

ПРОВ 2010

ПРОВ 98

Академия наук Украины

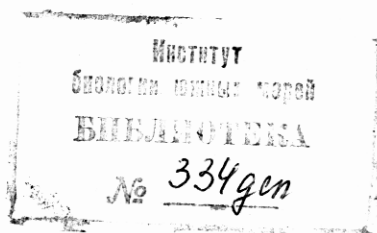
Редколлегия "Гидробиологического журнала"

№ 1397-B96

УДК 597.587.9:591, 3:577.1(262.5)

А.Я. Столбов, Е.Н. Ставицкая, Ю.Е. Битюкова, Н.К. Ткаченко

Интенсивность потребления кислорода и экскреции азота
у черноморской камбалы-калкана *Psetta maotica* (Pallas)
на разных стадиях личиночного развития.



Киев - 1996

Исследование энергетического обмена ранних стадий развития рыб в условиях лабораторного культивирования имеет важное значение для оценки общего состояния выращиваемых организмов, особенностей использования энергетических субстратов, способности к нормальному росту и развитию.

Детально рассмотрены вопросы энергетики раннего онтогенеза рыб в монографической работе Н.Д. Озернюком (1985). В то же время некоторые особенности использования в обмене энергетических субстратов, в частности белка, у рыб при их культивировании в период личиночного развития изучены мало.

В связи с этим задача настоящей работы заключалась в определении интенсивности потребления кислорода, экскреции азота и установлении соотношения $O:N$ у личинок камбалы-калкана на разных стадиях их развития при лабораторном культивировании.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ.

Эксперименты проводили в лаборатории культивирования рыб и в отделе физиологии животных Института биологии южных морей АН Украины весной 1992 года.

Объектом исследований служили выращенные в лаборатории личинки камбалы-калкана от вылупления до 29-ти суточного возраста (I-УП-й этапы развития). Выращивание личинок проводили в бассейнах объемом 3 м^3 по разработанной ранее технологии (Чепурнов и др., 1985). В качестве стартового корма при переходе личинок на внешнее питание использовали коловраток (*Brachionus plicatilis*). На 9-10 сутки после вылупления личинок переводили на питание науплиями, а затем метанауплиями артемий.

Энергетические затраты на обмен у личинок оценивали по количеству потребленного кислорода. Интенсивность дыхания особей определяли манометрически в аппарате Варбурга по общепринятой методике (Умбрейт и др., 1951) в сосудах объемом 20 мл. Респирационные сосуды заполняли фильтрованной морской водой и, в зависимости от массы особи, в сосуд помещали от 1 до 40 штук личинок, которых отбирали каждые 2-3 дня из выростной емкости. Для каждой возрастной группы в опыте одновременно использовали 4-6 сосудов. После опытов личинок обсушивали фильтровальной бумагой, затем взвешивали на торсионных весах. Сырая масса личинок составляла 0,04-19,5 мг. Продолжительность опытов - 60 мин. Температура 18-19°C.

Использование белка в энергообмене личинок оценивали по экскреции азота. Содержание азота в пробах воды определяли по стандартной методике Сэджи-Солорзано (Методы гидрохимических исследований основных биогенных элементов, 1988). Для количественной оценки доли белка в энергетическом метаболизме применяли аммонийный коэффициент O:N , представляющий собой атомное соотношение потребленного кислорода к экскретируемому азоту. При этом учитывали, что на 1 г азота приходится 6,25 г белка, а на окисление 1 мг белка требуется 0,97 мл кислорода (Проссер, Браун, 1967). Потребление кислорода и выделение аммонийного азота выражали в мкг за 1 час на мг сырой массы тела.

Полученные данные обработаны статистически (Плохинский, 1961).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.

Развивающиеся личинки камбалы-калкана проходят этапы развития, которые характеризуются различным уровнем интенсивности ме-

таболизма. Изменение этого уровня обусловлено изменением соотношения роста и дифференцировки основных систем органов (Рыжков, 1976) и сменой типов питания (Lindroth , 1946).

Так, после выклева личинки слабо дифференцированы, мало активны и существуют в первые 3,5-4 сутки после вылупления (I и II-й этапы развития) за счет утилизации эндогенных запасов. У личинок более старших возрастов (3,5-7 суток, - III-й этап развития) наблюдается более быстрый рост и дифференцировка системы дыхания, мышечного аппарата, возрастает их локомоторная активность. В это время личинки переходят на внешнее питания, используя остатки запаса желточного мешка.

Последующие IV-VII-й этапы развития связаны с процессом метаморфоза, в течение которого окончательно формируются мышечная, дыхательная и пищеварительная системы, развивается асимметрия тела и происходит переход личинок от обитания в пелагиали в придонные горизонты. Наиболее существенные изменения в строении, поведении, физиологии личинок наблюдаются на VI-VII-м этапах их развития (16-30 сутки).

Динамика интенсивности потребления кислорода, экскреции азота и соотношение этих показателей у личинок камбалы-калкана после выклева и до оседания их на дно, представлены на рисунке.

Как видно из рисунка, указанные показатели связаны с особенностями этапного развития личинок.

Так, если после выклева интенсивность дыхания была $47,8 \pm 2,7$ $\text{мкг O}_2 \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{час}^{-1}$, то на этапе смешанного питания она достигала $90,6 \pm 14$ $\text{мкг O}_2 \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{час}^{-1}$ и значительно снижалась на 10-12 сутки (до $12,4 \pm 1,0$ $\text{мкг O}_2 \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{час}^{-1}$) при переходе на внешнее питание.

На более поздних этапах развития личинок уровень интенсивности дыхания сохраняется относительно устойчивым и по своим величинам находится ниже, чем на ранних стадиях развития.

На более позднем (УП) этапе развития у личинок формируется асимметрия тела, увеличивается его масса, изменяется активность в связи с переходом на придонное обитание. Интенсивность дыхания на 24-27 сутки несколько стабилизируется и находится в пределах $24,4-27,7 \text{ мкг } O_2 \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{час}^{-1}$, оставаясь ниже уровня обмена при выклеве.

Общий характер изменения интенсивности дыхания на ранних и поздних стадиях развития личинок камбалы-калкана согласуется с известными данными, полученными на разных видах рыб (Коржуев, 1941; Ивлев, 1954; Шамардина, 1954; Spoor, 1977).

Экскреция аммонийного азота у личинок камбалы-калкана, как показатель использования белка в общем энергообмене, на протяжении рассматриваемого периода имеет свои особенности. Так, экскреция азота у личинок от выклева и до перехода на внешнее питание изменялась незначительно и находилась в пределах $1,4-1,5 \text{ мкг} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{час}^{-1}$. Достоверные отличия наблюдались лишь на 14-15 сутки внешнего питания, когда экскреция азота возрастала более чем в 1,7 раза и на поздних стадиях развития личинок (УІ-УІІ-й этапы) снижалась до $0,7 \text{ мкг} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{час}^{-1}$. Увеличение экскреции азота на 14-15 сутки, вероятно, обуславливается особенностями развития личинок на этой стадии и условиями их культивирования. Для личинок - это период интенсивного органогенеза, сопровождающийся при выращивании переходом на преимущественное питание науплиями артемий. Такой переход, по данным (Khanaichenko et.al. ,

1993) часто приводит к повышенной смертности личинок на этой стадии развития. Причиной ее может быть не только интенсивный белковый катаболизм, но и несбалансированность жирнокислотного состава артемий, по сравнению с коловратками, при использовании их для кормления личинок.

Используя соотношение $O:N$, мы рассмотрели долю использования белка в общих энерготратах личинок во время развития. Известно, что при $O:N > 30$ основу энергетических субстратов окисления составляют преимущественно липиды¹⁾, а при $O:N < 20$, - ведущим энергетическим субстратом становится белок; если при этом соотношение будет больше 8,67, то окисление белка идет в аэробных условиях, а если меньше, то значительная часть белка катаболизируется анаэробно (Шульман и др., 1992).

Расчеты показали, что во время развития личинок на начальных этапах основным энергетическим субстратом окисления, очевидно, служат липиды и лишь на отдельных последующих этапах роста в энергообмен могут частично вовлекаться белковые субстраты. Так, на ранних этапах, вплоть до 12 суток развития соотношение $O:N$ изменялось от 36 до 73. Это указывало на преимущественное использование липидов в энергетическом обеспечении роста личинок, причем в этих условиях аэробное окисление белка было невысоким и составляло лишь 12-28 %.

В то же время, у личинок, взятых в опыт на 1У-У-м этапах развития (10-15 сутки), соотношение $O:N < 20$, что свидетельствовало о доминирующем использовании в энергетическом обмене эндо-

1). Роль углеводов (гликогена) у рыб, по-видимому, невелика.

генных белковых структур, более 90 % которых окисляется аэробно. Возможно, что такой интенсивный катаболизм тканевых белков может быть одной из причин истощения личинок и их последующей гибели. Так, в частности, исходя из соотношений $O:N$, Ikeda (1974) показал, что ювенильные особи океанических рыб при недостаточном питании используют в энергетике белковые субстраты собственного организма.

Что касается последующих УІ и УІІ этапов развития личинок, то судя по соотношению $O:N$ (< 30), — энергетический обмен опять осуществляется преимущественно за счет липидов.

Таким образом, эксперименты показали, что интенсивность потребления кислорода и экскреции азота личинками камбалы-калкана связана с этапами их развития и обусловлена особенностями формирования функциональных систем организма на каждом этапе.

Развивающиеся личинки в качестве энергетического источника на отдельных этапах (смешанное питание) своего развития используют не только липиды, но и эндогенные белковые субстраты.

Соотношение потребленного кислорода и экскретируемого аммонийного азота ($O:N$) может быть использовано в качестве индикатора, характеризующего физиологическое состояние и направленность метаболических процессов у личинок во время их роста.

Использование соотношения $O:N$ при лабораторном культивировании камбалы-калкана позволило установить направленность метаболических процессов (липидный, углеводно-липидный, белковый тип использования субстратов) и оценить физиологическое состояние отдельных этапов их личиночного развития.

Л и т е р а т у р а

1. Ивлев В.С. Зависимость интенсивности обмена у рыб от веса их тела // Физиол.журн., 1954, т. 40, № 6. - С. 717-721.
2. Коржуев П.А. Потребление кислорода икрой и мальками осетра (*Acipenser güldenstadtii*) и севрюги (*Acipenser stellatus*) // Изв. АН СССР. Сер.биол., 1941, № 2. - С. 291-302.
3. Методы гидрохимических исследований основных биогенных элементов. - М.: Изд-во ВНИРО, 1988. - 119 с.
4. Озернюк Н.Д. Энергетический обмен в раннем онтогенезе рыб. - М.: Наука, 1985. - 175 с.
5. Плохинский Н.А. Биометрия. - Новосибирск. - Изд-во АН СССР, 1961. - 364 с.
6. Проссер Л., Браун Ф. Сравнительная физиология животных. - М.: Мир, 1967. - 766 с.
7. Рыжков Л.П. Морфофизиологические закономерности и трансформация вещества и энергии в раннем онтогенезе пресноводных лососевых рыб. - Петрозаводск: Карелия, 1976. - 288 с.
8. Умбрейт В.В., Р.Х. Буррис и Дж.Ф. Штауффер. Манометрические методы изучения тканевого обмена. - М.: Изд-во Иностранной литературы, 1951. - 359 с.
9. Чепурнов А.В., Битюкова Ю.Е., Ткаченко Н.К. Выращивание личинок морских рыб в установках с замкнутой циркуляцией воды // Биологические основы аквакультуры в морях европейской части СССР. - М.: Наука, 1985. - С. 97-110.
10. Шамардина И.П. Изменение интенсивности дыхания рыб в течение их развития // Докл. АН СССР. - 1954. - 98, № 4. - С. 689-692

- II. Шульман Г.Е., Аболмасова Г.И., Столбов А.Я. Об использовании белка в энергетическом обмене эпипеллагических кальмаров рода *Sthenoteuthis* // Докл. АН СССР. - 1992. - 325, № 2. - С. 630-632.
12. Ikeda T. Nutritional ecology of marine zooplankton // Memoirs of the faculty of fisheries, Hokkaido University.- Vol. 22, n. 1, Hakodate, Japan, 1974.- 101 p.
13. Khanaichenko A., Yu. Bitukova, N. Tkachenko. Ways to improve turbot larvae rearing // From discovery to commercialization. Abstracts of contributions presented at the International Conference World Aquaculture'93 Torremolinos, Spain, May 26-28, 1993.- EAS Spec. publ., n. 19.- P. 399.
14. Lindroth A. Zur Biologie der Befruchtung und Entwicklung beim Hecht. Stockholm, 1946.
15. Spoor W.A. Oxygen requirements of embryos and larvae of the largemouth bass, *Micropterus salmoides* (Lacépède) // J. Fish. Biol., 1977.- Vol. 11, n. 2.- P. 77-86.

Институт биологии южных морей

НАН Украины, Севастополь

ПОТРЕБЛЕНИЕ O_2
мкг·мг⁻¹·час⁻¹

ЭКСКРЕЦИЯ АЗОТА
мкг·мг⁻¹·час⁻¹ (x10)

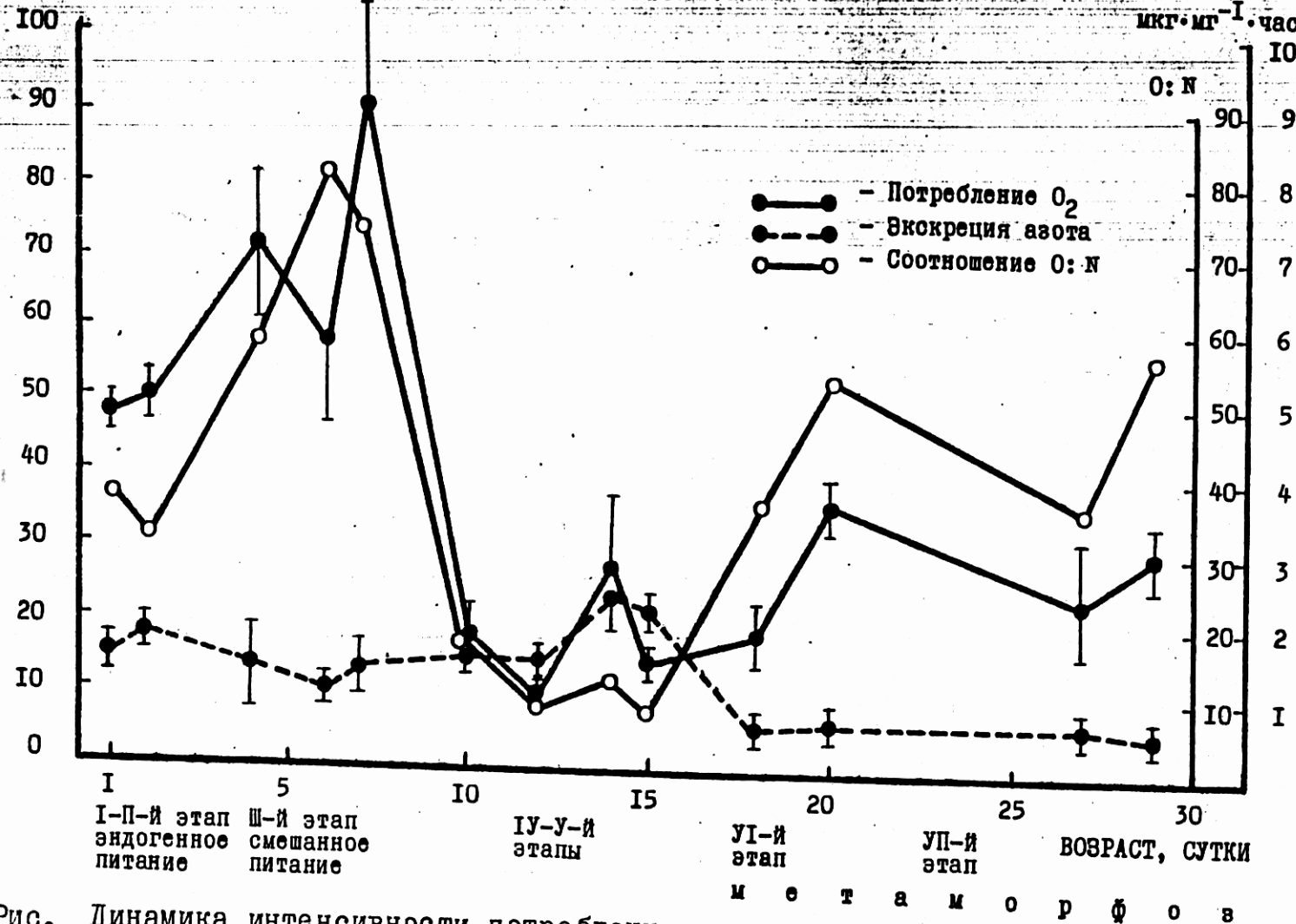


Рис. Динамика интенсивности потребления кислорода, экскреции азота и соотношении $O:N$ у личинок камбалы-калкана в процессе их индивидуального развития при температуре 18-19° С.

Печатается в соответствии с решением Редакционной коллегии
"Гидробиологического журнала" от 28 марта 1996 года.

