

НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ ФОСФОРНОГО ОБМЕНА У РЫБ

И. А. ШЕХАНОВА

В практике рыбного хозяйства наблюдается такое явление, когда при выращивании в одинаковых условиях молоди одного вида рыб, полученной от одних и тех же производителей, одни особи отличаются весьма интенсивным весовым и линейным ростом, а другие, наоборот, растут значительно медленнее основной массы.

Настоящие исследования мы проводили с той целью, чтобы продыскать пути к разработке методики определения продуктивных и непродуктивных групп рыб. Такой путь мы стремились найти в особенностях фосфорного обмена у рыб с различной интенсивностью весового и линейного роста или у рыб в различном физиологическом состоянии. Эта методика необходима для отбраковки тугорослых особей от основной массы выращиваемой молоди, а также для подбора наиболее продуктивных производителей.

В предыдущих работах [8, 9] были подробно освещены некоторые стороны фосфорного обмена у молоди карповых и осетровых рыб, причем указывалось, что выделение фосфора из организма рыб изучено слабо, так как применяемая методика несовершенна. В то же время очевидно, что для получения исчерпывающих данных по фосфорному обмену характеристика процесса выделения фосфора из организма рыб необходима.

В настоящей работе приводится разработанная нами методика изучения процесса выделения рыбой фосфора, а также некоторые данные об интенсивности этого процесса в зависимости от различных факторов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Материалом для опытов служили мальки и годовики чешуйчатого и зеркального карпов, полученные с подмосковного рыбоводного хозяйства «Нара» и лопасненских колхозных прудов. До опытов рыбу выдерживали в проточных аквариумах при температуре воды 14—18° и кормили личинками хирономид. Размер и вес подопытных годовиков карпа колебался от 7 до 11 см и от 6 до 25 г. Мальки были в среднем длиной около 3 см и весом 1,5—2,0 г.

В некоторых опытах исследовали верховок, пойманных в подмосковных прудах. Они в среднем были длиной 3—5 см, весом 1,5—3,0 г и находились на II—IV стадиях зрелости.

Опыты проводили в аквариальных банках или кристаллизаторах различного размера и объема, в зависимости от количества и размера подопытных рыб. Температуру воды в кристаллизаторах поддерживали на уровне 18—20°. Воду меняли ежедневно. Часть подопытных рыб содержали в аквариальной, подогревая воду в аквариуме до 20—22°. Кормом для всех подопытных рыб служили личинки хирономид и в некоторых случаях дафнии.

Методика введения в организм рыбы изотопа фосфора-32

При изучении различных сторон фосфорного обмена в качестве индикатора интенсивности процессов применяли радиоактивный изотоп фосфора-32 в виде водного раствора соли Na_2HPO_4 , который вводили в организм рыбы путем инъекции, через корм и воду.

Раствор соли вводили в организм рыбы путем инъекции. Годовикам карпа осторожно, стараясь не задеть внутренние органы, шприцем «Рекорд» с тонкой иглой вводили в брюшную полость по 0,05 мл раствора активностью 2,75 μCi (1 μCi дает $2,22 \cdot 10^6$ расп/мин.) на рыбу. Вводить раствор в спинную мышцу, как это делали в предыдущих опытах [9], оказалось нецелесообразным, так как в результате сокращения мышц часть раствора выливается и поэтому трудно точно учесть количество введенного препарата.

После инъекции ранку протирали ваткой и рыбу пускали в кристаллизатор с водой.

При введении в организм рыбы фосфора-32 через корм в чашку Коха помещали 50 г личинок хирономид и заливали 50 мл радиоактивного раствора активностью около 400 μCi . В этой среде личинки находились 2 суток, а затем их постепенно небольшими порциями скормливали подопытным рыбам, находившимся в аквариуме.

При введении фосфора-32 через воду приготавливали раствор активностью 250—300 $\mu\text{Ci}/\text{л}$ и концентрацией фосфора 0,7—1,5 мг/л. Раствор наливали в аквариальную банку и помещали в него рыбу из расчета 10—15 шт. на 1 л в зависимости от размера. Рыбу выдерживали в растворе 2 часа, аэрируя воду, затем сачком вынимали из раствора, тщательно промывали проточной водопроводной водой в течение 5 мин. и помещали в кристаллизаторы для дальнейших опытов.

Методика определения фосфора, выделенного рыбой

В наших предыдущих работах [7, 9] и в работах других исследователей [4] величину выделяемого рыбой фосфора определяли в основном косвенным путем—по изменению общего содержания радиоактивного фосфора в организме рыбы в течение определенного времени. Рыбу выдерживали в радиоактивном растворе, затем тщательно отмывали и помещали в аквариум или кристаллизатор с чистой водой. Постепенно часть рыбы анализировали. Пробы высушивали, растирали и в приготовленных препаратах подсчитывали число распадов в единицу времени. По снижению уровня активности тела рыб судили об интенсивности выделения фосфора. При таком способе исследования требуется много подопытного материала, а из-за индивидуальных отклонений в величине усвоенного радиоактивного фосфора у разных рыб получают лишь приближенные результаты.

Мы сделали попытку определить количество фосфора, выделяемого рыбами в воду, путем выпаривания пробы воды и последующей проверки сухого остатка на радиоактивность. Рыбу выдерживали в радиоактивном растворе, отмывали и помещали в аквариальные банки с определенным объемом воды.

В первом случае в 1 л воды сажали 3 годовика карпа. Пробы воды объемом 3 мл брали шприцем и осторожно по капельке переносили в латунную чашечку диаметром 12 мм и высотой 1,5 мм и выпаривали в сушильном шкафу при температуре 80—85° в течение 1,5 часа. Этот способ взятия пробы занимает очень много времени. Кроме того, он неточный, так как на исследование из 1 л воды берется всего 3 мл, т. е. 0,3%, поэтому вероятность ошибки очень большая.

Во втором случае исследовали всю воду (1 л) и выпаривали ее на водяной бане. Величину радиоактивности осадка проверяли непосред-

ственно на поверхности выпариваемой чашки шупом с торцовой трубкой Т-25-БФЛ. В случае однородности показателей в разных участках чашки можно было бы путем пересчета на всю внутреннюю поверхность чашки установить искомое количество радиоактивного фосфора, находившегося в 1 л пробы. Однако было обнаружено, что у дна осадка собирается больше и радиоактивность этого участка выше, чем стенок чашки. Из пяти исследований, проведенных последовательно, в среднем получили следующие величины:

в самом центре	$25 \times 16 + 14^2 = 52 - 25$ (фон) = 27 имп/мин.,
недалеко от центра	$11 \times 16 + 1^2 = 44 - 25$ (фон) = 19 имп/мин.,
около края чашки	$20 \times 16 + 0^{10} = 32 - 25$ (фон) = 7 имп/мин.

Следовательно, определять радиоактивность путем пересчета на всю площадь оказалось невозможным. Учитывая, что процесс выпаривания такого большого количества воды очень длителен (около 12 час.) и на практике не может быть применен, мы не стали уточнять полученные данные, а отказались от такого способа исследования.

Tomiyama и др. [12, 13, 14] изучали выделение фосфора у рыбы, инъецированной в спинную мышцу, путем осаждения фосфатов из воды, в которой находились опытные рыбы. Осадок проверяли под счетчиком. Методику осаждения фосфора и способ приготовления препаратов авторы не указали.

Известно [2], что для лабораторного получения бесфосфатной воды используются соли железа, алюминия или магния, которые в щелочной среде способствуют переводу фосфатов из воды в осадок. Наилучшими коагулирующими свойствами обладают соли трехосновного железа. При этом получается осадок, наименее растворимый в воде. На 1 л воды следует брать 3 мл 1 N раствора соли трехосновного железа и 3 мл 1 N раствора едкого натра.

В ряде опытов мы проверили возможность осаждения фосфора из воды этим способом и пришли к заключению, что это наиболее удобный метод для изучения выделения рыбой фосфора. Исследовать можно большое количество воды, и получаемый осадок легко проверить счетчиком на присутствие радиоактивного фосфора. В качестве реактива применяли хлорное железо.

Прежде чем применять методику осаждения фосфатов в опытах для изучения выделения рыбой фосфора, надо было установить следующее: сколько получается осадка из определенного объема воды при равном количестве взятых реактивов и всегда ли эта величина постоянна; как полно осаждается фосфор при исчезающе малых его концентрациях в воде; как из полученного осадка приготовить препараты для последующего анализа их на радиоактивность.

Для решения первого вопроса мы брали в конические колбы по 1 л водопроводной воды, добавляли реактивы, тщательно перемешивали и оставляли на различное время (6, 24 и 48 час.), чтобы образовавшийся осадок осел на дно. Часть проб отфильтровывали сразу после добавления реактивов, но на это требуется много времени, так как через фильтр надо пропустить 1 л жидкости. Фильтры перед употреблением тщательно высушивали и взвешивали.

В результате опыта было установлено, что целесообразнее оставлять пробы на 24 часа. За это время осадок сравнительно плотно оседает на дно, поэтому можно предварительно слить лишнюю осадка жидкость. Фильтровать осадок можно через обычную воронку с фильтром «синяя лента» диаметром 9 см. Применять при фильтровании насос Камовского для ускорения процесса нельзя, так как при этом даже через самые плотные фильтры проходит часть осадка и, кроме того, бумажные фильтры часто рвутся.

Фильтры с осадком помещали в сушильный шкаф на 24 часа при температуре 65—70°. За это время осадок полностью освобождался от влаги. Вес осадка определяли по разности веса фильтра с осадком и веса чистого фильтра. В результате 16 измерений оказалось, что вес осадка зависит от количества взятых реактивов и не зависит от времени отстаивания пробы. При принятом нами способе осаждения реактивами в количестве 3 мл 1 N раствора хлорного железа и 3 мл 1 N раствора едкого натра на 1 л воды получается осадок, сухой вес которого в среднем из 16 измерений равен 180 мг, с отклонениями от 172,5 мг до 191,8 мг.

Определение среднего веса осадка с 1 л воды дало возможность в дальнейшем анализировать определенные навески осадка и делать пересчет на 1 л воды.

Для определения степени осаждения фосфора при исчезающе малых его концентрациях в воде использовали препарат радиоактивной соли фосфора $\text{Na}_2\text{HPO}_4^{32}\text{O}_4$, который добавляли к водопроводной воде, чтобы получить раствор определенной концентрации и активности.

Концентрация в мг $\text{P}^{31} + \text{P}^{32}$	Активность раствора в $\mu\text{Ci/l}$
$3 \cdot 10^{-3}$	1
$3 \cdot 10^{-4}$	0,1
$3 \cdot 10^{-5}$	0,01
$3 \cdot 10^{-6}$	0,001

Степень осаждения определяли по радиоактивности полученного осадка, предварительно установив эффективность счетной трубки по специально приготовленному стандартному препарату фосфора. В препарате содержалась 0,001 μCi фосфора-32 (2220 расп/мин.). Под счетчиком в результате нескольких просчетов было получено 570—590 имп/мин., т. е. счетная трубка регистрировала около 25% радиоизлучений, испускаемых препаратом. Мы приняли коэффициент поправки на эффективность счетной трубки 4.

При осаждении из раствора со сравнительно высоким содержанием фосфора ($3 \cdot 10^{-3}$ — $3 \cdot 10^{-4}$ мг/л) он практически полностью уходит в осадок, при более низком содержании фосфора в воде (от $1 \cdot 10^{-4}$ и ниже) часть его остается в фильтрате (табл. 1).

Таблица 1

Содержание $\text{P}^{31} + \text{P}^{32}$ в мг/л	Активность 1 л раствора в расп/мин.	Активность осадка из 1 л раствора в имп/мин.	Активность осадка с учетом эффектив- ности счетной трубки в расп/мин.	Степень осаж- дения фосфо- ра в %
$3 \cdot 10^{-3}$	2 220 000	559 900	2 239 600	100
$3 \cdot 10^{-4}$	222 000	61 242	244 968	100
$3 \cdot 10^{-5}$	22 200	5 179	20 716	93
$3 \cdot 10^{-6}$	2 220	451	1 804	81

Учитывая, что при изучении процесса выделения фосфора придется иметь дело с исчезающе малым количеством его в воде, в повторных опытах мы решили уточнить величину, характеризующую степень осаждения, лишь для растворов с низким содержанием $\text{P}^{31} + \text{P}^{32}$. В результате 12 измерений было установлено, что из раствора с очень низким содержанием осаждается в среднем 80% фосфора.

Чтобы найти наиболее удобный способ приготовления препаратов из осадка для последующего определения в нем радиоактивности, на-

ходящийся на фильтре осадок после высушивания переносили скальпелем в ступку, помещенную в предохранительный футляр из органического стекла, препятствующий распылению частиц осадка при растирании. Растертый осадок наносили порциями по 50—70 мг на одну половину предварительно взвешенных полосок фильтровальной бумаги размером $7,5 \times 5,0$ см, согнутых пополам, тщательно взвешивали, по разности веса фильтра с осадком и чистого фильтра определяли вес осадка и препарат заклеивали.

Толщина слоя растертого осадка и покрывающего его кусочка фильтровальной бумаги была незначительной и самопоглощения препаратом радиоактивных излучений не наблюдалось. Осадок из заклеенного препарата не высыпался и его легко было поместить под счетную трубку. Размер готового препарата соответствовал размеру предметного стекла. После проверки препараты уничтожали. По радиоактивности препаратов определяли общую активность всего осадка.

При окончательном расчете количества выделенного рыбами радиоактивного фосфора принимали во внимание объем воды, в которой находились подопытные рыбы, поправку на естественный радиоактивный распад фосфора-32, эффективность работы счетной трубки и степень осаждения фосфора из воды.

В проведенных опытах по 5—10 рыб (в зависимости от размера) помещали в кристаллизаторы диаметром 33 см и высотой 10 см, в которые наливали по 4 л заранее взятой водопроводной воды. Воду меняли один раз в сутки. На анализ брали ежедневно по 2 л воды (в две колбы по 1 л) из каждого кристаллизатора.

В некоторых опытах наряду с изучением величины фосфора, выделяемого рыбой в воду, исследовали процесс выделения фосфора с экскрементами. Для этого каждые сутки при смене воды экскременты собирали, переносили на фильтр, подсушивали в течение суток в термостате при $65-70^\circ$, заклеивали так же, как и осадки, и проверяли под счетчиком.

При проверке радиоактивности препаратов пользовались установкой типа Б со счетной трубкой СТС-6. Количество выделенного фосфора выражали в расп/мин. в сутки на одну рыбу.

Методика изучения распределения фосфора в организме рыбы

Поверхностную активность, или количество излучений, регистрируемых счетной трубкой с поверхности тела подопытных рыб, определяли ежедневно при смене воды в кристаллизаторах. Живую рыбу заворачивали в фильтровальную бумагу. Счетную трубку Т-25-БФЛ, вмонтированную в «щуп», подносили к поверхности тела рыбы в области расположения внутренних органов и в области хвостового стебля. Величину поверхностной активности выражали в имп/мин. на одну рыбу.

Распределение фосфора-32 по органам и тканям рыб изучали следующим образом. Рыбу, взятую из аквариумов, препарировали. Образцы тканей весом 20—40 мг наносили на кусочки кальки определенного размера и веса, взвешивали на торсионных весах и помещали в пакетик из кальки и заклеивали. Навеску внутри пакетика раздавливали, чтобы уменьшить толщину препарата, и подсушивали в течение 1—2 часов в сушильном шкафу при температуре $65-70^\circ$. Толщина приготовленного таким способом препарата не превышала 1 мм, что давало возможность пренебрегать самопоглощением радиоактивных излучений препаратом. Величину активности выражали в имп/мин. на 100 мг сырого веса ткани в среднем для трех исследованных рыб.

Подопытную рыбу исследовали также на содержание в теле различных фосфорных соединений по методике, применяемой для количественного определения фосфора неорганической фосфорной кислоты, получаемой из органических фосфорсодержащих соединений в результате действия на них различных реагентов [6]. Количество фосфора устанавливали колориметрическим методом по измерению интенсивности окраски молибденовой сини, образующейся при восстановлении эйконогеном фосфорномолибденовой кислоты.

На анализ из одной серии брали 2 рыбы, взвешивали, замораживали в смеси льда с поваренной солью и измельчали поочередно в охлажденном микроразмельчителе тканей. Содержание фосфора определяли в преобразованной неорганической фракции, в органических кислоторастворимых соединениях (лабильный фосфор), в белковом остатке, в жире и жироподобных веществах. Подробно методика определения описана в предыдущей работе [9].

Методика определения общей радиоактивности тела подопытных рыб

Общую радиоактивность рыб определяли в высушенных образцах. Через определенное количество дней (от 2 до 7) часть рыб вынимали из воды, обсушивали фильтровальной бумагой, взвешивали и на сутки ставили в сушильный шкаф при температуре 65—70°. Определяли сухой вес рыбы, затем пробу растирали, брали от каждой рыбы по 3 навески весом около 50—70 мг, тонким слоем распределяли на кусочке фильтровальной бумаги, заклеивали его в виде пакетика, который по размеру был равен предметному стеклу, и проверяли под счетчиком. Данные по величине радиоактивности навески пересчитывали на активность всей высушенной рыбы. Общую радиоактивность выражали в имп/мин. на одну рыбу или на 1 г сырого веса тела рыбы.

Азот, выделенный рыбами, определяли в жидких образцах методом микрокельдаля. Интенсивность выделения характеризовалась количеством азота в мг, выделенного в воду одной рыбой за сутки.

УСВОЕНИЕ РЫБАМИ ФОСФОРА ИЗ ВОДЫ

Известно [12, 13, 14, 8, 9], что ионы фосфора, находящиеся в воде, проникают через жабры и поверхность тела в организм рыбы, усваиваются и используются ею в процессе жизнедеятельности. Количество проникающего фосфора зависит от концентрации его в воде и от возраста рыбы. Учитывая, что на интенсивность проникновения ионов фосфора в тело рыбы может влиять физиологическое состояние рыбы, мы провели опыт, цель которого заключалась в том, чтобы выяснить интенсивность проникновения фосфора из воды при различном кислородном режиме. При недостаточном содержании кислорода в воде наблюдается понижение общего обмена веществ у рыб, снижается величина усвоения ионов кальция [1].

В 3 л свежеприготовленного и аэрируемого радиоактивного раствора фосфора на 2 часа помещали 25 годовиков карпа средним весом 5 г. Рыба на протяжении всего опыта чувствовала себя хорошо, держалась в толще воды и у дна. Спустя 2 часа ее вынимали и в раствор помещали следующую партию карпов, которых выдерживали без аэрации. Уже через 30 мин. часть рыбы поднялась на поверхность воды и стала заглатывать воздух, а к концу опыта (через 2 часа) вся рыба находилась у поверхности воды.

После отмывания от поверхности радиоактивной загрязненности рыбу пересаживали в проточный аквариум и через определенные промежутки времени брали на исследование.

Проверка общей радиоактивности рыбы показала, что в растворе с благоприятным кислородным режимом рыба усвоила в 2 раза больше фосфора, чем в воде с дефицитом кислорода. Это соотношение наблюдалось на протяжении всего опыта (табл. 2).

Таблица 2

Количество дней с начала опыта	Средний вес рыбы в г	Общая активность всей рыбы в расп/мин.	Активность 1 г сырой навески в расп/мин.	Средний вес рыбы в г	Общая активность всей рыбы в расп/мин.	Активность 1 г сырой навески в расп/мин.
	при нормальном содержании кислорода			при дефиците кислорода		
1	3,3	6 815	2087	5,4	4982	934
3	4,4	11 763	3091	5,35	2919	542
7	4,1	5 198	1339	4,1	6457	1427
10	4,0	5 100	1483	4,4	3444	753
14	5,5	5 517	1000	5,8	2480	419

Примечание. Приведены средние данные из 3 исследованных рыб.

Следовательно, ионы фосфора, как и ионы кальция, воспринимаются рыбой из воды при дефиците кислорода значительно хуже, чем в хороших кислородных условиях.

При проведении опытов часто приходится наблюдать очень резкие индивидуальные отклонения в величине потребления того или иного вещества отдельными рыбами. Так, в табл. 2 одни данные резко отличаются от других. Это можно объяснить тем, что в исследуемой группе

рыб были одна или две с очень высоким показателем активности, характеризующим количество фосфора, усвоенного из воды. Для уточнения этого вопроса одновозрастных мальков карпа, взятых от одних и тех же производителей и выращиваемых до опыта в одинаковых условиях, помещали в радиоактивный раствор фосфора-32. После выдерживания в растворе в течение 2 час. и последующего промывания у 68 мальков исследовали поверхностную радиоактивность (рис. 1).

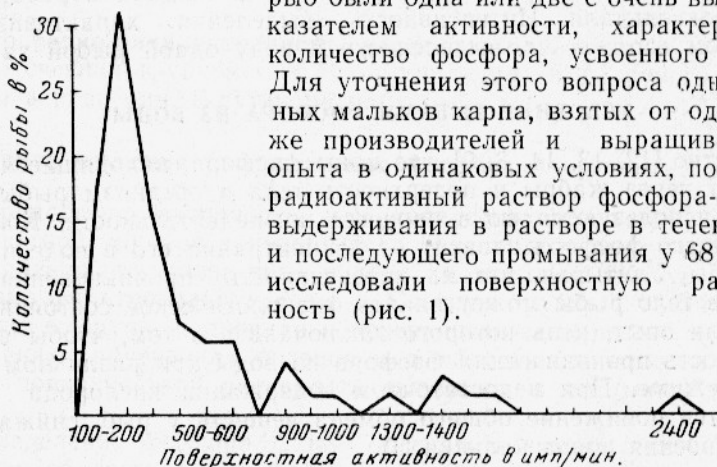


Рис. 1. Поверхностная активность у молоди карпа после выдерживания в радиоактивном растворе.

Рыбы усвоили из воды неодинаковое количество фосфора. Основная масса их (84%) использовала небольшое количество фосфора; поверхностная активность выражалась величиной от 100 до 700 имп/мин. Некоторые рыбы использовали фосфор из воды в 2 раза интенсивнее.

Исходя из этого, можно сделать вывод, что количество фосфора, воспринимаемого рыбой из воды, зависит от индивидуальных особенностей обмена веществ каждой особи.

ВЫДЕЛЕНИЕ ФОСФОРА РЫБАМИ

Вопросу выделения фосфора рыбой посвящено несколько работ. Т. Tomiyama и др. [13, 14] изучали пути выделения фосфора, введенного в тело карпа путем инъекции в спинную мышцу.

Из воды, в которой находились рыбы, осаждали фосфаты. Осадок проверяли под счетчиком. Авторы установили, что через 25 час. после инъекции Na_2HPO_4 выделяется около 1% введенного в организм фосфора. Выделение происходит в основном через почки, но наблюдается и внепочечное выделение, которое вероятней всего происходит через жабры.

На возможность выделения некоторых минеральных веществ через жабры еще раньше указывали А. Krogh [10], Н. W. Smith [11] и П. А. Коржуев [5]. В их работах, посвященных осморегуляции у водных животных, приведены данные, свидетельствующие о том, что одновалентные ионы выделяются внепочечно, а такие ионы, как Mg , SO_4 и PO_4 , — через почки.

У В. С. Кирпичникова и др. [4] есть указания на скорость выведения рыбой фосфора, абсорбированного из воды. Опыты проводили с годовиками карпа, которых в течение 6 час. выдерживали в радиоактивном растворе двузамещенного фосфата натрия активностью 1 mCi/l и концентрацией фосфора 7 мг/л . После этого их пересаживали в проточную нерадиоактивную воду. О скорости выделения судили по уменьшению радиоактивности различных органов и тканей. Было отмечено более быстрое снижение радиоактивности в теле рыбы, чем при наличии одного только естественного распада. Наиболее резкое падение наблюдалось в первые сутки после выдерживания рыбы в активном растворе. Это явление объясняли уменьшением концентрации фосфора в рыбе вследствие перевода ее в воду с малым количеством фосфора.

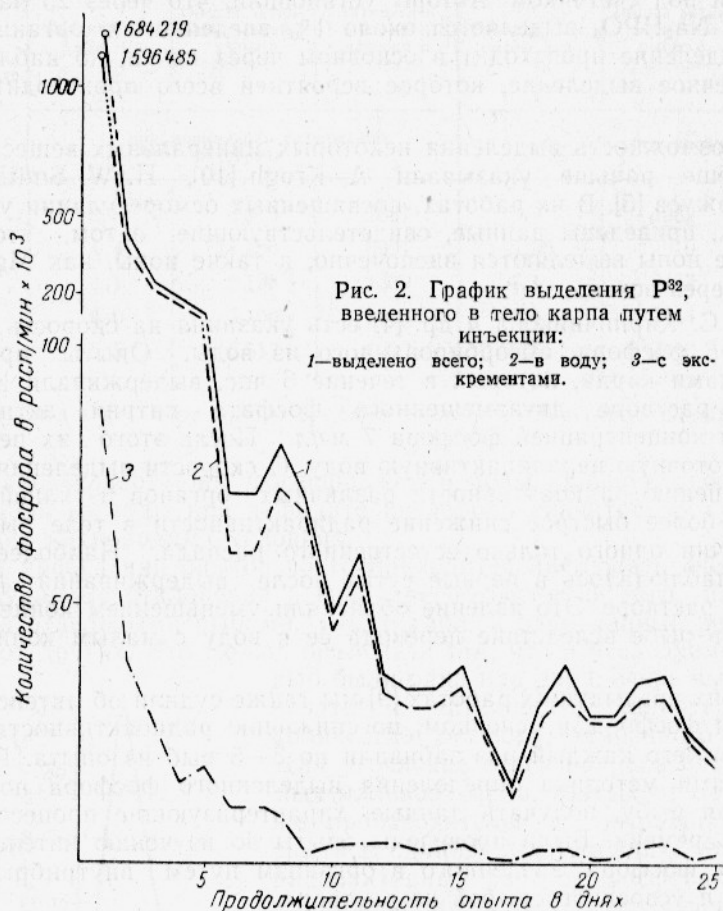
В своих предыдущих работах [9] мы также судили об интенсивности выделения фосфора, в основном, по снижению радиоактивности в теле рыбы, для чего каждый раз забивали по 3—5 рыб из опыта. Разработанная нами методика определения выделенного фосфора позволяет, не забивая рыбу, получать данные, характеризующие процесс выделения во времени. Были проведены опыты по изучению интенсивности выделения фосфора, введенного в организм путем внутрибрюшинной инъекции и усвоенного рыбой из раствора.

Годовикам карпа (44 шт.) ввели по $0,05 \text{ мл}$ раствора активностью $2,75 \mu \text{ Ci}$ ($6105000 \text{ расп/мин.}$). В два кристаллизатора поместили по 5 рыб для изучения выделения фосфора, а остальных посадили в аквариум, из которого через определенное время часть их использовали для определения общей активности.

Исследование, проведенное сразу после инъекции, показало, что фактически рыбе было введено фосфора $8611100 \text{ расп/мин.}$ Основное количество его — 47,5% от всего выделенного, или 19,5% от введенного — выделилось в первые сутки опыта, что несколько противоречит данным Т. Tomiyama и др. [14], свидетельствующим о выделении в первые сутки только 1% фосфора. В последующие дни интенсивность процесса выделения резко снижается. Фосфор выделяется в воду в основном с мочой через почки и внепочечно через жабры. С экскрементами за 25 дней опыта выделилось лишь 6,6% общего количества выделенного фосфора.

Интенсивность выделения фосфора колеблется волнообразно: она то снижается, то вновь возрастает (рис. 2). Всего за 25 дней опыта выделилось $3487876 \text{ расп/мин.}$, т. е. 40,5% от количества, введенного в начале опыта.

Наблюдается зависимость между интенсивностью выделения фосфора и физиологическим состоянием рыбы. После инъекции рыбам 0,05 мл раствора P^{32} активностью 1,44 μ Ci (3196800 расп./мин.) часть их поместили в кристаллизаторы. В одном кристаллизаторе рыб кормили личинками хирономид, в другом на протяжении всего опыта они голодали. Опыт длился 41 день.



В первые трое суток после инъекции выделение фосфора было очень интенсивным. За это время у питающихся рыб выделилось 391302 расп./мин., или 29,1% от введенного количества и 70,3% от всего выделенного за время опыта, у голодных рыб эти величины составили соответственно 18,1 и 53,5%. В последующие дни интенсивность выделения снизилась. Это можно объяснить тем, что рыбы выбросили неусвоенный ими излишний фосфор, введенный в организм при инъекции.

На протяжении 21 дня интенсивность выделения фосфора голодными рыбами была несколько ниже интенсивности выделения его сытыми рыбами (рис. 3). На 22-й день положение изменилось — выделение фосфора сытыми рыбами осталось примерно на том же уровне, а выделение фосфора голодными рыбами резко возросло. Однако, несмотря на это, сытыми рыбами за все время опыта выделено 41,4% введенного фосфора, а голодными — 33,9%, т. е. на 7,5% меньше.

Поверхностная активность и в области внутренних органов, и в области хвостового стебля у сытых рыб несколько ниже, чем у голодных

(рис. 4), что вполне согласуется с данными по интенсивности выделения фосфора:

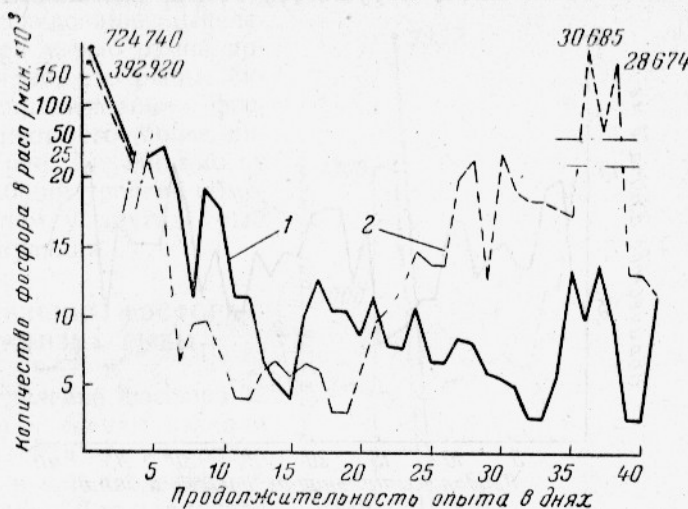


Рис. 3. График выделения фосфора-32 карпами после инъекции раствора:
1 — сытыми; 2 — голодными.

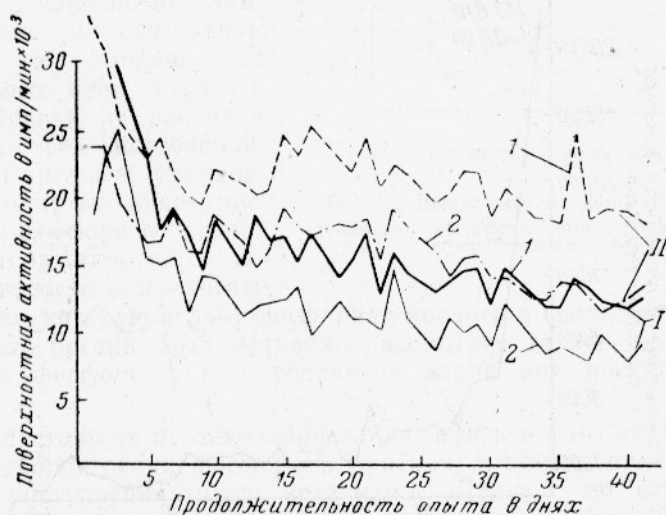


Рис. 4. Поверхностная активность карпов после инъекции раствора фосфора-32:

I — в области внутренних органов; II — в области хвостового стебля; I — сытые рыбы; 2 — голодные рыбы.

Сытые рыбы на протяжении всего опыта выделяли больше азота, чем голодные (рис. 5), и такого резкого скачка, как в выделении фосфора, не наблюдалось.

Отношение выделенного фосфора и азота определяли путем деления величины, характеризующей количество фосфора, выделенного одной рыбой за сутки, на количество выделенного одной рыбой за сутки азота. В первой половине опыта это отношение у сытых и голодных рыб было примерно одинаковым: у голодных рыб оно было лишь немного выше ввиду незначительного количества выделяемого азота. Начиная с 21 дня опыта, когда резко возросло количество фосфора,

выделяемого голодными рыбами, отношение у них также возросло (рис. 6). Можно предположить, что после 20-дневного голодания в организме рыбы начинается нарушаться обмен: повышается интенсив-

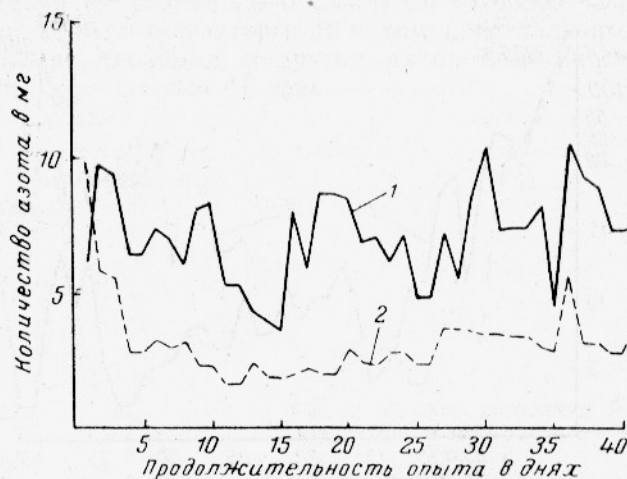


Рис. 5. Выделение азота карпами:
1 — сытыми; 2 — голодными.

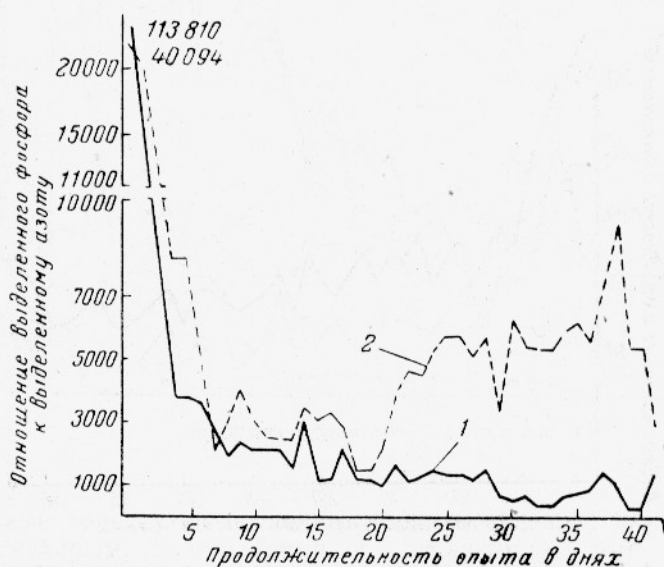


Рис. 6. Отношение выделенного фосфора P^{32} к выделенному азоту у карпов:
1 — сытых; 2 — голодных.

ность выделения фосфора за счет распада некоторых фосфорсодержащих соединений и изменяется соотношение выделяемого фосфора и азота.

Фосфор, воспринимаемый рыбами из воды при хорошем кислородном режиме, усваивается более полно и на более длительный срок задерживается в организме. При дефиците кислорода количество захваченного рыбой фосфора велико, но большая часть его в первые же сутки выделяется из организма. Так, у рыб, находившихся в хороших кислородных условиях, в первые сутки выделилось 21,7% фосфо-

ра, а у рыб, содержащихся при низком содержании кислорода, — 37,3% от всего фосфора, выделенного в течение опыта. В дальнейшем интенсивность выделения фосфора у всех рыб была одинаковой.

При исследовании выделения фосфора у рыб одной популяции видно, что рыбы, активнее воспринимавшие фосфор, выделяют его более интенсивно (рис. 7). Видимо, у этих рыб общий уровень обмена выше, чем у других рыб той же популяции.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ФОСФОРА В ОРГАНИЗМЕ РЫБЫ

Распределение фосфора-32 по органам и тканям изучали при поступлении его из воды, с кормами и при введении путем инъекции. Для анализа брали чешую, кожу, жаберные лепестки, покровные и основные кости, кровь, печень, мышцы, кишечник по отделам. Рассчитывали относительную активность в имп/мин. на 100 мг сырого веса тканей с учетом поправки на распад в среднем из трех исследованных рыб. Ранее мы указывали [9], что при изучении распределения фосфора в органах и тканях тела животного необходимо прежде всего учиты-

вать ту роль, которую играет фосфорная кислота в специфической функции каждого органа. Был подробно рассмотрен также вопрос о распределении фосфора в теле годовиков карпа при поступлении его из воды.

Цель настоящих исследований заключалась в том, чтобы сравнить картину распределения фосфора в органах и тканях при различных путях его поступления внутрь организма. Данные об относительной активности органов и тканей рыбы, получившей фосфор-32 из воды и в результате инъекции, приведены в табл. 3 и 4.

Из табл. 3 и 4 видно, что в распределении фосфора-32 в органах и тканях подопытных рыб при усвоении его из воды и при инъекции наблюдается некоторое различие. Так, относительная активность печени и почек у инъецированных рыб выше, чем у рыб, усвоивших фосфор из воды, а активность крови, наоборот, выше и менее стабильна у рыб, усвоивших фосфор из воды. Активность мышц у всех рыб примерно одинакова. Основные кости инъецированных рыб имеют более высокую относительную активность, чем кости рыб, выдержанных в радиоактивном растворе.

Однако, несмотря на эти различия, основной характер распределения фосфора общий для тех и других рыб: наблюдается сравнительно высокая относительная активность чешуи и скелета и более низкая активность таких органов и тканей, как мышцы, печень, почки.

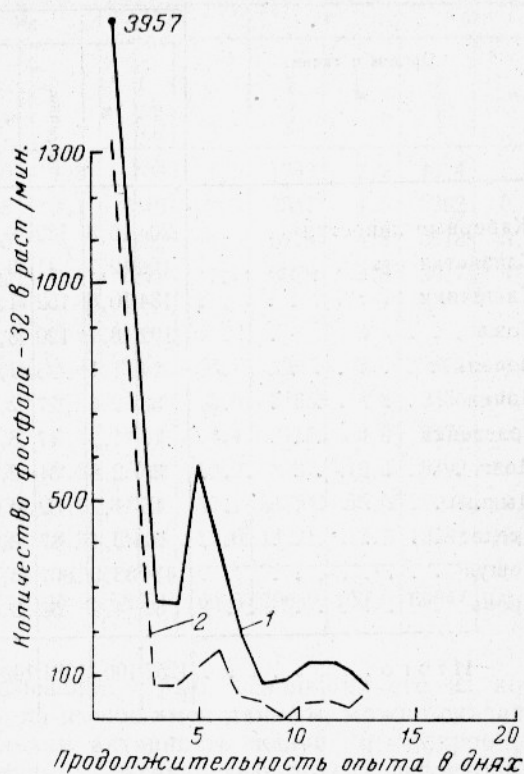


Рис. 7. Выделение фосфора P^{32} рыбами:
1 — сильно абсорбирующими фосфор; 2 — слабо абсорбирующими фосфор.

Таблица 3

Органы и ткани	Распределение P^{32} в теле рыбы при поступлении из воды и продолжительности периода после мечения в сутках											
	1		3		5		10		15		30	
	имп/мин.	%	имп/мин.	%	имп/мин.	%	имп/мин.	%	имп/мин.	%	имп/мин.	%
Жаберные лепестки	204	16,3	132	9,5	36	5,6	37	5,8	48	3,9	125	6,5
Слизистая рта	159	12,7	41	3,0	51	7,9	22	3,4	125	10,2	90	4,6
Кишечник	134	10,6	152	11,1	173	26,9	352	55,0	339	27,8	189	9,8
Кожа	102	8,1	120	8,7	21	3,3	19	2,9	110	9,0	503	26,2
Печень	14	1,1	25	1,8	16	2,5	18	2,8	42	3,5	73	3,9
Почки	33	2,6	27	2,0	17	2,7	24	3,8	64	5,3	103	5,4
Селезенка	17	1,3	47	3,4	28	4,3	21	3,3	53	4,4	69	3,7
Мозг	36	2,8	31	2,3	13	2,0	6	0,9	31	2,3	60	3,2
Мышцы	15	1,2	62	4,5	18	2,8	14	2,2	37	3,0	77	4,0
Скелет	67	5,4	87	6,3	78	12,2	58	9,1	92	7,5	146	7,6
Чешуя	414	33,0	607	43,8	145	22,5	58	9,1	147	12,0	430	22,4
Кровь	62	4,9	50	3,6	47	7,3	11	1,7	136	11,1	52	2,7
Итого	1257	100	1381	100	643	100	640	100	1224	100	1917	100

Таблица 4

Органы и ткани	Распределение P^{32} в теле рыбы при введении его в организм инъекцией и продолжительности периода после мечения в сутках											
	1		5		8		12		15		19	
	имп/мин.	%	имп/мин.	%	имп/мин.	%	имп/мин.	%	имп/мин.	%	имп/мин.	%
Кровь	2436	2,8	3401	3,7	1837	2,6	2688	2,9	1949	1,7	1145	1,9
Печень	6289	7,6	5068	5,6	4250	6,1	5978	6,3	5868	5,2	3177	5,3
Почки	5088	6,1	6996	7,7	4683	6,7	4869	5,2	4807	4,3	3569	5,9
Мышцы	2726	3,3	4737	5,2	4085	5,8	3869	4,1	4939	4,4	2943	4,9
Кишечник												
передний от-дел	1835	2,1	3826	4,2	2626	3,8	3275	3,5	6632	5,9	4203	6,9
средний отдел	4529	5,5	4079	4,6	2724	3,9	3916	4,2	3596	3,2	3742	6,2
задний отдел	2657	3,2	4228	4,7	3080	4,4	5294	5,6	4333	3,9	3435	5,6
Кости основные	11831	14,5	12177	13,4	8120	11,6	8347	8,9	12827	11,4	5560	9,2
Кости покровные	23848	29,4	30405	33,5	24447	35,2	38649	41,0	44576	40,0	22552	37,1
Чешуя	20878	25,5	16825	17,4	13640	19,9	17266	18,3	22375	20,0	10362	17,0
Итого	82117	100,0	91742	100,0	69492	100,0	94601	100,0	11902	100,0	60708	100,0

Органы и ткани	Распределение P^{32} в теле рыбы при введении его в организм инъекцией и продолжительности периода после мечения в сутках									
	22		26		30		34		37	
	нмп/мин.	%	нмп/мин.	%	нмп/мин.	%	нмп/мин.	%	нмп/мин.	%
Кровь	1781	2,2	1550	1,8	739	1,1	1782	2,2	1324	1,9
Печень	2639	3,3	2668	3,1	2410	3,5	3557	4,5	2392	3,5
Почки	4019	5,0	3675	4,3	2952	4,3	3774	4,8	3618	5,2
Мышцы	3104	3,9	3332	3,8	1877	2,7	3079	3,8	2917	4,2
Кишечник										
передний от- дел	2389	3,0	2952	3,4	2128	3,1	2395	3,0	2302	3,3
средний отдел	3849	4,8	3111	3,6	2513	3,6	3785	4,8	2356	3,4
задний отдел	4648	5,9	3779	4,4	3011	4,4	3116	3,9	2278	3,3
Кости основные .	6442	8,0	11077	12,8	7002	10,2	8237	10,3	8492	12,4
Кости покровные	36842	45,5	38553	44,5	34751	50,1	35784	45,0	30073	43,5
Чешуя	14750	18,4	15992	18,3	11608	17,0	14221	17,7	13282	19,3
Итого	80463	100,0	86689	100,0	68991	100,0	79680	100,0	69044	100,0

Характер распределения фосфора у рыб, усвоивших его из кормов, изучен менее подробно, но, по имеющимся данным, можно сказать, что и в этом случае относительная активность чешуи и покровных костей очень высока по сравнению с активностью других исследованных тканей (табл. 5).

Таблица 5

Органы и ткани	Распределение P^{32} в теле рыбы при усвоении его из кормов и продолжительности опыта в днях											
	2		4		6		9		11		13	
	нмп/мин.	%	нмп/мин.	%	нмп/мин.	%	нмп/мин.	%	нмп/мин.	%	нмп/мин.	%
Кости покровные	9464	43,9	7037	31,6	26331	51,6	16433	55,4	28674	54,3	4990	38,2
Кости основные .	2680	12,4	2926	13,2	3918	7,6	4189	14,3	4541	8,5	1412	10,7
Чешуя	4720	21,7	5741	25,8	10495	20,5	4287	14,4	10972	20,8	3390	25,9
Кожа	2144	9,6	2767	12,7	3618	7,1	2296	7,8	5346	10,1	1202	9,2
Жаберные лепест- ки	2675	12,4	3704	16,7	6662	13,2	2390	8,1	3272	6,3	2074	16,0
Итого	21683	100,0	22175	100,0	51024	100,0	29595	100,0	52805	100,0	13068	100,0

В тело высших позвоночных животных фосфор поступает только из пищи. У рыб, как было показано выше, дополнительным источником ряда минеральных веществ, и в частности фосфора, является вода.

Для решения вопроса о том, остается ли минеральный фосфор, проникший в тело рыбы из воды в виде неорганической фракции, или усваивается и входит в состав органических фосфорсодержащих

соединений, были проделаны опыты с последующим анализом по фракциям навески тела рыбы, находившейся в радиоактивном растворе фосфора от 15 мин. до 2 час. Результаты анализов приведены в табл. 6.

Таблица 6

Продолжительность пребывания рыбы в радиоактивном растворе в мин.	Содержание P^{32} в 1 г сырой навески карпа при усвоении его из воды								
	неорганический			органический			общий		
	мг	имп/мин.	%	мг	имп/мин.	%	мг	имп/мин.	%
15	1,5	2530	85,8	3,65	421	14,2	5,15	2951	100
30	1,5	2685	75,9	3,65	852	24,1	5,15	3537	100
60	1,5	4935	49,3	3,65	5055	50,7	5,15	9990	100
120	1,5	1070	8,5	3,65	11516	91,5	5,15	12586	100

Было установлено, что при проникновении неорганического фосфора из воды в тело сеголетков карпа уже через 1 час после начала опыта более 50% минерального фосфора переходит в органические фосфорные соединения и встречается в основном в форме лабильного фосфора и в составе фосфопротеидов и нуклеопротеидов. Через 2 часа в неорганической фракции остается всего 8,5% поступившего в тело рыбы фосфора. Суммарно в органические соединения в первые часы после поступления из воды переходит 91,5%.

При введении фосфора-32 в организм рыбы путем инъекции неорганический фосфор также быстро усваивается и переходит в органические фосфорсодержащие соединения (табл. 7). На протяжении 40 дней опыта радиоактивный фосфор обнаруживали во всех исследованных фракциях.

Таблица 7

Продолжительность опыта в днях	Содержание P^{32} в 1 г сырой навески карпа при введении его путем инъекции								
	неорганический			органический			общий		
	мг	имп/мин.	%	мг	имп/мин.	%	мг	имп/мин.	%
1	1,18	53817	67,9	4,72	25471	32,1	5,90	79288	100
5	1,25	30295	82,0	3,85	6504	18,0	5,10	36799	100
8	1,20	34161	69,3	3,50	15180	30,7	4,70	49341	100
12	1,52	44130	67,4	1,28	21361	32,6	2,80	35491	100
15	1,07	52129	89,0	2,57	6465	11,0	3,64	58594	100
19	1,00	29560	47,5	2,50	32740	52,5	3,50	62300	100
22	0,90	36545	59,5	1,93	24896	40,5	2,83	61441	100
26	1,37	21467	80,0	3,33	5312	20,0	4,70	26779	100
30	1,06	32164	48,7	3,67	33916	51,3	4,73	66080	100
34	1,35	21158	55,5	2,85	16961	44,5	4,20	38119	100
37	1,48	27842	38,1	3,41	45219	61,9	4,89	73061	100

Из табл. 7 видно, что большое количество фосфора-32 при введении его путем инъекции содержится в неорганической фракции. Воз-

можно, что фосфор, превращаясь в организме рыбы в процессе обмена из одного соединения в другое, проходит фазу неорганической фракции и на этой фазе оказался учтенным.

Фосфор, усвоенный рыбой из кормов, распределяется по различным фракциям довольно равномерно (табл. 8).

Таблица 8

Продолжительность опыта в днях	Содержание P ³² в 1 г сырой навески тела верховок при усвоении его из корма								
	неорганический			органический			общий		
	мг	имп/мин.	%	мг	имп/мин.	%	мг	имп/мин.	%
2	0,68	11100	47,0	2,85	12654	53,0	3,53	23754	100
4	0,64	7744	36,5	1,92	13310	63,5	2,56	21054	100
6	1,35	7270	53,0	3,90	6480	47,0	5,25	13750	100
9	1,55	17402	50,0	2,45	17371	50,0	4,00	34773	100
11	1,34	13005	56,0	2,56	10200	44,0	3,90	23205	100
13	1,21	17277	53,0	3,44	15427	47,0	4,65	32704	100

ЗАВИСИМОСТЬ РОСТА РЫБЫ В СРЕДЕ С ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ФОСФОРА ОТ ИНТЕНСИВНОСТИ ФОСФОРНОГО ОБМЕНА

Выше отмечалось, что у рыбы одного возраста, содержащейся в одинаковых условиях, различная интенсивность фосфорного обмена, что выражается в неодинаковой величине воспринимаемого из воды и выделяемого фосфора.

Ранее мы указывали [3], что на рост и развитие рыбы благоприятно влияет фосфор, вносимый в воду в качестве удобрения. Весовой прирост рыбы, выращиваемой в среде с концентрацией фосфора 10 мг/л, вдвое больший, чем рыбы, выращиваемой в обычных условиях. Однако не все особи одинаково реагируют на повышенное содержание фосфора в воде.

Чтобы выяснить, как повышенное содержание фосфора в воде влияет на рост рыб, обладающих различной интенсивностью фосфорного обмена, в два кристаллизатора с водой, обогащенной нерадиоактивным фосфором в концентрации 10 мг/л, было посажено по 6 мальков карпа. Воду меняли 2 раза в сутки, рыбу кормили личинками хирономид. Температуру воды поддерживали в пределах 18—20°.

При анализе полученных данных (табл. 9) видно, что прирост рыбы с высокой интенсивностью фосфорного обмена по отношению к

Таблица 9

Дата исследований	Вес всей рыбы в мг	Общий при- рост веса в мг	Прирост одной рыбы в мг	Вес всей рыбы в мг	Общий при- рост веса в мг	Прирост од- ной рыбы в мг
	рыба с низким уровнем фосфорного обмена			рыба с высоким уровнем фосфорного обмена		
22/X	6300	—	—	7300	—	—
27/X	7100	800	133	8900	1600	320
2/XI	8300	2000	333	10900	3600	720

первоначальному весу в 2,5 раза больше, чем прирост рыбы с низкой интенсивностью фосфорного обмена.

Содержание фосфора в 1 г навески тела рыб с различной интенсивностью фосфорного обмена несколько различно (табл. 10). У рыб с низким уровнем обмена фосфора содержится больше, чем у рыб с высоким уровнем обмена. Различие это обусловлено содержанием фосфора в предобразованной неорганической фракции и в кислоторастворимой фракции. В белке и жире фосфора содержится одинаковое количество.

Таблица 10

Показатели	Содержание фосфора в мг на 1 г сырого веса рыб	
	с низким уровнем обмена	с высоким уровнем обмена
Неорганический фосфор	0,84	0,78
Органический кислоторастворимый фосфор	2,26	2,03
Белок		
сухой вес	128	165
фосфор	0,55	0,53
Жир		
общий вес	77	76
фосфор	0,40	0,40
Итого фосфора	4,05	3,74

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение фосфорного обмена у рыб потребовало разработки методики определения выделяемого рыбами фосфора и уточнения методики изучения его распределения по отдельным органам и тканям.

При изучении распределения в организме рыб фосфора, введенного различными путями, обнаружены черты сходства и некоторое различие в распределении его по органам и тканям рыбы. Так, относительная радиоактивность органов, несущих в той или иной степени выделительную функцию (печень, почки), у рыб, которым фосфор вводился путем инъекции, выше, чем у рыб, абсорбировавших радиоактивный фосфор из водного раствора. Относительная же активность крови у последних выше, чем у первых.

Путь проникновения фосфора в организм рыб в известной степени определяет и дальнейшую его судьбу. Фосфор минеральных соединений, проникая из раствора через жабры и поверхность тела, очень быстро переходит в органические соединения. Значительно медленнее совершается этот переход при введении фосфора путем инъекции. Как бы промежуточную картину дает фосфор, введенный в рыбу через корм.

Во всех проведенных опытах у рыб одного вида и одного возраста обнаруживается различие в уровне фосфорного обмена. При этом у рыб с высокой интенсивностью фосфорного обмена наблюдается и больший весовой рост, чем у рыб с низкой интенсивностью фосфорного обмена. В связи с этим перспективной оказывается селекционная работа по отбору более продуктивных особей выращиваемых рыб.

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Богоявленская М. П., Изучение кальциевого обмена в целях использования Ca^{45} в качестве метки для рыб, изд-во журнала «Рыбное хозяйство», 1959.
 2. Бруевич С. В., Некоторые методы химического исследования грунтов и грунтовых растворов мря, сер. V, вып. 7, Гидрометеиздат, 1944.
 3. Карзинкин Г. С., Шеханова И. А., Некоторые принципиально новые положения в проблеме удобрения водоемов, Труды совещания по рыбоводству, АН СССР, 1957.
 4. Кирпичников В. С., Световидов А. Н., Трошин А. С., Мечение карпа радиоактивными изотопами фосфора и кальция, ДАН СССР, т. 111, № 1, 1956.
 5. Коржув П. А., Осморегуляция у водных животных, «Успехи современной биологии», т. LX, вып. 3, 1938.
 6. Мешкова Н. П., Северин С. Е., Практикум по биохимии животных, «Советская наука», 1950.
 7. Шеханова И. А., Применение P^{32} для мечения молоди осетровых рыб, «Рыбное хозяйство», 1955, № 11.
 8. Шеханова И. А., О возможности усвоения рыбами неорганического фосфора из воды, ДАН СССР, т. 106, № 1, 1956.
 9. Шеханова И. А., Изучение фосфорного обмена у молоди карповых и осетровых рыб с применением радиоактивного фосфора, изд-во журнала «Рыбное хозяйство», 1959.
 10. Krogh A., Osmotic regulation in aquatic animals, Cambridge, 1939.
 11. Smith H. W., The absorption and excretion of water and salts by marine teleosts, The american Journal of Physiology, vol. 93, N. 2, 1930.
 12. Tomiyama T., Kobavashi K., Jshio, Absorption and dissolved Ca^{45} by *Carassius auratus*, Research in the Effects and Influences of the Nuclear Bomb Test Explosions, II, Ueno, Tokyo, 1956.
 13. Tomiyama T. и др., Absorption of P^{32}O_4 ion by Carp, Там же.
 14. Tomiyama T. и др., Distribution and Excretion of intramuscularly administered P^{32}O_4 by Carp, Там же.
-