

МИНИСТЕРСТВО РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА СССР
ВСЕСОЮЗНЫЙ ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ НАУЧНО-
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МОРСКОГО РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА
И ОКЕАНОГРАФИИ (ВНИРО)

УДК 577.19:(597-11):(597-14):639.3.034

На правах рукописи

СЕДОВА Мария Александровна

ВЛИЯНИЕ ОЛИГОПЕПТИДА ДАЛАРИНА НА МОРФО-
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РЫБ

(Специальность 03.00.10 - икhtiология)

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва, 1991

Работа выполнена во Всесоюзном ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательском институте морского рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО).

Научные руководители - доктор биологических наук,
профессор Шеханова Ирина Андреевна
кандидат биологических наук,
Е.В.Микодина

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,
профессор Л.А.Душкина
кандидат биологических наук
А.Б.Бурлаков

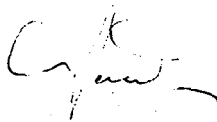
Ведущая организация - кафедра ихтиологии и рыбоводства
Всесоюзного заочного института
пищевой промышленности

Защита диссертации состоится "~~17~~ 14 ~~сентября~~ декабря 1991 г. в
" " часов на заседании Специализированного совета Д 47.01.02
при Всесоюзном ордена Трудового Красного Знамени научно-иссле-
довательском институте морского рыбного хозяйства и океаногра-
фии (ВНИРО) по адресу: 107140, Москва, В.Красносельская, 17.

Автореферат разослан "16" декабря 1991 г.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ВНИРО.

Ученый секретарь
Специализированного совета
кандидат биологических наук



А.В.Астафьева

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Интенсификация различных звеньев рыбного процесса и увеличение в связи с этим выпуска товарной рыбы представляет собой принципиальную задачу рыбного хозяйства. Одним из возможных путей решения этой задачи является использование биологически активных веществ. Биологически активными веществами следует считать любые агенты органического или неорганического происхождения, использование которых позволяет изменять течение физиологических процессов в организме животных, в том числе рыб, в нужном для человека направлении. Их успешно применяют не только в медицине и сельском хозяйстве, но и в рыбном хозяйстве. К биологически активным веществам относятся гормоны, витамины, микроэлементы и т.д. Известно, что применение биологически активных веществ в рыбном хозяйстве дает возможность стимулировать созревание производителей, повышать жизнестойкость икры и молоди, стимулировать рост, снижать уровень стресса и т.д. Несмотря на то, что применение биологически активных веществ началось более 50 лет назад (Ihering, 1935; Гербицкий, 1947; Казанский, Нусенбаум, 1947), более интенсивно их стали использовать только в последние десятилетия.

Успехи в области биохимии, медицины и химии позволили значительно расширить круг этих веществ. В последние годы открыты и интенсивно изучаются новые биологически активные вещества - нейропептиды, участвующие в регуляции гомеостаза в организме (Голиков и др., 1985). К ним относятся широко известные кишечные и гипоталамические гормоны, а также гипоталамические пептиды (либерины и статины) и опиоидные пептиды.

Опиоиды участвуют в формировании адаптивного ответа организма на различные стимулы среды. Отсюда возникает возможность уп-

равлять процессами специфической и неспецифической адаптации путем модуляции регулирующих механизмов, как в центральной нервной системе, так и на донервном уровне.

Известным представителем опиоидных пептидов является лейцин-энкефалин, а один из его суперактивных синтетических аналогов уже применяется в клинической медицине под названием даларгин. Эффекты этого аналога исследованы нами у рыб.

Цель и задачи исследований. Цель работы - выявление особенностей функционирования организма рыб под воздействием даларгина на ранних стадиях онтогенеза, оценка физиологического состояния молоди и взрослых рыб по комплексу морфо-физиологических показателей и изучение отдаленных последствий применения этого вещества.

В задачу настоящего исследования входило, наряду с изучением действия олигопептида на скорость эмбриогенеза, выживаемость и темп роста рыб, установление особенностей реакции воспроизводительной системы, в частности гонад, на обработку даларгином.

Научная новизна. Впервые в ихтиологических исследованиях был использован новый вид биологически активного вещества, относящийся к низкомолекулярным соединениям пептидной природы, синтетический аналог опиоидного пептида - даларгин.

Исследовано влияние даларгина на морфо-физиологические показатели молоди радужной форели, симы, кижуча, балтийского лосося, карпа и тилапии при обработке препаратом.

Разработан способ повышения жизнестойкости рыб в ранние периоды онтогенеза.

Показано влияние даларгина на акселерацию роста рыб.

Исследовано влияние даларгина на течение процессов гаметогенеза.

Показано, что воздействие даларгином на икру или молодь рыб,

в дальнейшем не сказывается отрицательно на репродуктивной системе рыб.

Практическое значение. Данные результаты исследования предлагается использовать при выращивании молоди на рыбоводных предприятиях, в первую очередь на товарных хозяйствах, что позволит повысить эффективность работы рыбхозов в целом, и является весьма перспективным в плане повышения рыбопродуктивности внутренних водоемов.

Апробация работы. Результаты, изложенные в диссертации, были представлены на конференции по разведению лососевых рыб - Марианские Лазни (ЧОФР, 1988) и обсуждались на объединенных коллоквиумах лабораторий прикладной физиологии и токсикологии, аквакультуры и лаборатории раннего онтогенеза. Разработанная методика применения даларгина внедрена на ряде рыбоводных хозяйств в СССР и ЧОФР.

Публикации. Основные результаты исследований изложены в II печатных работах, в том числе в описании к авторскому свидетельству на изобретение.

Объем работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов и обсуждения, выводов и практических рекомендаций. Работа изложена на 139 страницах машинописного текста и содержит 23 таблиц и 29 рисунков, включая 15 микрофотографий. Список использованной литературы состоит из 140 названий советских и 38 зарубежных авторов.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.

В данной главе приводится краткая характеристика нейропептидов, как эндогенных биостимуляторов, разделенных нами на несколько групп по принципу общности функций и источников выделе-

ния. Показано, в частности, место и роль даларгина в системе опиоидных пептидов, а также даны общие сведения о нем, как синтетическом аналоге эндогенного опиоидного пептида лей-энкефалина.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Сбор материала проводили в течение 1982-1988 гг. Экспериментальные работы выполнялись в аквариальной ВНИРО, в аквариальной лаборатории экспериментальной ихтиологии Биологического института ЛГУ, на хозяйстве поселка Глазковка Приморского края, на базе форелевого хозяйства "Сходня", в рыбколхозе "Балтика" и на Новооскольском зональном рыбопитомнике.

Материалом настоящего исследования послужили икра, предличинки, личинки и молодь ряда видов семейства лососевых, а также карпа и одного представителя семейства цихловых - тилапия (табл. I)

Использованный в работе даларгин синтезирован и передан для исследований лабораторией синтеза пептидов Института экспериментальной кардиологии ВКНЦ АМН СССР. Применена методика введения даларгина в организм рыб, разработанная нами ранее и защищенная авторским свидетельством. Она заключается в тотальной обработке икры, личинок и молоди рыб раствором этого препарата концентрацией 1 мкг/л, с экспозицией 1 час.

В качестве критерия оценки влияния даларгина на рыб в раннем онтогенезе использовали продолжительность эмбриогенеза, выживаемость, темп весового и линейного роста, коэффициент упитанности по Кларк и Фультону, ГСИ, индекс печени, индекс селезенки, количество нерестов и периодичность созревания половозрелых рыб, их плодовитость, а также морфологические особенности гаметогенеза. Для гистологического анализа состояния воспроизводительной системы материал фиксировали в жидкости Буэна. Все полученные материалы обработаны согласно общепринятой гистологической мето-

Таблица I.

Объекты исследования, объем и характеристика
выполненных работ

№ п/п	ВИДЫ РЫБ	кол-во экспе- римен- тов	объем материала, шт	этапы на которых про- водили об- работку	критерии оценки				гистоло- гический анализ, шт
					ско- рость эмбрио- генеза	жизне- стой- кость	рост рыб	биоло- гичес- кий анализ	
1.	Сима <i>Oncorhynchus tshawytscha</i> (Berg)	2	2040000	икра	+	+	+		48
			400	икра	+				
2.	Балтийский лосось <i>Salmo salar</i> L.	3	800	предличинки		+	+	+	
			800	личинки		+	+		
3.	Кижуч <i>Oncorhynchus kisutch</i> (Walbaum)	1	1000	личинки			+		
4.	Радужная форель <i>Salmo gairdneri</i> (L.)	12	175368000	икра	+	+	+	+	
			6170	предличинки		+	+		207
			4860	личинки		+	+	+	
5.	Карп <i>Cyprinus carpio</i> L.	8	13555000	икра	+	+			
			18000000	личинки		+	+		
6.	Тилапия <i>Oreochromis mossambicus</i> Peters	6	1200	личинки			+		32
			48	взрослые			+		

дике. Данные подвергнуты статистической обработке.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние даларгина на скорость эмбрионального развития.

На примере симы, балтийского лосося, радужной форели и карпа исследована продолжительность эмбрионального развития под воздействием даларгина. После завершения инкубации обработанной им икры лососевых рыб, обладающих длительным периодом эмбриогенеза, оказалось, что введение препарата сокращает период эмбриогенеза в зависимости от его продолжительности на 2-12 % (на пять суток у симы и на одни сутки у балтийского лосося и радужной форели). В отличие от представителей семейства лососевых, у карпа - вида, имеющего короткий период развития, не обнаружено различий в продолжительности эмбриогенеза между контрольными и обработанными даларгином особями.

Таким образом, с уменьшением продолжительности эмбриогенеза эффект его ускорения под воздействием даларгина перестает проявляться. Это, видимо, связано с тем, что модуляция скорости эмбрионального развития и ее морфо-физиологический эффект значительно разобщены во времени.

Влияние даларгина на жизнестойкость рыб в раннем онтогенезе.

Оценка показателей выживаемости в раннем онтогенезе рыб после обработки даларгином на ранних стадиях развития показывает, что увеличение выживаемости у видов, относящихся к различным систематическим группам, вызванное этим препаратом, находится в зависимости от стадии развития, на которой производили обработку. Так, при обработке икры симы на этапе набухания, выживаемость за период эмбриогенеза повышается на 21,9 %. Наблюдения за выклюнувшимися опытными и контрольными личинками и молодью симы показали, что опытные особи оказались также более жизнестойкими.

За время наблюдения (163 суток) в опыте выжило 65,4 %, а в контроле 48,6 %.

Выживаемость радужной форели, обработанной даларгином так же как и симы на этапе набухания, повышается на 10-27 %. Обращает на себя внимание тот факт, что в критические периоды эмбрионального развития, когда в норме происходит наибольшая гибель зародышей, их гибель в опыте уменьшается особенно значительно - в 2-3 раза (рис. 1). Примечательно, что максимальная гибель икры радужной форели, инкубируемой при температуре воды +10 °С, происходит на 20 сутки (р/к "Балтика"), а при температуре инкубации +6 °С - на 33 сутки (ф/х "Сходня"). Эти сроки, как в первом, так и во втором случае соответствуют 25 стадии развития (Игнатьева, 1975), отличительным признаком которой является начало формирования мочевого пузыря. Видимо, эта стадия является одной из критических в эмбриогенезе радужной форели, когда включается собственная осморегуляторная система, чутко воспринимающая неблагоприятные внешние воздействия.

В связи с тем, что опиоидные пептиды влияют на нейроэндокринную систему, правомочно ожидать увеличение выживаемости при обработке на более поздних стадиях развития, когда в организме уже сформированы и функционируют системы-мишени, например, нервная. Однако, обработав даларгином радужную форель при переходе на активное питание, разницы в жизнестойкости опытных и контрольных рыб мы не наблюдали.

Отсутствие эффекта при обработке уже сформированных особей, по-видимому, можно объяснить тем, что нервная система не является ключевой в осуществлении действия даларгина. Не исключено также, что мощные аминопептидазные системы успевают разрушить даларгин до достижения им мишени, что приведет к отсутствию эф-

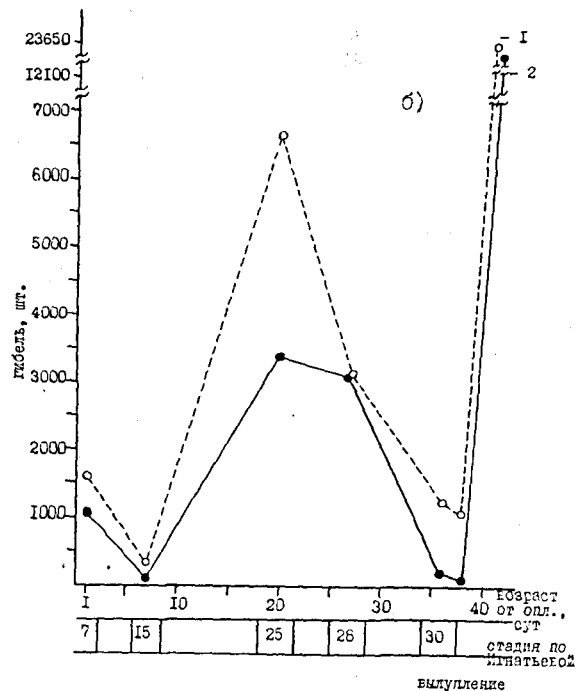
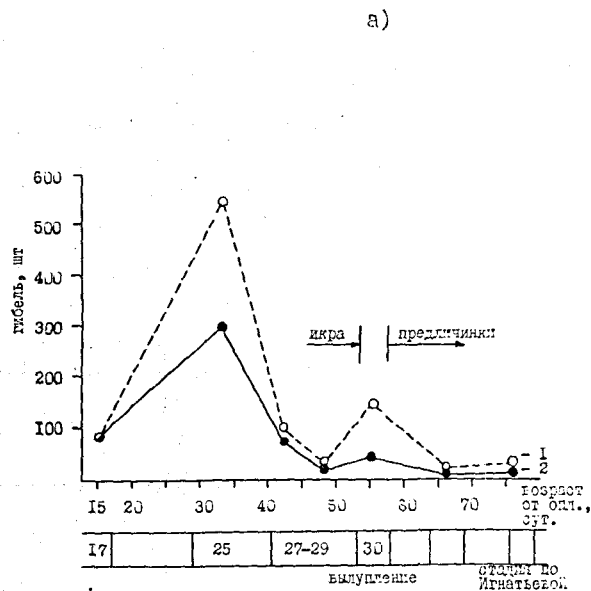


Рис. I. Динамика гибели икры и предличинки радужной форели, обработанной на этапе набухания даладгином.

а) р/х "Сходня; б) р/х "Балтика

I - контроль

2 - опыт

фекта; отсутствие критических периодов в ходе дальнейшего онтогенетического развития также может сыграть свою роль.

Эффект повышения жизнестойкости не отмечен нами только в эмбриогенезе карпа, независимо от того, в какой момент раннего эмбрионального развития проводили обработку даларгином - в момент осеменения, до обесклеивания, в период обесклеивания. Отсутствие эффекта даларгина в эмбриогенезе карпа можно объяснить несколькими причинами. С одной стороны, пептид может проникнуть в икринку и вызвать изменения определенных биохимических процессов, однако у карпа короткий период эмбриогенеза (3-4 дня) и не исключено, что за это время не успели произойти те изменения, которые могли бы привести к повышению выживаемости. С другой стороны, возможно, что нейропептид не может проникнуть в икринку в силу мощного гомогенного полисахаридного клейкого слоя на ее поверхности, который после обесклеивания не исчезает, а "опудривается" мельчайшими капельками жира, входящего в состав молока, применяемого при обесклеивании.

Вместе с тем, при обработке даларгином 3-х дневных личинок карпа при переходе на активное питание, получено положительное влияние на жизнестойкость. Так, за период подращивания в аппаратах системы ВНИИПРХа выживаемость личинок в течение 8-9 дней после обработки даларгином была в среднем выше на 18-20 %, чем в контроле; при этом выживаемость сеголеток также увеличилась на 11-22 %.

Таким образом действие пептида на личинок карпа осуществляется не через нейроэндокринную систему, т.к. у них гипофиз формируется лишь к 40-суточному возрасту, т.е. в использованные нами моменты обработки даларгином эта система еще не сформирована. Видимо, даларгин оказывает свое действие в раннем эмбриогенезе.

незе разных видов рыб как через модуляцию функционирования элементов нервной системы, так и посредством иного, нетрадиционного механизма регуляции, например, модуляция морфо-физиологических процессов донервными биорегуляторами, такими как биогенные амины (серотонин, ацетилхолин, норадреналин, дофамин и др.).

Влияние даларгина на рост рыб.

Важной особенностью при развитии эффектов даларгина, в частности, его влияние на рост рыб, является установленная нами их долговременность. До настоящего времени период наблюдений за сохранением эффекта даларгина не превышал 4-5 недель (Модуляция пролиферативного ответа ..., 1984; Виноградов, Полонский, 1986). Это не позволяло в полной мере оценить продолжительность эффекта. Нами проводились наблюдения длительностью от нескольких месяцев до 3-х лет. Так, обработав икру симы на этапе дробления, мы наблюдали эффект в течение 163 суток. При этом относительный прирост массы в опыте к концу эксперимента был больше контроля на 21 %. При обработке икры радужной форели эффект наблюдался даже через 1,5-2,5 года. Что касается абсолютных приростов по длине, то они в опыте чуть выше или на уровне контроля.

Влияние даларгина на ускорение роста рыб проявляется как при его воздействии на начальных этапах эмбриогенеза (кижуч, сима, радужная форель), так и в личиночном периоде. Это подтверждают наблюдения за ростом молоди балтийского лосося после обработки даларгином предличинок сразу после выдупления, а также личинок на этапе перехода на активное питание. В первом случае абсолютный прирост массы опытных рыб за 46 суток превысил таковой у контрольных на 19,5 %, во втором случае - на 35 %. При этом обработка даларгином рыб в личиночном периоде приводит к увеличению абсолютных приростов длины опытных рыб по сравнению с

контрольными на 13,5 и 19,8 % соответственно. Обнаруженные различия статистически достоверны.

Интересны результаты длительных наблюдений за темпом роста радужной форели, выращенной после обработки даларгином на различных этапах раннего онтогенеза, в том числе в чувствительные периоды гаметогенеза (Чмилевский, 1978). Рыб обрабатывали на 2-х этапах: I - на стадии формирования бластодиска; 2 - при появлении в гонадах ооцитов ранней профазы мейоза, а также проводили двойную обработку, т.е. как на первом и на втором этапе вместе.

Во всех вариантах опыта имеются периоды, когда масса опытных рыб больше контрольных. Длительный период наблюдений за форелью позволил показать, что снижение средневывборочной массы опытных рыб, обнаруженное нами ранее в кратковременных опытах на сине и кижуче, через 2-2,5 месяца сменяется новой волной усиления роста, на смену которой опять приходит снижение. Характерной особенностью процесса роста рыб является его периодичность, которая имеет как сезонную цикличность, так и более короткую, порядка 4-6 недель, вызванную эндогенными причинами (Никольский, 1974; Мацук, 1975).

В наших наблюдениях на радужной форели такая периодичность имеется. Оценка относительных приростов рыб в опыте по отношению к контролю позволила заключить, что эти показатели изменяются синусоидально, то есть периоды более интенсивного роста сменяются периодами снижения темпа роста, затем выравниваются, а далее наступает период отставания массы от контрольных показателей. Затем начинается новый цикл синусоиды, с той лишь разницей, что длина периода синусоиды увеличивается, а величина эффекта уменьшается (рис. 2).

На рисунке видно, что независимо от этапа, на котором прово-

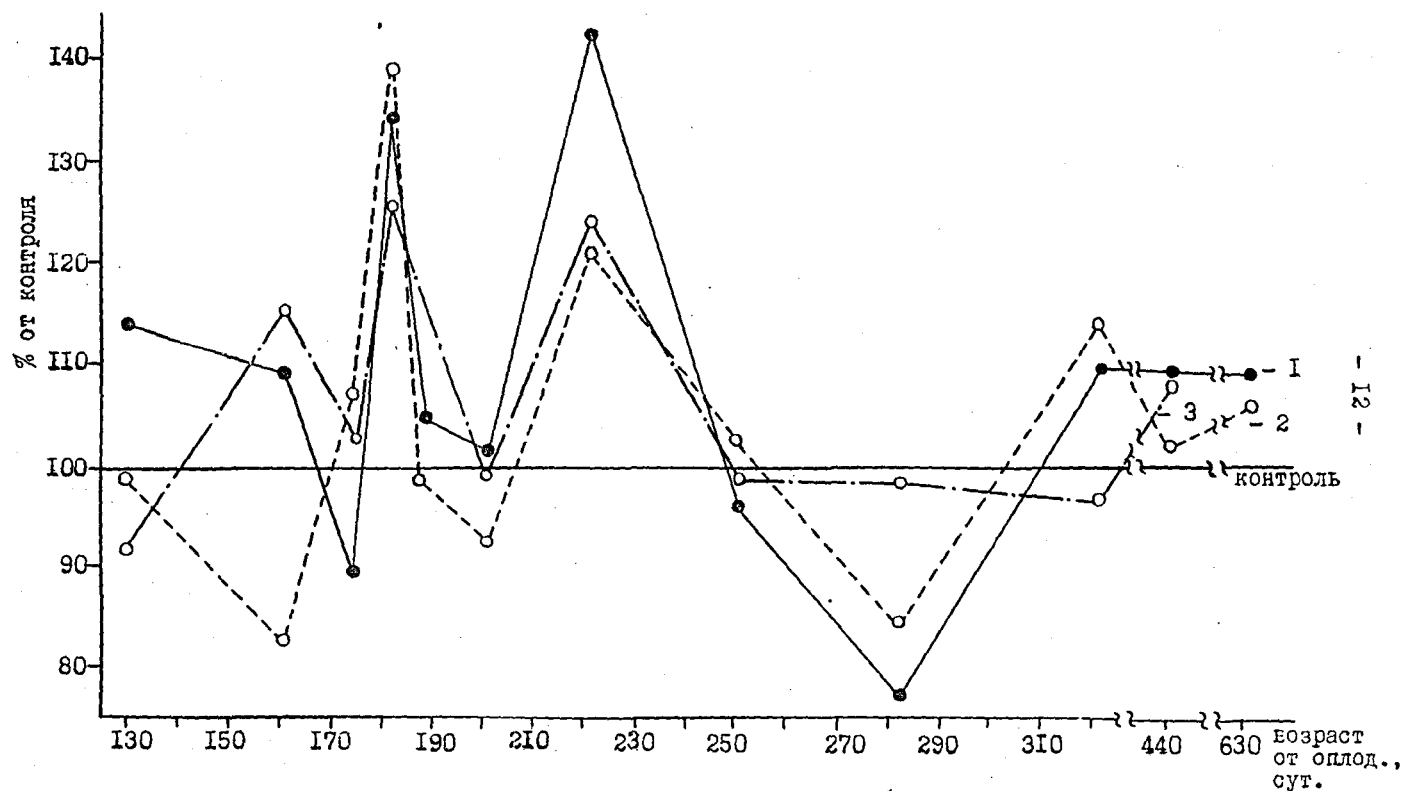


Рис. 2. Динамика массы молоди радужной форели опытных рыб по отношению к контролю
 I - одработка даларгином икры; 2 - обработка на ранней профазе мейоза;
 3 - двойная обработка.

дили обработку, цикличность роста под влиянием даларгина наблюдается во всех вариантах. Видимо не последнюю роль в формировании цикличности роста играют особенности модулирующего влияния исследуемого нейропептида (т.е. даларгина) на процесс регуляции роста.

Анализ некоторых морфо-физиологических показателей двухгодовалых радужной форели из этого эксперимента, показал, что индекс сердца самцов и самок из II варианта достоверно выше, чем у особей из I варианта. Различия по этому показателю статистически недостоверны между рыбами II варианта и контроля, I варианта и контроля. Найденное увеличение индекса сердца у рыб II варианта может указывать на увеличение двигательной активности этих особей, хотя избыточного расходования энергетических ресурсов в связи с этим не наблюдается, на что косвенно указывает увеличение массы самцов из этого варианта, а также величина коэффициента упитанности. Оценка коэффициента упитанности радужной форели, а также симы, балтийского лосося и кижуча из других экспериментов, показала, что у контрольных и опытных рыб коэффициент упитанности достоверно не отличается.

Гонадосоматический индекс (ГСИ) у самок I варианта выше (статистически недостоверно), чем во II варианте и в контроле.

Как известно, выращивание карпа, в отличие от лососевых, происходит в прудах в слабо контролируемых условиях. В связи с этим наблюдения за ростом карпа, обработанного в 3-х суточном возрасте, проводились в двух экспериментах - с предварительным подрачиванием перед зарыблением и без подрачивания. Оценка рыбо-водно-продукционных показателей осуществлялась после завершения вегетационного периода. В первом случае установлено, что практически по всем параметрам опыт превосходит контроль в 1,5-2 раза.

Во втором случае средняя масса сеголеток в опыте меньше, чем в контроле; возможно это связано с большей ее плотностью в опытных прудах вследствие увеличения жизнестойкости, о чем говорилось раньше. Поскольку фактический выход из опытных прудов был выше, чем из контрольных, это привело к увеличению биомассы и рыбопродуктивности прудов (табл. 2).

Таблица 2

Рыбоводно-продукционные показатели карпа, выращенного после обработки даларгином (4 мес.).

Вариант	Площадь пруда, га	Плотность посадки, тыс. шт./га	Фактический выход, тыс. шт./га	Выход, %	Ср. на веска в июне, г	Ср. на веска в октяб., г	Биомасса рыб в пруду, ц	Рыбопродуктивность, ц/га
<u>с подрачиванием</u>								
контроль	20	134	44	32,9	-	28,8	253,8	12,7
опыт	14	136	70,5	51,9	-	33,4	329,5	23,5
<u>без подрачивания</u>								
контроль	15	113	20,9	18,4	0,8	40,6	127,1	8,5
опыт	10	170	49,7	29,2	10,0	37,1	184,3	18,4
контроль	15	173	46,5	26,8	5,8	28,6	199,5	13,5
опыт	14	129	62,3	48,5	5,4	24,8	216,3	15,5

Сравнивая результаты 2-х экспериментов приходим к выводу, что действие пептида наиболее ярко проявляется в эксперименте с предварительным подрачиванием. Тем не менее, в обоих случаях при обработке даларгином личинок карпа в конечном итоге рыбоводно-продукционные показатели прудов улучшаются.

Влияние даларгина на рост рыб изучалось нами еще на одном объекте - тилапии. Чмилевский (1978) считает, что в зависимости от состояния половых желез в онтогенезе тилапии существуют чув-

ствительные и менее чувствительные стадии и чувствительность этих стадий развития гонад является тест-функцией метаболических процессов в организме. С целью изучения влияния даларгина на темп роста рыб тилапию обрабатывали на 4 различных этапах онтогенеза, которым соответствуют разные по чувствительности стадии развития половых желез (табл. 3).

Таблица 3

Характеристика половых клеток тилапии в момент постановки опытов.

№ опыта	Возраст от вылупления, сут.	Исходное состояние половых клеток в половых железах у самок	Чувствительность стадий (Чмилевский, 1978)
1	7	первичные половые клетки	-
2	15	гонии, их размножение	+
3	20	ооциты ранней профазы мейоза	+
4	45	период протоплазматического роста	-

Как видно на рис. 3 при обработке даларгином личинок тилапии, когда в половых железах самок наблюдаются первичные половые клетки (эксперимент I) и когда наступает фаза протоплазматического роста ооцитов (эксперимент IV), масса опытных рыб была на уровне контроля, а иногда и ниже. Однако, обрабатывая личинок на чувствительных стадиях, т.е. когда в гонадах наблюдается размножение гоний (II эксперимент) и ооцитов ранней профазы мейоза (эксперимент III), средняя масса рыб в течение всего периода наблюдений постоянно выше контроля (на 3,4-20,3 % во II эксперименте и на 11,2-16,1 % в III эксперименте), что согласуется с результатами по радужной форели.

Проанализировав имеющиеся данные по акселерации роста молоди рыб мы приходим к выводу, что даларгин как модулятор физиоло-

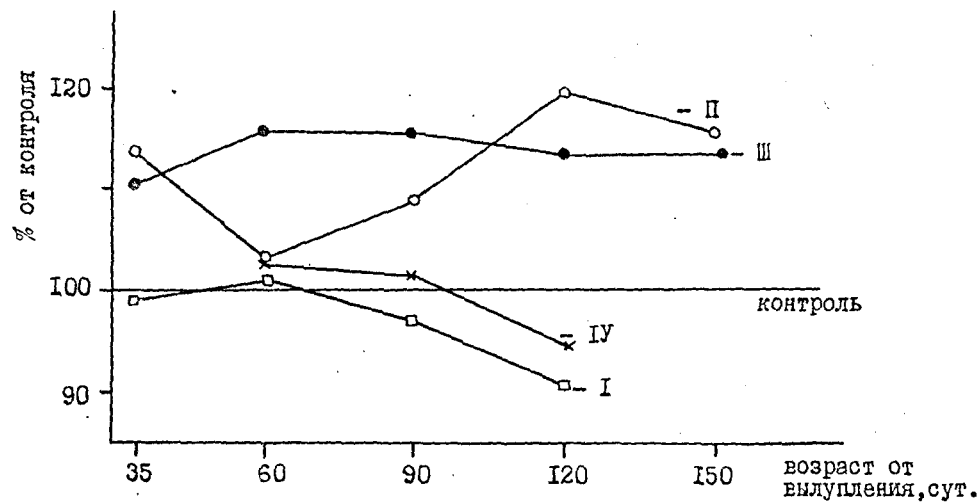


Рис. 3. Динамика массы личинок тилапии, обработанных даларгинном в разном возрасте относительно контроля.

I - 7 сут; II - 15 сут; III - 20 сут; IV - 45 сут.

гических процессов способствует ускорению роста рыб при введении его в организм рыб на таких этапах развития как набухания икры, дробления, выплывания, перехода на активное питание, а также на некоторых чувствительных стадиях развития гонад.

Оценка реакции воспроизводительной системы рыб

в связи с воздействием даларгина.

Влияние даларгина на гонады на разных этапах развития.

Оценка состояния гонад важна не только у близких к половой зрелости производителей, но и у молоди, т.к. на ранних этапах онтогенеза происходит накопление фонда клеток, определяющего в значительной степени потенциальную плодовитость.

Оценка морфологии гонад и структуры ооцитов у симы, радужной форели и тилалии показала отсутствие нарушений в их развитии, хотя у опытных рыб имеются и некоторые отличия. Так, у симы в фазе прерывающегося деления динамика среднего количества половых клеток на срезе в контроле и опыте сходна, однако анализ содержания различных типов клеток, таких как оогонии, ооциты и мейоциты, показывает временное ускорение процесса дифференцировки мейоцитов в ооциты у опытных рыб, хотя к концу наблюдений этот процесс замедляется и далее соотношение половых клеток в опыте сравнивается с контролем. Морфология ооцитов симы в контроле и в опыте не различается. Вместе с тем, в опыте диаметр ооцитов несколько выше. При этом нами отмечено, что во все исследованные моменты количество ядрышек в ядре ооцитов контрольных и опытных рыб различается так, что в опыте их всегда больше, чем в контроле. Различия эти статистически недостоверны, но такое же увеличение количества ядрышек в опыте наблюдается и у радужной форели. Не вдаваясь подробно в обсуждение причин феномена увеличения коли-

чества ядрышек после воздействия даларгина, которое наблюдается и на сие, и на радужной форели, отметим, что поскольку ядрышки представляют собой скопление внехромосомных ДНК, этот феномен косвенно может быть подтвержден данными об увеличении содержания ДНК в ооцитах, выметанных обработанными самками (Микодина, Лаптева, 1990).

Влияние даларгина на ход заключительных этапов
гаметогенеза.

Эксперименты с целью сравнения интенсивности и эффективности размножения поставлены на радужной форели и тилапии. Несмотря на то, что в морфологии ооцитов развивающихся гонад у обработанных даларгином особей обнаружено мало отличий от контрольных, самки радужной форели, получившие даларгин, созрели на 3 недели раньше, чем контрольные. К моменту окончания нереста опытных особей, контрольных отнерестилось почти в 2 раза меньше. Это согласуется с уменьшением сроков между нерестами у тилапии после обработки рыб даларгином, когда гонады находятся в фазе вителлогенеза.

Существенно, что по таким рыбоводно-биологическим показателям, как масса и длина самок, масса сжеженной икры, рабочая плодовитость и относительная плодовитость, масса и диаметр выметанных икринок, опытные самки практически не отличались от контрольных. Синхронизация нереста самок, выросших из обработанной даларгином икры, может явиться еще одним положительным моментом действия этого препарата и также выгодным в рыбоводстве.

Таким образом, оценка функционирования воспроизводительной системы рыб показывает, что даларгин не оказывает отрицательного влияния на течение гаметогенеза и характер нереста радужной форели и тилапии, а в отдельные моменты оказывает стимулирующее действие.

ВЫВОДЫ

1. Даларгин при введении на начальных этапах развития уменьшает время эмбрионального развития у симы, балтийского лосося и радужной форели.

2. Обработка даларгином в раннем онтогенезе увеличивает выживаемость икры симы на 21 %, а затем выклюнувшихся личинок на 17 %, радужной форели на 10-27 %, личинок карпа, обработанных при переходе на активное питание на 18-20 %, при этом в критические периоды развития эмбриона выживаемость опытных особей возрастает в 2-3 раза.

3. Даларгин приводит к акселерации роста у симы на 21 % (за 163 суток наблюдения), у кигуча на 8-71 % (за 250 суток), у балтийского лосося на 20-35 % (за 46 суток), радужной форели на 9-48 % (636 суток), тилапии на 4-20 % (150 суток).

4. Даларгин не оказывает отрицательного влияния на течение процессов гаметогенеза. При введении на ранних этапах эмбриогенеза он оказывает стимулирующее действие не только на течение раннего этапа функционирования воспроизводительной системы, приводя к ускорению дифференцировки мейоцитов в ооциты в фазе превителлогенеза, увеличивая ядерно-плазменное отношение, изменению количества ядрышек в превителлогенных ооцитах, но и на завершающий этап, вызывая синхронизацию и ускорение созревания рыб (радужная форель, тилапия).

5. Репродуктивные показатели впервые созревающих самок, обработанных в раннем онтогенезе даларгином (ГСИ, рабочая плодовитость, масса отданной икры, масса и диаметр икринок), не отличаются от контрольных.

6. Даларгин является препаратом многофакторного действия, что, в отличие от биостимуляторов, применявшихся в рыбоводстве

ранее, свидетельствует о большей целесообразности его использования при рыборазведении.

Практические рекомендации применения

олигопептида даларгина.

На основании анализа проведенных экспериментов и опытных проверок установлено, что обработка даларгином икры и молоди рыб в раннем онтогенезе приводит к возникновению ряда положительных эффектов, которые можно использовать в промышленном рыбоводстве.

1. Обработку объектов даларгином необходимо проводить на ранних стадиях онтогенеза согласно рекомендациям, описанным в авторском свидетельстве (№ 1286138, И.Б. № 4, 1987), а именно:

- а) лососевых рекомендуется обрабатывать в период набухания или дробления икры;
- б) карповых - при переходе на активное питание;
- в) цикловых - на чувствительных стадиях развития гонад, т.е. когда в гонадах наблюдается размножение гоний и появляются ооциты ранней профазы мейоза.

2. При зарыблении прудов и при расчете нормативов кормления необходимо учитывать высокий процент выживаемости обработанных даларгином рыб.

3. В рыбоводном процессе необходимо учитывать более раннее созревание (радужная форель) обработанных даларгином рыб при подготовке к нерестовой кампании.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.

1. Применение препарата даларгина для обработки личинок карпа //Информ.листок № 71-86, Белгород, МЦТИП, 1986, 2 с.
(Соавторы: Микодина Е.В.; Волюнкина Н.В., Троицкий Б.Н.)

2. Способ стимуляции физиологических процессов у рыб на ранних стадиях развития //Авт.свид. № 1286138, Инф.бюл. № 4,

1987, 8 с. (Соавторы: Шеханова И.А., Сторожук Н.Г., Широкова В.Н.).

3. Влияние даларгина на рост балтийского лосося //"Рыбное хозяйство", № 5, 1987, 4 с. (Соавторы: Микодина Е.В., Сторожук Н.Г., Широкова Е.Н.)

4. Реакция половых желез симы на воздействие синтетического аналога лей-энкефалина //Сб.тр.ВНИРО: Вопросы физиологии морских и проходных рыб. М.: ВНИРО, 1987, с. 86-98 (В соавторстве с Микодиной Е.В.)

5. Развитие половых желез и репродуктивная функция у самок мозамбикской тилапии после обработки даларгинем //Сб.тр.ВНИРО: Вопросы физиологии морских и проходных рыб. М.: ВНИРО, 1987, с. 98-113 (Соавторы: Чистова М.Н., Ивойлов А.А., Руденко И.В.)

6. Методические указания по применению даларгина для повышения жизнестойкости икры, предличинок, молоди рыб и акселерации их роста //М.: ВНИРО, 1987, 13 с. (Соавторы: Микодина Е.В., Глубоков А.И., Наволоцкий В.А.)

7. Влияние биологически активного препарата даларгина на рыбопродуктивность выростных прудов //Информ.листок № 85-87, Белгород, МПТИП, 1987, 2 с. (Соавторы: Микодина Е.В., Троицкий В.Н., Троицкая Н.В., Фрикин В.В.)

8. Интенсификация товарного выращивания радужной форели с использованием биостимулятора - даларгина //Сб.тр.ВНИРО: Водная токсикология и оптимизация биопродукционных процессов в аквакультуре. М.: ВНИРО, 1988, с. 114-120.

9! Vyuuziti neuropeptidu pri intenzifikaci odchovu lososovitych ryb // Chov lososvitych druhu ryb veetne sihu, CSSR Marianske Lasne, Oct, 1988, p.22-24 (Mikodina E.V., Glubokov A.I., Navolotski V.A.).

10. Использование даларгина для повышения жизнестойкости икры и личинок рыб при искусственном воспроизводстве //Сб.тр. ВНИРО: Эколого-физиологические аспекты и методы рыбохозяйственных исследований. М.: ВНИРО, 1990, с. 143-151

11. Результаты использования растворов Хамора, хлористого калия и даларгина при получении потомства радужной форели.//Сб.тр.ВНИРО: Эколого-физиологические аспекты и методы рыбохозяйственных исследований. М.: ВНИРО, 1990, с. 117-123. (Соавторы: Панченков Г.Т., Наволоцкий В.А.).

Подписано в печать 9/XII-91г

Формат 60x84 1/16 Заказ 270

Объем 1,5 п.л.

Тираж 100

Ротапринт ВНИРО

107140, Москва, Верхняя Красносельская, 17

