

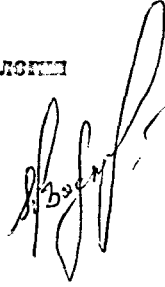
На правах рукописи

01
1218817

**МАСЛОБОЙЩИКОВ
ВАЛЕРИЙ СЕРАФИМОВИЧ**

**РЫБОВОДНО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ
ЭФФЕКТИВНОСТЬ КАРОТИНОИДОВ В
КОМБИКОРМАХ ДЛЯ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ
ONCORHYNCHUS MYKISS**

Специальность: 03.03.10 - иктиология



АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

МОСКВА 1997

Работа выполнена во Всероссийском научно-исследовательском институте пресноводного рыбного хозяйства (ВНИИПРХ)

Научный руководитель:

Доктор биологических наук,
старший научный сотрудник

ГАМЫГИН Е.А.

Официальные оппоненты:

Доктор сельскохозяйственных наук,
профессор

ПРИВЕЗЕНЦЕВ Ю.А

Кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник

КИСЕЛЕВ А.Ю.

Ведущая организация: Всероссийский научно-исследовательский институт морского рыбного хозяйства и океанографии

Защита состоится "23" Декабря 1997 года в 11 ча
на заседании Диссертационного совета Д.117.04.01 при Северо
восточном научно-исследовательском институте пресноводно
го рыбного хозяйства (ВНИИПРХ) по адресу: 141821, Московск
обл., Дмитровский р-н, пос. Рыбное.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ВНИИПРХа.

Автореферат разослан "22" ноября 1997 г.

Ученый секретарь Диссертационного
совета, кандидат биологических наук

Трямкина С.П

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Современное товарное рыбоводство основано на рациональном кормлении рыб. В наибольшей мере это относится к индустриальному товарному рыбоводству, то есть выращиванию рыб в небольших рыбоводных емкостях при практически полном отсутствии естественных кормовых организмов. В настоящее время разработаны и широко используются гранулированные комбикорма для основных видов культивируемых рыб. Эти комбикорма сбалансированы по основным элементам питания и отличаются достаточно высокой физиологической эффективностью. Вместе с тем, основываясь на компонентах, не свойственных рыбам в естественных водоемах, состав комбикормов существенно отличается от естественной пищи рыб. Это вызывает определенные проблемы, среди которых наиболее актуальной является повышение биологической полноценности рационов питания культивируемых объектов.

При создании комбикормов главное внимание было уделено их сбалансированности по основным структурным элементам питания и, в меньшей степени, составу различных групп биологически активных веществ, роль которых как регуляторов многих метаболических процессов чрезвычайно велика. К их числу относятся природные пигменты и, в частности, каротиноиды. Они особенно важны для лососевых рыб, в том числе для радужной форели, занимающей одно из основных мест в аквакультуре.

Каротиноиды представляют собой наиболее многочисленную и широко распространенную группу пигментов. Они входят в состав клеток микроорганизмов, водорослей и высших растений, а также клеток животных и человека (Бриттон, 1986). В товарном рыбоводстве их значение определяется не только физиологической потребностью рыб, но и получением высоких кулинарных свойств продукта, в особенности цвета и вкуса мяса рыб.

Традиционными источниками каротиноидных пигментов, используемыми в кормлении лососевых, являются продукты, получаемые из креветок и других ракообразных. В последние годы в лососевых кормах стали применять некоторые искусственные каротиноиды для повышения пигментации мяса культивируемых рыб, главным образом на заключительной стадии выращивания. Среди них наиболее перспективным является препарат "Карофилл Пинк" и дрожжи *Phaffia rhodozyma*.

Потенциальное преимущество дрожжей заключается в том, что это натуральный продукт, богатый не только каротиноидами, но и витаминами группы В, а также протеином. Наиболее доступным в настоящее время является препарат "Карофилл Пинк", содержащий 8 % чистого астаксантина. По рекомендациям разработчиков (фирма "Хоффман ля Рош") допускается введение астаксантина до 100 мг на 1 кг корма для товарной рыбы. Однако до сих пор остаются неясными вопросы рыбоводно-биологической эффективности и оптимальных концентраций каротиноидных препаратов в составе комбикормов, их влияние на организм рыб. Особую актуальность представляет исследование характера воздействия каротиноидов на рост и физиологическое состояние молоди форели, интенсивности пигментации рыб в зависимости от дозы каротиноидов в корме и других факторов внешней среды.

Цель и задачи исследований. Целью настоящей работы явилось биологическое обоснование нормы ввода каротиноидов в комбикорма для форели в период от перехода на экзогенное питание до товарной массы.

Для достижения этой цели необходимо было решить ряд конкретных задач:

- изучить влияние каротиноидов на выживаемость икры в процессе оплодотворения и инкубации;
- определить оптимальный уровень каротиноидов в корме для молоди форели в процессе роста и развития;
- оценить влияние каротиноидов на физиологическое состояние молоди форели;
- определить оптимальный уровень каротиноидов в рационе для получения товарной форели с окрашенными мышцами;
- изучить влияние некоторых факторов внешней среды на скорость окрашивания мышц.

Научная новизна. Обоснована необходимость введения каротиноидов в комбикорма для разновозрастной форели и целесообразность использования каротиноидного препарата "Карофилл Пинк" в качестве источника астаксантина. Предложен способ обогащения комбикормов астаксантином и кантаксантином с сохранением их активности. Впервые исследовано влияние астаксантина на рост, выживаемость, физиологическое состояние и эффективность кормления форели от начала экзогенного питания до достижения ею товарной массы. Установлено, что характер воздействия каротиноидов зависит от их со-

держания в рационе и массы рыб. Показано, что оптимальное количество каротиноидов в корме способствует увеличению темпа роста и выживаемости молоди, оказывает белоксберегающий и энергосберегающий эффекты.

Изучено влияние каротиноидов на повышение коммерческой и кулинарной ценности радужной форели. Определена оптимальная доза каротиноидов в продукционном корме для товарной форели, вызывающая пигментацию рыб, время, за которое достигается интенсивная окраска мяса, найдена зависимость скорости окрашивания мышц от температуры воды. Показано, что оптимальное количество каротиноидов в корме способствует повышению его продуктивности.

Наличие каротиноидов в комбикормах для производителей форели повышает интенсивность окрашивания икры. Икра радужной форели, содержащая высокий уровень каротиноидов, отличается максимальной выживаемостью при инкубации.

Практическая значимость. Исследования по оценке влияния каротиноидных пигментов на рост, развитие и физиолого-биохимический статус молоди форели, коммерческую и кулинарную ценность товарной форели, концентрацию астаксантина в икре, выживаемость икры при оплодотворении и инкубации позволили определить и рекомендовать для практического использования нормы ввода каротиноидов в комбикорма для разновозрастных групп рыб. На основе выявленных зависимостей между количеством каротиноидов в кормах, продолжительностью их применения, температурой воды и интенсивностью окрашивания мышц форели можно осуществлять конкретный выбор технологии кормления и выращивания рыб.

Предложен метод обогащения комбикормов каротиноидами, при котором они сохраняют максимальную активность. Как наиболее доступный для промышленного использования источник каротиноидов рекомендован препарат "Карофилл Пинк".

Апробация работы. Основные материалы диссертации представлены и обсуждены на совместных коллоквиумах НТЦ "Аквакорм" и отдела лососеводства ВНИИПРХ. Производственные испытания комбикормов с добавкой "Карофилл Пинк" были успешно проведены на рыбоводных заводах Латвии.

Публикации. По теме диссертации опубликовано пять работ.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 109 страницах машинописного текста, состоит из введения, 8 глав, зак-

лечения, выводов и списка литературы. Текст иллюстрирован 19 таблицами и двумя рисунками. Список литературы включает 166 работ, в том числе 76 на иностранных языках.

Глава 1. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ КАРОТИНОИДОВ В СВЯЗИ С ПОВЫШЕНИЕМ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОРМЛЕНИЯ РЫБ (аналитический обзор литературы)

В главе представлена сводка литературных данных о биологическом значении каротиноидов, обсуждены вопросы их происхождения, пути метаболизма у животных, показано значение этих пигментов в жизни рыб. Представлены подробные сведения о каротиноидах лососевых рыб, которые до настоящего времени были ограничены перечнем пигментов и некоторыми данными о влиянии их на выживаемость при оплодотворении и инкубации икры.

Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования влияния каротиноидов в составе стартового комбикорма на рост и развитие молоди форели выполнены в 1991-1994 гг. в НТЦ "Акватория" ВНИИПРХ. Опытные работы по влиянию каротиноидов на окраску мышц радужной форели проведены в аквариальной и форелевом участке ВНИИПРХ. Объектами исследований служили икра, предличинки, личинки, мальки, сеголетки, двухлетки и производители радужной форели.

Производителей форели в процессе формирования половых продуктов кормили комбикормом рецепта РГМ-8ПК. В процессе опытов в течение двух недель перед нерестом к корму добавляли препарат "Карофилл Пинк" в количестве 200 мг/кг. Производителей содержали в алюминиевых бассейнах размером 300 x 150 x 150 см при плотности посадки 25 шт./м². Температура воды составляла 10 - 12⁰С, pH среды была близка к 7, содержание кислорода 8 мг/л. Результаты опыта оценивали по концентрации каротиноидов в овулировавшей икре.

Оплодотворенную икру с помощью мерного стакана размещали в инкубационный аппарат системы "ИМ" (Канидзев, 1973). Предличинки выдерживали на сетчатых рамках, установленных в пластиковые бассейны размером 200 x 200 x 40 см с центральным стоком и с круговым движением воды. Плотность посадки составляла 1000 шт./м² при

уровне воды от 10 до 20 см.

Личинок с момента подъема на плав и начала активного питания содержали в прямооточных пластиковых емкостях размером 20 x 12 x 10 см с плотностью посадки 1000 шт./м², мальков и сеголетков - в прямооточных пластиковых коветах размером 45 x 30 x 20 см с той же плотностью посадки.

Годовиков и двухлетков содержали в прямооточных бассейнах из стекловолокна размером 60 x 35 x 20 см с плотностью посадки 500 шт./м². При инкубации икры и выдерживании предличинки температура воды составляла 6,5⁰С, в период выращивания личинок, мальков и сеголетков - 12-13⁰С, годовиков и двухлетков - от 10 до 15⁰С. Газовый состав воды соответствовал нормам, установленным ОСТом для рыбоводных хозяйств (Шестерин и др., 1985). Содержание растворенного в воде кислорода не опускалось ниже 7,5 мг/л, реакция среды (рН) - в пределах 6,5 - 7,5. При исследовании влияния температуры воды на интенсивность окрашивания мышц форели родниковую воду подогревали от 10 до 15⁰С.

Кормление личинок начинали с момента поднятия на плав и перехода их на активное питание. Технология кормления во всех опытах соответствовала общепринятым нормам (Канидзев, Гамыгин, 1985). Для молоди форели до возраста сеголетка использовали стандартный стартовый комбикорм рецепта РГМ - 6М, для годовиков-двухлетков - производственный комбикорм РГМ - 5В, для производителей - РГМ - 8ПК. Комбикорма изготавливали в цехе гранулированных кормов ВНИИПРХ по стандартной технологии методом сухого прессования. В опытные комбикорма вводили различное количество каротиноидов по 25 вариантам опытов.

В качестве источника астаксантина применяли препарат "Карофилл Пинк", для годовиков-двухлетков - также опытный препарат кантаксантин, изготовленный в НПО "Витамин". Оба препарата представляли собой кристаллический темно-красный порошок.

Количество "Карофилла", вводимого в комбикорм для личинок, мальков и сеголетков в первой серии опытов, составляло величину, обеспечивающую 5, 10, 25, 50, 75 и 100 мг чистого астаксантина в 1 кг комбикорма. Во второй серии экспериментов испытаны корма с содержанием астаксантина соответственно опытам 1 - 5: 25, 35, 50, 60, 75 мг на 1 кг комбикорма. В варианте 6 использовали дифференцированное введение астаксантина на 1 кг комбикорма, в зависимос-

ти от массы рыбы - от поднятия личинок на плав до массы 1,5-2,0 г - 10 мг, - от 2,0 до 10,0 г - 25 мг, - от 10,0 г и до конца опыта - 50 мг. Для годовиков-двухлеток вводили - 25, 50, 75 и 100 мг чистого астаксантина в 1 кг комбикорма. Количество кантаксантина в комбикорме для годовиков-двухлеток составляло 50 и 200 мг на 1 кг корма. Кормовой препарат микробиологического синтеза с дрожжами *Phaffia rhodozyma* добавляли в количестве 10, 15 и 20 %, что составляло концентрацию астаксантина 180, 270 и 360 мг на 1 кг корма. В качестве контроля использовали комбикорм без каротиноидов.

Результаты опытов оценивали по совокупности общепринятых рыбоводно-биологических показателей: выживаемости икры, молоди и товарной рыбы, скорости роста разных возрастных групп форели, затратам кормов на единицу прироста, эффективности использования протеина и энергии на рост. Прирост рыб определяли еженедельно по результатам контрольных взвешиваний. Суточный рацион и размер крупки определяли на основании средней массы рыб (Канидьев, Гамыгин, 1985). Выживаемость фиксировали по данным учета погибшей рыбы.

Для оценки эффективности кормления использовали известные методы оценки питательности корма (Пучков, 1954; Правдин, 1966; Щербина, 1983; Скляров и др., 1985). Общий химический анализ кормов и рыб проводили по общепринятым методикам (Щербина, 1983). Концентрацию каротиноидов в комбикормах и рыбе определяли по методике, предложенной В.Н. Карнауховым (1988). Содержание витамина А в печени молоди радужной форели определяли спектрофотометрическим методом на приборе "СФ - 46" (Шварц, Карнаухов, 1968; Карнаухов, 1988). Исследовали также состав периферической крови: содержание гемоглобина, количество эритроцитов и лейкоцитов в 1 мм³ крови и лейкоцитарную формулу. Концентрацию гемоглобина определяли по Сали, количество эритроцитов с помощью камеры Горяева (Голодец, 1964; Лиманский и др., 1986). Количество лейкоцитов определяли косвенным методом (Житнева и др., 1989). Клетки крови идентифицировали по классификации Н.Т.Ивановой (1970, 1989).

Результаты исследований обработаны на компьютере IBM PC. При этом определяли среднюю арифметическую, достоверность различий по критерию Стьюдента, коэффициент корреляции (Дрейгер, Смит, 1987; Лакин, 1990).

За период работы было испытано 15 вариантов кормов для личинок, мальков и сеголетков радужной форели и 10 вариантов - для годовиков - двухлетков. Для рыбоводно-биологических анализов использовали 6 тыс. икринок, предличинок и личинок, 2 тыс. мальков, сеголетков и годовиков-двухлетков, исследовали кровь у 180 рыб. Проведено 200 специальных биохимических определений, в том числе 50 анализов витамина А и 150 - каротиноидов.

Глава 3. КОМБИКОРМА И ИСТОЧНИКИ КАРОТИНОИДОВ

Комбикорма РГМ - 6М, РГМ - 5В, РГМ - 8ПК, используемые в опытах, были разработаны во ВНИИПРХе в 70^е - 80^е года и в настоящее время являются наиболее популярными и широко применяются в товарном форелеводстве. (Канидзев, Гамыгин, 1974, 1975, 1977; Гамыгин и др., 1989). В их составе находится 40-50% сырого протеина, 8-12% сырого жира, 13 витаминов и витаминоподобных веществ.

В качестве источников каротиноидов, как было указано выше, использовали кормовой препарат микробиологического каротина, препарат кристаллического кантаксантина и "Карофилл Пинк". Препарат "Карофилл Пинк" включает 8% астаксантина, наполнитель, а также антиоксиданты. Его гарантийный срок хранения - 6 мес.

Препарат кантаксантина, представляет собой синтезированный кристаллический чистый пигмент кантаксантин.

Кормовой продукт микробиологического синтеза содержит 1,8 мг астаксантина в 1 г сухого вещества, а также около 10% жира и 28% белка.

Выбор этих препаратов обусловлен прежде всего содержанием каротиноидов, свойственных рыбам. Немаловажным фактором является получение этих препаратов в промышленных масштабах и возможность их широкого использования в производстве комбикормов.

Глава 4. НАКОПЛЕНИЕ КАРОТИНОИДОВ В ИКРЕ И ИХ РОЛЬ В ЭМБРИОНАЛЬНОМ РАЗВИТИИ ФОРЕЛИ

В процессе формирования половых продуктов самок лососевых, каротиноиды в том или ином количестве переходят в кожу. Накопление каротиноидов в овочитах происходит у различных видов не одинаково. Содержание ксантофилов в зрелых овочитах различных видов

рыб колеблется от 0.1 до 10 мг%. Динамика процесса накопления также различна. У пресноводных рыб не наблюдается больших колебаний концентрации каротиноидов в овоцитах, причем различия, по мнению А.А. Яржомбека (1977), нельзя объяснить степенью зрелости половых продуктов. Во время нереста лососевых происходят значительные изменения в метаболизме каротиноидов. Особенно заметно накопление каротиноидов в коже лососевых. Появляется обусловленная наличием каротиноидов брачная окраска (Яржомбек, 1970).

Производители радужной форели, особенно самцы, содержащиеся на комбикормах с астаксантином, по нашим данным, имели более выраженную брачную окраску.

Икра, полученная от производителей, содержащихся на корме с добавкой каротиноидов, была оранжевого цвета, в ней содержалось 2,5 мг% астаксантина. Количество мертвой икры, выявленной на следующий после оплодотворения и закладки на инкубацию день составило 0,7 % от общего количества. В контроле у икры от производителей, содержащихся на корме без добавления каротиноидного препарата, был слабо - желтый цвет, и она содержала лишь 1,5 мг% астаксантина. Отход ее за тот же период составил 1,5 %.

Инкубация икры продолжалась 42 дня. В опыте за время инкубации отход икры составил 16,3%, в контроле - 43,3% или в 2,7 раза больше (рис. 1). За период инкубации икры концентрация каротиноидов снизилась в опыте до 0,634 мг%, а в контроле - до 0,370 мг%, то есть расход каротиноидов составил 75,3% в контроле и 74,6% в опыте.

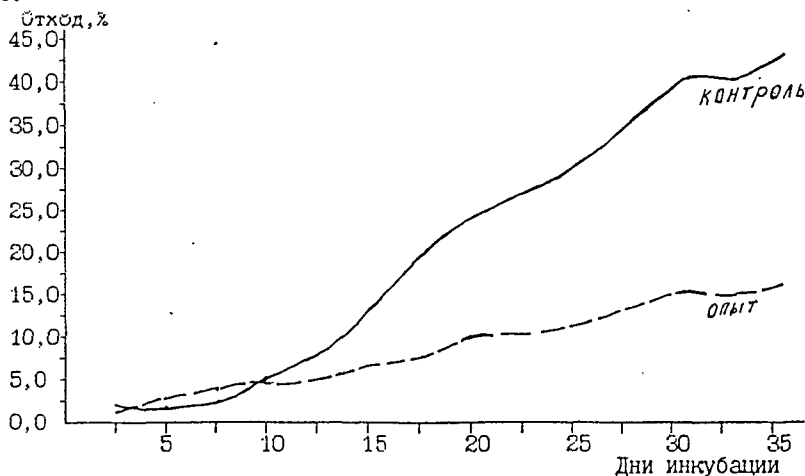


Рис. 1. Отход икры за период инкубации

За период от оплодотворения икры до поднятия личинок на плав выживаемость рыб в опыте была выше на 18,9%.

Таким образом, нами установлено, что добавка в корм для производителей форели препарата "Карофилл Линк" способствовала более интенсивному накоплению астаксантина в продуцируемой ими икре, что в свою очередь позволило существенно повысить ее выживаемость при инкубации.

Глава 5. ВЛИЯНИЕ АСТАКСАНТИНА ДРОЖЕЙ PACFIA RODOZYMA НА РОСТ, РАЗВИТИЕ, ОКРАСКУ МОЛОДИ И ДВУХЛЕТКОВ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ

Добавка в корм астаксантинсодержащих дрожжей не оказала положительного влияния на рост двухлетков. Так, если в течение первой половины эксперимента опытные комбикорма имели некоторое преимущество перед контрольным, то в дальнейшем различия сгладились. Более того, по итогам выращивания опытные варианты даже несколько уступали контрольному.

По завершении опыта не было отмечено усиления пигментации тела форели. В мышцах содержалось лишь незначительное количество астаксантина - 0,001 мг/кг рыбы, в коже несколько больше - 0,04 мг/кг. Выживаемость рыб в опыте и контроле составила 100%. Затраты корма колебались в пределах 0,9 - 1,1 ед. и были несколько выше в контроле. Химический состав тела рыб и их гематологические показатели в опыте и в контроле не различались и соответствовали показателям здоровой рыбы соответствующей массы (Яржомбек А.А. и др., 1986).

В опытах с молодь форели, которую выращивали от личиночной стадии развития, были получены аналогичные результаты. Так, на 21 день максимальная скорость роста рыб отмечена на корме, содержащем 10% дрожжей, масса молоди достигла - 0,55 г, что на 14,6% больше, чем в контроле. В дальнейшем молодь в опытных вариантах росла медленнее, чем в контроле. Ее прирост по вариантам опыта был на 13 - 24% ниже, чем в контроле.

За период опытного выращивания отход молоди форели был приблизительно одинаков. Выживаемость составила 94%. Затраты корма колебались в пределах 2,0 - 2,2 ед., причем в опыте они были несколько выше, чем в контроле.

Таким образом, введение в корм для молоди и двухлетней форели дрожжей *Paffia rodouzuma* не способствует ускорению темпа роста рыб. Вероятно, это объясняется низкими питательными свойствами продукта и нарушением белкового баланса кормов. Добавление в рационы дрожжей в различных концентрациях не оказало влияния на окраску мышц форели. Отрицательный результат, видимо, можно объяснить отсутствием в составе желудочного сока форели фермента, разрушающего оболочку дрожжей. Вероятно, дрожжи следует предварительно обработать, например, методом автолиза. Это, возможно, позволит освободиться от твердых оболочек, тогда свободный астаксантин будет усваиваться в желудочно - кишечном тракте рыб. Нативную форму испытанного продукта микробного синтеза не следует рассматривать в качестве источника астаксантина в форелевых комбикормах.

Глава 6. ВЛИЯНИЕ АСТАКСАНТИНА ПРЕПАРАТА "КАРОФИЛЛ ПИНК" НА РОСТ И РАЗВИТИЕ МОЛОДИ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ

В первой серии молодь форели с первых дней выращивания активно потребляла комбикорм. В начальный период кормления (30 дней) наиболее высокий результат был отмечен на корме, содержащем 10 мг/кг астаксантина - молодь достигла массы 1,5 г, то есть на 25 % выше, чем в контроле. На 40 и 50 дни наиболее высокий прирост рыб был отмечен на корме, содержащем пигмент в количестве 25 мг/кг - молодь достигла массы 2,0 и 2,5 г, то есть, соответственно, на 8 и 14 % выше, чем в контроле. Начиная с 85 дня и до конца опыта. максимальная скорость роста молоди отмечена на корме, имеющем в составе астаксантин в количестве 50 мг/кг - конечная масса составила 60,1 г, или на 18% выше, чем в контроле (табл. 1).

Результаты опытов показали, что скорость роста молоди форели зависит от уровня каротиноидов в корме. Обогащение кормов астаксантином в оптимальных концентрациях позволяет повысить их продуктивное действие.

Показатели затрат кормов, расхода протеина и энергии, а также выживаемости рыб подтверждают необходимость строго дозировать уровень каротиноидов, не допуская как их недостатка, так и избытка. Так, наиболее высокая выживаемость молоди отмечена в варианте 2 - 88%, несколько ниже - в вариантах 3, 4 и 5 - 72%, минимальная

- в вариантах 1 и 6. Самые низкие затраты корма, протеина и энергии на 1 кг прироста рыб были также в варианте 2, несколько выше в вариантах 3, 4 и 5, еще выше - в вариантах 1 и 6.

Таблица 1
Рост молоди радужной форели при добавлении в комбикорм астаксантина препарата "Карофилл Пинк" (1 серия опытов)

| Варианты опыта | Количество астаксантина | Масса молоди, г | | Прирост молоди | | |
|----------------|-------------------------|-----------------|---------------|----------------|--------------------|----------------------------|
| | на 1 кг корма, мг | в начале опыта | в конце опыта | абсолютный, г | средне-суточный, % | по отношению к контролю, % |
| 1 | 5 | 0,26 | 49,4 | 49,1 | 1,23 | 96,8 |
| 2 | 10 | 0,26 | 57,5 | 57,2 | 1,23 | 112,8 |
| 3 | 25 | 0,26 | 51,5 | 51,2 | 1,24 | 101,0 |
| 4 | 50 | 0,26 | 60,1 | 59,9 | 1,24 | 118,0 |
| 5 | 75 | 0,26 | 56,2 | 56,0 | 1,24 | 110,3 |
| 6 | 100 | 0,26 | 48,9 | 48,6 | 1,24 | 95,8 |
| Контроль | ----- | 0,26 | 51,0 | 50,7 | 1,23 | 100,0 |

Введение астаксантина в количестве более 50 мг на 1 кг корма привело к увеличению содержания жира в теле рыб на 18-20% и одновременно снижению уровня белка на 5-7%. Другие химические показатели были близки к контролю и соответствовали физиологическим нормам.

Изучение динамики роста молоди форели на опытных комбикормах позволило предположить, что в зависимости от массы молоди оптимальный уровень астаксантина в корме составляет следующие величины: от поднятия личинок на плав до массы мальков 2,0 г - 10 мг/кг, при массе молоди 2,0-5,0 г - 25 мг/кг, свыше 5,0 г - 50 мг/кг корма.

Для проверки этого варианта, названного дифференцированным, а также уточнения полученных результатов была проведена вторая серия опытов с молодь. На начальном этапе выращивания рыб наиболее высокая скорость роста форели отмечена на варианте с дифференцированным вводом каротиноидов - прирост был на 2% выше, чем в

контроле. При массе молоди от 2 до 5 г очень близкие результаты отмечены в вариантах опыта с дифференцированным вводом астаксантина и содержащем 25 мг/кг. На 25 день кормления масса рыбы была соответственно выше на 10 и 7%, а на 35-й день на 5 и 7% по сравнению с контролем. В дальнейшем, по мере роста форели от 5 до 10 - 12 г лучшие результаты были отмечены на корме, содержащем 35 мг/кг астаксантина, а также в варианте с дифференцированным кормлением. При массе форели 12 - 14 г наиболее высокий прирост рыб отмечен в вариантах с дифференцированным вводом астаксантина и содержащем 50 мг/кг - соответственно на 24 и 21% больше, чем в контроле. По окончании опыта наиболее высокой массы достигла рыба на варианте с дифференцированным вводом астаксантина - 20,3 г, или на 17% выше, чем в контроле (табл. 2).

Таблица 2

Рост молоди радужной форели при добавлении в комбикорм астаксантина препарата "Карофилл Пинк"
(2 серия опытов)

| Вариант опыта | Концен- трация астак- сантина мг/кг корма | Масса молоди, г | | Прирост молоди | | |
|------------------|--|---------------------|--------------------|----------------------|--------------------------|-------------------------|
| | | в начале опыта | в конце опыта | абсолют- ный, г | среднесу- точный, % | относитель- ный, % |
| 1 | 25 | 0,675 | 17,38 | 16,705 | 1,54 | 2527 |
| 2 | 35 | 0,675 | 18,54 | 17,865 | 1,55 | 2747 |
| 3 | 50 | 0,675 | 19,84 | 19,165 | 1,56 | 2939 |
| 4 | 60 | 0,675 | 19,39 | 18,715 | 1,55 | 2873 |
| 5 | 75 | 0,675 | 19,05 | 18,375 | 1,55 | 2822 |
| 6 | Дифференци- рованная | 0,675 | 20,33 | 19,657 | 1,56 | 3012 |
| Контроль | --- | 0,675 | 17,83 | 16,655 | 1,54 | 2567 |

При использовании в составе комбикормов препарата "Карофилл Пинк" 6 и 9-месячного срока хранения скорость роста молоди форели практически не изменяется в сравнении со свежим препаратом. Введение этой каротиноидной добавки, хранившейся 12 месяцев, приводит к снижению темпа роста рыб на 27%. Очевидно, при хранении

происходит некоторая потеря активности препарата "Карофилл Пинк" и частичное разрушение астаксантина.

Необходимость добавки в комбикорма каротиноидов в строго определенном количестве в зависимости от массы молоди подтверждается также данными по затратам корма и выживаемости рыб. Так, в варианте с дифференцированным вводом астаксантина выживаемость форели составила 100%, что на 8% выше, а затраты корма, протеина и энергии на 1 кг прироста на 7% ниже, чем в контроле (табл. 3). Избыточное содержание каротиноидов в комбикорме (варианты 3, 4 и 5) не оказало положительного влияния на выживаемость рыб и эффективность утилизации питательных веществ рациона.

Таблица 3

Затраты корма, протеина и энергии на 1 кг прироста и выживаемость молоди форели при введении в комбикорм астаксантина
(2 серия опытов)

| Вариант опыта | Количество астаксантина, мг/кг корма | Кормовые затраты, ед | Затраты протеина, кг | Затраты энергии, МДж | Выживаемость рыб, % |
|----------------------|--------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|
| 1 | 25 | 1,45 | 0,65 | 18,85 | 98 |
| 2 | 35 | 1,44 | 0,65 | 18,72 | 95 |
| 3 | 50 | 1,50 | 0,68 | 19,50 | 79 |
| 4 | 60 | 1,48 | 0,67 | 19,24 | 83 |
| 5 | 75 | 1,47 | 0,66 | 19,11 | 88 |
| 6 Дифференцированная | | 1,39 | 0,63 | 17,68 | 100 |
| Контроль --- | | 1,49 | 0,67 | 19,37 | 92 |

Введение в комбикорм астаксантина привело к увеличению количества жира в теле рыб на 4-26 %, причем, по мере роста концентрации каротиноида, происходит усиление накопления липидов в тканях (табл. 4). Добавление каротиноида до 50 мг на 1 кг комбикорма приводит к увеличению содержания белка в теле форели на 15 - 16%. Эти данные подтверждают необходимость ввода каротиноидов в строго

определенном количестве в зависимости от массы молоди. Другие показатели химического состава тела опытных групп рыб были близки к контролю и соответствовали физиологическим нормам. Окрасивания мяса форели на всех испытанных кормах отмечено не было.

Таблица 4
Химический состав молоди радужной форели при добавлении
в комбикорм астаксантина, %
(2 серия опытов)

| Вариант опыта | Концентрация астаксантина, мг/кг корма | Сухое вещество | Белок | Жир | Зола | Влага |
|------------------|---|-------------------|-------|-----|------|-------|
| 1 | 25 | 26,8 | 15,4 | 7,3 | 2,3 | 73,2 |
| 2 | 35 | 26,1 | 15,5 | 7,4 | 2,2 | 74,0 |
| 3 | 50 | 26,3 | 16,4 | 7,6 | 2,1 | 73,7 |
| 4 | 60 | 26,6 | 14,2 | 7,9 | 2,3 | 73,4 |
| 5 | 75 | 26,3 | 14,0 | 8,8 | 2,0 | 73,7 |
| 6 | Дифференциро- ванная | 26,7 | 16,8 | 7,4 | 2,0 | 73,3 |
| Контроль | ----- | 25,6 | 14,2 | 7,0 | 2,0 | 74,4 |

Таким образом, в результате исследований установлено положительное влияние астаксантина в составе стартового комбикорма на рост и физиологическое состояние молоди форели, зависящее от дозы каротиноида и массы рыбы. В зависимости от массы молоди оптимальный уровень астаксантина в комбикорме должен составлять следующие величины: от поднятия личинок на плав до массы мальков 2,0 г - 10 мг/кг, при массе молоди 2,0-5,0 г - 25 мг/кг, при массе 5,0-10,0 г - 35 мг/кг, свыше 10,0 г - 50 мг/кг корма. Введение в комбикорм астаксантина в указанном выше количестве способствует повышению темпа роста молоди форели до 17%. Во время постэмбрионального развития рыб астаксантин накапливается в коже, достигая концентрации 0,2-0,4 мг/кг. В раннем возрасте форель не накапливает каротиноиды в мышцах. Эффективность препарата "Карофилл Пинк" зависит от срока хранения.

Глава 7. ВЛИЯНИЕ АСТАКСАНТИНА ПРЕПАРАТА "КАРОФИЛЛ ПИНК"
И КАНТАКСАНТИНА НА РОСТ, РАЗВИТИЕ И
ОКРАСКУ МЫШЦ ДВУХЛЕТКОВ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ

Кормление комбикормами, содержащими астаксантин и кантаксантин, оказало положительное влияние на темп роста, интенсивность и скорость окраски тканей двухлетков форели (табл. 5). Это влияние зависело от количества каротиноидов в кормах, срока их применения и температуры воды.

Минимальный период окрашивания мышц составлял 8-9 недель при температуре воды 15⁰С и дозе астаксантина 100 мг на 1 кг корма (опыт 7). Снижение температуры воды до 10⁰С увеличивало срок достижения такого же уровня окрашивания до 11-12 недель, то есть на 30% (опыт 6). Была установлена тесная связь между концентрацией каротиноидов в корме и цветом мышц. Это позволило определить зависимость срока окраски мяса от дозы каротиноидов и температуры воды (табл. 6). По нашим данным при одной и той же температуре воды, по мере снижения дозы пигмента в корме в 2 раза, время, необходимое для окраски мышц, увеличивалось на 10-15%, то есть на 1-2 недели (опыт 4).

Таблица 6
Интенсивность окраски мышц форели, в баллах

| Продолжи- тельность кормления, недели | Опыты | | | | | | | | | Контроль |
|--|-------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---|----------|
| | 1а | 1б | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | | |
| 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0-1 | 1 | 1-2 | 0 | |
| 9 | 1 | 1 | 1 | 0-1 | 1-2 | 1-2 | 2 | 3 | 0 | |
| 11 | 1-0 | 2 | 2 | 1 | 2 | 2 | 2-3 | --- | 0 | |
| 12 | 0 | 3 | 3 | 1-2 | 2-3 | 3 | 3 | --- | 0 | |
| 13 | --- | --- | --- | 2 | 3 | --- | --- | --- | 0 | |
| 17 | --- | --- | --- | 2-3 | --- | --- | --- | --- | 0 | |

В экспериментах 1993 г., при содержании в корме 50 мг/кг

Таблица 5

Некоторые показатели выращивания двухлетков радужной форели
при добавлении в комбикорм астаксантина и кантаксантина
(продолжительность опыта 80 дней)

| Показатели | Количество астаксантина, мг/кг | | | | | Количество кантаксантина, мг/кг | | Контроль |
|------------------------------------|--------------------------------|------|------|------|------|---------------------------------|-------------|----------|
| | Варианты опытов | | | | | и кантаксан- | тина, мг/кг | |
| | 25 | 50 | 75 | 100 | 100 | 50 | 50+50 | |
| | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 * | 1 | 2 | |
| Количество рыб, шт | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Средняя масса: | | | | | | | | |
| - начальная | 146 | 149 | 138 | 129 | 134 | 133 | 127 | 150 |
| - конечная | 276 | 270 | 250 | 250 | 247 | 238 | 218 | 255 |
| Прирост, % | 89 | 81 | 81 | 94 | 84 | 79 | 72 | 70 |
| Прирост по отношению к контролю, % | 127 | 116 | 116 | 134 | 136 | 113 | 103 | 100 |
| Кормовой коэффициент | 1,6 | 1,5 | 1,6 | 1,6 | 1,8 | 1,7 | 2,2 | 1,7 |
| Температура воды, °С | 10,3 | 10,3 | 10,3 | 10,3 | 14,6 | 10,3 | 10,3 | 10,3 |

* Продолжительность опыта - 63 дня.

свежего кантаксантина (вариант 16) для придания мясу форели ярко-розового цвета потребовалось 12 недель, то есть почти столько же, сколько и в опытах 2, 4, 5 и 6 с добавлением препарата "Карофилл Пинк". С увеличением дозы кантаксантина в корме в 4 раза (от 50 до 200 мг/кг), время окраски мяса сократилось на 25% - от 12 до 9 недель (табл. 7). Следовательно, отложение пигмента в теле рыб ограничено скоростью метаболических процессов, и его избыток в корме не успевает усвоиться. По нашим данным, оптимальный уровень составляет 25- 50 мг каротиноида в чистом виде на 1 кг корма. Увеличение срока кормления более установленного не приводит к усилению окраски мышц. Прирост массы тела форели в опытах с добавлением каротиноидов был в среднем на 15-30% выше, чем в контроле, при относительно равных затратах корма.

Таблица 7

Влияние уровня астаксантина и кантаксантина на интенсивность окраски мышц радужной форели

| Показатели | Количество | | | | Количество | |
|--|---------------------|-----|-----|-----|-------------|-----|
| | астаксантина, мг/кг | | | | кантаксан- | |
| | корма | | | | тина, мг\кг | |
| | 25 | 50 | 75 | 100 | 50 | 200 |
| Время, необходимое для окраски мяса: | | | | | | |
| а) градусо-дней при 10 ⁰ С | 1200 | 910 | 840 | 830 | 870 | 630 |
| б) градусо-дней при 15 ⁰ С | --- | --- | --- | 870 | --- | --- |
| в) недель при 10 ⁰ С | 17 | 13 | 12 | 12 | 12 | 9 |
| г) недель при 15 ⁰ С | ---- | --- | --- | 8-9 | --- | --- |
| д) недель (по данным "Хоффман ля Рош") | --- | 14 | 8 | 4 | --- | --- |
| Расход каротиноидов, мг на 1 кг прироста рыбы | 40 | 80 | 120 | 180 | 85 | 340 |
| Коэффициент конверсии каротиноидов при содержании их 3-4 мг в 1 кг мяса, % | 10 | 5 | 3 | 2 | 5 | 1 |

В отдельных опытах был использован кантаксантин, хранившийся

при температуре минус 18⁰С 12 мес. со дня его изготовления (вариант 1а). При этом яркой окраски мяса форели достигнуть не удалось. Если в первые 7 - 8 недель мышцы слегка порозовели, то при дальнейшем кормлении интенсивность их окраски не только не увеличилась, но даже снизилась до первоначального уровня, то есть до уровня цвета мяса форели в контрольном варианте (см.табл. 6).

В составе комбикормов срок хранения каротиноидов снижается в 2-3 раза. Так, при первоначальном содержании 50 мг/кг астаксантина в комбикорме, через 6 мес. хранения в комнатных условиях его осталось 20-25 мг на 1 кг корма.

После прекращения кормления форели кормом с каротиноидами начинается обратный процесс - снижение интенсивности окраски мяса, скорость которого несколько ниже, но примерно соответствует скорости накопления.

Таким образом, опыты показали хорошую способность форели аккумулировать каротиноиды, о чем свидетельствовало окрашивание ее мышц. Скорость их накопления в теле форели и интенсивность окраски зависят от количества каротиноидов в корме и препарате, длительности кормления и температуры воды, срока хранения препарата.

Глава 8. ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ МОЛОДИ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ НА ВВЕДЕНИЕ КАРОТИНОИДОВ

Витамин А. Исследования показали наличие зависимости уровня витамина А в печени молоди форели от количества каротиноидов в потребляемых кормах. Введение в рацион 5 мг астаксантина на 1 кг корма(1 вариант) увеличило содержание витамина А в печени молоди форели до 29 мг/100 г сырой ткани или на 7% относительно контроля. При увеличении количества астаксантина до 10, 25, 50 мг на 1 кг корма концентрация витамина А в печени рыб повысилась, соответственно, на 17,0, 43,4 и 88,7% к контролю и составила 32, 39 и 50 мг/100 г сырой ткани. С увеличением содержания астаксантина в рационе до 75 и 100 мг на 1 кг корма, скорость накопления витамина А в печени рыб несколько снизилась, но его абсолютное содержание было близким к варианту опыта с добавлением 50 мг каротиноида на 1 кг корма и составило 52 и 53 мг/100 г сырой ткани. Следовательно, введение в рацион молоди каротиноидных пигментов способствует накоплению витамина А в печени рыб, однако интенсивность

накопления не пропорциональна уровню вводимых каротиноидов.

Вероятно, содержание витамина А в печени молоди форели в количестве 50 мг/100 г сырой ткани является пределом, превышение которого может быть охарактеризовано как начало гипervитаминоза А. Именно введению астаксантина в концентрации свыше 50 мг на 1 кг комбикорма, и содержанию витамина А в печени молоди форели в количестве более 50 мг/100 г сырой ткани, соответствует снижение скорости роста молоди и повышение затрат корма.

Таким образом, уровень витамина А в печени молоди форели зависит от количества каротиноидов в кормах и по нашим данным составляет от 29 до 50 мг/100 г сырой ткани.

Состав крови. В первой серии опыта при уровне астаксантина до 50 мг/кг корма состав периферической крови молоди форели был близок к норме (Яржомбек и др., 1986). Однако при введении в комбикорм астаксантина свыше 50 мг/кг наблюдали снижение количества эритроцитов на 4-14% и некоторое уменьшение количества гемоглобина. В составе лейкоцитов отмечено снижение на 2-3% количества лимфоцитов и некоторое увеличение количества моноцитов и нейтрофилов.

Во второй серии опыта данные анализа периферической крови молоди форели были близкими к результатам первой серии (табл. 8).

Таблица 8

Состав крови молоди радужной форели при добавлении
в комбикорм астаксантина
(2 серия опытов)

| Варианты опыта | Астаксан- тин, мг/кг корма | Эритроциты, млн./мм ³ | Гемогло- бин, г% | Лейкоциты, % | | |
|-------------------|----------------------------------|-------------------------------------|---------------------|----------------|---------------|------------|
| | | | | лимфо- циты | моно- циты | нейтрофилы |
| 1 | 25 | 1,36 | 8,1 | 90,0 | 2,1 | 7,9 |
| 2 | 35 | 1,36 | 8,2 | 89,4 | 2,2 | 8,4 |
| 3 | 50 | 1,35 | 8,3 | 89,1 | 2,3 | 8,6 |
| 4 | 60 | 1,35 | 8,3 | 88,9 | 2,4 | 8,7 |
| 5 | 75 | 1,30 | 7,9 | 88,1 | 2,9 | 9,0 |
| 6 | Дифференци- рованный | 1,36 | 8,2 | 90,0 | 2,1 | 7,9 |
| Контроль | ---- | 1,36 | 8,1 | 90,0 | 2,0 | 8,0 |

Таким образом, содержащиеся в кормах каротиноиды в количестве от 5 до 50 мг/кг не оказали негативного воздействия на состояние крови рыб. При превышении этих концентраций наблюдалось некоторое ухудшение состава крови молоди, что свидетельствует об их избытке. На наш взгляд наблюдаемое в случае использования повышенного количества астаксантина в корме ухудшение показателей крови может быть связано с начальными признаками гипервитаминоза А.

ВЫВОДЫ

1. Каротиноидные пигменты являются жизненно важными компонентами питания радужной форели, оказывающими существенное влияние на физиологическое состояние, темп роста и жизнеспособность рыб разного возраста.

2. В преднерестовый период каротиноиды, поступающие с кормом, минуя мышцы и печень, накапливаются в коже и икре форели. Установлено, что добавка в корм для производителей каротиноидов в количестве 50-100 мг/кг обеспечивает яркое окрашивание икринок. Интенсивное накопление при этом каротиноидов в икре (в количестве 2,5 мг%) способствует повышению ее оплодотворяемости и выживаемости в период инкубации.

3. Установлена зависимость рыбоводно-биологических показателей выращивания и физиологической полноценности молоди радужной форели от дозы астаксантина в составе стартового комбикорма. Как недостаток, так и избыток каротиноидов отрицательно сказывается на результатах выращивания. Оптимальный уровень астаксантина в 1 кг комбикорма в зависимости от массы молоди форели составляет следующие величины:

- с момента поднятия личинок на плав до массы молоди 2,0 г - 10 мг,
- при массе молоди 2,0- 5,0 г - 25 мг,
- при массе молоди 5,0-10,0 г - 35 мг,
- свыше 10,0 г - 50 мг.

Введение оптимальных концентраций каротиноидов в состав стартового комбикорма способствуют повышению темпа роста молоди форели на 17 %.

4. Изучение влияния астаксантина на биохимический состав тела рыб позволило показать, что пропорционально росту концентрации

каротиноидов в составе комбикорма увеличивается количество жира в теле молоди на 4-26%. Добавление астаксантина до 50 мг на 1 кг комбикорма приводит к увеличению содержания белка в теле рыб на 15-16%.

5. Введение в комбикорма каротиноидов в количестве более 50 мг на 1 кг оказывает отрицательное влияние не только на рыбоводно-биологическую эффективность выращивания форели, но и на ее гематологические показатели, что отражает, видимо, превышение их допустимого уровня. В то же время состав крови рыб, потреблявших корма, содержащие 5-50 мг/кг астаксантина, остается в пределах нормы.

6. В постэмбриональный период развития астаксантин из корма переходит в кожу, достигая концентрации в ней 0,2-0,4 мг/кг. До массы 50-100 г форель не накапливает каротиноиды в мышцах, однако в кожных покровах они содержатся в количестве 0,35-0,37 мг/кг.

7. Установлена зависимость между концентрацией каротиноидов в корме и скоростью окрашивания мяса форели в розовый цвет. Найдено, что при добавке в корм астаксантина в количестве от 25 до 100 мг/кг при температуре воды 10-15°C для получения рыбы с ярко окрашенными мышцами требуется от 2 до 4 месяцев. Интенсивной окраске мяса форели соответствует содержание каротиноидов в теле на уровне 3-4 мг/кг.

8. Оптимальная норма ввода каротиноидов в производственные комбикорма зависит от конкретной цели и условий выращивания рыб. Наиболее экономичный расход каротиноидов, обеспечивающий получение необходимого эффекта окрашивания за 17 недель, обнаружен при добавлении в корм 25 мг/кг астаксантина, при этом степень конверсии каротиноидов из корма в мясо форели составляет 10%.

Период окрашивания мяса форели может быть сокращен за счет повышения концентрации каротиноидов в корме:

- до 13 недель при дозе 50 мг/кг
- до 12 недель при дозе 75 и 100 мг/кг.

Однако при этом возрастают затраты каротиноидов за счет снижения степени их трансформации из пищи в мясо рыб, и как следствие происходит удорожание производства продукции.

9. Найдено, что скорость окрашивания мышц форели зависит не только от количества каротиноидов в пище, но и от температуры воды, и определяется интенсивностью обмена веществ. Показано, что в

условиях разного температурного режима выращивания форели (10 и 15⁰С) при одной и той же дозе каротиноидов в корме количество градусо-дней, необходимое для окрашивания мышц, практически одинаково. Так, например, для достижения этого эффекта при содержании астаксантина в количестве 100 мг на 1 кг корма как при температуре воды 10, так и 15⁰С требуется, в среднем, 850 градусо-дней.

10. Установлено, что после прекращения кормления товарной форели пигментирующими комбикормами начинается процесс расходования содержащихся в тканях рыб каротиноидов и снижение интенсивности окраски мяса, скорость которой несколько ниже, но практически соответствует скорости накопления. При этом отсутствует зависимость между концентрацией каротиноидов в корме и интенсивностью их резорбции.

11. Срок хранения каротиноидсодержащих препаратов зависит от вида каротиноида, наличия стабилизаторов, соблюдения технологического режима гранулирования комбикорма и температуры хранения. Препарат "Карофилл Пинк", содержащий 8 % чистого астаксантина, при комнатной температуре сохраняет свою активность до 9 мес. Срок хранения чистого кристаллического кантаксантина не должен превышать 6-8 месяцев. Уровень защиты кантаксантина от окислительной порчи при обычных условиях хранения требует усиления. Срок сохранности каротиноидных препаратов в составе комбикорма снижается в 2 -3 раза.

12. Испытания дрожжей *Phaffia rhodozyma* в составе комбикормов для разновозрастных групп радужной форели не выявили положительного эффекта от их использования. Нативная форма данного продукта микробного синтеза не является источником астаксантина в форелевых комбикормах.

По теме диссертации опубликованы следующие работы:

1. Маслобойщиков В.С. Влияние астаксантина дрожжей *Phaffia rhodozyma* на рост, развитие, окраску молоди и двухлеток радужной форели. - М.: Рыбн. хоз-во. Сер. Аквакультура: Информ. пакет/ВНИЭРХ. 1997. - Вып. 7. - С. 41 - 43.

2. Маслобойщиков В.С., Шмаков Н.Ф. Влияние каротиноидного препарата "Карофилл Пинк" на рост и развитие молоди радужной форели. - М.: Первый конгресс ихтиологов России (Астрахань, сентябрь 1997 г.). ВНИРО, 1997. - С. 353 - 354.

3. Шмаков Н.Ф., Маслбойщиков В.С. Использование синтетических каротиноидов в кормах для товарной форели. - М.: Первый конгресс ихтиологов России (Астрахань, сентябрь 1997 г.). ВНИРО. 1997. - С. 341 - 342.

4. Маслбойщиков В.С. Накопление астаксантина препарата "Карофилл Пинк" в икре и его роль в эмбриональном развитии радужной форели. - М.: Рыбн. хоз-во. Сер. Аквакультура: Информ. пакет/ВНИЭРХ. 1997. - С. 40 - 41.

5. Маслбойщиков В.С. Рыбоводно - биологическая эффективность каротиноидов в комбикормах для радужной форели. - М.: ВНИЭРХ, 51 с. (в печати).