

РИБОВЪДСТВО**ЕКСПЕРИМЕНТИРАНЕ НА СПЕРМОПРОТЕКТИВНИ
СРЕДИ ЗА ИЗКУСТВЕНО КРЪСТОСВАНЕ
НА СИВЕН (*Salvelinus fontinalis* M.)
С БАЛКАНСКА ПЪСТЪРВА (*Salmo trutta m. fario* L.)**

ВАСИЛ АТАНАСОВ, СТАНИМИР ДИМИТРОВ
Тракийски университет, Аграрен факултет - Стара Загора

Понастоящем потребителите на Европейския пазар търсят деликатесни рибни продукти с ниско холестеролно съдържание и оптимално ниво на есенциални мастни киселини. Месото на пъстървовите риби е изключително ценно именно с това си съчетание - малко кости и липидно съдържание 0.5-1.5%. В този аспект интродуцираният у нас сивен (*Salvelinus fontinalis* M.) освен с бърз растеж и скорозреелост се отличава и с диетичните качества на месото (крехка мускулатура, съдържаща лесномилаеми, пълноценни белтъчини, нисък процент липиди), както и висок рандеман на трупа - до 80%. Балканската пъстърва (*Salmo trutta m. fario* L.) се характеризира освен с отличен вкус и с добрата си приспособеност към местните условия. Тъй като българските фермери се ориентират към експортно насочено производство на стопански ценни рибни видове, аквакултурата у нас се нуждае от навременна професионална помощ за решаване на редица проблеми в биотехнологичен аспект, спъващи адаптирането на риборазвъждането към новите реалности. В последно време с цел интензифициране на репродуктивния процес в рибовъдството се наблюдава масово навлизане на изкуственото осеменяване, особено на импортните видове пъстървови риби в производствени условия, което специално за сивена е актуална новост в национален и международен мащаб (Атанасов и сътр. 2009а). Внедряването на подходящи спермопротективни среди при осеменяването на хайвера реши до голяма степен проблема с недостига на пъстървови личинки (Rurangwa et al., 2004). Произведеният зарибителен материал обаче все още трудно се адаптира към родните условия, което е причина за значителни

неблагополучия при отглеждането на импортните пъстървови видове. Този проблем би могъл да се реши отчасти както с получаването на хибриди с местната (балканската) пъстърва, така и с хибридизация между чуждите за България пъстървови видове, които са близки в генетичен план (Allan, 1977; Blanc and Chevassus, 1986). Не бива да се пренебрегва и възможният хетерозисен ефект, който е нормален при случаи на близкородствено кръстосване. Това означава по-интензивен растеж и развитие, съчетан с по-висока устойчивост на заболявания и с по-вкусно месо. Тази разработка в никакъв случай не цели опорочаването на чистите линии от пъстървови видове, поддържани в нашата страна. Напротив, наличието на чисти линии и тяхното евентуално използване за получаване на хибриди предполага получаването на приплоди с ясно изразен хетерозисен ефект - по-вкусно и качествено месо, по-бърз растеж, по-висока устойчивост на заболявания. Тези детерминации са описани в литературата и по такъв начин остарялото вече схващане за неприкосновеност на природно създадените видове и подвидове постепенно еволюира, още повече, че получените хибриди в повечето случаи са стерилни (Allendorf et al., 2001; Almodovar and Nicola, 2004). Последното е причина метаболитната енергия на хибридите да се концентрира не върху създаването на полови продукти, а върху натрупването на мускулна маса (Brown CJ., 1966; Spens et al., 2007). На фона на достигналия апогей в морските улови и невъзможността да се увеличи повече добивът от естествените водоеми, аквакултурата е единствената възможна алтернатива за снабдяване на човечеството с есенциални

амино- и мастни киселини. В този аспект хибридизацията е могъщ инструмент не само за съчетаване ценните качества на родителските линии, но и за получаване на по-висок добив от стопански ценни аквабионти в световен мащаб (Cucherousset et al., 2007).

Целта на настоящото изследване бе да бъдат експериментирани спермопротективни среди за кръстосване на сивен (*Salvelinus fontinalis* M.) с балканска пъстърва (*Salmo trutta m. fario* L.). Използването на подходящи спермопротективни среди с постоянен химичен състав би гарантирало репродуктивните резултати, получени при прилагането им.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

За целите на изследването бяха използвани 36 бр. половозрели разплодници от видовете *Salvelinus fontinalis* M. (12 бр. ♀ и 6 бр. ♂) и *Salmo trutta m. fario* L. (11 бр. ♀ и 7 бр. ♂).

Преценката на семенната течност се извършваше веднага след получаването ѝ по методи, описани от нас по-рано (Димитров и сътр., 2000). Използваха се еякулати с подвижност на сперматозоидите не по-ниска от 70% и концентрация над 15 млрд/cm³.

За контролиране на гидрохимичния режим бе използван апарат /WTW Охi 330/ за ежедневен мониторинг на кислородно съдържание, рН и тем-

пература на водата.

Експерименталната работа бе проведена в УЕБ по Аквакултура към Аграрния факултет на Тракийския университет, на територията на рибовъдните бази на БЛРС „Сокол” в Пещера, както и в секция Биохимия към Аграрния факултет при Тракийския университет.

За промотиране на спермалния мотилитет бяха използвани следните активатори:

- Активатор №1 – речна вода;
- Активатор №2 (Атанасов и съавт., 1991- авт. свид. №49397);
- Активатор №3 (Атанасов и съавт., 1991- авт. свид. № 49282);
- Активатор №4 (на Львов, 1990);
- Активатор №5 (на Хамора) - (цит. на Львов 1990);
- Активатор №6 - VKA-1 - (Атанасов, 1995б).
- Активатор №7 - VKA-2 - (Атанасов и сътр., 2004).

Еякулатите бяха разреждани със сперморазредител за пъстървови риби (Георгиев и кол., 1991- авт.свид. № 49283). Степента на разреждането на спермата с 49283 зависи от концентрацията на семенната течност, като задължително се спазва съотношението 200 000 активни сперматозоида на 1 яйцеклетка. Осемняването на хайвера се извършваше чрез сухия метод (схема) по следните варианти:

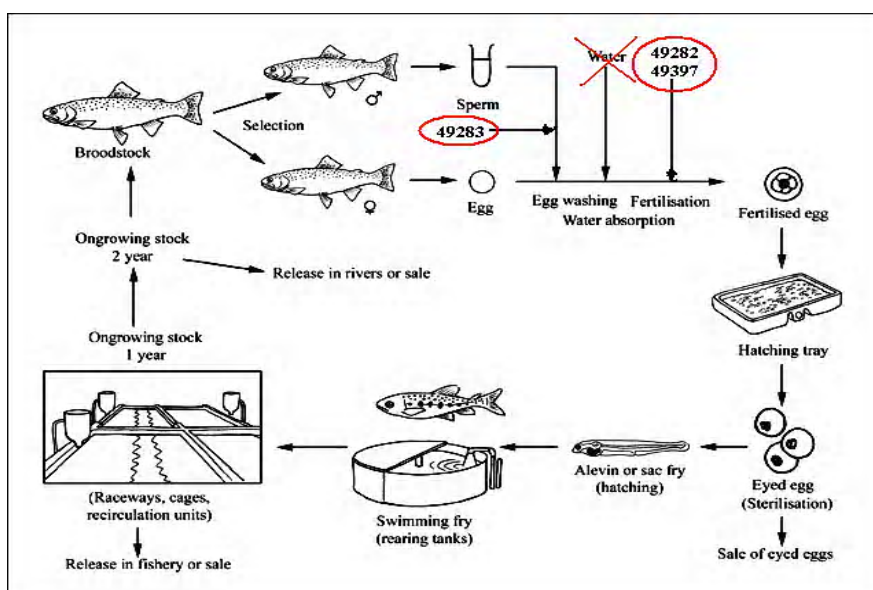


Схема за изкуствено размножаване на пъстървови риби
Scheme for artificial propagation of trout fish.

1. ♂ сивен X ♀ балканска пъстърва
2. ♂ балканска пъстърва X ♀ сивен

Инкубирането на хайвера се извършваше във вайсови и калифорнийски апарати с проточност на водата 0.8 l/min.

От схемата е видно, че биотехнологичният процес е модифициран от нас, като речната вода е заменена с подходящи спермоактивационни среди, а семенната течност при нужда се разрежда предварително със сперморазредител за пъстървови риби.

Половите продукти се получаваха по масажния метод, като абдоминално се използваше специално растително масло за предпазване на слу-

зестата покривка от престъргване и евентуална поява на дерматомикоза. Издояването на хайвера се извършваше в емайлирани или пластмасови съдове, като стриктно се избягваше досегът до открит метал. Следващите снимки илюстрират условията в рибовъдната база и експерименталната дейност, проведена в нея (сн. 1 и 2).

Семенната течност се получаваше отделно и веднага се подлагаше на макро- и микроскопска преценка (сн. 3 и 4).

След получаване семенната течност се преценяваше макро- и микроскопски (сн. 5 и 6).

За вариационно-статистическата обработка беше използвана програмата "Statistic for Windows" (Stat.Soft.Inc.,1994).



Сн.1. Масажен метод за получаване на хайвер от *Salvelinus fontinalis* M.
Ph.1. Massage method for stripping of eggs from *Salvelinus fontinalis* M.



Сн. 2. Масажен метод за получаване на хайвер от *Salmo trutta m.fario* L.
Ph. 2. Massage method for stripping of eggs from *Salmo trutta m.fario* L.



Сн. 3. Масажен метод за получаване на сперма от *Salvelinus fontinalis* M.
Ph. 3. Massage method for stripping of semen from *Salvelinus fontinalis* M.



Сн. 4. Масажен метод за получаване на сперма от *Salmo trutta m.fario* L.
Ph. 4. Massage method for stripping of semen from *Salmo trutta m.fario* L.



Сн. 5 и 6. Преценка на сперма от пъстървови риби
Ph. 5 and 6. Assessment of semen from trout fish

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

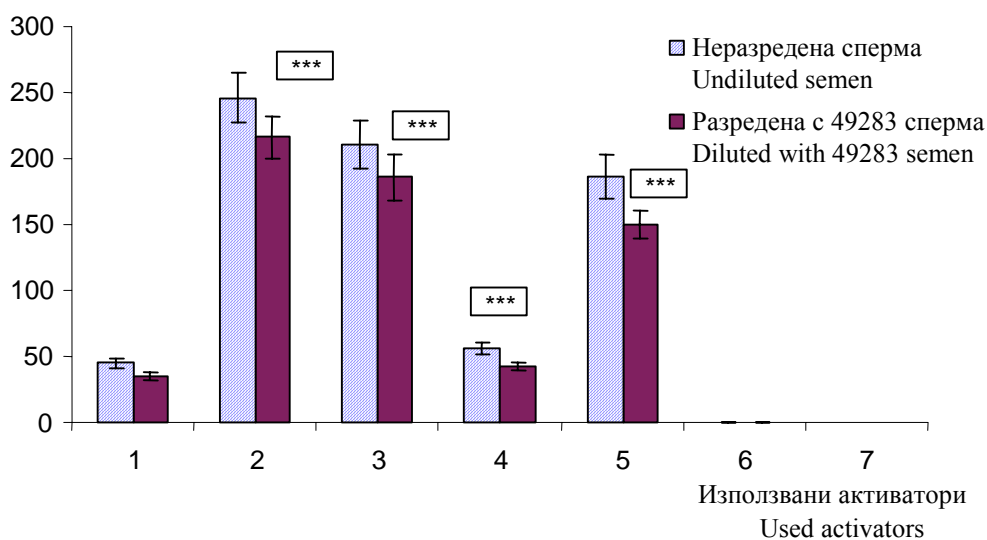
На фиг. 1 и 2 е представена активността на сперматозоидите от сивен и балканска пъстърва при използване на вода и различни среди.

Изнесените данни ясно демонстрират два основни факта:

1. Сперматозоидите на сивена притежават двойно по-ниска активност след прилагане на експериментираниите спермоактивационни среди, не

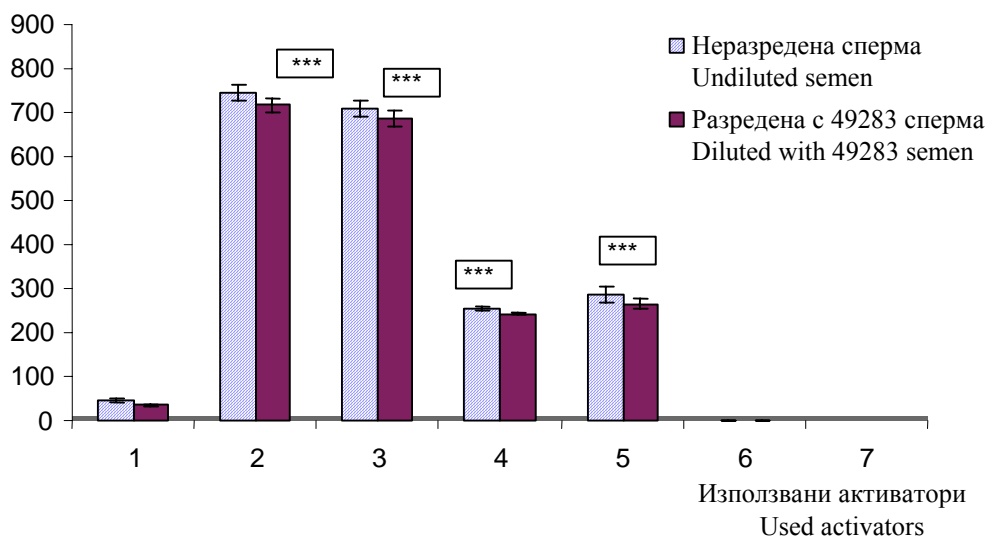
само като времева продължителност, но и като поведение на мъжките гамети. За разлика от тях сперматозоидите на балканската пъстърва имат по-продължителни и по-енергични праволинейно-настъпателни движения, образуващи по-добре изразени „вихри“ на спермалната маса, наблюдавани при ниско увеличение под микроскоп (x20).

2. Наблюдава се огромно превъзходство (от 5 до 11 пъти) на експериментираниите спермоактивационни среди 49282 и 49397 спрямо водата (кон-



Фиг. 1. Активност на сперматозоиди от *Salvelinus fontinalis* M., третиранни с експериментираниите спермоактивационни среди.

Fig. 1. Activity of spermatozoa from *Salvelinus fontinalis* M., activated by different media.



Фиг. 2. Активност на сперматозоиди от *Salmo trutta m.fario* L., третиранни с различни спермопротективни среди.

Fig. 2. Activity of spermatozoa from *Salmo trutta m.fario* L., treated by different sperm protective media

тролна група). Средата на Львов активира сперматозоидите както в нативната, така и в разредената със сперморазредител 49283 сперма семенна течност, доста по-слабо в сравнение с другите експериментирани спермоактивационни среди. Средата на Хамора, предназначена за пъстървови сперматозоиди също оказва сравнително добър активационен ефект върху гаметите от пъстървови риби. (*Тъй като последните две среди се приготвят с речна вода, евентуалният им спермоактивационен ефект ще зависи от хидрохимичните ѝ параметри в съответното рибовъдно стопанство.*) Спермоактивационните среди за шаранови риби VKA-1 и VKA-2 очаквано не промотираха мотилитета на пъстървовите сперматозоиди. Фаворит по ефекта си спрямо нативната и разредената сперма и за двата пъстървови вида е спермоактивационна среда 49282. Установеното от нас многократно повишаване на времето на активност на сперматозоидите от посочените групи вероятно се дължи на форсиран енергиен метаболизъм, вследствие на подходящата йонна концентрация (**Атанасов и сътр.**, 1997, 2009б). Както сме посочвали и в предишни публикации (**Атанасов В.**, 1995а; 1995б; 2005) гарантираният състав (приготвят се с дестилирана вода) и изотоничността на среди №49282 и 49397 протектира спермалните мембрани като се предотвратява деструктурирането им. Отсъствието на калиеви катиони в състава на експериментираният спермоактивационни среди до голяма степен обяснява и високите им активационни качества. Мощният блокиращ ефект на K^+ спрямо спермалния мотилитет е доказан от **Baynes** (1981), който отъждествява този макроелемент с открития, но неидентифициран от **Runnstrom** (1944) Андрогамон I. Според **Baynes** високият концентрационен градиент на K^+ спрямо спермалната мембрана поддържа пъстървовите сперматозоиди в неподвижно състояние. Подобни изводи правят **Alavi et al.** (2004) относно есетровите сперматозоиди и **Атанасов** (2005, 2006) за сперматозоиди от щука. Това разбира се има определен биологичен смисъл, тъй като неактивираният мъжки гамети се намират в анабиотично състояние, изразходвайки минимални количества АТФ (щадящ режим).

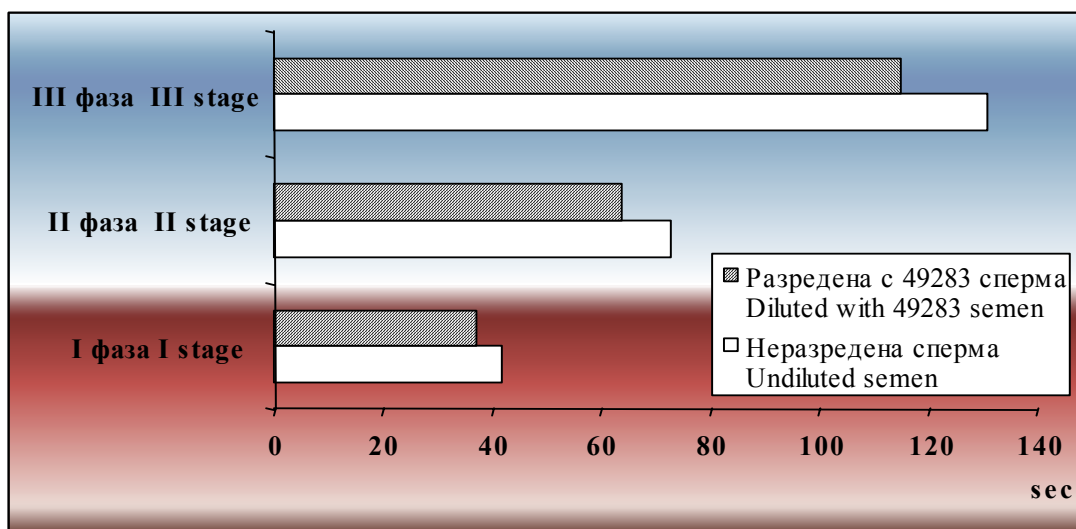
Тези данни допълват резултатите, получени от

нашия колектив, който пръв в България изследва активността на сперматозоидите при балканска и дъгова пъстърва (**Атанасов и сътр.**, 1991; **Атанасов В.**, 1995а, 1997, 2005; **Atanasov et al.**, 1996) при използване на горепосочените спермоактивационни среди. Посочените по-горе детерминации вероятно се дължат на еволюционна дивергенция на общите прародители на сивена и балканската пъстърва (**Blanchet et al.**, 2007).

За по-доброто интерпретиране на получените резултати ние проведохме допълнителни експерименти, изясняващи фазите на активност на сперматозоидите от експерименталните пъстървови видове, както на нативна, така и на предварително третирана със сперморазредител №49283 семенна течност, активирана със среда 49282 (фиг. 3 и 4). От фигурите е видно, че и трите проучвани фази при нативната сперма са по-продължителни. Въпреки, че трета фаза се оказва с най-продължително времетраене, тя по принцип не оказва влияние върху оплодителната способност на сперматозоидите (**Атанасов**, 2006).

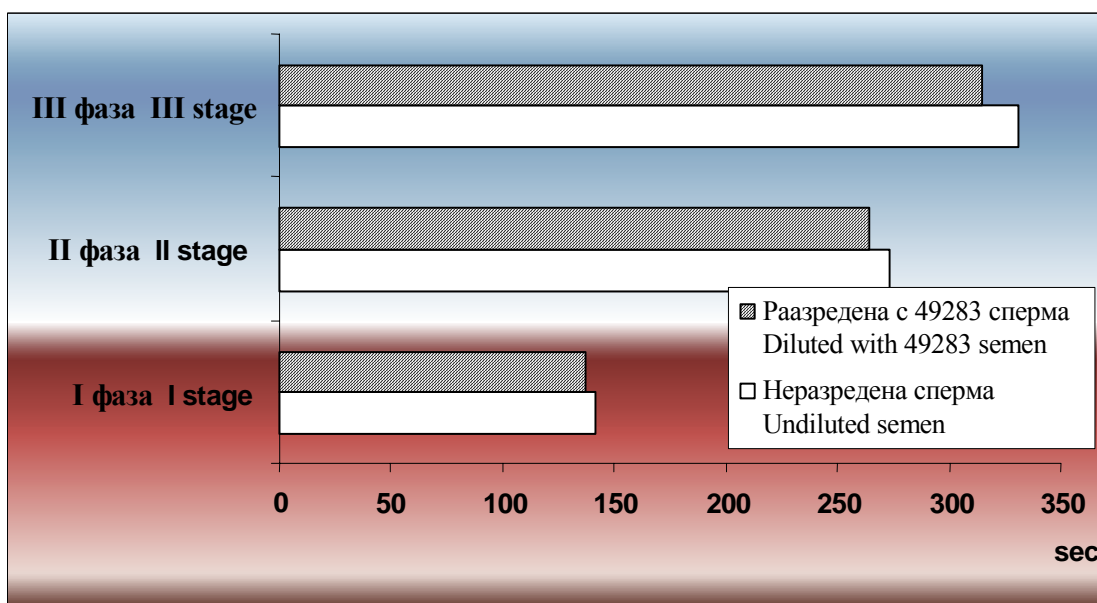
В този аспект ние регистрирахме достатъчна продължителност на първа и втора фаза, гарантиращи едно успешно оплождане на хайвера.

И при двата пъстървови вида микроскопската преценка (x20) регистрира активни вихрови движения на спермалната маса особено по време на I фаза. Получените резултати допълват проучванията на **Takai and Morisawa** (1992), според които активирането на сперматозоидите от риби при въвеждането им в подходящ разтвор се дължи на повишаване на интрацелуларната калциева концентрация. От своя страна подходящата водородно-йонна концентрация осигурява необходимия рН-оптимум на такива важни за спермалния мотилитет АТФ-ази като спермозина и динеина (**Бурнашова**, 1982; **Атанасов и кол.**, 2009б). Предоставянето на осмотичен комфорт чрез включването на подходящи захарозни нива протектира спермалните мембрани от деструктивни промени и гарантира удължаване преживяемостта на сперматозоидите (**Morisawa et al.**, 1983, 1999). По отношение на средите на Львов и Хамора и при двата вида микроскопски наблюдения се наблюдава ясно изразена аглутинация, която се манифестира със слепване на главичките на сперматозоидите в звездовидни конкременти. Това несъм-



Фиг. 3. Диференциална фазова активност на сперматозоиди от *Salvelinus fontinalis* M., активирани със среда 49282.

Fig. 3. Differential stage activity of spermatozoa from *Salvelinus fontinalis* M., activated by media 49282



Фиг. 4. Диференциална фазова активност на сперматозоиди от *Salmo trutta m.fario* L., активирани със среда 49282.

Fig. 4. Differential stage activity of spermatozoa from *Salmo trutta m.fario* L., activated by media 49282

нено ги имобилизира и пречи на сперматозоидната пенетрация през микропилите на хайверените зърна, което обяснява и ниския фертилитет. Несъмнено се касае за разноименно зареждане на гаметите с електричен пълнеж, дължащ се на поляризиране на спермалните мембрани в резултат на неподходящи хидрохимични параметри.

Нашите проучвания илюстрират макар и слабо понижаване активността на сперматозоидите при разредената сперма. Това до известна степен предполага понижаване на репродуктивните показатели при изкуственото осеменяване с разредена семенна течност. Всъщност предназначението на разработения от нас сперморазредител за пъстър-

вови риби е не толкова съхраняването, а увеличаването на обема на семенната течност на генетично ценни пъстървови разплодници с цел доброто хомогенизиране на половите продукти в процеса на изкуственото осеменяване (Атанасов и кол., 2009а). Тъй като използваната хетеро-

сперма беше с достатъчно висока концентрация (над 15.0 млрд/мл) разреждането ѝ със среда 49283 не оказва съществено значение на оплодямостта на хайвера. Постигната беше близо 100% оплодямост на яйцеклетките, което личи от снимки 7 и 8.



Сн. 7. Оплоден на 100% хайвер от *Salmo trutta m.fario* L. със сперма от *Salvelinus fontinalis* M.

Ph. 7. 100% fertilized eggs from *Salmo trutta m.fario* L. with semen from *Salvelinus fontinalis* M.



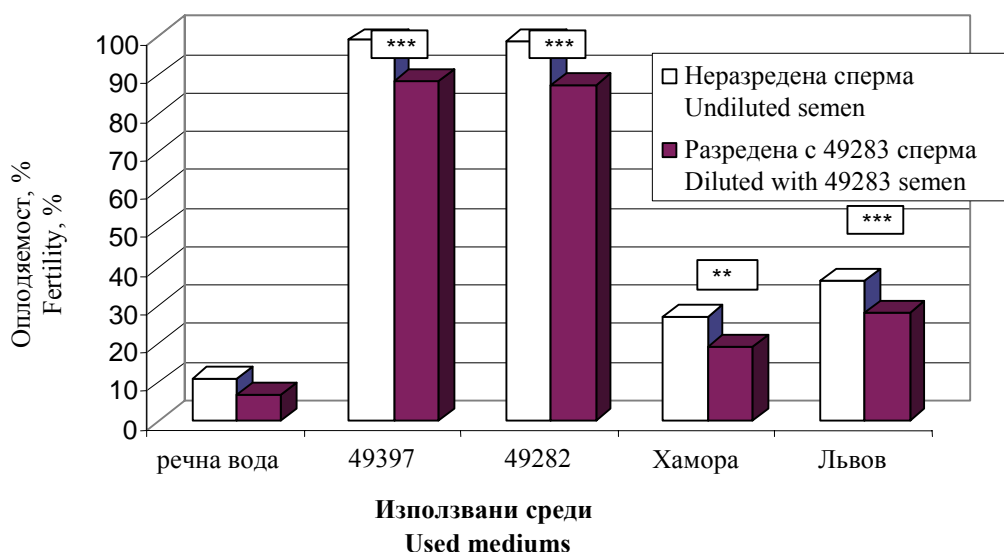
Сн. 8. Оплоден на 100% хайвер от *Salvelinus fontinalis* M. със сперма от *Salmo trutta m.fario* L.

Ph. 8. 100% fertilized eggs from *Salvelinus fontinalis* M. with semen from *Salmo trutta m.fario* L.

Резултатите от проведените репродуктивни експерименти са показани на фиг. 5. Видно е, че както нативната, така и разредената със среда 49283 семенна течност от сивен, активирана със спермоактивационни среди 49282 и 49397 притежава много по-добър фертилизационен ефект (от 36 до 39%).

Вероятно не само оптимизираният енергиен метаболизъм и добрият спермален мотилитет са

от значение в процеса на изкуственото осеменяване на хайвера (Атанасов и кол., 2009а, 2009б; Alavi and Cosson, 2002; Green, 2008; Li Ping, 2008). По-продължителното задържане на микропилите в отворено състояние също се явява важно условие за благотворното влияние на експериментиранияте среди по отношение оплодяемостта на третираните яйцеклетки (Picope et al., 2003).



Фиг. 5. Репродуктивни резултати от изкуствено осеменяване на хайвер от балканска пъстърва със сперма от сивен при използване на различни среди.
 Fig. 5. Reproductive results from artificial insemination of eggs from *Salmo trutta m.fario* L. fertilized with semen from *Salvelinus fontinalis* M., by using of different mediums



Сн. 9. Инкубиране на хибридните зародиши във вайсови апарати
 Ph. 9. Incubation of hibride embryos in Vaiss apparatus

Въпреки успешното оплождане (до 100%) на хайвера от сивен със сперма от балканска пъстърва с помощта на среди №48282 и №49397, ембрионалната смъртност на получените хибридни зародиши до достигане на стадий „очни точки” беше 100%. Това потвърждава и донякъде обяснява липсата на хибриди по гореописаната схема в световен мащаб (DeWald and Wilzbach, 1992).

За разлика от реципрочния вариант, хибридните зародиши (♀ сивен X ♂ балканска пъстърва) се развиваха нормално. По време на инкубирането

наблюдавахме известно забавяне на ембриогенезата и самото излюпване с около 8-10 дни, но получените личинки се развиваха нормално. Резорбцията на жълтъчното мехурче и „вдигането” на личинките протече в референтни срокове и укрепналите хибридни личинки преминаха на екзогенно хранене до 30-ия ден. Самите рибки притежаваха завидна енергичност и груповото им плуване образуваше характерно завихряне на стадото (Сн. 10).

Консумацията на фураж е с около 20% по-ви-



Сн. 10. Вихрови движения на стадото от пъстървови хибридни личинки
Ph. 10. Whirlwind movements of trout hibride fry shoal



Сн. 11. Определяне на метричните характеристики на пъстървови хибриди
Ph. 11. Measure of metric characteristic of trout hibride

сока, а нарастването на индивидите - по-интензивно в сравнение с това на балканската пъстърва (сн. 11). На този ранен етап от изследванията не би могло да се потвърди категорично мнението на някои изследователи (**Chevassus, B., 1983; Galbreath and Thorgaard 1995**) за по-интензивно индивидуално развитие на хибридите поради две възможни причини:

1. Добре изразен хетерозисен ефект и засилен апетит в резултат на форсиран метаболизъм;
2. Ускорено натрупване на мускулна маса за сметка на неразвитие на репродуктивни органи и системи (т.н. риби „мулета“).

Освен метричните характеристики бяха установени и някои специфични признаци (тъпа муцуна и ниско разположени очи), както и характерната „тигрова“ окраска на пъстървовите хибриди (♀ сивен X ♂ балканска пъстърва). Колективът възнамерява да продължи наблюденията и в бъдеще, но макар и скромни, опитът от минали подобни проучвания показва, че принципно хибридите се развиват доста по-бързо и при еднакви условия достигат един месец по-рано консумативни размери. Предстоят допълнителни проучвания относно онтогенетичното развитие, репродуктивните способности, хромозомния набор и пр. на получените хибриди.

ИЗВОДИ

Възможно е успешно оплождане (до 100%) на хайвер от сивен със сперма от балканска пъстърва с помощта на среди №48282 и №49397. Ембрионалната смъртност на получените хибридни зародиши до стадий „очни точки“ обаче е 100%.

Възможно е успешно оплождане (до 100%) на хайвер от балканска пъстърва със сперма от сивен с помощта на среди №48282 и №49397. Ембрионалното развитие на получените хибридни зародиши е нормално, а инкубационният период е удължен с около 10 дни в сравнение с този на сивена.

Хибридите (♀ сивен X ♂ балканска пъстърва) консумират с до 20% повече фураж и се развиват по-интензивно в сравнение с балканската пъстърва.

ПРИНОСИ

За първи път в България са получени пъстървови хибриди (♀ сивен X ♂ балканска пъстърва) чрез използване на разработени от Атанасов и колектив спермопротективни среди (№№ 49282, 49397 и 49283) и съвременни биотехнологични методи на асистирана ихтиорепродукция.

Проследени са основни биологични параметри на гамети и ембриони на сивен и балканска пъстърва, включени в схемата на изкуствено осеменяване и размножаване.

Определени са специфичните признаци (тъпа муцуна и ниско разположени очи), както и характерната „тигрова“ окраска на пъстървовите хибриди (♀ сивен X ♂ балканска пъстърва).

Подробно описани и нагледно фотодокументирани и онагледени са основни моменти от работката и приложението на биотехнологията на изкуственото получаване на пъстървови хибриди (тигрова пъстърва).

Получените хибриди са изключително ценни, не само от развъдна гледна точка, но и са търсен и скъп трофей като обект на спортен риболов.

Препоръки за практиката

Необходимо е строго спазване на препоръчаните технологични параметри при изкуствено получаване на пъстървови хибриди.

Масовото въвеждане на спермоактивационните среди за пъстървови риби 49282 и 49397 при изкуственото осеменяване на пъстървовите риби би довело до значително повишаване оплодяемостта на хайвера в процеса на изкуствено получаване на тигрова пъстърва.

Използването на сперморазредителя 49283 в биотехниката на риборазвъждането би довело да икономия на семена течност и до по-рационалното използване на генетичноценните сивенови разплодници в процеса на изкуствено получаване на тигрова пъстърва.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Атанасов В., С. Георгиев, Й. Стайков.** 1991а. Среда за активиране на сперматозоиди от балканска и дъгова пъстърва. Описание на изобретение по авторско свидетелство №

49282. Бюл. ИНРА №10/15.10.91.
2. **Атанасов В., С. Георгиев, Й. Стайков.** 1991б. Среда за активирание на сперматозоиди от балканска и дъгова пъстърва. Описание на изобретение по авторско свидетелство № 49397. Бюл.ИНРА №11/15.11.91.
 3. **Атанасов В.** 1995а. Експериментирание на спермоактивационни среди за дъгова пъстърва. Животн.науки, №5-8, 16-18.
 4. **Атанасов В.** 1995б. Проучване ефекта на ново-разработени протективни среди за сперма от риби (*Salmo trutta m.fario L.*, *Salmo irideus G.* и *Cyprinus carpio L.*) върху биоенергийния метаболизъм на гамети и техния фертилитет. Дисертация. Ст.Загора. 165 с.
 5. **Атанасов В., С. Георгиев, Й. Стайков.** 1997. Експериментирание на спермоактивационни среди за балканска пъстърва (*Salmo trutta m.fario L.*). Животн.науки (приложение), 223-225.
 6. **Атанасов, В., Стайков, Й., Видев В.** 2004. Спермоактивационна среда ВКА-2 за шаранови риби. Животновъдни науки, №3, 67-71.
 7. **Атанасов В.** 2005. Влияние на спермопротективни среди върху енергийния метаболизъм, мотилитета и фертилитета на сперматозоиди от стопански ценни видове риби и птици. Докторска дисертация (дсн). Ст.Загора. 336 с.
 8. **Атанасов, В.,** 2006. Фактори влияещи върху мотилитета, фертилитета и енергийния метаболизъм на сперматозоиди от стопански ценни видове риби. Животновъдни науки, XLIII, №3, 81-92.
 9. **Атанасов, В., Димитров С., Николов, Г.,** 2009а. Експериментирание на спермопротективни среди за изкуствено осеменяване на сивен (*Salvelinus fontinalis M.*), Животновъдни науки, XLVI, №4, 22-30.
 10. **Атанасов, В., Димитров С., Дишлянова, Е., Запрянова Д., Иванов В.,** 2009б. Влияние на някои спермопротективни среди върху енергийния метаболизъм на сперматозоиди от сивен (*Salvelinus fontinalis M.*), Животновъдни науки, XLVI, №4, 31-39.
 11. **Бурнашова С. А.** 1982 – Биохимия движения сперматозоидов, В кн. ”Современные проблемы сперматогенеза”. М. Наука. с.225-249.
 12. **Георгиев С., Атанасов В., Й. Стайков.** 1991. Среда за разреждане на сперма от балканска и дъгова пъстърва. Описание на изобретение по авторско свидетелство №49283. Бюл.ИНРА №10/15.10.91.
 13. **Гош Р. И.** 1989. Энергетический обмен сперматозоидов рыб. (обзор) - Гидробиол.журнал, 25, с.61-71.
 14. **Димитров С., Бонев Г., Георгиев Ст., Атанасов В.** 2000 – В кн. “Методи за преценка и контрол на оплодителната способност на семенна течност”, Ст. Загора, Con-Car Universe, 93с.
 15. **Лъвов Ю. Б.** 1990. Новые среды для осеменения икры.- Рыбное хозяйство, №1, с.50-51.
 16. **Alavi SMH, Cosson J.** 2002. Sperm motility in fishes: (III) Mechanisms of activation of the motility of spermatozoa. In: 26th Annual Larval Fish Conference, 22-26 July, Bergen, Norway; p. 29
 17. **Alavi, S. M. H., J. Cosson, M. Karami, B. Mojazi Amiri, and M. A. Akhoundzadeh.** 2004. Spermatozoa motility in the Persian sturgeon, *Acipenser persicus*: effects of pH, dilution rate, ions and osmolality. *Reproduction*; 128(6): 819 - 828.
 18. **Allan, J. H.** 1977 First report of the tiger trout hybrid, *Salmo trutta* Linnaeus x *Salvelinus fontinalis* (Mitchill), in Alberta. *Can Field Nat.* 91:85-86.
 19. **Allendorf, F. W, Leary R. F., Spruell P., Wenburg J. K.,** 2001. The problems with hybrids: setting conservation guidelines. *Trends Ecol Evol* 16:613 -622.
 20. **Almodovar, A., Nicola G. G.,** 2004. Angling impact on conservation of Spanish stream-dwelling brown trout *Salmo trutta*. *Fisheries Manag Ecol* 11:173-182
 21. **Atanasov, V., S.Georgiev, J. Stajkov,** 1996. Testing of new protective diluents for *Salmo gairdnerii* G. semen. II Simp. On the Reprod., Ohrid,, 58-61.
 22. **Baynes, S. M., Scott A. P. and Dawson A. P.,** 1981. Rainbow trout, *Salmo gairdnerii* Richardson, spermatozoa: effects of cations and pH on motility.- *J.Fich.Biol.*, 19, 259-267.
 23. **Blanc, J. M, Chevassus B.,** 1986. Survival, growth, and sexual maturation of the tiger trout hybrid (*Salmo trutta* x *Salvelinus fontinalis*). *Aquaculture* 52:56-69.
 24. **Blanchet, S., Loot G., Grenouillet G., Brosse**

- S., 2007. Competitive interactions between native and exotic salmonids: a combined field and laboratory demonstration. *Ecol Freshw Fish* 16:133-143.
25. **Brown, C. J.**, 1966. Natural hybrids of *Salmo trutta* and *Salvelinus fontinalis*. *Copeia* 3:600-601.
26. **Chevassus, B.**, 1983. Hybridization in fish. *Aquaculture*, 33: 245-262.
27. **Cucherousset J, Aymes JC, Santoul F, Cereghino R**, 2007. Stable isotope evidence of trophic interactions between introduced brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and native brown trout (*Salmo trutta*) in a mountain stream of southwest France. *J Fish Biol* 71 (Supplement D):210-223.
28. **DeWald, L., Wilzbach M. A.**, 1992. Interactions between native brook trout and hatchery brown trout: effects on habitat use, feeding, and growth. *T. Am. Fish Soc* 121:287-296.
29. **Galbreath, P. F., G. H. Thorgaard**, 1995. Sexual maturation and fertility of diploid and triploid Atlantic salmon X brown trout hybrids. *Aquaculture* 137, 299-311.
30. **Green, C. C.**, 2008. Effect of the exogenous soyabean phyto-oestrogen genistein on sperm quality, ATP content and fertilization rates in channel catfish *Ictalurus punctatus* (Rafinesque) and walleye *Sander vitreus* (Mitchill). *Journal of Fish Biology* 72(10).
31. **Li, Ping**, 2008. Sperm proteins in teleostean and chondrosteian (sturgeon) fishes. *Fish Physiology and Biochemistry*.
32. **Morisawa, M., Suzuki, K., Shimizu, H., Morisawa. S., Yasuda, K.**, 1983. Effects of osmolality and potassium on spermatozoan motility of fresh water salmonid fishes. *J. Exp. Biol.* 107, 105-113.
33. **Morisawa, M., Oda, S., Yoshida, M., Takai, H.**, 1999. Transmembrane signal transduction for the regulation of sperm motility in fishes and ascidians. In: Gagnon, C. (Ed.), *The Male Gamete: From Basic Knowledge to Clinical Applications*. Cache River Press, Vienna, USA, 149-160.
34. **Podushka, S. B.**, 1992. Variability of Micropile Number in the Eggs of the Volga Stellate Sturgeon, *Acipenser Stellatus*. *Vopr. Ikhtiol.*, 32(6): 173-175. (in Russian).
35. **Pricope, F., Stefanescu, G., Titescu, I. Caraus, D. Ureche**, 2003. Effect of deuterium-depleted water on reproduction of rainbow trout. *Environmental Chemistry Letters*, Issue: Vol. 1, N 2, Pages: 1610-3653.
36. **Runnstrom, J., Lindval S. and Tiselius A.**, 1944. Gametes from sperm of urchin and salmon. *Nature*, 153, 285-286.
37. **Rurangwa, E., Kime D., Ollivier F. and P. Nash**, 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture*, vol. 234, Iss.1-4, 1-28.
38. **Spens, J., Alanara A., Eriksson L.O.**, 2007. Nonnative brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and the demise of native brown trout (*Salmo trutta*) in northern boreal lakes: stealthy, long-term patterns? *Can J Fish Aquat Sci* 64:654-664.
39. **Stat. Soft. Inc.**, 1994. *Statistic for Windows. General Conversion and Statistics I*. Stat. Soft. Inc Tulsa, OK.
40. **Takai, H., Morisawa M.**, 1992. Initiation of sperm motility in marine teleost: roles of: roles of intracellular K^+ and Ca^{2+} . - *Zool.Sci.* 9, №6, p.1221.

EXPERIMENTATION OF SPERM PROTECTIVE MEDIUMS FOR ARTIFICIAL
CROSSBREEDING OF *SALVELINUS FONTINALIS* M.
WITH *SALMO TRUTTA* M. *FARIO* L.

V. Atanasov, S. Dimitrov
Thracian University, Agricultural Faculty – Stara Zagora

SUMMARY

Hybridization experiments with salmonids were carried out with several world known sperm activating mediums for artificial insemination of eggs from freshwater fishes. The purpose of these experiments was to

study the viability, performance traits and the fertility of hybrids. We achieved 100% fertilizing brook trout (*Salvelinus fontinalis* M.)'s eggs with semen from brown trout (*Salmo trutta m. fario* L.) using of medium 49282 - single or along with extender 49283, but embryonic mortality was 100%. The ultimate variant (♀ *Salvelinus fontinalis* M. X ♂ *Salmo trutta m. fario* L.) was successful for optimize crossbreeding. Medium 49282 have the best sperm activating effect and may use along with extender 49283 for artificial insemination to produce trout hybrids. Obtained fry are more vital and energetic with faster grow and developing. We made basic definition of produced trout hybrids – soft snout, low situated eyes and typicalness “tiger” color. The experiment is continuing, it is evident that more research is necessary before the potential value of obtained hybrids for fish farming can be properly assessed.

E-mail: vka@mail.bg;

Аграрен факултет при

Тракийски университет, Стара Загора, 6000