

На правах рукописи

ГРИГОРЬЕВА Юлия Владимировна

**ИЗМЕНЕНИЕ МЕТАБОЛИЗМА МОЛОДИ
ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ ЛОСОСЕЙ ПРИ СМЕНЕ СРЕДЫ
ОБИТАНИЯ**

Специальность 03.00.32 – Биологические ресурсы

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Москва, 2006



Работа выполнена на кафедре органической и биологической химии биолого-химического факультета Московского педагогического государственного университета

- Научный руководитель: доктор биологических наук, **Микулин Александр Евгеньевич**, профессор кафедры биоэкологии и ихтиологии Московского государственного университета технологий и управления, г. Москва
- Научный консультант: кандидат биологических наук, **Лаптева Татьяна Ивановна**, старший научный сотрудник кафедры органической и биологической химии Московского педагогического государственного университета, г. Москва
- Официальные оппоненты: доктор биологических наук, **Козлов Владимир Иванович**, профессор кафедры биоэкологии и ихтиологии Московский государственный университет технологий и управления, г. Москва
кандидат биологических наук, **Куга Тамара Ивановна**, МГУ им. М.В.Ломоносова, биологический факультет, кафедра ихтиологии, г. Москва
- Ведущая организация: Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО)

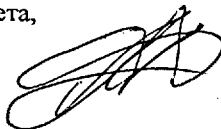
Защита состоится « 29 » сентября 2006 г., в 12⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета № 212.122.06 при Московском государственном университете технологий и управления по адресу: 117149, г. Москва, ул. Болотниковская, дом 15.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Московского государственного университета технологий и управления (МГУТиУ)

Автореферат разослан « 28 » августа 2006 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук

2



Фельдман М.Г.

Введение

Актуальность проблемы. Одной из важных проблем, определяющих эффективность рыбоводных заводов Дальнего Востока, является получение жизнеспособной молодежи, готовой к переходу в морские условия жизни. Именно во время ската может происходить значительная ее элиминация, особенно кеты и горбуши, отчего во многом зависит величина промыслового возврата. На наш взгляд, условия содержания и выращивания заводской молодежи лососевых играют не последнюю роль в становлении ее осморегуляторных способностей. Однако, несмотря на хорошую проработку многими исследователями проблем изучения механизма смолтификации у лососевых рыб, который заключается в перестройке работы хлоридных клеток, обеспечивающих удаление излишков воды при удержании солей в организме в пресноводный период жизни или удаление солей из организма в морской период их жизни, остается неясным вопрос, где происходит эта перестройка: еще в пресноводный период жизни молодежи, или после попадания в морскую воду, а также вопрос о существовании какого-то иного механизма удержания осмотичности внутренней среды при смене солености внешней в процессе этой перестройки. Решение данной проблемы позволит оптимизировать подготовку молодежи лососевых рыб на заводах к обитанию в морских условиях.

Целью данной работы является выявление биохимических изменений в процессе адаптации молодежи дальневосточных лососей к смене среды обитания. Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

1. Изучить влияние пересадки смолтов дальневосточных лососей в морскую среду на изменение их массы и содержание низкомолекулярных соединений в крови.

2. Выявить какие осмотически активные вещества организма обеспечивают большую выживаемость молоди лососей в морской воде.
3. Установить влияние кормления молоди горбуши на экологическую адаптацию ее к смене среды обитания.
4. Оценить распределение углеводов в организме в зависимости от углеводного состава пищи.
5. Исследовать влияние температурных условий кормления, а также разных кормов с повышенным содержанием углеводных компонентов на процесс смолтификации сеголеток кижуча.

Научная новизна. Впервые на большом фактическом материале показано, что дисахариды и полисахариды из корма распределяются в организме рыб по-разному.

Установлено, что в основе биохимических процессов адаптации к соленой воде в основном лежат изменения углеводного обмена, в частности переход гликогена, накопленного в печени и мышцах мальков тихоокеанских лососей в период их жизни в пресной воде, в глюкозу крови при переходе молоди в море.

У лососей с коротким пресноводным периодом жизни помимо глюкозы важную роль в становлении осморегуляции играют аминокислоты.

Практическая значимость. Результаты исследования могут быть использованы при искусственном воспроизводстве ценных промысловых рыб (кета, кижуч, горбуша) на рыбоводных заводах при подборе диет, способствующих накоплению гликогена в печени лососей, что приведет к адаптационным изменениям осмотического давления и, как следствие, к наибольшей выживаемости рыб при переходе из пресной воды в морскую. Полученные данные расширят представления о роли гликогена в качестве показателя физиологического состояния и адаптационных реакций организма рыб.

Наши исследования показали нецелесообразность кормления молоди горбуши в случае возможности выпуска ее в природные условия еще с желточным мешком.

Апробация работы. Основные положения и результаты исследований были представлены в виде докладов на научных сессиях по итогам научно-исследовательской работы МПГУ (Москва, 2002-2005), Всероссийской научно-исследовательской конференции «Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб» (Москва, 2004), международной научной конференции "Проблемы естественного и искусственного воспроизводства рыб в морских и пресноводных водоемах" (Ростов-на-Дону, 2004), международной конференции «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов» (г. Петрозаводск, 2004), на расширенном коллоквиуме кафедры биоэкологии и ихтиологии МГУТиУ (Москва, 2006)

Публикации. По теме диссертации опубликовано 5 работ.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 131 страницах машинописного текста, включая 12 таблиц, 48 рисунков. Работа состоит из введения, 5 глав с 13 разделами, заключения, выводов и списка литературы, включающего 142 отечественных и 68 иностранных автора.

1. Материалы и методы

Объектами исследования служили три вида рыб: кижуч *Oncorhynchus kisutch* – представитель тихоокеанских лососей с длительным пресноводным периодом жизни, кета *Oncorhynchus keta* и горбуша *Oncorhynchus gorbuscha* - с коротким пресноводным периодом жизни.

Сбор материала осуществлялся на двух лососевых рыбоводных заводах ООО "Салмо": Охотский и Лесное, расположенных на Юго-востоке острова Сахалин с 2002 по 2004 гг. Материал в замороженном виде доставлялся в Москву, где обрабатывался на базе биохимической

лаборатории МПГУ. Объем собранного и обработанного материала представлен в таблице 1. Общий биохимический состав определяли по методу Фолча (Folch et al., 1951) в модификации В.И.Лапина, Е.Г.Черновой (Лапин, Чернова, 1970). Определение аминного азота осуществляли с помощью реактива Несслера (Кочетов, 1980). Гликоген в печени и мышцах определяли колориметрическим методом по Хорейши, глюкозу - ортотолуидиновым методом (Шатуновский, Вельтицева, 1972) или при помощи глюкометра One Touch Basic Plus. Кровь у сеголеток брали из хвостовой артерии.

Таблица 1. Объем исследованного материала

Область исследования, объект	Число рыб, экз.
Определение содержания глюкозы крови при смене среды обитания:	
А) кижуч	400
Б) кета	230
Исследование массы тела при смене среды обитания:	
А) кижуч (Охотский ЛРЗ)	900
Б) кета (Охотский ЛРЗ)	500
В) кета с желтком (Лесное ЛРЗ)	1300
Г) горбуша с желтком (Лесное ЛРЗ)	1420
Д) горбуша без желтка (Лесное ЛРЗ)	1530
Биохимический анализ (сырой вес, сухой вес, влага, липиды, гликоген, глюкоза, аминный азот) молоди горбуши в пресной воде:	350
Биохимический анализ молоди горбуши в морской воде:	1000
Биохимический анализ сеголеток кеты	360
Биохимический состав молоди кижуча при анализе кормов	1800
Определение содержания глюкозы у молоди кижуча при анализе кормов	540

Молодь кижуча в стандартных условиях выращивали на датском корме "SGP-514 ALLER AQUA – Лосось", крупка №2. Для увеличения углеводной компоненты в него добавляли: 25% негидролизованного

крахмала, 25% гидролизованного крахмала, 25% говяжьей печени или 14,3% сахара.

Статистическую обработку материала проводили общепринятыми методами (Плохинский, 1970), а также на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel.

2. Особенности биологии и смолтификации молоди дальневосточных лососей

По данным литературы приведены сведения об особенностях биологии, изменениях в обмене веществ и особенностях осморегуляции при смолтификации молоди кижуча, кеты и горбуши.

3. Влияние пересадки в морскую воду на изменение массы рыб и содержание глюкозы в крови у смолтов дальневосточных лососей

3.1. Изменение массы и содержание глюкозы у смолтов кеты и молоди кижуча при пересадке в морскую воду

В период смолтификации – подготовки к новым по солености условиям обитания, у анадромных видов рыб происходят изменения, затрагивающие водно-солевой обмен (Черницкий, Штерман, 1981; Краюшкина и др., 1982). Установлено, что у неготовой к смолтификации молоди кижуча юга Сахалина происходит уменьшение массы тела за счет потери воды (Микулин и др., 2001).

У готовой к смолтификации молоди кеты в первые 30 минут наблюдается увеличение массы тела (рис. 1) примерно на 10% с последующим снижением ее до нормы в течение 1,5 часов. Этот факт указывает на увеличение в теле осмотически активных веществ, в ответ на попадание в среду с большей осмотичностью. Такими веществами, которые обычно у позвоночных выбрасываются в кровь в ответ на стрессовую ситуацию, являются различные ионы и молекулы низкой молекулярной массы: соли (Гинецинский, 1964; Наточин, Лаврова, 1984; Смирнов,

Кляшторин, 1990; Виноградов, 2000), глюкоза (Резников, 1985; Шаляпина и др., 1986; Балаболкин, 1989), аминокислоты (Ленинджер, 1985), продукты азотистого метаболизма (мочевина) и другие вещества (Хлебович, 1974).

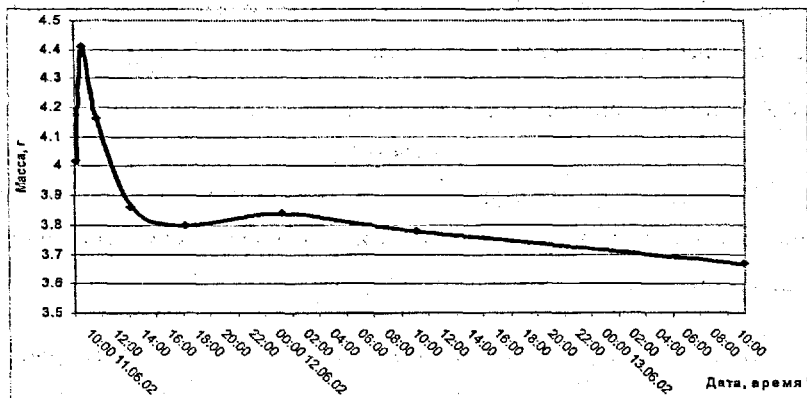


Рисунок 1. Изменение средней массы молоди кеты при пересадке ее в морскую воду (35‰).

Отсутствие такого максимума увеличения массы в первые часы попадания в морскую воду, как у мелкой, так и у крупной молоди кижуча, скорее всего, указывает на неготовность ее к смолтификации. При дальнейшем выдерживании молоди исследованных видов рыб в морской воде наблюдается постепенное снижение массы их тела. Причем чем меньше молодь кижуча, тем она интенсивнее теряет воду своего тела в морской среде. Однако при массе свыше 9-13 г молодь кижуча в морской среде способна удерживать свою массу в морской среде.

Теряет массу своего тела молодь лососевых рыб и при голодании. Причем молодь кеты при содержании в пресной воде теряет за трое суток 6,9%, сеголетки кижуча – 11,6%. Таким образом, значительная часть потерь массы тела смолтами кеты в морской среде обусловлена не только за счет осмотичности морской воды, но и по причине голодания. Собственно потери

воды телом кеты не превышает 0,6% в сутки, что, вероятно, компенсируется потреблением морской воды через пищеварительную систему при сбросе солей через почки и жабры.

Исследования содержания сахара в крови у молоди кеты и кижуча показали, что у смолтов кеты, в ответ на перемещение их из пресной воды в морскую, наблюдается небольшой выброс в кровь сахара, а через 4-5 часов более мощный, превышающий содержание его в норме более чем на 25%. У молоди кижуча (и у сеголеток, и у двухлеток) сразу после пересадки в морскую воду наблюдается не подъем сахара в крови, а его снижение. Однако, как и у смолтов кеты, отмечается подъем сахара в крови через 4 часа после пересадки рыб в морскую воду. Причем у крупного кижуча этот подъем составлял 167 %, приближаясь по своим значениям к таковому у смолтов кеты (182%), в то время как у мелких кижучей эта величина равна всего 62%.

Таким образом, у молоди кеты и крупного кижуча потери влаги телом при попадании в морскую среду уменьшаются за счет выброса глюкозы из резервных структур тела.

3.2. Особенности осморегуляции у переростков молоди кеты после длительного выдерживания их в пресной воде

Существует мнение, что при длительном подращивании кеты в пресной воде при определенных размерах она теряет способность к смолтификации (Iwata et al., 1982 a, b; Iwata, Komatsu, 1984; Краюшкина и др., 1982, 1983). Показано, что общей закономерностью являются меньшие потери массы тела в процессе голодания в морской воде по сравнению с пресной (рис.2).

При пересадке сеголеток кеты в морскую воду они сохраняют высокий уровень содержания глюкозы в их крови. При этом отмечено два

максимума увеличения содержания глюкозы в крови: через 5 часов и через 1,5 суток с момента пересадки рыб в морскую воду.

Таким образом, длительность выращивания молоди кеты в пресной воде не оказывает отрицательного влияния на процесс смолтификации.

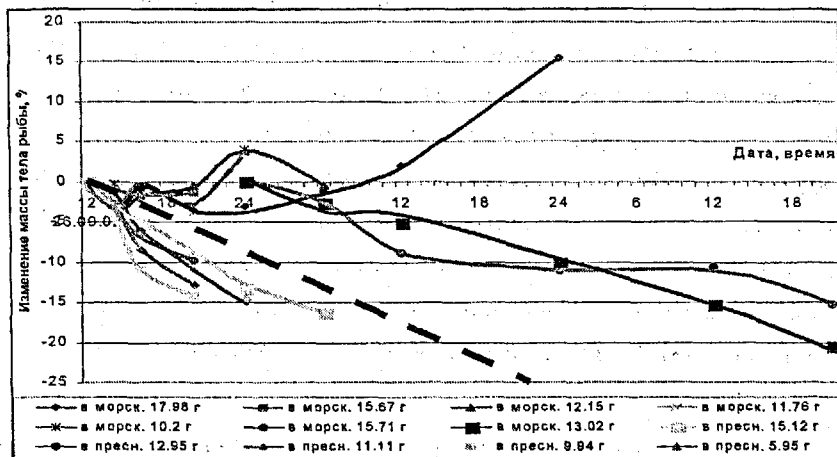


Рисунок 2. Изменение массы тела сеголеток кеты в процессе голодания в пресной и морской (35%) воде.

Примечание. Выше прерывистой линии - в морской воде; ниже - в пресной. Значками обозначены среда выдерживания и исходная масса рыбы.

3.3. Особенности осморегуляции у молоди кеты и горбуши при частично нерезорбированном желточном мешке

Показано, что молодь кеты и горбуши при наличии части желтка готовы к смене осмотичности среды. При этом горбуша без желточного мешка в соленой воде интенсивнее теряет воду своего организма, чем с желточным мешком. Наиболее интенсивно в первые сутки теряет воду кета, однако на шестые сутки ее водный обмен восстанавливается. К этому моменту у кеты с наличием желточного мешка потери воды организмом меньше (8,4%), чем у горбуши с желточным мешком, и тем более чем у

горбуши без желточного мешка (13%). При обратной пересадке молоди горбуши, и кеты из морской воды в пресную наблюдается резкое увеличение оводненности тела с последующим падением средней массы рыб из-за отсутствия кормления рыб в процессе данных экспериментов.

Как показано выше у молоди кижуча и вероятно других видов дальневосточных лососей с длительным периодом пресноводного обитания готовность к переходу в морскую среду осуществляется при определенной массе тела, когда выброс глюкозы в кровь способен компенсировать осмотичность внешней среды, удерживать в теле воду на фоне потребления морской воде через пищеварительную систему. Мы полагаем, что у молоди рыб с коротким пребыванием в пресной среде, таких как горбуша и кета, также должен существовать механизм осморегуляции, однако не на основе глюкозы крови, поскольку молодь не питается, а запасы глюкозы в желточном мешке практически отсутствуют (Мильтман, Юровитский, 1973), а, возможно, на основе иных низко молекулярных органических соединений.

4. Изменение биохимического состава накормленной и голодной молоди горбуши при смене среды обитания.

Нами установлено, что у горбуши имеется два периода смолтификации. Первый еще при наличии остатков желточного мешка, второй – спустя 145 градусоидней относительно первого при условии кормления молоди.

Показано, что сырая масса молоди горбуши в пресной воде в фазу неготовности к смолтификации увеличивается из-за оводнения расходоуемых запасных веществ в желтке. В дальнейшем по мере резорбции желточного мешка отмечается снижение средней массы рыб. При пересадке в морскую воду в период подготовки к смолтификации происходит падение сырой массы, а в период первой смолтификации личинки горбуши с остатками

желтка полностью восстанавливают сырую массу и, следовательно, оптимально готовы к смолтификации.

Кормление молоди горбуши приводит к значительному увеличению ее сырой массы, начиная с середины периода первой смолтификации, по сравнению с голодными особями. Нами показано, что до смолтификации горбуша не питается, более того теряет свою массу, поскольку личинки не столько получают пищу, сколько затрачивают энергию в пустую из-за бросков за ней. Интенсивнее начинают питаться после периода первой смолтификации, когда в естественных условиях, она должна скатиться в море. Таким образом, для нормального естественного ската кормление молоди не требуется.

Мы попытались выяснить за счет чего, изменяется сырая масса молоди горбуши: за счет влаги или органических веществ.

Показано, что сухая масса молоди горбуши как в условиях отсутствия внешних источников питания, так и при попытке их кормления, с момента вылупления личинки из оболочки и до перехода в морскую среду постоянно падает. При продолжении кормления молоди в случае задержки ее в пресной среде с середины периода первой смолтификации и до середины межсмолтификационного периода, она начинает интенсивно питаться, резко увеличивая сухую массу своего тела. Аналогичное наблюдается и в природе в экстремальных условиях невозможности ската (Антонов, Ким, 2002).

Показано, что в пресной воде у молоди горбуши в условиях их естественного голодания влага тела незначительно возрастает в период подготовки к переходу в морскую воду и первой смолтификации, что видимо, связано с резорбцией веществ желточного мешка и переходом их из водонерастворимой в водорастворимую форму.

При пересадке в морскую среду в период подготовки к смолтификации организм не способен удерживать влагу, а свыше, способен не только удерживать, но и набирать влагу из морской среды. В результате

проведенных исследований мы не обнаружили никаких различий в степени оводненности организма молоди в пресной воде и способности удержания влаги в морской среде в зависимости от того накормленные они или нет.

Исследование степени оводненности организма молоди горбуши выявило, что сырая масса рыб при пресноводном развитии меняется не за счет изменения влаги тела, а за счет органических веществ. Следовательно, представляет интерес рассмотреть, что в первую очередь расходуется из органических веществ тела.

Резкое уменьшение количества липидов происходит в период перехода личинок голодной горбуши на плав, обеспечивая энергией резкие перестройки обмена веществ. В мальковый период, после окончания резорбции желтка тенденция к уменьшению количества жира сохраняется. В процессе постэмбрионального развития в пресной воде у горбуши потери липидов составляют свыше 40%. При несвоевременном попадании в морскую воду личинки горбуши расходуют липиды. Готовые к смолтификации личинки жир не расходуют.

В процессе кормления с середины первой смолтификации и весь межсмолтификационный период количество жира увеличивается в теле молоди горбуши, что связано, видимо, с потреблением ими пищи. В морской среде накормленные личинки расходуются липиды на всех этапах постэмбрионального развития. На наш взгляд, вероятно, это связано с тем, что у голодающей горбуши процесс сжигания липидов организма в морской среде является аномальным и указывает на неготовность горбуши к смолтификации. У накормленной горбуши процесс сжигания липидов тела в морской среде, видимо, включается и жиры, полученные с пищей, что, вероятно, является следствием увеличения свободно радикального окисления липидов при изменении оптимума среды обитания (Козлов, 1969, 1977; Владимиров, Арчаков, 1972).

Динамика изменения белка у голодных и накормленных особей одинаковая. При потреблении пищи содержание белка в организме рыб возрастает. В морской воде как у накормленных, так и у голодных при наличии желтка наблюдается возрастание содержания белка в теле на сырой вес молоди. При отсутствии запасов в желточном мешке в морской среде наблюдается падение запасов белка в теле горбуши. Такой эффект можно объяснить тем, что до готовности к смолтификации организм теряет воду, возмещая ее из желтка, где из-за этого возрастает концентрация протеолитических ферментов, увеличивается продукция аминокислот, что и приводит к увеличению синтеза белка. Мы полагаем, что избыточность в организме аминокислот само по себе обеспечивает осмотичность организма и удержание воды. В межсмолтификационный период, когда желтка у горбуши, находящейся в пресной воде практически нет и аминокислот оттуда взять для осморегуляции не возможно, у рыб в морской среде происходит разрушение самих белков тела, компенсируя их недостачу для осмотичности тела аминокислотами. В связи с этим мы исследовали содержание аминокислот в теле горбуши в процессе ее постэмбрионального развития при голодании и кормлении.

У голодной горбуши при содержании ее в пресной воде в период подготовки к смолтификации, идет нарастание свободных аминокислот на 56%. К моменту резорбции желточного мешка содержание аминокислот падает (на 84%) на фоне увеличения белка. Период первой смолтификации приходится на максимум содержания аминокислот как у голодных, так и у накормленных рыб в пресной воде. Причем готовые к смолтификации рыбы сохраняют высокое содержание аминокислот при помещении их в морскую среду. Еще не готовые или уже не готовые расходуют аминокислоты, что приводит к снижению их способности к осморегуляции.

В желтке концентрация аминокислот резко возрастает (рис.3), достигая наибольших значений к моменту смолтификации. Учитывая, что к

смолтификации запасы глюкозы в желтке находятся на минимальном уровне (рис.3), составляя 0 - 0,7% от сухой массы желтка и не способны обеспечить осмотичность тканей малька при изменении солености среды, а аминокислоты на максимальном, вероятно предположить участие аминокислот, а не сахаров, как осмотически активных веществ в процессе перехода молоди из пресной воды в морскую.

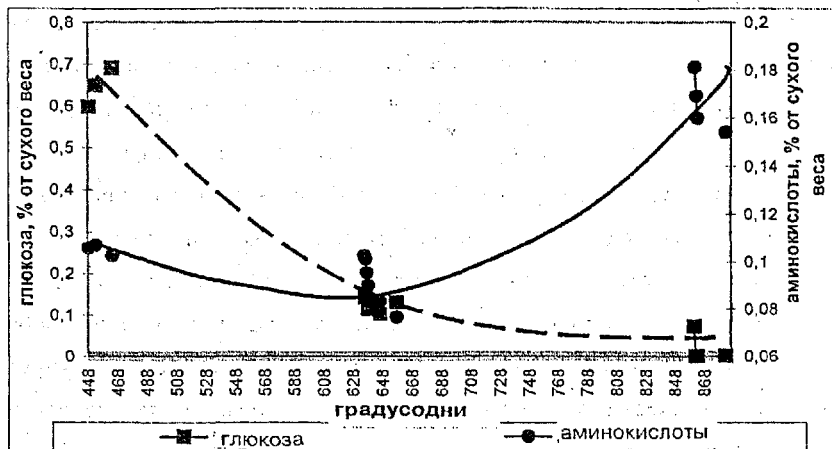


Рис.3. Содержание глюкозы и аминокислот в желточном мешке горбуши в морской воде

Нами проведены исследования углеводного обмена, в частности содержание глюкозы и гликогена, в теле рыб в их постэмбриональный период развития, а также в период подготовки к смолтификации.

По мере развития и расходования желтка молоди, находящейся в пресной воде, содержание гликогена возрастает в два раза до периода первой смолтификации и далее после резорбции желтка падает (на 73 %). Как у голодных так и у накормленных особей в момент готовности к смолтификации гликоген расходуется при помещении рыб в морскую среду на всем протяжении постэмбрионального развития. Исследования

содержания глюкозы у голодной молоди в пресной воде показало, что максимум ее приходится на период первой смолтификации, а у накормленных возрастает содержание глюкозы в теле и ко второму периоду смолтификации.

Эти данные позволяют полагать, что дальневосточные лососи в процессе освоения ими более северных нерестилищ, благодаря чему необходимоскат уже в первый год их жизни, еще в процессе резорбции желточного мешка, перешли от более древнего способа компенсации осмотичности среды в момент смолтификации за счет накопления углеводов в крови, к способу компенсации осмотичности внешней среды за счет накопления в крови аминокислот, полученных из желточного мешка. Другими словами, когда нет возможности в естественных условиях накопления углеводов в организме из пищи, как, например, у молоди горбуши, в качестве осмотически активного вещества крови используются аминокислоты желточного мешка. Однако при задержке молодь горбуши в пресной воде после резорбции желточного мешка способна перейти в морскую среду без потерь влаги тела за счет использования глюкозы крови, получаемой из пищи.

С практической точки зрения это указывает на то, что выпускать горбушу с рыбоводных заводов необходимо, еще тогда, когда у них сохраняются остатки желточного мешка, иными словами, кормление горбуши не всегда целесообразно.

5. Подбор кормов с целью ускорения смолтификации сеголеток кижуча.

5.1: Биохимический состав тканей сеголеток кеты и кижуча

Мы осуществили сравнение изменения общего биохимического состава тела сеголеток дальневосточных лососей при пересадке их из пресной воды в морскую. В экспериментах были использованы готовые к смолтификации переростки сеголеток кеты средней массой около 14 г и не

готовые к смолтификации сеголетки кижуча средней массой 5,5-6 г. С целью изучения возможности дополнительного накопления в теле кижучей углеводов, они предварительно были выращены на датском корме SGP - 514 Aller Aqua с добавлением в него 25% негидролизованного крахмала и без такового.

Нами показано, что сеголетки кеты и кижуча при выращивании их в пресной воде отличаются между собой не только по массе тела, но и по ряду биохимических показателей. Так сеголетки кижуча по сравнению с кетой имели больший процент содержания белка в теле, но меньшую оводненность тела, меньшее содержание запасных веществ, в частности свободных аминокислот и глюкозы крови (на 60% меньше), гликогена мышц.

Пересадка сеголеток кеты из пресной воды в морскую не сказалась на жизнеспособности этих рыб. Однако в их теле за 58-95 часов снизилось содержание воды на 1,5-2,5%, а запас гликогена в теле рыб – на 43-50%, при этом содержание гликогена в печени, индекс и масса печени остались без изменения. В морских условиях содержание глюкозы в печени снизилось в 2,3-13,4 раз, оставаясь неизменным в теле рыб. Какого-либо снижения липидов и белка, а также изменений в содержании свободных аминокислот в теле кеты, в процессе смены среды обитания нами не отмечено.

У неготовых к смолтификации сеголеток кижуча, предварительно накормленных в пресной воде датским кормом SGP - 514 Aller Aqua без добавления в него крахмала, за сутки пребывания в морской среде резко снизилась на 29,2% масса тела, а у погибших, исходно имевших более мелкие размеры и среднюю массу тела в пресной воде 3,33 г, - почти на 40%. Одновременно с этим упало содержание влаги в их организме. Резко (на 60-70%) снизилось содержание глюкозы в печени при незначительном повышении ее в крови.

У сеголеток кижуча, накормленных в пресной воде датским кормом SGP - 514 Aller Aqua с добавлением в него 25% крахмала, отмечено более высокое содержание глюкозы как в печени (на 65-70%), так и в тушке (на 140%), при вполонину более низком содержании свободных аминокислот относительно рыб получавших корм без крахмала. При этом наблюдается тенденция снижения гликогена, как в теле рыбы, так и в печени. Одновременно с этим у этих рыб оказалась меньше масса печени и ее индекс, чем у рыб, выращенных в пресной воде на датском корме без внесения в него крахмала. Однако такие рыбы менее интенсивно теряют воду своего организма при помещении их в морскую воду, имеют более высокое содержание гликогена, как в тушке, так и в печени на фоне резкого уменьшения массы печени и снижения индекса печени (возможно, из-за потери воды печенью). Следует отметить, что у этих сеголеток кижуча за 32 часа пребывания в морской среде наблюдается пониженное содержание глюкозы в печени на фоне повышенного содержания свободных аминокислот в теле. В процессе гибели эти рыбы более интенсивно начинают терять воду из организма и гликоген мышц (на 20%), однако сохраняют некоторое количество глюкозы в печени по сравнению с рыбами, не получавших в корм крахмал, при содержании в аналогичных условиях.

Установлено, что предельное содержание гликогена в печени сеголеток кижуча при выдерживании их в морской воде не должно быть менее 90 мг%, а глюкозы в печени - не менее 100 мг%; в противном случае наступает их гибель.

Интересно отметить, что продолжение кормления сеголеток кижуча в пресной воде датским кормом SGP - 514 Aller Aqua с добавлением в него 25% крахмала привело по мере роста этой молодежи к возрастанию содержания глюкозы при снижении содержания гликогена, как в печени, так и в тушке, а также уменьшение, как массы, так и индекса печени. Полученные данные

указывают на положительную роль углеводов пищи на процессы адаптации кижучей к условиям морской среды.

5.2. Оценка влияния кормов с разным содержанием углеводов на смолтификацию сеголеток кижуча

Известно, что лимитирующим фактором возврата кижуча является не количество выпущенных рыб, а площадь пресноводного водоема, в котором будет расти кижуч первые два года своей жизни (Любаев, 2002). Учитывая, что кижуч территориальная рыба, по мере его роста, территория для его откорма возрастает, а, следовательно, численность откармливаемых рыб падает. Из этого следует, чем раньше кижучи смогут смолтифицироваться, тем больший возврат можно от них ожидать.

Как было показано нами ранее, углеводы необходимые для смолтификации молодь рыб получает с кормом, в связи с чем исследовано влияние комбикормов с разным содержанием углеводов на процесс смолтификации молоди кижуча. Такими кормами являлись: SGP-514 Aller Aqua – Лосось, крупа №2 (SGP-514), и этот же корм с добавлением в него 25% гидролизованного крахмала.

Следует отметить, что сеголетки кижуча, питавшиеся 10 дней кормом SGP-514 с добавлением в него крахмала оказались почти на 60% крупнее, чем рыбы питавшиеся обычным кормом. Это дает основание предполагать, что лимитирующим фактором роста у сеголеток кижуча в этом возрасте является не концентрация белка в корме, а его углеводной (полисахаридной) составляющей.

Пересаженные в морскую воду сеголетки кижуча, выращенные в пресной воде на корме SGP-514, потеряли за 7 часов выдерживания значительно больше влаги своего организма (8,5%), чем рыбы, предварительно выращенные на корме SGP-514 с добавлением в него

крахмала (6,0%). К концу вторых суток падение массы последних особей не превышает 17-20%. Аналогичные потери массы тела сеголетками кижуча равной массы, но ранее потреблявшие корм SGP-514 без добавления в него крахмала, наблюдались уже к 17 часу их пребывания в морской воде. Важно отметить, что сеголетки кижуча, получавшие корм SGP-514, в основном начали гибнуть (до 44,4%) уже через 12 часов после помещения их в морскую воду.

В свою очередь, основное количество особей сеголеток кижуча, питавшиеся кормом SGP-514 с добавлением в него крахмала, оставались живы (более 70%) и нормально себя чувствовали 2 суток в морской воде соленостью 35‰, что указывает на готовность части их к смолтификации и скату.

Следует отметить, что в обоих вариантах в конце первых суток наблюдается повышение содержания глюкозы в крови в 1,6-1,8 раз. Однако в дальнейшем, у рыб, ранее потреблявших корм SGP-514 без добавления в него крахмала, происходит увеличение содержания глюкозы в крови более чем в 2 раза, после чего наступает их гибель. При этом, как указывалось выше, на фоне возрастания осмотичности крови происходит резкое оводнение тела рыбы. В то же время у рыб, потреблявших корм с добавлением в него крахмала, при дальнейшем пребывании в морской среде наблюдается постепенное снижение глюкозы в крови, однако и после двух суток пребывания в морской воде эти рыбы по-прежнему имеют более высокий уровень глюкозы в крови, чем имели перед посадкой их в морскую воду.

Таким образом, показана возможность ускорения процесса смолтификации кижуча путем добавления в корма гидролизованного крахмала, что приводит к повышению содержания глюкозы в крови рыб, обеспечивающей большую выживаемость в морской воде.

5.3. Локализация гликогена в теле молоди кижуча в зависимости от состава потребляемого корма

Мы провели исследование влияния температурных условий кормления, а также разных кормов с повышенным содержанием углеводных компонентов на уровень запаса гликогена в печени и теле рыб, а также на содержание сахара в крови. В качестве углеводных компонентов использовали негидролизированный крахмал, печень, а также сахар.

Крупными выросли рыбы, питавшиеся кормом с добавкой в него печени или сахара и рыбы, питавшиеся стандартным кормом, но при более высоких температурных условиях. Корм, включающий сахар дал необычайно высокий темп роста кижучей. Наиболее плохо росли сеголетки кижуча на корме с добавлением в него крахмала. Это, видимо, связано с плохой усвояемостью крахмала рыбами, так как он поступал в корм в сухом виде, а также из-за низкого содержания в кишечнике амилазы (Смит, 1986).

Способ кормления и состав корма не оказал какого-либо влияния на содержание сахара в крови при выдерживании рыб в пресной воде.

Показано, что рыбы, получавшие корм с низким содержанием углеводов (SGP-514), имели низкое содержание гликогена, как в печени, так и в мышцах. Рыбы, получавшие корм с добавлением в него сахара, преимущественно накапливали гликоген в печени, а рыбы, получавшие с кормом полисахара (крахмал, гликоген печени), преимущественно накапливали гликоген в мышцах.

Полученные данные указывают, что различные формы углеводов пищи по-разному усваиваются и накапливаются в различных структурах организма.

5.4. Длительность расходования углеводов при голодании после потребления кормов с различным содержанием углеводов

Поскольку молоди кижуча с Охотского ЛРЗ на Юго-востоке Сахалина приходится преодолевать водоем озера Тунайча с низкой кормовой

базой нас интересовало, на какое время им хватит тех запасов углеводов, которые были накоплены при употреблении кормов с различным содержанием углеводов.

Установлено (рис.4), что сеголетки кижуча, предварительно накормленные кормом SGP-514 – Лосось с добавлением в него негидролизованного крахмала, не имеют необходимого запаса гликогена в рыбе достаточного для ответа в виде выброса сахара в кровь при воздействии адреналина на рыбу, в связи, с чем рассматривать сроки сохранности такого запаса гликогена некорректно. По нашим данным рыбы, накормленные кормом SGP-514, с добавлением в него сахара потеряли запасы гликогена в рыбе еще в процессе самого кормления. Из оставшихся наибольшая расчетная длительность сохранения запаса гликогена в печени в процессе голодания должна быть у рыб, накормленных кормом SGP-514 с добавлением в него печени (около 50 дней), меньше (около 40 дней) – у рыб, выращенных при температуре воды 10°C на корме SGP-514, и наименьшая (около 30 дней) – на этом же корме, но при t=7°C.

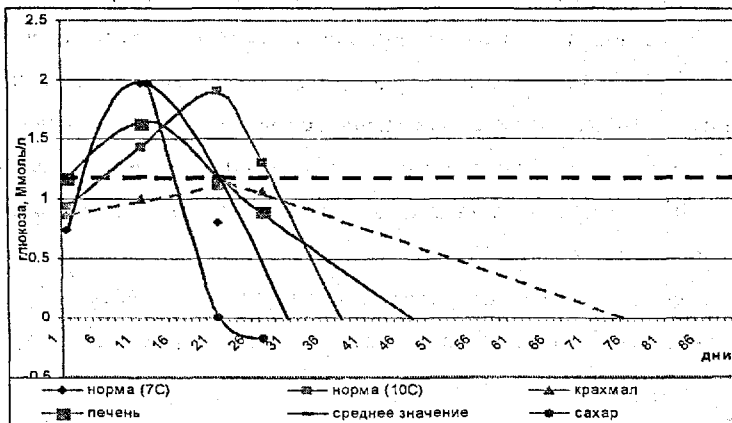


Рисунок 4. Изменение величины выброса сахара в кровотоки в ответ на адреналин у сеголеток кижуча при голодании (предварительно накормленных различными кормами), а также рыб в процессе кормления с добавлением в корм сахара (в условиях выдерживания рыб в пресной воде).

Таким образом, оптимальным для ранней смолтификации сеголеток кижуча является корм SGP-514 Aller Aqua – Лосось с добавлением в него печени и повышенные температуры подращивания.

5.5. Влияние морской среды на кижучей, выращенных на кормах с повышенным содержанием углеводов

Цель данного эксперимента – выявление готовности сеголеток кижуча к смолтификации после кормления их кормом с повышенным содержанием углеводов. Рыб перед посадкой в морскую воду кормили при 7°C кормом SGP-514 Aller Aqua – Лосось с добавлением в него печени. Для выявления роли запасенного в печени гликогена часть сеголеток кижуча в морской воде выдерживали голодными, часть – кормили живыми энхитреями.

Таким образом, сеголетки кижуча накормленные кормом SGP-514 с добавлением в него печени способны обитать в морской среде как в присутствии в море кормовой базы, так и в отсутствии ее в течение месяца.

Произведенный выпуск с Лесного ЛРЗ в конце октября 2003 года сеголеток кижуча, предварительно накормленных кормом SGP-514 при температуре воды 10°C, показал, что в течении трех дней все они скатились из реки Очепухи в море.

Проведенные нами исследования на смолтификацию кижуча показали необходимость присутствия в кормах повышенного содержания углеводов, при чем как дисахаридов, в виде сахара, так и полисахаридов, в виде гликогена или частично гидролизованного крахмала.

ВЫВОДЫ

1. Важную роль в поддержании осмотичности внутренней среды у молоди дальневосточных лососей при смене солёности внешней среды играет содержание в крови низкомолекулярных органических веществ, в частности глюкозы и аминокислот.
2. Механизм удержания влаги в организме при смене среды обитания, когда хлоридные клетки ещё не успели перестроиться в соответствии с солёностью внешней среды, у молоди дальневосточных лососей преобразован из процесса стресса, характеризующегося увеличением глюкозы в крови, величина которой определяется запасами углеводов в виде гликогена.
3. У молоди дальневосточных лососей с длительным периодом откорма в пресной воде осморегуляция при переходе из пресной в морскую среду осуществляется за счёт повышенного содержания глюкозы крови, именно необходимость накопления запасных углеводов из пищи в малокормных реках в период подготовки к смолтификации и определяет длительность пребывания молоди таких рыб в пресной воде.
4. В процессе адаптации к более суровым климатическим условиям севера, когда нет возможности в естественных условиях накопления углеводов в организме из пищи, как, например, у молоди горбуши и отчасти кеты, в качестве осмотически активного вещества крови используются аминокислоты желточного мешка. После резорбции желточного мешка молодь горбуши способна перейти в морскую среду без потерь влаги тела за счёт использования глюкозы крови, получаемой из пищи. Однако, процесс откорма горбуши кормом, содержащим углеводы длителен и нерентабелен.

5. Корма, содержащие повышенные концентрации дисахаров, например, сахарозу, позволяют накапливать гликоген преимущественно в печени, в то время как содержащие полисахариды, например, гликогена печени и крахмала преимущественно способствуют накоплению гликогена в мышцах. Это позволяет направленно регулировать запасы углеводов в различных структурах тела молоди дальневосточных лососей в период их подготовки к смолтификации.
6. Добавление в комбикорм для молоди кижуча углеводной добавки в виде крахмала и сахарозы в количестве 25 % от корма позволяет получить готовую к смолтификации молодь на первом году их жизни. Ранняя готовность к смолтификации у кижуча позволяет уменьшить конкуренцию молоди за корм в условиях маловодных и малокормных рек юга Сахалина и позволит резко увеличить промозврат от выпуска молоди данного вида.

Список печатных работ, опубликованных по теме диссертации.

1. Любаев В.Я., Микулин А.Е., Старостина Ю.В. 2004. Оценка влияния на смолтификацию сеголеток кижуча кормов с разным содержанием углеводов // Тезисы международной научной конференции "Проблемы естественного и искусственного воспроизводства рыб в морских и пресноводных водоемах" Ростов-на-Дону. С. 85-87.
2. Любаев В.Я., Микулин А.Е., Старостина Ю.В., Самсонова М.В., Лаптева Т.И. 2004. Изменение массы тела и биохимического состава сеголеток кеты при смене среды обитания // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Материалы международной конференции, 6-9 сентября 2004 г., г. Петрозаводск, Республика Карелия, Россия. С. 87.
3. Любаев В.Я., Микулин А.Е., Старостина Ю.В., Самсонова М.В., Лаптева Т.И. 2004. Биохимический состав сеголеток кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) и кижуча *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum) при смене среды обитания // Мат. Всеросс. научно-практич. конф. "Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб" М.: ИБВВ РАН, МИК, МГУТиУ. С. 304-315.
4. Григорьева Ю. В., Микулин А.Е., Любаев В.Я., Самсонова М.В. 2006. Изменение содержания углеводов в печени и теле кеты и кижуча при смене осмотичности среды обитания // Научные труды МПГУ. Серия: Естественные науки. М.: Прометей. С. 400-404.
5. Микулин А.Е., Григорьева Ю. В., Лаптева Т.И. 2006. Локализация гликогена в теле молоди кижуча в зависимости от состава потребляемого корма // Объединенный научный журнал. М.: ТЕЗАРУС. № 19, С. (в печати)

