

РГБ ОА

14 ДЕК 1998

На правах рукописи

ЛАТРЕШ Хаким

**ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
БЕЛКОВОГО ПИТАНИЯ ОСЕТРОВЫХ РЫБ
В РАННЕМ ПОСТЭМБРИОГЕНЕЗЕ**

Специальность 03.00.13 — Физиология
человека и животных

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Астрахань, 1998 г.

Работа выполнена в Астраханском государственном техническом университете.

Научный руководитель:

Доктор биологических наук,
профессор, член-корреспондент
РАЕН

Пономарев С. В.

Официальные оппоненты:

Доктор биологических наук
Доктор биологических наук

Никаноров С. И.

Витвицкая Л. В.

Ведущее учреждение: Московский заочный институт пищевой промышленности (кафедра рыбоводства и ихтиологии).

Защита диссертации состоится **25 декабря 1998 г. в 14 часов** на заседании диссертационного совета К. 113. 71. 01 при Астраханском государственном педагогическом университете по адресу: 414000, Астрахань, ул. Шаумяна, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Астраханского государственного педагогического университета по адресу: 414056, г. Астрахань, ул. Татищева, 20 а.

Автореферат разослан «23» Ноября 1998 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук,
доцент

В. Ф. САВИН

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В 50-70-е годы нашего столетия осетроводство нашло распространение во многих регионах России, а также в Италии, Германии, Франции, Венгрии, Чехословакии, Израиле, Польше и других странах. Эффективность индустриальных методов в осетроводстве в России еще остается невысокой, масштабы рыбоводных работ еще невелики (Бурцев, 1997; Абросимова, 1997).

В процессе выращивания рыбы, особенно в раннем постэмбриогенезе смертность достигает 50 - 90 % и связана с низкой питательностью стартовых сухих комбикормов, плохой усвояемостью протеина на основе рыбной муки, изготовленной прессово-сушильным способом. Следует искать новые способы балансировки белковых компонентов рецептур и новые источники кормового легкоусвояемого протеина. Вместе с этим следует совершенствовать рецепты стартовых кормов для осетровых рыб на основе физиологических потребностей рыб в онтогенезе в незаменимых белковых биополимерах (аминокислотах, пептидах, полипептидах и других протеинах).

Недостаточное развитие этих исследований объясняется отсутствием знаний о физиологической потребности осетровых рыб в протеинах различной структуры на разных этапах онтогенеза.

Цели и задачи исследований

Основной целью работы являлось изучение белкового питания осетровых рыб в раннем постэмбриогенезе при организации рационального кормления.

Поставленная цель определила следующие задачи исследований:

- физиологически оценить степень развития пищеварительной системы осетровых в раннем постэмбриогенезе;
- изучить особенности питания и состав кормовых организмов молоди осетровых рыб;
- исследовать гидролизаты протеина в составе стартового комбикорма для осетровых рыб;
- разработать рецептуру нового стартового комбикорма

- ОСТ-4 для осетровых рыб на основе установленных физиологических норм кормления;
- провести физиологическую оценку выращенной молодежи на комбикорме ОСТ-4.

Научная новизна

Предложен метод балансировки фракций протеина матрицы стартового комбикорма для осетровых рыб рецепта ОСТ-4 на основе физиологических потребностей ранней молодежи в белковых компонентах определенной молекулярной массы. Впервые дана физиологическая оценка эффективности разных гидролизатов белка для кормления молодежи осетровых рыб на основе анализа фракций растворимого протеина. Впервые предположено эволюционно-генетически закрепленное развитие пищеварительной системы осетровых рыб в раннем постэмбрионале, связанное с субстратно-ферментным механизмом регуляции развития протеаз.

С

Практическое значение

На основе проведенных исследований разработчикам рецептов комбикормов рекомендован способ балансировки состава фракций белка в соответствии с физиологической потребностью рыб на определенных этапах развития в белке определенной структуры. Промышленности предложен рецепт стартового комбикорма ОСТ-4 с глубокой балансировкой фракционного состава протеина на основе гидролизатов рыбной муки, черноморских мидий, других белковых компонентов кормосмеси. Подтверждена целесообразность применения ферментативного промышленного ступенчатого гидролизата для получения гидролизатов с глубиной гидролизата 20-25% и оптимальным фракционным составом белковых компонентов. Заводам рыбных гранулов предложены нормы ввода мидийного гидролизата и сухой сыворотки крови кур в составе рецепта стартового комбикорма ОСТ-4.

Апробация работы

Результаты исследований, составляющие основу диссертации, были сформулированы в виде научных отчетов, представлены и обсуждены в ВТИ "Анзиморм" ВНИИПРХ, НТЦ "Астаканорм" АРГУ, на кафедре "Аквакультура и водные биоресурсы" АРГУ в 1993 - 1998 г., а также были доложены на Международном симпозиуме "Ресурсообес-

печающие технологии в аквакультуре" (Адлер, 1996), на научной конференции "Состояние и перспективы научно-практических разработок в области маринкультуры" (Ростов-на-Дону, 1998), международных выставках "Ирыбпром - 95" (г. Санкт-Петербург, 1995), в Астрахани на ярмарке-выставке (1995), В АРЕ (1998).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 6 научных работ.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 143 стр. машинописного текста, состоит из введения, 7 глав, заключения и выводов, рекомендаций производству, иллюстрирована 44 таблицами и рисунками. Список цитированной литературы включает 202 работы, в том числе 30 зарубежных авторов. Общий объем рукописи 152 с приложениями.

Глава 1. ОСОБЕННОСТИ ФИЗИОЛОГИИ И КОРМЛЕНИЯ МОЛОДИ ОСЕТРОВЫХ, КОРМА И ПРОБЛЕМЫ СОЗДАНИЯ ЭФФЕКТИВНЫХ СТАРТОВЫХ КОМБИКОРМОВ

Анализ научной литературы в обзоре по теме диссертации показал недостаточный уровень и объем исследований особенностей физиологии белкового питания осетровых рыб в раннем постэмбриогенезе. Отсутствует научное физиологическое обоснование применения гидролизатов белка в стартовых комбикормах.

Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В исследованиях использовали в качестве объекта личинки и мальков белуги, русского осетра и гибрида бестер, именно эти виды широко культивируются на осетровых заводах Астраханской области и России.

Сбор материала и опытные работы проводили в Астраханской области, в установке замкнутого водоснабжения и аквариального комплекса Астраханского государственного технического университета, В НИЦ "Астакваорм" АРГУ и ВНИИПРХ.

Питание рыб изучали по инструкции П.Л. Пирожникова

(1953), развитие пищеварительной системы осетровых рыб по М.Ф. Вернидуб (1971). Для определения потребностей молоди осетровых рыб в питательных веществах комбикорма, балансирования состава опытных рецептур увеличивали или снижали уровень отдельных веществ или отдельных фракций (например, общий уровень белка, жира, белка микробного происхождения) (Агеев и др., 1987). Результаты опытов по оценке эффективности отдельных компонентов позволили установить оптимальное количество, фракционный состав, структуру незаменимых веществ отдельных, наиболее важных компонентов.

Опытные партии комбикормов изготавливали и гранулировали в условиях лаборатории НТЦ "Астаквакорм".

Исследование состава белковых фракций комбикорма и составляющих его компонентов, определение высокомолекулярного белка, пептидов и аминокислот выполняли методом гельхроматографии (Rothenbuchleer et al., 1979) на колонке объемом 62 см³ (Zerhasex S-25 в медной форме) (с помощью специалистов института ИНБСР АН РФ). Полную экстракцию водорастворимого белка проводили при температуре от 0 до 4°C с проверкой на спектрофотометре с длиной волны 280 н.м. Объединенные центрифугаты пропускали через колонку в медной форме, медные комплексы затем раарушали на колонке Dowex A-1. Белковые фракции различали по цвету. Высокомолекулярные белки оставались неокрашенными, пептиды окрашивались в фиолетовый цвет, аминокислоты - в синий. Молекулярную массу белковых фракций определяли по аминному азоту (C_N^{am}) в исследуемых образцах (Слободяникова, 1982) при полном гидролизе белка (6 NCl по 45°C, 24 ч. в атмосфере аргона).

Для разделения липидов на классы использовали метод тонкослойной хроматографии (Rothenbuchler et al., 1979). Изучение спектра жирных кислот проводили методом газо-жидкостной хроматографии на хроматографе "Цвет-5". Идентификацию жирных кислот осуществляли путем сравнения графиков зависимости логарифмов удерживаемых объемов от длины цепи углеродных атомов.

На протяжении развития молоди от свободных эмбрионов до малькового периода развития, активность ферментов исследовали в гомогенатах отпрепарированных пищеварительных трактов. Время инкубации и концентрацию гомогенатов разных тканей подбирали

эмпирически, исходя из активности ферментов в анализируемых образцах.

Активность кислых протеиназ (рН 3,2) и щелочных протеиназ (рН 8,0) определяли модифицированным методом Ансона (Anson, 1938), используя в качестве субстратов 2%-ные растворы соответственно гемоглобина и казеина. Ферментативную активность выражали в микромолях образующегося тирозина в 1 ч. в расчете на 1 г. сырой ткани. Активность α -амилазы определяли при рН 7,0 по методу Уголева (1969), субстратом служил 0,1%-ный раствор крахмала. Активность фермента выражали в мг гидролизованного крахмала за 1 ч на 1 г сырой ткани.

Для чистоты эксперимента основную часть работ при проверке эффективности кормовых рационов проводили в аквакомплексе при полном отсутствии кормовых организмов.

Анализ химического состава кормовых организмов и тела, крови исследуемой рыбы выполняли по общепринятым методам (Яржомбек, Шмаков и др., 1981; Лиманский, Яржомбек и др., 1984).

Глава 3. ОСОБЕННОСТИ ПИТАНИЯ МОЛОДИ ОСЕТРОВЫХ РЫБ И СОСТАВ КОРМОВЫХ ОРГАНИЗМОВ

Исключительно важную роль в обеспечении осетровых рыб в раннем постэмбриогенезе протеином и негемными аминокислотами служит естественная пища - кормовые организмы и их наличие в среде обитания. Поэтому весьма важно было исследовать особенности питания молоди осетровых рыб в период личиночного и малькового развития, состав питательных веществ кормовых организмов, а также фракционный состав белковых соединений протеина. Этому посвящены материалы главы 3.

3.1. Корма молоди осетровых рыб при выращивании в выростных прудах осетровых рыбоводных заводов

Кормовая база оказывает большое влияние на результаты выращивания молоди осетровых в прудах рыбоводных заводов. В выростных прудах осетровых рыбоводных заводов Астраханской области зоопланктон как по химическому, так и по видовому составу весьма различается. В нем в основном встречаются организмы рода Copepoda, Cladocera, Phyllopoda и Rotatoria и др. Бентос-

ные организмы представлены преимущественно хирономидами и олигохетами. В 1998 г. при выращивании русского осетра в мальковых прудах Лебяжьего ОПЗ удалось установить основной состав пищевого комка. Так, основу пищевого комка желудочно-кишечного тракта личинок и мальков русского осетра составляли дафнии, циклопы, хирономиды.

3.2. Состав и питательная ценность кормовых организмов

В раннем онтогенезе, в периоды личиночного и малькового развития осетровых рыб происходит изменение спектра питания организмами зоопланктона.

В пищевом комке молоди осетровых мелкий зоопланктон представлен коловратками и клadoцерами, крупный - копеподами и клadoцерами. Крупный и мелкий зоопланктон отличается высоким уровнем протеина - 59-65%. Общий химический состав других кормовых организмов - хирономид, олигохет, гаммарусов, имаго насекомых отличается более низким уровнем белка - 33 - 48 %.

Структура белка компонентов комбикорма и естественной пищи могут значительно различаться, это имеет важное значение в процессе пищеварения рыб и влияет на продуктивное действие искусственных кормосмесей.

В кормовых организмах зоопланктона, в отличие от рыб и других высших животных, протеин в значительной мере представлен в растворе протоплазмы и межклеточной жидкости. Способность протеина создавать водные растворы связана со структурой белка. Чем проще и короче полипептидная цепочка, тем она лучше способна растворяться и легче гидролизуется ферментами.

Биохимическими исследованиями удалось установить, что в мелком и крупном пресноводном зоопланктоне и науплиусах артемии салина содержится много водорастворимого белка (до 73 %). Напротив, хирономиды и гаммарусы содержат его меньше (45-46%), как и олигохеты (44%). Большой интерес представляют фракции низкомолекулярных и среднемолекулярных полипептидов, которые легко гидролизуются протеиназами в начале формирования желудочно-кишечного тракта личинок рыб, у которых активность еще низкая. Менее развита пищеварительная система у личинок осетровых, они потребляют мелкий пресноводный зоопланктон, состоящий из коловраток, босмин, молл, науплиусов копепод и содержа-

ший много растворимого белка и полипептидов. В мелком пресноводном зоопланктоне наиболее высокий удельный вес занимает фракция пептидов с М.м. 1000-1300 дальтон (77,2%). В составе крупного пресноводного зоопланктона, состоящего из копепоид и взрослых кладоцер, эта фракция несколько уменьшается (64,5%) с увеличением фракции полипептидов с М.м. более 1300 дальтон (23%), доли среднемолекулярного (от 2 до 4,5%) и высокомолекулярного (от 1 до 4,1%) водорастворимого белка. Фракционный состав белка артемии садина занимает среднее положение между мелким и крупным зоопланктоном.

Хиროномиды и гаммарусы, которыми может питаться молодь рыб с более сформированной пищеварительной системой (наличие желудка с пилорическими придатками, активными протеазами) отличаются увеличенной белковой фракцией П-3 - полипептиды с М.м. более 1300 (хиროномиды - 72,3%; гаммарусы - 45,1%). Также увеличилось количество низкомолекулярного белка (НМБ) с М.м. более 10 тыс. (6-7% у хиროномид, 20,1% - у гаммарусов) и высокомолекулярного белка (ВМБ) с М.м. 200-300 тыс. (гаммарусы - 5%, хиროномиды - 6,8%). Следует отметить, что белок с М.м. более 300 тыс. дальтон переходит в водонерастворимую фракцию. Наличие следового содержания свободных аминокислот подтверждает отсутствие процессов распада и автолиза белка кормовых организмов в ходе анализа. Также весьма важно отметить, что олигохеты содержат меньше среднемолекулярных пептидов (П-3) - 46,2% и высокомолекулярного белка (ВМБ) - 26,1%, что снижает их ценность для кормления личинок осетровых рыб.

Весьма близкие данные, характеризующие фракционный состав белка кормовых организмов зоопланктона и бентоса и их М.м., были установлены В.В. Кугъминой и др., (1990). Очень важно что было подтверждено наличие в составе протеина личинок *Chaetognathus* молекул белка с массой 10-20 тыс., а для представителей рачкового планктона - 90% белковых соединений с М.м. около 1000 дальтон.

Таким образом, принимая во внимание доступность белка кормовых организмов для рыб, различающихся развитием пищеварительной системы, можно распределить кормовые организмы и их группы в следующем порядке. Первая группа состоит из мелкого пресноводного зоопланктона (наиболее легкоусваиваемый белок) -

объект питания ранних мальков и личинок осетровых рыб. Вторая группа - зоопланктон, который потребляют мальки с достаточно сформированной пищеварительной системой. Третья группа представлена хищниками, гаммарусами, олигохетами, отличается содержанием более сложных белковых соединений, эти организмы используются в пищу более крупной молодью осетровых рыб. Следуя теории этапности развития организма, можно предположить, что развитие осетровых рыб в онтогенезе и пищевые адаптации весьма тесно связаны с составом питательных веществ естественного корма.

Глава 4. РАЗВИТИЕ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ОСЕТРОВЫХ РЫБ

Глава посвящена изучению процесса развития и формирования пищеварительной системы и ферментов протеолитического комплекса.

4.1. Особенности развития пищеварительной системы молодью осетровых рыб

Формирование пищеварительного тракта начинается ещё в конце эмбрионального периода развития, а формирование всех отделов завершается очень поздно - в возрасте 40-50 суток от момента вытупления (Вернидуб и др., 1971).

Выделяют 5 этапов развития личинок, во время которых происходят специфические для каждого из них изменения в строении и функционировании пищеварительной системы рыбы (Вернидуб и др., 1971; Беляева, Ходоревская, 1972). Так, в период желточного питания личинки проходят 2 этапа, а после перехода к активному питанию - 3 этапа развития. Для каждого из них характерны строго определенные изменения пищеварительной системы. Очевидно, что эффективное переваривание пищи и усвоение продуктов пищеварения начинается только после завершения формирования обеих долей поджелудочной железы, печени, а также всех оболочек желудка, средней кишки, пилорических придатков и спирального клапана.

На основе собственных наблюдений при микроскопировании личинок и согласовании полученных данных с данными авторов (Вернидуб и др.; 1971) нами установлено, что в первые сутки после

выдупления личинки осетровых еще слабо развиты. Пищеварительная система у них представлена глоткой и пищеводом, желточным мешком, зачатком задних отделов кишки с энтодермальной стенкой.

На завершающих этапах развития у личинок усиливается процесс разрастания средней и задней частей средней кишки, интенсивное разрастание пилорических придатков, завершается формирование слизистой, подслизистой и мышечной оболочек во всех передних отделах тракта. Личинки достигают малькового развития.

У мальков в возрасте 550-560 градусо-дней завершается в основном формирование желудка и его отделов, оболочек спиральной кишки и пилорического придатка (длина 10 см более) в возрасте 50 сут., а так же в целом пищеварительной системы. Поскольку очевидно, что активность протеолитических ферментов высокая, молодь эффективно усваивает сухие стартовые комбикорма на основе рыбной муки, гидролизаты протеина в составе корма не требуются. Этапность развития пищеварительной системы осетровых рыб определяет необходимость разработки рецептов стартовых комбикормов на основе легкоусвояемых белковых соединений для ранней молоди, когда ферментная система неразвита, на основе знаний о физиологической потребности в белковой пище, определенной молекулярной массы и структуры.

4.2. Развитие ферментной системы

В пищеварительном тракте предличинки и личинки бестера по мере их роста и развития наблюдали постепенное увеличение активности щелочной, кислой протеаз и α -амилазы. Это связано с постепенным развитием желудка и его пилорического отдела. У мальков русского осетра, когда развитый желудок с пилорическим отделом, пищеварительные железы сформированы, активности кислой и щелочной протеиназ высока, поэтому они могут использовать в пищу грубый протеин рыбной муки, комбикорма.

Таким образом, изучение развития пищеварительных ферментов желудочно-кишечного тракта у русского осетра в постэмбриональный период показало, что к переходу на внешнее питание в пищеварительном тракте личинок развиваются протеолитические ферменты. Однако только мальки имеют развитую пищеварительную

систему и активный комплекс пищеварительных ферментов. В этой связи необходимо физиологически обосновать применение каких-либо кормов для личинок и для мальков-сеголеток осетровых рыб. Можно заключить, что в период перехода личинок осетровых на внешнее питание наиболее благоприятным является корм, содержащий живые пищевые организмы, комбикорм с гидролизатами протеина. Эти корма содержат значительное количество низкомолекулярных белковых веществ, способных легко усваиваться в процессах мембранного и внутриклеточного пищеварения (Остроумова, Дементьева, 1981; Dabrowski, 1979; Пономарев 1986). Для мальков осетровых рыб, у которых пищеварительная система сформирована, а активность пищеварительных ферментов высокая, применение в кормах низкомолекулярных белковых соединений может быть ограничено.

Глава 5. ГИДРОЛИЗАТЫ ПРОТЕИНА И ДРУГИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ БЕЛКОВЫЕ КОМПОНЕНТЫ В СОСТАВЕ СТАРТОВОГО КОМБИКОРМА ДЛЯ ОСЕТРОВЫХ РЫБ

Использование белковых гидролизованных продуктов животного и микробного происхождения является наиболее перспективным направлением разработки рецептов полноценных стартовых комбикормов для осетровых рыб в раннем постэмбриональном периоде, когда формирование пищеварительной системы протекает весьма быстро. Низкая активность собственных эндопротеаз желудочно-кишечного тракта отмечена у большинства видов рыб (Lauff, Hofer, 1984).

Ферменты протеиназы личинок осетровых рыб очевидно не способны гидролизовать протеины со сложной структурой и высокой молекулярной массой. Гидролиз протеинов корма (автолиз, ферментализ) на биохимических комбинатах позволяет получить различные компоненты, необходимые в составе комбикорма для рыб: аминокислоты, олигопептиды, дипептиды, полипептиды, белки относительно низкой М.м. - растворимые в воде и нерастворимые белки с высокой М.м. (Пonomарев, 1986).

Гидролиз - процесс деструкции белковых цепей с использованием ферментов. В результате гидролиза и в зависимости от его глубины можно получить продукт в виде свободных аминокислот, олигопептидов, полипептидов, короткоцепочных белков.

Опытами установлено, что в процессе гидролиза рыбной муки из мятая протосульфидом ГЭХ можно выделить три фазы и получить три продукта, различающихся составом белковых фракций (рис. 1).

Проверка эффективности трех гидролизатов (аминокислотный, пептидный, белковый с М.м. более 10 тыс. дальтон) показала явное преимущество гидролизата пептидного в чистых тест-опытах (табл. 1) при замене рыбной муки, в рецептуре комбикорма ОСТ-4.

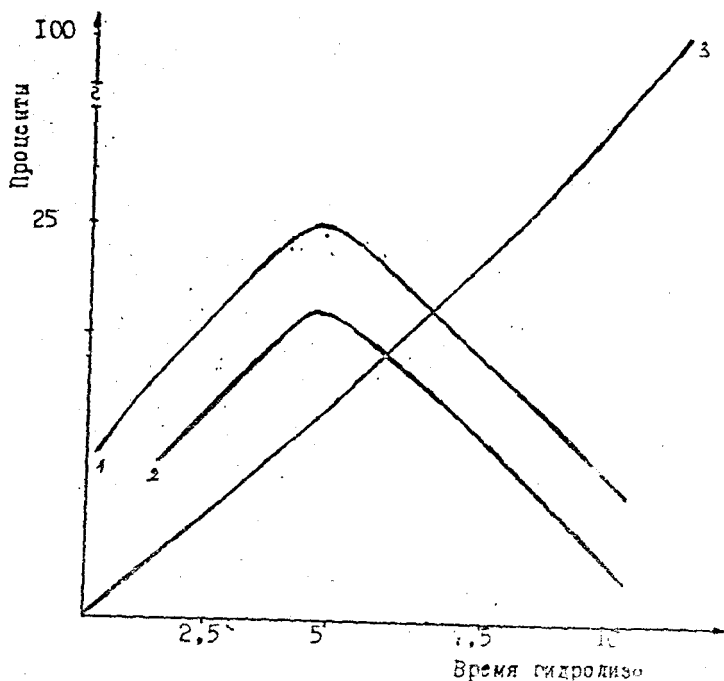


Рис. 1. Фазы гидролиза рыбной муки из мятая протосульфидом ГЭХ.

1 - Подпептиды с М.м. 1000 - 1200

2 - Низкомолекулярный белок с М.м. более 10 тыс. дальтон

3 - Свободные аминокислоты

Таблица 1

Рыбоводно-биологические показатели эффективности гидролизатов в составе комбикорма ОСТ-4 при выращивании личинок белуги

Показатели	Гидролизаты		
	Аминокислотный	Пептидный	Белковый
Масса тела, мг.:			
начальная	60,5±1,2	62,0±1,8	61,4±1,3
конечная	*80,0±2,4	*350,6±7,6	*120,3±3,2
Абсолютный прирост, мг	20,0	290,0	59,7
Выживаемость, %	20,0	75,0	35,0
Кормовые затраты, ед	8,5	0,9	6,5
Период сытот, сут.	30	30	30

* - $P < 0,01$ (высокая степень достоверности данных)

Ферментативный ступенчатый гидролиз до глубины 25% позволил получить гидролизат с высоким содержанием наиболее важных полипептидов с М.м. 1000-1200: свободные аминокислоты - 1,6-3,3%, олигопептиды с М.м. > 200-0,8-2,0%, полипептиды с М.м. 1000-1300-15-25%, полипептиды с М.м. 1300-10000-1-2%, низкомолекулярный белок с М.м. более 10 тыс. дальтон - 10-12%. остальное - нерастворимый белок с М.м. более 300 тыс. дальтон.

С.В.Пономаревым (1996) показано, что высокая эффективность комбикорма для ранней молоди рыб с содержанием гидролизата средней глубины гидролиза (25%) имеет следующее объяснение. С этапным развитием у личинок и мальков наблюдается синергический эффект действия всех фракций белка, если они присутствуют в корме в оптимальном соотношении. На самых ранних этапах личиночного развития рыб, когда желудок полностью не сформирован, небольшое количество присутствующих свободных аминокислот и олигопептидов способствует росту рыб при основном белковом субстрате - полипептидах с М.м. 1000-1300, на основе которого быстро активируются эндопротеазы. Очевидно необходимо и наличие в комбикорме небольшого количества высокомолекулярных пептидов (М.м. 1300-10000 дальтон (1-2%) и низ-

коммолекулярного белка (более 10 тыс. дальтон) 10-12% для дальнейшего развития комплекса протеаз. Молодь с сформированным желудком эффективно усваивает комбикорм с низким уровнем полипептидов, нормально развивается и растет.

Комбикорм с высоким уровнем свободных аминокислот (см. рис. 1, гидролизат 1) тормозит рост и развитие личинок белуги (см. табл. 1), при этом также прекращается формирование желудка. Это связано с отсутствием белкового субстрата для постального развития эндопротеаз.

Мидийный промышленный гидролизат представляет собой жидкий продукт, содержащий в водном растворе свободные аминокислоты, пептиды и относительно низкомолекулярные белки. Мидийный гидролизат (МГ) может быть эффективным заменителем белковых компонентов в стартовых комбикормах для рыб, поскольку удовлетворяет потребность ранних мальков в низкомолекулярных белковых веществах и содержит 1-6% СА, 4-5,5% полипептидов фракции П-1, 4-10% полипептидов фракции П-2, 2-3,5% полипептидов фракции П-3, 3-4% НМБ при уровне растворимого протеина 21-23% (СА - свободные аминокислоты с М.м. = 120, П-1 - полипептиды с М.м. > 200, П-2 - полипептиды с М.м. 1000-1300, П-3 - полипептиды с М.м. 1300-10000 дальтон, НМБ - низкомолекулярный белок с М.м. 10000-300000 дальтон).

Весьма показательным, что мидийный гидролизат содержит много полипептидов средней М.м. 1000-1300 дальтон (4-10%), что определяет его эффективность в составе комбикормов для ранней молоди рыб.

При испытании стартового комбикорма ОСТ-4 лучшие результаты при выращивании молоди белуги установили при содержании в рецепте 10 % МГ.

Следует учитывать, что мидийный гидролизат изготавливается промышленностью в виде водного раствора с содержанием 16 % NaCl. Это ограничивает возможность введения в кормосмесь МГ в количестве более 10%.

Перерабатывающими предприятиями России предложена новая сухая кормовая добавка на кровяной сыворотке кур для стартовых рыбных гранулов, содержащая высокое содержание растворимых белковых соединений, как и белковые гидролизаты. Анализ фракционного состава позволил получить следующую таблицу 2.

Было весьма важно проверить эффективность добавки к стартовому осетровому комбикорму ОСТ-4. В следующей серии экспериментов установлено оптимальное количество этого компонента равное 5 %.

Таблица 2
Фракционный состав протеина кровяной сыворотки кур

Ф р а к ц и и	Содержание, %
1	2
Растворимый белок, всего	57,7±2,4
СА	2,5±0,2
П - 1	2,8±0,3
П - 2	3,6±0,5
П - 3	3,4±0,4
НМБ	45,6±1,8

В результате проверки при выращивании молоди белуги установлено, что лучший рост и рыбопродуктивно-биологические показатели были у рыб на корме ОСТ-4 с добавкой 5% сухой кровяной сыворотки. Увеличение количества этого ингредиента в рецепте комбикорма приводит к снижению скорости роста рыб, что вероятно связано с дисбалансом аминокислотного состава общего протеина кормосмеси.

Таким образом мидийный гидролизат, как белковый компонент стартового комбикорма отвечает физиологическим потребностям молоди осетровых рыб в полипептидах с М.м. 1000-1300 дальтон и может быть использован для улучшения состава рецепта. Сухая сыворотка крови кур содержит недостаточное количество полипептидов с М.м. 1000-1300 дальтон, отличается дисбалансом отдельных фракций. Это ограничивает ее содержание в рецептурах до 5%. Введение мидийного гидролизата в рационы ограничено формой препарата (водный раствор), что затрудняет грануляцию на промышленных установках. Однако даже небольшое введение его в рецептуру стартового комбикорма для осетровых рыб дает положительный эффект. Вместе с этим не только гидролизаты протеина являются источниками низкомолекулярных белковых соединений.

Такими компонентами выступают продукты микробного синтеза - этаноловые дрожжи (эприн) и дрожжи - паприн (БВК), в связи с особенностями структуры белка.

Глава 6. НОВЫЙ СТАРТОВЫЙ КОМБИКОРМ ОСТ-4 ДЛЯ ОСЕТРОВЫХ РЫБ

Физиологическая полноценность и эффективность стартового комбикорма определяется доступностью всех питательных веществ для переваривания собственными ферментами рыб в раннем постэмбриогенезе. Таким образом при разработке рецепта стартового комбикорма для осетровых рыб главной задачей является балансирование общего состава питательных веществ, фракционного состава белка, липидов, незаменимых жирных кислот, доступных для усвоения углеводов. Этому посвящена настоящая глава.

6.1. Подбор состава кормовых смесей и балансировка состава питательных веществ

Дрожжи БВК-паприн и эприн содержат низкомолекулярный протеин, что объясняет возможность их использования в стартовых комбикормах для личинок рыб (Остроумова, 1983; 1985; 1989). Это положение было необходимо проверить при введении этих белковых компонентов в состав рецепта стартового комбикорма ОСТ-4 для молоди осетровых рыб с оценкой продуктивного действия опытных партий.

Введение кормовых дрожжей БВК-паприна и эприна в состав матрицы опытных рецептов комбикорма ОСТ-4 изменило главным образом содержание рыбной муки и соевого шрота. Балансирование состава питательных веществ матрицы в соответствии с физиологической потребностью рыб позволило первоначально получить 2 лучших варианта опытных рецептов с разным содержанием эрина (20 и 30%) (табл. 3).

Испытание опытных вариантов стартового комбикорма ОСТ-4 (табл. 4), в аквариумах, при отсутствии естественной пищи, позволило выбрать лучшую рецептуру. При выращивании личинок русского осетра, белуги, севрюги (до наступления малькового периода развития в возрасте 30-50 сут.) лучшие рыбоводно-биологические показатели были в варианте II опытов.

Таблица 3

Фракционный состав протеина в опытных вариантах стартового комбикорма ОСТ-4 на основе эприна

Растворимый белок	В а р и а н т ы		ОСТ-4 (контроль)
	I (30% эприна)	II (20% эприна)	
1	2	3	4
Σ СА	0,93	1,1	1,0
Σ П-2	6,17	7,26	6,1
Σ П-3	0,06	0,06	0,06
Σ НМБ	9,62	11,6	9,6
Σ Растворимый белок	16,74	19,98	16,7

На следующем этапе работ провели балансировку состава питательных веществ и получили ещё 3 варианта опытных рецептов с применением ВЕК-паприна.

Расчет фракционного состава белка 3-х опытных вариантов стартового комбикорма ОСТ-4 на основе ВЕК-паприна позволил получить следующую кормовую таблицу (табл. 5).

Таблица 4

Показатели выращивания молоди осетровых рыб на опытных вариантах комбикорма ОСТ-4 с добавкой эприна

Показатели	В а р и а н т ы		ОСТ-4 (контроль)
	I	II	
1	2	4	5
Масса тела, мг			
Белуга: начало	53,1±0,4	53,1±0,4	53,1±0,4
(Б) конец	1650,2±51,2	2800±86,3	2100,0±72,0
Осетр: начало	35,0±2,4	35,0±0,4	35,0±0,4

Продолжение таблицы 4

1	2	4	5
(D) конец	829,4±25,6	870,8±24,3	720,0±20,5
Северюга: начало	25,0± 2,0	25,0± 2,0	25,0± 2,0
(C) конец	230,5±20,43	10,8±30,5	320,5±26,0
Среднесуточный прирост, мг			
(Б)	31,9	54,9	40,9
(D)	19,8	20,1	22,8
(C)	7,3	10,2	10,5
Выживаемость, %			
(Б)	70,0	78,0	80,0
(D)	70,0	72,0	75,0
(C)	75,0	82,0	85,0
Кормовые затраты, ед.			
(Б)	2,6	2,3	2,4
(D)	2,6	2,3	2,3
(C)	2,6	2,4	2,4

Таблица 5

Фракционный состав протеина стартового комбикорма ССТ-4 на основе БВК-паприна

Растворимый белок	В а р и а н т ы			ССТ-4 (контроль, без БВК-паприна)
	I (30% БВК)	II (50% БВК)	III (10% БВК)	
1	2	3	4	5
Σ СА	1,85	1,43	1,77	1,69
Σ П-2	10,56	12,70	7,52	5,90

Продолжение таблицы 5

1	2	3	4	5
Σ П-3	1,69	2,80	0,56	0,00
Σ НМБ	17,14	20,60	12,04	9,30
Σ растворимый белок	30,40	37,01	21,15	16,20

Проверка эффективности этих вариантов корма ОСТ-4 с разным фракционным составом белка при выращивании личинок русского осетра, белуги, севрюги (до наступления малькового периода развития в возрасте 50 суток) позволила установить лучшие рыбо-водно-биологические показатели во II варианте опытов.

Использование кормовой таблицы позволяет установить причину более высокой эффективности варианта II комбикорма ОСТ-4. В этом варианте было больше водорастворимого протеина (37%), полипептидов П-2 (12,7%), П-3 (2,8%); низкомолекулярного белка (НМБ) (20,6%).

Таким образом, по результатам исследований получены две рецептуры наиболее сбалансированных рецептов стартового комбикорма ОСТ-4 на основе зрина и БВК-паприна, которые рекомендованы производству. Оба варианта комбикорма ОСТ-4 на основе зрина, БВК-паприна отличаются высоким содержанием полипептидов с М.м. 1000-1800 дальтон и низкомолекулярного белка с М.м. 10-300 тыс. дальтон. Вместе с этим в общей водорастворимой фракции белка (19-20%) в небольших количествах присутствуют свободные аминокислоты и полипептиды с удлиненной цепью (М.м. 1300-10000 дальтон) (рис. 2). Следует предполагать, что другой стартовый комбикорм для осетровых рыб с такой белковой структурой может быть также эффективен для выращивания ранней молодежи.

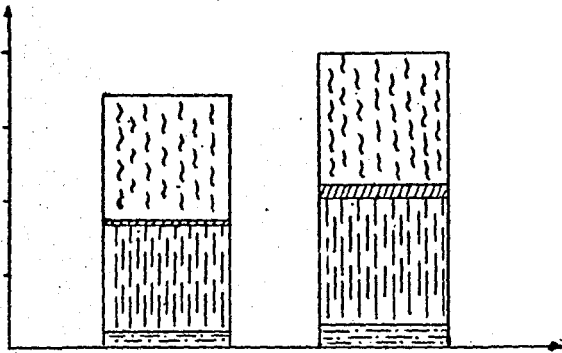


Рис. 2. Фракционный состав протеина опытных вариантов стартового комбикорма ОСТ-4 на основе эприна и БЭК-паприна

▬ - Низкомолекулярный белок (НМБ); ▨ - Полипептиды II-3 с М.м. > 1300; ▧ - Полипептиды II-2 с М.м. = 1000-1300; ▩ - Свободные аминокислоты с М.м. = 120 дальтон

6.2. Низкомолекулярные белковые соединения стартового комбикорма ОСТ-4

Пищеварительной системе, как и ферментной, в раннем постэмбриогенезе осетровых рыб, свойственна этапность развития. Активность протеаз с возрастом увеличивается. Наличие белкового питательного субстрата в пищеварительном тракте личинок и ранних мальков очевидно влияет на формирование ферментного протеолитического комплекса. Исследованиями показано, что введение в комбикорм для молоди сиговых рыб высокого количества свободных аминокислот или ферментолизаата рыбной муки с высоким содержанием свободных аминокислот приводит к задержке роста рыб, развития протеолитических ферментов, поскольку отсутствует комплексная субстрат-ферментная регуляция развития протеаз.

Глава 7. ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ВЫРАЩЕННОЙ МОЛОДИ ОСЕТРОВЫХ РЫБ НА СТАРТОВОМ КОМБИКОРМЕ ОСТ-4

Стартовые комбикорма для осетровых рыб используются не только в товарном осетроводстве, но и для пополнения естественных популяций при выращивании посадочной молодежи. Именно поэтому необходимо изучать физиологический статус выращиваемой молодежи, потреблявшей сухие комбикорма. Особенно важно оценивать комбикорм новых рецептур.

Сухие комбинированные корма, как и живые, содержат липиды, которые влияют на состав липидов тела выращиваемой молодежи. Показатели состава фосфолипидов, триацилглицеридов липидов молодежи, с массой 3 г на комбикорме, и молодежи из прудов массой 3 г. на естественной кормовой базе, близки. Следует отметить равно высокие показатели содержания физиологически ценных полиеновых жирных кислот в фосфолипидах и триацилглицеридах. Аналогичные данные получены по сравнению фосфолипидных спектров и фракционного состава общих липидов молодежи, потреблявшей новый комбикорм ОСТ-4, и молодежи из прудов Лебяжьего ОРЗ.

Важнейшими показателями полноценности физиологического статуса молодежи рыб являются данные содержания триацилглицеридов и фосфолипидов. Они в опыте (на ОСТ-4) и контроле (из прудов) были достоверно высокие. Это свидетельствует, что клеточные мембраны, структурные липиды организма рыб позволяют выполнять молодежи русского осетра пищевые миграции, преодолевать неблагоприятные факторы среды.

Весьма достоверными показателями, характеризующими физиологическое состояние рыб, следует считать данные общего химического состава тела. Молодь осетра по химическому составу тела, выращенная в бассейнах на сухом стартовом комбикорме ОСТ-4, главным образом отличалась ($P < 0,1$) более высоким содержанием белка и меньшим влаги. Это является положительным показателем физиологического статуса рыб (Канидьеv, 1994).

Дополнительными показателями, подтверждающими данные общего химического состава тела рыб, являются гематологические показатели, полученные при выращивании молодежи русского осетра на корме ОСТ-4. Молодь, выловленная из прудов на естественной кормовой базе, и молодежь из бассейнов на комбикорме ОСТ-4 по гематологическим показателям достоверно ($P > 1$) не различалась.

Таким образом, опытами установлено, что физиологический статус молоди русского осетра, потреблявшей стартовый комбикорм ОСТ-4 отличается от статуса рыб, потреблявших естественные кормовые организмы зоопланктона и бентоса в прудах. Все эти показатели были в пределах принятых физиологических норм для молоди (Яржомбек и др., 1986) культивируемых рыб. Это показывает, что состав белка, других питательных веществ нового стартового комбикорма ОСТ-4 для осетровых рыб сбалансирован и соответствует физиологической потребности осетровых рыб в раннем постэмбриогенезе в период личиночного и малькового развития.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В раннем постэмбриогенезе осетровых рыб присутствует выраженная этапность развития в личиночный и мальковый периоды. Рост и формирование организма сопровождается развитием ферментной и пищеварительной системы. Эволюционно-генетически закрепленное развитие пищеварительной системы осетровых рыб в раннем постэмбриогенезе обусловлено субстратно-ферментным механизмом регуляции комплекса протеаз. Это значит, что наличие в составе корма личинок и мальков белкового питательного субстрата определенной структуры и массы стимулирует и формирует поэтапное развитие кислых и щелочных протеаз желудочно-кишечного тракта. Это происходит во взаимосвязи с этапами развития, смена периодов развития характеризуется сменой питания.

Вероятно, с началом действия ферментов протеолитического цикла, личинки осетровых рыб усваивают преимущественно пептиды и полипептиды со средней М.м. до 1000-1300 дальтон, то есть, белковые полимеры с относительно низкой молекулярной массой.

ВЫВОДЫ:

1. В развитии пищеварительной системы осетровых рыб характерна этапность. Формирование пищеварительного тракта происходит при наличии основного соответствующего белкового питательного субстрата - полипептидов с М.м. 1000-1300 дальтон. Это связано с физиологической потребностью ранней молоди в белке определенной структуры.

2. Общий уровень водорастворимого протеина в составе стартового комбикорма для осетровых рыб составляет около 40%. Дальнейшее его повышение препятствует процессу грануляции.

3. Присутствие в пище личинок высокого количества свободных аминокислот блокирует развитие пищеварительной системы. Оптимальное содержание (2-3%) способствует усвоению белка в первые 5-10 сут. экзогенного питания.

4. В кормах в период личиночного развития осетровых эффективны в основном полипептиды средней М.м. Оптимальное содержание составляет 15-25%. При их отсутствии в стартовом комбикорме наблюдается истощение личинок и их гибель через 10-12 суток.

5. Наличие растворимого низкомолекулярного белка в составе стартового комбикорма для осетровых рыб с М.м. 10-300 тыс. дальтон, очевидно, способствует постальной активации протеаз и переходу молоди к мальковому периоду развития. Оптимальное содержание НМБ в составе стартового комбикорма равно 10-12%.

6. Продукты микробного синтеза - эприя и БВК-паприн наиболее эффективны в составе стартового комбикорма ОСТ-4 для осетровых рыб, они содержат высокое содержание полипептидов с М.м. 1000-1300, однако предельным количеством в рецептуре, следует считать 50%. Снижение количества рыбной муки ниже 40-45% при увеличении дрожжей в рецептуре более 50%, приводит к недостатку аргинина и триптофана. Такой рацион является физиологически неполноценным.

7. Ферментативный ступенчатый гидролиз продуктов животного происхождения позволяет получить заданную глубину гидролизата (20-25 %) при преимущественном содержании полипептидов с М.м. 1000-1300 дальтон. Промышленные гидролизаты, такие, как мидийный, кормовые продукты с высоким уровнем водорастворимого белка, например кровяная сыворотка кур, содержат недостаточное количество полипептидов с М.м. 1000-1300 дальтон, отличаются дисбалансом фракций. Это ограничивает их в ведение в рецептуры до 10%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Результаты исследований, изложенные в диссертационной работе, позволяют рекомендовать новые способы совершенствования

состава рецептов стартовых комбикормов для осетровых рыб.

1. Разработчикам рецептов комбикормов для молоди осетровых рыб рекомендуется использовать способ балансировки состава фракций белка в соответствии с нормами ввода незаменимых белковых компонентов и физиологической потребностью рыб на определенных этапах развития в белке определенной структуры.

2. Промышленности предложен рецепт стартового комбикорма ОСТ-4 с глубокой балансировкой фракционного состава протеина на основе применения эприна, БВК-палрина, или ферментализата продуктов микробного происхождения. Необходимо увеличить объемы его производства на заводах рыбных гранкормов России.

3. Рекомендуется целесообразность применение ферментативного ступенчатого гидролиза для получения промышленных гидролизатов с глубиной гидролиза 20-25% и оптимальным фракционным составом белковых компонентов.

4. Предложены нормы ввода в состав стартового комбикорма для осетровых рыб ОСТ-4 мидийного гидролизата и сухой кровяной сыворотки кур для комбикормовых заводов при наработке промышленных партий кормов новых рецептов.

По теме диссертации опубликованы следующие работы

1. Новый метод совершенствования состава белковых компонентов стартовых комбикормов для личинок и мальков ценных объектов аквакультуры // Вестник АГТУ, Астрахань, 1995. - Вып. 2. - С. 64-67. (Совторы: Пономарев С.В., Шкодин Н.В., Федосеев И.В.)

2. Новые стартовые комбикорма для молоди осетровых рыб и связанных форелей // Теа. докл. межд. симп. "Ресурсосберегающие техн. в аквакультуре", октябрь, 21-24, 1996 г. Адлер, Россия, Краснодар, 1996. - С. 26. (Совторы: Пономарев С.В., Казарян А.Т., Пономарева Е.Н., Макарова Т.А.).

3. Применение зародышевых пшеничных хлопьев в составе производственных комбикормов для осетровых рыб // Теа. докл. межд. симп. "Ресурсосберегающие техн. в аквакультуре", октябрь, 21-24, 1996 г. Адлер, Россия, Краснодар, 1996. - С. 26. (Совторы: Маринова Г.П., Пономарева Е.Н., Макарова Т.А.).

4. Фракционный состав белковых соединений стартовых комбикормов для молоди осетровых рыб // //Тез. докл. науч. конф. "Сост. и перспективы научно-практических разработок в области марикультуры". Ростов-на-Дону, август, 1996. -С. 237-239. (Соавторы: Пономарев С.В., Маринова Г.П., Пономарева Е.Н., Осипова Л.А., Васильева Н.Я.).

5. Пшеничные зародышевые хлопья как новый перспективный компонент в составе комбикормов для осетровых рыб // //Тез. докл. науч. конф. "Состав и перспективы научно-практических разработок в области марикультуры". Ростов-на-Дону, август, 1996. -С. 240-242. (Соавторы: Пономарев С.В., Попова А.А., Донская П.В., Пономарева Е.Н.).

6. Фракционный состав белковых соединений стартовых кормов для молоди осетровых рыб //Вестник АГТУ, Астрахань, 1997, -Вып. 3. - С. 39-41. (Соавтор Пономарева Е.Н.).