

## ВКУСОВЫЕ ПРЕДПОЧТЕНИЯ И ПИЩЕВОЕ ПОВЕДЕНИЕ У НИЛЬСКОЙ ТИЛЯПИИ *OREOCHROMIS NILOTICUS*

**А.Д. Семячкова, М.И. Виноградская, Е.С. Михайлова, А.О. Касумян**

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

[elena\\_mikhailova@mail.ru](mailto:elena_mikhailova@mail.ru)

Исследование вкусовых предпочтений и оросенсорного тестирования пищевых объектов неоднократно становились целью работ, посвященных хеморецепции рыб (Касумян, Марусов, 2015; Михайлова, Касумян, 2015). Однако виды, выращиваемые в искусственных условиях, редко становятся объектами таких работ. Решение задач в области хеморецепции на видах аквакультуры позволяет не только решить научные вопросы, но и имеет важное практическое значение. Получаемые в результате исследования спектры привлекательных, индифферентных и детеррентных стимулов могут учитываться при создании и модернизации кормов, пищевых добавок для рыб. В связи с этим, цель работы состояла в выяснении вкусовых предпочтений и особенностей оросенсорного тестирования нильской тилляпии *Oreochromis niloticus* – одного из важнейших объектов культивирования во многих странах (Wang, Lu, 2015).

Опыты выполнены на 12 особях (TL = 6.5–7 см), предоставленных компанией «Крафтфиш». В течение всего эксперимента рыбы содержались поодиночке в небольших аквариумах (10 л). К каждому аквариуму была подведена система подачи воздуха. Температура воды поддерживалась на уровне 24 °С при помощи обогревателей AquaEl Easy Heater 25W. Грунт в аквариумах отсутствовал.

Во время опытов рыбам предлагали одну агар-агаровую гранулу (2%, Reanal), длиной 4 мм, диаметром 2 мм. Все гранулы содержали краситель Ponceau 4R (5µM, Chroma-Gesellschaft Schmid GmbH, Германия), придающий им ярко-красную окраску, и один из тестируемых стимулов – вещества или экстракты организмов. Вкусовые вещества (классические вкусовые вещества, свободные L-аминокислоты, сахара, водные экстракты животных, водные экстракты растений) вносились в горячий гель во время его приготовления. Для приготовления экстрактов брали навеску (1.75 г) живых или свежемороженых животных и растений и гомогенизировали в фарфоровой ступке в 4 мл воды. Полученный гомогенат центрифугировали при 7000 оборотов в минуту в течение 10 минут при температуре +20 °С на центрифуге ЦУМ-1, супернатант вносили в горячий раствор агар-агара и переливали в чашку Петри. Концентрация экстракта в полученном таким образом геле составляла 175 г/л. Экстракт кожи серой жабы, морской звезды и голотурий готовили из лиофилизованных препаратов,

концентрация экстракта составляла 10 г/л. Концентрации веществ и экстрактов приведены в таблицах.

Эксперименты начинали, когда у рыб, рассажённых по отдельным аквариумам, проходил стресс и восстанавливалось нормальное поведение. Рыбы перемещались по всему объёму аквариума, не затаивались, не пугались при приближении экспериментатора и проведении им манипуляций. Каждый эксперимент начинался с внесения в аквариум одной гранулы, вырезаемой из геля непосредственно перед каждым опытом. В каждом эксперименте с помощью электронного секундомера «Интеграл ЧС-10» определяли продолжительность латентного периода (временного промежутка от падения гранулы в воду до ее первого схватывания рыбой), продолжительность тестирования при первом схватывании и в течении всего опыта, подсчитывали число повторных схватываний гранулы. По результатам экспериментов определяли поедаемость гранул – процент потребленных гранул от всех предъявленных. Момент проглатывания гранулы определяли по характерным движениям челюстей и жаберных крышек. Об окончательном отказе от потребления судили по поведению рыбы – уходу в противоположную от гранулы часть аквариума и потере всякого к ней интереса. Если рыба в течении минуты не схватывала предъявленную гранулу, такой опыт не учитывался, а гранула немедленно удалялась из аквариума. Рыб кормили один раз в день личинками Chironomidae по окончании опытов. Всего выполнено 6250 опытов. Статистический анализ проведен с использованием критерия  $\chi^2$ , U-критерия Манна–Уитни и рангового коэффициента корреляции Спирмена ( $r_s$ ). Для количественной оценки вкусового предпочтения веществ рассчитывали индекс вкусовой привлекательности вещества (ИВП) по формуле:

$$Ind_{pal} = (R - C / R + C) \times 100,$$

где  $Ind_{pal}$  – индекс вкусовой привлекательности вещества;  $R$  – потребление гранул с веществом, в %;  $C$  – потребление контрольных гранул, в % (Касумян, Морси, 1996).

*Поведение рыб.* Через 1–2 дня, после помещения рыб в индивидуальные аквариумы, у них проходил стресс и восстанавливалось нормальное поведение. Рыбы спокойно перемещались по всему аквариуму. При приближении экспериментатора – часто занимали положение под отверстием в крышке аквариума, через которое подавались агаровые гранулы и корм. Продолжительность латентного периода была близка для всех стимулов. Почти во всех опытах наблюдалось только одно схватывание гранулы, что отразилось на средних значениях этого параметра (1.0–1.2) и совпадающих или близких значениях времени удержания гранулы после первого схватывания и в течении всего опыта.

*Классические вкусовые вещества.* Среди классических вкусовых веществ лимонная кислота, сахароза и  $CaCl_2$  являются привлекательными для тилляпии стимулами,  $NaCl$  не оказывал значимого влияния на потребление гранул. Значимое

отличие от контроля выявлено по числу схватываний гранулы для лимонной кислоты и экстракта Chironomidae, гранулы с которыми потреблялись или отвергались рыбами всегда после одного схватывания. Хлористые соли и лимонная кислота значимо дольше удерживались рыбами во рту (табл. 1). Значимые корреляции выявлены между потреблением гранул с классическими вкусовыми веществами тилапией и числом повторных схватываний ( $r_s = -0.81, p < 0.05$ ), а также между продолжительностью удержания гранулы после первого схватывания и в течение всего опыта ( $r_s = 0.94, p < 0.01$ ).

Таблица 1 - Вкусовые ответы нильской тилапии *Oreochromis niloticus* на гранулы с классическими вкусовыми веществами

Раздражитель	Концентрация, М	1	2	ИВП	3	4		5
						а	б	
Лимонная кислота	0.1	2.3	87.6 ***	18.9	1.0 *	7.9 ***	7.9 ***	113
Сахароза	0.1	2.4	76.3 **	12.1	1.0	6.3	6.4	114
Хлористый кальций	0.1	2.5	75.9 *	11.9	1.1	7.0 **	7.2 **	112
Хлористый натрий	0.1	4.6	67.0	5.7	1.2	6.9 **	7.3 ***	115
Контроль		2.5	59.8		1.1	5.8	6.0	112
Экстракт Chironomidae	175	2.8	99.1 ***	24.7	1.0 *	6.4	6.4	228

Примечание: 1 – продолжительность латентного периода, с; 2 - потребление гранул, %; 3 – число схватываний; 4 – продолжительность удержания гранулы, с: а – после первого схватывания, б – в течение всего опыта; 5 – число опытов. ИВП – индекс вкусовой привлекательности, %. Концентрация экстракта Chironomidae выражена в г/л. \*, \*\*, \*\*\* – значимость отличий по отношению к контролю  $p < 0.05, 0.01, 0.001$  соответственно.

*Свободные аминокислоты.* Из 21 аминокислоты 9 значимо повышали потребление гранул. Остальные – были индифферентными по вкусу веществами (Табл. 2). Детеррентные для тилапии вещества среди аминокислот не обнаружены. Значимое увеличение времени удержания гранулы по отношению к контролю отмечено для 7 привлекательных по вкусу аминокислот и для нейтрального по вкусу аланина (табл. 2). Значимые корреляции выявлены между потреблением гранул с аминокислотами и продолжительностью их удержания рыбами в ротовой полости как после первого схватывания, так и в течение всего опыта ( $r_s = 0.76, p < 0.001$ ;  $r_s = 0.70, p < 0.001$  соответственно) и между этими параметрами вкусового ответа ( $r_s = 0.98, p < 0.001$ ).

Таблица 2 - Вкусовые ответы нильской тилляпии *Oreochromis niloticus* на гранулы с L-аминокислотами (количество опытов с каждым стимулом – 96)

Раздражитель	Концентрация, М	1	2	ИВП	3	4	
						а	б
Цистеин	0.1	1.2	99.0 ***	21.8	1.0	7.0 ***	7.0 ***
Норвалин	0.1	1.3	96.9 ***	20.8	1.1	6.3 **	6.5 ***
Валин	0.1	1.2	85.4 ***	14.7	1.0	5.9	6.0
Глутамин	0.1	1.6	84.4 **	14.2	1.0	6.0 *	6.0 *
Лизин	0.1	1.3	84.4 **	14.2	1.0	6.2 *	6.3 **
Фенилаланин	0.1	1.3	84.4 **	14.2	1.1	6.1 *	6.2 **
Треонин	0.1	2.1	82.3 **	12.9	1.0	6.2 **	6.3 **
Метионин	0.1	1.5	78.1 *	10.3	1.0	6.3	6.4
Пролин	0.1	1.7	75.0	8.3	1.1	5.7	5.9
Серин	0.1	1.4	74.0	7.6	1.0	5.8	5.8
Аргинин	0.1	1.2	67.7	3.2	1.1 *	5.6	5.8
Гистидин	0.1	1.3	65.6	1.6	1.1 **	5.5	5.8
Глицин	0.1	1.2	63.5	0	1.1	5.4	5.6
Аспарагин	0.1	1.4	61.5	-1.6	1.0	5.5	5.5
Аланин	0.1	2.2	49.0	-12.9	1.0	6.0 *	6.1 *
Изолейцин	0.01	1.5	86.5 ***	15.3	1.1	6.1 **	6.3 ***
Лейцин	0.01	1.6	71.9	6.2	1.0	6.3	6.3
Триптофан	0.01	1.5	69.8	4.7	1.1	5.5	5.7
Аспарагиновая кислота	0.01	1.3	67.7	3.2	1.0	6.0	6.0
Глутаминовая кислота	0.01	1.4	64.6	0.9	1.0	5.5	5.6
Тирозин	0.001	1.3	63.5	0	1.1	5.4	5.5
Контроль	-	1.1	63.5		1.0	5.4	5.4
Экстракт Chironomidae	175	0.1 **	97.9 ***	21.3	1.0	6.0	6.0

См. примечание к таблице 1.

*Сахара.* 9 из 13 сахаров приводили к значимому повышению потребления гранул. При этом продолжительность внутриротового тестирования большинства сахаров не отличалась от длительности тестирования контрольных гранул. Значимо более продолжительное тестирование отмечено лишь для сахарина и сорбитола – наиболее привлекательных стимулов в этой серии опытов (табл. 3). Значимая корреляция обнаружена между потреблением гранул и продолжительностью их

тестирования как при первом схватывании ( $r_s = 0.68, p < 0.01$ ), так и в течение всего опыта ( $r_s = 0.67, p < 0.01$ ) и между этими параметрами вкусового ответа ( $r_s = 0.99, p < 0.001$ ). В отличие от серий опытов с классическими вкусовыми веществами и аминокислотами, в серии с сахарами получены значимые отрицательные корреляции продолжительности латентного периода с потреблением гранул ( $r_s = -0.82, p < 0.001$ ) и с продолжительностью удержания гранулы как после первого схватывания, так и в течение всего опыта ( $r_s = -0.54, p < 0.05$ ;  $r_s = -0.54, p < 0.05$  соответственно).

Таблица 3 - Вкусовые ответы нильской тилляпии *Oreochromis niloticus* на гранулы с сахарами (количество опытов с каждым стимулом – 96).

Раздражитель	Концентрация, М	1	2	ИВП	3	4	
						а	б
Сахарин, соль Na	0.1	1.6 *	91.7 ***	23.1	1.0	5.1 *	5.3 *
D-Сорбитол	0.1	1.5	87.5 ***	20.9	1.0	5.3 **	5.3 ***
D(+)-Глюкоза	0.1	1.5 *	83.3 ***	18.5	1.0	4.7	4.0
D(+)-Манноза	0.1	1.3 **	81.3 ***	17.3	1.0	4.9	4.2
α-Лактоза	0.1	1.6 *	78.1 **	15.4	1.0	4.8	4.1
D-Маннитол	0.1	1.6 *	78.1 **	15.4	1.0	4.5	4.4
D(-)-Фруктоза	0.1	1.5 *	75.0 **	13.4	1.0	4.6	4.0
D(+)-Галактоза	0.1	1.7	75.0 **	13.4	1.0	4.7	4.3
Сахароза	0.1	1.7	71.9 *	12.7	1.0	4.6	4.3
D(+)-Ксилоза	0.1	1.6	67.7	8.3	1.0	4.5	4.5
D(-)-Рибоза	0.1	2.0	65.6	6.8	1.0	4.5	4.4
D-Арабиноза	0.1	2.0	60.4	2.6	1.0	4.5	4.5
Мальтоза	0.1	1.8 **	54.2	-2.9	1.0	5.0	5.0
Контроль		1.9	57.3		1.0	4.2	4.2
Экстракт Chironomidae	175	1.4 *	95.8 ***	25.1	1.0	5.4 **	5.4 **

См. примечание к таблице 1.

*Водные экстракты животных.* Водные экстракты шести из использованных в работе животных (личинки Chironomidae, креветка *Pandalus borealis*, дафния *Daphnia magna*, артемия *Artemia salina*, коретра *Chaoborus sp.*, каланида *Hemidiaptomus sp.*) были высокопривлекательными стимулами для нильской тилляпии. Потребление гранул с ними в 2.1–2.2 раза превышало потребление контроля, а продолжительность удержания гранулы была значимо меньше (табл. 4).

**Таблица 4 - Вкусовые ответы нильской тилапии *Oreochromis niloticus* на гранулы с водными экстрактами животных и растений**

Экстракт	Концентрация, г/л	1	2	ИВП	3	4		5
						а	б	
<i>Водные экстракты животных</i>								
Личинки Chironomidae	175	2.1	100 ***	37.7	1.0	3.6 ***	3.7 ***	102
Креветка	175	2.1	100 ***	37.7	1.0	3.2 ***	3.2 ***	81
Дафния	175	2.8	96.1 ***	36.0	1.1	4.6	4.8 ***	77
Артемия	175	2.9	95.8 ***	35.9	1.1	4.1 *	4.3 ***	71
Коретра	175	2.3	94.7 ***	35.4	1.1	4.6	4.9 ***	75
Циклоп	175	1.4 *	92.8 ***	34.5	1.1	3.9 *	4.1 ***	69
Пескоройка миноги (мышцы)	10	3.5	54.9	9.7	1.5	5.4	6.2	71
Пескоройка миноги (кожа)	10	3.7	49.2	4.2	1.7	6.0	7.3	65
Шпорцевая лягушка	10	2.3	31.2	-18.3	2.1 *	6.4	8.3	61
Озерная лягушка	10	3.0	27.9 *	-23.7	2.1 **	4.4 **	6.3	61
Травяная лягушка	10	2.0	13.2 ***	-55.0	2.1 ***	3.5 ***	5.1 **	68
Обыкновенный тритон	10	2.4	12.9 ***	-55.6	2.1 ***	3.3 ***	5.0 **	70
Обыкновенная чесночница	10	3.0	7.7 ***	-70.9	2.3 ***	3.8 ***	5.9	65
Морская звезда	10	3.7	4.6 ***	-81.5	2.2 **	2.7 ***	4.2 ***	65
Красная голотурия	10	3.1	2.9 ***	-87.9	2.5 ***	2.4 ***	4.2 ***	68
Черная голотурия	10	2.3	0.0 ***	-100	2.3 ***	0.9 ***	1.9 ***	66
Серая жаба	10	2.0	0.0 ***	-100	2.2 **	0.7 ***	1.9 ***	71
Контроль		2.1	45.2		1.5	6.0	7.3	84
<i>Водные экстракты растений</i>								
Риччия плавающая	175	1.3 **	95.4 ***	31.2	1.0 ***	5.7	5.8	65
Эйхорния отличная (листья)	175	1.7	93.9 ***	30.5	1.0 ***	4.7	4.8 ***	65
Эйхорния отличная (корни)	175	1.3 *	86.9 ***	27.0	1.2 **	5.0	5.4 **	61
Салат латук	175	1.8	80.8 ***	28.3	1.1 **	5.8	6.3	104
Ряска малая	175	1.8	76.6 ***	21.0	1.3 **	5.7	6.2	77
Элодея канадская	175	1.5	0	-100	3.9 ***	2.5 ***	5.4 *	72
Контроль		1.8	50		1.7	5.9	7.1	74

См. примечание к таблице 1.

Экстракты мышц и кожи пескоройки миноги *Lametra fluviatilis* и экстракт кожи шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* не оказывали значимого влияния на потребление рыбами гранул. Опыты с экстрактами пескоройки миноги ни по одному параметру вкусового ответа не отличались от опытов с контролем. В опытах с экстрактом шпорцевой лягушки значимо чаще наблюдались повторные схватывания гранул, тогда как время тестирования достоверно не отличалось от контроля.

Экстракты восьми видов животных (обыкновенный тритон *Lissotriton vulgaris*, озёрная лягушка *Pelophylax ridibundus*, травяная лягушка *Rana temporaria*, обыкновенная чесночница *Pelobates fuscus*, серая жаба *Bufo bufo*, морская звезда *Fromia milleporella*, два вида голотурий *Pseudocolochirus violaceus* и *Holothuria atra*) были для тилипии детеррентными стимулами, значимо снижающими потребление гранул. Гранулы с этими экстрактами чаще подвергались повторным тестированиям и меньше удерживались рыбами во рту как после первого схватывания, так и в течение всего опыта.

Корреляционный анализ выявил значимые связи между параметрами вкусового ответа тилипии на гранулы с экстрактами животных. Чем хуже потреблялись гранулы, тем чаще они схватывались рыбами повторно ( $r_s = -0.96$ ,  $p < 0.001$ ) и тем короче было время их тестирования при первом схватывании ( $r_s = 0.51$ ,  $p < 0.05$ ) (табл. 4).

*Водные экстракты растений.* Водные экстракты 4 растений (риччия плавающая *Riccia fluitans*, листья и корни эйхорнии отличной *Eichhornia crassipes*, салат латук *Lactuca sativa* ботанический сорт «Афицион» и ряска малая *Lemna minor*) оказывали стимулирующее действие на потребление гранул, повышая его в 1.5–1.9 раза. В этой серии наблюдалось большее число повторных схватываний контрольных гранул, в связи с чем получены значимые отличия по этому параметру гранул с растительными экстрактами. Привлекательные по вкусу гранулы часто проглатывались рыбами сразу после первого схватывания, тогда как гранулы с экстрактом элодеи канадской, которые тилипия отказывалась потреблять в 100% случаев, подвергались многократным повторным тестированиям, до 14 раз. Продолжительность удержания после первого схватывания гранул с привлекательными экстрактами не отличалась от контроля. Продолжительность удержания в течение всего опыта была меньше, однако значимое отличие наблюдалось лишь для гранул с экстрактами листьев и корней водяного гиацинта. Гранулы с экстрактом элодеи канадской не только подвергались большему числу тестирований, но и существенно меньше времени удерживались рыбами в ротовой полости: средняя продолжительность удержания гранулы после первого схватывания была в 2.4 раза, а для всего опыта в 1.3 раза короче, чем для контрольных гранул (табл. 4).

Выполненные эксперименты показали, что большинство из использованных в работе химически чистых веществ (55.3%) обладают для тилипии высоко привлекательными вкусовыми свойствами, а остальные не оказывают значимого

влияния. Наиболее привлекательным из использованных нами веществ является сахарин (ИВП = 23.1). Водные организмы, которые могут быть потенциальными объектами питания рыб в природных водоемах, существенно отличаются по своим вкусовым свойствам. Разная вкусовая привлекательность гидробионтов и растений может служить сенсорным механизмом, обеспечивающим селективность питания рыб. Отталкивающие вкусовые свойства некоторых из исследованных гидробионтов указывают на использование ими химической защиты от рыб с помощью природных детеррентов.

Экспериментальная часть работы выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 16-04-00322), анализ результатов при финансовой поддержке РФ (грант 14-50-00029).

#### *Литература*

*Касумян А.О., Морси А.М.Х.* 1996. Вкусовая чувствительность карпа к свободным аминокислотам и классическим вкусовым веществам // *Вопр. ихтиологии*. Т. 36. № 3. С. 386–399.

*Касумян А.О., Марусов Е.А.* 2015. Хемоориентация в пищевом поведении у слепой пещерной рыбы *Astyanax fasciatus* (Characidae, Teleostei) // *Экология*. Т. 76. № 3. С. 195–211.

*Михайлова Е.С., Касумян А.О.* 2015. Вкусовые предпочтения и пищевое поведение девятииглой колюшки *Pungitius pungitius* трех географически удаленных популяций // *Вопр. ихтиологии*. Т. 55. № 5. С. 539–562.

*Wang M., Lu M.* 2015. Tilapia polyculture: a global review // *Aquac. Res.* <http://dx.doi.org/10.1111/are.12708>.

---

**ABSTRACT.** Taste preferences of classical taste substances, sugars and free amino acids in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* were determined. It was shown that the major part of substances has a pleasant taste in tilapia. Deterrent substances were not found. Natural extracts of plants and animals living in the aquatic environment, have significantly different palatability in fish. Among them are highly attractive substances with 100% or close to 100% consumption, and strong deterrent substances completely rejected by fish.