

4860ШЕНД

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ОЗЕРНОГО И РЕЧНОГО РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА
НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОГО ОБЪЕДИНЕНИЯ
ПО ПРОМЫШЛЕННОМУ И ТЕПЛОВОДНОМУ РЫБОВОДСТВУ
(ГосНИОРХ НПО Промрыбвод)

На правах рукописи
Для служебного пользования
Экз. № 26

ГОЛОВАЧЕВ Сергей Александрович

УДК 597-153+597-II3.3I2

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВЫРАЩИВАНИЯ ЛИЧИНКОВ
СИГОВЫХ РЫБ ПУТЕМ УЛУЧШЕНИЯ БИРНОКИСЛОТНОГО
СОСТАВА СТАРТОВЫХ КОРМОВ

03.00.10 – ихтиология

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Ленинград – 1987

Работа выполнена в Государственном научно-исследовательском институте озерного и речного рыбного хозяйства научно-производственного объединения по промышленному и тепловодному рыбоводству (ГосНИОРХ НПО промрыбвод)

Научный руководитель - доктор биологических наук,
профессор ОСТРОУМОВА И.Н.

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,
профессор Г.Е.Шульман
кандидат биологических наук
С.М.Болгова

Ведущая организация - Калининградский технический институт рыбной промышленности и хозяйства КТИРПиХ

Защита диссертации состоится "29" 12 1987 г. в 13 час.
на заседании специализированного совета К ИИ7.03.01
при Государственном научно-исследовательском институте
озерного и речного рыбного хозяйства (199053, Ленинград, В-53,
наб.Макарова, 26).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГосНИОРХ.

Автореферат разослан "27" 12 1987 г.

Ученый секретарь специализированного совета, доктор биологических наук

Е.А.Богданова

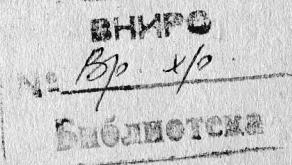
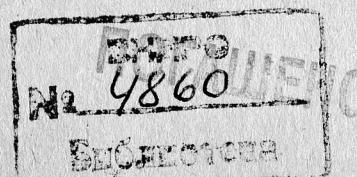
I ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Недостаток естественного корма и связанный с этим повышенный отход неподрошенных личинок при выпуске в водоемы ограничивают масштабы товарного выращивания сиговых, обладающих высокими потребительскими свойствами. Проблема разведения кормовых беспозвоночных в достаточном количестве не решена. Поэтому непременным условием организации заводского подращивания личинок сиговых до наступления массового развития кормовых беспозвоночных в предназначенных для зарыбления водоемах является разработка полноценных искусственных стартовых кормов.

Внедрение индустриальных методов рыбоводства, основанных на полной замене естественной пищи искусственными кормами, требует получения дополнительной информации о количественных и качественных потребностях культивируемых рыб во всех пищевых компонентах, в том числе и незаменимых жирных кислотах. Жирнокислотный состав кормов является вторым после аминокислотного фактором, определяющим рост рыб (Halver, 1976).

Жиры рыб отличает высокая степень их ненасыщенности, обусловленная обитанием при относительно низкой температуре. Этим объясняется специфическая потребность холодолюбивых рыб в незаменимых $\omega 3$ жирных кислотах, обеспечивающих текучесть бисемембран. Потребляя совокупность кормовых беспозвоночных, рыба получает необходимое количество $\omega 3$ кислот. Сложность создания сбалансированных искусственных рационов заключается в том, что большинство доступных для рыбоводства кормовых компонентов и жиров содержит жирные кислоты $\omega 6$ семейства.

Проблема поиска путей удовлетворения потребностей рыб в незаменимых жирных кислотах является актуальной и требует своего решения.



Цель и задачи исследования. Целью настоящего исследования явилось определение возможности повышения эффективности стартовых кормов для личинок сиговых за счет сбалансированности жирно-кислотного состава и изучение путей удовлетворения потребностей личинок в незаменимых жирных кислотах.

Для этого было необходимо решить ряд задач:

1. Изучить жирно-кислотный состав кормовых беспозвоночных и его связи с другими компонентами.
2. Определить жирно-кислотный состав искусственных кормов и кормовых компонентов для оценки их возможного вклада в формирование жирно-кислотного пула.
3. Исследовать жирно-кислотный состав липидов личинок с нерасщепляемым желточным мешком как возможный образец жирно-кислотного состава кормов.
4. Проанализировать воздействие жирно-кислотного состава кормов с различными жировыми добавками на рост и жирно-кислотный состав личинок сиговых.

Научная новизна и теоретическое значение. Впервые проведено исследование жирно-кислотного состава липидов личинок сиговых рыб, изучена динамика его изменений в общих, полярных и неполярных липидах при подращивании личинок на живых и искусственных кормах с добавлением различных жиров и масел и при их голодании. Исследован жирно-кислотный состав многих искусственных кормов, кормовых компонентов, total'ного зоопланктона. Впервые изучены изменения общего биохимического и жирно-кислотного состава личинок при переходе на экзогенное питание и объяснены возможные причины более низкого темпа роста при выращивании на искусственных стартовых кормах. Теоретическая значимость работы заключается в обосновании оптимального соотношения и содержания незаменимых жирных кислот в стартовых кормах для личинок сиговых,

что имеет большое значение для направленного выбора путей повышения эффективности искусственных кормов, разработки заменителей рыбной муки, для понимания особенностей потребности рыб в веществе и энергии на ранних этапах посембриогенеза.

Практическое значение. В результате исследований рекомендован допустимый уровень введения различных жиров в стартовые корма, отвечающий потребностям личинок сиговых в незаменимых жирных кислотах. Правильность полученных выводов была подтверждена при производственной проверке эффективности использования карпового корма Эквило I с добавлением 1,5% подсолнечных фосфатидов для подращивания личинок пеляди в Свердловском рыбокомбинате. Использование предложенной жировой добавки ускоряет рост личинок, позволяет сэкономить 30% корма по сравнению с кормлением чистым Эквило I и дает возможность расширить производство подрашенных личинок до начала промышленного выпуска стартовых кормов для сиговых.

Апробация. Основные материалы диссертации доложены на III Поволжской конференции молодых ученых ВГБО (Казань, 1983), научно-практической конференции по изучению водосемов Урала (Пермь, 1984), IX конференции молодых ученых ГосНИОРХ (Ленинград, 1984), XI Все-союзной конференции по экологической физиологии и биохимии рыб (Вильнюс, 1985), У съезде ВГБО (Тольятти, 1986), научных семинарах лаборатории физиологии и кормления рыб ГосНИОРХ (Ленинград, 1982-86 гг.).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ и 2 находятся в печати.

Объем работы. Диссертация изложена на 175 машинописных страницах, состоит из введения, 7 глав, выводов, практических рекомендаций, иллюстрирована 8 рисунками и 38 таблицами. Список литературы включает 181 название, из них 94 иностранных

авторов.

Глава I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Разработка искусственных стартовых кормов и биотехники подрацивания личинок сиговых рыб ведется в нашей стране более 10 лет (Канильев, Люкина, 1975; Люкина, 1975; Люкина, 1976; Канильев Люкина, 1977, Канильев, Гамыгин, 1982; Князева, Богданова, 1983; Раденко и др., 1983; Князева, Богданова, 1984; Князева, Остроумова, 1984; Князева, 1985; Раденко, Терентьев, 1985 и др.). Хотя в ряде случаев рост личинок на искусственных кормах уступает результатам выращивания на живых кормах, морфо-физиологические характеристики молоди, получавшей искусственные корма, находятся в пределах нормы. Это подтверждает принципиальную возможность подрацивания личинок сиговых без применения живых кормов.

Вопрос о потребностях личинок сиговых в пищевых липидах специально не изучался. Считалось, что они соответствуют потребностям форели (Люкина, 1975) или несколько ниже (Канильев, Гамыгин, 1982) и составляют 5,8–9,5% рациона. Потребности сиговых и их личинок в незаменимых жирных кислотах не определялись.

Состояние вопроса о роли липидов и жирных кислот в организме рыб широко освещено в многочисленных обзорах и монографиях (Шульман, 1972; Castell, 1979; Крепс, 1979; Watanabe, 1982; Сидоров и др., 1977; Коул, Сарджент, 1983; Сидоров, 1983; Сорвачев, 1982; Dabrowski, 1984 и др.).

Липиды рациона рыб служат источником как метаболической энергии, так и полиненасыщенных незаменимых жирных кислот, используемых в качестве структурных элементов и необходимых для функционирования биомембран. В энергетическом отношении незаменимые и заменимые жирные кислоты равноценны для рыб (Коул, Сарджент, 1983). Липиды очень хорошо усваиваются рыбами. В диапазоне

содержания липидов в корме 9,3+45% перевариваемость отдельных жирных кислот практически одинакова и составляет 95–100% (Ellis, Smith, 1984). Рекомендуемое содержание жира в корме варьирует от 3–5% до 45%, что связано с недостатком знаний о взаимодействии и физиологической ценности отдельных жирных кислот. Покрытие энергетических потребностей за счет жира позволяет максимально использовать белок на рост. Преимущества и роль жира как источника энергии подробно рассмотрены в работе Г.Е. Шульмана (Шульман, 1972). Относительно возможности селективной утилизации отдельных жирных кислот в литературе имеются диаметрально противоположные мнения (Takeushi, Watanabe, 1982; Ando et al., 1985). Жирнокислотный состав кормов может оказывать существенное влияние на рост и физиологическое состояние рыб, при этом особое значение имеет количество и соотношение незаменимых жирных кислот $\omega 3$ и $\omega 6$ семейств. Данные по питанию свидетельствуют о специфической потребности большинства холодолюбивых рыб в незаменимых $\omega 3$ кислотах. Выполненные в последние годы исследования объясняют это явление с точки зрения теории текучести биомембран (Sellner, Hazel, 1982; Beray et al., 1984; Farkas, 1984; Christiansen, 1984). При недостатке незаменимых жирных кислот у рыб отмечаются тяжелые патологические изменения: миопатия сердца, ожирение и дегенерация печени, прекращение роста, эрозия плавников, хрупкость митохондрий, которые снимаются при добавлении в корм 1% линоленовой кислоты для форели и по 1% линолевой и линоленовой кислоты для карпа. Добавка линолевой кислоты вместе с линоленовой вызывает замедление роста форели. Эксперименты по определению потребностей карпа и форели в незаменимых жирных кислотах проводились с использованием казеиново-желатиновых диет и чистых эфиров жирных кислот при фиксированном уровне потребления корма. В связи с этим их результаты имеют, главным образом, теоретическое значение, поскольку при

составлении или усовершенствовании практических рационов необходимо учитывать возможность антагонистических отношений отдельных жирных кислот и взаимодействие жирных кислот с другими компонентами корма.

Глава II. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом для настоящей работы послужили результаты лабораторных экспериментов по подрациванию личинок чира и муксуга (*Coregonus nasus*, *C. tukisui*) в ЦЭС Ропши, производственной проверки эффективности корма Эквило I с добавлением 1,5% фосфатидов при подрацивании пеляди (*C. peled*) в Таватуйском цехе Свердловского рыбокомбината, полевых сборов зоопланктона и зообентоса на водоемах Пермской области, лабораторного анализа жирнокислотного состава липидов кормов, личинок рыб, кормовых компонентов, кормовых жиров, кормовых беспозвоночных.

Всего проведено 97 экспериментов по подрациванию, в которых использовано 1,04 млн.шт. личинок чира, муксуга и пеляди. Проведен газохроматографический анализ жирнокислотного состава 3500 проб личинок рыб, искусственных и естественных кормов, кормовых компонентов.

В экспериментах по подрациванию сиговых на искусственных кормах с различным жирнокислотным составом были использованы суточные личинки чира, муксуга и пеляди, вставшие на плав. Выдергивание проходило при температуре 1-2°, после чего в течение суток температура повышалась до 11-13°. Начальная плотность посадки составляла 195-234 г/м³ при проточности 1 л/с·м³. Конечная нагрузка по ихтиомассе достигала 1000-1200 г/м³. Содержание кислорода при 11-13° было не ниже 100% насыщения. Помещение круглосуточно освещалось люминесцентными лампами.

Кормление личинок проводили один раз в час с 8 до 22 часов.

Суточный рацион задавали из расчета 20% биомассы. Величину рациона корректировали через три дня по данным контрольных обловов и с учетом отхода. В 1982-83 гг. использовали корм, содержащий 42,7% белка, 8,5% жира, 12% золы, 24,6% БЭВ, 1,6% клетчатки и 10,6% влаги (Князева, Богданова, 1983), в 1984 г. применяли карповый корм Эквило I (Остроумова, Турецкий, 1981).

Жировые добавки в корма вводили после гранулирования и дробления в виде раствора в хлороформе. Известное количество жира растворяли в хлороформе и смешивали с нужным количеством корма, после чего хлороформ испаряли под тягой в течение 4-6 часов. Метод позволяет равномерно распределять небольшие количества жира в корме. Расход растворителя 50-100 мл/кг корма.

Экстракцию липидов проводили смесью хлороформ:метанол 2:1 (Folch et al., 1957). Сравнительный анализ полноты экстракции другими растворителями - хлороформ:этанол 2:1; хлороформ:изопропанол 2:1; хлороформ - показал, что экстракция иными бинарными растворителями занижает содержание общих липидов и, особенно, фосфолипидов на 25-30%, хлороформ экстрагирует около 50% липидов. Мы считаем, что при работе с объектами малой жирности замена метанола на другие растворители недопустима.

Разделение липидов на фракции проводили в тонком слое силикагеля на пластинках СИЛУФОЛ в системах петролейный эфир:дизтиловый эфир:уксусная кислота 90:10:1 или гексан:дизтиловый эфир:уксусная кислота 85:15:1 (Шаршунова и др., 1980).

Жирные кислоты анализировали в виде метиловых эфиров, которые получали одностадийным методом взаимодействия липидов с 2,0 н. раствором метилата натрия в абсолютном метаноле (Перкель и др., 1973). Анализ проводили на газожидкостном хроматографе ЦВЭТ 106 при следующих условиях разделения: детектор - пламенно-ионизационный с водородной горелкой; газ-носитель - азот, пропущенный для

очистки через молекулярное сите; скорость потока - 40-60 мл/мин при давлении 0,4-1,0 ат; колонка-стеклянная длиной 3 м и диаметром 3 мм; насадка-полиэтиленгликольдипината на целите-545; температура колонки и детектора - 184,5°; испарителя - 350°. Условия обеспечивали качественное разделение молекул с длиной цепи С₁₄-22.

Идентификацию жирных кислот проводили по графику зависимости логарифма удерживаемого объема от длины углеродной цепи. В качестве стандартов были использованы подсолнечное масло, горчичное масло и жир печени минтая с известным жирнокислотным составом. Площади пиков рассчитывали триангуляционным методом. Относительное содержание отдельных жирных кислот определялось методом внутреннего нормирования. В настоящей работе в сумму жирных кислот входят кислоты от С₁₄ до С₂₂ включительно.

Глава III. ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ КОРМОВЫХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ И ИСКУССТВЕННЫХ КОРМОВ ДЛЯ РЫБ

Кормовые беспозвоночные. Анализ жирнокислотного состава водных беспозвоночных показал, что наибольшее количество ω 3 кислот содержится в личинках зоопланктона, яич артемии, личинок насекомых и моллюсков - 2,2-5,3% сухого вещества, а ω 6 кислоты присутствуют в количестве 0,5-3,3%. Хирономиды и олигохеты содержат 0,3 и 0,8% ω 3 кислот и 3-6% ω 6 кислот. Кормовые беспозвоночные характеризуются высоким содержанием энергии в органическом веществе (17,5 кДж/г), до 40% которой обеспечивается за счет жира. Мойна, культивируемая на гидролизных дрожжах, содержит 0,2% ω 3 кислот. Таким образом, при переходе на экзогенное питание при потреблении естественного зоопланктона личинки рыб получают большое количество энергии при высоком уровне ω 3 кислот. Питание искусственно культивируемой мойной не может удовлетворить потреб-

ности личинок в ω 3 кислотах. Жирнокислотный состав зоопланктона можно принять в качестве образца для разработки стартовых кормов.

Искусственные корма и кормовые компоненты. По содержанию белка в органическом веществе искусственные корма близки к составу кормовых беспозвоночных. Основным различием является малое содержание жира при более высоком уровне углеводов. Жирнокислотный спектр искусственных кормов на 70-80% представлен насыщенными и мононенасыщенными жирными кислотами с доминированием 16:0 и 18:1 ω 9 жирных кислот. В корме Эквило I содержание олеиновой кислоты понижено за счет большого количества 17:1 кислоты (13,4%). Относительное содержание полиненасыщенных кислот в искусственных кормах составляет 21-31% от суммы жирных кислот или 1,8-2,3% от сухой массы корма. Максимальное количество полиенов обнаружено в корме Эквило I. Незаменимые жирные кислоты составляют около 70% от их суммы и на 75% представлены ω 6 кислотами. В большинстве кормов из незаменимых жирных кислот преобладают ω 6 кислоты, а ω 3 кислоты составляют менее 1% корма. Жирность искусственных кормов обычно 7-9%.

Из кормовых компонентов наибольший вклад в формирование жирнокислотного пула вносит рыбная мука и продукты микробиосинтеза. Содержание ω 3 кислот в рыбной муке составляет от 0,5 до 4% сухой массы в зависимости от жирности сырья. ББК на и-парафинах нефти содержат до 1,4% сухой массы линолевой кислоты и очень мало ω 3 кислот. Жирнокислотный пул БПГ крайне беден, ω 3 кислоты отсутствуют, но благодаря низкому содержанию ω 6 кислот он является более подходящим заменителем рыбной муки при дополнительном введении ω 3 кислот.

Жиры и масла. Наибольшее количество ω 3 кислот содержится в рыбных жирах (15-45%), линитоле (41,2%), соевом масле (10,8%). Перспективно применение этих жиров в качестве источников ω 3 Зак.Д-85р

кислот в сочетании с животными жирами, содержащими 3-4% незаменимых кислот, для повышения энергии корма. Ввиду большого содержания $\omega 6$ кислот в подсолнечных фосфатидах и подсолнечном масле (70%), их уровень в кормах должен быть ограничен.

Глава IV. ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЛИПИДОВ ЛИЧИНОК СИГОВЫХ ДО ПЕРЕХОДА НА ЭКЗОГЕННОЕ ПИТАНИЕ

Сравнительный анализ жирнокислотного состава личинок рыб.

Жирнокислотному составу липидов личинок различных видов и семейств до перехода на экзогенное питание свойственна большая вариабельность, которая в значительной мере определяется уровнем триглицеридов. Жирнокислотный состав липидов личинок в пределах вида довольно стабилен.

Для липидов личинок лососевых, в том числе сиговых, свойственно преобладание $\omega 3$ жирных кислот в колицнах при соотношении $\omega 3/\omega 6$ кислот больше 1. В липидах личинок карповых рыб наблюдается обратное соотношение незаменимых жирных кислот. От количества $\omega 3$ жирных кислот в липидах желточного мешка во многом будет зависеть успех выращивания личинок.

Изменения жирнокислотного состава в процессе голодаания. При голодаании личинок чира в течение 28 суток после выклева при 5-6°C, их сырья масса сначала возрастает, а затем снижается на 12,8%. Увеличение сырой массы происходит за счет гидратации, при этом потери сухого вещества составляют около 40%. Общие липиды расходуются почти на 60%, количество фосфолипидов уменьшается на 47,8%, а неполярных липидов - на 67,9%. Энергетические потребности на 66% покрываются за счет липидов..

На 28 сутки голодаания личинки истощены, наблюдаются конвульсивные движения. Большая часть $\omega 3$ кислот сосредоточена в фосфолипидах, и их количество близко к исходному. Декозагексаеновая

$22:6 \omega 3$ кислота составляет 56,5% $\omega 3$ кислот общих липидов и почти 70% фосфолипидов.

Обращает на себя внимание стабильность содержания $20:5 \omega 3$, $22:5 \omega 3$ и $22:6 \omega 3$ кислот, сумма которых почти не изменяется. Другие $\omega 3$ кислоты являются материалом для их синтеза. За 28 суток израсходовано 20,4% $\omega 3$ кислот и 52% $\omega 6$ кислот. Количество $22:6 \omega 3$ увеличилось за счет синтеза из $18:3 \omega 3$ и $20:4 \omega 3$, содержание которых уменьшилось на 80%.

Опыты с голодающими личинками позволили без применения радиоактивных меток экспериментально показать, что жирные кислоты фосфолипидов могут синтезироваться из неполярных липидов и наоборот. Из этого следует, что форма жира, вводимого в корм, не имеет значения, если одновременно вводится материал для синтеза фосфолипидов. Эксперименты выявили наличие селективности утилизации жирных кислот и преимущественное значение для жизнедеятельности сиговых $\omega 3$ кислот, которые даже в экстремальных условиях голодаания расходуются очень экономно. Установлено, что у личинок чира происходит активная элонгация и десатурация короткоцепочных незаменимых жирных кислот до C_{20} и C_{22} . Следовательно, в искусственные корма для сиговых можно вводить незаменимые жирные кислоты с любой длиной цепи.

Глава V. РОСТ И БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЛИЧИНОК СИГОВЫХ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ НА ИСКУССТВЕННЫХ КОРМАХ С РАЗЛИЧНЫМ ЖИРОВЫМ СОСТАВОМ

Подкормивание чира и муксуна на кормах с различными жировыми добавками. Личинок чира массой 8,0 \pm 0,34 мг подкормывали в проточных бассейнах при плотности посадки 25 тыс.шт./м³, расходе воды 1 л/с·м³ и температуре 11,7°(10,2+13,2). За 22 суток личинки достигли следующих навесок в зависимости от жировых добавок: без добавок - 21,1 \pm 2,1 мг; 5% ветеринарного жира - 24,4 \pm 1,5 мг; 5% рыбьего жира - 26,6 \pm 2,6 мг; 5% соевого масла - 26,3 \pm 2,1 мг; 5%

подсолнечных фосфатидов - $26,7 \pm 1,5$ мг; 5% линитола- $25,3 \pm 1,1$ мг; 5% смеси соевого масла и рыбьего жира- $25,3 \pm 2,5$ мг; 10% смеси рыбьего жира и фосфатидов $23,4 \pm 1,7$ мг; контроль, питавшийся моиной,- $51,6 \pm 2,8$. За исключением варианта с питанием моиной различия по массе молоди не достоверны.

Личинок муксуна массой $6,93 \pm 0,3$ мг выращивали в тех же условиях в течение 21 суток при температуре $I2,6^{\circ}$. В конце опыта личинки достигали массы: контроль (моина)- $28,4 \pm 2,1^a$; 10% фосфатидов- $23,7 \pm 1,9^{a,b}$; 5% фосфатидов- $22,6 \pm 1,6^{a,b}$; 10% рыбьего жира- $17,3 \pm 1,8^b$; 10% соевого масла - $17,6 \pm 1,7^b$; 10% рыбьего жира с фосфатидами - $19,1 \pm 1,4^b$; 5% линитола - $18,0 \pm 1,6^b$; 5% рыбьего жира - $18,3 \pm 1,3^b$ (варианты с одинаковыми буквенными индексами достоверно не различаются). Опытных личинок чира и муксуна кормили стартовым кормом I3-82(Князева, Богданова, 1983). Приведя темп роста личинок чира и муксуна к температуре $II,3^{\circ}$, мы установили, что введение в корм 10% высоконенасыщенного жира по сравнению с 5% добавками не дает преимуществ в росте личинок. В отдельных случаях рост оказывается хуже, чем при отсутствии добавок. Судя по изменению жирнокислотного состава, можно предположить, что даже 5% добавка высоконенасыщенных жиров для данного корма является избыточной. Перераспределение относительного и абсолютного содержания незаменимых жирных кислот в липидах личинок указывает на то, что рост личинок происходит в основном за счет использования ресурсов $\omega 3$ жирного мешка, а поступающие с пищей $\omega 3$ кислоты накапливаются в триглицеридах без изменений.

Влияние различных уровней фосфатидов в корме на рост и жирнокислотный состав липидов личинок чира. Суточных личинок чира массой $9,0 \pm 0,18$ г подращивали при температуре $I2^{\circ}$ на корме I3-82 с добавлением 3,5, 10 и 15% фосфатидов. Через 30 суток масса личинок составила: контроль(моина) - $66,5 \pm 3,7^a$ мг; 3% - $43,1 \pm 2,1^B$ мг;

5% - $33,4 \pm 2,3^C$ мг; 10% - $32,5 \pm 2,8^C$ мг; 15% - $31,3 \pm 2,4^C$ мг(варианты с одинаковыми буквенными индексами достоверно не различаются).

Через 30 суток количество жира в варианте с моиной увеличивается почти в 3 раза, повышается количество $\omega 6$ кислот, а содержание $\omega 3$ кислот падает ниже исходного. При этом возрастает уровень $22:6 \omega 3$. В варианте с 3% фосфатидов также увеличивается содержание докозагексаеновой кислоты при некотором снижении $\omega 3$. Дальнейшее увеличение количества фосфатидов в корме ведет к уменьшению количества как суммы $\omega 3$ кислот, так и докозагексаеновой кислоты ниже исходного уровня. Во всех вариантах, особенно при кормлении моиной и при добавлении 15% фосфатидов, значительно увеличивается содержание эйкозатриеновой $20:3 \omega 9$ кислоты.

Выращивание личинок чира и пеляди на корме Эквиzo I с жирными добавками. Личинок чира массой $7,82 \pm 0,18$ мг подращивали при плотности посадки 30 тыс.шт./ m^3 при температуре $II,3^{\circ}$. За 31 сутки получены следующие навески в зависимости от жировой добавки: без добавки - $21,8 \pm 1,5^a$ мг; 0,5% фосфатидов - $21,9 \pm 1,6^a$ мг; 2,5% подсолнечного масла - $29,3 \pm 2,7^b$; 2,5% рыбьего жира с фосфатидами - $31,9 \pm 3,0^b$; 2,5% фосфатидов - $32,8 \pm 3,0^b$ мг; 1,5% фосфатидов - $44,3 \pm 1,8^c$; контроль (моина)- $40,3 \pm 2,5^b$,^Г(значения с одинаковыми буквенными индексами достоверно не различаются). С увеличением темпа роста повышалась выживаемость и снижалась вариабельность массы. С момента перехода на экзогенное питание сырая масса личинок неуклонно возрастает, а содержание сухого вещества, особенно липидов, уменьшается во всех вариантах. Убыль сухого вещества продолжается до 10-12 суток. Затем происходит накопление сухого вещества, но его скорость определяется величиной потерь. Фракционный анализ липидов личинок показал, что во всех случаях, кроме вариантов подкормки без жира и с 0,5% жира, происходит накопление $\omega 3$ кислот и увеличение количества докозагексаеновой кислоты в общих

липидах, но только в варианте с 1,5% фосфатидов происходит накопление $\omega 3$ и 22:6 $\omega 3$ в фосфолипидах и триглицеридах. В других вариантах с добавлением 2,5% жира $\omega 3$ кислоты накапливаются в триглицеридах, но не включаются в фосфолипиды. Увеличение содержания 22:6 $\omega 3$ фосфолипидов происходит за счет десатурации и алонгации короткоцепочных $\omega 3$ кислот фосфолипидов. В вариантах без жира и с 0,5% жира исчерпаны все ресурсы $\omega 3$ кислот, 22:6

$\omega 3$ осталась только в фосфолипидах, там же накапливается 20:3 $\omega 9$ кислота, что указывает на явный недостаток $\omega 3$ кислот.

На основании экспериментальных данных в Свердловском рыбокомбинате была проведена производственная проверка эффективности использования корма Эквиго I с добавлением 1,5% фосфатидов при подращивании пеляди. Личинки пеляди массой 3,5 мг выращивались в Ейских лотках при плотности посадки 100 тыс. шт./м³, проточности 0,5 л/с·м³ и температуре 11,3⁰(6+13⁰). Контрольных личинок кормили чистым Эквиго I. Выживаемость в опыте и контроле составила 98 и 92,5% соответственно. За 24 суток опытные личинки достигли массы 23,1[±]0,7 мг(19,2[±]41,5 мг), контрольные - 18,04[±]0,7 мг(16,6[±]24,7). Различия достоверны. Затраты корма в опытном варианте на 30% ниже. Как и при выращивании чира, в начальный период подращивания пеляди наблюдалось значительное понижение содержания сухого вещества и липидов. Корм с добавлением 1,5% фосфатидов обеспечил быстрое восстановление запасов $\omega 3$ кислот.

Глава VI. ОБОСНОВАНИЕ ПОТРЕБНОСТЕЙ ХОЛОДОЛЮБИВЫХ РЫБ В НЕЗАМЕНИМЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТАХ ДЛЯ ОПТИМАЛЬНОГО РОСТА

Возможно несколько путей определения потребностей рыб в незаменимых жирных кислотах. Один из них - подбор оптимального содержания кислоты в корме, дающего определенный физиологический эффект. Такой подход использован при определении потребности форели в

$\omega 3$ кислотах в количестве 1% от сухой массы корма. Однако фиксированная величина 1% относится не к потребностям рыбы, а к определенному виду корма и не связана с остальными компонентами корма. Другой путь заключается в изучении биохимического состава рыб и определении необходимого количества незаменимых жирных кислот на единицу прироста.

При неизменных абстических условиях биохимический состав прирастающей биомассы рыбы должен соответствовать исходному или оптимальному. Для получения единицы прироста биомассы заданной жирности рыба должна потребить определенное количество липидов с достаточным содержанием незаменимых жирных кислот и с учетом использования некоторой части липидов в процессах метаболизма. Количество жирных кислот в корме обратно пропорционально кормовому коэффициенту, то есть для получения единицы прироста требуется ввести определенное количество жира, не зависящее от величины суточного рациона. На основании собственных и литературных данных оценены необходимые параметры для потребностей в $\omega 3$ кислотах и получены выражения:

$$0,067f + 0,412 \leq \omega 3 \leq 0,255f + 1,562 \text{ г/кг прироста}$$

$$\text{при } 0,33 \leq \omega 3/\omega 6 \leq 19,5,$$

где f - жирность рыбы, г/кг.

Сределив потребность на единицу прироста, можно оценить величину кормового коэффициента для корма с заданным содержанием незаменимых жирных кислот или наоборот по величине кормового коэффициента определить необходимое содержание жирных кислот в корме. Приводимые рассуждения относятся к растущей неполовозрелой рыбе при температуре воды ниже 20⁰.

Глава VII. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В сериях экспериментов с различными жировыми добавками в стартовые корма для личинок чира, муксуна и пеляди прослеживается

тенденция к замедлению роста как в случае снижения количества $\omega 3$ кислот и энергии корма при величине $\omega 3 + \omega 6$ меньше 4%, так и при повышении количества $\omega 3$ и энергии корма при одновременном увеличении суммы незаменимых жирных кислот выше 4% от сухой массы корма.

В первом случае скорость расходования $\omega 3$ кислот превышает скорость поступления и значительная их часть используется на энергетические нужды. При этом, как при голодании личинок, происходит перераспределение $\omega 3$ кислот в триглицеридах и фосфолипидах. Сначала наблюдается увеличение содержания докозагексаеновой 22:6 $\omega 3$ кислоты фосфолипидов за счет синтеза из короткоцепочных $\omega 3$ кислот триглицеридов. Затем необходимый уровень 22:6 $\omega 3$ поддерживается за счет синтеза из $\omega 3$ кислот фосфолипидов. После истощения запасов $\omega 3$ в триглицеридах наблюдается накопление эйкозатриеновой 20:3 $\omega 9$ кислоты в фосфолипидах, что является признаком недостатка $\omega 3$ кислот. Предположение о возможности подобного пути поддержания уровня 22:6 $\omega 3$ было высказано Т.Фаркашем с сотрудниками (*Farkas et al.*, 1977) в результате экспериментов с молодью карпа. Жирность стартового корма 8-9% при низком содержании $\omega 3$ кислот для личинок сиговых явно недостаточна.

Замедление темпа роста при увеличении содержания суммы незаменимых жирных кислот в корме, возможно, обусловлено необходимостью дополнительного введения витамина Е при повышении количества незаменимых жирных кислот (*Watanabe et al.*, 1981 а,в) или превышением в 4 раза потребностей в незаменимых жирных кислотах (*Watanabe*, 1982). При этом происходит значительное накопление $\omega 3$ кислот в триглицеридах, но блокируется их включение в фосфолипиды. Поддержание необходимого уровня 22:6 $\omega 3$ обеспечивается за счет синтеза из короткоцепочных $\omega 3$ кислот фосфолипидов, а после их истощения начинается накопление 20:3 $\omega 9$, то есть синдром не-

достаточности $\omega 3$ кислот может наблюдаться при высоком уровне $\omega 3$ в триглицеридах. По нашим данным оптимальное содержание суммы незаменимых жирных кислот в исследованных кормах составляет 2-3,5% от сухой массы корма. В связи с этим необходимо ограничивать введение в корма жиров с высоким содержанием незаменимых жирных кислот, чтобы не превысить допустимого уровня.

Таким образом, накопление $\omega 3$ кислот в общих липидах не является показателем обеспеченности рыб незаменимыми жирными кислотами, если не происходит накопления $\omega 3$ в фосфолипидах. Для включения $\omega 3$ кислот в фосфолипиды они должны быть обеспечены достаточной энергией жира, особенно при низком содержании $\omega 3$ в корме. Известно (*Yu, Sinnhuber*, 1976), что $\omega 6$ кислоты блокируют синтез $\omega 3$ кислот, поэтому увеличение жирности корма за счет $\omega 6$ содержащих липидов препятствует включению $\omega 3$ кислот в фосфолипиды. Возможно, что именно с обеспеченностью малого количества $\omega 3$ кислот энергией липидов, содержащих незначительное количество $\omega 6$ кислот, связан лучший рост форели при введении в корм свиного жира (*Yu et al.*, 1977; Сергеева, 1984а, б). Темп роста личинок сиговых связан с поддержанием необходимого уровня $\omega 3$ кислот в фосфолипидах. Возможна, также, функциональная связь между количеством $\omega 3$ кислот фосфолипидов личинок относительно белка и темпом роста. Этот показатель может служить диагностическим признаком обеспеченности личинок $\omega 3$ кислотами.

Эксперименты показали, что минимальные потребности личинок в $\omega 3$ кислотах обеспечивались при содержании последних в корме в количестве 0,6-0,8%. Это подтверждает наше предположение, основанное на анализе состава беспозвоночных, что потребности в $\omega 3$ кислотах связаны с потребностью в белке и $\omega 3$ кислоты должны составлять не менее 2% от белка корма. Отсюда следует, что количество $\omega 3$ кислот корма может являться лимитирующим фактором, определяющим темп роста личинок.

ляющим ретенцию белка.

При переходе на экзогенное питание происходит перестройка организма личинок сиговых, требующая большого количества энергии (Рыжков, 1976; Озерник, 1985). В течение 10–12 суток наблюдается убыль сухого вещества при повышении сырой массы личинок. В этот период кормление с интервалом 1–2 часа не обеспечивает поступления достаточного количества энергии и в энергетический обмен вовлекается до 50% липидов личинок, включая $\omega 3$ кислоты. В естественных условиях при переходе на экзогенное питание личинки потребляют зоопланктон с высоким (более 20% сухой массы) содержанием жира и $\omega 3$ кислот. Известно (Kouril, 1981; Стрельбицкий, 1985), что однократная подкормка личинок карпа при переходе на экзогенное питание науплиями артемии дает положительный ростовой эффект. Возможность обеспечения энергетических потребностей в этот период и скорость компенсации потерь вещества, в том числе $\omega 3$ кислот, будет определяться дальнейший темп роста личинок. При использовании корма Эквиго I компромиссное сочетание между соотношением $\omega 3$ и $\omega 6$ кислот при низком уровне $\omega 3$ кислот, необходимостью повышения энергии корма и потребностью личинок в фосфолипидах найдено при введении 1,5% фосфатидов, что обеспечило быстрое восстановление потерь $\omega 3$ кислот и ускоренный темп роста.

ВЫВОДЫ

1. Резерв повышения эффективности искусственных стартовых кормов для сиговых лежит в увеличении энергии корма за счет липидов при условии обеспечения допустимого уровня и соотношения незаменимых жирных кислот.

2. Для водных беспозвоночных в естественных условиях характерно содержание большого количества энергии, до 40% которой обеспечивается липидами, а так же преобладание $\omega 3$ кислот в незаменимых жирных кислотах. Жирнокислотный состав моины, культивируемой на

гидролизных дрожжах, не адекватен потребностям личинок сиговых. Для разработки искусственных стартовых кормов в качестве образца можно принять жирнокислотный состав естественного зоопланктона.

3. В липидах большинства компонентов искусственных кормов преобладают $\omega 6$ кислоты. Для совершенствования стартовых кормов для сиговых необходимо использовать компоненты с повышенным содержанием $\omega 3$ кислот либо с минимальным содержанием незаменимых кислот в сочетании с рыбьим жиром, соевым маслом или соевыми фосфатидами, линитолом в качестве источников $\omega 3$ кислот и животными жирами в качестве источников энергии.

4. При переходе личинок на экзогенное питание наблюдается повышенный расход энергии. Возможность получения в этот период достаточного количества энергии и скорость компенсации потерь $\omega 3$ кислот определяют темп роста личинок в дальнейшем.

5. В жирных кислотах липидов желточного мешка личинок сиговых, как и в липидах зоопланктона, преобладают $\omega 3$ кислоты. В условиях длительного голодаания личинок сиговых наблюдается селективная утилизация незаменимых жирных кислот и преимущественное сохранение $\omega 3$ кислот фосфолипидов. Это указывает на специфическую потребность личинок сиговых в жирных кислотах данного семейства.

6. Как недостаток, так и избыток незаменимых жирных кислот в корме замедляет рост личинок сиговых. При недостатке незаменимых кислот наблюдается снижение их содержания сначала в триглицеридах, затем в фосфолипидах. Избыток незаменимых жирных кислот, особенно при высоком содержании $\omega 6$, ведет к накоплению $\omega 3$ кислот в триглицеридах, блокирует синтез длинноцепочных $\omega 3$ кислот и их включение в фосфолипиды.

7. При избытке незаменимых жирных кислот повышение энергии корма за счет жира не дает эффекта. Личинки, получавшие корм с добавлением 5 и 10% фосфатидов, рыбьего жира, соевого масла при со-

длении незаменимых жирных кислот более 4% от массы корма, имели одинаковый темп роста.

8. Темп роста личинок сиговых связан с накоплением и поддержанием необходимого уровня ω_3 кислот в фосфолипидах личинок. Величина отношения между содержанием ω_3 кислот фосфолипидов личинок и количеством белка может служить диагностическим признаком обеспеченности ω_3 жирными кислотами.

9. Для повышения эффективности выращивания личинок сиговых стартовые корма должны одновременно содержать:

- 2,5 - 3,0% (не более 4%) от сухой массы рациона незаменимых жирных кислот при максимальной величине отношения ω_3/ω_6
- ω_3 кислоты в количестве не менее 2% относительно белка
- 20-30% энергии за счет жира.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для подращивания личинок сиговых можно использовать стартовый карповый корм Эквиго I с добавлением 1,5-2% подсолнечных фосфатидов, введение которых снижает затраты корма на 30%.

2. При кормлении личинок искусственно культивируемой моной в корм для мони рекомендуем добавлять 6-7% рыбьего жира или 2-3% линетола. Подкормку моной проводить в течение 5-8 дней с последующим переходом на смешанное кормление и кормление искусственным кормом.

3. Для поддержания желательного уровня незаменимых жирных кислот и повышения энергии корма Эквиго I рекомендуем не превышать следующее количество жировых добавок (% от сухой массы корма): фосфатиды подсолнечные - 3,0-3,5; подсолнечное масло - 2,3-2,7; горчичное масло - 6,6-7,5; рыбные жиры - 6,0-6,8; соевое масло - 2,5-2,8; жир говяжий кормовой - 23,0-26,0.

4. Для расчета потребностей рыб в ω_3 кислотах и определения возможности их удовлетворения можно использовать формулу (г/кг прироста):

21

$$0,067f + 0,412 \leq \omega_3 \leq 0,255f + 1,562, \text{ г/кг, при}$$

$$0,33 \leq \omega_3/\omega_6 \leq 19,5, \text{ где } f - \text{жирность рыб, г/кг.}$$

Разделив полученные числа на величину содержания ω_3 в корме, найдем значения кормового коэффициента, при которых удовлетворяются потребности рыб.

5. В качестве ориентировочного показателя обеспеченности личинок сиговых ω_3 жирными кислотами можно принять следующие величины отношений для жирных кислот фосфолипидов личинок:

$$\omega_3/\text{белок} > 1\%; 22:6 \omega_3/\text{белок} > 0,6\%.$$

По материалам диссертации опубликованы следующие работы:

1. Головачев С.А. Жирнокислотный состав личинок, выращенных на кормах с различными жировыми добавками // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. - 1983. - Вып. 194. - С. 103-106.

2. Головачев С.А. Влияние качественного состава липидов на рост и жирнокислотный состав липидов чира // Проблемы охраны вод и рыбных ресурсов: Тез. докл. З Поволжской конф. - Казань, 1983. - С. 31-33.

3. Головачев С.А. Нормирование содержания полиненасыщенных жирных кислот в искусственных кормах // Биология водоемов Западно-Урала. - Пермь: Перм. гос. ун-т, 1985. - С. 158-167.

4. Головачев С.А. Зависимость темпа роста молоди сиговых от соотношения полиненасыщенных жирных кислот, энергии и содержания витамина Е в рационе // Тез. докл. 6 всесоюзн. конф. по экол. физиологии и биохимии рыб. - Вильнюс: Ин-т зоологии и паразитологии АН ЛитССР, 1985. - С. 467-468.

5. Головачев С.А. Биохимический состав кормовых беспозвоночных и резервы повышения эффективности искусственных кормов // Тез. докл. 5 съезда Всесоюз. гидробиол. общества. - Куйбышев, 1986. - Ч. I. - С. 135-137.

6. Головачев С.А. Изменение жирнокислотного состава липидов личинок чира в процессе голодания и питания // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. - 1986. - Вып. 246. - С. 99-108.