



На правах рукописи

Валерий

ЗАЛЕПУХИН ВАЛЕРИЙ ВЛАДИМИРОВИЧ

**ОПТИМИЗАЦИЯ ОЦЕНКИ
КАЧЕСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ
КАРПОВЫХ РЫБ В АКВАКУЛЬТУРЕ**

Специальность: 03.00.10 – иктиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора биологических наук

- 3 ДЕК 2009

Астрахань - 2009

Работа выполнена в Волгоградском государственном университете

Научный консультант: доктор биологических наук,
профессор
В.В. Стрельников

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,
профессор **А.А. Кокоза**

доктор сельскохозяйственных наук,
профессор **В.А. Власов**

доктор биологических наук,
профессор **В.И. Козлов**

Ведущая организация: Всероссийский научно-исследовательский
институт пресноводного рыбного хозяйства (ВНИИПРХ)

Защита состоится « 15 » декабря 2009 года в 14⁰⁰ часов
на заседании Диссертационного Совета Д. 307.001.05 при Астраханском
государственном техническом университете по адресу: 414025, РФ,
Астраханская область, г. Астрахань, ул. Татищева, 16.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Астраханского
государственного технического университета.

Автореферат разослан « 14 » ноября 2009 года.

Ученый секретарь
диссертационного Совета Д. 307.001.05
к.б.н., доцент



Э.И. Мелякина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Современное состояние водных биоресурсов во внутренних водоемах Российской Федерации следует охарактеризовать как напряженное - из-за угрозы исчезновения отдельных видов и популяций вследствие нерационального промысла и возросшего браконьерства, загрязнения водной среды, снижения эффективности естественного воспроизводства.

Надежды на сохранение и пополнение биологических ресурсов связаны с искусственным разведением ценных видов рыб, которое позволяет поддерживать промысловые запасы и наращивать объемы производства товарной продукции аквакультуры в регулируемых условиях. Прогрессивность и важность этого направления неоднократно подчеркивается в отечественных публикациях (Лукьяненко и др., 1984, Никоноров, Витвицкая, 1993, Виноградов, 1994, Иванов, 2000, Мамонтов и др., 2000, Козола, 2004, и др.). Проблемы охраны, рациональной эксплуатации и расширенного воспроизводства биологических ресурсов трудно решить без фундаментальных научных исследований по выявлению основных закономерностей роста, размножения и смертности в популяциях (Никольский, 1980, Дехник и др., 1985). На таких знаниях базируются:

- представления о возможностях управления численностью, продуктивностью и воспроизводством рыб в природных и искусственных водных экосистемах, и др.

- теория формирования биологических ресурсов и эксплуатации промысловых запасов;

- направления перехода к интенсивным формам морской и пресноводной аквакультуры;

Цикл работ, проведенных советскими и российскими исследователями, позволяет говорить о важной роли качества производителей, половых продуктов и молоди в динамике численности популяций. В естественных условиях подобные характеристики определяют качественные показатели пополнения промысловых стад (Никольский, 1974), в искусственных – позволяют перейти к научно обоснованным методам совершенствования биотехники выращивания и оптимизации оценки производителей.

Изучению половых циклов и раннего онтогенеза рыб посвящено значительное количество работ отечественных и зарубежных авторов, но известная специализация на том или ином направлении исследований приводит к отсутствию комплексного подхода ко многим биологическим явлениям. При всей кажущейся изученности различных аспектов оценки качества производителей и потомства в рыбохозяйственной науке до сих пор не проведено комплексного исследования, в котором была бы на единой методической основе проанализирована триада «качество производителей → качество половых продуктов → качество молоди». В отечественной литературе пока не создано такой всесторонней сводки по эндогенной разнокачественности, подобной классической работе В.Н. Жукинского (1986), в которой была проанализирована роль внешних (экзогенных) факторов в раннем онтогенезе рыб.

Совершенствование технологий искусственного воспроизводства предполагает повышение эффективности работы с половозрелыми рыбами, базирующейся на достижениях биологической науки – в том числе на методах физиолого-биохимической индикации репродуктивного потенциала рыб. Традиционные методы выращивания и оценки половозрелых рыб по экстерьерным признакам не в полной мере отражают качественные характеристики производителей в условиях искусственного воспроизводства, так как они слабо связаны с рыбоводными показателями инкубации и эмбриональным развитием. Селекционная работа в сочетании с оценкой качества производителей по цепи функциональных связей «обмен веществ половозрелых рыб → плодовитость → качество половых продуктов → жизнестойкость молоди» может служить одним из направлений повышения эффективности искусственного разведения.

С практической точки зрения единый подход к оценке качества производителей на основе синтеза результатов рыбоводно-биологического и физиолого-биохимического анализа и его математической интерпретации, смог бы внести существенный вклад в совершенствование биотехники искусственного рыборазведения в пресноводных водоемах.

Цель и задачи исследования. Цель диссертационной работы состояла в совершенствовании методов оценки производителей карповых рыб в аквакультуре по компонентам эндогенной разнокачественности на базе комплексного рыбоводно-физиолого-биохимического подхода.

К основным задачам, решаемым для достижения поставленной цели, относятся:

1. Анализ методов оценки производителей по морфологическим и экстерьерным характеристикам, их репродуктивного потенциала при искусственном разведении.

2. Исследование функционального состояния производителей по физиолого-биохимическим параметрам крови, в том числе при перезревании и резорбции половых продуктов.

3. Изучение половых продуктов, получаемых с применением экзогенного стимулирования созревания; биохимических механизмов «нормы» и «патологии» в формировании качества икры.

4. Анализ основных параметров эмбрионального развития в процессе инкубации и их взаимосвязей с биохимическим составом икры.

5. Изучение жизнеспособности не питавшихся личинок, полученных из разнокачественной икры, и связей с ее биохимическим составом.

6. Анализ возможностей использования производителей, выросших в различных экологических условиях (в прудах и в естественных водоемах), для искусственного разведения и их оценки на основе традиционных и физиолого-биохимических методов.

Применительно к задачам исследования **оптимизацией** следует считать поиск условий и факторов, приближающих нас к наилучшим вариантам формирования, оценки и эксплуатации маточных стад карповых рыб в аквакультуре.

Научная новизна. Впервые проведен комплексный анализ биологической и физиолого-биохимической эндогенной разнокачественности трех видов карповых рыб различного происхождения, экологии и domestikации в условиях V и VI зон рыбоводства. На основе синтеза биологического и математического анализа исследованы морфологические, репродуктивные, физиологические и биохимические параметры в триаде объектов исследований «качество производителей → качество половых продуктов → качество молоди». Определены зависимости основных рыбоводных показателей в ходе инкубации и жизнестойкости личинок от гематологических характеристик производителей и биохимического состава икры, продемонстрированы механизмы снижения качества икры при экзогенном стимулировании созревания и овуляции. Показаны биохимические изменения при созревании, пре- и постовулярном перезревании и резорбции икры. Впервые проанализированы взаимосвязи индивидуальной рабочей плодовитости с физиологическим состоянием рыб, количественными показателями овулировавшей икры, ходом эмбрионального развития и жизнеспособностью личинок. Проведен сравнительный анализ половозрелых рыб, биохимического состава разнокачественной икры, личинок пестрого толстолобика и сазана, выросших в природных водоемах и использованных для заводского разведения. Сформировано представление о функциональных связях в раннем онтогенезе рыб. В итоге сформулированы основные представления о роли компонентов эндогенной разнокачественности для оценки качества производителей в условиях искусственного воспроизводства карповых рыб.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Оценка влияния физиологического состояния производителей и качества овулировавшей икры на эмбриональное развитие и жизнеспособность личинок в условиях искусственного разведения
2. Условия и механизмы формирования качества овулирующих ооцитов в условиях искусственного воспроизводства; биохимические процессы, связанные со снижением качества икры при перезревании и резорбции.
3. Анализ взаимозависимостей морфологических и репродуктивных признаков самок карповых рыб с характеристиками эмбрионального развития и биохимическим составом разнокачественной икры.
4. Воздействие технологических факторов искусственного воспроизводства на качество икры и ход эмбрионального развития
5. Сравнительный анализ эндогенной разнокачественности у рыб различной степени domestikации, выросших в естественных водоемах и использованных для заводского разведения, и производителей из маточных стад прудовых хозяйств.
6. Факторы и условия пополнения маточных стад производителями карповых рыб из естественных водоемов.
7. Теоретические, диагностические, прикладные и ресурсосберегающие направления использования компонентов эндогенной разнокачественности для оценки качества производителей в условиях искусственного воспроизводства.

8. Оптимизация оценки качества производителей на основе взаимосвязей биометрических и физиолого-биохимических параметров.

Практическая значимость заключается в разработке комплексного подхода к оценке качества производителей, получаемой икры и личинок в условиях искусственного воспроизводства карповых рыб в V и VI зонах рыбоводства. Выявлен ряд биологических и биохимических характеристик, перспективных для оценки качества производителей (рабочая плодовитость, показатели красной крови) и икры (диаметр набухшей икры, содержание общего белка, фосфолипидов, свободного холестерина и др.). Показано, что некоторые биологические и биохимические показатели (диаметр и вариабильность размеров овулировавших икринок, содержание воды, неэстерифицированных жирных кислот, соотношение натрия и калия, коэффициент Дьерди и др.) могут использоваться при диагностике перезревания и резорбции икры. Данные по жизнеспособности не питающихся личинок и ее взаимосвязям с биохимическим составом овулировавшей икры необходимы для создания рыбоводно-биологического стандарта для личинок и молоди карповых рыб. Продемонстрирована возможность использования и оценки производителей сазана и пестрого толстолобика из природных водоемов для искусственного разведения. Оценено влияние различных компонентов эндогенной разнокачественности на формирование биологических ресурсов в пресноводных водоемах на основе представлений о соотношении производителей и потомства.

Материалы диссертации используются в учебных курсах «Общая экология», «Биологические ресурсы водоемов», «Теоретические проблемы биоразнообразия» в Волгоградском государственном университете; «Современные проблемы науки» и «Управление природопользованием» в Волгоградском государственном педагогическом университете.

Апробация работы. Материалы диссертации докладывались и обсуждались на XXXV, XXXVI и XXXVII научно-методических конференциях профессорско-преподавательского состава Астраханского технического института рыбной промышленности и хозяйства (1981 – 1984 гг.), V и VI Всесоюзных конференциях по экологической физиологии и биохимии рыб (Севастополь, 1982, Паланга, 1985), III Всесоюзном совещании по раннему онтогенезу рыб (Калининград, 1983), Всесоюзном совещании молодых ученых «Методы интенсификации прудового рыбоводства» (Рыбное, 1984), Всесоюзной конференции молодых ученых «Гидрорыбпроекта» (Москва, 1985), X и XI Всесоюзных совещаниях по проблемам освоения растительноядных рыб (Славянск, 1984, Кишинев, 1988), XIX конференции «Биологические основы рыбного хозяйства водоемов Средней Азии и Казахстана» (Ашхабад, 1986), Первом Всесоюзном симпозиуме по экологической биохимии рыб (Ярославль, 1987), Всесоюзном совещании «Репродуктивная физиология рыб» (Минск, 1991), Круглых столах по эколого-экономическим проблемам природопользования и устойчивого развития в Нижневолжском регионе, проводимых Волгоградским государственным университетом (2001-2009 гг.), региональных Экологических чтениях, проводимых Волгоградским отделением Российской Экологической Академии (Волгоград,

2001-2005 гг.), российско-германской научно-практической конференции «Экономика. Экология. Право» (Волгоград, 2002), ежегодных Областных краеведческих чтениях (Волгоград, 2001-2009 гг.), международной научно-практической конференции «Животные в антропогенном ландшафте» (Астрахань, 2003), российско-японской конференции «Ядерная, радиационная и экологическая безопасность» (Волгоград, 2003), научно-практической конференции «Инновационные технологии в экологическом образовании: пути, формы и методы их реализации» (Волгоград, 2004), международной научно-практической конференции «Проблемы и перспективы реабилитации техногенных экосистем» (Астрахань, 2004), IX Международной конференции «Эколого-биологические проблемы бассейна Каспийского моря» (Астрахань, 2006), международном симпозиуме «Тепловодная аквакультура и биологическая продуктивность водоемов аридного климата» (Астрахань, 2007), международной конференции «Ихтиологические исследования на внутренних водоемах» (Саранск, 2007), Второй научной конференции с участием стран СНГ «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов» (Петрозаводск, 2007), Международной научно-практической конференции «Человек и животные» (Астрахань, 2008), международной научно-практической конференции «Современные проблемы биоразнообразия» (Воронеж, 2008), II Международной научной конференции «Актуальные проблемы экологической физиологии, биохимии и генетики животных» (Саранск, 2009), международной конференции «Инновационные технологии в аквакультуре» (Ростов-на-Дону, 2009).

По материалам диссертации опубликовано 74 печатных работы (среди них 9 – в рецензируемых научных изданиях, отнесенных к перечням ВАКа) общим объемом свыше 50 печатных листов, в том числе учебно-методическое пособие «Теоретические аспекты биоразнообразия» (2003) и монография «Концепция эндогенной разнокачественности в условиях искусственного воспроизводства карповых рыб» (2006). Материалы диссертации вошли в коллективные монографии «Волго-Ахтубинская пойма – природный дар человечеству» (2006) и «Энциклопедия Волгоградской области» (2007).

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 432 страницах машинописного текста, включая 100 таблиц и 45 рисунков; состоит из введения, семи глав, выводов, практических рекомендаций и заключения. Список литературы включает 686 публикаций отечественных и зарубежных авторов. В 23 приложениях приведены данные экспериментальных исследований, корреляционные таблицы, компьютерные графики и другие материалы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1 «Обзор литературы» содержит анализ публикаций отечественных и зарубежных авторов по методам оценки животных в сельскохозяйственном производстве; методам оценки качества производителей, половых продуктов и молоди в рыбохозяйственной науке.

Глава 2. Материал и методики исследований.

Собственный экспериментальный материал получен в течение 1980-1998 гг. в условиях V и VI зон рыбоводства (Волгоградская и Астраханская области). Работа выполнена на базе Башмаковского инкубационного цеха Астраханского производственного комбината прудового рыбоводства, инкубационных цехов рыбколхоза «40 лет Октября» и рыбсовхоза «Волжанка» объединения «Волгоград-рыбхоз».

Объектами исследований послужили производители, половые продукты и личинки трех видов карповых рыб – основных объектов современного прудового рыбоводства и аквакультуры: сазана и карпа *Cyprinus carpio* L., белого амура *Steopharungodon idella* Val. и пестрого толстолобика *Aristichthys nobilis* Rich.:

Сазан – производители, отловленные в естественных водоемах и завезенные с тоней Нижней Волги (1980-1986 гг.);

Карп – молдавский местной селекции (1984-1986 гг.) и украинский карп, завезенный с Донрыбокомбината (1989-1998 гг.);

Белый амур – производители из местных пользовательных стад;

Пестрый толстолобик – производители из местных пользовательных стад, а также выросшие в природных условиях, отловленные в дельте Волги в 1984 году и использованные в дальнейшем для искусственного воспроизводства («прудовые» и «речные»).

Общая схема исследований представлена на рис. 1.



Рис. 1. Общая схема изучения эндогенной разнокачественности карповых рыб в экспериментальных условиях

Гидрохимический режим в водоемах, служащих источниками водоснабжения для всех рыбоводных хозяйств (реки Волга и Ахтуба, Волгоградское водохранилище), а также в аппаратах, бассейнах и прудах контролировался по общепринятым методикам (Строганов, Бузинова, 1980; Бессонов, Привезенцев, 1987). Величины отдельных показателей в период исследований не выходили за рамки рыбоводно-биологических нормативов для прудовых хозяйств.

У производителей определяли основные биологические характеристики: возраст, длину L и ℓ , массу P и наибольшую высоту тела H ; рассчитывали упитанность по Фультону и Кларку, коэффициент высокоспинности ℓ / H , коэффициент зрелости – по общепринятым в ихтиологии методикам (Правдин, 1966). Индивидуальную рабочую плодовитость у каждой самки определяли весовым методом, относительную рабочую плодовитость рассчитывали на 1 кг массы рыбы. На свежем материале измеряли диаметр овулировавшей икры ($n = 25 \div 40$ для каждой самки), подсчитывали количество икринок в 1 грамме и среднюю массу одной икринки. Плотность овулировавших икринок рассчитывали как отношение массы к объему (Жукинский, Дьячук, 1964). При анализе спермы определяли объем эякулята, концентрацию сперматозоидов путем просчета в камере Горяева, качество – по пятибалльной шкале Персова, учитывающей подвижность спермиев. Анализ спермы проведен у 226 рыб различного происхождения и выросших в разных экологических условиях.

Качество икры оценивалось по комплексу биологических и биохимических показателей. Для предварительной оценки в полевых условиях использовались методики, предложенные Е.Л. Соколовой (1971) для карпа; Л.В. Ерохиной и В.К. Виноградовым (1968) и В.Ф. Кривцовым и сотр. (1988) для растительноядных рыб. Они включают:

1) визуальную оценку овулировавшей неоплодотворенной икры (окраску, консистенцию, количество овариальной жидкости, внешний вид икринок, наличие посторонних включений), одновременность или растянутость овуляции и отцеживания икры и др.;

2) анализ эмбрионального развития, в ходе которого определяется оплодотворяемость, типичность и синхронность дробления; наличие аномально развивающихся эмбрионов и характер уродств; растянутость и дружность выплывания и т.д.

Икра каждой самки осеменялась спермой 3-6 самцов, имеющей оценку по шкале Персова в 4 и 5 баллов и инкубировалась в отдельных аппаратах в соответствии с общепринятой биотехникой заводского воспроизводства карпа (Конрадт, Сахаров, 1969) и растительноядных рыб (Виноградов и др., 1975).

Периодизация оогенеза – по А.П. Макеевой (1992). Стадии и этапы эмбрионального развития изучаемых видов определяли по В.В. Васнецову (1953), Б.П. Лужину (1977) и С.Г. Соину (1963). Регистрировались такие аномалии развития как нарушения дробления и появление уродливых бластомеров, неравномерная сегментация тела и искривления позвоночника, водянка желточного мешка и др.

В процессе эмбрионально-личиночного развития определяли:

- а) процент оплодотворения - на стадиях 4-8 бластомеров;
- б) процент нормально и уродливо развивающихся эмбрионов – после завершения этапа сегментации тела;
- в) процент выхода предличинок – на стадиях вращающегося эмбриона, незадолго до вылупления.

Все просчеты осуществлялись в камере Богорова, в каждой партии икры просматривалось не менее 100 развивающихся икринок.

г) длину предличинок при вылуплении и при переходе на внешнее питание – под окуляр-микроскопом, сразу после фиксации их 4%-ным раствором формалина ($n = 50$ для каждой самки).

В ходе анализа нами были выделены следующие группы икры в соответствии с ее рыбоводным качеством:

Группа 0 («фоновая» группа), в которой изучались гематологические характеристики производителей в период, предшествующий нерестовой кампании – за 5-20 дней до применения экзогенной стимуляции созревания половых продуктов.

В группах I – VII проведено одновременное изучение крови производителей, получаемой от них икры различного качества и жизнестойкости личинок.

Группа I – «недозрелая» икра. Соответствует подфазе E_1 – незавершенной IV СЗГ. У сазана и карпа характеризуется малым количеством полостной жидкости («густая» икра) и отцеживается малыми порциями. При обесклеивании образует трудно разбиваемые комки.

У растительноядных рыб оварияльной жидкости, наоборот, много, икринки мелкие и упругие по тактильным ощущениям.

На контрольных гистологических препаратах и у карпа, и у растительноядных рыб не у всех самок в такой икре отмечен заметный сдвиг ядра к оболочке.

Развитие осемененной икры характеризуется появлением разноразмерных бластомеров, большим количеством уродливых эмбрионов, погибающих задолго до вылупления. Процент оплодотворения низкий, не превышает 50%, процент нормально развивающихся эмбрионов близок к нулю. У сазана и растительноядных рыб вылупившихся предличинок мало.

Группа II и III – «Зрелая икра», соответствующая IV завершенной СЗГ и подфазе E_2 . Отцеживание икры быстрое. После оплодотворения дробление синхронное и равномерное, уродливых эмбрионов мало. К группе II (икра хорошего рыбоводного качества) отнесена икра с процентом оплодотворения 50-70%, высоким процентом нормально развивающихся эмбрионов (80-90%) и близким к нормативному процентом выхода предличинок (от 30 до 60%). В группу III (икра отличного рыбоводного качества) выделена икра с максимальной оплодотворяемостью (более 70%), наиболее высокими показателями нормально развивающихся эмбрионов (от 80% до 100%) и выхода предличинок (более 60%). Группы, следовательно, выделены по отношению к важнейшим рыбоводным характеристикам, выявляемым в ходе инкубации.

Группы IV и V – «постовулярно перезревшая икра» (передержанная в полости тела самки после овуляции при несвоевременном отцеживании). Соответст-

вует IV СЗГ и IV – VI СЗГ. Характеризуется большими и заметно набухшими икринками, среди которых встречаются уже побелевшие, легко деформируемые при нажатии, Дробление асинхронное, бластомеры разной формы часто отрываются от бластодиска. Процент оплодотворения может быть и низким, и высоким, но из-за множества уродливо развивающихся эмбрионов процент выхода предличинок незначителен (5-10%). К группе IV отнесена икра, сохранившая способность к оплодотворению (подфаза E₂), а к группе V – полностью ее утратившая (подфазы E₃ – F). У сазана и карпа до 10% икринок такую способность сохраняют вследствие асинхронного характера созревания ооцитов и выметывания икры.

В группу VI выделены самки с постовулярно перезревшей икрой, потерявшей способность к оплодотворению и отцеженной у специально отсаженных самок спустя 8 часов после завершения очередного тура инкубации. Аналогично в группе VII такая икра отцежена через 48 часов.

Всего за период исследований полный биологический и биохимический анализ самок, икры и личинок проведен для 95 самок карпа, 123 - белого амура и 167 - пестрого толстолобика, относящихся к местным пользовательным стадам, причем по каждой самке проанализировано свыше 70 параметров (биометрических и физиолого-биохимических). В общей сложности проведено свыше 1800 биохимических анализов. Кроме того, в экспериментальных работах с производителями, завезенными с естественных водоемов, такому же анализу подвергнуты 139 самок сазана и 68 самок пестрого толстолобика, использованных в дальнейшем для искусственного воспроизводства. Гематологическому и биохимическому анализу (определение количества гемоглобина, эритроцитов и лейкоцитов; СОЭ; общего белка, липопротеидов, коллоидоустойчивости сывороточных белков (КСБ) и др.) в общей сложности подвергнуто 36 самок карпа, 30 самок белого амура, 68 самок пестрого толстолобика. При этом применялся метод прижизненного взятия крови (Попов, 1972) и иногда – каудэктомия; в анализе использовались сыворотки без признаков гемолиза.

1) гемоглобин – по Г.З. Дервизу и А.И. Воробьеву (1960) на фотоэлектроколориметрах ФЭК-56М и КФК-2М;

2) количество эритроцитов и лейкоцитов – путем подсчета в камере Горяева (Голодец, 1955, Кудрявцев и др., 1969; Лабораторные методы..., 1987);

3) СОЭ – в аппарате Панченкова (Голодец, 1955);

4) общий белок – по Lowry et al., (1951) и по биуретовой реакции (Биохимические методы..., 1969);

5) α-липопротеиды и β-липопротеиды – по методике О.Н. Никольской и В.П. Тихонова (1968), основанной на определении их по Бурштейну и Самаи (Биохимические методы..., 1969) - на фотоэлектроколориметрах «Sresol», КФК-2М и ФЭК-56М,

6) КСБ – по ленте Вельтмана (Кычанова, Герфанова, 1981);

7) общие липиды в сыворотке крови – с сульфифосфованилиновым реактивом (Колб, Калашников, 1976)

8) фосфоглицериды в сыворотке крови – по Свенбергу и Свеннерхольму (1961) на спектрофотометрах СФ-26 и СФ-4А;

9) холестерин в сыворотке – методом Илька (Илса, 1961);

10) общий фосфор в сыворотке – по Г.А. Грибанову и Г.А. Базанову (1976); кальций – по Де Ваарду (Васильева, 1983).

Общий биохимический состав икры (содержание воды, сухого вещества, белка, липидов, золы) определяли по общепринятым методам. Количество общего белка в икре определяли по Lowry et al., (1951), а в полевых условиях – по биуретовой реакции (Биохимические методы..., 1969); фракционный состав белков – методом электрофореза в блоке 5%-ного полиакриламидного геля (по Г. Мауреру, 1971) в сравнении с параллельной разгонкой белков сыворотки крови человека. Общие липиды определяли по методу Фолча (Folch et al., 1957), а их фракционный состав – методом тонкослойной хроматографии на пластинках «Silufol» (Сторожук, 1980). Идентификацию фракций липидов проводили по «маркерам-свидетелям», в качестве которых использовались растворы свободного холестерина, смеси пальмитиновой и олеиновой кислот, триолеина как представителя триацилглицеридов (Римш, 1969; Сидоров и др., 1972, 1981). Количество фосфоглицеридов и общего холестерина определяли (в качестве дополнительного метода) по цветным реакциям на спектрофотометре СФ-26 и спектроколориметре «Spesol» по Свенбергу и Свеннерхольму (1961) и Ильку (1961) соответственно (Биохимические методы..., 1969). β -липопротеиды в икре – по Бурштейну и Самаи. Количество гликогена определялось по методике М.И. Прохоровой и З.Н. Тупиковой (1965) с антроновым реактивом.

Количественное определение микроэлементов (меди, цинка, кобальта, никеля, марганца) проведено на атомно-абсорбционном спектрофотометре фирмы «Hitachi» модели ААS 180-50. На том же приборе в режиме пламенной фотометрии определено содержание натрия и калия. Магний и марганец в икре определены методом эмиссионного спектрального анализа в модификации В.И. Воробьева (1975).

Опыты по определению выживаемости не питавшихся личинок проводили в кристаллизаторах объемом 1 литр при $n = 100 \pm 2$ штуки для каждой самки. Температура воды и гидрохимический режим в экспериментальных условиях соответствовали условиям инкубации каждого вида. Фиксировалось время гибели 50% и 100% всех не питавшихся личинок (L_{50} и L_{100}) – в часах. Проанализировала выживаемость личинок, полученных от 91 самки карпа и сазана, 61 самки пестряго толстолобика различного происхождения.

Собранный материал обработан статистически по Н.А. Плохинскому (1961) и Г.Ф. Лакину (1990). Линейные корреляции, нелинейные регрессии и оценка силы влияния факторов рассчитаны на ЭВМ ЕС-1020 и ЕС-1022, а также с использованием стандартного пакета программ Microsoft Excel на персональных компьютерах различных типов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Глава 3. Разнокачественность производителей карповых рыб.

3.1. Морфометрические и репродуктивные показатели производителей в условиях искусственного воспроизводства. В условиях ежегодной бонитировки маточных стад при анализе экстерьерных признаков производителей выявлена значительная разнородность маточных стад по основным параметрам – возрасту, массе, длине рыб и ряду индексов. В условиях искусственного воспроизводства при экзогенной стимуляции процессов созревания и овуляции сохраняются общебиологические закономерности – высокодостоверные корреляции массы, длины и рабочей плодовитости с возрастом рыб. Однако высококачественную зрелую икру можно получить от представителей почти всего возрастного ряда, за исключением впервые созревающих рыб – в экологических условиях V и VI зон рыбоводства карп и сазан становятся половозрелыми в возрасте 3-4 лет, белый амур в 5 лет, пестрый толстолобик – в 6 лет (Сборник ..., 1986).

Объективным критерием высокого качества самок и отражением их эндогенной разнокачественности может служить рабочая плодовитость – как абсолютная (индивидуальная), так и относительная (рассчитанная на 1 кг массы). Данный показатель является «функцией отклика» организма рыб на экзогенную стимуляцию созревания, зависящей от степени зрелости гонад перед инъектированием и в то же время от реакции собственной нейро-гуморальной системы – то есть от уровня подготовленности к нересту. В различных экологических условиях V и VI зон рыбоводства увеличение рабочей плодовитости ведет к повышению процентов оплодотворения, нормально развивающихся эмбрионов и выхода предличинок, а также длины вылулпывающихся предличинок, что особенно ярко выражено у растительноядных рыб. На наш взгляд, такие сильные корреляции являются свидетельством важного значения однородности ооцитов, синхронности их созревания и дружной нерастянутой овуляции – это лишний раз подчеркивает особую роль состояния гонад перед инъектированием. В свою очередь, уменьшение вариабельности диаметра ооцитов может указывать на более или менее равномерное распределение эссенциальных веществ в гонадах, и тотальная овуляция под действием экзогенного стимулирования созревания может охватить максимальное количество яйцеклеток. Дружная единовременная овуляция, по-видимому, является следствием лучшей подготовленности ооцитов к ней, с одной стороны, и оптимальным ответом нейро-гуморальной системы на внешнее стимулирование, с другой. Наибольшая рабочая плодовитость связана с определенной степенью зрелости ооцитов, которые характеризуются завершенностью мейотических преобразований в них и достаточным уровнем накопления структурных и энергетических веществ. Такие данные подчеркивают необходимость отбора в селекционных целях высокоплодовитых самок сазана, карпа, белого амура и пестрого толстолобика.

3.2. Физиолого-биохимические параметры крови. Анализ физиологического состояния рыб по разнообразным параметрам крови показал высокую лабильность многих показателей (табл. 1). Статистический анализ однозначно указывает лишь на четко отличаемый минимум КСБ (коллоидоустойчивость

сывороточных белков) у самок обоих видов, продуцирующих высококачественную икру (II – III группы). Например, у таких самок карпа в крови содержится меньше α - и β -липопротеидов по сравнению с рыбами с незрелой (I группа) или с постовулярно перезревшей икрой – IV и V групп ($P < 0,05$). Хорошо заметные отличия имеются по многим другим характеристикам.

Таблица 1

Гематология самок с икрой различного качества

Физиолого-биохимические показатели крови	Группы самок с икрой различного качества		
	I	II - III	IV - V
Украинский карп (n = 36)			
Гемоглобин, г%	7,18 ± 0,24	8,77 ± 0,45	8,70 ± 1,12
Эритроциты, млн / мм ³	1,80 ± 0,04	1,91 ± 0,06	1,96 ± 0,06
Лейкоциты, тыс. шт. / мм ³	25,75 ± 0,84	23,93 ± 1,90	25,22 ± 2,37
СОЭ, мм / час	3,80 ± 0,40	4,19 ± 0,50	4,40 ± 0,49
Общий белок, г%	3,94 ± 0,77	4,31 ± 0,21	3,80 ± 0,59
α -липопротеиды, мг%	274 ± 12	196 ± 21	270 ± 35
β -липопротеиды, мг%	390 ± 19	330 ± 23	375 ± 23
($\alpha + \beta$) липопротеиды, мг%	664 ± 18	526 ± 32	645 ± 36
Соотношение α / β липопротеидов	0,70 ± 0,05	0,59 ± 0,09	0,72 ± 0,11
КСБ, % CaCl ₂	0,060 ± 0,010	0,039 ± 0,010	0,058 ± 0,010
Общие липиды, мг%	764 ± 92	660 ± 60	647 ± 46
Холестерин, мг%	142 ± 19	172 ± 24	180 ± 18
Фосфолипиды, мг%	284 ± 48	244 ± 46	276 ± 54
Общий фосфор, мг%	36,4 ± 1,8	39,9 ± 3,3	38,6 ± 4,8
Общий кальций, мг%	25,2 ± 1,6	24,3 ± 2,0	25,2 ± 1,6
Пёстрый толстолобик (n = 29)			
Гемоглобин, г%	10,72 ± 0,75	10,39 ± 0,70	9,04 ± 0,46
Эритроциты, млн / мм ³	1,71 ± 0,04	1,68 ± 0,05	1,61 ± 0,04
Лейкоциты, тыс. шт. / мм ³	14,82 ± 1,21	15,29 ± 0,96	15,71 ± 1,78
СОЭ, мм / час	3,75 ± 0,43	4,28 ± 0,45	4,71 ± 0,45
Общий белок, г%	5,35 ± 1,42	6,17 ± 0,35	6,19 ± 0,90
α -липопротеиды, мг%	285 ± 26	275 ± 37	304 ± 35
β -липопротеиды, мг%	312 ± 43	296 ± 44	333 ± 26
($\alpha + \beta$) липопротеиды, мг%	597 ± 69	571 ± 76	637 ± 50
Отношение α / β липопрот.	0,92 ± 0,05	0,93 ± 0,09	0,92 ± 0,11
КСБ, % CaCl ₂	0,060 ± 0,010	0,043 ± 0,010	0,054 ± 0,004
Общие липиды, мг%	570 ± 16	538 ± 70	517 ± 48
Холестерин, мг%	165 ± 11	183 ± 13	167 ± 14
Фосфолипиды, мг%	225 ± 22	227 ± 42	250 ± 19
Общий фосфор, мг%	30,5 ± 1,7	30,4 ± 4,7	32,6 ± 1,8
Общий кальций, мг%	25,5 ± 1,7	22,3 ± 1,5	22,0 ± 1,5

По коэффициентам корреляции и графикам нелинейной регрессии можно выявить ряд параметров крови, связанных с качеством получаемой икры. Такими следует считать прежде всего показатели системы эритрона (красной крови) – концентрацию гемоглобина и эритроцитов. При увеличении концентрации этих показателей у самок возрастает оплодотворяемость и процент выхода, уменьшается количество уродливых эмбрионов. Это особенно заметно у пёстрого толстоло-

бика, где все коэффициенты корреляции статистически достоверны и сохраняются в течение всего эмбрионального развития. Показателем, отрицательно связанным с ходом инкубации, являются высокие значения КСБ у обоих видов, а у карпа, кроме того, уровень общих липидов, α - и β -липопротеидов и общего кальция. У обоих видов с процентом оплодотворения достоверно связан уровень свободного холестерина в сыворотке крови ($r_{xy} = +0,45$ для карпа и $+0,67$ для пестрого толстолобика), что согласуется с литературными данными для карпа и белого толстолобика (Баденко и др., 1986, Корниенко, Дорошева, 1986).

Далеко не во всех литературных источниках указывается момент взятия крови относительно времени овуляции и отцеживания половых продуктов. Если брать кровь перед экзогенной стимуляцией созревания и овуляции (обычно это делается за несколько суток до инъектирования), то получаемая при этом информация о динамике гематологических показателей будет отражать степень готовности к нересту у рыб, находящихся в IV незавершенной или IV завершённой СЗГ, но не ход эмбрионального развития и не параметры жизнестойкой молоди. Это обусловлено следующими обстоятельствами: как известно, в период между инъекциями происходит переход яйцеклеток сначала в IV завершённую СЗГ и далее в V СЗГ (Ю.К. Кузнецов, 1972). Одновременно происходят и существенные изменения в физиологическом состоянии производителей и мобилизация всех энергетических и пластических резервов в организме, что не может не отражаться на показателях крови. При таком выборе времени для отбора проб крови целесообразно сопоставлять гематологические характеристики с цитологическими (в частности, со степенью поляризации ядра) и лишь с определенной долей вероятности – с оплодотворяемостью икры. Если же необходимо сопоставление гематологических параметров с качеством получаемых половых продуктов и ходом эмбрионального развития, то прижизненное взятие проб крови осуществляем максимально приближенным к моменту отцеживания икры и спермы и искусственного осеменения. Только в этом случае достигается согласование всех параметров разносторонней оценки качества производителей, овулировавшей икры, развивающихся эмбрионов и личинок.

По совокупности графиков нелинейной регрессии, отражающих взаимосвязи разнообразных параметров крови с показателями развивающейся икры, мы приходим к представлению о «гематологическом оптимуме» для карпа и пестрого толстолобика – комплексе характеристик, соответствующих наибольшим значениям оплодотворяемости, процента нормально развивающихся эмбрионов (НРЭ) и выхода предличинок, т.е. к понятию «нормы» для конкретных экологических условий и существующей биотехники искусственного воспроизводства (Залепухин, 2006). Таким образом, и у карпа, и у пестрого толстолобика можно выделить ряд физиолого-биохимических параметров крови, пригодных для оценки качества производителей в условиях искусственного воспроизводства (табл. 2 и 3). Все они отражают эндогенную разнокачественность половых рыб, используемых для разведения, и взаимосвязи гематологических показателей с ходом эмбрионального развития

Таблица 2

Показатели крови карпа,
соответствующие максимальным рыбоводным показателям

Параметры крови	Единица измерения	Показатели инкубации			Результу- ющие значения
		процент оплодотворения 75-85%	процент НРЭ 55-60%	процент выхода 35-40%	
Гемоглобин	г%	8,5-10,3	7,9-10,0	8,0-10,0	7,9-10,3
Эритроциты	млн./мм ³	1,89-2,03	1,88-2,04	1,86-2,05	1,85-2,05
Лейкоциты	тыс./мм ³	> 22	> 24	> 25	> 22
СОЭ	мм/час	> 4,1	> 3,9	3,6-4,7	3,6-4,7
Общий белок	г%	3,75-4,15	4,0-4,5	> 3,75	3,75-4,5
α -липопротеиды	мг%	< 225	< 240	< 240	< 225
β -липопротеиды	мг%	< 340	< 360	< 360	< 340
$(\alpha+\beta)$ -липопротеиды	мг%	< 560	< 580	< 580	< 560
Соотношение (α/β) липопротеидов	--	< 0,62	< 0,68	< 0,68	< 0,62
КСБ	% CaCl ₂	< 0,045	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Общие липиды	мг%	590-700	< 750	< 750	590-700
Холестерин	мг%	160-210	150-210	150-210	150-210
Фосфоглицериды	мг%	230-320	200-310	190-320	190-320
Фосфор	мг%	> 42	> 42	> 40	> 40
Кальций	мг%	< 21	< 22	< 22	< 21

* - превышение нормативного выхода.

Таблица 3

Физиолого-биохимические параметры крови самок ПТТ,
соответствующие максимальным рыбоводным показателям.

Параметры	Единица измерения	Показатели инкубации			Результу- ющие значения
		процент оплодотворения 70-75%	процент НРЭ 60-65%	процент выхода 45-50%	
Гемоглобин	г%	10,0-11,8	10,0-11,7	10,3-12,0	10,0-12,0
Эритроциты	млн./мм ³	1,66-1,70	1,68-1,74	1,72-1,76	1,66-1,76
Лейкоциты	тыс./мм ³	13,7-15,5	13,2-15,5	13,8-15,2	13,7-15,5
СОЭ	мм/час	3,8-4,5	4,2-4,3	4,2-4,3	3,8-4,2*
Общий белок	г%	5,0-5,8	4,7-5,7	5,2-5,5	4,7-5,5*
α -липопротеиды	мг%	< 250	< 220	< 230	< 250
β -липопротеиды	мг%	< 240	< 270	< 250	< 270
$(\alpha+\beta)$ -липопротеиды	мг%	< 480	< 550	< 470	< 500*
α/β -липопротеиды		< 0,82	1,1	----**	----**
КСБ	% CaCl ₂	< 0,05	< 0,05	< 0,44	< 0,44*
Общие липиды	мг%	> 500	> 630	> 620	> 600
Холестерин	мг%	> 130	> 180	> 180	> 180
Фосфоглицериды	мг%	< 190 и > 300	< 190 и > 300	< 180 и > 300	< 180 и > 300
Фосфор	мг%	< 24 и > 36	< 24 и > 36	< 24 и > 37	< 24 и > 36
Кальций	мг%	< 22	< 21	< 20	< 20

* - при больших значениях процент выхода опускается ниже нормативного;

** - при любых значениях нормативный процент выхода не достигается.

По коэффициентам корреляции нам удалось выявить позитивные взаимосвязи рабочей плодовитости самок с параметрами гемоглобина и эритроцитов: у карпа r_{xy} равны $+0,68 \div +0,71$, у пестрого толстолобика $+0,36 \div +0,39$. Это означает, что лучшую по качеству икру продуцируют самые плодовитые самки с высокой интенсивностью обменных процессов - максимальная плодовитость требует обеспечения созревающих и овулирующих яйцеклеток кислородом и жизненно необходимыми веществами. В то же время высокий уровень белка в сыворотке крови свидетельствует о нормальном физиологическом состоянии рыб и наличии определенного резерва пластического материала в организме производителей, что отражается на качестве овулировавшей икры и ее биохимическом составе (см. главу 4). Пониженный уровень белка указывал бы на истощение рыб, что можно связать с нарушениями биотехники преднерестового содержания – например, отсутствием подкормки.

Кроме того, на примере белого амура показано, что постовулярное перезревание и резорбция яйцеклеток существенно и достаточно быстро (за 8-48 часов) ухудшают физиологическое состояние рыб, о чем сигнализируют различные параметры крови (гемоглобин, лейкоциты, СОЭ) и внешние признаки (вялость рыб, побледнение жабр и др.), свидетельствующие о развивающейся анемии.

В отличие от естественного размножения, возраст рыб имеет лишь ориентировочное значение при оценке качества производителей. Почти во всех случаях статистический анализ показывает невысокие и недостоверные корреляции между возрастом и рыбоводными характеристиками инкубации. Лишь по графикам нелинейной регрессии можно выявить тенденцию улучшения показателей инкубации и выживаемости личинок с возрастом самок и у сазана, и у растительноядных рыб (см. главу 5).

Глава 4. «Оценка качества половых продуктов при экзогенном стимулировании созревания». В триаде объектов нашего исследования наибольшее значение принадлежит качеству половых продуктов, ибо именно в них реализуются изменения обмена веществ производителей в период гаметогенеза, созревания и нереста. При искусственном разведении отличительной особенностью карпа и растительноядных рыб является быстрая потеря способности икры к оплодотворению – за 0,5 - 1,5 часа. Качество получаемой икры оказывает существенное влияние на количественные характеристики выживаемости эмбрионов в период инкубации и не питающихся личинок. Именно поэтому возникает необходимость перехода к оценке икры по биохимическим показателям, которые дают более точную информацию о способности к оплодотворению и нормальному развитию.

4.1. Разнокачественность самцов и их половых продуктов. Использование для искусственного осеменения высококачественной спермы трех-шести самцов не только увеличивает внутривидовую гетерогенность потомства, усиливая тем самым генетический полиморфизм популяций, но и сводит к минимуму возможность негативного влияния недоброкачественной спермы на индивидуальное развитие. Полученные нами данные по объему эякулята, концентрации и продолжительности движения спермиев сопоставимы с результатами других исследователей в различных экологических условиях и в разных зонах

рыбоводства (Попова, 1968, Белова, 1981а, б; Пронин, 1981, Жукинский, Вовк, 1986, и др.).

4.2. Морфология и развитие разнокачественной икры. Анализ биометрических показателей овулировавших икринок в V и VI зонах рыбоводства показал наличие ряда закономерностей, свойственных икре различного качества:

- незрелая икра всех видов имеет наименьший диаметр и наименьшую среднюю массу икринок;

- доброкачественная зрелая икра имеет, как правило, достоверные отличия по диаметру и массе в сравнении с незрелой икрой;

- постовулярное перезревание икры сопровождается увеличением диаметра икринок, что связано с интенсивной гидратацией;

- плотность икринок у всех трех видов уменьшается в ряду: незрелая икра, зрелая, перезрелая;

- с ухудшением качества икры растет вариабельность диаметра овулировавших яйцеклеток.

Корреляционный анализ показал высокодостоверные зависимости средней массы икринок от возраста и массы самок: для сазана $r_{xy} = +0,745$ и $+0,432$ соответственно, для белого амура $+0,660$ и $+0,438$, для пестрого толстолобика $+0,497$ и $+0,331$. Однако только для сазана, сохраняющего в условиях Нижне-волжского региона асинхронность созревания и субпорционность выметывания ооцитов, установлена статистически достоверная связь между массой овулировавших икринок и процентом оплодотворения ($r_{xy} = +0,539$ при $P < 0,01$), а также длиной вылупляющихся эмбрионов ($r_{xy} = +0,592$ при $P < 0,01$), чего у других видов не наблюдается. Только у толстолобика выявлена положительная корреляция между упитанностью самок и средней массой икринок ($r_{xy} = +0,37$ при $P < 0,05$), у сазана и белого амура такие связи отрицательны и недостоверны.

Высококачественная икра у изученных видов набухает лучше, чем незрелая или перезрелая, что подтверждается сильными достоверными корреляциями между величиной диаметра набухших икринок и показателями инкубации в условиях Астраханской области:

Рыбоводные показатели	Сазан	Белый амур	Пестрый толстолобик
Процент оплодотворения	+0,407	+0,850	+0,848
Процент нормально развивающихся эмбрионов	+0,437	+0,725	+0,767
Процент выхода предличинок	+0,365	+0,644	+0,646
Длина предличинок при вылуплении	+0,535	+0,937	+0,984
n	35	38	41

Примечания: в корреляционных таблицах при $n = 30 \div 41$ $P_{0,05} > 0,33$; $P_{0,01} > 0,42$.

Такие же достоверные зависимости для диаметра набухшей икры выявлены и в условиях Волгоградской области для украинского карпа и пестрого толстолобика (см.: Залепухин, 2006). Столь сильные корреляции отражают особенности целого ряда биологических процессов: механизмов образования периви-

телинового пространства при оплодотворении (Зотин, 1961, Гинзбург, 1968), усиления газообмена зародыша (Соин, 1977) и эмбриональной моторики (Резниченко, 1982), возможности утилизации из водной среды жизненно важных для развития органических и неорганических веществ (Владимиров, 1974, Воробьев, 1979). По нашим данным, у сазана и растительноядных рыб выявлены зависимости диаметра набухшей икры от диаметра и плотности овулировавших икринок и ряда биохимических параметров, связанных с проницаемостью мембран (коэффициента Дьерди, соотношения «натрий / калий», холестерина). Очевидно, что сочетание таких условий, связанное с интенсивным набуханием икринок, благоприятна для развивающихся эмбрионов и обеспечивает их лучшую выживаемость.

У всех видов в ходе эмбрионального развития постовулярно перезревшей икры наблюдаются различные аномалии, считающиеся проявлениями эндогенной разнокачественности (Жукинский, Недялков, 1980, и др.). Их наличие объясняют реализацией морфо-физиологических дефектов, возникающих в период, когда разнокачественная икра находится на начальных этапах дегенерации, но сохраняет способность к оплодотворению (IV группа). Чаще всего встречались:

1) нарушения дробления (несимметричное расположение blastomerov на blastodiske и отрыв отдельных blastomerov от него) – по визуальным наблюдениям, до 80% случаев;

2) аномалии гастрюляции (неравномерное обрастание желтка blastoderмой и неправильная форма желточной пробки);

3) нарушения сегментации тела (искривление осевого скелета, деформация различных частей и непропорциональное развитие отдельных частей зародыша);

4) водянка либо некроз желточного мешка (на этапах развития, близких к вылуплению).

Арбитражным методом при анализе качества икры нам послужило определение рыбоводных показателей инкубации: процента оплодотворения, процента нормально развивающихся эмбрионов (НРЭ) и процента выхода предличинок, а дополнительными характеристиками – степень набухания икры и наличие аномалий развития. Подсчет соотношения нормально и уродливо развивающихся эмбрионов необходим при анализе различных нарушений развития, в частности, возникающих при постовулярном презревании. На долю аномалий дробления приходится подавляющая часть видимых нарушений эмбрионального развития, и в дальнейшем отход зародышей не представляет значительных величин.

У всех изученных видов между рыбоводными показателями инкубации существует достаточно тесная взаимосвязь (рис. 2-4 - на примере украинского карпа). Аналогичные зависимости получены и для остальных видов: сазана, белого амура, «прудовых» и «речных» самок пестрого толстолобика. Их существование показывает, что в большинстве случаев определение процента оплодотворения дает достаточно точную оценку качества овулировавшей икры, полученной после экзогенного стимулирования созревания. Уловить взаимосвязь между физиолого-

биохимическими параметрами икры и причинами элиминации эмбрионов удавалось ранее только при использовании высокоточных методов анализа активности ферментов (Жукинский, Гош, 1979, Гош, 1986, и др.).

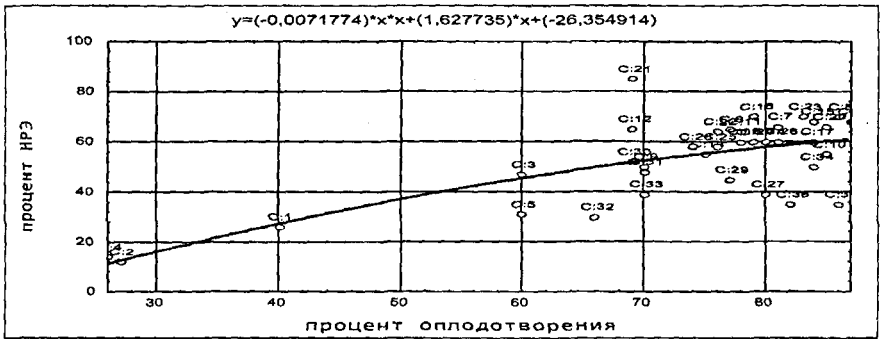


Рис. 2. Взаимосвязь между процентом НРЭ и процентом оплодотворения икры украинского карпа ($R = 0,71$ при $P < 0,01$)

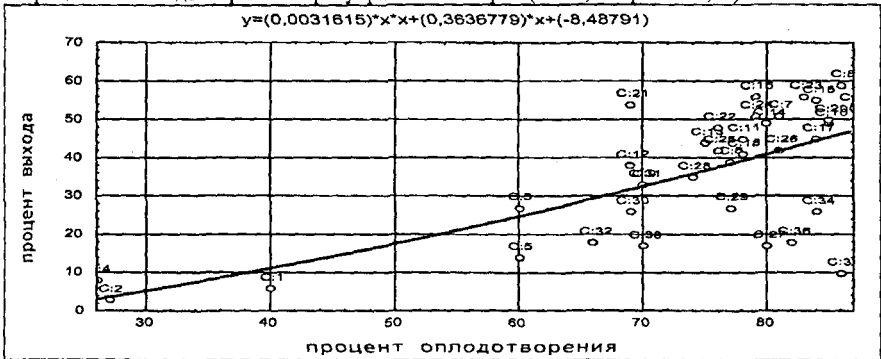


Рис. 3. Взаимосвязь между процентом выхода и оплодотворяемостью икры украинского карпа ($R = 0,66$ при $P < 0,01$)

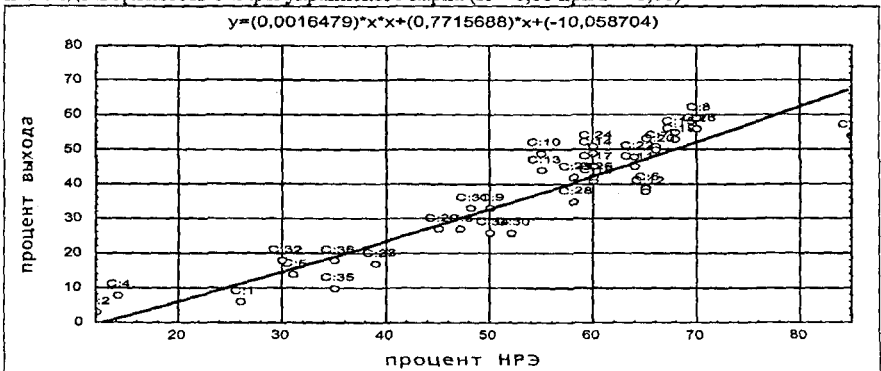


Рис. 4. Взаимосвязь между % выхода и % НРЭ у украинского карпа ($R = 0,94$ при $P < 0,01$)

4.3. Биохимический состав разнокачественной икры. С качеством икры, полученной после гипофизарных инъекций, связаны многие биохимические показатели. Так, у всех видов, выросших и обитающих в различных экологических условиях, незрелая икра (I группа) характеризуется наименьшей обводненностью, относительно низким уровнем белка и липидов, но более высоким содержанием минеральных элементов по сравнению со зрелой икрой (II и III группы). Постовулярно перезревшая икра (IV и V группы) имеет наименьший уровень общего белка и наибольшее содержание воды (рис. 5) - даже при незначительной передержке икры в полости тела самок после овуляции начинаются интенсивный протеолиз и гидратация. Количество липидов в икре может увеличиться или уменьшиться, что обусловлено общим уровнем жиронакопления и энергетическими тратами в ближайший преднерестовый период. Отмечены также существенные межсезонные отличия по содержанию общих липидов (до 30%). У всех видов в овулировавшей икре при постовулярном перезревании возрастает уровень свободных жирных кислот.

У сазана нам не удалось выявить ни одного биохимического показателя, достоверно связанного с показателями инкубации. У растительноядных рыб таким является содержание общего белка в овулировавшей икре: наибольшее его количество (свыше 20 г% в расчете на сырую массу) свойственно икре лучшего рыбководного качества, что подтверждается достоверными корреляциями с процентом оплодотворения ($r_{xy} = +0,516$ у белого амура и $+0,382$ у пестрого толстолобика), процентом НРЭ ($+0,461$ и $+0,370$ соответственно), процентом выхода предличинок ($+0,490$ и $+0,381$).

Электрофоретический анализ белков овулировавшей икры всех видов и сравнение белковых спектров с сывороткой крови человека и препаратов сывороточного альбумина и овальбумина позволил нам выделить от 3 до 5 фракций: гамма-глобулин, β -3-глобулин, β -2-глобулин, β -1-глобулин и альбумин, причем две последних фракции встречаются не у всех рыб. Электрофоретическая картина, динамика подвижности отдельных фракций и их количественные изменения не позволяют указать на конкретную связь белковых спектров с качеством икры. Достоверные корреляции выявлены между оплодотворяемостью икры сазана и пестрого толстолобика и содержанием в овулировавшей икре фракции, имеющей подвижность β -3-глобулина ($r_{xy} = +0,365$ и $+0,344$ соответственно).

Содержание общих липидов в овулировавшей икре является весьма лабильным показателем, его накопление существенно различается в разные годы (рис. 5). Фракционный состав липидов в овулировавшей икре более тесно связан с ее рыбководным качеством. Доля фосфолипидов (в % от общих липидов) у всех видов неуклонно снижается в ряду: незрелая икра, зрелая, перезревшая (рис. 6). Это может означать, что фосфолипиды, представляющие важнейшие структурные и функциональные компоненты ооцитов, в процессе вителлогенеза накапливаются в икре в первую очередь, и дальнейшее уменьшение их уровня может быть связано с оптимизацией свойств биомембран яйцеклеток или последующим распадом при деградации клеточных органелл.

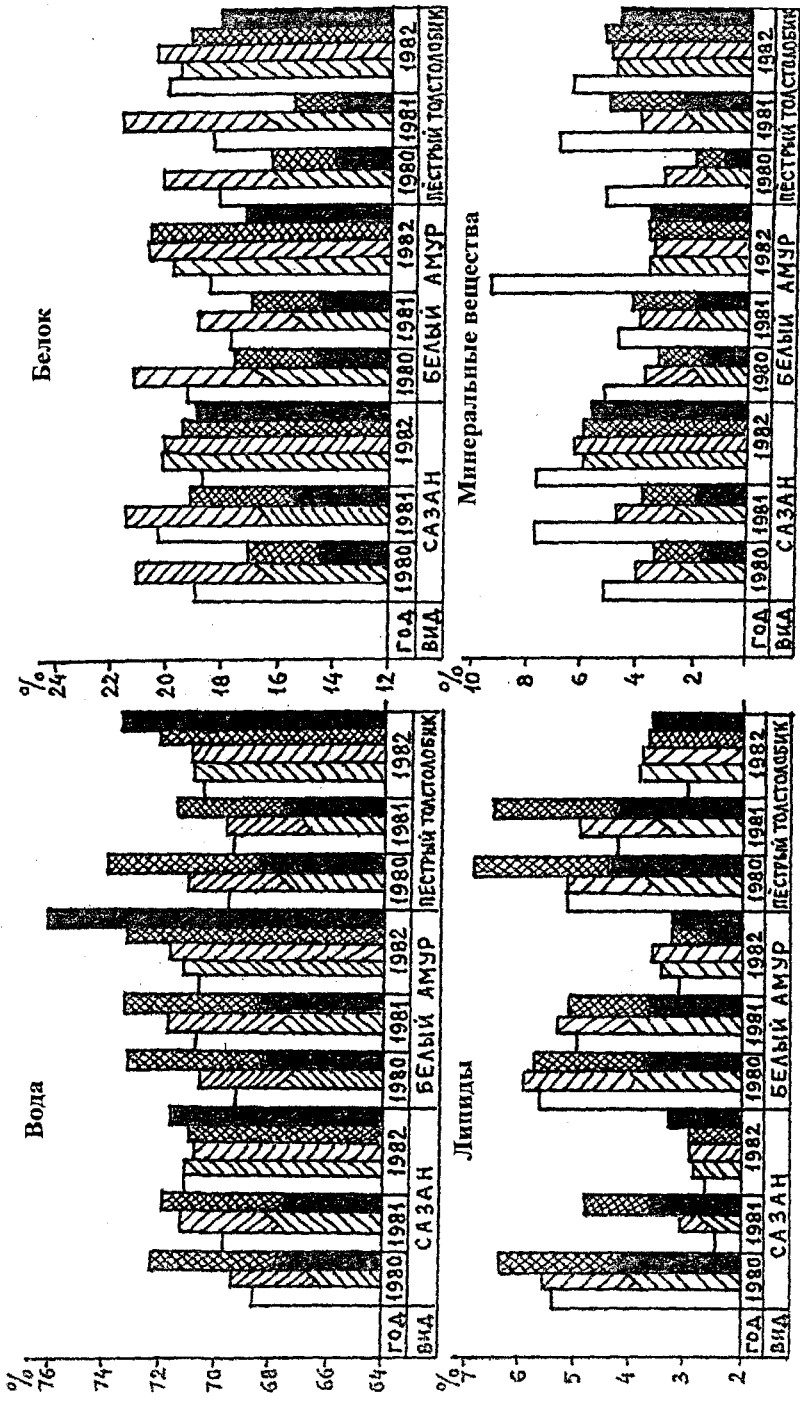


Рис. 5. Общий биохимический состав разнокачественной икры карповых рыб

Условные обозначения □ - I - ▨ - II - ▩ - III - ▪ - IV - ■ - V группы.

Содержание ацилглицеринов, наоборот, возрастает в ряду: незрелая, зрелая, перезрелая икра (рис. 6). Это может быть связано с гидролизом фосфоглицеридов и утилизацией икринками запасных энергетических веществ, а при перезревании – падением уровня энергетического обмена и снижением активности ферментов, связанных с окислительным фосфорилированием – например, триглицеридлипазы (Крю, 1979). В процессе дозревания и перезревания икры закономерно меняется величина коэффициента Дьерди (отношение общего холестерина к фосфоглицеридам): этот показатель возрастает при дозревании (переходе от незрелой к зрелой икре), что указывает на увеличение проницаемости плазматических мембран зародыша и согласуется с повышением фертильности. Однако дальнейшее повышение коэффициента Дьерди говорит о нарушениях оптимального соотношения структурных компонентов биомембран и снижении их стабильности – максимум наблюдается в постовулярно перезревшей икре, потерявшей способность к оплодотворению. Такая закономерность подтверждается отрицательными корреляциями с показателями развивающейся икры (r_{xy} достигает $-0,544$ у разных видов). Рост коэффициента Дьерди совпадает также с увеличением соотношения «Na / K» при усилении обводненности постовулярно перезревшей икры.

Выявлен ряд взаимосвязей фракционного состава липидов с показателями жизнеспособности развивающихся эмбрионов. Так, у сазана процент оплодотворения коррелирует с содержанием свободных жирных кислот (НЭЖК) в овулировавшей икре ($r_{xy} = +0,336$, $P < 0,05$ при $n = 35$); у белого амура все рыбоводные показатели инкубации связаны с количеством фосфоглицеридов - r_{xy} колеблется от $+0,226$ до $+0,542$. На жизнеспособность эмбрионов влияет и уровень свободного холестерина в икре: у сазана и белого амура его количество в икре отличного качества (III группа) наименьшее в сравнении с другими группами, а у пестрого толстолобика, наоборот, наибольшее. В ходе эмбриогенеза пестрого толстолобика проявляется положительная связь свободного холестерина с процентом НРЭ: ($r_{xy} = +0,345$) и процентом выхода предличинок ($r_{xy} = +0,378$). У сазана при повышении уровня этого липидного компонента те же показатели снижаются (r_{xy} колеблется от $-0,353$ до $-0,425$).

Как мы видим, многие зависимости между показателями эмбрионального развития и компонентами биохимического состава овулировавшей икры связаны прежде всего с количественными изменениями и соотношением составляющих биологических мембран (белка, фосфоглицеридов, холестерина, жирных кислот), определяющих их структуру и проницаемость.

Характерным признаком постовулярного перезревания икры является снижение количества β -липопротеидов, что особенно заметно для икры, потерявшей способность к оплодотворению (рис. 6, группа V - при $P < 0,05$ у сазана и $P < 0,01$ у белого амура в сравнении с икрой отличного качества). Кроме того, для белого амура выявлены положительные корреляции между уровнем β -липопротеидов в овулировавшей икре и основными рыбоводными показателями инкубации (r_{xy} меняется от $+0,331$ до $+0,450$).

С качеством икры связано содержание некоторых макро- и микроэлементов. У растительоядных рыб концентрация меди максимальна в зрелой икре

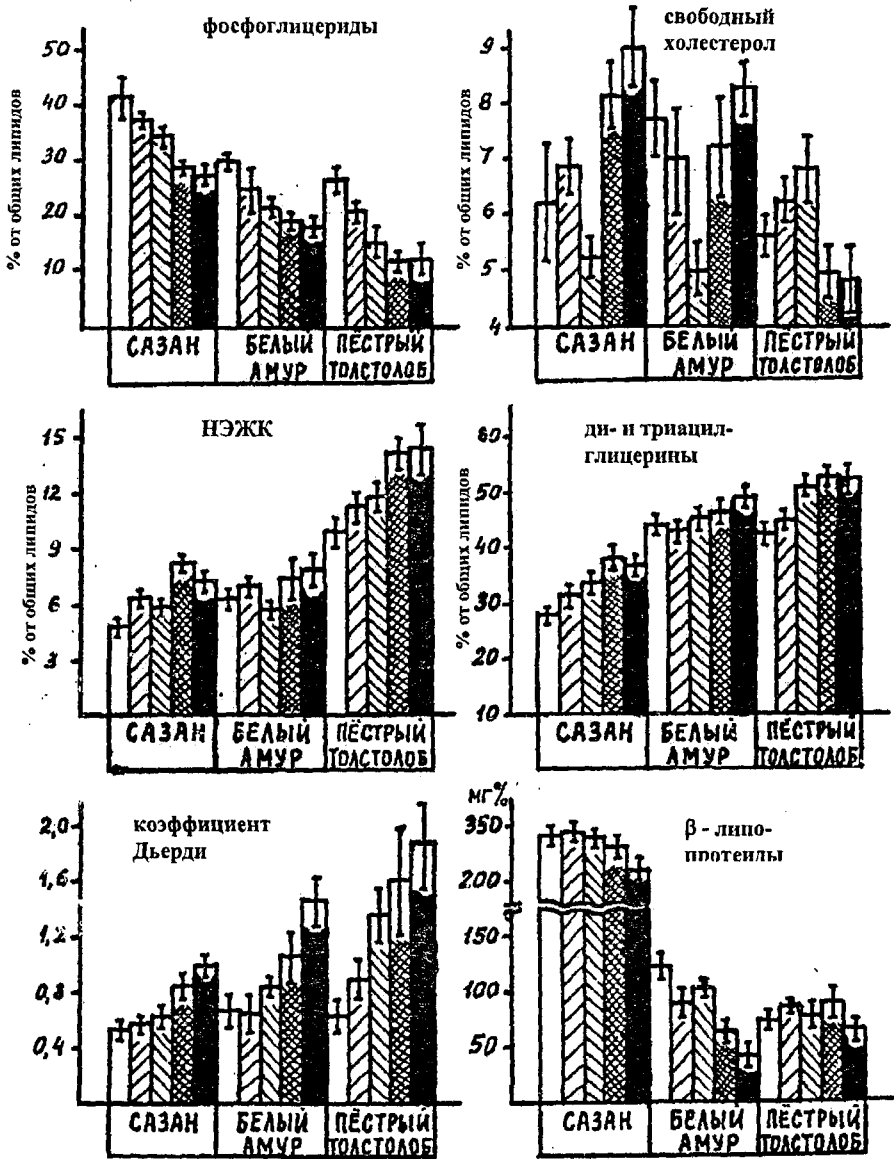


Рис. 6. Динамика некоторых биохимических показателей при созревании и перезревании икры карповых рыб

Условные обозначения: \square - I ▨ - II ▩ - III ▧ - IV \blacksquare - V группы.

хорошего и отличного качества, но только у пестрого толстолобика эта тенденция подтверждена достоверными корреляциями с процентом НРЭ ($r_{xy} = +0,382$) и процентом выхода предличинок ($r_{xy} = +0,379$). Соотношение «Na/K» увеличивается, что связано с повышением обводненности овулировавшей икры, причем рост этого показателя имеет достоверные отрицательные корреляции с показателями жизнеспособности развивающихся эмбрионов (r_{xy} колеблется от $-0,329$ до $-0,452$). Для всех видов можно отметить наличие положительных корреляций между содержанием калия и цинка, калия и кобальта и др., что указывает на синергизм накопления ряда элементов в овулировавшей икре.

4.4. Взаимосвязи биохимического состава овулировавшей икры с показателями самок и рабочей плодовитостью. На примере сазана и белого амура показано, что индивидуальная рабочая плодовитость (ИРП) при экзогенном стимулировании созревания увеличивается с возрастом самок и имеет положительные связи с диаметром набухшей икры. Уменьшение количества белка и жира при росте ИРП у сазана свидетельствует об истощении рыб; у белого амура такие тенденции диаметрально противоположны. Негативная зависимость между содержанием минеральных веществ в икре и ИРП самок может свидетельствовать об их общем дефиците в преовуляционный период.

4.5. Биохимические изменения при резорбции и преовулярном перезревании икры отчетливо заметны по сравнению не только с высококачественной икрой, но даже и по сравнению с постовулярно перезревшей. В наибольшей степени возрастает обводненность икринок у всех видов: $76,62 \pm 1,11\%$ у сазана, $79,44 \pm 1,78\%$ у белого амура, $78,87 \pm 1,19\%$ у пестрого толстолобика. Количество белка и липидов значительно уменьшено, что может свидетельствовать об интенсивном лизосомальном гидролизе. Возрастает электрофоретическая подвижность всех белковых фракций, что позволяет предположить изменения конформационного состояния белков и их физико-химических свойств при резорбции. В резорбирующейся икре меняется и соотношение липидных компонентов. По сравнению с постовулярно перезревшей икрой в ней еще меньше фосфолипидов, свыше 50% от общих липидов составляют лабильные энергетические соединения (моно-, ди- и триацилглицерины) и эфиры холестерина. Содержание всех липидных фракций в расчете на сырую массу падает (Залепухин, 1985).

За счет уменьшения количества белков и липидов в сухом веществе возрастает доля минеральных веществ. У всех видов резко увеличивается соотношение натрия и калия, что связано с интенсивным обводнением резорбирующихся яйцеклеток и усилением ионного обмена между ними и полостной жидкостью. Изменения в содержании других элементов не имеют ярко выраженных тенденций: содержание цинка и никеля меняется мало; концентрация меди у сазана сохраняется на одном уровне с постовулярно перезревшей икрой, а у растительноядных рыб даже повышается.

Биохимические особенности процессов перезревания и резорбции икры карповых рыб в условиях искусственного воспроизводства в целом сходны с таковыми, наблюдавшимися в естественных условиях (Жукинский и др., 1979, 1981). Однако при экзогенной стимуляции созревания у растительноядных рыб

биохимические изменения, связанные с потерей способности икры к оплодотворению, проявляются гораздо быстрее – в течение 40-60 минут. Интенсивно идет резорбция желтка и жира: уже через двое суток после овуляции их концентрация в икре падает примерно вдвое, почти полностью теряется пигментация икры – это гораздо быстрее, чем у различных представителей семейств осетровых, карповых и окуневых рыб (Фалеева, 1979, Жукинский, 1981, Кошелев, 1984, и др.). Ускоренная деструкция яйцеклеток карповых рыб может быть следствием не только введения экзогенных гормонов, но и воздействия температурного фактора: в наших условиях в период выдерживания самок температура воды была на 4-15⁰ С выше, чем в опытах других исследователей.

Биохимический состав преовулярно перезревшей икры несколько отличается от такового при постовулярном перезревании. Это обусловлено тем, что процесс преовулярного перезревания происходит не в полости тела самки после овуляции, а внутри фолликулов, при длительном воздействии нерестовых температур – следовательно, деструкции подвержены ооциты с незавершенным трофоплазматическим ростом. Вымет такой икры происходит на фоне гиперфункции эндокринных желез, и для него достаточна небольшая доза внешних гормонов (предварительная инъекция). Преовулярно (интрафолликулярно) перезревшая икра пестрого толстолобика характеризуется полной потерей фертильности, морфологическими признаками дегенерации, значительно пониженным содержанием белка и липидов. В то же время повышенное содержание минеральных элементов и незначительная (по сравнению с постовулярно перезревшей икрой) обводненность сближают ее с незрелой икрой. Судя по изменениям качественного и количественного состава белков и липидов можно полагать, что такая икра по биохимическим показателям занимает промежуточное положение между постовулярно перезревшей и резорбирующейся икрой.

Полученные нами данные подтверждают справедливость вывода об единстве биохимического механизма деструкции яйцеклеток - ферментативного лизосомального гидролиза - независимо от того, при каких условиях (вне или внутри фолликулов) происходит дегенерация (Жукинский и др., 1981). Результаты наших исследований приближают нас к пониманию «нормы» и «патологии» применительно к качеству икры карповых рыб для условий искусственного разведения.

Глава 5. «Разнокачественность и жизнестойкость личинок». При искусственном воспроизводстве в контролируемых условиях возрастает роль эндогенной разнокачественности, проявления которой (размеры, прирост, выживаемость) можно проследить главным образом до перехода личинок на смешанное и внешнее питание, поскольку в дальнейшем решающими становятся экологические факторы водной среды - прежде всего качественный и количественный состав кормовых организмов, их доступность, биохимический состав и калорийность.

Известно, что выживаемость не питающихся личинок определяется целой группой факторов эндогенной разнокачественности:

- разницей между исходным биохимическим составом овулировавшей икры и степенью расходования тех или иных компонентов в ходе эмбрионального развития;

- реализацией морфо-физиологических дефектов, унаследованных от родительских особей, особенно на «критических» стадиях развития;
- необратимыми изменениями в желудочно-кишечном тракте, обусловленными отсутствием пищи и деградацией ферментных систем.

Выяснено, что независимо от происхождения личинки сазана и карпа, выплывшие из высококачественной зрелой икры или переходящие на смешанное питание, имеют большие размеры (на 0,3 – 0,9 мм) и прирост при меньшей вариабельности длины в сравнении с теми, которые появились на свет из незрелой или перезрелой икры:

	Качество икры	Длина на этапе А, мм	L ₅₀ - часы	L ₁₀₀ , часы	L ₅₀ / L ₁₀₀
Сазан	Недозрелая	5,31 ± 0,07	96,0 ± 14,4	134,0 ± 11,4	0,72
	Зрелая	6,23 ± 0,17	188,2 ± 17,9	274,7 ± 15,3	0,69
	Перезрелая	5,78 ± 0,13	117,0 ± 17,3	195,4 ± 20,6	0,60
Карп зеркаль- ный	Недозрелая	5,45 ± 0,11	88,0 ± 5,7	130,0 ± 9,8	0,68
	Зрелая	6,12 ± 0,08	221,8 ± 13,7	313,1 ± 14,3	0,71
	Перезрелая	5,83 ± 0,13	149,3 ± 15,4	188,0 ± 18,0	0,79

Примечания: в корреляционных таблицах при $n = 30 + 42$ $P_{0,05} > 0,33$; $P_{0,01} > 0,42$.

Длина выплывающихся предличинок растет с увеличением рабочей плодовитости, массы овулировавших икринок, диаметра набухшей икры и у сазана, и у карпа; противоположная тенденция имеет место для плотности икринок и вариабельности диаметра набухших икринок. Отмечено, что длина предличинок при выплывании достоверно коррелирует с процентом оплодотворения, процентом НРЭ и процентом выхода: например, в 1982 году у сазана коэффициенты корреляции составляли соответственно +0,844, +0,662, +0,485; для белого амура +0,919, +0,800, +0,718; для пестрого толстолобика +0,861, +0,724, +0,602. Эмбрионы из незрелой икры до выплывания доживают в единичных экземплярах, что определяется асинхронностью созревания ооцитов. Следовательно, увеличение длины выплывающихся предличинок согласуется с представлениями о лучшем качестве овулировавшей икры.

Кроме того, в хронических экспериментах установлены количественные характеристики выживаемости не питавшихся личинок карповых рыб и их взаимосвязи с качеством овулировавшей икры: Достоверных корреляций между биологическими характеристиками производителей и выживаемостью голодающих личинок не выявлено, и лишь при регрессионном анализе можно выявить тенденции к повышению их жизнеспособности с возрастом самок.

И у сазана, и у карпа среди показателей, позитивно связанных с выживаемостью не питавшихся личинок, вновь отмечены индивидуальная рабочая плодовитость и диаметр набухшей икры – характеристики, связанные с ходом эмбрионального развития. Негативные нелинейные регрессии проявляются для вариабельности размеров овулировавшей и развивающейся икры и личинок. Для массы, диаметра и плотности овулировавших икринок можно выделить диапазоны значений, соответствующие наибольшей выживаемости – величинам L₅₀ и L₁₀₀.

Длина личинок на этапах А и В, их прирост за период эндогенного питания, величины L_{50} и L_{100} тесно связаны между собой: рост каждого из этих показателей приводит к увеличению остальных, о чем можно судить по высокодостоверным коэффициентам корреляции и графикам нелинейной регрессии (см. также: Залепухин, 2006). И для сазана, и для зеркального карпа это означает, что наибольшей выживаемостью обладают самые крупные личинки (свыше 6 мм), которые сохраняют высокий темп прироста и в период эндогенного питания (рис. 7 и 8) и потому имеют наибольшую длину при переходе на внешнее питание. Более высокая выживаемость не питающихся личинок может обеспечить им преимущество в неблагоприятных условиях среды – при слабой обеспеченности кормовыми ресурсами в раннем постэмбриональном развитии.

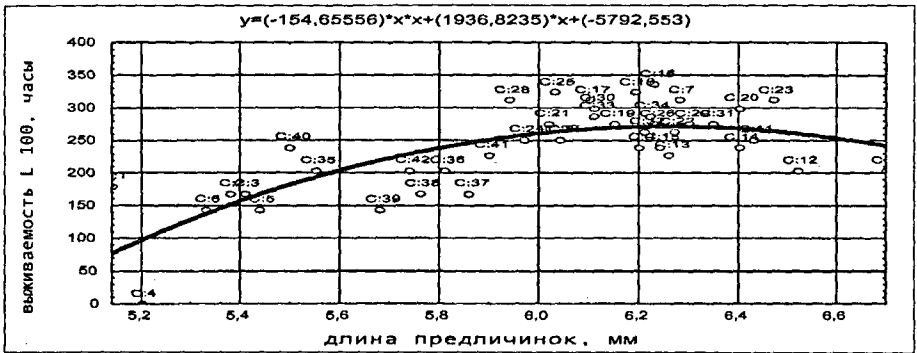


Рис. 7. Взаимосвязь выживаемости L_{100} не питающихся личинок с длиной вылупившихся предличинок у сазана ($R = 0,76$ при $P < 0,01$)

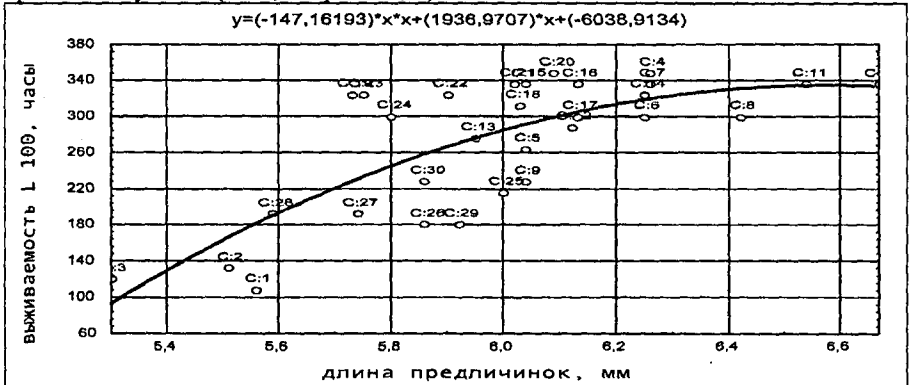


Рис. 8. Зависимость выживаемости L_{100} не питающихся личинок от длины вылупляющихся предличинок зеркального карпа ($R = 0,75$ при $P < 0,01$)

По нашим данным, выживаемость не питающихся личинок напрямую зависит от исходного содержания белка и гликогена в оволировавшей икре и у карпа (рис. 9-10), и у сазана; противоположная тенденция отмечена для минеральных веществ (рис. 11).

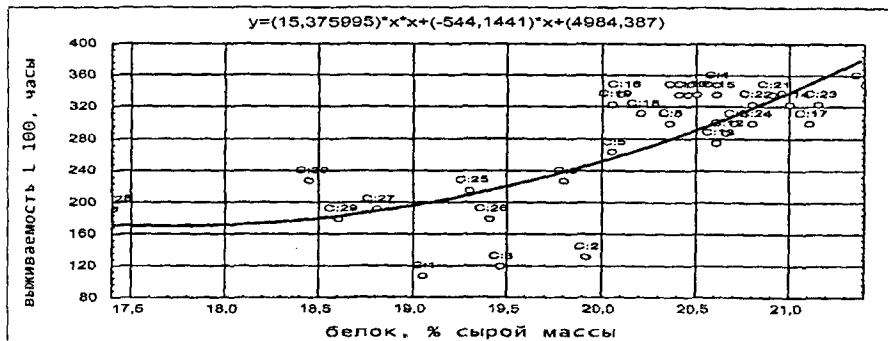


Рис. 9. Зависимость выживаемости L_{100} от содержания белка в овулировавшей икре зеркального карпа ($R = 0,77$ при $P < 0,01$)

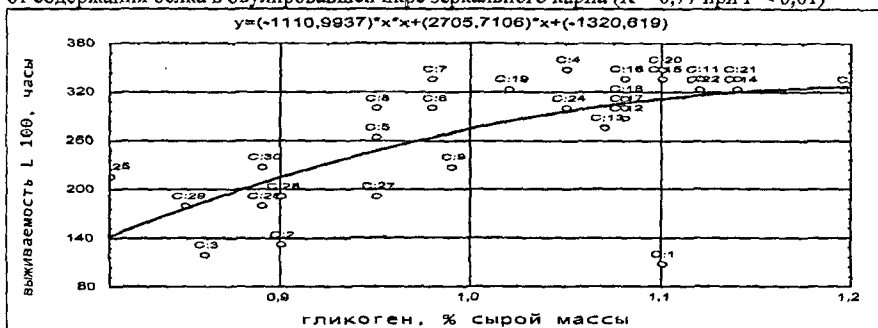


Рис. 10. Зависимость выживаемости L_{100} от содержания гликогена в овулировавшей икре зеркального карпа ($R = 0,69$ при $P < 0,01$)

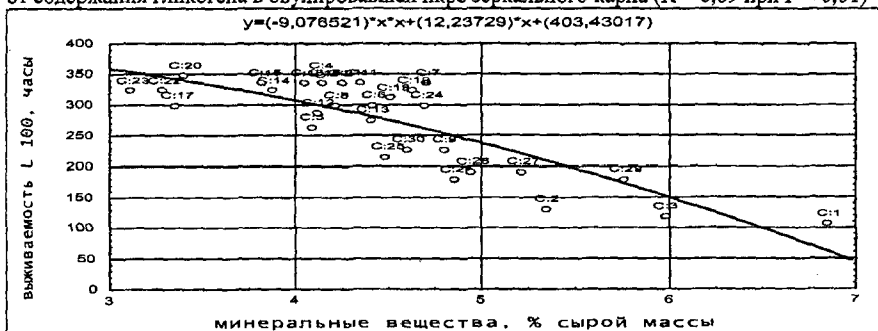


Рис. 11. Зависимость выживаемости L_{100} от содержания минеральных веществ в овулировавшей икре зеркального карпа ($R = 0,83$ при $P < 0,01$)

Такая ситуация указывает на необходимость подкормки производителей в преднерестовый период кормами с повышенным содержанием протеина и углеводов, что, несомненно, скажется на их накоплении в икре.

Чрезмерный рост уровня липидов негативно сказывается на выживаемости голодающих личинок, хотя и при разных границах этого биохимического показателя: свыше 5% (в расчете на сырую массу) у сазана и более 4,4% у зеркального

карпа. В то же время рост соотношения «белок / жир» благоприятно сказывается на величинах L_{50} и L_{100} . Для большинства липидных компонентов овулировавшей икры у сазана и карпа можно выделить диапазон значений, соответствующих наибольшей длине вылупляющихся предличинки и выживаемости не питавшихся особей. Это лишний раз подчеркивает важность оптимального соотношения всех биохимических компонентов (в том числе липидных) для эмбрионального и постэмбрионального развития. В целом же рост величины L_{100} наблюдается при увеличении доли (в % от общих липидов) свободного и связанного холестерина и триацилглицеринов и снижении доли неэстерифицированных жирных кислот в овулировавшей икре.

У сазана выживаемость не питавшихся личинок мало зависела от содержания изученных макро- и микроэлементов в овулировавшей икре. Резко негативная тенденция отмечена лишь между L_{50} и L_{100} и количеством никеля. У зеркального карпа химический состав овулировавшей икры в большей степени определяется накоплением и межорганным перераспределением жизненно важных элементов, необходимых для обеспечения ранних этапов развития. По данным регрессионного анализа, с увеличением содержания калия, меди, цинка и кобальта в икре выживаемость не питавшихся личинок зеркального карпа возрастает, а с ростом марганца и никеля — падает. Такое соотношение микроэлементов указывает на возможность стимулирования жизнестойкости не питающихся личинок путем добавления в воду инкубационных аппаратов тех или иных элементов в биотических концентрациях (Залепухин и др., 1982).

Большинство вышеприведенных тенденций оправдывается и при изучении размеров вылупляющихся предличинки растительноядных рыб, но у пестрого толстолобика многие из них выражены слабее, чем у белого амура. Их длина растет с увеличением рабочей плодовитости, массы овулировавших икринок, диаметра набухшей икры, белка и гликогена; уменьшается при высокой вариабильности диаметра овулировавших и развивающихся икринок. Однако у белого амура этот показатель растет с увеличением абсолютного содержания (в мкг на 1 икринку) фосфо-глицеридов и свободного холестерина и падает при повышении коэффициента Дьерди свыше 1,5. У пестрого толстолобика размеры предличинки практически не зависят от содержания жира в овулировавшей икре, но увеличиваются в зависимости от уровня триацилглицеринов. Среди компонентов минерального состава также можно выделить элементы, позитивно (натрий, калий, цинк, медь, кобальт) или негативно (марганец и никель) влияющие на длину вылупляющихся предличинки.

Анализ графиков нелинейной регрессии позволяет нам определить границы биохимических показателей овулировавшей икры, соответствующих определенной длине вылупляющихся личинок (этап А) у сазана и зеркального карпа, белого амура и пестрого толстолобика (табл. 4). Такие данные могут быть использованы при разработке рыбоводно-биологического стандарта для молоди карповых рыб и служить дополнением к разработкам ВНИИПРХа по физиолого-биохимическим тестам для личинок карповых рыб (Методические ..., 1986)

Таблица 4

Биохимические показатели овулировавшей икры,
соответствующие длине предличинок на этапе А

Показатели	Сазан	Карп зеркальный	Белый амур	Пестрый толстолобик
Длина выплывающихся предличинок, мм	> 6,0	> 6,0	> 5,3	> 5,5
Вода *	69,6 ÷ 71,4	69,9 ÷ 70,8	70,0 ÷ 74,5	70,3 ÷ 71,3
Сухое вещество *	28,6 ÷ 30,4	29,2 ÷ 30,1	24,5 ÷ 30,0	28,7 ÷ 29,7
Белок *	> 19,5	> 20,0	> 19,5	> 17
Жир *	< 3,6	3,65 ÷ 4,20	> 3,2	любое
Белок / жир *	> 6,3	> 6,0	5 ÷ 7,5	> 3,5
Минеральные вещества *	4,2 ÷ 6,4	< 4,7	< 5	< 7
Гликоген *	> 0,84	> 0,80	1,10 ÷ 1,23	> 0,17

* - все данные приведены в расчете на сырую массу (в процентах)

Глава 6. Сравнительная характеристика производителей, выросших в различных экологических условиях. Альтернативным вариантом использования биологических ресурсов является пополнение маточных стад прудовых хозяйств и воспроизводственных комплексов половозрелыми рыбами из природных водоемов. Это необходимо, во-первых, для обогащения генетического фонда пресноводных, полупроходных и проходных рыб, в том числе содержащихся и разводимых в условиях аквакультуры, целесообразно проводить гибридизацию диких видов с одомашненными высокопродуктивными формами (Moav et al., 1978), что не является редкостью в селекционно-племенной работе с рыбами: в России для выведения новых пород карпа часто использовался амурский сазан, обладающий повышенной холодостойкостью (Кирпичников, 1987). Во-вторых, отлов «диких» рыб может определяться форс-мажорными обстоятельствами – массовой гибелью племенного поголовья; острой нехваткой площадей для содержания ремонтно-маточных стад; наложением ветеринарного карантина, исключающего использование племенных рыб.

В главе 6 приводятся результаты сравнительного анализа производителей, выросших в различных экологических условиях Нижней Волги (в прудах и в естественных водоемах) и использованных для искусственного воспроизводства в течение одного вегетационного сезона в Башмаковском инкубационном цехе. В обоих случаях производители перед нерестовой кампанией содержались в сходных условиях, получение потомства осуществлялось по общепринятым методам заводского воспроизводства (Конрадт, Сахаров, 1969; Виноградов и др., 1975).

По нашим данным, карпы местной селекции превосходят «дикого» сазана по большинству репродуктивных показателей и результатам инкубации (табл. 5), что может быть объяснено рядом факторов:

- значительной разнородностью яйцеклеток, обуславливающей более высокую вариабильность икринок у сазана и различный уровень накопления эссенциальных веществ в гонадах, который отражается в большем количестве структурных (белок) и энергетических компонентов (гликоген, триацилглицерина и эфиры холестерина) у карпов;

- потерей многих жизненно важных макро- и микроэлементов в процессе транспортировки производителей из солоноватых вод предустьевого взморья Каспия в пресную воду и их истощения в период преднерестового содержания. Вполне возможно, что утраты многих ионов и жизненно важных соединений можно было бы избежать, выдерживая производителей сазана в ближайший преднерестовый период в воде с определенным солевым составом – так это предлагалось делать у осетровых рыб (Гарлов и др., 1979).

Обе породные группы карпа превосходят сазана и по жизнестойкости не питающихся личинок (табл. 5). Однако использование «диких» производителей дает существенное преимущество – возможность начинать инкубацию раньше, при 16-18⁰ С (у карпов – только с 18⁰ С), что дает выигрыш в 3-6 дней при зарыблении выростных прудов и соответственно прибавку в рыбопродуктивности.

Анализ разнокачественной икры сазана и двух групп карпов продемонстрировал наличие всех тех же тенденций, что и в предыдущие годы. Критериями высокого качества икры по-прежнему можно считать большую массу овулировавших икринок, диаметр набухшей икры, меньшую вариабильность диаметра овулировавших икринок. У обеих групп породных групп карпа овулировавшая икра содержит больше белка и гликогена, что создает лучшие условия для развития эмбрионов. Близкие результаты получены при изучении фракционного состава липидов и элементарного состава.

Необходимо отметить сходство биохимических механизмов созревания и перезревания икры и у сазана, и у карпов местной селекции с различным типом чешуйчатого покрова. Разнообразие условий обитания рыб в принципиально различных экологических условиях природных водоемов и прудовых хозяйств, судя по всему, не коснулось динамики формирования разнокачественных половых продуктов. Одновременное использование для искусственного воспроизводства «диких» и «культурных» производителей можно рассматривать при анализе разных ступеней доместикации и селекционной работы.

В условиях различных водоемов Нижневолжского региона, куда с 1960-х гг. осуществлялся выпуск разновозрастной молоди растительоядных рыб от заводского разведения, они нашли для себя хорошие экологические условия для роста и развития, но не для естественного нереста. У пестрого толстолобика, перешедшего на вынужденное питание детритом и фитопланктоном, наблюдались нарушения оогенеза и массовая резорбция желтковых ооцитов на IV стадии зрелости гонад (Белоцерковский, 1984), что не позволяло получать от таких производителей нормальную икру после экзогенного стимулирования созревания.

Почти двухлетнее содержание «речных» самок пестрого толстолобика в прудах Башмаковского цеха привело к восстановлению нормального хода созревания ооцитов и дало возможность использования таких рыб для искусственного воспроизводства. Оказалось, что «речные» рыбы значительно превосходят «прудовых» по темпу роста и репродуктивным признакам (табл. 5). Их преимущества выразились в ранних сроках готовности к нерестовой кампании – на 20 дней раньше (в первой декаде июня) и в значительно большей рабочей плодовитости

Таблица 5

Сравнительная характеристика производителей, выросших в различных экологических условиях и использованных для искусственного воспроизводства в VI зоне рыбоводства

Показатели	Cyprinus carpio L.			Aristichthys nobilis Rich.	
	сазан	каrp чешуйчатый	каrp зеркальный	«прудовые»	«речные»
Возраст самок в нерестовой кампании	4+ - 13+	6+ - 9+	5+ - 10+	6+ - 12+	7+ - 13+
Упитанность самок по Фультону	1,66 ± 0,29	1,61 ± 0,32	1,55 ± 0,26	1,39 ± 0,11	1,68 ± 0,16
Средняя рабочая плодовитость, тыс. штук	447,8	476,3	460,8	406,2	738,6
Относительная рабочая плодовитость, тыс. шт. / кг	73,80	88,05	81,61	40,3	59,0
Масса овулировавших икринок, мг	1,52 ± 0,04	1,53 ± 0,07	1,54 ± 0,06	1,54 ± 0,03	1,57 ± 0,03
Диаметр овулировавших икринок, мм	1,60 ± 0,04	1,71 ± 0,10	1,74 ± 0,11	1,74 ± 0,13	1,76 ± 0,10
Вариабильность C_v диаметра овулировавших икринок	6,08	5,35	5,27	6,42	6,40
Плотность овулировавших икринок	0,71 ± 0,05	0,61 ± 0,11	0,55 ± 0,09	0,57 ± 0,14	0,57 ± 0,10
Диаметр набухших икринок, мм	1,83 ± 0,07	1,95 ± 0,09	1,95 ± 0,08	4,55 ± 0,53	4,80 ± 0,41
Вариабильность C_v диаметра набухших икринок	6,88	3,93	3,76	7,98	5,63
Средний процент оплодотворения	60,8	68,6	76,5	73,8	75,0
Средний процент нормально развивающихся эмбрионов	56,0	60,5	71,2	58,5	60,1
Средний процент выхода	32,1	44,1	54,8	33,6	43,4
Длина предличинки при вылуплении, мм	5,24 ± 0,16	5,14 ± 0,23	5,45 ± 0,83	6,31 ± 0,28	6,36 ± 0,35
Вариабильность C_v длины вылупившихся предличинки	4,19	2,69	3,13	5,99	5,37
Длина личинок, переходящих на смешанное питание, мм	6,07 ± 0,50	6,17 ± 0,69	6,59 ± 0,25	нет данных	нет данных
Прирост личинок за период эндогенного питания, мм	0,83 ± 0,07	1,03 ± 0,14	1,15 ± 0,15	нет данных	нет данных
Выживаемость не питавшихся личинок (часы): L_{50}	147,8	161,7	185,1	110,8	100,0
L_{100}	220,0	228,6	258,8	174,3	175,3
Биохимический состав овулировавшей икры (в % сырой массы)					
Вода	70,38 ± 0,87	70,11 ± 0,52	70,27 ± 0,47	70,56 ± 1,06	70,52 ± 0,70
Сухое вещество	29,62 ± 0,87	29,89 ± 0,52	29,83 ± 0,47	29,44 ± 1,06	29,48 ± 0,70
Белок	19,52 ± 0,97	20,11 ± 0,59	20,09 ± 0,91	19,72 ± 1,35	20,54 ± 1,50
Жир	3,40 ± 0,95	3,89 ± 0,22	4,05 ± 0,23	4,65 ± 0,25	4,77 ± 0,47
«Белок / жир»	6,17 ± 0,76	5,19 ± 0,34	4,96 ± 0,39	4,24 ± 0,32	4,36 ± 0,58
Минеральные вещества	5,67 ± 0,94	4,89 ± 0,82	4,47 ± 0,79	5,04 ± 1,61	4,16 ± 1,30
Гликоген	0,87 ± 0,09	1,01 ± 0,11	1,02 ± 0,10	0,22 ± 0,03	0,23 ± 0,03
n	42	19	30	30	32

самок. Общий биохимический состав овулировавшей икры, рыбоводные показатели инкубации, выживаемость не питавшихся личинок в целом оказались близкими (табл. 5). Различия между «прудовыми» и «речными» самками становятся более заметными при анализе разнокачественной икры, особенно недозрелой и перезрелой: во всех группах икры «прудовых» самок содержится меньше фосфоглицеридов и триацилглицеринов, но больше холестерина, моно- и диацилглицеринов. Каких-либо биохимических особенностей при потере оплодотворяемости у «речных» рыб не отмечено – наблюдается падение уровня белка, рост обводненности и количества минеральных элементов при сходной с «прудовыми» рыбами динамике фракционного состава липидов.

Судя по гематологическим характеристикам рыб в период созревания и овуляции (прежде всего – уровню гемоглобина и эритроцитов), можно прийти к выводу о большей интенсивности обменных процессов у «речных» самок, что, несомненно, связано с их высокой плодовитостью. По величине КСБ можно достаточно точно разделять рыб в состоянии, близком к нерестовому и далеком от него: об оптимальности свидетельствует величина КСБ $0,042 \pm 0,005$; за 5-20 дней до начала нерестовой кампании она составляет $0,06 \pm 0,008$ (различия статистически достоверны – $P < 0,05$). Те же показатели красной крови (гемоглобин и эритроциты) достаточно сильно коррелируют с величинами L_{50} и L_{100} . Наибольшая выживаемость (свыше 140 часов) не питавшихся личинок от «прудовых» самок соответствует концентрации гемоглобина от 8,5 до 10,5 г%, при более высоких или низких параметрах величина L_{100} снижается.

Ряд сильных корреляций выявлен между выживаемостью не питавшихся личинок и компонентами биохимического состава овулировавшей икры:

Биохимические показатели (в расчете на сырую массу)	«прудовые» самки		«речные» самки	
	L_{50}	L_{100}	L_{50}	L_{100}
Вода	+0,14	+0,16	-0,46	-0,47
Сухое вещество	-0,14	-0,16	+0,07	+0,06
Белок	+0,83	+0,80	+0,90	+0,87
Жир	+0,34	+0,35	-0,23	-0,25
Минеральные вещества	-0,82	-0,80	-0,70	-0,64
«Белок / жир»	+0,50	+0,48	+0,59	+0,58
Гликоген	+0,60	+0,59	+0,49	+0,45

Совокупность полученных данных указывает на возможность использования производителей сазана и пестрого толстолобика, выросших в естественных водоемах, для пополнения маточных стад и искусственного воспроизводства. Следует ожидать, что интенсивный обмен веществ, обусловленный благоприятными условиями нагула в природных условиях, положительно скажется на темпе роста и жизнестойкости рыбопосадочного материала для прудовых хозяйств и водоемов комплексного назначения.

Глава 7. Обсуждение результатов.

Научное и практическое значение полученных результатов может рассматриваться по следующим основным направлениям: а) теоретическому; б) диагностическому; в) прикладному и г) ресурсосберегающему.

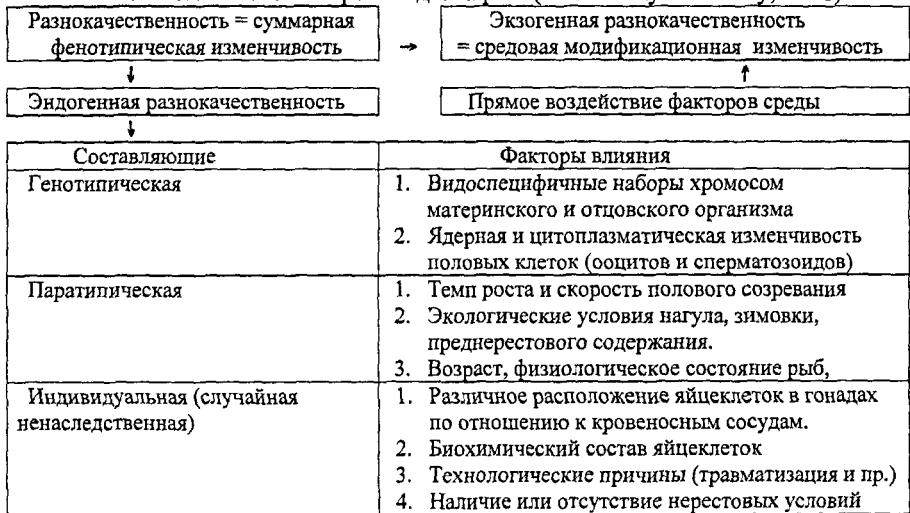
7.1. Теоретическое направление.

7.1.1. Разнокачественность как биологическое явление. Сопоставление точек зрения отечественных ученых на соотношение изменчивости и разнокачественности привело нас к выводу об отсутствии принципиальных различий между этими двумя терминами. Понятие «разнокачественность» достаточно широко употребляется в экологии и ихтиологии (см.: Казанский, 1973, Шатуновский, 1980, Жукинский, 1981, 1986, Шилов, 1985, 1999, 2000, Павлов, 2004, и др.), и поэтому вполне применимо в прикладных исследованиях. В ряде публикаций 2001–2008 гг. нами сформулированы представления о значении компонентов эндогенной разнокачественности для оценки качества производителей карповых рыб в условиях искусственного воспроизводства (см. также: Залепухин, 2006).

Обобщение современных взглядов на составные компоненты и факторы формирования разнокачественности в условиях естественного размножения рыб можно представить по данным таблицы 6.

Таблица 6

Представления о разнокачественности в условиях естественного воспроизводства рыб (по В.Н.Жукинскому, 1981)



По нашим данным, в условиях искусственного воспроизводства представления об эндогенной разнокачественности могут быть сгруппированы по времени проявления и объектам исследования.

Таблица 7

Проявления эндогенной разнокачественности
в условиях искусственного воспроизводства рыб

Время проявления	Объект исследований	Проявления разнокачественности
Преднерстовый период	Производители	<ol style="list-style-type: none"> 1. Бонитировка по классам, т.е. по степени готовности к нересту 2. Состояние гонад перед инъекцированием 3. Состояние нейро-гуморальной системы регуляции 4. Уровень накопления эссенциальных веществ в яйцеклетках 5. Гетерохронность созревания в нерестовом сезоне.
Нерестовая кампания	Производители, овулировавшая икра и сперма	<ol style="list-style-type: none"> 1. Реакция на введение экзогенных гормонов (рефрактерность) 2. Концентрация гормонов в крови 3. Лабильность физиолого-биохимических показателей крови 4. Синхронность или гетерохронность овуляции. 5. Рабочая плодовитость 6. Функциональное состояние яйцеклеток и сперматозоидов
Инкубация	Развивающаяся икра	<ol style="list-style-type: none"> 1. Оплодотворяемость 2. Соотношение нормально и уродливо развивающихся эмбрионов 3. Характеристика аномалий эмбрионального развития 4. Скорость эмбрионального развития
	Вылупляющиеся предличинки	<ol style="list-style-type: none"> 1. Характер вылупления 2. Аномалии у предличинок. 3. Размеры и масса вылупляющихся предличинок
Подращивание	Личинки	<ol style="list-style-type: none"> 1. Размеры и масса личинок при переходе на внешнее питание. 2. Жизнестойкость голодающих и питающихся личинок.

7.1.2. «Технологические» факторы в условиях искусственного разведения рыб. Ключевым фактором эндогенной разнокачественности, определяющим выживаемость эмбрионов и личинок, является качество овулировавшей икры, зависящее от асинхронности созревания и субпорционности выметывания ооцитов, а также от дружности овуляции. Совокупность собственных и литературных данных позволяет утверждать, что при искусственном воспроизводстве выделяется дополнительная группа параметров эндогенной разнокачественности, связанная с технологическими условиями выдерживания производителей, экзогенного стимулирования созревания и получения половых продуктов и активно

влияющая на морфологические и биохимические характеристики разнокачественной икры, ход эмбрионального развития, выживаемость личинок и молоди (см.: Залепухин, 2007)

Воздействие технологических факторов эндогенной разнокачественности на результативность искусственного разведения можно рассмотреть по нескольким направлениям:

а) в условиях искусственного воспроизводства производители, отбираемые для инъектирования, весьма разнообразны: они отличаются по возрасту и размерам, упитанности и генотипу и т.д.; обладают различной степенью зрелости яйцеклеток в гонадах, сугубо индивидуальным уровнем обмена веществ и состоянием нейро-гуморальной системы регуляции процессов размножения. В силу этих причин созревающие ооциты также характеризуются исходной биологической и биохимической неоднородностью. Поэтому использование в рыбоводных хозяйствах стандартных, апробированных в течение ряда лет дозировок гипофиза неизбежно приводит к получению различной по качеству овулировавшей икры. Наши данные показывают, что незрелая и зрелая икра отличаются по многим морфологическим и биохимическим параметрам, причём тенденции перехода к высококачественной зрелой икре у всех трёх видов обнаруживает значительное сходство. В то же время существенно различается характер эмбрионального развития и жизнестойкость личинок, полученных из икры разного качества.

б) при созревании икры под воздействием гипофизарных инъекций возможно продолжение накопления органических (белок, липиды) и неорганических (вода и некоторые микроэлементы) веществ в икре, о чем свидетельствуют изменения морфометрических показателей и биохимического состава незрелой и зрелой икры;

в) раннее или позднее отцеживание икры у самок по сравнению с оптимальными сроками (то есть со временем овуляции) приводит к значительному ухудшению качества икры. «Незрелая» или «перезрелая» икра по большинству признаков отличаются от высококачественной «зрелой» икры. Так, у растительноядных рыб передержка овулировавшей икры в полости тела самки (так называемое «постовулярное перезревание») за 30-90 минут может привести к полной потере оплодотворяемости. Этот процесс, по нашим данным, сопровождается серьёзными сдвигами биохимического состава: растёт обводнённость икры, падает содержание белка, сокращается доля фосфолипидов и возрастает количество свободных жирных кислот, меняется соотношение «натрий / калий» и т.д. Различия между незрелой и перезрелой икрой, обусловленные именно технологическими условиями получения половых продуктов, существенно превосходят изменения, связанные с биологическими особенностями производителей. С помощью статистических методов нами показано, что экстерьерные признаки самок и их возраст у трёх изученных видов не оказывают заметного влияния на качество и развитие икры и жизнестойкость эмбрионов. С оплодотворяемостью, процентом нормально развивающихся эмбрионов и процентом выхода предличинок достоверно коррелирует только

рабочая плодовитость самок – величина, также зависящая от технологических факторов.

7.1.3. Разнокачественность производителей и ее роль в формировании пополнения (годового класса). Для численности очередного поколения в популяциях, формируемых за счет искусственного воспроизводства, наиболее важна выживаемость не питающихся личинок, которая зависит от эндогенных компонентов (параметров производителей и получаемой икры). При выпуске в природные водоемы личинки, полученные из высококачественной зрелой икры и обладающие высокой толерантностью к голоданию, могут иметь преимущество в неблагоприятных условиях внешней среды – при слабой обеспеченности кормовыми ресурсами.

В хронических экспериментах нами установлено, что жизнеспособность не питающихся личинок зависит:

- от физиологического состояния производителей и условий преднерестового содержания;
- от исходного состояния яйцеклеток к моменту гормональной стимуляции процессов созревания половых продуктов;
- от качества получаемой икры;
- от размеров и физиолого-биохимических особенностей молоди, выпускаемой в пруды или в естественные водоемы.

7.1.4. Взаимосвязи качества икры с ее биохимическим составом можно рассматривать по следующим направлениям:

1) динамика функциональных связей между физиологическим состоянием производителей, морфологическими и биохимическими характеристиками овулировавшей икры, размерами и выживаемостью потомства;

2) раскрытие биохимических механизмов созревания, перезревания и резорбции икры карповых рыб при экзогенном стимулировании созревания половых продуктов;

3) понимание процессов накопления и трансформации структурных биохимических компонентов в овулировавшей икре (прежде всего – белков и фосфолипидов) при воздействии экзогенных гормонов.

7.1.5. Функциональные связи в раннем онтогенезе рыб. Развивая представления В.И. Владимирова (1965, 1974) об конституциональных и энергетических взаимосвязях между родителями и потомством у рыб при естественном размножении, мы приходим к выводу о том, что при искусственном разведении зависимости гораздо сложнее – речь может идти о «функциональных связях». В это понятие должно быть включено представление об интенсивности обменных процессов в организме производителей и состоянии их нейрогуморальной системы. Параметры эритрона и концентрация гормонов в крови определяют, с одной стороны, фон, на котором происходит экзогенное стимулирование созревания половых продуктов. Количественные характеристики гемоглобина и эритроцитов как отражение эндогенных обменных процессов связаны определенными зависимостями с рабочей плодовитостью самок, с биохимическим составом овулировавшей икры, с оплодотворяемостью и хо-

дом эмбрионального развития и с жизнестойкостью не питавшихся личинок. С другой стороны, созревание и овуляция у рыб считаются относительно независимыми процессами, но введенный извне комплекс гормонов, несомненно, сказывается и на интенсивности метаболизма, и на качестве половых продуктов. В раннем онтогенезе рыб возникает цепь последовательных и взаимосвязанных параметров: система эритрона → рабочая плодовитость → биохимический состав овулировавшей икры → оплодотворяемость икры → диаметр набухшей икры → длина вылупляющихся предличинок → прирост личинок за период эндогенного питания → длина личинок, переходящих на смешанное питание → выживаемость L_{50} → выживаемость L_{100} не питавшихся личинок. Следовательно, можно утверждать, что на формировании следующего поколения сказываются различные компоненты эндогенной разнокачественности производителей, икры и личинок.

Таким образом, теоретическое значение представленной работы можно рассматривать по двум основным направлениям:

- как биологической основы оценки качества производителей в условиях искусственного воспроизводства;
- как возможности прогнозирования численности годового класса и величины пополнения биологических ресурсов при выпуске молоди в естественные водоемы (с учетом промыслового возврата) на основе представлений о взаимосвязях между качеством производителей и потомства.

7.2. Диагностическое направление. В результате экспериментальных исследований выявлен ряд биометрических и физиолого-биохимических характеристик, пригодных для оценки производителей, икры и личинок, в том числе при различных нарушениях репродуктивного цикла и биотехнического процесса. При комплексной оценке производителей любого вида по проявлениям его эндогенной разнокачественности значительное увеличение изучаемых параметров дает больше шансов на выявление закономерностей и взаимосвязей между разнообразными признаками. В нашем исследовании демонстрируется принципиальная возможность интерпретации количественных показателей эндогенной разнокачественности с помощью статистического анализа и стандартного пакета программ Microsoft Excel, которые существенно ускоряют и упрощают поиск тенденций между различными характеристиками. Использование таких показателей базируется не только на визуальном или инструментальном сравнении, но и на результатах биометрического моделирования (линейной корреляции и нелинейной регрессии) между характеристиками половозрелых рыб, развивающейся икры и потомства. Примененный нами физиолого-биохимический подход в сочетании с биометрическим моделированием подходит не только для изученных видов рыб, но и для любого объекта искусственного воспроизводства.

Значительные колебания индивидуальных гематологических показателей производителей свидетельствует о сильной лабильности физиологического состояния. Характеристиками, четко связанными с рыбоводным качеством икры, следует считать показатели системы эритрона (красной крови) – концентрацию

гемоглобина и эритроцитов. Как правило, при повышении данных показателей у самок карпа и пестрого толстолобика возрастают процент оплодотворения и процент выхода, уменьшается количество уродливых эмбрионов. Параметром, отрицательно связанным с рыбоводными показателями развивающейся икры у обоих видов, является коллоидоустойчивость сывороточных белков (КСБ), а у карпа, кроме того, уровень общих липидов, α - и β -липопротеидов и кальция. У карпа и пестрого толстолобика с процентом оплодотворения икры достоверно связана концентрация свободного холестерина в сыворотке, причем у пестрого толстолобика высокодостоверные корреляции сохраняются в ходе всего эмбрионального развития.

7.3. Прикладные аспекты. По сравнению с традиционными методами оценки производителей в рыбном хозяйстве нам представляется целесообразным использование комплексного подхода, основанного на анализе компонентов эндогенной разнокачественности. Полученные результаты пригодны:

- 1) для обоснования необходимости отбора высокоплодовитых самок карповых рыб для заводского разведения;
- 2) для оценки готовности самок к нересту по показателям крови;
- 3) для анализа возможностей применения микроэлементов как биостимуляторов развития икры и для повышения жизнестойкости личинок; использования кормов с повышенным содержанием протеина и углеводов для подкормки производителей в преднерестовый период.

При выборе критериев оценки качества рыб на различных этапах жизненного цикла мы руководствовались двумя основными положениями (Залепухин, 1984, 2006):

- 1) значения любого показателя должны иметь статистически достоверные отличия от аналогов в группах с худшим качеством;
- 2) тот или иной показатель должен иметь достоверные корреляции с важнейшими рыбоводными характеристиками развивающейся икры в период инкубации (процентом оплодотворения, процентом нормально развивающихся эмбрионов, процентом выхода предличинок), определение которых является арбитражным методом контроля при оценке качества икры.

Такой подход к выбору критериев качества является более жестким по сравнению с обычно применяемым сопоставлением различных групп, подкрепленным лишь статистическим анализом.

7.4. Ресурсосберегающее направление заключается прежде всего в обосновании использования производителей из естественных водоемов для искусственного воспроизводства – пути разумного использования биологических ресурсов водоемов при возможности обогащения генофонда маточных стад. Применение методов отбора высококачественных производителей различного происхождения должна способствовать сокращению материальных и трудовых затрат на содержание и эксплуатацию маточных стад карповых рыб в условиях предприятий аквакультуры; снижению расходов воды и электроэнергии; рациональному использованию прудовых площадей.

ВЫВОДЫ

1. В условиях искусственного разведения традиционно используемые размерно-весовые и экстерьерные характеристики производителей слабо связаны с рыбоводным качеством икры и характеристиками эмбрионального развития. Влияние возраста самок на гематологические параметры, биохимический состав овулировавшей икры, биологические характеристики развивающихся эмбрионов, жизнестойкость не питающихся личинок выявляется только при построении графиков нелинейных регрессий. Большее значение имеет степень зрелости ооцитов к моменту экзогенного стимулирования созревания половых продуктов, синхронность их созревания и субпорционность выметывания.

2. В условиях искусственного воспроизводства самки сазана и карпа, белого амура и пестрого толстолобика, имеющие наибольшую плодовитость (больше 600 тыс. икринок у сазана и карпа и 800 тыс. икринок у растительноядных рыб), характеризуются лучшими показателями жизнеспособности развивающихся эмбрионов. Величина индивидуальной рабочей плодовитости обладает достоверными коррелятивными связями с рыбоводными характеристиками развивающейся икры и выживаемостью не питающихся личинок.

3. На основе данных регрессионного анализа сформировано представление о «гематологическом оптимуме» карпа и пестрого толстолобика – совокупности параметров, соответствующих максимальным рыбоводным показателям инкубации (оплодотворяемости, процента нормально развивающихся эмбрионов, процента выхода и др.) Уровень гемоглобина и эритроцитов в крови самок карпа связаны положительными корреляциями с индивидуальной рабочей плодовитостью, диаметром и массой овулировавших икринок. Это означает, что лучшую по качеству икру продуцируют самые плодовитые самки с интенсивным обменом веществ. У пестрого толстолобика рабочая плодовитость самок и морфологические признаки овулировавших икринок достоверно связаны с количеством фосфоглицеридов, α -липопротеидов и кальция в сыворотке крови. При анализе взаимосвязей между качеством производителей, оцениваемым по гематологическим характеристикам, и качеством потомства, определяемым по размерам и выживаемости личинок, выявляются как позитивные зависимости (для показателей красной крови), так и негативные (величины КСБ и кальция).

4. Постовулярное перезревание икры и резорбция яйцеклеток за 8-48 часов значительно ухудшают физиологическое состояние самок белого амура, о чем можно судить по снижению уровня гемоглобина (в 2,4 раза), эритроцитов и лейкоцитов (на 9 – 14%), общего белка в сыворотке (в 2 раза); повышению скорости оседания эритроцитов (на 26%) и коллоидоустойчивости сывороточных белков (в 1,7 раза).

5. У рыб, сохраняющих асинхронность созревания ооцитов (сазан), для жизнеспособности эмбрионов и личинок более важен уровень накопления всех основных биохимических компонентов, что отражается в четких зависимостях эмбрионального развития от массы овулировавших икринок. Для производителей с единовременным созреванием и овуляцией (растительноядные рыбы) более важным является содержание органических веществ в икре: прежде всего

белков (более 20 % на сырую массу), гликогена (более 1,1%) и в меньшей степени липидов. Зависимости показателей развивающейся икры от биохимического состава овулировавшей икры могут выявляться не только для оплодотворяемости, но и в ходе эмбрионального и постэмбрионального развития.

6. Самки карповых рыб после экзогенного стимулирования процессов созревания обладают видоспецифичным биохимическим составом овулировавшей икры. Ее характеристики в большей степени определяются условиями получения и в меньшей – биологическими особенностями производителей. Недозревшая икра характеризуется наименьшей обводненностью, наибольшим количеством минеральных элементов, высоким уровнем фосфоглицеридов и низкими значениями коэффициента Дьерди. Перезревшая икра имеет наибольшее количество воды и наименьшую долю фосфоглицеридов, характеризуется повышенным уровнем свободных жирных кислот и эфиров холестерина, пониженной концентрацией β -липопротеидов в сравнении с высококачественной зрелой икрой.

7. Объективным критерием качества овулировавшей икры растительноядных рыб в условиях искусственного воспроизводства является содержание общего белка: максимальные значения (более 20% в расчете на сырую массу) соответствуют лучшим результатам инкубации и выживаемости не питающихся личинок. Дополнительными тестами при оценке качества икры являются: для белого амура – количество фосфоглицеридов (20 – 25% от общих липидов) и β -липопротеидов (90 – 115 мг%), для пестрого толстолобика – гликогена (более 1%), свободного холестерина (6-9% от общих липидов) и меди (1,3 – 1,7 мг% в расчете на сырую массу).

8. Ухудшение качества и утрата способности икры к оплодотворению в результате постовулярного перезревания связана с количественными изменениями структурных биохимических компонентов: на фоне развивающегося протеолиза возникает диспропорция в содержании фосфоглицеридов и холестерина, о чем можно судить по значительному росту коэффициента Дьерди ($> 0,85$ у сазана, $>1,2$ у белого амура и $>1,6$ у пестрого толстолобика). Динамика коэффициента Дьерди и соотношения «натрий / калий» согласуется с интенсивным обводнением яйцеклеток, что также свидетельствует о снижении рыбоводного качества икры.

9. Высокое качество икры карпа и сазана, получаемой после экзогенной стимуляции созревания и овуляции, сильно влияет на размеры и выживаемость не питающихся личинок: на этапе А разница по длине составляет от 0,3 до 0,9 мм, а величины L_{50} и L_{100} больше в 1,4 – 2,5 раза в сравнении с незрелой или перезрелой икрой. Для процента выхода предличинок, их размеров, прироста и выживаемости выявлены высокодостоверные корреляции с индивидуальной рабочей плодовитостью самок, показателями инкубации и диаметром набухшей икры. У сазана и карпа жизнеспособность не питающихся личинок и прирост за период эндогенного питания связаны с размерами вылупляющихся предличинок: самые крупные из них (более 6 мм на этапе А и 7 мм на этапе В) обладают и наибольшей выживаемостью.

10. При анализе триады объектов «качество производителей → качество икры → качество личинок» проявляются функциональные связи по цепи «система эритрона самок → индивидуальная рабочая плодовитость → биохимический состав овулировавшей икры → оплодотворяемость икры → степень набухания икринок → выход предличинок → жизнестойкость не питающихся личинок», подтверждаемые высокодостоверными корреляциями и регрессиями. Снижение любого из этих показателей влечет за собой «сбой» в последующих звеньях, приводя к ухудшению результатов инкубации и дальнейшего выращивания.

11. Использование традиционных и физиолого-биохимических методов оценки показало, что производители пестрого толстолобика, отловленные в природных водоемах, имеют определенные преимущества (по готовности к нерестовой кампании – на 3 недели раньше по сравнению с прудовыми самками, плодовитости, в 2,5 – 3 раза большей по сравнению с рыбами из пользовательных маточных стад, и др.). Напротив, производители сазана уступают зеркальному и чешуйчатому карпу местной селекции по репродуктивным признакам и выживаемости личинок, однако их использование в биотехническом процессе позволяет раньше начинать инкубацию – при температурах 16 – 18⁰С. Для производителей и сазана, и пестрого толстолобика, выросших в природных водоемах, не выявлено принципиальных различий в механизмах формирования и ухудшения качества икры; они обладают сходной выживаемостью эмбрионов и не питавшихся личинок.

Рекомендации для практического применения

Оптимальным вариантом оценки качества производителей в условиях искусственного разведения следует считать сочетание традиционных методов и разностороннего анализа гематологических параметров, биометрический и биохимический подход к определению качества половых продуктов, экспериментальное установление выживаемости личинок в комплексе с математической интерпретацией зависимостей между этими показателями, включая взаимосвязи с процентом оплодотворения, процентом нормально развивающихся эмбрионов и выхода предличинок. Использование комплексного подхода позволило нам выявить целый ряд параметров, пригодных для оценки качества производителей, икры и личинок:

1. В рыбоводных хозяйствах необходимо формировать «племенное ядро» из высокоплодовитых самок, икра которых обладает лучшим рыбоводным качеством. На основе анализа взаимосвязей между параметрами крови самок и характеристиками эмбрионального развития нами выделены критерии «гематологического оптимума» двух видов карповых рыб в условиях искусственного воспроизводства, которые могут стать ориентиром при оценке качества производителей в иных экологических условиях.

2. Признаками высококачественной икры могут служить наименьшая вариабильность (менее 4 %) диаметра овулировавших и набухших икринок и наибольший диаметр набухшей икры. В раннем онтогенезе рыб увеличение вариабильности размеров овулировавших и набухших икринок (свыше 6%), вари-

бильности длины вылупляющихся эмбрионов (более 4,5%) является негативным явлением, связанным со снижением выживаемости эмбрионов и личинок. Биохимическими критериями такой икры у растительноядных рыб может быть количество общего белка (свыше 20 % в расчете на сырую массу). Кроме того, у белого амура – содержание фосфолипидов (20-25% от общих липидов) и β -липопротеидов (90-115 мг% в расчете на сырую массу); у пестрого толстолобика – уровень свободного холестерина (6-9% от общих липидов), меди (1,3 – 1,7 мг% в расчете на сырую массу) и гликогена (более 1,0% в расчете на сырую массу).

3. Для выделения и отбраковки недоброкачественной икры (недозрелой, пре- и постовулярно перезрелой) можно использовать ряд показателей: содержание воды и минеральных элементов, уровень неэстерифицированных жирных кислот, динамика коэффициента Дьерди и соотношение «натрий / калий». Для выявления икры плохого качества приемлемо использование морфологических показателей – увеличение диаметра овулировавших икринок (свыше 1,7 мм у карпа, 1,45 мм у белого амура и 1,55 мм у пестрого толстолобика) и его вариабильности, уменьшение плотности и др.

4. Данные по жизнеспособности не питавшихся личинок и их зависимости от биохимического состава овулировавшей икры могут оказаться полезными при разработке рыбоводно-биологического стандарта для молоди карповых рыб, выпускаемой в естественные водоемы или отправляемой на товарное выращивание. Среди параметров высококачественных личинок следует ориентироваться на их длину и прирост в период эндогенного питания.

5. Экспериментальные данные позволяют обосновать пути повышения жизнестойкости молоди при кормлении производителей в преднерестовый период кормами с повышенным содержанием протеина и углеводов либо при добавлении комплекса микроэлементов в биотических концентрациях в воду инкубационных аппаратов.

6. Целесообразным является отлов ремонта и половозрелых особей, выросших в природной среде, с последующим использованием для пополнения маточных стад рыбоводных хозяйств и в целях искусственного разведения. Рекомендуется создание в рыбоводных хозяйствах одной из разводимых линий из производителей сазана или пестрого толстолобика, заготавливаемых в естественных водоемах – это позволяет периодически обновлять маточные стада на предприятиях аквакультуры и обогащать генофонд разводимых видов.

По теме диссертации опубликованы следующие основные работы:

I. Монографии и разделы монографий.

1. Залепухин В.В. Теоретические аспекты биоразнообразия: учебное пособие - Волгоград: изд-во ВолГУ, 2003. – 192 с.

2. Залепухин В.В. Концепция эндогенной разнокачественности в условиях искусственного воспроизводства карповых рыб: монография – Волгоград: Волгоградское научное издательство, 2006. – 320 с.

3. Залепухин В.В. Рыбы // Волго-Ахтубинская пойма – природный дар человечеству: коллективная монография /под ред. В.В. Малыченко/ - Волгоград: ГУ «Издатель», 2006. - С. 171-185.

4. Залепухин В.В. Рыбный промысел // Энциклопедия Волгоградской области: коллективная монография /под ред. О.В. Иншакова/. - Волгоград: ГУ «Издатель», 2007. С. 297-298.

**II. Статьи в рецензируемых научных изданиях,
в которых рекомендуется публикация основных результатов
диссертаций на соискание ученой степени доктора наук**

5. Воробьев В.И. Биохимия разнокачественной икры пестрого толстолобика при заводском воспроизводстве / Воробьев В.И., Залепухин В.В. // Гидробиол. журн. - 1985. - Т. XXI. - № 1. - С. 49 – 54.

6. Залепухин В.В. Некоторые биохимические изменения при перезревании и резорбции икры пестрого толстолобика [*Aristichthys nobilis* (Rich.)] в условиях заводского воспроизводства // Вестник Московского государственного университета. Серия «Биологические науки». - 1985.- № 2. - С. 33 – 37.

7. Залепухин В.В. Размеры и выживаемость личинок как проявление эндогенной разнокачественности в раннем онтогенезе рыб (на примере сазана) // Вестн. Астрахан. гос. техн. ун-та. - Астрахань, 2005. - № 3 (26). - С. 113-121.

8. Залепухин В.В. Физиолого-биохимическая картина крови карповых рыб в процессе получения икры после экзогенного стимулирования созревания // Вестн. Астрахан. гос. техн. ун-та. - Астрахань, 2005. - № 3 (26).- С. 104-112.

9. Залепухин В.В. Репродуктивная изменчивость карповых рыб, выросших в различных экологических условиях Нижней Волги // Вестник Астрахан. гос. техн. ун-та. - Астрахань, 2006. - № 3 (32).- С. 52-59.

10. Стрельников В.В. Значение рабочей плодовитости для формирования водных биологических ресурсов за счет искусственного разведения / Стрельников В.В., Залепухин В.В. // Труды Кубанского государственного аграрного университета – Краснодар, 2007. - Вып. 2 (5) – С. 139-146.

11. Стрельников В.В. Взаимосвязи рабочей плодовитости с физиолого-биохимическими параметрами крови карповых рыб при искусственном разведении / Стрельников В.В., Залепухин В.В. // Труды Кубанского государственного аграрного университета – Краснодар, 2007. - Вып. 2 (5) – С. 83-90

12. Стрельников В.В. Взаимосвязи рабочей плодовитости карповых рыб с биохимическим составом овулировавшей икры / Стрельников В.В., Залепухин В.В. // Труды Кубанского государственного аграрного университета – Краснодар, 2007. - Вып. 3 (7) – С. 82-88

13. Федорова Н.Н. Некоторые диагностические аспекты концепции эндогенной разнокачественности / Н.Н. Федорова, В.В. Залепухин // Вестн. Астрахан. гос. техн. ун-та. - Астрахань, 2007. - № 3 (38).- С. 51-56

III. Статьи в аналитических сборниках и материалах конференций

14. Залепухин В.В. Влияние комплекса микроэлементов на рыбоводные и липидные показатели разнокачественной икры пестрого толстолобика / Залепухин

В.В., Андрианов В.А., Зайнутдинова Р.А. // V Всесоюз. конф. по эколог. физиологии и биохимии рыб: тез. докл. - Севастополь, 1982. - Ч. 1. - С. 49 – 50.

15. Залепухин В.В. Биохимическая характеристика овулировавшей икры карповых рыб в процессах заводского воспроизводства // Экологическая физиология и биохимия рыб: тез. докл. VI Всесоюз. конф. - Вильнюс: Мокслас, 1985. - С. 77 – 78.

16. Воробьев В.И. Динамика натрия и калия в разнокачественной икре карповых рыб / Воробьев В.И., Залепухин В.В. // Экологическая физиология и биохимия рыб: тез. докл. VI Всесоюз. конф. - Вильнюс: Мокслас, 1985. - С. 294 – 295.

17. Залепухин В.В. О некоторых факторах, определяющих качество икры растительноядных рыб, полученных после гипофизарных инъекций // Биол. основы рыб. хоз-ва водоемов Средней Азии и Казахстана: тез. докл. XIX конф. - Ашхабад, 1986. - С. 217 – 219.

18. Залепухин В.В. Физиолого-биохимическая характеристика крови самок белого амура с икрой различного качества // Первый Симпозиум по эколог. биохимии рыб. - Ярославль, 1987. - С. 71 – 73.

19. Брумштейн Ю.М. Статистическая оценка влияния возраста самок растительноядных рыб на показатели овулировавшей и развивающейся икры / Брумштейн Ю.М., Залепухин В.В. // Рыбохоз. освоение растительноядн. рыб: тез. докл. XI Всесоюз. совещ. - М., 1988. - С. 136 – 137.

20. Залепухин В.В. О биохимическом механизме перезревания и резорбции икры карповых рыб после гипофизарных инъекций // Репродуктив. физиология рыб: тез. докл. Всесоюз. совещ. - Минск, 1991. - С. 32.

21. Залепухин В.В. Некоторые данные о биологической роли никеля в раннем онтогенезе рыб // Эколого-экономические проблемы Нижней Волги: материалы Круглого стола. - Волгоград: изд-во Волгоград. гос. ун-та, 2001. - С.19–25.

22. Залепухин В.В. О соотношении терминов «биоразнообразие» и «разнокачественность» в экологии // Поволж. экол. вестн. - Волгоград, 2001. - Вып. 8. С. 100-106.

23. Залепухин В.В. Концепция эндогенной разнокачественности в условиях искусственного воспроизводства рыб // Стрежень: Научный ежегодник. - Волгоград, 2001. - Вып. 2. - С. 429-432.

24. Залепухин В.В. Опыт использования и оценки производителей пёстро-го толстолобика из естественных водоёмов для искусственного воспроизводства // Проблемы развития рыбного хозяйства в аридных регионах: материалы научно-практической конференции - М.: Современные тетради, 2001. - С. 43-46.

25. Залепухин В.В. Эколого-физиологические особенности микроэлементного состава разнокачественной икры карповых рыб // Поволж. экол. вестн. - Волгоград, 2002. – Вып. 9. - С. 23-27.

26. Залепухин В.В. Эндогенная разнокачественность рыб в условиях искусственного воспроизводства: современное состояние вопроса // Животные в антропогенном ландшафте: материалы I Международ. науч.-практ. конф. - Астрахань: изд-во Астрахан. гос. ун-та, 2003. - С. 86-88.

27. Залепухин В.В. Опыт и проблемы формирования маточных стад производителями из естественных водоемов // Управление природопользованием в регионе: материалы Круглого стола. - Волгоград: изд-во Волгоград. гос. ун-та, 2003. - С. 35-38.

28. Залепухин В.В. Селекция как элемент рационального рыбного хозяйства и ее физиолого-биохимические аспекты // Управление природопользованием в регионе: материалы Круглого стола. - Волгоград: изд-во Волгоград. гос. ун-та, 2003. - С. 97-102.

29. Залепухин В.В. Актуализация концепции эндогенной разнокачественности для рыбохозяйственной науки // Эколого-экономическая оптимизация природопользования: материалы Круглого стола. - Волгоград: изд-во Волгоград. гос. ун-та, 2004. - С. 99-104.

30. Залепухин В.В. Сравнительная характеристика «прудовых» и «речных» самок пестрого толстолобика, используемых для искусственного разведения // Эколого-экономическая оптимизация природопользования: материалы Круглого стола. - Волгоград: изд-во Волгоград. гос. ун-та, 2004. - С. 180-183.

31. Залепухин В.В. Гематологический анализ в оценке производителей карповых рыб // Стрелень: Научный ежегодник. - Волгоград, 2004. - Вып. 4. - С. 79-85.

32. Залепухин В.В. Изменения, связанные с потерей оплодотворяемости у «речных» самок пестрого толстолобика после экзогенного стимулирования созревания [Текст] // Экология и экономика: материалы Круглого стола. - Волгоград: изд-во Волгоград. гос. ун-та, 2005. - С. 83-89.

33. Залепухин В.В. Промысел и воспроизводство рыбных запасов в Нижне-волжском регионе в конце XX века: эколого-экономические аспекты // Экономика развития региона: проблемы, поиски, перспективы: ежегодник Южного Научного Центра РАН. - Волгоград, 2005. - Вып. 6. - С. 660-682.

34. Залепухин В.В. Влияние экологических условий выращивания на качество производителей карповых рыб // Поволж. экол. вестн., Волгоград, 2005. - Вып. 11. - С. 264-271.

35. Залепухин В.В., Влияние физиологического состояния производителей на качество икры и выживаемость не питающихся личинок пестрого толстолобика / В.В. Залепухин, М.П. Грушко // Естественные науки: научный журнал. - Астрахань: Издательский дом «Астраханский университет», 2005. - № 4. - С. 42-47

36. Залепухин В.В. Возможности биометрического моделирования в концепции эндогенной разнокачественности // Эколого-экономическая безопасность региона: материалы Круглого стола. - Волгоград: изд-во Волгоград. гос. ун-та, 2006. - С. 171-177.

37. Залепухин В.В. Анализ выживаемости не питающихся личинок при искусственном разведении карповых рыб // Успехи современного естествознания, 2006. - № 1. - С. 72-73.

38. Залепухин В.В. Биохимическая оценка компонентов эндогенной разнокачественности карповых рыб при искусственном разведении // Международный

симпозиум «Тепловодная аквакультура и биологическая продуктивность водоемов аридного климата». - Астрахань, 2007. – С. 463-466

39. Залепухин В.В. «Технологическая составляющая» эндогенной разнокачественности при искусственном разведении карповых рыб // Ихтиологические исследования на внутренних водоемах. Материалы Международн. науч. конф. - Саранск: Мордовский гос. ун-т, 2007. – С. 52-53

40. Залепухин В.В. Гематологическая характеристика «прудовых» и «речных» самок пестрого толстолобика, использованных для искусственного разведения // Вопросы краеведения. Материалы областных краеведческих чтений. – Волгоград: Панорама, 2007. – Вып. 10. - С. 369-374.

41. Залепухин В.В. Биохимические изменения при пост- и преовулярном перезревании икры карповых рыб // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Материалы 2-ой научной конференции с участием стран СНГ. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2007. - С. 57-58.

42. Залепухин В.В. Фракционный состав белков разнокачественной икры карповых рыб // Эколого-экономические аспекты развития региона: материалы Круглого стола. - Волгоград: изд-во Волгоград. гос. ун-та, 2007. - С. 99-109.

43. Залепухин В.В. В-липопротеиды в разнокачественной икре и крови карповых рыб // Экологические и экономические составляющие устойчивого развития региона: материалы Круглого стола. - Волгоград: изд-во Волгоград. гос. ун-та, 2008. – С. 120-126.

44. Залепухин В.В. Разнокачественность производителей карповых рыб и ее роль в формировании биологических ресурсов // Вестник Астрахан. гос. тех. ун-та, 2008, № 3 (44), С. 39-42.

45. Залепухин В.В. Опыт искусственного разведения пестрого толстолобика, выросшего в различных экологических условиях // Стрежень: научный ежегодник. - Волгоград: Издатель, 2008. Вып. 6. С. 113-124.

46. Залепухин В.В. Значение искусственного воспроизводства в сохранении биологического разнообразия и пополнении промысловых запасов рыб // Международная научно-практическая конференция «Современные проблемы биоразнообразия». - Воронеж: изд-во Воронеж. гос. ун-та, 2009 – С. 142 – 149

47. Залепухин В.В. Гликоген в овулировавшей икре карповых рыб при искусственном разведении // Актуальные проблемы экологической физиологии, биохимии и генетики животных. Материалы II Международной научной конференции. – Саранск: Мордовия-ЭКСПО, 2009. С. 53-55.

48. Федорова Н.Н., Залепухин В.В. Использование теории функциональных систем в рыбохозяйственных исследованиях // Вестник Астрахан. гос. техн. ун-та. Серия «Рыбное хозяйство», 2009 - № 1. – С. 44-50

49. Залепухин В.В. Индивидуальная рабочая плодовитость как характеристика эндогенной разнокачественности рыб // Вестник Астрахан. гос. техн. ун-та. Серия «Рыбное хозяйство», 2009 - № 1. – С. 73-78.

Подписано в печать 19.10 2009 г. Формат 60×84/16.
Бумага офсетная. Гарнитура Таймс. Усл. печ. л. 3,02.
Тираж 120 экз. Заказ 233.

Издательство Волгоградского государственного университета.
400062 Волгоград, просп. Университетский, 100.