

DOI: 10.24411/2074-5036-2019-10039

УДК 597.442-146.511:597-12

Ключевые слова: фиолетовый К, эксперимент, лекарственные средства, ветеринарные препараты, аналог
 Keywords: purple K, experiment, medical drugs, veterinary drugs, analogue

Володина В. В., Баринаова В. В., Менькова А. В., Сакетова К. Ш., Гнучева В. И., Яковлева Е. П., Лушникова А. А.

**ПОИСК ЭФФЕКТИВНЫХ СРЕДСТВ ПРОТИВ САПРОЛЕГНИОЗА ИКРЫ
 ОСЕТРОВЫХ РЫБ**

THE SEARCH OF EFFECTIVE AGENTS AGAINST SAPROLEGNIOSIS OF STURGEON EGGS

ФГБНУ «Каспийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства», г. Астрахань

Адрес: 414056, Россия, Астрахань, ул. Савушкина, 1

FSBSI Caspian Fisheries Research Institute, Astrakhan

Address: 414056, Russia, Astrakhan, Savushkina Str., 1

Володина Виктория Викторовна, к. б. н., заведующий лабораторией ихтиопатологии. E-mail: kaspnirh@mail.ru
Vicktoria Viktorovna Volodina, PhD of Biology Sciences, Head of the Laboratory of Ichthyopathology.

E-mail: kaspnirh@mail.ru

Баринаова Виктория Владимировна, и. о. заместителя начальника НЭБ «БИОС» по научной работе.

E-mail: kaspnirh@mail.ru

Vicktoria Vladimirovna Barinova, acting Deputy head of NEB "BIOS" for scientific work. E-mail: kaspnirh@mail.ru

Менькова Анна Витальевна, научный сотрудник лаборатории ихтиопатологии. E-mail: kaspnirh@mail.ru

Anna Vital'evna Men'kova, researcher of the Laboratory of Ichthyopathology. E-mail: kaspnirh@mail.ru

Сакетова Кавива Шарипуловна, главный специалист НЭБ «БИОС». E-mail: kaspnirh@mail.ru

Kaviva Sharipulovna Saketova, senior specialist of NEB "BIOS". E-mail: kaspnirh@mail.ru

Гнучева Вера Игоревна, начальник бассейнового цеха НЭБ «БИОС». E-mail: kaspnirh@mail.ru

Vera Igorevna Gnucheva, the head of the basin workshop NEB "BIOS". E-mail: kaspnirh@mail.ru

Яковлева Екатерина Павловна, начальник цеха по работе с производителями НЭБ «БИОС».

E-mail: kaspnirh@mail.ru

Ekaterina Pavlovna Yakovleva, workshop supervisor for cooperation with manufacturers NEB "BIOS"

E-mail: kaspnirh@mail.ru

Лушникова Анастасия Алексеевна, ведущий рыбовод НЭБ «БИОС». E-mail: kaspnirh@mail.ru

Anastasia Alekseevna Lushnikova, senior fish breeder NEB "BIOS". E-mail: kaspnirh@mail.ru

Аннотация. Приведены материалы экспериментальной работы по поиску аналога органического красителя «фиолетовый К», ранее применяемого в рыбоводстве. Первый этап эксперимента включал в себя отработку методики выделения и культивирования «гросс-культуры» микромицетов *p. Saprolegnia* на различных приманках. На втором этапе эксперимента отработывалась методика заражения оплодотворенной икры осетровых рыб паразитическими организмами *p. Saprolegnia*. Третий этап эксперимента включал в себя апробирование химических веществ в производственных условиях. Для борьбы с сапролегниозом икры осетровых рыб были использованы следующие препараты: формалин, перекись водорода, «Монклавит-1». Выявлено, что применение формалина в качестве препарата для борьбы с сапролегнией в период инкубации икры осетровых видов рыб нецелесообразно, так как данное вещество даже в низких концентрациях обладает сильным токсическим эффектом. После обработки икры препаратом «Монклавит-1» патологий у эмбрионов не выявлено, однако данное средство оказалось малоэффективным, так как оказало негативное влияние на микромицеты *p. Saprolegnia* только при использовании самой высокой концентрации – 3 %. Обработка икры 3%-ным раствором препарата «Монклавит-1» приводила к уплотнению оболочек икры. Использование перекиси водорода перспективно, однако необходимы дополнительные исследования по поиску растворов с оптимальными концентрациями, а также разработки нового метода внесения препарата.

Summary. The article presents the materials of experimental work on searching of the organic coloring agent "purple K" analogue, previously used in fish farming. The first stage of the experiment included the development of methods of differentiation and cultivation of "gross culture" micromycetes *R. Saprolegnia* on various baits. At the second stage of the experiment the method of infecting fertilized sturgeon eggs with *Saprolegnia* parasitic organisms was worked out. The third stage of the experiment included testing of chemicals in production conditions. In order to cure saprolegnios of sturgeon fish eggs the following agents were used: formalin, hydrogen peroxide, "Monklavit-1". It was identified that the use of formalin as the drug to cure saprolegnia during the incubation of sturgeon species is impractical, since this substance has a strong

toxic effect even in low concentrations. After treatment of eggs with the drug "Monklavit-1" pathologies in embryos were not revealed, but this agent was not effective, as it had a negative impact on the micromycetes of R. Saprolegnia only with the highest concentration – 3 %. Treatment of eggs with 3% solution of the drug "Monklavit-1" led to compaction of the egg shells. The usage of hydrogen peroxide is potentially productive, but additional research is necessary in order to find solutions with optimal concentrations, as well as the development of a new method of introducing the drug.

Введение

Благополучие объектов аквакультуры по инвазионным и инфекционным заболеваниям – важнейшее условие, необходимое для нормального функционирования и рентабельности рыбоводного хозяйства. Повышение интенсификации рыбоводного процесса, как правило, приводит к ухудшению экологической и эпизоотической ситуации, а зачастую и к возникновению эпизоотий, что наносит прямой экономический ущерб от потерь, связанных как с гибелью рыб, так и с недополучением рыбного сырья высокого качества. В связи с этим для поддержания эпизоотического благополучия рыбоводных хозяйств необходимо не только регулярно проводить профилактические рыбоводно-мелиоративные мероприятия, но и иметь достаточное количество и широкий ассортимент лекарственных средств.

Основой государственного контроля качества и безопасности выпускаемых лекарственных препаратов в области ветеринарии служит лицензирование фармацевтической деятельности, осуществляемой согласно ФЗ «О лицензировании отдельных видов деятельности» от 04.05.2011 г. № 99–ФЗ, с изменениями и дополнениями от 03.08.2018 г. [16]; приказа Россельхознадзора от 19.04.2012 г. № 191 «О лицензировании фармацевтической деятельности», с изменениями и дополнениями от 18.05.2012 г. [10].

Следует отметить, что применение незарегистрированных препаратов допускается только при проведении их производственных испытаний, при этом препарат должен пройти полный цикл доклинических исследований (определение токсичности для рыб и теплокровных животных, сроков выведения вещества из рыбы, влияние его на воспроизводительную функцию, потомство и т. д.).

Для профилактики инфекционных заболеваний рыб на рыбоводных хозяйствах в соответствии с документом «Рекомендации по организации противопаразитарных обрабо-

ток в рыбоводстве» [12], утвержденным Департаментом ветеринарии Минсельхозпрода РФ 07.10.1999 г., эффективно использовали органический краситель «фиолетовый К», однако при вступлении в силу с 1 сентября 2017 года стандартов на рыбную продукцию в соответствии с требованиями технического регламента Евразийского экономического союза «О безопасности рыбы и рыбной продукции» (ТР ЕАЭС 040/2016) [15] применение данного химиотерапевтического средства запрещено. Запрет на использование красителей в аквакультуре обусловлен опасностью для здоровья человека от употребления рыбы, содержащий в себе данное средство: ряд исследований показал наличие у веществ явных канцерогенных и тератогенных свойств [11].

В связи с этим целью исследований является поиск эффективных противомикозных средств, допустимых к применению в аквакультуре.

Микозы у рыб и икры инициируют плесневые микромицеты порядка сапролегниевые (*Saprolegniales*), относящиеся к нескольким родам: *Achlya*, *Aphonomyces*, *Dictyuchus*, *Leptolegnia*, *Saprolegnia* и др. [4]. По классификации Г. Ц. Айнсворта сапролегниевые грибы принадлежат к царству грибов, отделу *Eumycota*, классу *Oomycetes*, порядку *Saprolegniales*, семейству *Saprolegniaceae*. Наиболее распространенными и патогенными являются следующие виды: *Ach. flagellate*, *Ach. laevis*, *D. monosporus*, *S. ferax*, *S. mixta*, *S. parasitica* [5]. Температурный оптимум для вышеуказанных видов микроорганизмов составляет 15–20°C, как и для развития оплодотворенной икры осетровых рыб. Кроме того, при интенсивном выращивании рыб в системах замкнутого водоснабжения, в отличие от прямооточных систем, возрастает риск распространения инфекционного агента и повышения уровня зараженности рыб. Сапролегнией, как правило, поражается неоплодотворенная, травмированная, физио-

логически неполноценная икра при инкубировании. При контакте с мертвой икрой, пораженной микромицетами, возможно заражение и живых развивающихся икринок. Потери от этого заболевания могут достигать 90 % [5, 6]. Негативное влияние представителей *pp. Saprolegniales* и *Achlya* выражено в разрыхлении поверхности оболочек икры с последующей их деструкцией и вакуолизацией, в ряде случаев гифы прорастают внутрь икринок.

Материалы и методы

Материалом для исследований послужила оплодотворенная икра стерляди (*Acipenser ruthenus*), пробы воды и налета с поверхности тела карповых рыб, зараженных сапролегнией, и пораженная микромицетами икра осетровых видов рыб (севрюги) в период инкубации. Эксперимент по искусственному воспроизведению сапролегниоза на икре осетровых рыб и апробации веществ в борьбе с микозной инфекцией проводили с февраля по июнь 2018 г. Обработку икры дезинфицирующими средствами проводили методом кратковременных лечебных ванн [2, 11] на 16-й и 21-й стадиях развития [5]. Для оценки воздействия дезинфицирующих средств на развитие эмбрионов определяли стандартные рыбоводно-биологические показатели: процент оплодотворения, развития, выклева предличинок [13], а также процент заражения микромицетами *p. Saprolegnia*, процент патологий [1]. Показатели определяли с использованием микроскопа Биомед МС-1 Стерео. [4, 6, 7, 17]. При выделении и культивировании микромицетов, изолированных из пораженной икры, воды, использовали методы, применяемые для изучения водных оомицетов по Цейпу. Всего было собрано 330 проб и проведено 3630 анализов.

Работа с патогенными микроорганизмами проводилась в стерильных условиях на базе лаборатории ихтиопатологии ФГБНУ «КаспНИРХ», имеющей лицензию на деятельность, связанную с паразитическими организмами, относящимися к III и IV группам патогенности. Производственную часть эксперимента осуществляли на базе НЭБ «Биос» ФГБНУ «КаспНИРХ». При планировании экспери-

мента были учтены обработки инкубационных аппаратов, рыбоводного инвентаря хлорамином Б (20 г/м³ в течение 24 часов), регулярные заправки дезинфицирующих ковриков раствором «Forbicide» (0,5 %-ный раствор), а также соблюдение общих правил санитарии в инкубационном цехе.

Первый этап эксперимента включал в себя отработку методики выделения и культивирования «гросс-культуры» грибов *p. Saprolegnia* на различных приманках. Для этого были отобраны пробы воды и ватобразного налета с поверхности тела карповых рыб, а также зараженная икра севрюги в период их инкубации на НЭБ «БИОС». В лабораторных условиях культивировали микромицеты с помощью «приманок» (проваренное льняное семя, личинки гаммаруса и вареный куриный белок) до образования зооспорангий и гемм. В дальнейшем эксперимент проводили с использованием культур, выделенных на вареном курином белке. «Приманку» с мицелием грибов промывали в стерильной водопроводной воде и помещали в стерильные чашки Петри с такой же водой. Инкубацию проводили при температуре 19–20°C. По мере роста мицелия проводили микроскопию для определения «чистоты» культуры и наличия органов размножения.

Помимо механического способа очистки культур от бактериального загрязнения применяли химические – в воду, содержащую мицелий грибов, добавляли растворы молочной и борной кислоты, задавая рН = 7–8.

На втором этапе эксперимента в лабораторных условиях в стерильные чашки Петри с оплодотворенной икрой (по 15 г) вносили стерильную водопроводную воду и «приманку», содержащую культуру грибов на стадии образования зооспор. В контрольные емкости вносили только икру. Опыты проведены при температуре воды 19–20°C, рН = 7–8, что максимально приближено к условиям инкубации на осетровых заводах.

Следующий этап эксперимента включал в себя апробирование химических веществ в производственных условиях. С этой целью для испытания были выбраны формалин, перекись водорода и «Монклавит-1», как средства, обладающие противомикробным, про-

тивовирусным и фунгицидным действием. В рыбоводной практике для предупреждения заражения сапролегниевыми грибами икру перед закладкой на инкубацию обрабатывают 0,5 % раствором формалина (экспозиция – 3 мин). Ввиду того что формальдегид – токсичное вещество и под его воздействием происходит денатурация белка с образованием новых соединений, было решено использовать предельно низкие концентрации (табл. 1). Ветеринарный йодосодержащий препарат «Монклавит-1» был успешно апробирован на инкубируемой икре радужной форели [4], однако на данный момент отсутствует информация о его эффективности в борьбе с сапролегниозом у осетровых рыб. Перекись водорода разрушает токсины и уничтожает инфекционные агенты, является сильным окислителем и, согласно литературным источникам, может применяться в рыбоводстве [11]. Однако сведения о дозировках и схемах введения вещества отсутствуют.

Для эксперимента 07.06.2018 г. была получена икра (рис. 3а) от двух самок стерляди весом 3,6 кг и 2,8 кг и оплодотворена спермой от четырех самцов весом $1,8 \pm 0,05$ кг. Оплодотворенную икру обесклеивали танином (0,7 г/л, экспозиция – 1 мин 40 сек) и закладывали в инкубационные аппараты типа «Осетр» (по 50 г на лоток) (рис 3б). В эксперименте было задействовано 13 вкладышей (12 вкладышей на обработку испытуемыми

растворами разных концентраций и 1 вкладыш – контроль). Стойка, задействованная в эксперименте, находилась в условиях прямого тока. Ежедневно проводился гидрохимический анализ воды [3].

В период инкубации провели экспериментальную обработку икры стерляди в ваннах с заданными концентрациями растворов формалина, перекиси водорода и препарата «Монклавит-1» (дважды – на 16 и 21 стадии развития икры), выдерживая икру в течение времени соответственно концентрациям растворов (Таблица 1). Перед обработкой испытуемыми веществами икру на 3–5 мин погружали в физиологический раствор в соответствии с технологией, принятой при работе с йодсодержащими препаратами в Финляндии [14]. Для выявления патоморфологических изменений развивающихся эмбрионов перед ваннами и спустя час после них проводили микроскопию из опыта и контроля.

Параллельно был проведен эксперимент по заражению оплодотворенной икры стерляди в чашках Петри в лабораторных условиях. В качестве «приманок» использовали вареное куриное яйцо и икру севрюги, пораженную микромицетами *p. Saprolegnia*, предварительно промыв двукратно в стерильной водопроводной воде. Процесс заражения проходил при температуре воды 19–21°C, pH = 8–9.

Таблица 1

Дозировки испытуемых веществ при экспериментальной обработке оплодотворенной икры стерляди

Наименование	Экспозиция, мин.	Концентрация раствора, %
Формалин	3	0,0020
	10	0,0010
	15	0,0006
Перекись водорода	5	0,0500
	10	0,0300
	15	0,0100
«Монклавит-1»	10	3,0000
		2,5000
		2,0000
	15	1,5000
		1,0000
		0,5000

В течение всего периода инкубации осуществляли контроль и фотофиксацию эмбрионального развития стерляди и определения процента развития икры после обработки, для этого в чашку Петри отбирали 200 икринок из каждого лотка и считали количество развивающихся и количество остановившихся в развитии.

Результаты исследований и обсуждение

При выполнении первого этапа эксперимента (выделение сапролегниевых микромицетов) активный рост грибов *p. Saprolegnia* отмечен на вареном курином белке, на семенах льна и личинках гаммаруса зарастание происходило слабо (рис. 1). Из двух выбранных кислот эффективной в борьбе с бактериальным загрязнением была борная кислота.

В результате исследований из воды и из пораженной икры севрюги выделены гросскультуры грибов *p. Saprolegnia*.

Второй этап эксперимента заключался в отработке методики заражения оплодотворенной икры осетровых рыб паразитическими грибами *p. Saprolegnia*. Для этой стадии опыта было проведено получение икры от двух самок стерляди, процент оплодотворения икры составил 90 % (согласно приказа № 377 Министерства сельского хозяйства РФ от 25.08.2015 г. средний процент оплодотворения – 60 %). Плодовитость соответствовала 84 шт./г (вес икры – 11,9 мг)

Результаты показали, что заражение икры водными паразитическими грибами наступало через 12 часов (на 13–14 стадиях развития икры) (рис. 2). Через 30 часов после заражения на 20–21 стадии развития количество зараженной икры составило 5 %.

Третий этап эксперимента проводили в производственных условиях. Известно, что на развитие сапролегниоза влияет также качество икры, которое в первую очередь, связано с физиологическим состоянием производителей. Плодовитость в среднем соответствовала 68 икринок на грамм, процент оплодотворения – 85 %. Полученные показатели соответствовали норме [9] и являлись косвенным доказательством удовлетворительного состояния производителей стерляди в период нерестовой кампании.

Параллельно с производственным экспериментом проводили лабораторный по заражению икры сапролегниевыми микромицетами. Визуально начало заражения регистрировали через 11–13 часов после закладки икры (рис. 4). Патологии в пораженной сапролегниозом икре выражались в рыхлости верхней студенистой оболочки, разрушении желточных оболочек, сглаживании границ между ними, прорастании гифов внутрь оболочек. Через 35 часов от начала эксперимента процент поражения опытной икры составлял 7,3 % от общего числа, в результате микроскопирования зараженной икры было выявлено, что она остановилась в развитии. Спустя 7 часов уровень поражения достиг максимума, составив 10,6 % от общего числа икры.

Обработку оплодотворенной икры стерляди с зараженными «приманками» в чашках Петри проводили на 16 и 22 стадии по тем же схемам, как и обработку в аппарате. Результаты эксперимента показали, что микромицеты продолжали развиваться после обработок растворами как перекиси водорода, «Монклавита-1», так и формалина, что указывает на низкую фунгицидную способность испытуемых веществ указанных концентраций.

Оплодотворенная икра, задействованная в эксперименте, при инкубации находилась в условиях прямотока. Гидрохимические показатели воды, приведенные в таблице 2, соответствовали нормативным [8], а также свидетельствовали об оптимальных условиях ($t = 12,0\text{--}20,0^\circ\text{C}$; $\text{pH} = 7,0\text{--}8,3$; $\text{O}_2 = 8,0\text{--}14,5$ мг/л) для развития микромицетов *p. Saprolegnia* [6].

По результатам третьего этапа – производственного эксперимента, следует отметить, что среди выбранных концентраций раствора перекиси водорода при использовании 0,03 % выявлено наименьшее количество икры, пораженной микромицетами, но, вместе с тем, имели место случаи развития повреждений в оболочках икры и остановки в их развитии (табл. 3).

Единственный эффективный 3%-ный раствор препарата «Монклавит-1», при использовании которого не регистрировался рост микромицетов, оказывал негативное влияние на оболочки икры, уплотняя их, что влияло на

Таблица 2

Гидрохимические показатели воды при инкубировании икры стерляди в эксперименте

Дата	t°C	pH	O ₂ мг/л	NH ₄	NO ₂	NO ₃
07.06.2018	18,4	7,6	6,4	0,66	0,12	4,7
08.06.2018	18,5	7,7	5,4	0,66	0,10	6,6
09.06.2018	18,9	7,6	6,7	0,56	0,09	6,4
13.06.2018	19,6	7,6	6,0	0,65	0,15	8,6
14.06.2018	19,7	7,8	7,8	0,43	0,14	5,5
15.06.2018	20,0	7,8	8,0	0,43	0,10	3,8
17.06.2018	20,4	7,9	8,0	0,16	0,07	3,7

выклев личинки. Так, при его использовании отмечено наименьшее количество выклюнувшейся личинки (1,8 %). Однако, именно эта концентрация препятствовала заражению здоровой икры от «приманки», и после двукратной обработки раствором этой концентрации процент зараженной икры микромицетами был наименьший (11 %) (табл. 4).

После обработки икры 0,002 % раствором формалина отмечен минимальный уровень микозного заражения, но максимальный показатель отхода (табл. 5). При этом количество развивающейся икры на стадии 23–24 в лотке с контрольной группой составил 76,9 %.

После первичной обработки (16 стадия) 1%-ным, 1,5%-ным и 2,5%-ным растворами препарата «Монклавит-1» зафиксировано увеличение случаев остановки эмбрионального развития (18 стадия) по сравнению с контрольной группой в среднем на 1,6 %.

При обработке икры остальными растворами препаратов процент остановившейся в развитии икры был меньше, чем в контрольной группе. После обработки растворами перекиси водорода и формалина (18–19 стадии) приблизительно у 5,3 % остановившейся в эмбриональном развитии икры отмечено нарушение структуры оболочки. Увеличение процента остановившейся в развитии икры наблюдалось после второй обработки на 22 стадии развития, особенно при обработке 0,002 % раствором формалина (9,3 %), 1,0 %, 3,0 % раствора «Монклавита-1» (21,4 %, 13,4 % соответственно), увеличение процента остановившейся в развитии икры при обработке перекисью водорода было практически одинаковым для всех концентраций раствора (12,4–12,8 %). В контрольной группе, не подвергавшейся обработке, отмечено небольшое увеличение, от 18 к 23–24 стадии, «вставшей» икры, всего на 2,7 % (рис. 5). Со-

Таблица 3

Показатели выживаемости оплодотворенной икры в период инкубации после экспериментальной обработки растворами перекиси водорода

Концентрация вещества, %	Стадия развития икры	Количество икры, остановившейся в эмбриональном развитии, %	Количество развивающейся икры, %	Количество пораженной икры, % от общего количества в лотке
0,01	18	13	87	18
	23-24	25,8	74,2	30
0,03	18	15	85	3
	23–24	27,4	72,6	7
0,05	18	15	85	14
	23–24	27,3	72,7	30
Контрольная группа	18	20,7	79,3	11
	23–24	23,1	76,9	19

Таблица 4

Показатели выживаемости оплодотворенной икры в период инкубации после экспериментальной обработки препаратом «Монклавит-1»

Концентрация вещества, %	Стадия развития икры	Количество икры, остановившейся в эмбриональном развитии, %	Количество развивающейся икры, %	Количество пораженной икры, % от общего количества в лотке
0,5	18	14,8	85,2	28
	23–24	16,9	83,1	25
1	18	23,5	76,5	34
	23–24	44,9	55,1	48
1,5	18	21,5	78,5	37
	23–24	22,2	77,8	39
2	18	19,9	80,1	33
	23–24	20,8	79,2	29
2,5	18	21,8	78,2	36
	23–24	23,5	76,5	31
3	18	14,8	85,2	10
	23–24	28,2	71,8	11
Контрольная группа	18	20,7	79,3	11
	23–24	23,1	76,9	19

гласно приказа № 377 Министерства сельского хозяйства РФ от 25.08.2015 г. процент выживаемости икры стерляди при инкубации равен 50 %.

Наибольший уровень патологий зарегистрирован на 23–24 стадии при использовании 0,002 % формалина и 0,03 % и 0,05 % перекиси водорода (рис. 6). Кроме уплотнения оболочки, патологических изменений в икре при обработке ее раствором «Монклавита-1» не зафиксировано.

В целом поражение микозной инфекцией икры осетровых рыб после двукратной обработки растворами разной концентрации (0,002%-ным формалином, 0,03%-ной перекисью водорода и 3,0 %-ным раствором препарата «Монклавит-1») снижалось на 12,0 %, 8,0 % и 9,0 % соответственно по сравнению с контрольной группой. Остальные концентрации испытуемых веществ показали себя малоэффективными в борьбе с сапролегниевыми грибами. Результаты эксперимента

Таблица 5

Показатели выживаемости оплодотворенной икры в период инкубации после экспериментальной обработки растворами формалина

Концентрация вещества, %	Стадия развития икры	Количество икры, остановившейся в эмбриональном развитии, %	Количество развивающейся икры, %	Количество пораженной икры, % от общего количества в лотке
0,002	18	20,1	79,9	5
	23-24	29,4	70,6	10
0,001	18	13,2	86,8	9
	23-24	20,8	79,2	30
0,0006	18	11,3	88,7	11
	23-24	20,2	79,8	40
Контрольная группа	18	20,7	79,3	11
	23-24	23,1	76,9	19

Показатели выклева личинок стерляди при экспериментальной обработке икры растворами разной концентрации

Наименование	Концентрация раствора, %	Выклев личинки, %
Формалин	0,0020	10,0
	0,0010	9,8
	0,0006	16,0
Перекись водорода	0,0500	3,4
	0,0300	34,8
	0,0100	40,7
«Монклавит-1»	0,5	13,8
	1	13,3
	1,5	17,3
	2	4,8
	2,5	3,5
	3	1,8
Контрольная группа	0	87

свидетельствуют о том, что высокие концентрации апробируемых веществ являются эффективными в борьбе с микромицетами, но при этом отмечается негативное влияние таких концентраций на икру.

Минимальный показатель выклева отмечен при использовании 3,0 %-ного раствора «Монклавита-1» (1,8 %). Максимальный выклев регистрировался при обработке икры 0,01%-ным раствором перекиси водорода (40,7 %) (табл. 6). В контроле процент выклева личинки составил 87,0 %.

Личинка при переводе из опытных лотков аппарата «Осетр» в пластиковые бассейны хорошо адаптировалась, сразу распределилась в толще воды, хорошо реагировала на тактильный и шумовой раздражители. При клиническом осмотре полученной личинки были выявлены следующие патологии:

- вздутие брюшка (у 2 % личинок, полученной от икры, обработанной 0,002 % раствором формалина);

- кровоизлияния в головном отделе (у 1 % личинок, полученной от икры, обработанной 0,05 % раствором перекиси водорода).

Таким образом, все концентрации раствора формалина способствовали уплотнению оболочки икры, что в дальнейшем препятствовало выходу личинок из оболочки. Через 6 дней наблюдали 100 % гибель личинки, выключившейся от икры, обработанной формалином.

При использовании всех концентраций (Таб. 6) препарата «Монклавит-1» патологий у личинок не выявлено.

На фоне высокого процента выклева в контрольной группе выклев после обработки икры растворами испытуемых препаратов выглядит неубедительным, и может сложиться впечатление, что обработка икры от микозной инфекции является нецелесообразной. Следует отметить, что инкубация икры проходила в системе с прямоточным водоснабжением. Данные условия, в сравнении с условиями замкнутого водоснабжения, препятствуют циркуляции микозной инфекции в системе. Обработка икры препаратами ведет к увеличению числа мертвой икры, которая является основным объектом заражения для грибов *p. Saprolegnia*, а в контрольной группе это дополнительное условие отсутствовало. Нерестовая кампания на многих рыбных заводах начинается ранней весной, когда температура воды в реке составляет 5–6°C, поэтому процесс инкубации проводят в системах замкнутого водоснабжения с постоянной 16–18°C температурой, оптимальной для развития грибов *p. Saprolegnia*, что будет способствовать увеличению процента заражения икры микозной инфекцией.

Результаты эксперимента показали, что использование раствора формалина в любых концентрациях нецелесообразно, так

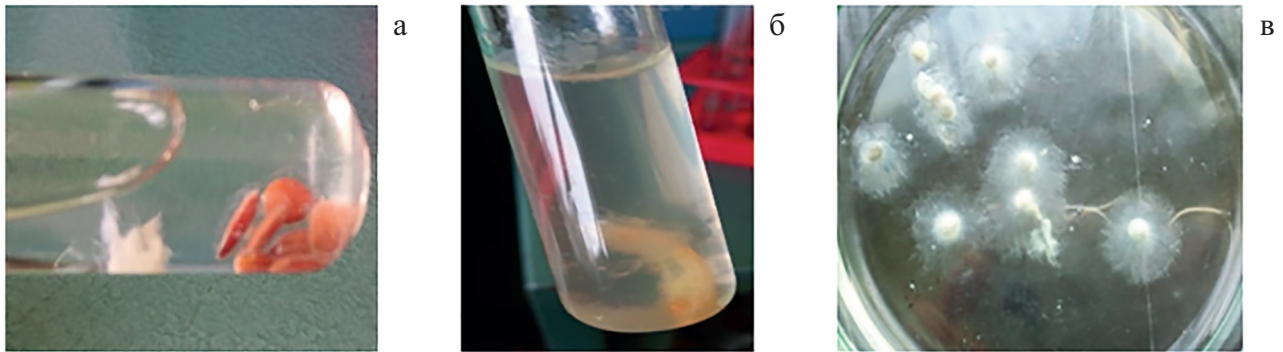


Рис. 1 Первый этап эксперимента. Виды «приманок»: проваренное льняное семя (рост грибов не отмечен) (а); личинка гаммаруса (рост грибов незначительный) (б); вареный куриный белок (отмечен активный рост грибов) (в)

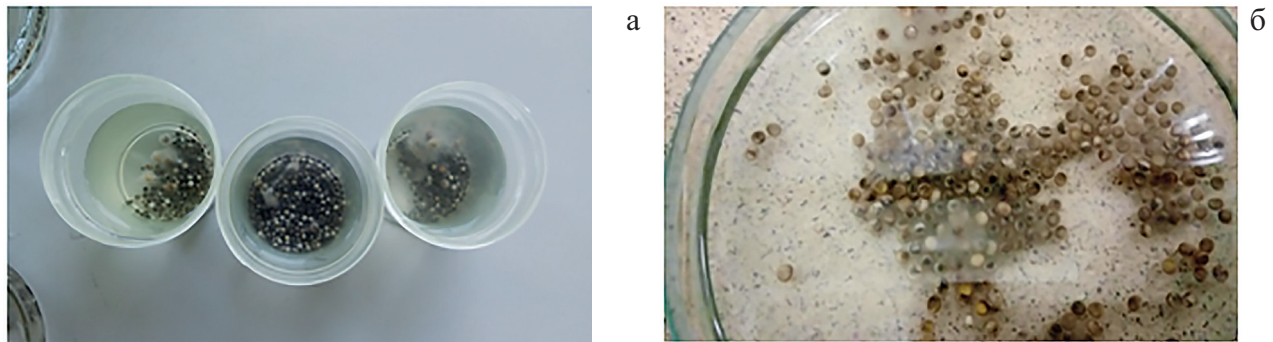


Рис. 2 Первый этап эксперимента: заражение оплодотворенной икры стерляди микромицетами *p.Saprolegnia* («приманкой») служит зараженная икра белуги): икра стерляди через 12 часов после заражения (а); икра стерляди через 14 часов после заражения (б)

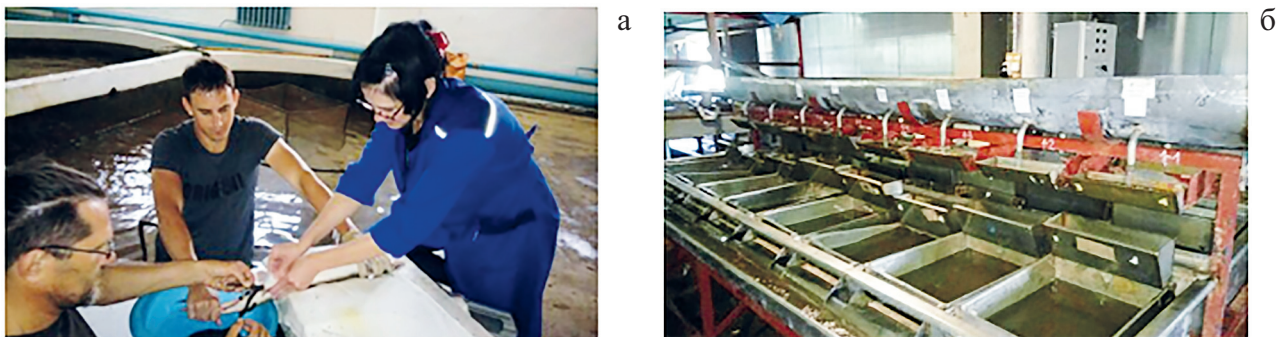


Рис. 3. Второй этап эксперимента: получение икры от стерляди (а); инкубация оплодотворенной икры в инкубационных аппаратах типа «Осетр» (б)

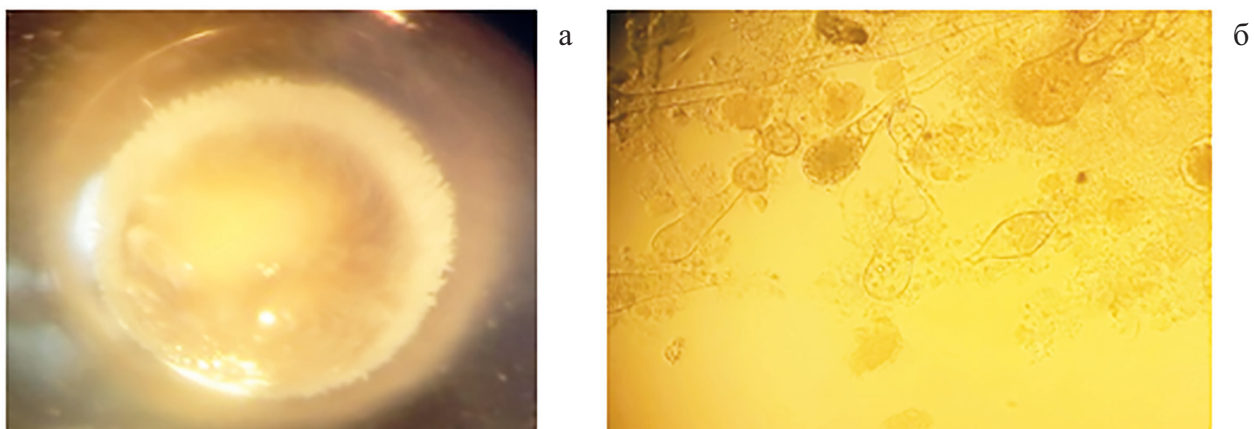


Рис. 4. Микромицеты *p. Saprolegnia*: поражение икры стерляди сапролегниозом (а); изолированная культура (б)

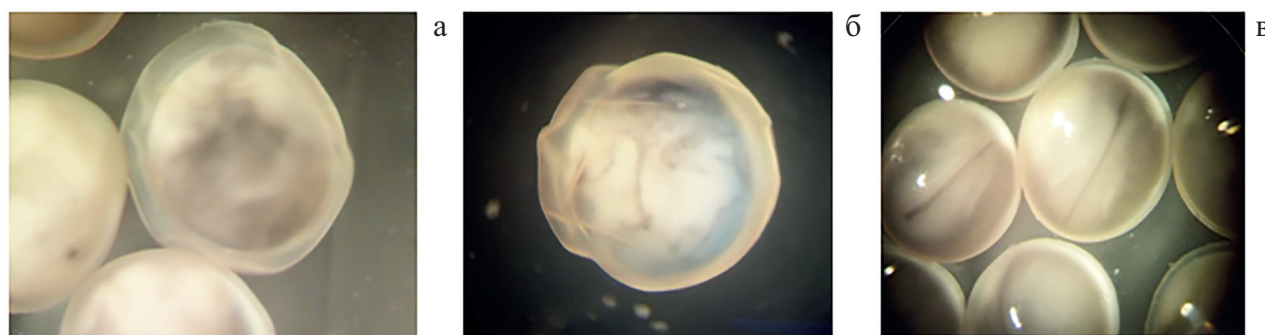


Рис. 5. Третий этап эксперимента. Внешний вид оплодотворенной икры стерляди: отслаивание поверхностного слоя после обработки перекисью водорода (23 стадия) (а); складчатая структура оболочки (22–23 стадия) (б); развитие икры без патологий (26 стадия) (в)

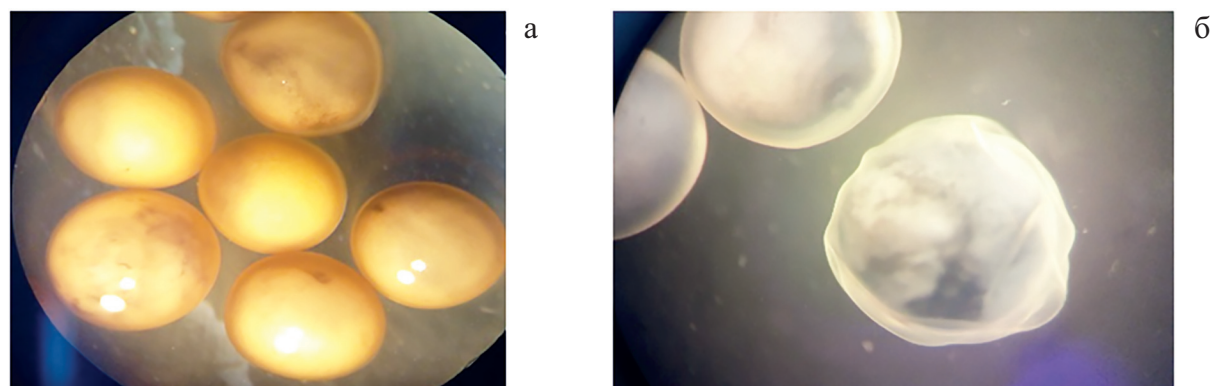


Рис. 6. Третий этап эксперимента. Внешний вид оплодотворенной икры стерляди после обработки растворами формалина: икра, остановившаяся в развитии (18 стадия) (а); складчатая структура оболочки (23 стадия) (б)

как установлено, что личинка, выклюнувшаяся после обработки икры этим веществом, нежизнеспособна.

Апробация ветеринарного препарата «Монклавит-1» показала, что все испытываемые концентрации приводили к переуплотнению оболочек икры, что в дальнейшем влияло на процесс выклева личинки. Наибольшую эффективность в борьбе с сапролегниевыми грибами показал 3,0 % раствор препарата «Монклавит-1», однако при данной концентрации зарегистрирован самый низкий уровень выклева личинки (1,8 %).

Положительный результат отмечен при использовании 0,03 % раствора перекиси водорода (снижение процента заражения икры на 8,0 %; по сравнению с другими испытываемыми растворами высокий процент выклева – 34,8 %), при этом отмечали действие раствора на оболочку икры. В связи с полученными результатами целесообразно провести эксперимент с перекисью водорода в условиях замкнутого водоснабжения, изменить и

расширить спектр ее концентраций, а также применить другую методику обработки.

Заключение

Для борьбы с микромицетами в период инкубации икры проводилась экспериментальная работа по поиску эффективного препарата – аналога органического красителя «Фиолетовый К». Установлено, что использование формалина в качестве препарата для борьбы с сапролегнией в период инкубации икры осетровых видов рыб нецелесообразно, так как данное вещество в испытанных концентрациях обладает сильным токсическим эффектом (100 % гибель личинок после выклева).

Дальнейшая работа с препаратом «Монклавит-1» должна быть связана с использованием новых концентраций и экспозиций для исключения негативного влияния на оболочки икры.

Применение перекиси водорода перспективно (при обработке раствора концентрацией 0,03 % отмечено наименьшее количество икры, зараженной микромицетами), но име-

ли место патологии при инкубации (остановка эмбрионального развития), поэтому необходимо апробировать растворы перекиси водорода наименьших концентраций при более длительной экспозиции.

Испытания препарата «Монклавит-1» и перекиси водорода должны проводиться в условиях замкнутого водоснабжения для максимального приближения к условиям инкубации икры на рыбоводных заводах.

Список литературы

1. Акимов Н. В. Атлас нарушений в гаметогенезе и строении молоди осетровых. / Н. В. Акимов, В. Б. Горюнова, Е. В. Микодина, М. П. Никольская, Г. И. Рубан, С. А. Соколова, В. Г. Шагаева, М. И. Шатуновский. М.: Изд-во ВНИРО. 2004. 120 с.
2. Головина Н. А. Ихтиопатология. / Н. А. Головина, Ю. А. Стрелков, В. Н. Воронин, П. П. Головин, Е. Б. Евдокимова, Л. Н. Юхименко. М.: Мир. 2003. 448 с.
3. Инструкция по химическому анализу воды прудов: Утв. М-вом рыб. хоз-ва СССР 20.03.84, 2-е изд., доп. М.: Изд-во ВНИИПРХ. 1985. 46 с.
4. Кузнецова Е. В. Применение препарата «Монклавит-1» для лечебно-профилактической обработки икры при сапролегниозе / Е. В. Кузнецова, Т. А. Нечаева, М. В. Мосягина, А. А. Печенкина. // Ученые записки УО ВГАВМ. Т. 52. Вып. 2. 2017. С. 72–76.
5. Ларцева Л. В. Сапролегниоз икры ценных видов рыб при искусственном разведении в дельте р. Волги: таксономия, экология, профилактика и терапия. / Л. В. Ларцева, О. В. Обухова, Ю. В. Алтуфьев. Астрахань: ИП Сорокин Р.В., 2017. 98 с.
6. Ларцева Л. В. Профилактика и терапия сапролегниоза осетровых и белорыбицы при искусственном их разведении / Л. В. Ларцева. Автореф. дис... канд. биол. наук. М., 1987. 24 с.
7. Литвинов М. А. Методы исследования микроскопических грибов пресных и соленых водоемов. / М. А. Литвинов, И. А. Дудка. Л.: Наука, 1975. 150 с.
8. Отраслевой стандарт ОСТ 16372-87 Вода для рыбоводных хозяйств. Общие требования и нор-

мы. От 1 апреля 1988. [утвержден Министерством рыбного хозяйства СССР (Минрыбхоз СССР)] [Электронный ресурс] – URL: https://standartgost.ru/g/%D0%9E%D0%A1%D0%A2_15.372-87.

9. Приказ министерства сельского хозяйства РФ № 377 от 25 августа 2015 г. «О внесении изменений в Методику расчета объема добычи (вылова) водных биологических ресурсов, необходимого для обеспечения деятельности рыболовных хозяйств, при осуществлении рыболовства в целях аквакультуры (рыбоводства), утвержденную приказом Минсельхоза России от 30 января 2015 г. № 25».

10. Приказ Россельхознадзора № 191 от 19.04.2012 г. № 191 «О лицензировании фармацевтической деятельности», с изменениями и дополнениями от 18.05.2012 г.

11. Рахконен Р. Здоровая рыба. Профилактика, диагностика и лечение болезней. / Рахконен Р., Веннерстрем П., Ринтамяки-Киннунен П., Каннел Р. Хельсинки: НИИ охот. и рыб. хоз-ва Финляндии, 2003. 180 с.

12. Рекомендации по организации противопаразитарных обработок в рыбоводстве от 7.10.1999 г.

13. Сборник инструкций и нормативно-методических указаний по промышленному разведению осетровых рыб в Каспийском и Азовском бассейнах. М.: Изд-во ВНИРО. 1986. 271 с.

14. Нечаева Т. А., Кузнецова Е. В., Варюхин А. В., Петропавловский А. Г. Способ повышения сопротивляемости икры к заболеваниям [Электронный ресурс] – URL: <http://www.freepatent.ru/patents/2421987-29.10.2018> г.

15. ТР ЕАЭС 040/2016. Технический регламент Евразийского экономического союза «О безопасности рыбы и рыбной продукции» (принят Решением Совета Евразийской экономической комиссии 18.10.2016 г. № 162).

16. ФЗ «О лицензировании отдельных видов деятельности» от 04.05.2011 г. № 99–ФЗ, с изменениями и дополнениями от 03.08.2018 г.; приказа Россельхознадзора от 19.04.2012 г. № 191.

17. Флоринская А.А. Материалы по видовому составу и экологии плесневых грибов – возбудителей сапролегниоза рыб в Ленинградской области. / А. А. Флоринская // Известия ГосНИОРХ, 1969. Т. 69. С. 103–123.

Объективная проверка слуха у животных. ВАЕР тест

С 2018 года ЧОУ ДПО "Институт Ветеринарной Биологии" проводит обучающий курс по объективной проверке слуха у животных, проведению ВАЕР-теста у собак, кошек и других видов животных. Курс включает в себя теоретическую и практическую программы. В теоретической части занятий, слушатели знакомятся с теорией процесса регистрации вызванных слуховых потенциалов и основами нейрофизиологии. За время практических занятий каждый курсант обучается самостоятельно проводить осмотр животного перед проведением ВАЕР теста, проверять племенные документы (для выписки сертификата допуска в разведение) непосредственно выполнять ВАЕР тест, фиксировать данные тестирования, интерпретировать данные тестирования, выписывать экспертное заключение о результатах ВАЕР теста. По окончании курсов слушатели, прошедшие итоговое испытание, получают СЕРТИФИКАТ СПЕЦИАЛИСТА по проведению ВАЕР теста.

Курс рассчитан на практикующих ветеринарных врачей. На курсах организована продажа книг по ветеринарии. Вы можете забронировать интересующие вас издания через форму на сайте, а оплатить и получить заказ в первый день занятий. Место проведения: Санкт-Петербург, ул. Ораниенбаумская, д. 3, лит. Б, ЧОУ ДПО "Институт Ветеринарной Биологии" (схема проезда)

Предварительная регистрация обязательна! Для регистрации на данный курс необходимо прислать заявку в свободной форме на адрес E-mail: virclin@mail.ru