

СОРОКИНА МАРИНА НИКОЛАЕВНА

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ α -ТОКОФЕРОЛА И
АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ПОДГОТОВКЕ САМОК
ОСЕТРОВЫХ РЫБ К НЕРЕСТУ**

Специальность 03.00.10 -ихтиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук



Астрахань, 2004

Работа выполнена в Астраханском государственном
техническом университете

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
профессор

Пономарев Сергей Владимирович

Официальные оппоненты:
доктор биологических наук
доктор биологических наук

Металлов Геннадий Федорович
Иванов Владимир Прокофьевич

Ведущая организация: Краснодарский научно-исследовательский институт
рыбного хозяйства (КрасНИРХ)

Защита диссертации состоится «11» мая 2004 г. в 14⁰⁰ часов на засе-
дании диссертационного совета К.307.001.01 при Астраханском государст-
венном техническом университете по адресу: 414025, г. Астрахань, ул. Та-
тищева, 16, АГТУ.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Астраханского государ-
ственного технического университета.

Автореферат разослан «9» апреля 2004 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук



Мелякина Э.И.

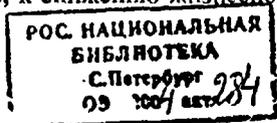
ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Ухудшение экологических показателей водной среды в условиях бассейнов Каспийского, Азовского и Черного морей, мощные антропогенные воздействия, в том числе перелов, привели к сокращению численности осетровых рыб, в связи с этим роль искусственного воспроизводства в формировании и сохранении видового состава и запасов осетровых рыб еще более возрастает и приобретает доминирующее значение (Белоусов, 2001; Кокоза, 2002).

Острый дефицит производителей осетровых приводит к снижению жесткости отбора и ухудшению качества поступающих на заводы рыб для целей воспроизводства (Баденко и др., 1974; Кокоза и др., 1996; Макаров, 2000; Кирилов, Солохина, 2000; Прошин, Максудьянц, 2001а). Это является следствием ряда причин: вынужденная растянутость сроков заготовки и отсутствие возможности отбора зрелых производителей, травматизация рыб во время отлова и транспортировки, снижение массы производителей, увеличение числа впервые нерестящихся самок, неудовлетворительное физиологическое состояние рыб (Попова и др., 2001).

Решение этой проблемы на рыбоводных хозяйствах осуществляется за счет формирования собственных маточных стад. Если ранее этот вопрос был актуален только для товарного осетроводства, то в настоящее время формированием маточных стад стали заниматься на заводах по искусственному воспроизводству осетровых рыб (Попова, Шевченко, 2001). При этом доля заготовленных озимых особей белуги и осетра для искусственного воспроизводства с каждым годом становится все более значительной. Использование разных биологических групп осетровых на рыбоводных заводах позволяет не только повысить эффективность искусственного воспроизводства, но и сохранить эволюционно сложившуюся генетическую структуру популяций.

Физиологическое состояние и некоторые рыбоводные показатели производителей в решающей степени определяются условиями и продолжительностью выдерживания рыб на рыбоводных заводах. Резервирование производителей в бассейнах и прудах на рыбоводных предприятиях, в том числе - продолжительное для озимых форм, в условиях постоянных стрессовых воздействий, вызывает нарушения в обмене веществ. Угнетенное состояние производителей в результате длительного содержания приводит к увеличению числа самок слабо реагирующих на гипофизарные инъекции, ухудшению качества икры, и как **следствие, к снижению жизнеспособности потомства** (Дюбин, Боев, 1999).



В связи с этим возникла необходимость в применении новых эффективных методов подготовки производителей осетровых рыб к нересту (Пронькин и др., 1986; Попова и др., 2001), в том числе с применением незаменимых биологически-активных веществ (витаминов).

Цель и задачи исследований. Целью данной работы явилась научная оценка эффективности использования а-токоферола и аскорбиновой кислоты в виде инъекций при подготовке самок осетровых рыб к нересту, разработка методов применения инъекций в условиях производства.

Поставленная цель определила следующие задачи:

- определить оптимальные нормы инъекций витаминов С и Е в условиях преднерестового содержания самок осетровых рыб;
- разработать схемы инъекционирования витаминных препаратов для самок осетровых рыб;
- определить влияние инъекций витаминов С и Е на резистентность осетровых рыб в период эмбрионального развития;
- оценить физиолого-биохимическое состояние, полученной ранней молоди осетровых рыб от проинъекционированных самок;
- оценить качество выращенной молоди осетровых рыб;
- разработать технологию применения восстановительных витаминных инъекций для самок осетровых рыб.

Научная новизна. Впервые научно обоснована целесообразность и эффективность использования инъекций витаминов С и Е в преднерестовый период содержания самок осетровых рыб на осетровых рыбободных заводах юга России. В результате проведенных исследований впервые определены нормы восстановительных инъекций а - токоферола и аскорбиновой кислоты в период преднерестового содержания самок русского осетра, севрюги и стерляди. Установлено, что применение инъекций витаминов самкам позволяет повысить скорость созревания половых клеток, увеличить процент созревания, оплодотворения, выхода свободных эмбрионов. Впервые показано положительное влияние инъекций витаминов на развитие и резистентность потомства в ранние периоды онтогенеза и разработана технология применения реабилитационных витаминных инъекций для производителей осетровых рыб.

Практическая значимость. Результаты исследований позволили разработать и передать производству новую технологию подготовки производителей осетровых рыб к нересту с применением восстановительных витаминных инъекций.

Основные положения выносимые на защиту.

1. Нормы восстановительных инъекций а-токоферола и аскорбиновой кислоты в период преднерестового содержания самок различных видов осетровых рыб.

2. Схемы применения восстановительных инъекций витаминов для самок осетровых рыб.

3. Технология применения реабилитационных витаминных инъекций для производителей осетровых рыб.

Апробация работы. Основные материалы диссертационной работы докладывались на научно-технических конференциях профессорско-преподавательского состава АГТУ в 2001-2003 гг., Международной научно-практической конференции «Проблемы и перспективы развития аквакультуры в России» (г. Краснодар, 2001 г.), Международной конференции «Новые биотехнологии в защите биоразнообразия в водных экосистемах» (г. Москва, 2002 г.), Межрегиональной научно-практической конференции «Научные подходы к решению проблем производства продуктов питания (г. Ростов-на-Дону, 2003).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 7 работ.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 119 страницах машинописного текста. Состоит из введения, шести глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, приложений. Список литературы содержит 259 источников, из них 80 иностранных авторов. Работа иллюстрирована 6 рисунками и 32 таблицами.

Глава I. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Проанализированы сведения о влиянии биологически-активных веществ на жизненные функции, физиологическое состояние и процесс созревания рыб. Рассмотрены морфо-функциональные аспекты изменения репродуктивной системы осетровых рыб в результате антропогенного воздействия. Определена возможность применения биологически-активных веществ для повышения эффективности искусственного воспроизводства рыб.

Анализ научной литературы выявил целесообразность исследования по оценке эффективности витаминных реабилитационных инъекций для самок осетровых рыб, используемых для целей воспроизводства.

Глава II МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования выполняли с 1998 по 2003 гг. на Бертульском осетровом рыбноводном заводе (Астраханская область), Волгоградском осетровом рыбноводном заводе (Волгоградская область), Донском осетровом рыбновод-

ном заводе (Ростовская область), в лабораториях Астраханского государственного технического университета и в НТЦ «Астаквакорм».

В качестве объектов в исследованиях использовали различные виды осетровых рыб: русский осетр (*Acipenser guldenstadti* Brandt), севрюга (*Acipenser stellatus* Pallas) и стерлядь (*Acipenser ruthenus* Linne), которые культивируются на осетровых рыболовных заводах юга России. Для экспериментов использовали самок, икру, личинок и молодь. Схема проведения исследований по теме диссертации представлена на рис. 1.

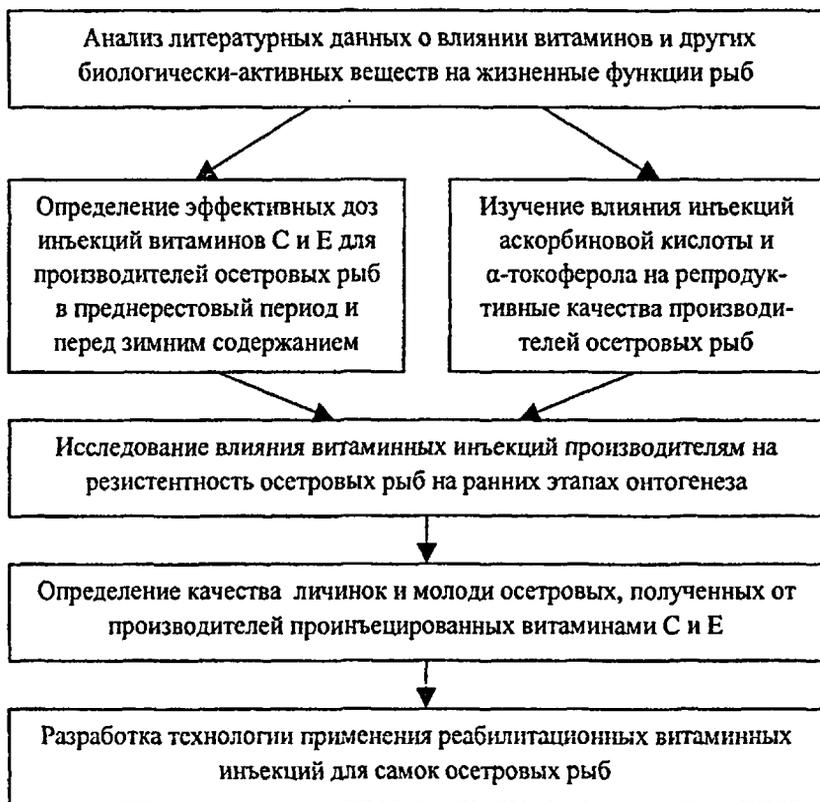


Рис. 1. Схема проведения исследований

Нормы инъекций витаминов С и Е определяли на основе анализа научной литературы о физиологическом состоянии производителей перед нерестом и доз принятых в медицине (Смирнов, 1974; Сеничкина, 1997; Ост-

роумова, 2001). Исследования по определению эффективных норм ввода витаминов проводили по 4 вариантам: 1 вариант - аскорбиновая кислота 10% раствор 1 мл + *a*-токоферол 30% раствор 1 мл; 2 вариант - 1,5 мл +1,5 мл; 3- вариант 2 мл+2 мл; 4 вариант - 2 мл+1 мл, соответственно.

Инъекции самок осетровых рыб витаминами проводили внутримышечно, в спинную мышцу на уровне третьей жучки.

На Донском и Бертюльском ОРЗ самок осетровых рыб перед нерестом содержали в специальных бетонных комплексах (бассейнах). Площадь каждого бассейна составляла 18 м² при глубине 1,5 м. Температура воды была максимально приближена к естественной. На Волгоградском ОРЗ для выдерживания производителей использовали садки размером 2,5x4x1,8м.

В качестве стимулятора овуляции применяли сурфагон и гипофизарную глицериновую вытяжку. Оплодотворение икры осуществляли «полусухим» способом, икру инкубировали в аппаратах «Осетр». Влияние витаминных инъекций определяли на основании данных созревания производителей, процента оплодотворения, выхода икры, а также выживаемости эмбрионов, личинок и выходу молоди. Плодовитость самок определяли общепринятым способом (Правдин, 1966).

Процесс эмбрионального развития осетровых рыб изучали по Т.А. Детлаф, А.С. Гинзбург и О.И. Шмальгаузен (1981). Количество патологических изменений учитывали в процентном отношении от всего объема выборки.

Для определения жизнестойкости эмбрионов и личинок русского осетра на разных стадиях развития применяли метод механического и термического воздействия (Привольноее, 1959). Жизнеспособность молоди определяли методом функциональных нагрузок (Лукьяненко, 1966). Среднесуточный прирост молоди рассчитывали по Г.Г. Виндбергу (1956).

Анализ химического состава икры, личинок и молоди и определение показателей крови выполняли по общепринятым методикам (Иванова, 1983; Щербина, 1983).

Экстракцию липидов выполняли по методу L. Folch (1957). Выделенные липиды подвергали прямой переэтрификации в абсолютном метаноле (Цыганов, 1971). Полярные метиловые эфиры высших жирных кислот разделяли на хроматографе «Hewlett-Packard» методом газовой хроматографии (Ахрем, Кузнецова, 1965). Уровень содержания витамина С в икре определяли методом титрования краской Тильманса по прописи И.К. Цитович (1974). Определение витамина Е в икре проводили флуорометрическим методом (Taylor et al., 1980). Материалы обработаны вариационно-статистическими методами (Лакин, 1990).

В процессе исследований всего выполнено 275 биохимических анализов икры и тела осетровых рыб, обработано 220 гематологических проб, проведено более 1000 измерений с полной оценкой рыбоводных показателей, проанализировано более 1500 экземпляров рыб разного возраста, 2000 проб икры осетровых рыб, в период испытаний и производственных проверок использовано около 100000 шт. молоди осетровых рыб.

Глава III. ПРИМЕНЕНИЕ ИНЪЕКЦИЙ ВИТАМИНОВ КАК МЕТОДА ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОДГОТОВКИ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ К НЕРЕСТУ

В связи с изменениями в экосистемах водоемов значительно сузилась возможность отбора качественных производителей осетровых рыб для целей искусственного воспроизводства, поэтому вопрос максимально эффективного использования имеющихся производителей приобретает особую остроту (Кириллов, Солохина, 2000).

Главной задачей для эффективной работы осетровых рыбоводных заводов является разработка и применение эффективных методов управления репродуктивной функцией рыб (Глубокое, 1993). Это позволит расширить возможности изучения механизма явлений созревания и, следовательно, возможности управления этим процессом. Особенно важны завершающие этапы гаметогенеза, в ходе которых умелое управление позволит получить качественные половые продукты.

3.1. Эффективность применения витаминов С и Е для повышения репродуктивных свойств самок осетровых рыб

Введение витаминов С и Е в организм рыб имеет важное значение, поскольку витамин Е не синтезируется в организме рыб, а содержание аскорбиновой кислоты у производителей в преднерестовый период снижается (Sandnes, 1981; Сеничкина, 1997).

Результаты опытов, проведенных на Бергюльском и Донском ОРЗ показали, что при инъекции самок русского осетра витаминами С и Е происходит улучшение репродуктивных показателей рыб (рис. 2, 3). Наиболее эффективной нормой ввода следует считать 2 мл аскорбиновой кислоты и 1 мл а-токоферола. При введении такого количества витаминов созрели и дали икру высокого рыбоводного качества 90% самок. Также отмечали повышение процента оплодотворения на 22,9%, по сравнению с контролем.

Аскорбиновая кислота и витамин Е оказывают положительное влияние на процесс созревания половых продуктов у рыб (Sandnes, 1984; Waagbo et al., 1989; Blom, Dabrowski, 1996; Rosenlund, 1997). Икра отличается

ся более высокой массой и меньшей смертностью при инкубации (Комаров, Князева, 1984).

Увеличение нормы введения препаратов витаминов С и Е до 2 мл при инъекции не привело к значительному повышению показателей.

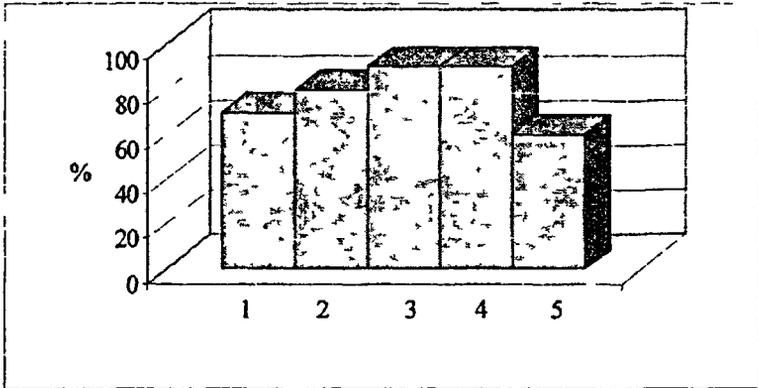


Рис. 2 Созревание самок русского осетра при различных дозах инъекций: 1 - 1 мл С, 1 мл Е; 2 - 1,5 мл С, 1,5 мл Е; 3 - 2 мл С, 2 мл Е; 4 - 2 мл С, 1 мл Е; 5 - контроль

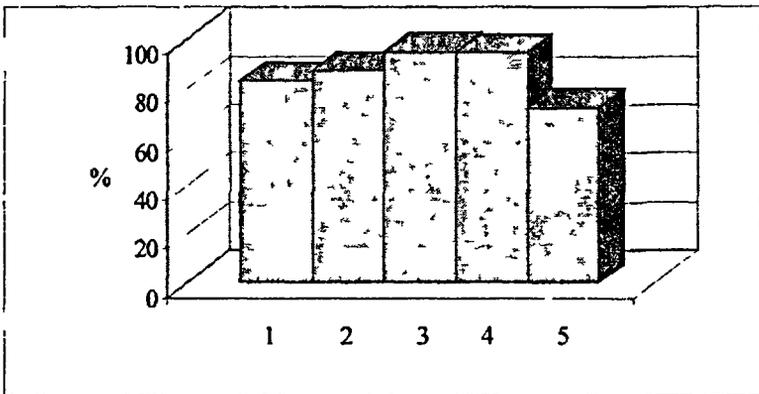
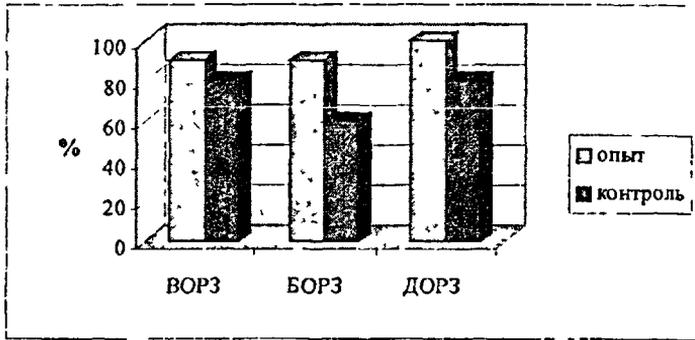


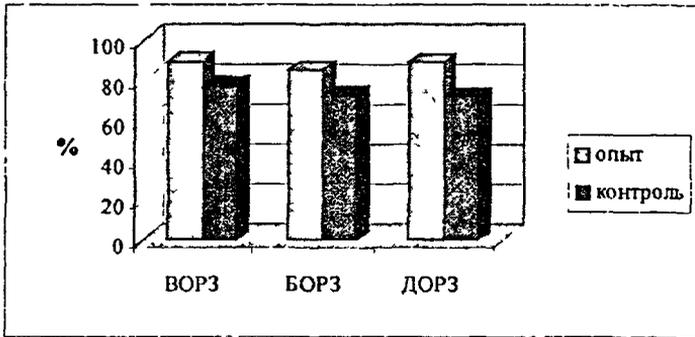
Рис. 3 Оплодотворение икры, полученной от самок проинъекцированных витаминами: 1 - 1 мл С, 1 мл Е; 2 - 1,5 мл С, 1,5 мл Е; 3 - 2 мл С, 2 мл Е; 4 - 2 мл С, 1 мл Е; 5 - контроль

Установленные эффективные нормы витаминных инъекций были затем апробированы в условиях рыбоводных заводов юга России (рис. 4) После проведения инъекций витаминами С и Е на Волгоградском ОРЗ была

получена икра от 90% производителей. В контрольной группе созрело 80,0% самок. Процент оплодотворения икры, полученной от самок опытной группы составил 89,8%, в контроле - 77,4%.



а



б

Рис. 4. Показатели эффективности проведения самкам русского осетра инъекций витаминов С и Е: а - созревание, %; б - оплодотворение, %

Примечание: ВОРЗ - Волгоградский ОРЗ; БОРЗ - Бертюльский ОРЗ; ДОРЗ - Донской ОРЗ

Испытания, проведенные на Бертюльском ОРЗ, также показали эффективность применения инъекций самкам русского осетра. В опытной группе после гипофизарной стимуляции созрело 90% самок. В контроле этот показатель был ниже и составил 60%. Процент оплодотворения икры, полученной от самок опытной группы, был выше на 12,9%, по сравнению с контролем.

На Донском ОРЗ в опытной группе количество рыб, ответивших на гипофизарную инъекцию, составило 100%, в контроле созрело 80% самок. Процент оплодотворения икры, полученной от проинъецированных витаминами самок, составил 88,9%, что выше контроля на 16,7%.

Аналогичные эксперименты были проведены на производителях сеvрюги и стерляди. В связи с тем, что дозы инъектирования определяли в зависимости от массы тела, норма инъекций для сеvрюги и стерляди была снижена в два раза.

На Волгоградском ОРЗ процент созревания производителей стерляди в опытной группе, по сравнению с контрольной, был выше на 5%, процент оплодотворения икры - на 12,5% (рис. 5). Эксперименты, проведенные на Донском ОРЗ, показали, что при инъектировании самок сеvрюга витаминами была получена икра высокого рыбоводного качества от 90% рыб, тогда как в контрольной группе созрело лишь 60% самок.

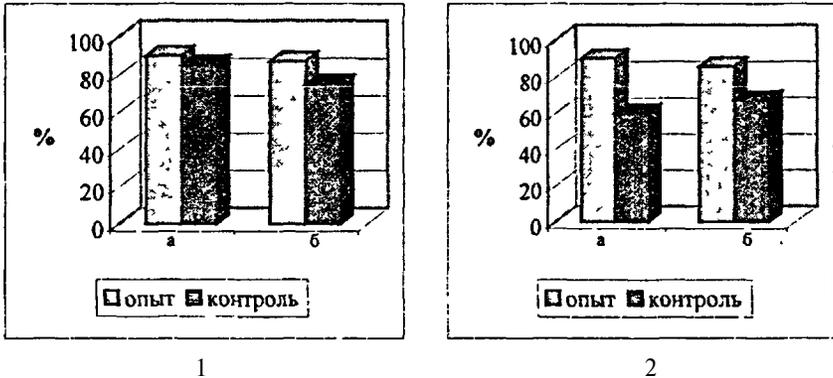


Рис. 5. Показатели эффективности проведения самкам стерляди (1) и сеvрюги (2) инъекций витаминов С и Е: а - созревание, %; б - оплодотворение, %

Таким образом результаты исследований показали достаточно высокую эффективность применения инъекций витаминов С и Е для производителей русского осетра, сеvрюги и стерляди. Лучшие результаты при инъектировании самок осетровых рыб были получены при норме введения аскорбиновой кислоты -10 мг/кг тела самки, а-токоферол ацетата — 15 мг/кг при четырехразовом инъектировании в течение 2-х недель перед нерестом.

В настоящее время для получения потомства используют рыб, как яровых, так и озимых групп (Прошин, Максудьянц, 20016; Бараний-

кова и др., 2001; Распопов, 20016; Горбачева и др., 2002; Кокоза, 2002). Использование производителей озимой группы возможно при их длительной резервации в условиях рыбоводных заводов. Важнейшими причинами снижения рыбоводного качества икры являются нарушения процессов созревания и овуляции ооцитов, возникающие при неблагоприятных условиях выдерживания самок. Поэтому необходимо было провести оценку эффективности применения витаминных инъекций для производителей озимой части популяции.

Известно, что эффективность использования витаминов увеличивается при более длительном их введении. Поэтому для снятия последствий стресса, а также для улучшения физиологического состояния самок, разработали две схемы инъектирования (трех- и четырехразовая), при которых инъекции витаминов осуществляются в течение более длительного времени.

Следует отметить, что поступление витамина Е в организм особенно важно в период подготовки рыб к сезонным изменениям температуры. С понижением температуры воды увеличивается содержание ненасыщенных жирных кислот в тканях и потребность в а-токофероле повышается (Coweу et al., 1983; Коморкин, 1993,2000). Важную роль в усилении иммунных реакций организма и повышении устойчивости рыб к заболеваниям играет витамин С (Остроумова, 2001). Поэтому целесообразно было оценить эффективность подготовки производителей к зимовке и нересту с помощью витаминных инъекций.

Инъектирование самок русского осетра массой 15-25 кг витаминами С и Е проводили в два приема с интервалом в одну неделю в осенний период в условиях Донского ОРЗ. Весной инъектирование проводили по трех- и четырехразовой схеме по ранее установленным нормам.

Полученные в результате экспериментов рыбоводно-биологические показатели самок русского осетра в опытных вариантах были значительно выше, чем в контроле (табл. 1). При инъектировании самок витаминами по трехразовой схеме доброкачественная икра была получена от 100 % рыб. В контроле ответило на гипофизарную инъекцию 86% самок. Выход икры от самок опытной группы составил 229,7 тыс. шт., при массе икры 20,6 мг, что выше контроля на 10,2 тыс. шт. Процент оплодотворения икры увеличился до 90% и был выше, чем в контроле на 18,5 %.

При инъектировании самок русского осетра по четырехразовой схеме были получены аналогичные результаты. Из опытной группы рыб доброкачественную икру отдали 90% (табл. 1), в контроле - 70%. Выход

икры от самок опытной группы составил 213,9 тыс. шт., что выше контроля - на 12,8 тыс. шт.

Таблица 1

Эффективность проведения озимым самкам русского осетра инъекций витаминов С и Е

| Показатели | Трехразовая | | Четырехразовая | |
|-------------------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|
| | Опыт | Контроль | Опыт | Контроль |
| Масса, кг | 15,6 \pm 4,3 | 17,3 \pm 3,2 | 20,7 \pm 3,02 | 20,1 \pm 4,1 |
| Созревание, % | 100 | 86 | 90 | 70 |
| Выход икры, тыс. шт. | 229,7 | 219,5 | 213,9 | 201,1 |
| Масса одной икришки, мг | 20,6 \pm 3,3 | 18,7 \pm 1,1 | 21,0 \pm 2,1 | 19,0 \pm 2,0 |
| Оплодотворение, % | 90,0 | 72,5 | 92,0 | 74,1 |

В результате проведенных экспериментов по подготовке производителей осетровых рыб к нересту было выявлено, что самки опытной группы в сравнении с контролем созревали раньше по времени в среднем на три часа (рис. 6). Продолжительность созревания составила 27,1 часов.

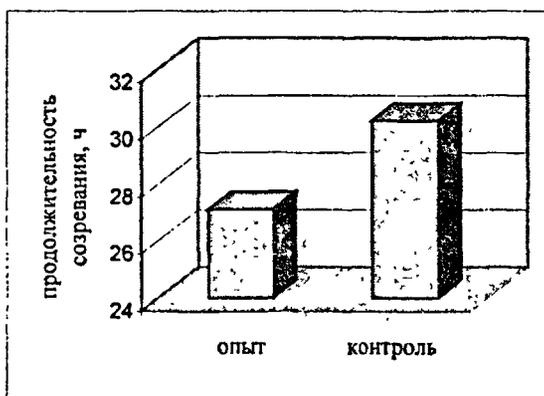


Рис 6. Скорость созревания самок русского осетра после проведения инъекции витаминов С и Е

Физиологическое состояние производителей проинъекцированных витаминами было удовлетворительным. Таким образом, введение витаминов С и Е самкам осетровых рыб в преднерестовый период положительно влияет на репродуктивные функции организма, что приводит к увеличению плодовитости и размеров яйцеклеток, ускорению и синхронизации созревания, более высокой оплодотворяемости икры.

Глава IV. ПОВЫШЕНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОСЕТРОВЫХ РЫБ НА РАННИХ ЭТАПАХ РАЗВИТИЯ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ВИТАМИННЫХ ИНЪЕКЦИЙ В ПЕРИОД ПОДГОТОВКИ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ К НЕРЕСТУ

4.1 Оценка состояния икры и развития эмбрионов

При искусственном воспроизводстве качество и жизнестойкость личинок и молоди зависят не только от условий выращивания, но и от качества исходного материала (икры и спермы), которое в свою очередь определяется состоянием производителей (Соколова, Горюнова, 2000). Поэтому необходимо было оценить качество икры, полученной от производителей после проведения витаминных инъекций.

Определение содержания витаминов С и Е в икре показало, что у русского осетра из опытной группы концентрация этих витаминов было выше на 40,1% и 29,4%, соответственно при $P < 0,001$ (рис. 7).

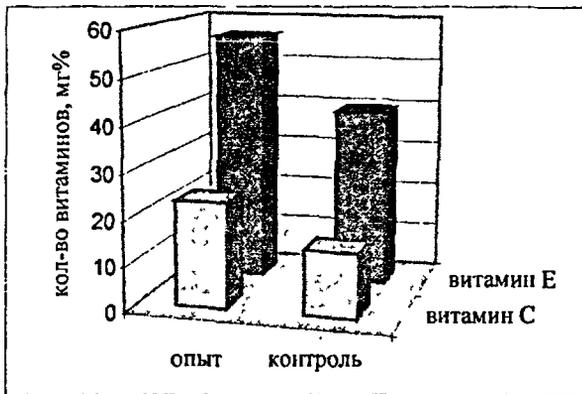


Рис 7. Содержание витаминов С и Е в икре после проведения витаминных инъекций самкам русского осетра

Биохимический анализ показал, что икра, полученная от проинъецированных витаминами самок, отличалась от контрольной группы более высоким содержанием протеина (30,1%) и жира (16%).

При анализе содержания отдельных фракций липидов в неоплодотворенной икре от опытных самок отмечали повышение триацилглицеридов в среднем на 13,6%, эфиров холестерина на 14,7%, а также снижение уровня неэстерифицированных жирных кислот на 33,7%. Содерж-

жаие фосфолипидов изменялось в пределах 6,87-8,05% в икре от опытных самок, а в контроле оно было ниже в среднем 6,8%. При этом соотношение фосфолипиды/общие липиды в опыте было 45,4-48,3%. Уровень фосфатидилхолина составил 5,83%, лизофосфатидилхолина - 0,24%, фосфатидилэтаноламина - 1,44%. В икре самок контрольной группы эти показатели были ниже.

Таким образом, введение витаминов оказало положительное влияние на липидный состав икры, при этом повысился уровень отдельных фракций липидов, что в последствие привело к увеличению оплодотворяемости икры и выхода предличинок.

При исследованиях в период эмбриогенеза отмечено, что наибольшая гибель эмбрионов в период инкубации была в контрольной группе - 31,9%, в опыте - 25,4%. Высокая гибель эмбрионов в контроле отмечена до начала гастрюляции. Наибольший отход эмбрионов в опытных группах наблюдали в период прохождения критических стадий развития, однако он был меньше, чем в контроле. Вылупление эмбрионов опытной группы проходило на 4-5-е сутки и по продолжительности составило сутки. Зародышевое развитие икры в контроле на 2-3 суток было дольше и период вылупления предличинок составил 2 суток. Очевидно наибольший отход и замедленное развитие в период эмбриогенеза свидетельствует о более низком качестве икры контрольной группы.

В период эмбрионального развития у эмбрионов, полученных от самок контрольной группы по сравнению с опытной, был отмечен больший процент нарушений в развитии (табл.2).

Таблица 2

Нарушения в эмбриональном развитии, %

| Виды нарушений | Опыт | Контроль |
|--|-------------|----------|
| Процесс дробления | 2,2±0,41*** | 4,6±0,33 |
| Закрытие blastopora | 1,0±0,32*** | 2,7±0,28 |
| Укороченная или искривленная нервная пластинка | 3,6±0,91* | 5,9±0,36 |
| Недоразвитие передних отделов головы и тела | 3,4±0,25*** | 6,8±0,49 |
| Укороченное или искривленное тело | 4,3±0,62* | 5,9±0,54 |

Примечание: * P<0,05; *** P<0,001

Изучение резистентности эмбрионов русского осетра при механическом и термическом воздействиях в период прохождения критических стадий, после проведения витаминных инъекций производителям, показало, что наибольшая гибель эмбрионов отмечалась на высокочувств-

вительных стадиях развития, но в опыте она была значительно ниже, чем в контроле (в среднем на 12%).

Анализ рыбоводных, биохимических показателей, а так же результаты исследований развития эмбрионов свидетельствуют о повышении резистентности развивающихся эмбрионов и эффективности применения витаминных инъекций для самок русского осетра в преднерестовый период.

4.2. Физиологическое состояние ранней молоди осетровых рыб

Подращивание предличинок до перехода на активное питание является одним из наименее разработанных звеньев рыбоводного процесса.

У предличинок, полученных от производителей контрольной группы, отмечен значительный процент нарушений в развитии: у 13% обнаружено искривление позвоночника, у 7% недоразвитие жаберной крышки. В опытном варианте отмечали всего 2% нарушений в развитии. Личинки опытной группы быстро переходили на смешанное питание и своевременно проходили стадии развития, следствием чего явилась их высокая выживаемость в опытной группе 94,9%, а в контроле - 87,2% (рис. 8).

Очевидно, введение витаминов дает дополнительный резерв биологически активных веществ икре, что способствует увеличению ее внутренних ресурсов и повышает выживаемость личинок.

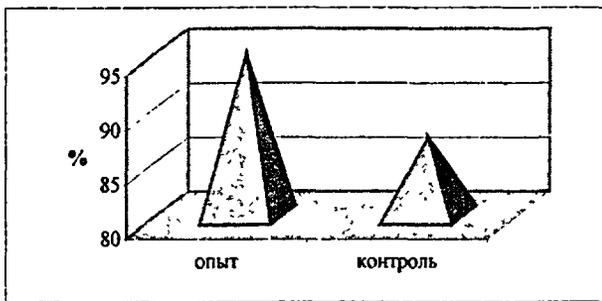


Рис. 8. Выживаемость предличинок русского осетра, %

Данные биохимического анализа тела личинок, полученные от опытной группы, отличались более высоким содержанием белка - 60,9%, в контроле этот показатель был ниже на 2,9%. Содержание липидов в теле личинок опытной группы, в сравнении с контрольными, было выше на 1,1%. Это свидетельствует о большем энергетическом потенциале и жизнестойкости личинок (Катаскова др., 1998). При термическом воздействии в период

раннего постэмбриогенеза осетра наибольшая гибель отмечена в контрольной группе.

Таким образом, анализ полученных результатов свидетельствует об улучшении физиолого-биохимических показателей и повышении резистентности ранней молоди русского осетра после введения инъекций витаминов С и Е самкам в преднерестовый период.

Глава V. ВЛИЯНИЕ ВИТАМИНОВ С И Е ПРИ ИНЪЕЦИРОВАНИИ САМОК НА КАЧЕСТВО МОЛОДИ ОСЕТРОВЫХ РЫБ

Оценка эффективности влияния витаминных инъекций самкам осетровых рыб на рыбоводно-биологические показатели личинок и молоди выявила некоторые особенности.

При подращивании ранней молоди русского осетра на Волгоградском ОРЗ лучшие показатели роста и выживаемости наблюдали у молоди, полученной от проинъекцированных витаминами самок (рис. 9).

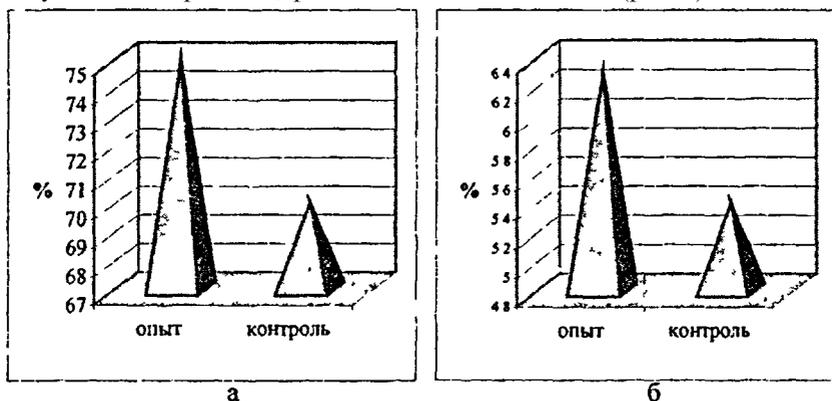


Рис. 9. Рыбоводно-биологические показатели выращивания личинок русского осетра: а - выживаемость, %; б - среднесуточный прирост, %

Физиологическое состояние ранней молоди русского осетра опытной группы, оцененное по химическому составу тела, характеризовалось более высоким содержанием белка и жира, что свидетельствует об удовлетворительном физиологическом состоянии рыб (Яржомбек и др., 1986). В общих липидах опытной молоди уровень фосфолипидов был равен 30,1 %, тогда как в контроле он не превышал 27,3 %. У молоди опытной группы отмечено высокое содержание ненасыщенных (69,4 %), полиеновых (27,2%) жирных кислот, а также незаменимых для рыб кислот линоленового ряда ω 3

(16,1%). Хорошая обеспеченность общих липидов тела ненасыщенными жирными кислотами линоленового ряда $\omega 3$ положительно характеризует подготовленность рыб к действию неблагоприятных факторов среды (Яржомбекидр., 1981).

При выращивании в прудах в опытном варианте наблюдали увеличение выхода молоди на 7%, в сравнении с контролем, при увеличении общего прироста молоди.

При оценке качества выращенной молоди выявлено, что устойчивость к воздействию повышенной температуры и солености была выше у рыб, полученных от самок проинъецированных витаминами. Терморезистентность молоди опытной группы оказалась в среднем равна 252,4 мин. Наименее устойчивой была молодь русского осетра в контроле: максимальный период выживания ее в аналогичных условиях (до момента гибели) составил не более 200,6 мин (рис. 10). Солеустойчивость опытной молоди составила 26,1 ч, контрольной - 23,8 ч.

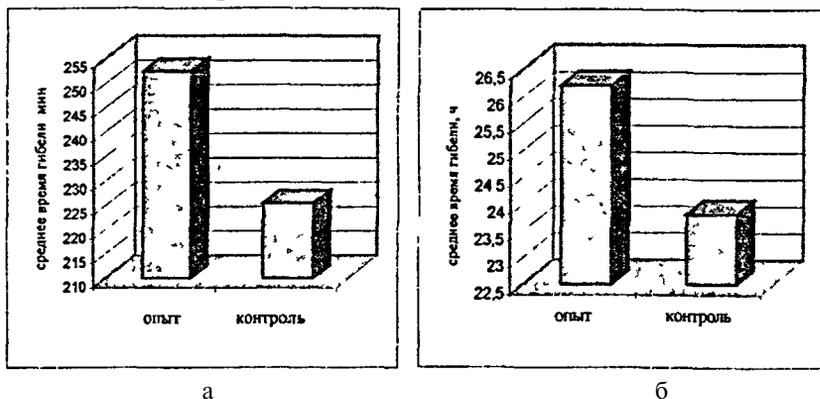


Рис. 10. Смертность молоди русского осетра при температурном (а) и солевом шоке (б)

Гематологические показатели, выращенной молоди русского осетра между собой не различались и соответствовали удовлетворительному состоянию рыбы.

Оценивая все показатели молоди русского осетра, было установлено, что введение инъекций витаминов самкам положительно влияет на жизнестойкость полученного потомства и повышает эффективность искусственного воспроизводства осетровых рыб.

Глава VI. ОСОБЕННОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РЕАБИЛИТАЦИОННЫХ ВИТАМИННЫХ ИНЪЕКЦИЙ ДЛЯ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ОСЕТРОВЫХ РЫБ

В результате проведенных научных исследований по применению витаминных инъекций для самок осетровых рыб была разработана специальная технология. В этой технологии представлены методические приемы применения витаминных инъекций в преднерестовый период для осетровых рыб.

Для проведения восстановительных преднерестовых инъекций можно использовать фармацевтические препараты аскорбиновой кислоты (5% или 10%) и а-токоферола-ацетата (10% или 30%). Витамин Е относится к группе жирорастворимых витаминов, поэтому вводить его в мышцы достаточно сложно. В связи с этим непосредственно перед инъекцией ампулу с препаратом а-токоферола необходимо разогреть (на водяной бане) и только после этого набирать раствор в шприц.

В результате исследований было установлено, что витамины следует вводить медицинским шприцем (объемом не менее 5 см³) в спинную мышцу на уровне третьей жучки. Для каждого препарата должен использоваться индивидуальный шприц.

Доза введения препаратов обоснована путем расчета на единицу массы производителей с учетом дефицита витаминов при стрессовых ситуациях в преднерестовый период, а также схемы инъецирования.

Возможно использование нескольких схем инъецирования:

- инъецирование (3-х или 4-х разовое) в течение месяца до проведения гипофизарной инъекции;
- инъецирование самок перед зимовкой с повторным инъецированием их перед нерестом в течение месяца до проведения гипофизарной инъекции.

Выбор определенной схемы инъецирования зависит от физиологического состояния и условий содержания самок осетровых рыб.

В результате исследований было установлено, что витаминные инъекции можно проводить, например, самкам русского осетра озимой расы, содержащимся в бассейнах ЦДВ на осетровых заводах в течение месяца перед получением половых продуктов без нарушения технологического процесса (табл. 3).

Самки, которым проводят инъецирование, созревают раньше по времени в среднем на три часа. У каждой самки следует устанавливать следующие рыбоводно-биологические показатели: среднюю массу неоплодотворенной икринки, процент оплодотворения икры, выживаемость личинок

во время выдерживания в пластиковых бассейнах до перехода на активное питание.

Таблица 3

Нормы введения витаминов при инъекции самок русского осетра

| Препараты | Норма, мл | |
|--|-----------|---------|
| | Схема 1 | Схема 2 |
| 10-ти% раствор аскорбиновой кислоты | 2 | 3 |
| 5-ти % раствор аскорбиновой кислоты | 4 | 6 |
| 30-ти % раствор α - токоферол-ацетата | 1 | 1,5 |

Рекомендуемый метод позволяет улучшить общее физиологическое состояние производителей, усилить защитные функции организма, что проявляется в увеличении плодовитости, качестве икры и жизнеспособности молоди осетровых рыб.

В результате проведения производственной проверки технология была рекомендована к применению в заводских условиях. В настоящее время данная технология подготовки производителей осетровых рыб к нересту с использованием инъекций витаминов С и Е успешно применяется в условиях осетровых рыбоводных заводов Нижней Волги и Дона.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных экспериментов показана эффективность использования витаминных инъекций для повышения репродуктивных качеств самок осетровых рыб и улучшения их физиологического состояния.

Оптимальной дозой препаратов аскорбиновой кислоты и α - токоферола для самок осетровых рыб следует считать 10 мг/кг и 15 мг/кг от массы тела самки, соответственно. Это способствует повышению процента созревания рыб и оплодотворяемости икры до 90%.

Для снятия последствий стресса и улучшения физиологического состояния самок осетровых рыб разработаны две схемы инъектирования (трех- и четырехразовая), при которых инъекции витаминов осуществляют в течение месяца в период преднерестового содержания, что способствует увеличению показателей созреваемости, процента оплодотворения икры до 90%. Производители опытной группы в сравнении с контролем созревали раньше по времени в среднем на три часа.

Анализ состава икры на содержание витаминов С и Е показал, что в икре русского осетра опытной группы содержание этих витаминов на 40,1% и 29,4% было выше чем в контроле, соответственно ($P < 0,001$).

Введение витаминов самкам перед нерестом позволило получить жизнестойкое потомство с высокой выживаемостью на ранних этапах онтогенеза. Выживаемость икры в период инкубации удалось повысить на 6,5%. Высокая гибель эмбрионов в контрольной группе отмечалась до начала гастрюляции. Наибольший отход эмбрионов в опытных группах наблюдали в «критические» периоды развития, но он был меньше чем в контроле. Продолжительность зародышевого развития икры опытной группы сократилась на 2-3 суток. Применение витаминов позволило также сократить процент неправильно развивающихся эмбрионов.

У предличинок, полученных от производителей опытной группы, процент нарушений в развитии был меньше на 18%. Личинки опытной группы быстро переходили на смешанное питание и своевременно проходили стадии развития. Следствием этого явилась их высокая выживаемость в опытной группе 94,9%, а в контроле - 87,2%.

Использование инъекций аскорбиновой кислоты и а-токоферола самкам в преднерестовый период позволило улучшить качество посадочного материала, увеличить выживаемость личинок в период подращивания на 5%. При выращивании молоди наблюдали увеличение выхода в прудах на 7%, в сравнении с контролем, при увеличении общего прироста молоди.

Эксперименты по определению жизнестойкости молоди показали, что опытная молодь характеризовалась высокой термо- и солеустойчивостью.

В результате исследований установлено, что инъекции витаминов самкам положительно влияют на жизнестойкость полученного потомства,, способствуют повышению массы выращенной молоди, улучшению физиолого-биохимические показатели. На основе полученных результатов разработана технология подготовки производителей к нересту с применением витаминных инъекций.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что для улучшения рыбоводно-биологических показателей качества самок осетровых рыб целесообразно в период преднерестового содержания проводить инъекции витаминами С и Е. Норма введения витаминов для самок русского осетра составляет 2 мл (10% р-ра) аскорбиновой кислоты и 1 мл (30% р-ра) а-токоферола, самок севрюги и стерляди лучшие показатели процента созревания рыб и оплодотворяемости икры

отмечены при норме введения 1 мл витамина С и 0,5 мл а-токоферола, в расчете на массу тела в среднем эти значения, составляют 10 мг/кг и 15 мг/кг, соответственно.

2. Для снятия последствий стресса и улучшения физиологического состояния самок следует использовать две схемы инъекционирования витаминами (трех- и четырехразовая), когда инъекции витаминов осуществляют в течение месяца в период преднерестового выдерживания в рыбоводных емкостях на осетровых рыбоводных заводах.

3. Инъекционирование самок осетровых рыб в преднерестовый период витаминами С и Е позволяет снизить воздействие стрессовых факторов в период нереста, влияет на скорость созревания самок и повышает созревание осетровых рыб до 90-100% при увеличении оплодотворяемости икры до 86-88%.

4. После проведения витаминных инъекций самкам осетровых рыб в икре достоверно ($P < 0,001$) увеличивается содержание аскорбиновой кислоты на 40,1% и а-токоферола на 29,4%.

5. Применение витаминных инъекций оказывает положительное влияние на репродуктивные показатели самок русского осетра, увеличивая выживаемость эмбрионов на 6,5% и предличинок на 7,7%, сокращая процент уродств до 2%. При этом отмечено повышение резистентности развивающихся эмбрионов и предличинок в период прохождения высокочувствительных стадий постэмбриогенеза.

6. Использование витаминных инъекций для самок русского осетра в преднерестовый период позволяет улучшить качество посадочного материала, повышая выживаемость личинок в период подращивания до 75% и выход выращиваемой молоди из прудов на 7%, способствует улучшению их рыбоводно-биологических и физиологических показателей.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для повышения эффективности искусственного воспроизводства осетровых рыб рекомендуется введение самкам витаминов С и Е в виде инъекций в преднерестовый период по специально разработанным схемам.

2. Для улучшения физиологического состояния и повышения репродуктивных показателей качества самок осетровых рыб рекомендуется вводить в преднерестовый период витамины С и Е в количестве 2 мл (10%) аскорбиновой кислоты и 1 мл (30%) а-токоферола самкам русского осетра, 1 мл и 0,5 мл, соответственно, самкам севрюги и стерляди.

3. Рекомендуется введение витаминов (3-х или 4-х разовое) в течение месяца до проведения гипофизарной инъекции или инъецирование самок перед зимовкой с повтором перед нерестом в течение месяца.

4. С целью снижения потерь на всех этапах биотехнического процесса рекомендуется использовать технологию реабилитационных витаминных инъекций для производителей осетровых рыб.

Список опубликованных работ по теме диссертации:

1. Пономарев С.В., Грозеску Ю.Н., Сорокина М.Н. Эффективность применения витаминных инъекций для производителей русского осетра. Проблемы и перспективы развития аквакультуры в России: Матер. Междунар. науч.-практ. конф. - Краснодар, 2001. - С. 89-90.

2. Пономарева Е.Н., Чипинов В.Г., Чипинова Г.М., Киселева Н.М., Сорокина М.Н. Опыт доместикации прооперированных производителей белуги и русского осетра на Бергюльском ОРЗ. Проблемы и перспективы развития аквакультуры в России: Матер. Междунар. науч.-практ. конф. - Краснодар, 2001. - С. 90-91.

3. Грозеску Ю.Н., Бахарева А.А., Сорокина М.Н. Применение восстановительных инъекций для производителей осетровых рыб для повышения эффективности их искусственного воспроизводства. Новые технологии в защите биоразнообразия в водных экосистемах: Междунар. конф. Москва, 27-29 мая 2002 г.: Тез. докл. / Сост. сборника С.В. Котелевцев, А.Л. Садчиков. - М.: МАКС Пресс, 2002. - С. 99.

4. Пономарев С.В., Пономарева Е.Н., Грозеску Ю.Н., Бахарева А.А., Дубов В.Е., Сорокина М.Н. Способ подготовки производителей осетровых к нересту. Положительное решение о выдаче патента на изобретение от 25.03.04 по заявке № 2002121974/12(023086) от 12.08.2002.

5. Пономарев С.В., Сорокина М.Н., Пономарева Е.Н., Говорунова В.В. и др. Технология применения реабилитационных витаминных инъекций для производителей осетровых рыб. - Астрахань: Новая линия, 2003. - 13 С

6. Пономарев С.В., Сорокина М.Н., Пономарева Е.Н., Грозеску Ю.Н., Бахарева А.А., Дубов В.Е. Эффективность использования витаминных препаратов для подготовки самок осетровых рыб к нересту // Вестник КБГУ. Биологические науки. - Нальчик: Каб.-Балк. ун-т, 2003. - Вып. 6. - С 10-12.

7. Пономарева Е.Н., Сорокина М.Н., Говорунова В.В. Технология применения витаминных инъекций для производителей осетровых рыб. Научные подходы к решению проблем производства продуктов питания: Мат. Межрегион, науч.-практ. конф. - Ростов-на-Дону: РГУ, 2003. - С. 20-22.

№ - 7076