова, В. Ф. Зайцев // Наука производству. - М. : Виаж-Центр, 2001. - № 6 (44). – С. 23 - 24.
4. Волкова, И. В. Особенности становления пищеварительной функции у некоторых видов рыб семейства лососевых на личиночном этапе развития / Т. С. Ершова, И. В. Волкова, В. Ф. Зайцев // Онтогенез. - 2004. – Т. 35. № 4. - С. 291 - 296.
5. Волкова, И. В. Сравнительная характеристика активности некоторых пищеварительных ферментов у черноморской кумжи и стальноголового лосося / И. В. Волкова, В. Ф. Зайцев, Т. С. Ершова // Вестник АГТУ. – Астрахань: изд-во АГТУ, 2004. - № 2(21). - С. 194 - 199.
6. Волкова, И. В. Особенности мембранного пищеварения у производителей растительноядных рыб / И. В. Волкова, В. Ф. Зайцев, Т. С. Ершова // Вестник Российского университета дружбы народов. – М. : изд-во РУДН, 2005. - № 2 (12). - С. 86 - 89.
7. Волкова, И. В. Видовые особенности уровня пищеварительных гидролаз у лососевых рыб / Т. С. Ершова, И. В. Волкова, В. Ф. Зайцев // Вестник Российского университета дружбы народов. – М. : изд-во РУДН, 2005. - № 2 (12). - С. 81 - 83.
8. Волкова, И. В. Морфофизиологические особенности формирования пищеварительной функции у некоторых видов рыб семейств лососевых и карповых / И. В. Волкова // Вестник АГТУ. – Астрахань: изд-во АГТУ, 2006. – № 3. - С. 106 - 111.
9. Волкова, И. В. Особенности ферментативной активности пищеварительного тракта молоди лососевых рыб / Т. С. Ершова, И. В. Волкова // Юг России: экология, развитие. - Махачкала, 2008. - № 4. – С. 86 - 89.
10. Волкова, И. В. Исследование некоторых статистических закономерностей реализации пищеварительной функции у растительноядных рыб в раннем онтогенезе / И. В. Волкова // Естественные науки – Астрахань: издательский дом «Астраханский университет», 2010. - № 3 (32). – С. 100 - 110.
11. Волкова, И. В. Функциональные особенности пищеварительной системы у производителей лососевых рыб азово-черноморского бассейна / Т. С. Ершова, И. В. Волкова // Естественные науки. – Астрахань: издательский дом «Астраханский университет», 2010. - № 3 (32). – С. 84 - 87.

### III. Статьи в журналах, аналитических сборниках и материалах конференций

12. Volkova, I. V. Peculiarities of asipenseridae hydrolase function in early postembryogenesis / V. I. Egorova, V. F. Zaitsev, S. N. Egorov, I. V. Volkova // Journal of applied ichthyology. Special issue: "Proceedings of the 3 international symposium on sturgeon, Italy". - Berlin, 1999. - Vol. 15 (4-5). - P. 338 - 339.
13. Волкова, И. В. Активность некоторых пищеварительных ферментов у разновозрастных групп растительноядных рыб / И. В. Волкова, В. Ф. Зайцев // тез. докл. Второго Междунар симп: Ресурсосберегающие технологии в аквакультуре. – Краснодар, 1999. – С. 188.
14. Волкова, И. В. Активность нейтральной протеазы у разновозрастных групп растительноядных рыб / И. В. Волкова, С. Н. Егоров // Проблемы рыбного хозяйства на внутренних водоемах. – СПб. : Госниорх, 1999. – С. 57.
15. Волкова, И. В. Сравнительная характеристика активности некоторых пищеварительных ферментов у годовиков лососевых рыб. / С. Н. Егоров, В. И. Егорова, И. В. Волкова, В. Ф. Зайцев // тезисы докл IX Всероссийской конф: Экологическая физиология и биохимия рыб. – Ярославль, 2000. – С. 91 - 93.
16. Volkova, I. V. Reseach of proximate and distant gradient of neutral protease activity of sturgeon producers / V. F. Zaitsev, S. V. Shipulin, I. V. Volkova, Gorden U. V., V. I. Egorova, S. N. Egorov, V. V. Resnyansky // Abstracts of contributions presented at the International conference AQUA 2000 «Responsible aquaculture in the new millennium» Nice, France. – Oostende, Belgium, 2000. - Special publication. № 28.– P. 361.
17. Волкова, И. В. Проксимо-дистальный градиент активности некоторых гидролаз лососевых рыб / И. В. Волкова, С. В. Шипулин, С. А. Кулян // материалы Междунар науч конф, посвященной 70-летию АГТУ. В 3 т. – Астрахань: изд-во АГТУ, 2000. – Т. 2. – С. 265.
18. Волкова, И. В. Активность протеазы в кишечнике разновозрастных групп растительноядных рыб. Структурные преобразования органов и тканей на этапах онтогенеза в норме и при воздействии антропогенных факторов / Волкова И. В. // материалы Междунар конф: Экология и здоровье населения. Актуальные проблемы биологии и медицины. – Астрахань: АГМА, 2000. – С. 205.
19. Volkova, I. V. Proximal and distal gradient of some intestine hydrolases of sturgeon fishes / V. F. Zaitsev, S. V. Shipulin, I. V. Volkova // Extended abstracts of 4<sup>th</sup> international symposium on sturgeon. - USA, 2001.- P. 67.
20. Волкова, И. В. Исследование проксимо-дистального распределения общей протеолитической активности (pH = 7,4) в кишечнике молоди растительноядных рыб / В. Ф. Зайцев, Т. С. Ершова, И. В. Волкова // материалы I Междунар науч конф: Современные проблемы органической химии, экологии и биотехнологии. - Луга, 2001. - Т. 2, Ч. 2. – С. 73 – 74.
21. Волкова, И. В. Сравнительный анализ гидролитической функции кишечника у молоди растительноядных и лососевых рыб / И. В. Волкова, В. Ф. Зайцев, Т. С. Ершова // Тр Междунар форума по проблемам науки, тех-

- ники и образования. – М., 2001 – Т. 3. – С. 66 - 67.
22. Волкова, И. В. Активность пищеварительных ферментов у черноморского лосося на ранних стадиях постэмбриогенеза / В. Ф. Зайцев, Т. С. Ершова, И. В. Волкова, Я. О. Востриков // Тр Междунар форума по проблемам науки, техники и образования. – М., 2001 – Т.3. – С. 64 - 66.
  23. Волкова, И. В. Сравнительный анализ гидролитической функции кишечника у разновозрастных групп растительноядных рыб, выращенных в поликультуре / И. В. Волкова, В. Ф. Зайцев // тез док науч-практ конф: Перспективы развития рыбохозяйственного комплекса России – XXI век. – М. : Изд-во ВНИРО, 2002. – С. 69 - 70.
  24. Volkova, I. V. Peculiarities of enzymes activity in the alimentary canal of salmon and sturgeon fishes / V. F. Zaitsev, I. V. Volkova, S. V. Shipulin, T. S. Ershova // Abstract and extended communications of contributions presented at the International conference «Seafarming today and tomorrow». - Trieste, Italy, 2002. - Special publication on 32. European aquaculture society.
  25. Volkova, I. V. Activity of some hydrolases in gastro-intestinal tract of adult sturgeon fishes / V. F. Zaitsev, S. V. Shipulin, I. V. Volkova // Science and technology. – Makhachkala, DSU, 2002. – P. 154 - 157.
  26. Волкова, И. В. Особенности мембранного пищеварения некоторых карповых видов рыб / В. Ф. Зайцев, И. В. Волкова // Успехи современного естествознания. - М. : Академия естествознания, 2003. - № 8. – С. 94.
  27. Волкова, И. В. Гидролиз белковой и углеводной составляющих пищи у молоди растительноядных и лососевых рыб / И. В. Волкова, В. Ф. Зайцев, Т. С. Ершова // тез докл науч-практ конф: Водные биоресурсы России: решение проблем их изучения и рационального использования. – М. : изд-во ВНИРО, 2003. – С. 104 - 105.
  28. Волкова, И. В. Гидролиз белковых и углеводных компонентов пищи у некоторых видов рыб семейства Лососевых / В. Ф. Зайцев, Т. С. Ершова, И. В. Волкова // материалы междунар научн конф: Инновации в науке и образовании – 2003, посвященной 90-летию высшего рыбохозяйственного образования в России. - Калининград, 2003. – С. 52 - 53.
  29. Волкова, И. В. Особенности ферментативной активности желудочно-кишечного тракта лососевых и осетровых рыб / И. В. Волкова, С. В. Шипулин, Ершова Т. С., Зайцев В. Ф. // материалы Междунар конф: Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. – Петрозаводск, 2004. – С. 25 - 26.
  30. Волкова, И. В. Особенности ферментативной активности желудочно-кишечного тракта осетровых. Эколого-мелиоративные аспекты научно-производственного обеспечения АПК / С. В. Шипулин, И. В. Волкова, Т. С. Ершова, В. Ф. Зайцев // материалы Междунар науч-практ конф: Научно-производственное обеспечение развития сельского социума. – М. : изд-во Современные тетради, 2005. – С. 509 – 513.
  31. Волкова, И. В. Видовые особенности гидролитических функций у мальков лососевых рыб / И. В. Волкова, Т. С. Ершова // тр 2-го Междунар форума: Актуальные проблемы современной науки. Естественные науки. Ч. 29.

Биологические науки. – Самара: Самарский государственный технический университет, 2006. – С. 57 - 61.

32. Волкова, И. В. Особенности реализации пищеварительной функции у осетровых рыб / С. В. Шипулин, И. В. Волкова, Т. С. Ершова // Успехи современного естествознания. - М. : Академия естествознания, 2007. - № 10 – С. 49 - 51.

33. Волкова, И. В. Особенности мембранного пищеварения у карповых видов рыб / И. В. Волкова // 51-я науч-практ конф профессорско-преподавательского состава Астраханского государственного технического университета: тез. докл. В 2 т. – Астрахань: изд-во АГТУ, 2007. – С. 55.

34. Волкова, И. В. Характеристика пищеварительных функций у производителей лососевых рыб азово-черноморского бассейна / Т. С. Ершова, И. В. Волкова // Успехи современного естествознания. - М.: Академия естествознания, 2008. - № 6– С. 138 - 139.

35. Волкова, И. В. Использование древовидной кластеризации при классификации данных по активности пищеварительных ферментов растительноядных рыб / П. А. Кравецкий, И. В. Волкова, С. В. Шипулин // Актуальные проблемы экологии и природопользования: Сборник научных трудов. – М. : РУДН, 2007. – Вып. 9. Ч. 2 – С. 19 - 23.

36. Volkova, I. V. Classification of herbivorous fishes by activity of digestive enzymes / P. A. Kravetsky, I. V. Volkova, S. V. Shipulin // International journal of experimental education, № 3. - Montenegro, 2008. – С. 51 – 52.

37. Volkova, I. V. Some digestive enzyme activity in phytophagous fishes at the early stages of the postembryonic development / I. V. Volkova // International journal of experimental education. - Montenegro, 2008. - № 3. – С. 57.

38. Волкова, И. В. Морфо-функциональные особенности формирования пищеварительной функции у рыб различных таксономических и экологических групп / И. В. Волкова, Т. С. Ершова, С. В. Шипулин // Успехи современного естествознания. - М. : Академия естествознания, 2009. – № 7.- С. 11 - 14.

39. Волкова, И. В. Развитие пищеварительной функции у молоди лососевых рыб / П. А. Кравецкий, И. В. Волкова, С. В. Шипулин // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. - М. : Академия естествознания, 2009. – № 3. - С. 122 - 123.

Подписано в печать 21.09.2010 г. Формат 60×90/16  
 Гарнитура Times New Roman . Усл. печ. л. 2,75. Тираж 100экз.

Отпечатано в Астраханской цифровой типографии  
 (ИП Сорокин Роман Васильевич)  
 414040, Астрахань, пл.К.Маркса, 33,5-й этаж,5-й офис  
 Тел./факс (8512) 54-63-95  
 e-mail: [RomanSorokin@list.ru](mailto:RomanSorokin@list.ru)

