На правах рукописи

Савушкина Светлана Ильинична

ИНТЕНСИВНОЕ ВОСПРОИЗВОДСТВО РЫБ В РАЗНЫХ ВОДОЕМАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОТЕХНИЧЕСКИХ ПРИЕМОВ

06.02.01 - разведение, селекция, генетика и воспроизводство сельскохозяйственных животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора биологических наук

Лесные поляны Московской области
2004 г.

Работа выполнена во Всероссийском научно-исследовательском институте ирригационного рыбоводства РАСХН

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Микодина Екатерина Викторовна

доктор биологических наук
Богерук Андрей Кузьмич

доктор биологических наук
Калашникова Любовь Александровна

Ведущая организация: Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева

Защита состоится "10 декабря» 2004 года в 11 часов на заседании диссертационного совета Д 220.017.01 Всероссийского научно-исследовательского института племенного дела: 141212, Московская область, Пушкинский район, п. Лесные Поляны, ВНИИплем

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Всероссийского научно-исследовательского института племенного дела

Автореферат разослан "5" ноября 2004 года

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук, профессор Ерохин А.С.

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1. Актуальность исследований. Россия располагает 20 млн.га озер, 4,5 млн.га водохранилищ, 1 млн.га водоемов комплексного назначения, более 150 тыс.га прудов, свыше 300 тыс.кв.м. садков и бассейнов, что создает громадные возможности для развития аквакультуры. Вместе с тем, в последнее десятилетие XX века отмечен значительный спад в рыбной отрасли, что обусловлено целым рядом причин. В результате антропогенного и техногенного воздействий, а также новой экономической политики производство рыбы в целом по России снизилось в 4,5-5,0 раз (Багров, 2002).

На повышение эффективности рыбоводства и обеспечения населения рыбопродукцией направлено постановление Правительства России от 30 октября 1999г №1201 "О развитии товарного рыбоводства и рыболовства, осуществляемого во внутренних водоемах Российской Федерации". Для выполнения этого постановления разработана Федеральная программа, целью которой является увеличение объемов продукции аквакультуры, начиная с 2006 года, до 600тыс.т (Мамонтов и др., 2000).

Значительное увеличение производства рыбопродукции возможно только при высоком уровне интенсификации, что требует новых подходов, которые соответствовали бы специфическим условиям водоемов. Имеющиеся методы интенсификации товарного рыбоводства многочисленны и разнообразны. Наиболее значимыми в современных экологических условиях являются - сохранение существующего генофонда различных видов рыб и воспроизводство достаточного количества высококачественного рыбопосадочного материала (Багров, 2002; Богерук, Маслова, 2002; Виноградов, Эрнст, Ананьев и др., 2002).

Негативным элементом для аквакультуры является загрязнение окружа-ющей среды, которое постоянно возрастает вследствие нерационального природоиспользования и несбалансированности потребления ресурсов человеком (Соколов, 1999).

Нарушение нормальной абиотической среды у осетровых рыб вызвало аномалии в физиологическом состоянии - нарушения на тканевом уровне, в печени, почках, скелетной мускулатуре, кишечнике, гонадах и других органах (Ласкорин, Лукьяненко 1990, 1991; Гераскин, 1997; Евланов, 1997; Земков, Журавлева, 1997; Микряков, 1997).

Антропогенное влияние на гидрологические условия и трофику рыб (гидростроительство, загрязнение водной среды, сокращение нерестилищ и др.), а также превышение вылова и браконьерский лов привело не только к снижению численности ценных форм, но и к исчезновению отдельных видов. (Андрияшева, 1999; Баранникова и др., 2000; Литвиненко, Палубис, 2000; Руднева и др., 2000; Кловач, 2002)

В связи с этим, весьма актуально новое направление сохранения генофонда ценных видов рыб товарного рыбоводства с использованием криоконсервированных половых продуктов при их воспроизводстве. На

РОС. НАЦИОНАЛЬНАЯ
БИБЛИОТЕКА
С.Петербург
09 1004 акт

современном этапе этот биотехнический прием требует глубоких теоретических и практических разработок

Наряду с этим, интенсификация рыбоводства сдерживается отсутствием достаточного количества полноценного рыбопосадочного материала различных видов рыб. При воспроизводстве рыбопродукции наиболее уязвимым звеном являются ранние стадии рыб. Рост и развитие молоди рыб, прежде всего, обусловлены физиолого-биохимическими параметрами организма, которые определяют их жизнестойкость и приспособляемость к различным условиям содержания. Адаптивное реагирование не всегда проходит с нужной эффективностью, что приводит к гибели рыб.

В связи с этим, при получении молоди разных видов рыб важны все биотехнические приемы повышения их резистентности и снижения потерь, на основе объективной оценки биологических свойств культивируемых объектов.

1.2. Цель и задачи исследований. Целью работы является изучение биологических механизмов адаптации молоди различных видов рыб к условиям содержания в разных водоемах и пути их коррекции, а также изучение результативности использования и разработка современных методов искусственного воспроизводства рыб с использованием криоконсервированных половых продуктов.

Для достижения данной цели в работе были поставлены следующие задачи:

- изучить адаптационные способности молоди рыб в зависимости от абиотических факторов различных водоемов;
- выявить взаимосвязь между цитоморфологическими и физиолого-биохимическими характеристиками молоди рыб и их жизнестойкостью в экстремальных условиях содержания и пути коррекции;
- изучить биологическую полноценность молоди различных видов рыб в зависимости от биотических факторов водоема;
- выяснить механизмы биоадаптаций молоди рыб в зависимости от качества пищи и способы их коррекции;
- изучить результативность использования криоконсервированной спермы карпа при воспроизводстве молоди в условиях интенсификации;
- оценить разновозрастное потомство карпа, полученного с использованием криоконсервированной спермы;
- разработать способы сохранности половых продуктов карпа с использованием метода криоконсервации спермы и эмбрионов;
- провести сравнительное изучение эффективности искусственного воспроизводства молоди сибирского осетра и его гибрида с применением криоконсервированной спермы;
- оценить физиологическое состояние и репродуктивные качества сибирских осетров, при воспроизводстве которых использована криоконсервированная сперма;

- усовершенствовать способы воспроизводства осетровых рыб и радужной форели с применением криоконсервированной спермы.

1.3. Научная новизна. Впервые на большом количестве материала (74,4 тыс.экз. рыб) выявлена экологическая пластичность молоди рыб на первом году жизни, обусловленная цитоморфологическими, физиолого-биохимическими и иммунологическими реакциями их организма. Изучены физиолого-биохимические особенности адаптации организма рыб на толерантные и экстремальные абиотические и биотические факторы среды обитания в различных водоемах. Выявлены лимитирующие факторы среды, влияющие на рост и развитие молоди рыб, и впервые установлены оптимальные параметры морфофизиологических показателей при выращивании рыб в различных водоемах. Впервые установлена возможность кормовой адаптации молоди осетровых рыб при использовании нетрадиционного корма и сроки использования этой диеты при кормлении рыб. Определены критерии и механизмы выживания молоди рыб в антропогенно измененных условиях различных водоемов. Показано повышение резистентности спермы карпа в оригинальных криозащитных средах при низкотемпературной консервации и улучшение качества потомства, полученного при использовании замороженного семени. Разработаны биотехнические приемы сохранности спермы карпа, радужной форели и осетров в условиях криоконсервации в жидком азоте и повышения оплодотворяемости икры этих рыб дефростированной спермой. Впервые получено и оценено разновозрастное потомство сибирских осетров, полученное с использованием замороженно-оттаянной спермы. Впервые исследованы технологические подходы криоконсервации эмбрионов карпа различных стадий развития.

1.4. Практическая значимость работы и реализация результатов исследований. Результаты исследований имеют принципиальное значение для дальнейшего совершенствования теоретических и практических методов интенсивного воспроизводства молоди различных видов рыб при выращивании в разных водоемах. Полученные критерии качества молоди рыб могут быть использованы в качестве экспресс-теста физиологического состояния рыб для обеспечения возможности получения их максимальной продуктивности. Результаты, полученные при изучении пищевой адаптации молоди рыб, могут найти применение в практике кормления, прогнозирования здоровья и жизнестойкости рыб. Приемы улучшения биологического состояния молоди рыб за счет оптимизации биотических условий в низкокормных водоемах могут способствовать совершенствованию технологии товарного рыбоводства. Полученная информация об адаптивных реакциях молоди рыб в условиях экстремальных факторов и стресса может применяться в качестве индикатора резистентности организма при различных рыбохозяйственных мероприятиях. Предложенная коррекция условий содержания молоди рыб позволит улучшить качество и увеличить количество рыбопосадочного материала.

Использование криоконсервированной спермы при воспроизводстве карпа и сибирского осетра улучшает качество полученного потомства и является новым источником искусственного получения рыбопосадочного материала для выращивания в различных водоемах. Результаты исследований по криоконсервации спермы рыб включены в практические рекомендации "Методическое пособие по криоконсервации спермы карпа, лососевых и осетровых рыб"(1997).

1.5. Апробация работы. Материалы работы, содержащиеся в диссертации, обсуждались на Ученых советах зооинженерного факультета ТСХА, ВНИИПРХ, ВНИИР РАСХН. На научных конференциях: "Рыбохозяйственное освоение водоемов комплексного назначения" (Москва, 1978; Кишинев, 1978), "Современные достижения рыбохозяйственной науки России (Саратов, 2000); на II (Киев, 1976), **III** (Москва, 1977), V (Астрахань, 1976) Всесозных конференциях по экологической физиологии и биохимии рыб; на Межреспубликанской научно-технической конференции "Проблемы азотистого метаболизма" (Волгоград, 1990); на Всесозном совещании по рыбохозяйственному освоению использования теплых вод (Курчатов, 1990); на научных совещаниях "Консервация генетических ресурсов" (Пущино, 1992, 1998), "Воспроизводство ценных видов рыб и проблемы отрасли" (Москва, 2002); на Первом конгрессе ихтиологов России (Астрахань, 1997); на Втором симпозиуме по экологической физиологии и биохимии рыб (Москва, 1990); на Международных научных конференциях "Проблемы развития рыбного хозяйства на внутренних водоемах в условиях перехода к рыночным отношениям" (Минск, 1998), "Проблемы рыбного хозяйства на внутренних водоемах" (С-Петербург, 1999), "Роль и значение метода искусственного осеменения сельскохозяйственных животных в прогрессее животноводства XX и XXI веков" (Дубровицы, 2004); на Международных симпозиумах "Ресурсосберегающие технологии **в** аквакультуре (Краснодар, 1996, 1999), "Итоги 30-летнего развития рыбоводства на теплых водах и перспективы на XXI век" (С-Петербург, 1998), "Холодноводная аквакультура: старт в XXI век" (С-Петербург, 2003).

1.6.Публикация результатов исследований. По теме диссертации опубликовано 44 научных работ: в книгах; журналах: "Рыбное хозяйство", "Рыбоводство и рыболовство", "Известия ТСХА", "Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук", "Цитология"; в тематических сборниках ТСХА, ГосНИОРХ, БелНИРХ, ВНИИплем. Материалы по гематологии рыб вошли в курсы лекций по подготовке студентов зооинженерного факультета МСХА. Рекомендации по низкотемпературной консервации спермы рыб (с группой сотрудников) включены в "Методическое пособие по криоконсервации спермы карпа, лососевых и осетровых видов рыб" (1997).

1.7.Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 238 страницах машинописного текста и состоит из введения, материала и методов исследований, результатов собственных исследований, аналитиче-

ского обзора к каждой главе, заключения, выводов, практических предложений и списка литературы. В тексте диссертации содержится 22 рисунка и 92 таблицы. Список литературы включает 352 источников, в том числе 67 на иностранных языках.

2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для решения поставленных задач обобщены результаты научных исследований за период 1976-2003 г. г. Исследования проводили в прудах и садках рыбоводных хозяйств, в водоемах комплексного назначения (ВКН-биологические пруды, пруды торфяных выработанных месторождений), сельскохозяйственных прудах (с/х пруды), прудах-теплицах, бассейнах, в аквариальных условиях, в криобанке рыб. Исследованные водоемы расположены в России (Московская область). Работа проведена согласно схемы исследований (рис. 1).

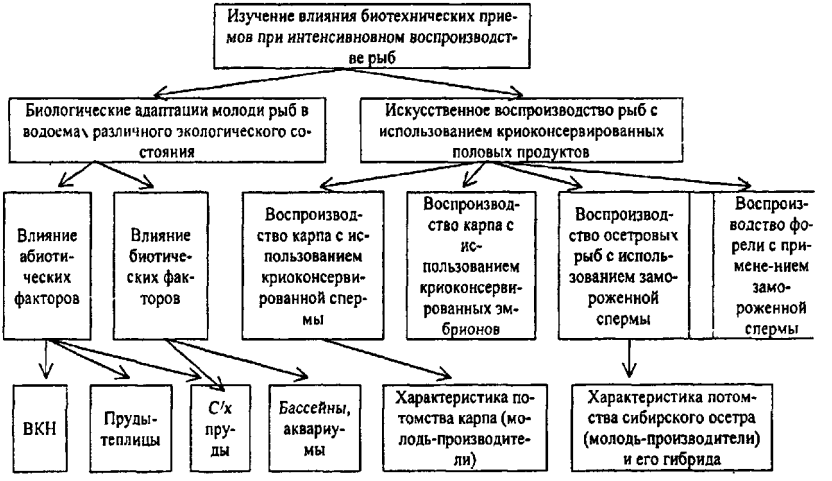

Рис. 1 Схема исследований

Объектом исследований служила молодь карпа (Cyprinus carpio L.), сибирского осетра ленской популяции (Acipenser baeri chatys Drjagin), тиляпии Мозамбика и тиляпии красной (Oreochromis mossambica, O. Sp.), радужной форели (Salmo truta).

Выращивание молоди карпа в различных водоемах проводили в условиях интенсификации (плотность посадки карпов 40-50, 80, 100 и 140 тыс.шт./га), в качестве контроля использована плотность посадки рыб 10 тыс.шт/га. Содержание молоди сибирских осетров и тиляпий вели в соот-

ветствии с технологическими условиями, применяемыми в индустриальном рыбоводстве (Петрова и др., 1991, Привезенцев и др., 1991).

Рыбоводно-экологические исследования (гидрохимический и гидробиологический режимы, состояние естественной кормовой базы, питание молоди рыб) выполнены по общепринятым методам. (Липин, 1950; Брагинский, 1957; Привезенцев, 1973; Боруцкий, 1974; Шестерин и др., 1985). Эффективность кормления различных видов рыб искусственным кормом определяли по затратам корма (Катасонов, Черфас, 1986). Темп роста вычисляли по среднесуточным приростам массы молоди рыб (Винберг, 1956), а его удельную скорость - по коэффициенту массонакопления (Толчинский, 1980).

Изучение физиолого-биохимических показателей молоди рыб проводили по следующим параметрам коэффициент упитанности рыб (Ку) определяли по формуле Фультона; биохимический состав тела рыб и кормов (содержание влаги, протеина, жира, углеводов и минеральных веществ) определяли по методам М.А.Щербины (1969) и методам зоотехнического анализа биологических объектов (Менькин и др., 1988); концентрацию белков сыворотки крови рыб определяли на рефрактометре ИРФ-22 (Гарин, 1979) с последующим пересчетом по таблице (Покровский, 1969) Разделение белков сыворотки крови на фракции проводили методом электрофореза в агаровом геле (Новиков, Решетников, 1969); содержание глюкозы в крови рыб определяли ортотоллуидиновым методом (Кушманова, Ивченко, 1983).

Гематологические показатели молоди рыб исследовали в период роста, зимовки, толерантных, экстремальных и стрессирующих факторов и при кормлении различными диетами. Морфологический состав красной и белой крови молоди рыб определяли по методам Остроумовой И.Н (1958), Ивановой Н.Т.(1970, 1983) и Головиной Н.А. (1979). Цитоморфометрию эритроцитов проводили на сканирующем микроскопе JSM-50A, напыление сплавом золота с паладием осуществляли в ионном напылителе IB-3 фирмы "Eiko", просмотр и фотографирование объектов осуществляли в растровом электронном микроскопе S-405 фирмы "Хитачи", промеры выполняли на фотоотпечатках (Удкли, 1975).

Концентрацию гемоглобина в крови рыб, количество эритроцитов в 1 мкл крови, величину гематокрита определяй по методам Н.Т. Ивановой (1983). Объем одного эритроцита, количество в нем гемоглобина и среднеклеl очную концентрацию гемоглобина в эритроцитах рассчитывали по формулам Винтроба в модификации П.А.Коржуева (1964).

Общее количество крови у молоди рыб определяли методом экстрагирования (Коржуев, 1962). Обеспеченность гемоглобином крови вычисляли на основе общего количества гемоглобина у рыб, приходящегося на единицу массы тела.

Содержание естественных антител в сыворотке крови рыб определяли по реакции агглютинации к эритроцитам кролика и лизоциму методами, предложенными А.А.Вихманом и Л.ПГенераловой (1989).

Замораживание спермы карпа проводили в соответствии с инструкцией Е.Ф.Копейка (1986). Замораживание проводили в ампулах (1,5мл) при соотношении среды и спермы 1:1, оттаивание ампул осуществляли при +40 °С и сразу оплодотворяли икру. Инкубацию оплодотворенной икры карпа проводили в аппаратах Вейса.

Глубокое замораживание эмбрионов карпа проводили на программном замораживателе ЭМБИ-К при двухступенчатом режиме охлаждения (Малиновский и др. 2000).

Криоконсервацию спермы сибирских осетров ленской и байкальской популяции проводили в соответствии с «Методическое пособие по криоконсервации спермы карпа, лососевых и осетровых видов рыб» (Цветкова и др., 1997). Процесс оплодотворения, инкубации и выращивания молоди сибирского осетра осуществляли в производственных условиях Конаковского завода товарного осетроводства. Стадии развития осетровых рыб классифицировали по методу Т.А.Детлаф и А.С.Гинзбург (1954).

Результаты исследований обработаны методами статистики (Плохинский, 1970; Лакин, 1980). Достоверность различий определяли по критерию Стьюдента и Манна-Уитни (Поллард, 1982). Двухфакторный корреляционный анализ выполнен на ЭВМ «Минск-32».

В работе использованы следующие сокращения:

Нв – гемоглобин
Эр.-эритроциты
Ht – гематокрит
СГЭ- содержание гемоглобина в эритро
эритроците
Лц – лейкоциты
кон-
Лф-лимфоциты
на в
КБ – концентрация белка
ОК – объем крови
ОБГ – обеспеченность ор-
ганизма гемоглоби-
ном
СОЭ- средний объем
цита
СКЭ- среднеклеточная
центрация гемоглоби-
эритроцитах

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Биологические адаптации молоди рыб в водоемах различного экологического состояния

Успешное развитие отрасли в современных экологических условиях, требует всестороннего изучения факторов водной среды, обусловливающих биологическую полноценность и выживаемость молоди рыб, что оп-

ределяет рыбохозяйственную значимость различных технологий (Карзинкин, 1968; Шпет, 1968; Печюкенас, 1988; Безель и др., 2001; Сидоров и др., 2001,2002).

3.1.1. Температурная и кислородная адаптации молоди карпа в прудах-теплицах

В связи с неустойчивыми погодными условиями, для стабилизации температуры воды на небольших прудах ряд исследователей использовали пленочные покрытия (в дальнейшем пруды-теплицы) каркасного типа (Нривезенцев и др., 1982). При этом температура воды в них за счет обогрева солнечной радиацией в среднем повышалась на 3- 5 °С по сравнению с традиционными прудами, а подрощенная в них молодь карпа имела в 3 раза большую массу тела и выживаемость повышалась на 40% (Привезенцев и др., 1980; Козин, 1986).

В этой связи, мы провели исследования по эффективности интенсивного выращивания рыбопосадочного материала карпа в прудах-теплицах при плотности посадки 40-50 тыс.шт./га. Результаты эксперимента выявили особенности условий содержания рыб в этих прудах. В период выращивания молоди карпа в прудах-теплицах количество эффективных температур (от 20°С и выше) составляло 64,8% против 41,6% в контрольных открытых прудах, а среднесуточная температура соответственно составляла 20,6 и 17,7 °С.

По мере роста рыб и накопления в воде прудов-теплиц продуктов их метаболизма, уровень содержания кислорода с третьей декады июля и до конца выращивания был крайне напряженным (0,89-1,96 мг/л) и в среднем за сезон составил 2,96 мг/л против 7,1 мг/л в контроле (оптимум более 4 мг/л).

Особенности условий выращивания молоди карпа в прудах-теплицах отразились на их росте. В благоприятный период роста и питания молоди рыб интенсивность накопления массы тела была в 2 раза выше, чем у карпов из контрольных прудов. Более высокий температурный режим в прудах-теплицах обусловил также высокую интенсивность потребления молодью искусственных кормов.. В результате выращивания конечная масса сеголеток карпа составила 35 г, что на 25 % выше, чем в контроле (табл. 1).

Таблица 1

Рыбоводная характеристика сеголеток карпа в прудах-теплицах

Показатели	Пруды-теплицы	Рыбоводные пруды (контроль)
Средняя масса сеголеток, г	34,9±2,1*	25,7±1,3
Выход сеголеток, %	87,2	80,0
Рыбопродуктивность, ц/га	13,0	9,0
Затраты корма, кг/кг прироста	3,0	2,6

* - Различия достоверны при P<0,05. То же в следующих таблицах

Физиологическое состояние молоди рыб из прудов-теплиц отличалось высокой интенсивностью эритропоэза, которая была выше на 88,9% (P<0,05), чем у рыб контрольного варианта, а также большей кислородпереносящей способностью эритроцитов. Вероятно, повышенные температуры воды в прудах-теплицах обусловили у карпов активизацию транспортных систем организма, что является приспособительной реакцией рыб. При этом, у молоди карпа в сыворотке крови отмечено увеличение содержания белка, за счет увеличения количества альбуминов (40,5 % против 32,8 % в контроле), и высокая оснащенность β-глобулинами (r=0,93-0,97).

Напряженный кислородный режим в воде прудов-теплиц способствовал увеличению у рыб объема крови на 15,7 % и обеспеченности организма гемоглобином на 53,2 % (P<0,05), а также повышению показателя обеспеченности α- и γ-глобулинами (r=-0,93 и -0,92 соответственно).

Таким образом, наши эксперименты показали, что в условиях прудов с пленочным покрытием удается получить полноценный посадочный материал карпа со средней массой 34,9 г и выживаемостью в пределах 81,0 %. При этом, адаптация молоди карпа к неблагоприятному содержанию кислорода в воде при повышенной температуре в прудах-теплицах способствовала увеличению обеспеченности организма рыб гемоглобином крови, иммуноглобулинами и иммунокомпетентными клетками, что свидетельствует о высокой резистентности выращенных рыб.

3.1.2. Влияние качества воды в прудах комплексного назначения на биологическую полноценность молоди карпа

В современных условиях среди антропогенных факторов, отрицательно влияющих на рыбохозяйственные водоемы, следует особо выделить загрязнение водоемов хозбытовыми и ливневыми стоками, стоками с полей и животноводческих ферм, а также стоками очистных сооружений (Строганов, 1979, Шестерин и др., 2000). В связи с этим проблема очистки воды от органических загрязнений и ее вторичное использование весьма актуальна.

В задачу наших исследований входило изучение эффективности выращивания молоди карпа в условиях вторичного использования очищенных животноводческих стоков по технологии Ю.А.Колтыпина (1975). Эта технология предполагает наличие водоемов четырех ступеней: пруд-накопитель, пруд-отстойник, рачковый пруд и рыбоводный пруд. Выращивание карпов в рыбоводном пруде позволяет получить рыбопродуктивность при применении аэрации и искусственных кормов до 10ц/га (Тарасов и др.,1977, Серветник, 1980).

Нами исследовалась эффективность выращивания молоди карпа в условиях интенсификации биологических прудов (последний каскад био-

логической очистки свиноводческого комплекса Кленово-Чегодаево в Московской области) с целью получения рыбопосадочного материала.

Было установлено, что биологические пруды отличались от обычных рыбоводных прудов увеличенным в 3,2 раза содержанием органических веществ При этом, концентрация биогенов многократно превышала фоновые показатели: содержание альбуминоидного и аммонийного азота было больше в 6,7 и 23,1 раза соответственно, а фосфатов было выше в 6,1 раза. В результате содержание кислорода в воде в период выращивания молоди карпа отличалось резкими колебаниями в пределах 1,4-10,7 мг/л. Температурный режим в биологических прудах был типичным для условий Московской области, а средняя температура воды составляла 17,8 ^{0}С.

Наряду с этим, биологические пруды обладали высокими естественными кормовыми ресурсами. Средняя биомасса зоопланктонных организмов была в 5,5 раза выше, чем в рыбоводных прудах, а бентических организмов была больше в 10,2 раза

Особенности условий выращивания молоди карпа в биологических прудах позволили получить сеголеток карпа осенью средней массой тела 26,1 г против 28,4 г в рыбоводных прудах, а выживаемость, соответственно, составила 75 и 80 %

Биохимический состав тела молоди, выращенной в биологических прудах, отличался высоким содержанием белка (69,4 против 65,0%) и минеральных веществ (16,7 против 10,0%), но пониженным на 42,4% содержанием жира.

В результате приспособления молоди карпа к напряженным условиям выращивания в биологических прудах, в их крови значительно снизилась концентрация гемоглобина на 30,1% при одновременном увеличении на 35,5% общего объема крови (табл 2)

Таблица 2

Характеристика красной крови молоди карпа в период выращивания

Показатели	Биологические пруды		Рыбоводные пруды	
	Лето	Осень	Лето	Осень
Hb, г%	7,87±0,15 **	5,74±0,22 *	9,86±0,61	8,23±0,28
Ht, %	28,46±1,10	26,85±1,15	29,42±1,37	28,50±2,66
Эр. млн/мкл	1,09±0,02 **	1,02±0,02	1,65±0,09	1,43±0,21
ОК. %	4,67±0,38 **	5,08±0,26*	2,37±0,17	3,75±0,29
ОБГ. г/кг	3,38±0,23 *	2,70±0,15 **	2,46±0,12	3,96±0,26
СГЭ, пг	72,20±3,54 **	55,25±2,20 **	59,75±1,30	57,55±2,37

**- достоверно при P<0,01, то же в следующих таблицах

В течение всего периода выращивания молоди карпа в биологических прудах (лето-осень), состав их белой крови отличался от контроля повышенным содержанием лейкоцитов на 33,3-62,5 %, преимущественно за счет увеличения моноцитов (в 2,4 раза) и нейтрофилов (на 81,6 %), что связано с защитной реакцией организма рыб против инфекции и токсического воздействия водной среды.

Адаптивные свойства четко прослеживаются в белковой картине крови молоди карпа из биологических прудов. Специфические условия воды способствовали увеличению у них объема плазмы крови в 2,1 раза по сравнению с карпами из рыбоводных прудов. В результате увеличилась на 47,8% обеспеченность организма рыб а-глобулинами, а содержание **γ-**глобулинов повысилось в 2,6 раза, что свидетельствует о напряженности иммунной системы.

Таким образом, выращивание рыб в прудах биологической очистки (50 тыс.шт./га) обусловило развитие отрицательных приспособительных реакций у молоди карпа - повысилась напряженность иммунной системы, развилась анемия, увеличился фагоцитоз и нейтрофилия. Несмотря на хорошую среднюю массу тела (26,1 г), количество основного энергетического материала (жира) было ниже на 42,4%, что снизило зимостойкость карпов. Вместе с тем, высокая естественная кормовая база в прудах биологической очистки и умеренное воздействие условий среды на рост и физиологическое состояние рыб в первые два месяца, позволяет рекомендовать эти водоемы для подращивания молоди карпа.

3.2. Приспособительные реакции молоди рыб в зависимости от биотических факторов различных водоемов

Биотические факторы среды обитания молоди рыб имеют столь же важное значение в онтогенезе рыб, как и абиотические. Основным биотическим фактором является пища, которая в достаточном количестве и качестве необходима для развития и роста молоди рыб. Питание рыб естественными и искусственными кормами является одной из важнейших физиологических функций организма.

3.2.1. Влияние низкой естественной кормовой базы в прудах торфяных выработанных месторождений на жизнестойкость молоди карпа

Естественная кормовая база водоемов способствует полноценному питанию молоди рыб, что является необходимым условием на ранних этапах онтогенеза. Обеспеченность естественной пищей молоди рыб сказывается не только на ее выживаемости, размерах тела, темпе роста, физиологическом состоянии, но и, в целом, на эффективности рыборазведения. (Никольский, 1953; Винберг, 1956; Канидьев, 1984; Богатова, 1980; Шмакова,2000).

В наших исследованиях изучена биологическая адаптация молоди карпа при выращивании их в условиях водоемов **с** низкой естественной кормовой базой. Молодь карпа выращивали в условиях интенсификации прудов, построенных на торфяных выработанных карьерах низинного типа болот (пруды-торфяники), с низкой естественной кормовой базой (50 кг/га против 200кг/га в контроле), а также незначительным содержанием био-

генных элементов - азота, фосфора, железа (0,02, 0,02 и 0,02 мг/л соответственно)

Недостаток естественного корма в начале выращивания молоди карпа в прудах-торфяниках обусловил снижение среднесуточного прироста в 2 раза по сравнению с рыбами из рыбоводных прудов Физиологическое состояние карпов в этот период характеризовалось пониженной концентрацией гемоглобина в крови (7,7 против 8,2 г%) и увеличением лейкоцитов

Для улучшения условий выращивания сеголеток карпа проводили удобрение прудов и кормление искусственным кормом с энерго-протеиновым отношением 1 3 (содержание белка 23-25%) Это позволило повысить темп роста у рыб до уровня контрольного варианта, а конечная средняя масса сеголеток составила 25,6г при выживаемости 75,0%

При этом, физиологическое состояние молоди карпа улучшилось к августу, а в конце выращивания было в пределах физиологических норм Вместе с тем, недостаточное потребление естественного корма в питании молоди карпа сохранило более низкий уровнь некоторых параметров крови (табп 3)

В крови молоди карпа, выращенной в прудах-торфяниках, по сравнению с карпами из рыбоводных прудов, отмечено более низкое содержание гемоглобина,эритроцитов, лейкоцитов При этом, объем крови и показатель обеспеченности гемоглобином у рыб в этих прудах увеличился, что является механизмом приспособления к условиям питания

Таблица 3

Характеристика крови сеголеток карпа в прудах-торфяниках

Показатели	Пруды-торфяники	Рыбоводные пруды
Нв , г%	8,34±0,31 **	10,17±0,38
Ht, %	29,88±0,31 **	34,63±0,95
Эр , млн/мкл	1,12±0,03 *	1,20±0,92
СГЭ, пг	76,34±1,28 **	84,45±1,57
Лк ,тыс /мкл	9,00±0,43	8,00±0,38
КБ, г%	3,71±0,29	3,73±0,10
Альбумины,%	45,13±2,56	45,63±2,31
Глобулины,%	54,87±2,72	54,37±1,85

Таким образом, коррекция условий питания молоди рыб в прудах-торфяниках за счет искусственных кормов способствовала увеличению темпа роста рыб и повышению средней массы до 25,6 г Недостаточное потребление естественной пищи обусловило у молоди карпа повышение в крови иммунокомпетентных клеток и оснащенности организма γ-глобулинами Увеличение защитных сил организма молоди карпа в прудах-торфяниках свидетельствует о повышении резистентности рыб и при-

годности этих водоемов для выращивания качественного рыбопосадочного материала.

3.2.2. Адаптационные свойства организма молоди осетра при использовании нетрадиционных кормов

В условиях интенсивного выращивания рыб при их кормлении, наряду с рецептурными кормами, используют различные продукты, непригодные в пищевой промышленности. Нетрадиционные корма - отходы томатов, выжимка яблок и лекарственных растений оказали положительное влияние на рост и физиологическое состояние карпа (Студенцова, Жердева, 2000). Положительный эффект отмечен при использовании биокорна при выращивании сеголеток и двухлеток карпа в условиях ТЭЦ (Корчма, 2000).

В нашей работе проведены исследования по эффективности использования нетрадиционного корма (фарш из отходов карповых рыб) в рационе молоди осетровых рыб. В качестве контроля были использованы рационы с естественной пищей (хирономиды) и стартовый комбикорм СТ-07.

Условия содержания молоди осетров в аквариумах всех вариантов опыта были максимально выровнены. Плотность посадки осетров была одинаковой и соответствовала 15 экз/м^2. Температура воды во время опытов колебалась в пределах 16,5-22,7 °С, содержание растворенного в воде кислорода составляло 7,8-8,0 мг/л, проточность - 0,9 л/мин. Кормление рыб проводили через 2-2,5 часа в дневное время суток. Суточная доза составляла 8-10% от массы тела рыб.

Химический состав корма в исследуемых вариантах отличался высоким содержанием жира в рационе из фарша и повышенным уровнем минеральных веществ в рационе с естественной пищей (табл. 3). Содержание протеина в рационах было практически на одном уровне 51,9-56,6%.

Таблица 3

Биохимический состав кормов в период выращивания сибирского осетра (в % к сухому веществу)

Показатели	Вариант опыта		
	Естественный корм *	Фарш	СТ-07 (контроль)
Сухое вещество	11,72	13,10	10,00
Влага	88.28	86.90	90.00
Протеин	56,60	51,90	55,00
Жир	4,34	25,50	19,50
Углдеводы	26,29	14,50	8,50
Минеральные вещ-ва	12,18	8,10	7,00

* - Химический состав естественного корма приведен по данным Винберга (цит. «Мотыль», 1983)

В период выращивания молоди сибирских осетров наиболее высокий темп роста был у рыб на рационе из фарша, а их среднесуточный прирост составлял в среднем 1,02г/сутки (рис.2).

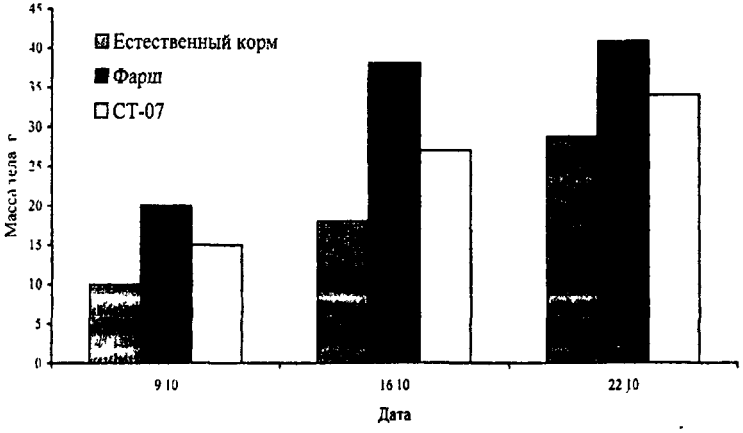

Рис. 2. Рост молоди сибирского осетра на различных рационах

Осетры, питавшиеся естественной пищей и стартовым комбикормом, имели практически одинаковый уровень среднесуточных приростов: 0,89 и 0,88 г/сутки. В результате за 30 дней выращивания молоди осетров на диете из фарша средняя масса рыб достигла 40,8г, на диете с естественной пищей'-28,7 г и на гранулированном корме СТ-07- 34,0 г.

Использование различных кормов неоднозначно отразилось на физиологическом состоянии молоди осетров, что подтвердили показатели крови. В первой декаде кормления рыб фаршем уровень показателей красной крови практически не отличался от контрля (СТ-07). В белой крови этих рыб выявлен лимфопоэз, содержание больших лимфоцитов было выше в 2,2 раза по сравнению с контролем. Вероятно, высококалорийный рацион из фарша обусловил мобилизацию ферментативной системы лейкоцитов.

Вторая декада опытов характеризовалась наиболее интенсивным ростом осетров во всех группах. Концентрация гемоглобина в крови рыб увеличилась и была наиболее высокой у рыб, питавшихся фаршем: 7,2 г% против 6,1 и 6,5 г% в других группах. Лейкоцитарный состав молоди осетров на диете из фарша, по-прежнему, отличался высоким уровнем лимфопоэза. При этом, количество молодых лимфоцитов увеличилось в 4 раза по сравнению с контролем, а содержание нейтрофилов и моноцитов было выше на 61,8 и 83,3% соответственно (Р <0,05). Вероятно, рацион из фар-

ша и недостаток в нем витаминов обусловили напряженность иммунной системы у молоди осетров.

В третьей декаде выращивания показатели крови у молоди осетров изменились в различных вариантах по-разному. У рыб, питавшихся естественным кормом и кормом СТ-07, уровень гемоглобина в крови снизился незначительно (разница составила 0,2-0,8 г%), а у осетров, потреблявших фарш - на 21.0 % ($P<0,05$). При этом значительно снизился гематокрит и количество эритроцитов в крови, но увеличилось содержание гемоглобина в эритроцитах. По-видимому, в сосудистое русло крови поступали ресурсы из депо крови, что является вынужденной реакцией организма.

Нами также отмечена адаптивная реакция в пищеварительном тракте молоди осетра при использовании фарша. В частности, было обнаружено увеличение активности протеаз и амилаз при переходе рыб с питания гранулированным комбикормом на насыщенные белком рационы. Активность кислой протеазы при этом снижалась.

Наши данные свидетельствуют, что питание молоди сибирского осетра нетрадиционным кормом (фарш из рыбных отходов) может быть использовано в практике рыбоводства. Однако, напряженность физиологического состояния организма молоди осетров при использовании монорациона из фарша и снижение темпа роста рыб после 20 дней выращивания, позволяет рекомендовать применение данного рациона не более 15-20 дней.

3.2.3. Влияние уровня протеина в кормосмесях при выращивании различных видов тиляпий на их резистентность

Среди объектов современного индустриального рыбоводства все большее внимание привлекают рыбы тиляпий, отличающиеся хорошим ростом, адаптационной пластичностью, высокими пищевыми качествами и устойчивостью к заболеваниям (Привезенцев, 1989). Из 10 видов тиляпий, испытанных в России, наиболее перспективными являются тиляпия Мозамбика, голубая и красная. В 1990г в Московской области было получено в садках 4,9т, а в Свердловской - 0,5т тиляпий (Кудерский, Шимановская, 1995). Увеличение производства этого вида рыб требует разработки технологических вопросов кормления тиляпий.

В связи с этим, нами было изучено влияние рационов с различным уровнем протеина (23 и 40%) на физиологическое состояние молоди тиляпия (Т.) Мозамбика и тиляпия красная. Для кормления рыбы использовали комбикорма К-112 (23% протеина) и РГМ-08 (40% протеина) при суточной норме 10% от массы тела.

Результаты выращивания молоди тиляпий Мозамбика и красная на двух качественно различных рационах показали, что рост рыб положительно коррелирует с величиной содержания в рационе протеина. Тиляпия Мозамбика и красная при питании кормом К-112 имели среднюю массу те-

ла ниже (8,5 и 9,8г), чем при использовании корма РГМ-08 (17,1 и 21,8г), а их выживаемость соответственно составляла 83-93 и 100%.

Физиологическое состояние тиляпий красная и Мозамбика, содержащихся на низкобелковом корме К-112, по сравнению с высокобелковой диетой РГМ-08, характеризовалось повышенным содержанием в крови гемоглобина (на 9,3 и 2,2%), эритроцитов, их общего объема и интенсивности эритропоэза. Видовые изменения у этих тиляпий по показателям красной крови статистически недостоверны (табл.4).

Таблица 4

Характерстика красной крови молоди тиляпий двух видов

Показатели	Тиляпия мозамбика		Тиляпия красная	
	К-112	РГМ-08	К-112	РГМ-08
Hb. г%	9,56±0,2	9,47±0,2	9,89±0,2 *	9,30±0 17
Эр , млн/мкл	1.85±0,03	1,81±0,04	1,88±0,06	1,72±0,01
Ht. %	35.31±1,09	33,70±2,00	35,67±2,13	30,68±1,83
СГЭ, пг	51,67±1,75	52,32±1,69	52,60±1,70	54,07±1,80

* - P< 0,05: между К-112 и РГМ-8 у тиляпий красная

Полученные, данные свидетельствуют о том, что у Т. красная и Т. Мозамбика при питании кормом К-112 преобладают катаболические процессы, а при использовании корма РГМ-08 - анаболические.

В лейкоцитарном составе крови тиляпий обоих видов низкобелковый рацион обусловил увеличение лейкоцитов в 3,7 раза, за счет увеличения гранулоиитов (моноцитов и нейтрофилов), что является адаптивной реакцией организма рыб к условиям неполноценного питания. При этом отмечены видовые различия в белой крови тиляпий при использовании обоих рационов, уровень которых был выше у тиляпия Мозамбика, чем у тиляпий красная.

Содержание белка в крови тиляпий Мозамбика и красная при использовании различных рационов колебалось в пределах 3,5-3,8 г% с преимуществом у рыб, питавшихся высокобелковым рационом РГМ-08.

Данные результаты свидетельствуют о том, что низкий уровень протеина в кормах (23%) при выращивании молоди тиляпий Мозамбика и красная, вызывает мобилизацию защитных сил организма, снижает жизнестойкость молоди и энергию их роста. Увеличение содержания протеина в корме до 40% способствует повышению энергии роста молоди тиляпий, обеспечивает их высокую выживаемость и хорошее физиологическое состояние, что позволяет рекомендовать этот рацион для кормления молоди тиляпий.

3.4. Влияние экстремальных факторов среды и стресса в различных водоемах на жизнестойкость рыб

3.4.1. Влияние предельно низкой температуры воды в зимовальных прудах на жизнестойкость молоди карпа из разных водоемов

Для молоди прудовых рыб зимовка является своеобразным комплексом экстремальных факторов, предъявляющих высокие требования к функциональному состоянию всех систем организма. В этот период в ор-

ганизме рыб происходят глубокие физиологические изменения, внешне выражающиеся в снижении средней массы, изменении экстерьерных показателей, а также увеличивается отход рыб. Зимостойкость рыб является весьма важным фактором качественного состояния посадочного материала.

Результаты наших исследований по зимовке молоди карпа, выращенной различных экологических условиях (пруды-теплицы, биологические пруды, пруды-торфяники), показали, что зимостойкость рыб зависит от их продуктивной и физиологической подготовленности (табл. 5).

Таблица 5

Основные рыбоводные показатели зимующей молоди карпа

Показатели	Пруды-торфяники	Биологические пруды	Пруды-теплицы	Рыбоводные пруды
Средняя масса сеголеток, г	25,6±0.53	28,1±0,38	34,9±0,96*	25,7±0,94
Выход сеголеток. %	71.8	64.8	87,2	80,0
Рыбопродуктивность, ц/га	10,7	10,0	13,0	9,0
Средняя масса годовиков, г	23,8±0,92	20,9±1,05	29,6±0,75*	21,5±0,49
Выход годовиков, %	67,5	50,0	81,4	70,4

В первой половине зимовки по мере понижения температуры воды до +0,4-0,8 ^{0}C изменились многие параметры крови. Максимальные отклонения, по сравнению с осенними показателями, отмечены в январе. У зимующей молоди в этот период закономерно снизилась концентрация гемоглобина в крови, количество эритроцитов и их кислород-переносящая функция. Наиболее низкая концентрация гемоглобина (4,9 г%) отмечена у молоди карпа из биологических прудов, что свидетельствует об их анемичном состоянии (табл. 6).

Таблица 6

Характеристика красной крови зимующей молоди карпа

Вариант опыта	Нв, г%	Ht, %	Эр., млн/мкл	ОК., %	СГЭ, пг	Количество рыб, шт
Январь						
Биологич. пруды	4,90±0,20	25,70±1,11	0,90±0,03	4,71±0,17	54,44±2,20	25
Пруды-теплицы	8,31±0,76	29,33±1,60	1,08±0,06	3,41±0,17	76,66±3,16	16
Пруды-торфяники	8,01±0,36	28,81±1,26	1,06±0,02	2,86±0,15	74,42±2,21	25
Рыбоводные пруды	8,45±0,35	29,59±1,28	1,10±0,03	2,83±0,10	75,63±3,01	28
Март						
Биологич. пруды	5,24±0,21	26,13±1,40	0,98±0,01	4,38±0,26	52,03±2,90	15
Пруды-теплицы	9,67±0,43	32,02±1,14	1,18±0,03	3,10±0,15	78,09±3,91	18
Пруды-торфяники	8,18±0,37	28,92±1,10	1,07±0,02	2,82±0,10	75,71±2,41	25
Рыбоводные пруды	8,65±0,14	30,76±1,68	1,12±0,03	2,83±0,11	76,55±3,39	28
Апрель-май (весна)						
Биологич. пруды	5,36±0,23	26,58±1,38	1,03±0,02	4,74±0,23	53,47±2,70	15
Пруды-теплицы	9,72±0,21	32,78±1,44	1,20±0,02	3,83±0,20	86,11±3,45	18
Пруды-торфяники	8,58±0,42	30,57±1,15	1,09±0,02	3,11±0,17	78,71±3,35	30
Рыбоводные пруды	9,21±0,20	31,32±1,79	1,16±0,01	3,03±0,10	77,92±3,18	27

В марте, когда температура воды еще низкая, у всех исследованных рыб повысилась концентрация гемоглобина и количество эритроцитов, усилилась кислород-переносящая функция эритроцитов, что связано с функциональной гипоксией при пониженной интенсивности обмена. У молоди карпа из биологических прудов эти показатели продолжали снижаться, а в марте была выявлена наиболее низкая концентрация гемоглобина: 5,24 г%. В белой крови этих рыб отмечено высокое содержание лейкоцитов, за счет увеличения количества моноцитов (7,37 %) и нейтрофилов (5,38 %), что свидетельствует о напряженности физиологического состояния зимующих карпов.

Весной, когда температура воды повысилась, у годовиков из прудов-теплиц, прудов-торфяников и рыбоводных прудов гематологические показатели увеличились до осеннего уровня. Карпы из биологических прудов отличались низкими показателями красной крови, повышенным лейкоцитозом, низкой выживаемостью (50%) и наибольшей потерей массы тела.

Таким образом, различная зимостойкость молоди карпа позволила установить физиолого-биохимические параметры оптимального качества рыбопосадочного материала при выращивании в условиях интенсификации равных водоемов.

3.4.2. Адаптационные свойства и жизнестойкость молоди карпа при высоком уровне интенсификации

Интенсивное выращивание молоди рыб базируется на использовании уплотненных посадок рыбы при их дополнительном кормлении. По мнению ряда авторов, высокая плотность посадки рыбы является стрессирующим и неблагоприятным фактором, так как вызывает глубокие нарушения среды обитания, вследствие чего снижается энергия роста рыб и повышается их заболеваемость (Маслов, 1973; Murray Silvia, 1980; Серпунин, 1982; Мусселиус, 1983; Герасимова, Волкова, 1984; Головина, 1996; Крючков, Федорова, 2000).

В связи с этим, мы исследовали адаптационные свойства молоди карпа при выращивании в сельскохозяйственных прудах при высокой плотности посадки (50, 80 и 100 тыс.шт/га), с целью получения высококачественного рыбопосадочного материала для товарного рыбоводства.

Результаты исследований показали, что повышение плотности посадки молоди карпа до 80 и 100 тыс.шт./га способствует накоплению в прудах большого количества продуктов метаболизма (количество аммиака возрастает до 2 мг/л). Ухудшение качества воды в этих условиях отрицательно сказывается на кислородном режиме прудов. Уже в конце июля-начале августа, когда температурный режим наиболее благоприятный для роста рыб, содержание растворенного в воде кислорода становится ниже допустимых норм (4мг/мл) и молодь карпа содержится в условиях напряженного газового режима (перепады в утренние часы до 0,3-1,3 мг O_2/л).

Приспособление молоди рыб к условиям высоких плотностей посадки (80 и 100 тыс. шт./га) способствовало снижению их роста. В результате средняя масса рыб уменьшилась по мере увеличения плотности посадки (от 50, 80 до 100 тыс. шт./га) с 28,6 до 10,5 г при одновременном снижении прироста ихтиомассы (рис. 3)

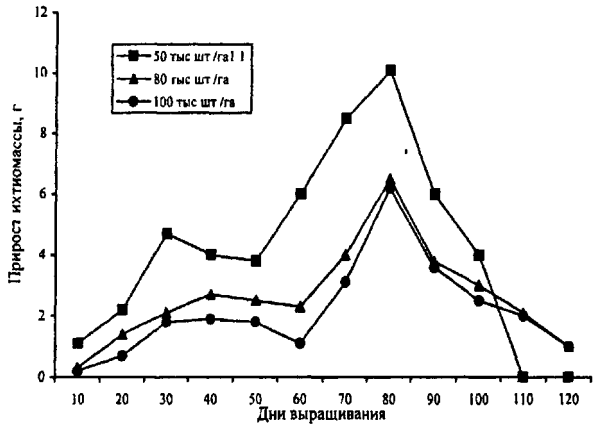

Рис.3. Прирост ихтиомассы молоди карпа при разной плотности посадки

Исследования биохимического состава тела молоди карпа, выращенной в прудах при 80 и 100 тыс.шт/га, по сравнению с карпами, выращенными при 50 тыс.шт/га, выявили снижение в их теле основных энергетических веществ: на 1,0 и 1,5% протеина, на 1,5 и 3,0% жира и увеличение влаги (табл.7).

Таблица 7

Рыбоводно-биохимические показатели молоди карпа в с/х прудах

Показатели	Плотность посадки рыб, тыс шт /га		
	50	80	100
Средняя масса сеголеток, г	28,6±1,10**	14,2±0,91	10,5±0,55
Кормовой коэффициент	3,3	3,6	3,2
Выживаемость,%	75	52	50
Содержание в теле,%.			
влага	76,3	78,3	79,1
протеин	15,0	14,0	11,5
жир	5,2	3,5	2,2
минеральные вещества	2,3	2,6	2,6

Повышение плотности посадки молоди карпов до 80 и 100 тыс.шт./га и ухудшение, вследствие этого, условий их содержания обусловило увеличение уровня энергетического обмена у рыб. Содержание гликогена в печени в этих группах составляло 6-4,5%, а при плотности посадки рыб 10 и 50 тыс.шт./га этот показатель был выше и составил 14-15 и 9-11 % соответственно.

Наряду с этим, у молоди карпа по мере увеличения плотности посадки повысился общий объем крови, за счет повышения ее жидкой части с 2,8 до 5,1%, а обеспеченность гемоглобином организма рыб возросла с 2,5 до 3,9 г/кг. Эти приспособительные реакции крови дают возможность молоди карпа существовать в напряженных гидрохимических условиях прудов при высоких плотностях посадки.

По мере увеличения плотности посадки рыб с 50 до 80 и 100 тыс.шт/га по сравнению с карпами, содержавшимися при 10 тыс.шт/га, количество лейкоцитов в белой крови возросло на 50,0. 33,3 и 200 % (P<0,01) соответственно, за счет увеличения иммунокомпетентных клеток (моноцитов и нейтрофилов).

Во фракционном составе белков крови молоди карпа в условиях плотных посадок (80 и 100 тыс.шт/га) по сравнению с плотностью рыб 50 тыс.шт/га уменьшается количество альбуминов, а количество глобулинов увеличивается, за счет возрастания в 3-4 раза концентрации γ-глобулинов.

Таким образом, выращивание молоди карпа при высокой плотности посадки (80 и 100 тыс.шт./га) способствует напряженности обменных процессов в организме рыб, увеличивает общее количество крови и обеспеченность гемоглобином крови. Одновременно с этим, возрастает количество лейкоцитов и γ-глобулинов в 3-4 раза. В результате у рыб увеличивается энергетический обмен, а пластический - снижается. Невысокое качество молоди карпа при плотности посадки 80 и 100 тыс.шт/га ухудшает их зимостойкость, а выживаемость годовиков составляет 45 и 43% соответственно. При этом, рыбоводные и физиолого-биохимических показатели у рыб, выращенных в сельскохозяйственных прудах при плотности посадки 50 тыс.шт/га, были удовлетворительными и их можно рекомендовать для получения рыбопосадочного материала.

3.4.3. Коррекция условий содержания молоди рыб при высокой плотности посадки

Для совершенствования технологии выращивания молоди карпа при высокой плотности посадки рыб в прудах мы провели моделирование этих условий в аквариумах и установили периоды коррекции. Результаты аквариумных опытов по улучшению гидрохимического режима (аэрация) при высокой плотности посадки рыб показали снижение затрат кормов в 5 раз и увеличение прироста ихтиомассы в 3 раза.

В лрудах аэрацию использовали в период низкого содержания кислорода в утренние часы с помощью компрессоров. Наряду с этим, в первые дни выращивания (15-30 дни) создавали небольшую проточность (полный водообмен 25-30 дней) и поддерживали естественную пищевую базу (удобрение прудов). В период кормления рыб искусственным кормом компенсационные мероприятия были направлены на увеличение протеина

в корме (протеиновое отношение 1:1) в первые 10 дней кормления, а затем его количество снизили до 1:2,5..

Коррекция условий выращивания молоди карпа в прудах при высокой плотности посадки 100 и 140 тыс. шт/га (опыт) привела к лучшему использованию ими как естественного, так и дополнительно вносимого корма, улучшению энергии роста и физиологического состояния, по сравнению с контрольным вариантом, где не проводили компенсационных мероприятий. В результате, при плотности посадки молоди карпа 100 тыс.шт/га была получена наибольшая рыбопродуктивность с высокой средней массой 41,0 г (табл. 8).

Таблица 8

Рыбоводная характеристика молоди карпа за период выращивания

Показатели	Опыт		Контроль	
	Плотность посадки рыб, тыс шт./га			
	100	140	100	140
Масса молоди при посадке. г	0.096±0.03	0.020±0.001	0.096±0.03	0 02±0 001
Масса сеголеток карпа, г	41,00±3,90*	12,70±2,50	21,50±0,30	8,90±1,20
Затраты корма, кг/кг прироста	2,79	4,40	3,08	3,98
Выход, %	56,50	67,20	61,20	73,90
Рыбопродуктивность, ц/га	11,80	6,80	6,60	5,70

Биохимический анализ состава тела молоди карпа исследуемых групп показал примерно одинаковое содержание жира, однако, количество гликогена в печени (17,0 и 16,2% против 11,0 и 9,0%) и мышцах (6,0 и 5,4 % против 2,5 и 2,5%) было больше в опытных группах по сравнению с контрольными. Это свидетельствует о высоких энергетических затратах у молоди карпа, выращенной в условиях высокой плотности посадки без компенсационных мероприятий.

Гематологические показатели у молоди карпа при высокой плотности посадки с улучшенными условиями выращивания были в пределах, характерных для плотности посадки рыб 40-50 тыс.шт/га (табл. 9).

Таблица 9

Гематологические показатели сеголеток карпа при высоком уровне интенсификации

Показатели	Опыт		Контроль	
	Плотность посадки рыб, тыс шт /га			
	100	140	100	140
Нв, г%	7,53±1,33	7,72±1,19	9,82±1,11	7,70±1,42
Нт,%	30,43±1,83	32,48±2,30	44,90±4,50	33,80±2,60
Эр., млн/мкл	0,90±0,05	0,91±0,07	0,80±0,50	1,14±0,10
ОК, %	3,40±0,15	4,80±0,45	4,24±0,22	4,89±0,25
ОГК. г/кг	2,55±0,11	3,70±0,30	3,75±0,11	3,89±0,20
СГЭ, пг	20,79±1,14	24,35±2,10	22,40±1,52	25,23±1,64
Лкц ,тыс шт/мкл	12,00±0,59	12,00±0,92	18,00+1,21	18,00+1,72

Таким образом, коррекция условий выращивания молоди карпа при высокой плотности посадки (100 и 140 тыс.шт/га) позволяет получать физиологически полноценный посадочный материал карпа с высокими рыбоводными показателями.

3.5. Интенсификация воспроизводства молоди рыб с использованием криоконсервированных половых продуктов

Для решения проблем, связанных с увеличением товарной продукции для нужд страны, весьма важны новые разработки и направления в естественном и индустриальном рыбоводстве с целью получения полноценной молоди рыб. Одним из перспективных методов воспроизводства различных видов рыб является использование для искусственного оплодотворения икры криоконсерванной спермы рыб.

Изучением методов криоконсервации половых продуктов рыб в России начали активно заниматься в последние 20-30 лет. Относительно криоконсервации спермы карпа имеется большое количество публикаций, где подвижность оттаянных сперматозоидов варьирует в пределах 10-40%, а их максимальная оплодотворяющая способность составляет 40-50% (Sin, 1974; Moczarski, 1976, 1977; Копейка, 1983, 1986; Пушкарь, 1981; Koldras, Bieniarz, 1987; Цветкова и др.,1997) Гораздо менее исследований проведено по замораживанию спермы осетровых рыб.

В задачу наших исследований входило изучение эффективности использования глубокозамороженной спермы карпа и сибирского осетра при воспроизводстве рыбопосадочного материала и производителей, а также совершенствование методов замораживания спермы и эмбрионов карпа, радужной форели и осетровых рыб.

3.5.1. Влияние низкотемпературной консервации спермы карпа на физиолого-биохимический статус потомства

В исследованиях использовали замороженно-оттаянную сперму парского карпа для оплодотворения производственных порций икры парского карпа Процент оплодотворения икры замороженно-оттаянной спермой составил 11,0%, а нативной (контроль) - 27%.Трехсуточные личинки карпа, полученные при использовании дефростированной спермы (в дальнейшем карп-крио), имели среднюю массу тела 1,7 мг, а в контроле - 1,5 мг, при практически одинаковой длине тела 5,9-6,0 мм.

Трехсуточные личинки карпа-крио выращивали в прудах при плотности посадки 56 тыс.шт/га, а подрощенная в лотках молодь (23 суток) была высажена в садки водоема-охладителя ГРЭС при плотности посадки 150 шт/м^2.

Выращивание молоди карпа-крио в садках в условиях тепловодного хозяйства показало, что сеголетки карпа-крио имели более высокую массу тела по сравнению с карпами контрольного варианта (129,9 против 70,1 г) и

коэффициент упитанности (2,9 против 2,4). Выживаемость рыб была практически одинаковой и колебалась на уровне 41,6-43,3%.

Аналогичные результаты получены при выращивании молоди карпа в прудах. Средняя масса карпа-крио составляла 20,2г против 15,9г в контроле, при более высоком коэффициенте упитанности- 2,8 против 2,6. Выживаемость молоди карпа в обоих вариантах была достаточно высокой и составила 80,1 и 95,7% соответственно.Более высокая энергия роста молоди карпа, полученной с применением замороженной спермы, отмечена и другими авторами (Копейка и др., 1990).

Независимо от условий выращивания молоди карпа-крио (пруды, садки), биохимический состав их тела отличался от рыб контрольного варианта более высоким содержанием жира, которого было больше соответственно в 1,3 и 2,0 раза, и протеина - на 3,9 и 41,0%. При этом карпы-крио, выращенные в садках, по сравнению с карпами-крио из прудов, имели в 1,6 раза более высокое содержание жира в теле.

Результаты гематологических исследований показали, что уровень параметров красной крови у молоди карпов-крио был выше по сравнению с карпами из контроля, независимо от условий содержания. Концентрация гемоглобина в крови карпов-крио составляла 8,9-9,1 г%, а у рыб контрольного варианта - 8,06 г% (табл. 10).

При этом, у молоди карпа-крио, выращенных в прудовых условиях, по сравнению с карпами контрольного варианта, выявлено более высокое содержание эритроцитов в крови (на 29,5 %), что, по-видимому, обусловлено различной интенсивностью эритропоэза у рыб.

Таблица10

Характеристика-красной крови молоди карпа-крио

Показатели	Пруды		Садки	
	Карп-крио	Карп	Карп-крио	Карп
Hb, г%	9,10±0,28	8,06±0,21	8,90±0,32	8.60±0.35
Ht, %	35,90±2,67	32,50±2,4	34,00±2,18	32,5±3,00
Эр., млн/мкл	1,19±0,04*	0,93±0,001	1,41±0,08	1,26±0,08
СГЭ. пг	76,47±3.51	84,73±4,20	63,10±2,85	65.00±2.90

• В составе белой крови молоди карпа-крио при выращивании в прудах и садках было отмечено более высокое содержание лейкоцитов (на 7,3 и 28,0%), по сравнению с карпами контрольных вариантов, за счет увеличения количества иммунокомпетентных клеток (малые лимфоциты, моноциты и нейтрофилы).

Иммунологическая характеристика молоди карпа-крио, выращенных в прудах, показала высокий уровень содержания естественных гуморальных факторов иммунитета: агглютинация к эритроцитам кролика-АЭК и лизоцим При этом, количество лизоцима в туловищной дочке и сыворотке крови карпов-крио, было достоверно выше соответственно в 3,1 раза и на 64,3%, чем у карпов в контроле.

Таким образом, молодь карпа-крио, выращенная при технологических нормах в прудах и садках, имела хорошие физиолого-биохимические

и рыбоводные характеристики. Карпы-крио эффективно использовали искусственные корма. Затраты корма на 1 кг прироста у них составляли соотвественно 1,9 и 1,8 против 3,0 и 2,1 в контроле. Высокое качество полученного потомства позволяет рекомендовать использование криоконсервированной спермы для получения рыбопосадочного материала и его выращивания в различных водоемах.

3.5.2. Рыбоводная и физиолого-биохимическая характеристика производителей карпа-крио

В прудовых условиях ЦЭБ «Якоть» (ВНИИПРХ, Моск. обл.) выращено стадо производителей карпа, при воспроизводстве которых была использована криоконсервированная сперма. Полученоое стадо производителей карпа-крио содержали до девятилетнего возраста, а их биологическая ценность была изучена по качеству потомства от впервые нерестующих и старшевозрастной групп (сеголетки карпа F_1). От средневозрастных производителей карпа-крио выращено маточное стадо F_1. В контроле использованы карпы, полученные традиционным способом воспроизводства.

Старшевозрастная группа (восьмигодовики) карпов-крио имели среднюю массу тела 5,0 кг (самцы) и 6,5 кг (самки) при коэффициенте упитанности 2,1 и 2,9 соответственно. У карпов контрольного варианта масса тела была ниже на 32,3% (самки) и на 34,6% (самцы). Исследования экстерьерных показателей выявили, что самки и самцы карпа-крио имели типичные индексы телосложения для производителей этого возраста.

К моменту нереста 80,0 % самцов восьмигодовиков карпа-крио отдали сперму, а ее объем составил в среднем 20 мл. Подвижность спермиев в эякуляте составляла 100 %, при их концентрации 24,2 млн/мкл.

Самки-восьмигодовики карпа-крио к началу нереста созрели на 85,7 %. Масса икры, полученная от 1 рыбы, составляла 840г, а относительная плодовитость соответствовала 124,7 тыс.шт/кг. Оплодотворяемость икры колебалась в пределах 78,0-91,0 %.

Потомство восьмигодовиков карпа-крио (сеголетки F_1), полученное с использованием криоконсервированной спермы, сохранило тенденцию более высокой массы тела. При этом, их средняя масса составила 36,4 г, а в контроле 26,3 г при коэффициенте упитанности 3,0 и 2,8, соответственно. Выживаемость сеголетков карпа в обоих вариантах была высокой и составляла 81,3 (карпы-крио) и 89,8% (карпы в контроле).

Молодь карпа (F|) в обоих вариантах имело хорошее физиологическое состояние. Сеголетки карпа-крио отличались более высокой концентрацией гемоглобина в крови (9,2 против 8,7 г%) и количеством белка (3,3 против 2,8 г%).

Впервые нерестующие пятигодовалые самки карпа-крио и самки карпа контрольной группы имели массу тела 3,4 и 3,2 кг соответственно. При этом, самок карпа-крио созрело больше на 12,5%, чем рыб в контроле и составило 62,5% против 50,0%. Продуктивность по 8 самкам обеих групп представлена в таблице 11.

Самцы-пятигодовики карпа-крио по массе тела были меньше, чем самки, а их средняя масса составляла 2,8 кг, против 3,3 кг в контроле. Качество спермы самцов карпа-крио отличалось от самцов в контроле большей концентрацией спермиев на 13,9 % (22,1 против 19,4 млн/мкл) и объемом эякулята на 22,2 % (26,8 против 21,9 мл) При этом уровень подвижности сперматозоидов в обеих группах был одинаковым и составлял в среднем 96,6 %.

Таблица 11

Репродуктивные качества впервые нерестующих самок-пятигодовиков

Показатели	Карп-крио	Карп
Количество икры от 1 самки, г	275,0±11,2	299,0±10,5
Количество икры в 1г, шт	1156±23.7	1080 0±22.4
Оплодотворение икры, %	59,5	63.5
Рабочая плодовитость, тыс шт	317,9±15,2	322,9±15,5
Относительная плодовитость, тыс шт/кг	62,1±3,1*	83 0±2,7

Потомство молоди карпа от впервые нерестующих производителей карпа-крио было получено тоже с использованием нативной и криоконсервированной спермы При этом, было выявлено преимущество в массе тела сеголетков карпа-крио F_1, (20,2 против 15,9г), в коэффициенте упитанности рыб (2,8 против 2,6) и рыбопродуктивности (8,6 против 8,2 ц/га). Молодь карпа-крио F_1 лучше использовала корм, в результате кормовой коэффициент был ниже и составил 1,8 кг на 1 кг прироста, а у рыб в контроле - 2,3 кг/кг.

Гематологические показатели молоди карпа F_1 соответствовали хорошему физиологическому состоянию рыб в обоих вариантах. При этом, > сеголеток карпа-крио F_1 были выше концентрация гемоглобина в крови (9,1 против 8,0 г% в контроле), количество эритроцитов и гематокрит. Наряду с этим, концентрация белка в крови карпов-крио F_1 была несколько ниже, чем у рыб в контроле (3,2 против 3,7 г%), что обусловлено различным уровнем их обмена.

Эффективность использования криоконсервированной спермы карпа была исследована также на маточном стаде карпа F_1, при выращивании его в прудовых условиях до пятигодовалого возраста. Потомство маточного стада карпа подучено с применением криоконсервированной (карп-крио) и нативной (карп, контроль) спермой.

Рыбоводные показатели карпов-крио разного возраста отличались от карпов контрольного варианта в раннем возрасте, а по мере роста и селекционного отбора эти показатели практически не различались (табл. 12).

Таблица 12

Характеристика роста ремонтного стада карпа-крио F_1

Возраст рыб	Масса тела, кг		К уп.		Выход, %	
	Карп-крио	Карп	Карп-крио	Карп	Карп-крио	Карп
Годовики	0,002	0,0015	2,7	2,6	85,0	81,0
Двухгодовики	0,588	0,461	2,9	2,8	98,0	100,0
Трехгодовики	2,21	1,91	3,7	3,5	92,8	81,2
Четырехгодовики:						
самки	2,84	2,57	2,4	2,7	100,0	100,0
самцы	2.30	2,24	2,5	2,6	100,0	71,4

Анализ развития половых органов у двухгодовиков карпа в обоих вариантах не выявил половых различий. Коэффициент зрелости гонад был невысоким и составил у карпа-крио 0,14 %, а у карпа контрольного варианта 0,13%.

Половая принадлежность была выявлена у трехлеток карпа в обоих вариантах. Содержание самок и самцов карпов-крио составляло 63,1 и 36,9 %, а в контрольном варианте это соотношение соответствовало 27,2 и 72,8 %. В результате, трехлетки карпа-крио имели больше в 2,3 раза самок, а карпы контрольного варианта в 1,9 раза больше самцов.

У самцов-трехгодовиков карпа-крио ассиметрия гонад составляла 28,6 %, у карпов в контроле - 50 %, при более высоком коэффициенте зрелости (3,9 против 3,5 %). У самок карпа-крио и контроля гонады были различимы, но еще слабо развиты, что характерно для карпов данного возраста. Коэффициент зрелости гонад у самок карпа-крио составил 0,6 %, а у рыб в контроле -0,7 %.

Рыбоводные и экстерьерные показатели ремонтного стада карпов-крио трехгодовиков, четырехгодовиков и пятигодовиков были типичными для данного возраста и соответствовали рыбоводным показателям (табл.13).

Таблица 13

Рыбоводно-биологическая характеристика пятигодовиков карпов-крио

Показатели	Карп-крио		Карп	
	Самки	Самцы	Самки	Самцы
Масса тела, кг	4,2±0,23	3,0±0,1	3,5±0,23	3,1±0,31
Длина тела (l), см	54,1±0,93*	50,1±0,67	50,6±0,72	49.9±1,14
Высота тела (H), см	21,0±0,70	20,8±0.37	21,7±0,55	21,0±0,79
Толщина тела (Вг), см	8,4±0,18	7,7±0,13	7,6±0,24	8,0±0,41
Обхват тела, (О), см	44,5±0,51	4.1±0,65	42,4±1,07	41.1±1,88
Длина головы (С), см	12,5±0,32	11,1±0,21	11,9±0,25	11,3±0,43
Коэффициент упитанности	2,6±0,08	2,4±0,05	2,7±0,12	2,5±0,19
Индекс прогонистости	2,6±0,12	2,4±0,03	2,3±0,04	2,4±0,06
Индекс толщины тела,%	15,5±0,28	15,3±0,24	15,0±0,34	16,0±0,78
Индекс обхвата, %	82,2±1,05	81,5±0,71	83,9±1,31	82,4±2,86
Индекс большеголовости,%	23,0±0,30	22,2±0,41	23,6±0,33	22,5±0,63

Следует отметить у самцов и самок карпа-крио и у карпов контрольного вариантов равного количества лучей в анальном и спинном плавниках (7 и 19-20 шт, соответственно), что свидетельствует о генетической однородности исследуемых рыб.

Ремонтное стадо карпа-крио было затем передано для производственного использования в рыбплемхоз «Якоть», где их успешно используют для рыбохозяйственных целей.

Таким образом, производители карпа-крио исходного маточного стада и маточного стада F_1 по рыбоводно-биологическим параметрам соответствуют рыбоводным нормативам. Производители карпа-крио отличаются высокими продуктивными качествами. Самки имеют большую рабочую и относительную плодовитость, по сравнению с производителями карпа контрольного варианта: на 42,0 и 43,2% соответственно. Самцы карпа-крио отличаются высокой подвижностью нативных сперматозоидов (98-100%) и реактивностью на гипофизарные инъекции.

Потомство F_1 молоди карпа, полученное от разновозрастных производителей карпа-крио, имеет высокие рыбоводные и физиолого-биохимические параметры, что позволяет получать высококачественный рыбопосадочный материал для товарного рыбоводства.

3.5.3. Совершенствование методов криоконсервации спермы карпа

Учитывая отсутствие эффективных отечественных методов низкотемпературной консервации спермы карпа, мы изучали криоустойчивость сперматозоидов карпа на всех этапах процесса криоконсервации для получения оптимального метода.

Криоустойчивость спермиев карпа изучали в зависимости от концентрации водородных ионов в среде (pH), определяли уровень оптимальной осмотической резистентности при различных комбинациях ионного состава среды, изучали режимы замораживания и оттаивания спермиев.

Наши исследования выявили, что pH нативной спермы карпа составляет 6,8, а активация сперматозоидов происходит в широком диапазоне pH: 5,5-10,0. В связи с этим изучали влияние на подвижность сперматозоидов pH Трис-буферного раствора при разбавлении различными кислотами: соляной (HC1), аминоуксусной (Гл.) и янтарной (Я.К.). В результате было установлено, что снижение pH (с 9 до 6,5) традиционного Трис-HC1 буфера, повышает подвижность оттаянных сперматозоидов с 25,0 до 41,7% (табл. 14).

Снижение pH среды до 6,5 за счет введения в буферную основу янтарной кислоты, позволило получить в среднем 60,0% живых оттаянных сперматозоидов.

Таблица 14

Криоустойчивость спермы карпа в зависимости от pH среды

PH среды	Подвижность оттаяной спермы,%	
	Колебания	Среднее
9.0 -HC1	20-30	25,0+2,1
9,0- Я.к.	20-30	26,7+2,5
8.0 – HC1	30-40	33,3+2,1
8 0- Я к	35-40	38,3+2,2
7.0-HC1	35-40	35,0+1,8
7.0- Я к.	40-45	43,3+2,7
6.5- HC1	40-45	41.7+2.7
6,5- Я.к	50-70	60,0+3,5 *
6.5-Гл.	50-65	57,3+2,7

Для спермиев разных видов рыб характерен свой оптимальный осмотический уровень, выше которого их подвижность и оплодотворяющая способность снижаются, либо вообще становятся невозможными. Осмотическая резистентность спермы карпа была исследована при использовании следующих солей неорганических кислот-хлориды, карбонаты, сульфаты, фториды и органических кислот- цитраты, ЭДТА (натриевая соль).

На основе исследованных солей, по трехкомпонентной системе подбора ингредиентов, нами была разработана оригинальная криозащитная среда С-1 для консервации спермы карпа. Криозащитная среда С-1 позволяет получать 40-70% живых сперматозоидов карпа в оттаянных образцах спермы, а процент оплодотворения ею икры карпа достигает в среднем 80%.

Исследования температурного режима оттаивания спермы карпа, замороженной в гранулах по 0,1 мл, показало, что оптимальной температурой оттаивания является 40-50 ° С (рис.4). При этом процент подвижности оттаянных спермиев в гидрооттаивателе составляет 40-45%.

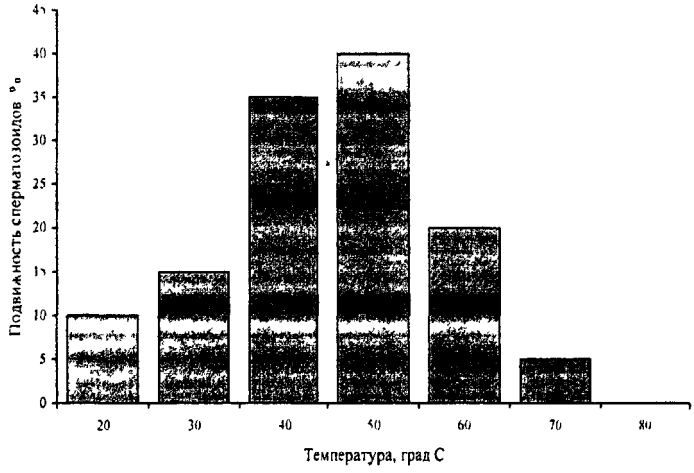

Рис.4 Подвижность спермы карпа при различном режиме оттаивания гранул

3.5.4. Воспроизводство карпа с использованием криоконсервированных эмбрионов

В настоящее время отсутствуют технологии криоконсервации яйцеклеток и эмбрионов рыб. Первые работы, проведенные на эмбрионах данио рерио (Harvey, 1983) и карпе (Zhang et al, 1989), не были успешными. Более заметных результатов удалось получить Leveroni Calvi S, Maisse G (1999) при замораживании эмбрионов карпа на различных стадиях Выживаемость эмбрионов карпа на стадии морулы было 89%, на стадии ранней бластулы - 94% и поздней бластулы -96% М С. Манохиной с соавторами (2001) удалось заморозить поздние эмбрионы данио рерио и получить полноценных личинок. Однако повторить этот опыт не удалось.

В наших исследованиях были использованы эмбрионы парркого карпа на стадии двух бластомеров и вращающегося эмбриона. Процесс криоконсервирования эмбрионов карпа проводили по адаптированной инструкции (Малиновский и др, 2000)

Результаты эксперимента по насыщению эмбрионов различными криопротекторами показали, что в течение 5 минут эквилибрации не происходит достаточного проникновения криопротекторов (глицерин, ДМСО, этиленгликоль, метанол) и выживаемость эмбрионов была равна нулю Более успешные результаты были получены при использовании криопротектора этиленгликоля (10%) и эквилибрации в течение 10 минут. При этом, после оттаивания получено 75,0% живых эмбрионов на стадии 2-х бластомеров

Оттаянные живые эмбрионы инкубировали в чашках Петри при температуре воды 12-14 ° С, что, вероятно, было неблагоприятным фактором и эмбрионы погибли через 2 дня.

Таким образом, нам не удалось получить живых личинок карпа из оттаянных эмбрионов. В этой связи, необходимы дальнейшие исследования по разработке метода криоконсервации эмбрионов рыб.

3.5.5. Искусственное воспроизводство молоди сибирского осетра с использованием криоконсервированной спермы

Изучение результативности использования криоконсервированной спермы осетровых рыб на качество полученного потомства (осетр-крио) выполнены в производственных условиях завода товарного осетроводства (КФТО, Тверская обл.).

В работе была использована нативная сперма сибирских осетров (ленская и байкальская популяции) с подвижностью 90-100%. После оттаивания криоконсервированной спермы подвижность сперматозоидов составляла 10-40%, а процент оплодотворения ею икры сибирского осетра ленской популяции составил 17,7 против 79,6 % в контроле, где использована нативная сперма.

Зародышевое развитие в обоих вариантах было одинаковым, но различалось в количественном отношении. Выклев предличинок осетров начался одновременно и продолжался у осетров-крио 30 часов, а у рыб в контроле 39 часов при выходе предличинок 5,1 и 21,0 % соответственно. Качественный состав погибшей икры за период инкубации свидетельствует о более высоком отходе эмбрионов-крио на ранних стадиях развития и повышенном проценте уродств (32,2 против 22,5 % в контроле) (табл.15).

Таблица 15

Характеристика отхода эмбрионов сибирского осетра после инкубации

Показатели	Осетр-крио		Осетр	
	шт.	%	шт	%
Ранние стадии развития	17136	30,06	9699	17,01
Невыклюнувшиеся личинки	1920	3,36	576	1,01
Личинки, хвостом вперед	960	1,68	310	0,54
Не всплывшие личинки	240	0,42	354	0,62

Товарное выращивание сибирского осетра-крио проводили в бассейнах при производственной плотности посадки рыб. Рыбоводные показатели выявили преимущества в темпе роста осетров, полученных с использованием криоконсервированной спермы. Их средняя масса тела на первом году жизни составила 129,0 г против 70,0 г в контроле.

Физиологическое состояние осетров-крио отличалось более высоким содержанием гемоглобина в крови (7,3 против 6,9 г% в контроле), большим количеством эритроцитов и гематокрита. Концентрация белка в сыворотке их крови составляла 5,8 г%, а количество иммунокомпетентных

клеток (моноцитов, нейтрофилов, эозинофилов и базофилов) было достоверно выше, чем у осетров в контрольном варианте.

Кроме того, нами была получена молодь гибрида осетра-крио при осеменении криоконсервированной спермой байкальского осетра 650 г икры самки ленской популяции. В контроле гибриды осетра получены при использовании нативной спермы и 1100 г икры. Исследования проведены в два тура, с целью изучения результативности выращивания молоди гибрида осетра-крио при разной плотности посадки (900 шт/м^2 и 3200 шт/м^2).

Сравнительный анализ показал, что процент оплодотворения икрв осетра размороженной спермой был ниже, чем в контрольном варианте в обоих турах и составлял соответственно 8,9-17,7 % против 79,6-92,8 %.

Следует отметить, что в обоих турах исследования продолжительность выклева личинок гибрида осетра-крио была меньше на 32,7 (I тур) и 23,1 % (II тур), по сравнению с гибридами осетра контрольных вариантов.

Увеличение плотности посадки рыб с 900 до 3200 шт/м" при выращивании гибридов осетра-крио и гибридов осетра контрольного варианта снизило среднюю массу рыб. При этом, за 40-45 суток масса гибрида осетра-крио была ниже на 26,8%, а у молоди в контроле - на 17,3 %. В результате на первом году жизни (7-8 месяцев) гибриды осетра-крио, выращенные при плотности посадки 900 шт/м^2, имели большую массу тела: 380 г против 365 г у гибридов контроля, а при плотности посадки 3200 шт/м^2 эти показатели были ниже соответственно на 34,2 % и 53,5 %.

Молодь сибирского осетра-крио и его гибрид была выращена до товарной продукции (двухгодовики). Причем, масса тела чистой линии осетров-крио была выше, чем у рыб в их контроле на 10,7 %, а у гибрида осетра-крио это преимущество составляло 20 г (1,8 %).

Таким образом, потомство сибирского осетра и его гибрид, полученные с использованием замороженно-оттаянной спермы, характеризуются высокими рыбоводными и хорошим физиологическим состоянием Осетры-крио имели товарную массу тела в том же взрасте, что и при традиционной технологии (двухгодовики, 0,9-1,0 кг), а гибриды осетра-крио превышали этот уровень (1,1 кг). Полученные результаты свидетельствует о возможности эффективного применения криоконсервированной спермы для получения высококачественной молоди и товарной продукции этих ценных видов рыб.

3.5.6. Рыбоводно-биологическая характеристика производителей сибирского осетра-крио

Выращивание производителей сибирского (ленская популяция) осетра-крио проводили в условиях КФТО. Половое разделение сибирских осетров-крио проведено в четырехлетнем возрасте. Самцы осетров уступали самкам по массе тела (5,02 против 7,4 кг) и коэффициенту упитанности (1,4 против 1,1) Качество нативной спермы осетров-крио характеризовалось подвижностью спермиев на уровне 80-100%.

Производители осетра-крио в пятилетнем возрасте имели среднюю массу тела у самок 7,7 кг, а у самцов 6,8 кг (в контроле 7,2 и 6,0 кг) при

коэффициенте упитаннности 1,4 и 1,1 соответственно. Сперма самцов осетра-крио в этом возрасте также имела высокую подвижность сперматозоидов (100%) Самки осетра-крио имели икру во П стадии созревания, как и в контроле.

Самки сибирского осетра-крио и самки в контроле созрели одновременно в шестигодовалом возрасте при одинаковой массе тела 10,1 кг. Количество икры от одной самки осетра-крио сотавляло в среднем 0,6 кг, рабочая плодовитость достигала 30,1 тыс.шт., а оплодотворяемость икры была на уровне 73,6%. У самок сибирского осетра в контроле эти показатели были незначительно ниже, а разница составляла лишь 1-5%.

Таким образом, полученные производители сибирского осетра, при воспроизводстве которых была использована криоконсервированная сперма, имеют высокие рыбоводно-биологические показатели и успешно используются в товарном осетроводстве.

3.5.7. Совершенствование методов низкотемпературной консервации спермы осетровых рыб

При криоконсервации спермы осетровых рыб используются зарубежные методы низкотемпературной консервации. При этом применяется трехэтапный режим замораживания спермы рыб. В своих исследованиях мы изучили метод замораживания спермы осетровых рыб в гранулах (0,1мл) на фторпластовой пластине при -80°С, **с** дальнейшим погружением их в жидкий азот.

Исследования криоустойчивости спермиев осетровых рыб в зависимости от концентрации водородных ионов в среде выявили повышение подвижности оттаянных сперматозоидов при снижении pH до 6,5-7,0 с использованием трис-янтарная кислота буферного раствора. Это способствовало повышению подвижности дефростированных спермиев у осетров до 60-70%.

Осмотическая резистентность сибирского осетра и стерляди в солях ЭДТА и $MgSO_4$ имела различный диапазон. При этом уровень подвижности спермиев сибирского осетра был значительно выше, чем у стерляди. В результате подбора оптимального соотношения ингредиентов в разбавителе и криопротекторов нам удалось разработать оригинальную синтетическую среду для криоконсервации спермы осетровых рыб (С-2). Использование этой среды позволяет получить до 41% подвижных сперматозоидов после замораживания-оттаивания, а оплодотворяемость икры осетров при этом достигает 81,1%

Для снижения процесса пероксидации липидов при криоконсервации спермы осетровых рыб (русский осетр и стерлядь) в состав среды мы вво-

дили антиоксидант БОТ (бутилокситолуол) в концентрации 0,04 и 0,06 мг/мл (табл. 16).

В исследованиях были использованы два режима замораживания спермы осетровых рыб - трехэтапный (ампулы) и быстрый (гранулы). Включение БОТ в дозе 0,04 мг/мл среды для стерляди и 0,06 мг/мл среды для русского осетра позволило увеличить подвижность живых сперматозоидов после оттаивания до 50-60%.

Таблица 16

Влияние антиоксиданта БОТ (мг/мл) в криозащитной среде на подвижность оттаянных сперматозоидов осетровых рыб (%)

Наименование буфера	Концентрация БОТ	Русский осетр		Стерлядь		Сибирский осетр
		Ампулы	Гранулы	Ампулы	Гранулы	Ампулы
Трис-HCl	0	48,75	16,25	34,37	-	46,25
«	0,04	57,50	46,25	18,57	-	48,12
Трис-Я к.	0	28,75	57,14	41,25	17,00	45,00
«	0,04	54,37	53,75	41,25	20,25	36,25
«	0,06	20,83	60,00	51,25	36,87	51,25
Трис-Гл.	0	34,37	65,00	18,57	33,75	-
«	0,04	52,50	62,50	31,87	28,12	35,00
«	0,06	44,28	63,75	37,50	29,12	41,25

Таким образом, разработка биотехнических приемов по совершенствованию криоконсервации спермы осетровых рыб и карпа позволило нам создать оригинальные синтетические среды для замораживания спермы рыб, а также применить новый режим замораживания и оттаивания. Эти приемы позволили повысить сохранность криоконсервированной спермы в жизнеспособном состоянии на 15-20%.

ВЫВОДЫ

1. Использование биотехнических приемов интенсивного воспроизводства рыб в разных водоемах выявило направления, методы и целесообразность их использования для получения молоди рыб. Специфические условия среды обитания молоди рыб в разных водоемах способствуют проявлению биологической адаптации в их организме, которая позволяет контролировать, корректировать и прогнозировать уровень применяемых технологий.

2. Наиболее сильным абиотическим фактором в водоемах является температура воды (r = 0,96). Повышение температуры на 3-5 С в прудах-теплицах увеличило среднесуточный прирост и среднюю массу сеголеток карпа до 35,0 г, рыбопродуктивности - до 13 ц/га и зимостойкости- до 81%.

Комплексное воздействие факторов среды: температура воды и содержание растворенного в ней кислорода (r =0,94) в прудах-теплицах вы-

РОС. НАЦИОНАЛЬНАЯ
БИБЛИОТЕКА
С.Петербург
09 300 ект

зывает у молоди карпа усиление кроветворения в почках, повышение общего объема крови, обеспеченности рыб гемоглобином, содержания в крови белка (r=0,96) и альбуминов (r=0,97), а также количества лимфоцитов.

Высокие рыбоводные показатели молоди карпа, выращенной в прудах-теплицах и ее хорошее физиологическое состояние позволяют получать высококачественный зимостойкий рыбопосадочный материал.

3. Вторичное использование воды после очистки животноводческих комплексов для рыбоводных целей позволяет подращивать в биологических прудах высококачественную молодь на естественной пище со среднесуточным приростом ихтиомассы 0,77 г. Выращивание сеголеток карпа в этих прудах при плотности посадки 40-50 тыс.шт./га создает напряженность гидрохимических условий (увеличение содержания органических веществ и снижение уровня кислорода, растворенного в воде), что оказывает отрицательное влияние на биологическую полноценность рыбопосадочного материала и его зимостойкость.

4. Содержание молоди рыб в период зимовки при экстремально низкой температуре воды и длительном голодании приводит к адаптационным реакциям, зависящим от физиологического состояния рыб. Зимующая молодь карпа, имеющая достаточное количество резервных веществ в теле и хорошее физиологическое состояние (рыбы из прудов-теплиц, прудов-торфяников и сельскохозяйственных прудов), благополучно переносит тяжелые условия зимовки, а ее выживаемость достигает 83,6- 90,0 %. У молоди карпа из биологических прудов с низкой резистентностью организма и небольшим содержанием жира в теле, отмечено истощение ресурсов в период зимовки, что обусловило развитие анемии и лейкоцитоза, а их выживаемость составила только 50 %.

5. Выращивание молоди карпа в сельскохозяйственных прудах при высокой плотности посадки (80 и 100 тыс.шт/га) оказывает стрессирующее воздействие на рыб, из-за нарушения продукционно-биологических процессов в прудах. При этом, у молоди карпа отмечен ряд адаптивных изменений в обмене веществ: уровень сахара в крови выходит за пределы нормы, повышается концентрация молочной кислоты в крови до 33,3 мг%, снижается концентрация гемоглобина в крови, увеличивается общий объем крови, понижается концентрация белка в крови и повышается содержание γ-глобулинов. Средняя масса карпа с увеличением плотности посадки снижается с 14,0 г до 10,5 г, что ниже рыбоводных нормативов.

6. Коррекция гидрохимических условий прудов при выращивании молоди карпа с высокой плотностью посадки (100 и 140 тыс.шт./га) за счет аэрации и небольшой проточности воды, а также изменение содержания протеина в кормах в критические периоды, способствует получению высококачественного рыбопосадочного материала и повышению рыбопродуктивности до 11,8 ц/га.

7. Низкая естественная кормовая база прудов-торфяников (50 кг/га) в условиях интенсивного воспроизводства молоди карпа снижает их био-

логическую полноценность. Применение мелиорации прудов и кормления рыб искусственным кормом позволяет получать полноценный рыбопосадочный материал со средней массой тела до 25,6 г.

8. Кормление молоди тиляпий Мозамбика и красная в условиях индустриального рыбоводства является важным фактором их биологической полноценности. Повышение в их рационе уровня протеина с 23 до 40%, способствует увеличению среднесуточных приростов и средней массы тела рыб (17,1 и 21,8 г), а также хорошему физиологическому состоянию. Низкобелковый рацион обусловил невысокие приросты массы тела тиляпий Мозамбика и красная. При этом, в крови рыб отмечено трехкратное увеличение количества лейкоцитов и повышение тромбоцитов.

9. В современных экономических условиях при выращивании молоди сибирского осетра можно успешно использовать в рационе фарш из отходов карповых рыб в течение 15-20 дней. Монодиета из фарша с высоким содержанием жира обусловила высокий темп роста рыб в этот период и хорошее физиологическое состояние.

10. Использование нового биотехнического приема в искусственном воспроизводстве молоди рыб - криоконсервированной спермы различных видов рыб, позволило получить высококачественный рыбопосадочный материал для товарного рыбоводства. Молодь карпа, полученная с использованием криоконсервированной спермы, и выращенная в прудовых и индустриальных (садки) условиях интенсивного рыбоводства, по сравнению с карпами традиционного воспроизводства, имеет преимущества в массе тела, экстерьерных показателях, физиологическом состоянии и рыбопродуктивности.

11. Искусственное воспроизводство молоди сибирского осетра и его гибрида с применением криоконсервированной спермы показало перспективность этого метода для получения посадочного материала и выращивания товарной продукции (средняя масса двухгодовиков 0,9-1,1 кг). Впервые выращенные производители сибирского осетра-крио имеют высокие репродуктивные качества, что позволяет получать потомство этих ценных видов рыб.

12. Усовершенствованные методы криоконсервации спермы карпа, радужной форели и осетровых рыб позволили повысить подвижность оттаянных сперматозоидов на 15-20 % и их оплодотворяющую способность.

13. Изученные на большом количестве материала адаптивные реакции молоди рыб, выращенной в водоемах с различным уровнем экологических факторов, выявили многочисленные физиолого-биохимические изменения в организме рыб. Использование биотехнического приема биологической адаптации молоди рыб позволило установить параметры их нормального физиологического состояния и оптимального уровня интенсификации.

Практические рекомендации

1. Рекомендуем рыбоводным хозяйствам использование водоемов сельскохозяйственного и комплексного назначения для выращивания сеголеток карпа, а пруды-теплицы и биологические пруды - для подращивания молоди рыб на естественной пище до 1-2 г.

2. Для прогнозирования жизнеспособности молоди карпа при посадке на зимовку рекомендуем осуществлять физиолого-биохимический мониторинг выращивания сеголеток карпа. Уровень гематологических показателей молоди карпа в условиях интенсивного выращивания (плотность посадки 50 тыс.шт/га) должен соответствовать: концентрация гемоглобина в крови рыб 6-9 г%; общий объем крови 2,0-3,5 %; обеспеченность гемоглобином крови рыб 2-3 г/кг; концентрация белка в сыворотке крови 3-4 %; содержание γ-глобулинов 3-4 %; количество лимфоцитов 90-95 %; количество моноцитов 2,0-3,5 %; нейтрофилов 1-2%.

3. Для интенсивного воспроизводства молоди сибирского осетра предлагаем использовать для оплодотворения икры криоконсервированную сперму. Состав замораживающей среды включает: 7% сахарозы, 10-20% куриного желтка, 10% ДМСО, 30 мМ Трис-янтарная кислота буфера.

4. Предлагаем использование криоконсервированной спермы карпа для воспроизводства рыбопосадочного материала. Рекомендуем применять быстрый режим замораживания спермы карпа в гранулах объемом 0,1 мл на фторпластовой пластине при -80 С, с последующим погружением их в жидкий азот. Для оттаивания гранул предлагаем использовать гидро-или электрооттаиватель с рабочей температурой 40-50°С.

Список опубликованных работ по теме диссертации:

1. Герасимова Т.Д., Волкова СИ. Параметры крови сеголетков карпа при разном содержании кислорода в проточных и аэрируемых водоемах. //Докл. ТСХА, вып. 222,1976.-С.156-158.
2. Герасимова Т.Д., Волкова СИ., Архипова Л.В. Морфофизиологические индикаторы молоди карпа в условиях прудов комплексного назначения. //Сб.:Экология, физиология рыб. -Киев, 1976.-С. 36-37.
3. Волкова СИ. Основные показатели крови сеголетков карпа, выращенных при уплотненных посадках. /Кн.: Интенсификация прудового рыбоводства. М.: Московский рабочий, 1977.-С. 143-149.
4. Герасимова Т.Д., Волкова СИ., Пегасов В.А. Морфологические и физиолого-биохимические проявления адаптации у карпа в условиях интенсификации. //Ш Всесоюзная конф. по эколог, физиологии рыб. -М., 1977, Ч.2.-СЗ 1-32.

5. Волкова СИ. Некоторые показатели крови сеголетков карпа, выращенных при уплотненных посадках. //Труды МРМОС, вып. 2.- М, 1977. -С.67-72.
6. Волкова СИ., Герасимова Т.Д. Использование сельскохозяйственных прудов комплексного назначения в Центральной Нечерноземной зоне РСФСР. //Тезисы докл.: Рыбохозяйственное. освоение водоемов комплексного назначения. М., 1978.- С.23-25.
7. Герасимова Т.Д. Волкова СИ., Лыгалова Л.В. Выращивание рыбопосадочного материала на прудах биологической очистки животноводческих комплексов. //Ж.: Рыбоводство и рыболовство. 1978, №4.-С. 10-12.
8. Волкова СИ. Влияние условий среды на гематологические показатели сеголетков карпа, выращенных в прудах различного сельскохозяйственного назначения. //Тезисы докл. : Рыбохозяйственное. освоение водоемов комплексного назначения. М., 1978.- С15-17.
9. Волкова СИ. Электрофоретические исследования белков сыворотки крови сеголетков карпа при разной плотности посадки. //Докл. ТСХА, вып. 255.- М, 1978.- С. 125-130.
10. Волкова СИ. Влияние условий выращивания на гематологические показатели сеголетков карпа, выращенных в прудах различного с/х назначения. //Тезисы докл.: Рыбохозяйственное. освоение водоемов комплексного назначения.- Кишинев.- М., 1978. -С 31-32.
11. Волкова СИ. Белковый состав сыворотки крови сеголетков карпа в прудах с различным уровнем интенсификации. //Сб.: Экология физиология и биохимия рыб. Астрахань, -1979, т.1,- С70-71.
12. Волкова СИ. Морфофизиологическая характеристика крови сеголетков карпа в прудах с различным уровнем интенсификации. //Сб.: Экология физиология и биохимия рыб. Астрахань, 1979, Т.1.-С147-148.
13. Волкова СИ. Некоторые морфофизиологические показатели крови сеголетков карпа в прудах с различным уровнем интенсификации.//Сб.: Интенсификация прудового рыбоводства. М., 1982.- С. 53-56.
14. Герасимова Т.Д., Волкова СИ. Эколого-физиологические особенности роста карпа при высокой плотности посадки. //Известия ТСХА.- Вып.3.- М, 1983.-С97-115.
15. Gerasimova T.D., Wolkova S.I. Ecologial and physiological characteristics of cyprinus-carpio graoth with high stocking density/metabolic fish. // Ichthyology Library, 1983, V.3, p. 147-150.
16. Волкова СИ., Герасимова Т.Д. Эколого-физиологические основы адаптации карпа (Cyprinus carpio L.) при высоком уровне интенсификации прудового рыбоводства. / Кн.: Актуальные проблемы экологии, физиологии и биохимии рыб. М., 1984.-С 167-178.
17. Волкова СИ. Динамика лейкоцитарного состава белой крови у зимующих сеголетков карпа, выращенных в прудах комплексного назначения. //Сб.: Совершенствование биотехники в рыбоводстве. М.,1985.- С.67-70.

18. Волкова СИ. Интенсивность кроветворения молоди карпа, выращенной в прудах различного назначения. //Сб.: Совершенствование биотехники в рыбоводстве. М., 1986.- С.57-60
19. Волкова СИ. Ритмы питания молоди карпа в прудах под пленочными покрытиями. //Сб.: Интенсивная технология в рыбоводстве.- М.,1987.- С.49-54
20. Савушкина СИ. Лейкоцитарный состав крови молоди карпа, полученной с применением криоконсервированной спермы. //Ж.: Рыбное хозяйство. - М., 1991, №12.-С62-63.
21. Призенцев Ю.А., Савушкина СИ., Магди А. Некоторые физиолого-биохимические показатели крови различных видов тиляпий в зависимости от условий кормления. //Ж.: Рыбное хозяйство, 1991.-№12.-С63-64.
22. Савушкина СИ., Ананьев В.И. Физиолого-биохимические аспекты молоди карпа, полученной с применением криоконсервированной спермы. //Ж.: Рыбное хозяйство. - М., 1991, №12.-С 61-62.
23. Савушкина СИ. Иммунологическая характеристика молоди карпа, полученной с использованием замороженной спермы. //Ж.: Рыбное хозяйство. - М., 1991, №12.-С. 101-102.
24. Савушкина СИ., Цветкова Л.И., Титарева Л.Н. Физиолого-биохимические показатели молоди карпа, полученной с использованием криоконсервированной спермы. //Ж.: Рыбное хозяйство. - М., 1991, №12.-С 103-104.
25. Савушкина СИ. Гематологические показатели молоди карпа, полученного с применением криоконсервированной спермы. //Сб.: Ресурсосберегающие технологии в рыбоводстве, МСХА.- М., 1993.- С24-28.
26. Савушкина СИ., Цветкова Л.И., Пронина Н.Д. Эффективность использования метода низкотемпературной консервации спермы рыб в аквакультуре.//Межд. симп.: Ресурсосберегающие технологии в аквакультуре. Адлер, Россия. - Краснодар, 1996.- С.96-97.
27. Цветкова Л.И., Савушкина СИ., Пронина Н.Д., Докина О.Б. Сохранение генетического разнообразия рыб методом низкотемпературной консервации половых продуктов. //Межд. симп.: Ресурсосберегающие технологии в аквакультуре. Адлер, Россия. - Краснодар, 1996.- С.102.
28. Савушкина СИ., Цветкова Л.И., Пронина Н.Д. Использование методов низкотемпературной консервации половых продуктов для сохранения генетического разнообразия рыб водоемов Урала и Западной Сибири. //Сб.: Биологические ресурсы и проблемы развития аквакультуры на водоемах Урала и Западной Сибири. - Тюмень, 1996.-С. 164-165.
29. Савушкина СИ., Цветкова Л.И., Пронина Н.Д. Использование реконсервированной спермы при воспроизводстве рыб и ее влияние на рыбоводно-биологические качества потомства. //1 Конгресс Ихтиологов России. Астрахань, 1997.- С.299.
30. Никаноров СИ., Голованова Т.С, Ананьев В.И., Мальдов Д.Г., Савушкина СИ., Цветкова Л.И. О природе индукции ферментов пищевари-

тельного тракта под действием непривычных кормов при искусственном воспроизводстве осетровых. //1 Конгресс Ихтиологов России. Астрахань, 1997.-С.320.

31. Мальдов Д.Г., Савушкина СИ. Влияние кормов на активность протеаз и амилаз пищеварительного тракта сибирского осетра . /Л Конгресс Ихтиологов России. Астрахань, 1997.- С.332.
32. Цветкова Л.И., Савушкина СИ., Титарева Л.Н., Докина О.Б., Пронина Н.Д. Методическое пособие по криоконсервации спермы карпа, лососевых и осетровых видов рыб. //Госкомитет РФ по рыболовству, ВНИИПРХ.-М, 1997.-12 с.
33. Цветкова Л.И., Савушкина СИ. Пронина Н.Д., Докина О.Б. Использование метода низкотемпературной консервации спермы объектов аквакультуры. //Ж.: Рыбное хозяйство, серия Аквакультура. -Информпакет. - Вып. 1.-М., 1997.- С.77-79.
34. Цветкова Л.И., Савушкина СИ., Докина О.Б., Пронина Н.Д. Низкотемпературный генный банк спермы рыб - один из методов сохранения биологического разнообразия ихтиоценозов. //Межд. научно-практическая конференция.: Проблемы развития рыбного хозяйства на внутренних водоемах в условиях перехода к рыночным отношениям. -Минск.: Изд. Товарищ «Хата», 1998.- СЛ02-105.
35. Савушкина СИ. Гематологические показатели молоди сибирского осетра, выращенного на различных кормах.//Межд. симп.: Итоги 30-летия развития рыбоводства на теплых водоемах и перспективы на XXI век. - М., 1998.- С.-Петербург, 1998.- С.128-134.
36. Савушкина СИ. Качество молоди сибирского осетра, полученного с использованием дефростированной спермы. //Материалы XV рабочего совещания.: Консервация генетических ресурсов. -Пущино, 1998.- С.101-103.
37. Савушкина СИ., Цветкова Л.И. Эффективность использования дефростированной спермы при воспроизводстве осетровых рыб. */ПК.:* Рыбное хозяйство. -Серия: Аквакультура, вып.1.- М., 1998.- С.33-31.
38. Савушкина СИ., Ерохин А.С. Опыт совершенствования способов криоконсервации спермы русского осетра и стерляди. //Ж.: Рыбное хозяйство, Серия: Аквакультура. Проблемы сохранения геномов рыб. -вып. 1.-М., 1999.-С43-45.
39. Савушкина СИ. Влияние криоконсервации на подвижность сперматозоидов русского осетра (Acipenser gueldenstadti Br.). //Межд. симп.: Ресурсосберегающие технологии в аквакультуре. - Адлер, Россия. - Краснодар, 1999.-С.90-91.
40. Савушкина СИ. Воспроизводство осетровых рыб с использованием криоконсервированной спермы. //Ж.: Рыбное хозяйство, серия: Аквакультура. Проблемы сохранения геномов рыб. -вып.1.- М., 1999.- С. 39-43.

41. Пронина Н.Д., Цветкова Л.И., Докина О.Б., Савушкина СИ. Использование дефростированной спермы для осеменения икры карпа, сибирского осетра и белуги. // Межд. науч. конф.: Проблемы рыбного хозяйства на внутренних водоемах. - С.-Петербург, 1999.- С.180-181.
42. Савушкина СИ. Гематологическая характеристика двухгодовиков сибирского осетра и его гибрида, при воспроизводстве которых использовали замороженно-оттаяную сперму. //Современные достижения рыбохозяйственной науки России. Научно-практ. конф., посвящ. 100-летию Саратовского отд. ГосНИОРХ.-Саратов, 2000.- С.57-58.
43. Савушкина СИ. Совершенствование методов низкотемпературной консервации спермы карпа и осетровых рыб. //Доклады Всесоюзной академии сельскохозяйственных наук им. В.И. Ленина. Межд. научно-практ. конф.: Роль и значение метода искусственного осеменения сельскохозяйственных животных в прогрессе животноводства XX и XXI веков. Дубровицы .2004.- вып. 6.- С.75-86.
44 Савушкина СИ., Малиновский А.М. Некоторые физиолого-биохимические и технологические подходы к криоконсервации эмбрионов карпа. //Сб. науч. трудов ВНИИплем: Селекция, кормление, содержание сельскохозяйственных животных и технология производства продуктов животноводства. 2004.- вып. 16.- Т.2.-С 94-98.

Заказ №16 Объем 2 п.л. Тираж 70 экз.

Типография ВНИИплем

25627