

770 04

- 5 июля 2000

На правах рукописи

АРШАВСКАЯ Светлана Владимировна

**РАЗВИТИЕ ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЙ
СИСТЕМЫ САМОК КАРПА ПРИ
ВЫРАЩИВАНИИ НА КОРМАХ С
ВКЛЮЧЕНИЕМ БАКТЕРИАЛЬНОЙ
БИОМАССЫ**

03.00.10 - Ихтиология

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

**Санкт-Петербург
2000**

Работа выполнена в Государственном научно-исследовательском институте озерного и речного рыбного хозяйства

Научный руководитель: доктор биологических наук,
профессор И.Н.Остроумова

Официальные оппоненты: доктор биологических наук
Г.В.Федорова

кандидат биологических наук
В.М.Голод

Ведущая организация: Центр международного сотрудничества
по проблемам окружающей среды
Российской Академии наук,
лаборатория ихтиологии

Защита диссертации состоится 6 июня 2000 г. в 13 часов на заседании специализированного совета К 117.03.01 при Государственном научно-исследовательском институте озерного и речного рыбного хозяйства
адресу: 199053, Санкт-Петербург, В-53, наб. Макарова, 26

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГосНИОРХ.

Автореферат разослан « 4 » июня 2000 г.

Ученый секретарь специализированного совета
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник

М.А.Дементьева

17729.11-455,0

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Бурное развитие мировой аквакультуры пришло к значительному росту потребления кормов для рыб и других гидробионтов, что, в свою очередь, резко увеличило спрос на белковые компоненты кормов – рыбную муку и сою. Мировое производство рыбной муки зависит от общего вылова рыбы в Мировом океане, который в настоящее время приближается к максимально возможному. Дальнейшее увеличение использования рыбной муки на цели аквакультуры возможно только за счет перераспределения ее потребления между другими отраслями сельского хозяйства, однако это является лишь временной мерой. Кроме того, уровень мирового производства рыбной муки и цены на нее, а вслед за ней и на другие белоксодержащие продукты очень сильно зависит от явления Эль-Ниньо, периодически возникающего теплого течения, которое оказывает существенное влияние на продуктивность водного океана вблизи побережья Чили, Эквадора и Перу. Поэтому рано или поздно мировая аквакультура, развивающаяся быстрыми темпами, кажется перед проблемой дефицита компонентов с высоким содержанием белка, необходимых для производства кормов.

Исследования, связанные с использованием альтернативных источников белка, животного, растительного или микробиального, ведутся во многих странах (Корнеева и др., 1974; Канидьев, Гамыгин, 1975; Щербина, 1979; Остроумова, Абрамова, 1981; Сергеева и др., 1991; Гамыгин, Сономарев, 1993; Скляр и др., 1993; Atack et al., 1979; Dabrowski et al., 1980; Kaushik, Liquet, 1980). В Советском Союзе, в силу ряда обстоятельств раньше других государств столкнувшимся с дефицитом рыбной муки, была осуществлена обширная государственная программа разработки, испытаний и производства высокобелковых продуктов микробиального синтеза, главным образом биомассы дрожжей, выращиваемых на различных субстратах, а также некоторых видов бактерий (Береговых, 1989; Волва и др., 1989). Среди последних очень перспективным продуктом оказался гаприн – биомасса метаноксиляющих бактерий, культивируемых на природном газе. Этот продукт характеризуется высоким уровнем сырого протеина (до 66%), а также похожим на рыбную муку соотношении

ем аминокислот, что позволяет использовать его как источник протеинов в кормах для рыб. С использованием гаприна в лаборатории физиологов и кормления рыб ГосНИОРХ были созданы и испытаны эффективные стартовые и продукционные корма для карпа, которые успешно прошли производственную проверку в соответствии с комплексной программой государственных испытаний гаприна (Остроумова и др., 1989, 1991).

Интерес к бактериальным продуктам как заменителям рыбной муки в кормах для рыб, в том числе для форели и лосося, повысился в последние годы и в зарубежных странах (Steffens et al., 1992; Berge et al., 1994; Perera et al., 1995). В Норвегии в ближайшее время планируется ввести эксплуатацию завод по производству бактериальной биомассы.

Поскольку гаприн является бактериальной биомассой, по ряду показателей его состав сильно отличается от традиционных белковых компонентов. Это касается прежде всего высокого содержания в нем нуклеиновых кислот, а также отсутствия в его составе полиненасыщенных жирных кислот и присутствия жирных кислот, не свойственных организму зоокариот. Эти особенности гаприна не оказали существенного влияния при выращивании молоди и товарной рыбы, которое длится недолго в сравнении с выращиванием производителей. В индустриальных условиях все вещества, необходимые для нормального развития половых клеток, рыбы получают из искусственных кормов, и качество половых продуктов в значительной степени зависит от состава корма (Ширяев, 1991; Маслова и др., 1982, 1983, 1985; Рубцов, Петрушин, 1984; Watanabe et al., 1984; Carnevali et al., 1994, 1998; Carrillo et al., 1995). Поскольку получение жизнестойкого посадочного материала напрямую зависит от качества половых продуктов производителей, исследование влияния кормов с бактериальной биомассой на развитие репродуктивной системы является актуальной проблемой современного рыбоводства.

Цель и задачи исследования. Основной целью работы являлась оценка влияния включения в корма бактериальной биомассы (гаприна) на развитие воспроизводительной системы карпа при выращивании в течение всего репродуктивного цикла – от перехода личинок на активное питание до созревания самок. Основными задачами, стоявшими в связи с этой целью, были:

- оценка хода раннего гаметогенеза, связанного с формированием яловых валиков, а также сроков основных этапов раннего гаметогенеза личинок и молоди карпа при выращивании на кормах с гаприном;
- изучение динамики основных показателей развития репродуктивной системы самок карпа, получавших корма с гаприном, в период про- и трофоплазматического роста ооцитов;
- оценка некоторых морфо-физиологических показателей самок карпа, получавших корма с гаприном, и их взаимосвязи с показателями развития репродуктивной системы;
- оценка роста самок карпа при длительном, в течение всего жизненного цикла, содержании на кормах с гаприном и оценка взаимосвязи морфологических показателей с репродуктивными характеристиками самок;
- оценка репродуктивных показателей самок карпа, получавших корма с гаприном;
- оценка гормонального статуса самок карпа, получавших корма с гаприном, на завершающих этапах гаметогенеза и его взаимосвязи с репродуктивными показателями самок.

Научная новизна. Впервые исследовано развитие репродуктивной системы самок карпа при выращивании на кормах с гаприном в течение всего репродуктивного цикла, от самых ранних этапов формирования оплодотворительной системы до завершения созревания, в условиях индустриального тепловодного хозяйства. Оценены репродуктивные показатели созревших самок карпа, получавших в течение всей жизни корма с включением бактериальной биомассы (гаприна), причем на протяжении начительного периода времени, сопоставимого с половым циклом карпа, без рыбной муки. Исследован рост самок карпа при длительном, в течение всего жизненного цикла, выращивании на кормах с гаприном. Оценен гормональный статус самок карпа, содержавшихся в течение всей жизни на кормах с включением бактериальной биомассы (гаприна).

Практическая ценность. На основании проведенного исследования развития репродуктивной системы самок карпа при выращивании на кормах с бактериальной биомассой (гаприном) установлена и доказана возможность использования подобных рационов для выращивания не толь-

ко товарного карпа, но и особой ремонтной группы и производителей. Проведенное исследование показало, что самки карпа созревают, полая в течение всей жизни корма с гапгрином, причем значительное время без рыбной муки, при этом не наблюдается нарушений в состоянии репродуктивной системы. Это дает основание рассматривать корма с бактериальной биомассой как полноценные для выращивания карпа всех возрастных групп.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены I-м Конгрессе ихтиологов России (Астрахань, 1997), Международной конференции Аквакультура-98 (Лас-Вегас, США, 1998), 8-м Международном симпозиуме по репродуктивной физиологии рыб (Упсалла, Швеция, 1999), а также на научных семинарах лаборатории физиологии и кормления рыб ГосНИОРХ (1988, 1989, 1990).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 8 работ.

Структура диссертации. Диссертация состоит из введения, 6 глав, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 160 страницах, содержит 38 таблиц и 32 рисунка. Список литературы включает 180 отечественных и 77 иностранных источников.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе приведены литературные данные о развитии воспроизводительной системы у самок костистых рыб с начальных этапов формирования репродуктивной системы до созревания. Отмечено, что на ход гаметогенеза могут оказывать влияние различные факторы, в том числе состав и качество кормов. Имеющиеся в литературе сведения показывают, что при выращивании в условиях рыбоводных хозяйств для нормального протекания гаметогенеза и созревания большое значение имеет химический состав кормов, на которых содержатся рыбы. Данных о влиянии кормов на весь ход гаметогенеза, с начальных этапов развития репродуктивной системы до созревания, в литературе практически нет. В основном имеются сведения о влиянии различных кормов, используемых на завершающих этапах созревания рыб, на репродуктивные показатели самок. Сведения о влиянии кормов с включением бактериальной биомассы на развитие репродуктивной системы у рыб и их созревание отсутствуют.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследование развития репродуктивной системы самок карпа при содержании на кормах с гаприном было проведено на тепловодном Черепетском полносистемном рыбоводном хозяйстве (Тульская обл.) в 1988 - 1991 гг. Объектом исследования служил карп местной линии черепетской породной группы.

Одним из основных источников белка в опытных кормах был гаприн – биомасса метанооксиляющих бактерий *Methylococcus capsulatus*, выращиваемых на природном газе. Принципиальным отличием гаприна от других используемых в качестве источников белка в кормах для рыб продуктов микробиосинтеза (паприн, эприн, меприн и др.) является то, что это биомасса бактерий, в то время как остальные микробные компоненты являются биомассой дрожжей. Гаприн отличается очень высоким содержанием протеина с высоким уровнем практически всех незаменимых аминокислот, что сближает его с рыбной мукой. Гаприн имеет высокий уровень содержания липидов, но его жирнокислотный состав отличается по сравнению с рыбной мукой высоким содержанием насыщенных жирных кислот и полным отсутствием полиненасыщенных жирных кислот (Остроумова и др., 1991).

Выращивание личинок и молоди проводили в лотках ейского типа объемом 0,6 м³ (4,2х0,7х0,2 м). Температура воды за весь период выращивания личинок и молоди находилась в пределах 23 – 27°C. Среднее содержание кислорода в воде составило 5,0 – 7,0 мг/л.

Выращивание рыбы весом более 300 мг проводили в делевых садках, установленных в водоеме-охладителе ГРЭС, в 2-х повторностях для каждого варианта опыта. Среднедекадная температура воды варьировала летом от 26 до 33°C, зимой – не опускалась ниже 11°C. Содержание кислорода в воде в зоне расположения садков составляло зимой 8,0 ± 10,0 мг/мл, летом – 5,0 – 6,0 мг/л и не опускалось ниже 3,0 мг/л. Размер ячеек садков и плотность осадки изменяли в зависимости от размеров рыб. В возрасте 1+ была проведена бонитировка рыб, во время которой они были рассортированы по признаку пола, при этом в отдельные садки объединили самок и самцов из обеих повторностей каждого опыта. Все рыбы были серийно помечены проионовыми красителями (Катасонов, Черфас, 1986). Во время весенней бонитировки следующего года провели окончательную сортировку рыб по полу.

Кормление карпа разного возраста проводили в соответствии с существующей биотехникой, разработанной в лаборатории физиологии кормления рыб ГосНИОРХ (Остроумова, Турецкий, 1981; Остроумова, 1983). С момента перехода на активное питание личинок опытной группы кормили стартовым кормом Эквизо Г с гаприном, рыбы в контроле получали стандартный стартовый корм Эквизо (табл. 1). В опытной гру-

Таблица

Рецепты стартовых кормов, использованных в опытах
(Остроумова и др., а.с. 961176, 1979; а.с. 1575333, 1988).

Название корма	Стандартные корма (контроль)		Корма с гаприном (опыт)	
	Эквизо 1	Эквизо 2	Эквизо Г 1	Эквизо Г
Предназначен для рыбы весом	от	60 мг	от	60 мг
	перехода на активное питание		перехода на активное питание	
	до	1 г	до	1 г
Состав, %				
Дрожжи на n-парафинах (паприн)	35	55	-	-
Ферментоллизат паприна	35	15	35	15
Гаприн	-	-	35	55
Рыбная мука	18	18	18	18
Пшеничная мука	10	10	10	10
Метионин	1	1	1	1
Премикс П5-1	1	1	1	1

пе рыбы получали корма с гаприном рецептов 11-87, 13-87 и 15-87, а контроле - соответственно стандартные корма рецептов 12-80, 16-80 16-82, которые на протяжении значительного периода времени успешно применяются в тепловодном рыбоводстве. Рецепты кормов, использованных в опытах, и весовая характеристика рыб, для которых использовали корма разных рецептов приведены в таблице 2. Корректировку норм кормлен-

Таблица 2

Рецепты кормов, использованных в опытах (Остроумова и др., 1991).

Название корма	Стандартные корма (контроль)			Корма с гаприном (опыт)			
	12-80	16-80	16-82	11-87	13-87	15-87	
от	1 г	40 г	150 г	1 г	50 г	200 г	
Предназначен для рыбы весом	до 40 г	150 г	Товар- ного веса	50 г	200 г	Товар- ного веса	
Состав, %							
Рыбная мука	20	10	5	15	3	-	
Мясо-костная мука	11	-	6	5	5	10	
Дрожжи на н-парафинах (паприн)	20	14	10	-	-	-	
Гаприн	-	-	-	30	20	13	
Гидролизные дрожжи	10	20	5	8	15	6	
Проты подсолнечные	10	15,5	15	7	10	10	
Проты соевые	8	15	15	7	10	10	
Пшеница дробленая	19,5	13	15	24,5	24	25	
Звез дробленый	-	-	10	-	-	-	
Ячмень дробленый	-	9	10	2,5	9	20,5	
Гравяная мука	-	-	5	-	3	5	
Мел	-	1	1	-	-	-	
Досфат неорганический	-	1	1	-	-	-	
Метионин	0,5	0,5	0,5	-	-	-	
Соль поваренная	-	-	0,5	-	-	-	
Тротосубтилин ГЗХ	-	0,05	0,05	-	-	-	
Тремикс П5-1	1	1	1	1	1	0,5	
Содержание в кормах, %							
Тротейн	43,0	37,0	31	44,1	36,7	30,0	
Кир	4,2	2,5	2,8	4,4	3,7	4,5	
ЭВ	29,1	37,4	43	31,3	43,0	46,2	
Слетчатка	3,2	5,8	7,5	3,3	6,7	6,1	
Салорийность	ккал/кг	2783	2615	2539	2898	2839	2697
	кДж/кг	11663	10957	10638	12143	11895	11300

проводили по результатам контрольных обловов, частота проведения которых зависела от размеров и возраста рыбы. Кормление рыб осуществляли вручную. Продолжительность содержания рыб в опытах на разных кормах приведена на рисунке 1.

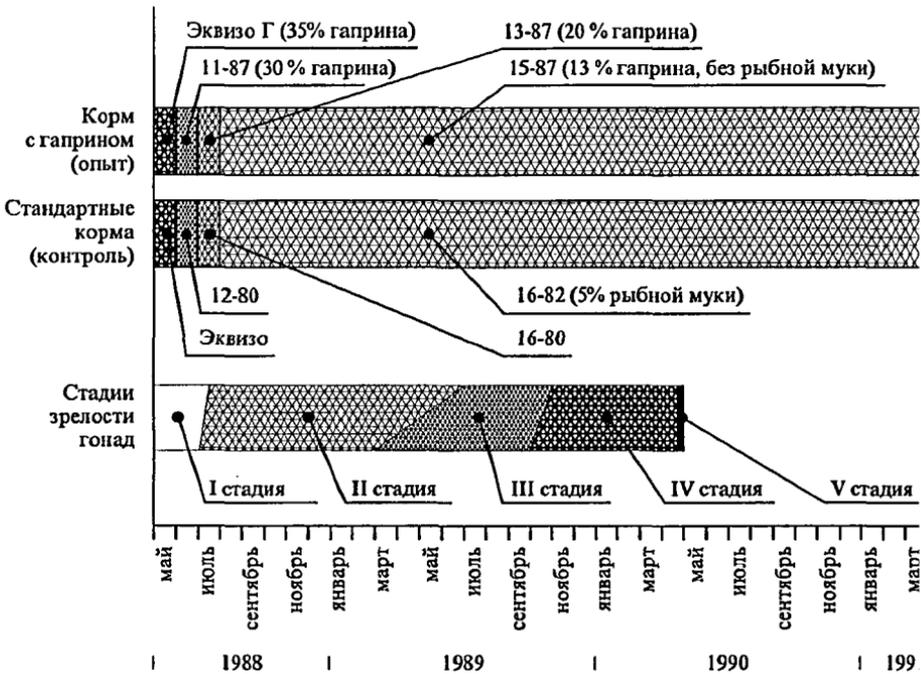


Рис. 1 Схема кормления карпа различными кормами и продолжительность периодов развития репродуктивной системы самок в опытах

Для изучения развития воспроизводительной системы проводили фиксации рыб в жидкости Буэна. Личинок и молодь фиксировали в возрасте 3, 13, 20, 40 и 60 суток с момента вылупления. У более крупных рыб от сеголеток до двухгодовиков, для оценки состояния воспроизводительной системы отбирали пробы из 10 рыб из каждого садка (две повторности). Затем рыбу взвешивали, измеряли, определяли пол и стадию зрелости гонад по универсальной шкале (Сакун, Буцкая, 1968). У самок проводили фиксации среднего участка левой гонады.

Дальнейшую обработку материала проводили по общепринятым методикам (Роскин, Левинсон, 1957). Были изготовлены серийные поперечные срезы личинок толщиной 5 мкм от начала плавательного пузыря до анального отверстия. На срезах личинок подсчитывали число первичных половых клеток по реконструкции, а также измеряли их размеры.

У рыб старших возрастных групп срезы гонад толщиной 5 – 7 мкм изучали, с учетом размеров ооцитов, через 10 – 30 срезов. В качестве основного показателя для характеристики гонад у самок использовали диаметр ооцитов старшей генерации (Кузнецов и др., 1982; Смирнов, 1983). Среднее для каждой особи вычисляли по 50 измерениям.

Весной 1990 года двухгодовалые производители были отобраны для проведения нереста заводским способом. Половые продукты были получены с использованием метода гипофизарных инъекций (Леманова, Сасун, 1975). Инкубацию икры проводили в аппаратах Вейса емкостью 8 л. Икру от каждой самки инкубировали отдельно. Личинок, полученных от самок из разных вариантов опыта, выращивали в лотках ЛПЛ до массы 100 – 500 мг. Личинок кормили стартовым кормом Эквизо в соответствии с существующими рекомендациями. Для оценки репродуктивных показателей созревших самок карпа отбирали пробы овулировавшей икры и выклюнувшихся личинок, которые затем обрабатывали в камеральных условиях. Оценку количества икры и эмбрионов, полученных от одной самки, проводили объемно-весовым методом.

На завершающих этапах гаметогенеза у самок карпа определяли содержание половых стероидных гормонов. Пробы крови отбирали с помощью шприца из хвостовой артерии сразу после отлова из садка. Сыворотку крови замораживали и хранили при температуре -18°C до момента определения концентраций половых стероидов. Определение уровней эстрадиола 17 β , прогестерона и тестостерона проводили радиоиммунологическим методом (Баранникова и др, 1989).

Статистическая обработка материала проведена по общепринятым формулам (Глотов и др., 1982) с помощью пакетов прикладных программ TATGRAF, Excel, STATISTICA для Windows. Построение дисперсионных комплексов для проведения иерархического анализа проводили по Г.Ф. Лакину (1990).

За период проведения опытов было выращено 200 тыс. мальк карпа весом 400 мг, 1000 сеголеток карпа весом 500 г, 600 годовиков весом 1500 г и 200 трехгодовиков весом 6500 г. Оценка уровня развития гонад проведена у 50 личинок и мальков карпа. Объектами исследования послужили гонады более 100 сеголеток, годовиков, двухлеток и двухгодовиков. Определение морфо-физиологических параметров (коэффициент упитанности по Фультону, индексы прогонистости, толщины тела, полостного жира, содержание общего белка в сыворотке крови) проведено у 106 рыб. Индексы телосложения (коэффициент упитанности, индексы прогонистости и толщины тела) оценены более чем у 300 рыб. Репродуктивные показатели определены у 14 самок. Оценка гормонального статуса самок выполнена по 50 пробам сыворотки крови.

ГЛАВА 3. РАЗВИТИЕ ГОНАД КАРПА В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ НА СТАРТОВЫХ КОРМАХ С ГАПРИНОМ

Условия выращивания в период раннего гаметогенеза оказывают заметное влияние на развитие репродуктивной системы. Правильное содержание и кормление молоди рыб в это время в значительной степени определяет дальнейшее развитие их воспроизводительной системы (А.шин, 1986; Ахундов, Федоров, 1989).

Проведенное исследование развития гонад у личинок и молоди карпа при выращивании на стартовых кормах, содержащих гаприн, показало, что половые клетки у контрольных и опытных рыб не отличались по своей морфологии на протяжении всего периода формирования зачатков гонад, а основные этапы развития половой системы на ранних этапах гаметогенеза проходили в одинаковое время. Не выявлено достоверных отличий в количестве половых клеток у контрольных и опытных личинок в возрасте 3, 10, 20 суток (рис. 2).

Первичные половые клетки (ППК) у исследованных нами личинок карпа как в контроле, так и в опыте по своей морфологии сходны с половыми клетками, описанными ранее для других видов костистых рыб (Натали Натали, 1947; Персов, 1966, 1975; Межнин, 1978; Селюков, 1987; Моисеев и др., 1988; Зеленков, 1990). Как видно из данных таблицы 3, размеры пол



Рис. 2 Количество первичных половых клеток (ППК) у личинок карпа разного возраста при выращивании на стартовом корме с гапριном

Таблица 3

Размеры и количество первичных половых клеток у личинок карпа при содержании на различных стартовых кормах

Показатели	Карп, наши данные		Карп, зоопланктон (Рязанцева, Сакун, 1980)
	Эквизо (контроль)	Эквизо Г (гапριν)	
Диаметр первичных половых клеток, мкм	10,4±0,12 (n=192)	10,3±1,13 (n=179)	6,3 – 25,2
Количество первичных половых клеток, шт.	38,4±1,75 (n=5)	35,8±1,12 (n=5)	20 – 40

вых клеток и их количество у исследованных личинок карпа варьировали в пределах, установленных ранее для карпа, выращенного на зоопланктоне (Рязанцева, Сакун, 1980).

Обособление половых валиков закончилось у мальков в возрасте 40 суток после вылупления, сходная картина наблюдалась и в опыте, и в

контроле. Сроки формирования зачатков гонад у исследованных личинок карпа хорошо согласуются с данными, полученными ранее для других видов карповых рыб: на 20 – 40 сутки формируются гонады у сырты (Сакун, 1959), белого толстолобика (Емельянова, 1976) и карася (Натали Натали, 1947). В возрасте 60-и суток с момента вылупления у рыб как опыте, так и в контроле произошла анатомическая дифференцировка гонад. Сроки анатомической дифференцировки гонад у мальков карпа, выращенных на искусственных кормах, вполне согласуются с данными других авторов для карпа (Макева и др., 1988; Davies, Takashima, 1980), карася (Натали, Натали, 1947), белого толстолобика (Емельянова, 1976).

Таким образом, выращивание карпа на стартовых кормах с гаприном не оказало заметного влияния на ход раннего гаметогенеза: начальные этапы развития половых желез были аналогичными у личинок и мальков карпа в опыте и контроле; морфология половых клеток и их размеры были сходными в контроле и опыте; основные этапы раннего гаметогенеза, связанные с формированием зачатков гонад, и в опыте, и в контроле соответствовали описаниям, сделанным ранее для других видов костистых рыб, в том числе и для карпа при содержании на естественных кормах (Рязанцева, Сакун, 1980).

ГЛАВА 4. РАЗВИТИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ САМОК КАРПА ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ НА КОРМАХ С ГАПРИНОМ

Состав искусственных кормов может оказывать значительное влияние на развитие репродуктивной системы у рыб (Ширяев, 1975; Пронин 1981; Маслова и др., 1982, 1983; Петрушин, 1983; Watanabe et al., 1984). В связи с этим необходимо детально проанализировать ход оогенеза при выращивании карпа на искусственных кормах с гаприном.

После завершения цитологической дифференцировки гонад изменения состояния воспроизводительной системы, определяемые возрастом рыб и сезоном года, имели сходный характер у самок, содержавшихся на кормах с гаприном, и у рыб, получавших стандартные корма.

Основные этапы оогенеза после цитологической и анатомической дифференцировки гонад у рыб опытной группы проходили в соответствии с закономерностями, установленными ранее для самок карпа, созревающих в естественных условиях (Гербильский, 1939; Кузьмин, 1957). Продолжительность отдельных стадий развития репродуктивной системы при этом была значительно короче по сравнению с таковой у рыб из естественных водоемов той же зоны, что объясняется, прежде всего, тем, что самки карпа содержались в условиях тепловодного рыбоводного хозяйства.

На протяжении всего периода исследования не выявлено достоверных отличий коэффициентов зрелости у самок контрольной и опытной групп (рис. 3). Соотношение количества рыб с ооцитами старшей генера-

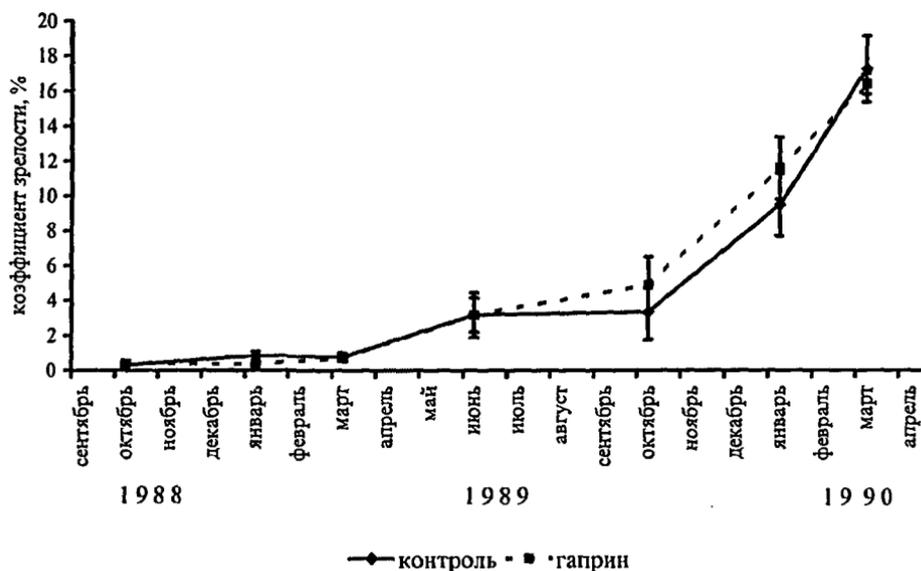


Рис. 3 Изменение коэффициента зрелости самок карпа при выращивании на кормах с гаприном и в контроле

ции разных фаз развития также было весьма сходным (рис. 4), но при этом на некоторых этапах развития репродуктивной системы были выявлены различия средних значений диаметров ооцитов старшей генерации у контрольных и опытных рыб (рис. 5). В результате проведения иерархичес-

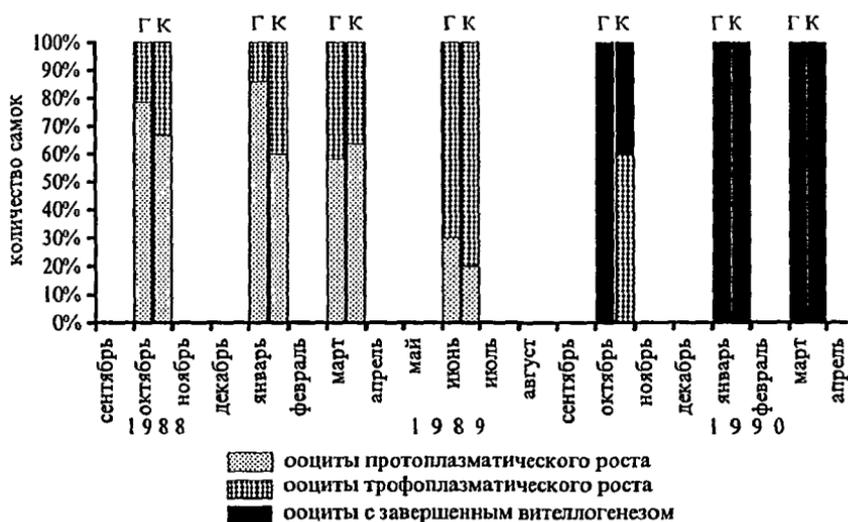


Рис. 4 Соотношение самок с ооцитами разных периодов развития при выращивании на кормах с гаперином (Г) и в контроле (К)

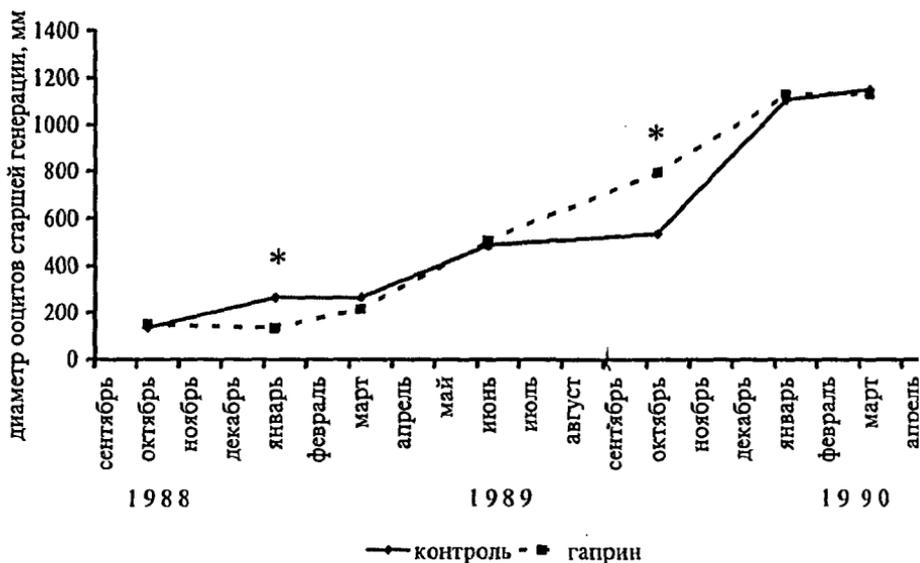


Рис. 5 Изменение диаметров ооцитов старшей генерации у самок карп при выращивании на кормах с гаперином и в контроле (* - отличия достоверны при $p < 0,05$)

кого дисперсионного анализа было установлено, что эти отличия между опытными и контрольными самками определяются индивидуальными особенностями рыб, а не составом корма.

Таким образом, на протяжении исследованного периода не выявлено каких-либо отличий в состоянии репродуктивной системы у самок, получавших корма с гаприном, и у рыб, содержавшихся на стандартных кормах. Нарушений в развитии гонад не обнаружено как в опыте, так и в контроле.

Установлена взаимосвязь ряда морфо-физиологических показателей с уровнем развития репродуктивной системы: коэффициентом зрелости и диаметром ооцитов старшей генерации. Наиболее значительно с уровнем развития гонад коррелируют размерно-весовые показатели: в обоих вариантах опыта существует сильная положительная взаимосвязь между показателями развития репродуктивной системы и такими морфологическими параметрами как вес, длина, высота, толщина тела ($r_s = 0,58 - 0,85$; $p < 0,001$). Положительная корреляция средней силы между уровнем развития гонад и содержанием общего белка в сыворотке крови установлена для самок обеих групп ($r_s = 0,25 - 0,37$, $p < 0,05$). Индекс полостного жира, который рассматривался как показатель накопления резервных питательных веществ, отрицательно взаимосвязан с уровнем развития гонад у самок, получавших корма с гаприном ($r_s = -0,29$, $p < 0,05$), в контроле такой корреляции нет.

Таким образом, развитие репродуктивной системы после цитологической дифференцировки гонад до завершения периода трофоплазматического роста ооцитов было сходным у самок карпа, получавших корма с гаприном, и у рыб контрольной группы. Нарушений в ходе гаметогенеза как в опыте, так и в контроле не обнаружено. Различия в состоянии гонад у особей опытной и контрольной групп в исследованных точках не существенны. В момент завершения опыта состояние гонад было сходным у самок контрольной и опытной групп. Более сильная взаимосвязь некоторых морфо-физиологических показателей с уровнем развития гонад у самок опытной группы (корм с гаприном) может свидетельствовать о более эффективном использовании ими питательных веществ корма на генеративный рост.

ГЛАВА 5. РОСТ И РЕПРОДУКТИВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ САМОК КАРПА ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ НА КОРМАХ С ГАПРИНОМ

Оценка изменения морфологических показателей всех самок карпа в разных группах опыта была проведена по результатам бонитировок ры в возрасте 1+, 2 года, 2+ и 3 года.

В период протоплазматического и начальных этапов трофоплазматического роста ооцитов морфологические параметры самок контрольной и опытной групп изменялись сходным образом: осенью второго года жизни отличия выявлены только по индексу толщины тела. В последующий период жизни, связанный с завершением созревания ооцитов, были выявлены отличия некоторых морфологических показателей у контрольных и опытных самок. Самки в контроле весили на 23% больше опытных рыб ($p < 0,05$); их коэффициент упитанности был на 10% выше ($p < 0,01$), а индекс прогонистости на 4% ниже по сравнению с опытными рыбами ($p < 0,05$). Эти различия можно объяснить, по-видимому, тем, что самки карпа, получавшие корм с гаперином, использовали все вещества корма на генеративный рост и, в связи с этим, их соматический рост замедлился.

После созревания самок и их первого нереста темпы увеличения веса, высоты и толщины тела у рыб, получавших корма с гаперином, были выше (среднесуточные приросты составили в опыте 0,3; 0,07 и 0,1% а контроле 0,2; 0,04 и 0,07%, соответственно). Различия морфологических показателей сгладились, и в возрасте 3 года самки в опыте и контроле не отличались по индексам телосложения.

Оценка репродуктивных показателей у самок опытной и контрольной групп показала, что некоторые различия морфологических параметров обязательно приводят к отличиям их репродуктивных характеристик. Синхронное созревание всех самок в опыте и контроле и одинаковое время созревания свидетельствуют о сходном состоянии их воспроизводительной системы перед нерестом. Опытные и контрольные особи характеризовались близкими показателями плодовитости, одинаковыми величинами веса и диаметра икринки. Не установлено достоверных отличий коэффициентов в:

риации репродуктивных показателей в опыте и контроле (табл. 4). Репродуктивные показатели самок в опыте соответствовали селекционным стандартам для самок карпа черепетской породной группы. Развитие икры во время инкубации протекало сходным образом: не выявлено отличий в продолжительности инкубации икры в контроле ($76,2 \pm 0,65$ час.) и опыте ($79,9 \pm 1,88$ час.).

Таблица 4

Репродуктивные показатели двухгодовалых самок карпа, выращенных на кормах с гаприном.

Параметры	Вариант опыта			
	Контроль (корм 16-82), n=6		Гаприн (корм 15-87), n=7	
	M±m	Cv, %	M±m	Cv, %
Время созревания после инъекции, часы	28,6±0,37	2,9	28,0±0,33	2,9
Рабочая плодовитость, тыс. шт.	510±80,6	35,4	460±40,3	21,5
Относительная рабочая плодовитость шт./г	119±27,5	51,8	144±11,5	19,6
Вес икринки, мг	1,28±0,026	49,7	1,27±0,019	39,5
Диаметр икринки, мм*	1,57±0,005	7,8	1,56±0,005	8,5

Примечание: * для измерения диаметра использовано по 100 икринок от каждой самки; для варианта контроль и гаприн n=600.

Длина свободных эмбрионов в контроле была достоверно выше по сравнению с опытом ($4,78 \pm 0,021$ мм против $4,73 \pm 0,012$ мм, $p < 0,05$), но иерархический дисперсионный анализ показал, что на длину эмбрионов значительное влияние оказывают индивидуальные особенности самок, а не состав корма.

Выживаемость икры в процессе инкубации и в контроле, и в опыте составила 50 - 60%, что близко к нормативной (65 %). Выход 3-х дневных личинок в процентах от заложенной на инкубацию икры был ниже нормативного (15 - 20% против 40 - 45%) (Зонова, Пономаренко, 1987). Это связано, возможно, с тем, что в наших опытах были использованы впервые созревающие самки, репродуктивные показатели которых обычно не соответствуют селекционным стандартам (Ширяев, Филатов, 1981).

Таким образом, при длительном выращивании самок карпа на кормах с гаприном в период завершения созревания наблюдалось некоторое отставание их роста по сравнению с рыбами, получавшими стандартные корма. При повторном созревании самок такого отставания не наблюдалось. Репродуктивные показатели самок карпа, выращенных на кормах с гаприном, не отличались от соответствующих параметров у особей контрольной группы. Сходство ряда показателей у самок обеих групп (вес и размер иринки, выживаемость икры в процессе инкубации, размер эмбрионов при выклеве) свидетельствует о сходном качестве половых клеток, полученных от самок карпа, получавших в течение всей жизни разные корма (в том числе и корм 15-87, содержащий гапсин и не содержащий рыбную муку).

ГЛАВА 6. СОДЕРЖАНИЕ ПОЛОВЫХ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ САМОК КАРПА

Содержание половых стероидных гормонов в сыворотке крови — важный показатель состояния репродуктивной системы рыб (Годовиц Бурлаков, 1988). Корма различного состава могут оказывать влияние на гормональный статус рыб (Home et al., 1991; Cerdá et al., 1994, 1995).

Динамика концентраций половых стероидных гормонов в сыворотке крови у самок карпа, получавших корма с гаприном и стандартные корма, была сходной на завершающих этапах гаметогенеза. Данные о содержании половых стероидных гормонов в сыворотке крови у исследованных нами самок карпа в этот период полового цикла соответствуют закономерностям, установленным ранее (Никитина, Годовиц, 1983; Годовиц и др., 1984; Manning, Kime, 1984; Kime, Dolben, 1985).

У самок карпа с гонадами IV стадии зрелости выявлены отличия концентраций тестостерона и прогестерона в сыворотке крови: в опытных группах уровни гормонов составили $9,9 \pm 0,90$ нг/мл и $2,6 \pm 0,37$ нг/мл, а в контроле — соответственно $15,8 \pm 1,24$ нг/мл и $3,8 \pm 0,31$ нг/мл. Различия содержания гормонов не связаны с разницей в состоянии воспроизводительной системы самок, так как отличий показателей уровня развития гонад у опытных и контрольных самок не выявлено, а объясняются, скорее всего, различиями в составе кормов. Ранее было установлено, что выращивание

самок лаврака на кормах с низким содержанием полиненасыщенных жирных кислот снижает уровни тестостерона в сыворотке крови, но репродуктивные показатели остаются высокими (Cerdá et al., 1995). Учитывая также важную роль полиненасыщенных жирных кислот в регуляции стероидогенеза (Bell et al., 1986; Mercure, Van Der Kraak, 1995), можно предположить, что некоторый дефицит полиненасыщенных жирных кислот в корме 15-87, связанный с отсутствием этих жирных кислот в гаприне, является причиной более низких уровней половых стероидных гормонов в сыворотке крови у рыб этой группы по сравнению с самками, получавшими стандартные корма. Вместе с тем, сходство показателей развития репродуктивной системы у опытных и контрольных самок, позволяет говорить о том, что уровни половых стероидных гормонов находятся в пределах физиологической нормы у рыб обеих групп.

Сходная динамика концентраций половых стероидных гормонов в момент овуляции у контрольных и опытных рыб указывает на наличие одинаковых механизмов регуляции созревания у особей вне зависимости от рациона.

Дальнейшие исследования, связанные с введением в корма с гаприном полиненасыщенных жирных кислот и оценкой репродуктивных и морфо-физиологических показателей производителей, выращенных на таких кормах, имели бы большой теоретический и практический интерес.

ВЫВОДЫ

1. Развитие воспроизводительной системы самок карпа при выращивании на кормах с включением бактериальной биомассы в течение всей жизни – от личинок до зрелых рыб – не имело отклонений от нормы.

2. Стартовый корм с гаприном не оказывает влияния на развитие гонад карпа в период раннего гаметогенеза. Сроки появления нитевидной закладки гонад, формирования половых валиков не зависели от состава стартового корма и определялись только возрастом рыб. Количество первичных половых клеток у личинок карпа, получавших разные стартовые корма, было одинаково.

3. У самок карпа при выращивании их на кормах с бактериальной биомассой наблюдается нормальное протекание вителлогенеза. Ооцит периода трофоплазматического роста имели сходную морфологию как рыб, получавших стандартные корма с рыбной мукой, так и у рыб, выращенных на кормах с гаприном.

4. Созревание самок карпа, получавших на протяжении большей части жизненного цикла корма с бактериальной биомассой (гаприном) но без рыбной муки, происходит в те же сроки, что и у рыб, получавших стандартные корма.

5. Длительное, до полового созревания, содержание самок карпа на кормах с гаприном не вызывало изменений в экстерьерных показателях рыб. Индексы телосложения самок карпа, выращенных на кормах гаприном и на стандартных кормах, были сходными. Экстерьерные показатели самок, получавших корма с гаприном, соответствовали временным селекционным стандартам для самок карпа черепетской породной группы.

6. Репродуктивные показатели самок карпа, получавших в течение всей жизни корма с включением бактериальной биомассы, соответствовали временным селекционным стандартам для самок карпа черепетской породной группы. Качество икры и личинок, полученных от этих самок было высоким.

7. Одинаковая динамика концентраций половых стероидных гормонов в сыворотке крови на завершающих этапах гаметогенеза и во время овуляции у самок карпа, получавших стандартные корма с рыбной мукой и корма с бактериальной биомассой (гаприном), свидетельствует о сходных механизмах регуляции их созревания вне зависимости от получаемых ими кормов.

8. Проведенные исследования показали возможность частично или, на более поздних этапах выращивания, полной замены рыбной муки в кормах для производителей карпа и ремонтной группы биомассой метанооксиляющих бактерий.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Остроумова И.Н., Аршавский Д.С., Афанасьева Ю.О., Мосейчук К.Б., Григорьева С.В., Смирнова Л.В. Результаты испытания гаприна в составе кормов для карпа разного возраста на теплых водах // Медико-биологическая оценка и эффективность применения в сельском хозяйстве белковых продуктов микробиологического синтеза: Тез. докл. Всесоюзной конференции. – М., 1989. – С. 36 – 38.

Остроумова И.Н., Аршавский Д.С., Шумилина А.К., Лукошкина М.В., Григорьева С.В. Пути повышения эффективности кормления карпа на теплых водах // 4-е Всесоюзное совещание по рыбохозяйственному использованию теплых вод: Тез. докл. Октябрь 1990, г. Курчатова Курской обл. - М., 1990 – С. 9 – 11.

Григорьева С.В. Развитие воспроизводительной системы у самок карпа при содержании на кормах с гаприном // Сб. науч. трудов ГосНИОРХ. – 1991. – Вып. 306. – С. 104 – 114.

Аршавская С.В., Баюнова Л.В. Влияние введения в корм витамина Е и рыбьего жира на адаптацию самок карпа к условиям выращивания // Первый конгресс ихтиологов России: Тез. докл. Астрахань, 1997. – М.: ВНИРО, 1997. – С. 326.

Arshavskaya S. Estimation of female reproductive system of common carp *Cyprinus carpio* L. reared on feeds containing microbial protein // World Aquaculture'98. The Annual International Conference and Exposition of the World Aquaculture Society. April 1998, Las-Vegas, USA. Abstracts book. – P.30

Arshavskaya S. Reproductive indices of common carp *Cyprinus carpio* L. females reared on microbial protein based diet // World Aquaculture'98. The Annual International Conference and Exposition of the World Aquaculture Society. April 1998, Las-Vegas, USA. Abstracts book. – P.31.

Arshavskiy D., Ostroumova I., Arshavskaya S. Long-term growing of common carp *Cyprinus carpio* L. on diet based on microbial protein. // World Aquaculture'98. The Annual International Conference and Exposition of the World Aquaculture Society. April 1998, Las-Vegas, USA. Abstracts book. – P.43.

Arshavskaya S., Bayunova L. Hormonal status of common carp females grown at fish meal-free diet // VIII International Symposium on Fish Physiology, 15 – 18 August 1998, Uppsala, Sweden. Abstracts book. – P. 48.

С.В.А.