

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«АСТРАХАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи

ВИКТОРИЯ ВЛАДИМИРОВНА БАРИНОВА

**ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ  
ИНКУБАЦИИ ИКРЫ ОСЕТРОВЫХ ВИДОВ РЫБ**

Специальность 06.04.01 – Рыбное хозяйство и аквакультура

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата сельскохозяйственных наук

Научный руководитель:  
доктор сельскохозяйственных наук,  
профессор  
А. А. Бахарева

Астрахань, 2022

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ОГЛАВЛЕНИЕ .....	2
ВВЕДЕНИЕ .....	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	13
1.1 Проблемы качества воды на рыбоводных заводах .....	13
1.2 Влияние качества воды на эмбриональное развитие осетровых видов рыб в условиях индустриальной аквакультуры .....	21
1.3 Влияние химических веществ на эмбриональное развитие осетровых видов рыб .....	25
1.4 Лечебно-профилактические мероприятия при инкубации икры осетровых видов рыб .....	29
1.5 Физиолого-биохимические исследования крови производителей осетровых видов рыб (белуги и русского осетра) в аквакультуре .....	38
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ .....	43
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ .....	56
3.1 Анализ гидрохимических показателей воды в период инкубации икры, выращивания молоди белуги и русского осетра .....	56
3.2 Физиолого-биохимическая оценка состояния производителей белуги и русского осетра из маточного стада НЭКА «БИОС» .....	61
3.3 Определение степени влияния химических веществ на развитие сапролегниевых микромицетов <i>in vitro</i> .....	67
3.4 Влияние химических веществ на выживаемость эмбрионов осетровых рыб и экстенсивность их инвазии микромицетами сем. Saprolegniaceae .....	72
3.5 Влияние растворов химических веществ на развитие тканей и органов белуги и русского осетра в период эмбрионального развития .....	87

3.6 Рыбоводно-биологическая характеристика белуги, полученной от икры, обработанной растворами химических веществ .....	104
ГЛАВА 4 РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКЕ ИКРЫ ОСЕТРОВЫХ ВИДОВ РЫБ (БЕЛУГИ И РУССКОГО ОСЕТРА) ПРИ ИНКУБАЦИИ .....	111
ГЛАВА 5 ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ ОБРАБОТОК ИКРЫ ОСЕТРОВЫХ ВИДОВ РЫБ В ПЕРИОД ИНКУБАЦИИ .....	114
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	117
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	121

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы исследования.** Процессы интенсификации в аквакультуре приводят к возникновению ряда проблем, касающихся эпизоотического благополучия рыбоводных хозяйств (Бахарева, 2016). Увеличение плотностей посадки рыбы или закладки икры на инкубацию приводит к ухудшению качества водной среды, в которой выращивают гидробионтов.

Одним из критических этапов выращивания осетровых видов рыб является инкубация, длительность которой составляет 6–8 дней при температуре воды 15–17 °С. Данный температурный диапазон является оптимальным для развития микромицетов сем. *Saprolegniaceae*, которые вызывают сапролегниоз. Это заболевание наносит огромный экономический ущерб рыбоводным хозяйствам. Количество заражённых ооцитов в процессе инкубации может достигать более 50 % (Казарникова, Шестаковская, 2005; Ларцева, Обухова, Алтуфьев, 2017).

Терапевтическим методом борьбы с сапролегниозом является обработка икры различными химическими веществами. Наиболее распространёнными до 2010 года являлись фиолетовый К, малахитовый зелёный, метиленовый синий, относящиеся к трифенилметановым красителям. С 2010 года, согласно Федеральному закону № 61 от 12.04.2010 г «Об обращении лекарственных средств», используемые средства для обработки объектов аквакультуры должны быть зарегистрированы в Государственном реестре лекарственных средств для ветеринарного применения. Все лекарственные препараты, не входящие в данный реестр, не разрешены к использованию.

В 2014 году специалистами Всероссийского государственного центра качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов (ФГБУ «ВГНКИ») проведены мониторинговые исследования содержания органических красителей в отечественной рыбе и их канцерогенных свойств (Риски загрязнения пищевых продуктов..., 2017). Результаты этих работ

послужили основанием для ограничения использования органических красителей в качестве терапевтических средств в аквакультуре.

В настоящее время поиск средств защиты икры и рыб от микозов проводится в разных направлениях, а именно: повышение устойчивости хозяина, использование антисептиков и штаммов бактерий, подавляющих рост сапролегнии, и т. д. Большинство исследований посвящено химическим веществам, имеющим фунгицидные или фунгистатические свойства. Для профилактики и лечения паразитарных заболеваний рыб рекомендуются к около 400 химических препаратов (Астахова, 1965; Астахова, Мартино, 1968; Глаголева, Маликова, 1968; Задорожная, 1995; Казарникова, Шестаковская, 2005; Нечаева, 2009; Здоровая рыба. Профилактика ..., 2012; Применение препарата «Монклавит-1»..., 2017).

Несмотря на обширный список химических веществ с фунгицидными свойствами, а также множество проведённых исследований (Астахова, 1965; Астахова, Мартино, 1968; Глаголева, Маликова, 1968; Мусселиус, Филиппова, 1969; Нейш, Хьюз, 1984; Микозы и микотоксикозы рыб, 1995; Сборник инструкций..., 1998; Казарникова, Шестаковская, 2005; Нечаева, 2009) по применению этих веществ в аквакультуре, разрешённые препараты практически отсутствуют. В связи с этим поиск новых фунгицидных или фунгистатических веществ в отношении сапролегниевых микромицетов, а также разработка методики обработки икры во время инкубации является в настоящее время наиболее актуальным направлением исследований в области аквакультуры.

**Степень разработанности темы исследования.** В конце XIX – начале XX века быстрыми темпами начала развиваться аквакультура, и рыбоводы столкнулись с проблемой сапролегниоза, который, как выяснилось, опасен для всех пресноводных видов рыб на всех стадиях развития (Нейш, Хьюз, 1984; Давыдов, Пьянов, Никитенко, 1985; Ларцева, 1987, 2016; Ларцева, Алтуфьев, 1987; Ларцева, Обухова, Алтуфьев, 2017; Микозы и микотоксикозы рыб, 1995; Казарникова, Шестаковская, 2005). Исследователи в большинстве случаев

ориентировались на разработку классификации оомицетов, определению родов, видов их экологии и биологии (Luisa González de Canales, 2001; Ларцева, Обухова, Алтуфьев, 2017). Изучением способов заражения организмов микромицетами, а также способов предотвращения инфицирования и лечения уже пораженных объектов занимались многие ученые (Мусселиус, Филиппова, 1969; Ларцева, 1987; Микозы и микотоксикозы рыб, 1995). Одним из первых исследователей, которая использовала органические красители, была В. А. Мусселиус (1969). Она предложила концентрации и экспозиции этих препаратов для обработки карпа от сапролегниоза и ихтиофтириоза (Мусселиус, Филиппова, 1969). Т. В. Астахова в 1960-е годы провела ряд исследований по применению растворов хлорида натрия в борьбе с сапролегниозом икры осетровых (Астахова, 1965).

Большой вклад в изучение данного заболевания внесла Л. В. Ларцева (Ларцева, Алтуфьев, 1987; Ларцева, 2016; Ларцева, Обухова, Алтуфьев, 2017), предложившая фиолетовый К и методику обработки им икры и рыбы разных возрастных групп против сапролегниоза. В течение ряда лет данное вещество достаточно эффективно применялось в рыбоводстве в качестве профилактики и лечения микозных заболеваний.

В настоящее время учёными разработаны методы обработки ооцитов рыб формалином, йодоформом, пероксидом водорода. Этими исследованиями занимались Hoffmann и Meyer (1974), Eskelinen и Forsman (1996, 2003). В нашей стране, согласно Государственному реестру лекарственных средств, разрешённых к применению в аквакультуре, единственным специализированным веществом для профилактических обработок карповых рыб является повидон йод, торговое название «Девастин» (запись в Государственном реестре... № 8434). Однако информации о его эффективности против сапролегниевых микромицетов отсутствует.

Т. А. Нечаевой (2009) и Е. В. Кузнецовой (2017) проведены работы по оценке эффективности применения лекарственного средства «Монклавит-1» против сапролегниоза икры радужной форели. Однако исследований по влиянию

данного вещества на интенсивность заражения яиц осетровых рыб в литературе не встречается. Кроме того, отсутствуют сведения об исследованиях других доступных препаратов, способных эффективно заменить органические красители. В связи с этим поиск безопасных фунгицидных препаратов для аквакультуры остаётся актуальным.

**Цель исследования.** Цель исследований заключалась в разработке технологических приёмов повышения эффективности инкубации икры на основе изучения влияния разрешённых к применению в аквакультуре фунгицидных или фунгистатических химических веществ на эмбриональное, постэмбриональное развитие осетровых видов рыб.

**Задачи исследования.** Поставленная цель определила задачи исследования:

- оценить фунгицидное/фунгистатическое воздействие растворов пероксида водорода и хлорида натрия различных концентраций на гросс-культуру сапролегниевых микромицетов *in vitro*;
- изучить физиолого-биохимические показатели крови производителей осетровых видов рыб (белуга и русский осётр) и качество полученных половых продуктов, которые использованы в эксперименте;
- определить степень влияния растворов пероксида водорода и хлорида натрия различных концентраций на выживаемость эмбрионов белуги и русского осетра в период инкубации в производственных условиях;
- оценить эффективность фунгицидного/фунгистатического воздействия растворов пероксида водорода и хлорида натрия различных концентраций на экстенсивность инвазии эмбрионов белуги и русского осетра сапролегниевыми микромицетами во время инкубации в производственных условиях;
- установить количество аномально развивающихся эмбрионов белуги и осетра русского в ходе эмбриогенеза в экспериментальных группах в период инкубации в производственных условиях;

- определить действие различных концентраций растворов пероксида водорода и хлорида натрия при обработке икры на жизнестойкость свободных эмбрионов и молоди белуги;

- разработать метод применения растворов пероксида водорода и хлорида натрия для снижения заражения сапролегниевыми микромицетами икры осетровых видов рыб во время инкубации;

- определить эффективность разработанного лечебно-профилактического метода борьбы с инвазией сапролегниевыми микромицетами в период инкубации икры осетровых рыб.

**Научная новизна работы.** Впервые проведены комплексные исследования влияния препаратов пероксида водорода и хлорида натрия на эмбриональное и постэмбриональное развитие белуги и осетра русского. Определено ингибирующее действие 4%-го раствора хлорида натрия и 0,4%-го раствора перекиси водорода на гросс-культуру сапролегниевых микромицетов *in vitro*. Оценено влияние растворов пероксида водорода и хлорида натрия на яйцевые оболочки эмбрионов. Выявлена взаимосвязь между низким содержанием липидов в крови и икре белуги и степенью инвазии эмбрионов сапролегниевыми микромицетами. На основе исследования влияния различных концентраций пероксида водорода и хлорида натрия на выживаемость эмбрионов, темп роста и физиологическое состояние молоди белуги и осетра русского определены эффективные концентрации фунгицидных растворов и разработаны рекомендации по применению растворов пероксида водорода и хлорида натрия для снижения заражения сапролегниевыми микромицетами икры осетровых видов рыб во время инкубации.

**Теоретическая и практическая значимость.** Исследовательские работы выполнялись в рамках Государственной работы «Проведение прикладных научных исследований» (раздел 6 государственного задания ФГБНУ «ВНИРО» № 076-00002-21-00).

Теоретически обоснована и экспериментально доказана фунгицидная и фунгистатическая активность пероксида водорода и хлорида натрия



в отношении сапролегниевых микромицетов в зависимости от концентраций препаратов и времени экспозиции. Комплексный анализ показателей рыбоводно-биологических, гистологических, гематологических исследований выявил степень воздействия этих препаратов на развитие эмбрионов, личинок и молоди осетровых видов рыб.

Результаты работы могут использоваться на осетровых рыбоводных заводах, фермерских хозяйствах для профилактики и лечения сапролегниоза икры осетровых рыб с целью повышения эффективности инкубации, увеличения выхода свободных эмбрионов, личинок и молоди. Выявленные при обработке фунгицидными препаратами гистологические изменения в строении оболочек ооцитов позволяют корректировать концентрации растворов веществ и длительности их воздействия.

На основании проведённых исследований разработаны рекомендации для осетровых рыбоводных хозяйств по использованию пероксида водорода и хлорида натрия для противомикозной обработки ооцитов во время инкубации.

**Методология и методы исследования.** Анализ отечественных и зарубежных научных публикаций по проблемам борьбы с сапролегниозом в аквакультуре и влияния фунгицидных препаратов на развитие микозных заболеваний рыб позволил определить цель и задачи исследований, разработать схему проведения экспериментальных работ в лаборатории методом *in vitro* и в производственных условиях. Проведены исследования влияния пероксида водорода и хлорида натрия разных концентраций на сапролегниевые микромицеты и степень воздействия этих препаратов на развитие эмбрионов, личинок, молоди осетровых рыб. В ходе выполнения исследований применялись стандартные микологические, рыбоводно-биологические, физиолого-биохимические, гистологические методы с использованием современного оборудования. Результаты исследований подвергались статистической обработке.

**Положения, выносимые на защиту:**

- растворы пероксида водорода и хлорида натрия оказывают фунгистатическое действие на масс-культуру сапролегниевых микромицетов *in vitro*, подавляя её интенсивный рост;
- качество половых продуктов, а следовательно, и степень заражения инкубируемой икры сапролегниевыми микромицетами зависит от концентрации общих липидов в крови и икре производителей осетровых видов рыб;
- степень негативного влияния растворов пероксида водорода и хлорида натрия на выживаемость эмбрионов белуги и русского осетра в период инкубации увеличивается с увеличением концентрации растворов, при этом минимальное негативное влияние оказывают растворы низкой концентрации;
- растворы пероксида водорода и хлорида натрия оказывают фунгистатическое действие на сапролегниевые микромицеты в период инвазии эмбрионов белуги и русского осетра во время инкубации в производственных условиях, снижая экстенсивность инвазии минимум в два раза;
- в ходе эмбриогенеза белуги и осетра русского в период инкубации степень проявления аномалий у развивающихся эмбрионов увеличивается с увеличением концентрации растворов пероксида водорода и хлорида натрия;
- наиболее жизнестойкие свободные эмбрионы и молодь белуги получены после обработки икры растворами пероксида водорода и хлорида натрия низких концентраций;
- применение нового метода борьбы с инвазией сапролегниевых микромицетов в период инкубации осетровых рыб позволяет снизить уровень заражения сапролегниевым микромицетом в среднем в два – три раза;
- новый метод борьбы с сапролегниозом эмбрионов осетровых рыб повысит уровень рентабельности предприятий на 40,4 %.

#### **Степень достоверности и апробации результатов.**

Достоверность результатов исследований подтверждается разнообразием проанализированных источников литературы и нормативно-правовой документации, объёмом проведённых лабораторных и производственных экспериментов с использованием современных микробиологических,

гистологических, физиологических, классических рыбохозяйственных методов исследований при достаточном количестве оплодотворённых ооцитов, свободных эмбрионов, молоди осетровых рыб.

Результаты работы обсуждались на 63-й Международной научной конференции Астраханского государственного технического университета, посвящённой 25-летию основания вуза (Астрахань, 2019 г.), VII научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Современные проблемы и перспективы развития рыбохозяйственного комплекса» (Москва, 2019 г.), IV национальной научно-практической конференции «Состояние и пути развития аквакультуры в Российской Федерации» (Калининград, 2019 г.), Международной конференции «Современное состояние и развитие аквакультуры: экологическое и ихтиопатологическое состояние водоёмов и объектов разведения, технологии выращивания» (Новосибирск, 2020 г.), 64-й Международной научной конференции Астраханского государственного технического университета, посвящённой 90-летию со дня образования АГТУ (Астрахань, 2020 г.), III Международной научно-практической конференции «Современная наука: перспективы, достижения и инновации» (Астрахань, 2020 г.), 71-й Международной студенческой научно-технической конференции (Астрахань, 2021 г.), Международном научном форуме «Каспий 2021: пути устойчивого развития» (Астрахань, 2021 г.).

По теме диссертации было опубликовано 16 статей в сборниках конференций, из них три статьи входят в международную базу цитирования и приравнены к перечню ВАК.

**Структура и объём диссертации.** Диссертационная работа изложена на 120 страницах машинописного текста (без учёта списка литературы и приложений), содержит 27 таблиц, 32 иллюстрации. Её структура включает введение, основную часть, заключение с выводами, технико-экономическим обоснованием, практическими рекомендациями, список литературы.

Библиографический указатель содержит 129 источника по 2021 год включительно, из них 111 отечественных и 18 зарубежных авторов.

## ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Проблемы качества воды на рыбоводных заводах

Главным фактором, влияющим на состояние выращиваемых осетровых видов рыб, как и любых гидробионтов, является качество воды. Для поддержания оптимальных условий выращивания осетровых видов рыб необходимо обеспечивать правильную систему очистки воды из водоисточника. Чаще всего причиной гибели гидробионтов является не инфекционное заболевание, а низкое качество воды, связанное с неправильной водоподготовкой. Бактериальные и микозные инфекции в данном случае будут носить секундарный характер, обусловленный снижением резистентности организма гидробионта.

Одним из самых важных и при этом критических этапов производства является инкубация икры. Успех этого технологического этапа определяется качеством воды на рыбоводных хозяйствах – это температура, содержание кислорода, водородный показатель, концентрация биогенов и углекислоты.

Определяющим фактором полноценного развития эмбрионов является температура воды. При её оптимальных показателях инкубируемые эмбрионы одной партии развиваются синхронно. Благоприятной температурой для роста осетровых видов рыб является 19–23 °С (Пономарев, Грозеску, Бахарева, 2006, 2013), допустим показатель 25 °С, для икры – 13–18 °С (Сборник инструкций и нормативно-методических..., 1986). Пороговые значения данного параметра вызывают асинхронность развития эмбрионов одной партии и образование различных аномалий в строении, что может привести к остановке развития и гибели зародышей (Детлаф, Гинзбург, 1954, 1969). Её сильные перепады (даже в пределах оптимальных значений) могут так же, как и пороговые значения, спровоцировать возникновение различных аномалий у эмбрионов и повреждений покровов у рыб. Температурный оптимум при инкубации икры

осетровых видов специфичен. Для русского осетра оптимальным является диапазон от 15 до 23 °С, для белуги – 10–15 °С, для стерляди – 10–15 °С, для севрюги – 17–24 °С. При возможности регулирования температурного режима рекомендуется икру русского осетра инкубировать при 15–22 °С, белуги – 14–16 °С, севрюги – 17–24 °С, стерляди – 13–15 °С (Пономарев, 2003). Допустимые колебания температуры воды в инкубационных аппаратах не должны превышать 2 °С в сутки, часовые колебания температуры – не более 0,2–0,3 °С.

Повышение температуры при инкубации может вызвать усиление интенсивности дыхания у зародыша вследствие увеличения интенсивности окислительных процессов (Пономарев, Иванов, 2009), тем самым повысить требовательность к содержанию кислорода в воде, при этом снижая его количество. У рыб интенсивность потребления данного газа изменяется в зависимости от количества поглощаемого корма и иной активности, связанной с процессами эмбрионального развития. Степень насыщенности воды кислородом обратно пропорциональна её температуре и концентрации соли. В связи с этим его концентрацию в воде необходимо контролировать, особенно в условиях высоких температур и высокой плотности посадки рыбы (Пономарев, Пономарева, 2003). Оптимальное количество кислорода, необходимое для жизни осетровых видов рыб, – 7–10 мг/л (Сборник инструкций и нормативно-методических..., 1986) при уровне насыщения 73–81 % (Черкесова, Шахназарова, 2009). Минимальное значение для осетровых видов рыб – 4 мг/л. При снижении насыщения воды кислородом до 40–60 % выживаемость эмбрионов осетровых видов рыб падает на 37 % (Чебанов, Галич, 2011).

На эмбриональное и постэмбриональное развитие значительное воздействие оказывает водородный показатель. Граница выживаемости по рН для икры находится в пределах 6,1–8,0, для молоди – 6,4–8,0 (Детлаф, Гинзбург, 1954). Отклонение реакции за пределы оптимальных значений оказывает губительное действие, особенно в щелочной среде. При низких значениях рН усиливается

отрицательное воздействие нитритов, так как аммоний и нитриты окисляются, происходит увеличение концентрации азотистой кислоты. При высоких рН возрастает концентрация токсичного для эмбрионов и молоди рыб неионизированного аммиака (Привезенцев, Власов, 2004; Чебанов, Галич, Чмырь, 2004).

Важным показателем качества воды является концентрация биогенов (ионы аммония, нитрит-ионы, нитрат-ионы), содержащихся в ней. Оптимальные значения основных показателей качества входящей воды представлены в таблице 1 согласно отраслевому стандарту на входящую воду (ОСТ 15372-87. Вода для рыбоводных хозяйств..., 1988) из водоисточника, а также литературным данным (Технологии и нормативы по товарному..., 2006; Чебанов, Галич, 2011; Бирикова, Душин, 2019).

Таблица 1 – Гидрохимические показатели воды, оптимальные для выращивания осетровых видов рыб [23; 97]

Производственный объект	t, °С	рН	O <sub>2</sub> , мг/л	O <sub>2</sub> , %	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , мг/л	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мг/л	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , мг/л	CO <sub>2</sub> , мг/л
Инкубационный цех	13–18	7,0–8,0	7,5–9,0	70–100	До 0,5	До 0,1	До 5,0	До 10,0
Бассейновый цех	15–25	6,5–8,0	От 6,0	70–100	До 2,5	До 0,5	До 1,0	10–15

Сам по себе ион аммония не токсичен для эмбрионов и молоди рыб. Рыбы выделяют свободный аммиак через жабры. Аммиак и ион аммония находятся в химическом равновесии, которое в щелочной среде смещается влево, а в кислой – вправо. Кроме рН на концентрацию неионизированного аммония влияет температура. Так, при её увеличении количество бактерий-нитрификаторов растёт, что приводит к снижению аммонийного азота в воде (Брайнбалле, 2010).

Количество ионов аммония до 10 мг/л не оказывает заметного влияния на выращиваемые объекты. Предельная концентрация аммиака не должна превышать 0,05 мг/л. Регулируя величину рН, можно уменьшать содержание свободного аммиака и, тем самым, избегать токсикозов (Качество водной среды при выращивании рыбы...[Электронный ресурс]. URL: [https://fish-agro.ru/fish-agro/about\\_water/197-uroven-ph-i-kak-ego-regulirovat.html/](https://fish-agro.ru/fish-agro/about_water/197-uroven-ph-i-kak-ego-regulirovat.html/). (Дата обращения: 15.08.2021 г.).

Промежуточным продуктом неполного окисления аммиака являются нитриты. Их количество повышается, если происходит перегрузка системы, например, уплотнённая закладка икры на инкубацию или посадка рыбы в бассейны с превышением нормы плотности посадки. Кратковременно некоторые виды рыб способны выдержать концентрацию нитритов до 1–2 мг/л, но их темп роста резко снижается. Действие нитритов усиливается при снижении рН (Привезенцев, Власов, 2004; Жигин, 2017).

Конечным продуктом окисления нитритов являются нитраты, которые могут накапливаться в оборотной воде при отсутствии блока денитрификации. Значительного отрицательного влияния на рыб они не оказывают (Жигин, 2017), но при высокой концентрации (более 170 мг/л) могут быть причиной снижения рН, вследствие чего будут тормозиться процессы нитрификации и усиливаться действие нитритов (Привезенцев, Власов, 2004; Жигин, 2017).

Однозначного ответа о токсичности нитрат-иона нет. Она может сильно зависеть от состава катионов в растворе. При этом пресноводные рыбы более восприимчивы к токсичности нитрат-иона, чем морские. Результаты проведённого эксперимента с сеголетками радужной форели, которую выдерживали в воде с концентрацией 14 мг/л, подтверждают низкую токсичность нитрат-ионов и отсутствие влияний на баланс электролитов или гематологию. В свою очередь, экспериментальные работы с икрой и ранней молодью той же радужной форели показали высокую чувствительность данных объектов к концентрации 1,1–4,5 и 5,0–6,0 мг/л соответственно (Токсичность нитрата для водных животных... [Электронный ресурс]. URL: <https://aquavitro.org/2018/12/12/toksichnost-nitrata-dlya-vodnyx-zhivotnyx/> (Дата обращения: 10.05.2022)).

Одним из важных показателей является насыщение воды свободной углекислотой, при росте концентрации которой в воде её выделение из организма рыбы осложняется и начинается аутоксикоз. В системах с УЗВ значительная часть свободной углекислоты удаляется за счёт аэрации (уходит с прошедшим через воду воздухом в атмосферу).



С поступающей в рыбоводные цеха водой могут заноситься различные бактериальные и грибковые патогены, которые способны вызывать заболевания выращиваемых гидробионтов. Одним из самых распространённых заболеваний на рыбоводных предприятиях с рециркуляционными системами является сапролегниоз – микозное заболевание рыбы и икры, широко распространённое как в аквакультуре, так и в естественных водоёмах (Давыдов, Пьянов, 1985; Diagnosis, treatment and prevention of the diseases...[Electronic resource]. URL: [https://www.dpi.nsw.gov.au/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0010/638416/Silver-Perch-Diseases-Manual.pdf](https://www.dpi.nsw.gov.au/__data/assets/pdf_file/0010/638416/Silver-Perch-Diseases-Manual.pdf). (Дата обращения: 13.08.2021). Болезнь вызывается микромицетами порядка Saprolegniales (Казарникова, Шестаковская, 2005). Кроме рода *Saprolegnia* в семейство Saprolegniaceae входят многочисленные рода других микромицетов, которые также являются возбудителями сапролегниоза, например роды *Achlya*, *Dictyuchus*, *Leptolegnia* и др.

СапролегНИЕВЫЕ микромицеты относятся к классу оомицетов, который подразделяют на четыре порядка: Lagenidiales, Peronosporales, Leptomitales, Saprolegniales. Наиболее часто встречаемыми родами из порядка Saprolegniales является р. *Achlya* и р. *Saprolegnia* (Нейш, Хьюз, 1984). В свою очередь, класс Oomycetes входит в отдел Eumycota. Однако в последнее десятилетие некоторые исследователи выделяли часть организмов, в том числе сапролегНИЕВЫХ из царства Chromista, в самостоятельное царство Strametophila, куда их поместили наряду с бурыми и диатомовыми водорослями. Классификация сапролегНИЕВЫХ микромицетов основана на морфолого-биологических критериях (Гарибова, Лекомцева, 2005). Основным родовым признаком является способ прорастания зооспорангия и отделение зооспор, видовыми – морфологические различия половых репродуктивных структур (Переведенцева, 2009; Porównanie fektyno scichowudwu..., 1982; Saprolegniasis en poblaciones naturales de peces..., 2001).

СапролегНИЕВЫЕ микромицеты размножаются половым и бесполом путём (рис. 1).

При бесполом размножении на мицелии образуются зооспорангии с зооспорами, имеющими на переднем конце два гетероморфных жгутика.

Зооспоры, выходя в воду, теряют жгутики через некоторое время, покрываются оболочкой и впадают в состояние покоя. Далее протопласт освобождается от оболочки и превращается вновь в зооспору, которая имеет вид почки с двумя гетероморфными жгутиками, расположенными сбоку. Зооспора оседает на теле рыбы, поверхности икры, теряет жгутики и прорастает гифой, растворяя клеточные оболочки тканей (Переведенцева, 2009).

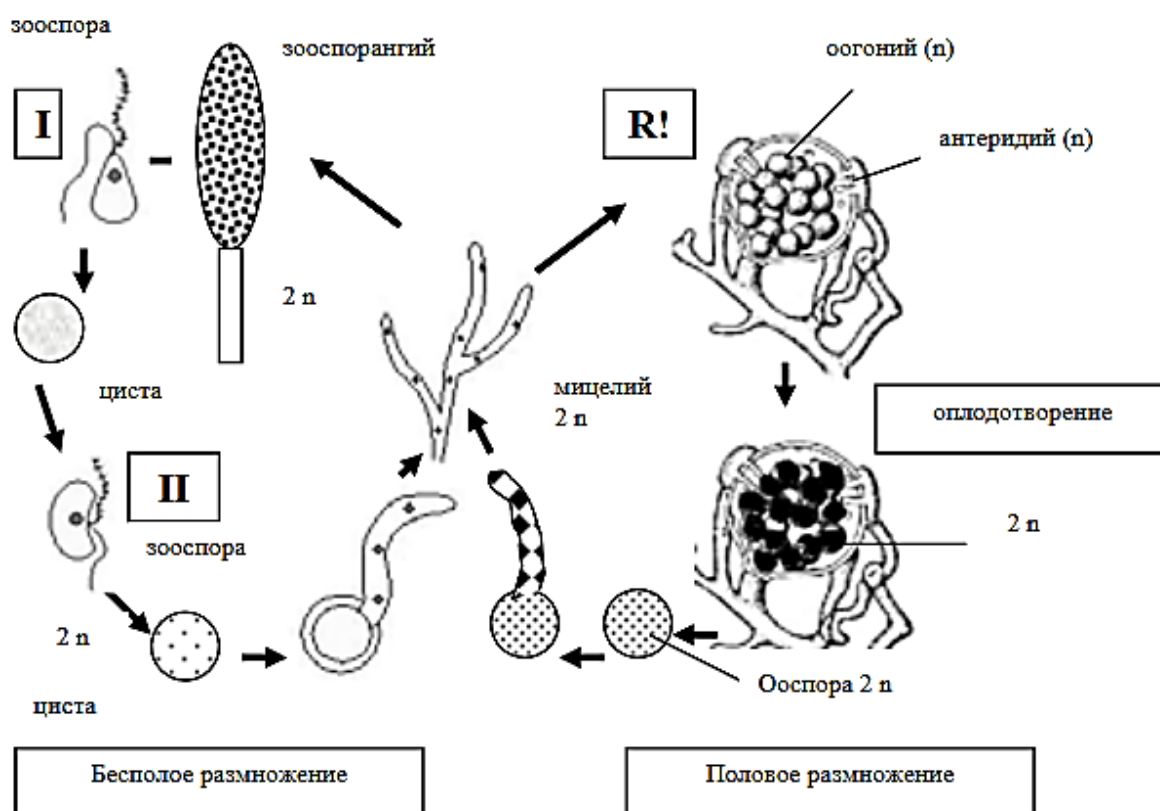


Рисунок 1 – Размножение сапролегниевых микромицетов

При половом размножении на мицелии образуются органы полового размножения – оогонии и антеридии. Оогонии, женские половые клетки, отделяются от гиф перегородкой и имеют шаровидную форму. Антеридии, мужские половые клетки, цилиндрической формы. В оогониях формируются гаплоидные яйцеклетки, в антеридиях образуются гаплоидные ядра. Содержимое антеридиев переливается в оогоний, происходит оплодотворение, формируется зигота, которая окружается двойной клеточной стенкой и превращается в ооспору (Переведенцева, 2009). Через некоторое время покоя

она прорастает спорангием или гифами. Полный жизненный цикл сапролегниевых микромицетов осуществляется за 24–50 часов в зависимости от температуры воды (Воль, 1960).

Следует отметить, что заражение происходит зооспорами, ооспорами, фрагментами гиф (пропагулы) микромицетов, «приклеивающимися» к икре рыб, покрытых слизью. Отмечено, что прорастанию микромицетов способствует большее содержание аминокислот; при наличии в среде аминокислот в тех же концентрациях, что и в тканях рыб, наблюдается прямое движение их к источнику питания (Ларцева, Алтуфьев, 1987).

Сапролегниевые микромицеты обнаруживают значительную приспособляемость к разным рН и температуре. Так, виды *S. diclina*, *S. delica*, *A. flagellate* являются видами, предпочитающими в нейтральную среду, но могут встречаться и в щелочной (Флоринкая, 1969).

Основными объектами заражения являются икра рыб, личинка, молодь, реже – сами производители. Заболевание развивается в любое время года, но для каждого вида микромицетов характерны свои оптимальные условия развития, например температурный режим или рН среды. Факторами, способствующими развитию заболевания на инкубируемой икре или у рыб, являются травмы, стресс, высокие показатели рН, несоблюдение ветеринарно-санитарных правил (Castell, Tiewes, 1979). Следует отметить, что уже через 15–20 минут после осеменения оболочки оплодотворённой икры набухают, их толщина удваивается (Ларцева, Алтуфьев, 1987; Обухова, Ларцева, Васильева, 2017), а через три часа – утраивается (Нечаева, 2009). Ещё большую прочность оболочкам придаёт фермент затвердевания (Ларцева, Алтуфьев, 1987). При этом у неоплодотворённых ооцитов прочность оболочек уменьшается, вследствие чего сапролегниевые микромицеты заражают в первую очередь неоплодотворённые ооциты, которые становятся очагами заражения, вызывая ухудшение газообмена и массовые отходы инкубируемой икры (Ларцева, Алтуфьев, 1987; Аквакультура. Информационный портал [Электронный ресурс]. URL: <https://akvakultura.ru/disease?id=181>. (Дата обращения: 02.03.2022 г.).

Следовательно, интенсивность развития сапролегниозов на икре зависит от количества оплодотворённых икринок и количества неоплодотворённой икры, которая поражается микромицетами в первую очередь.

Многим грибам свойственно токсинообразование. У сапролегниевых микромицетов токсины не найдены и предполагается, что вред, наносимый ими, выражается в некрозе тканей хозяина в прилегающих к гифам участках (Микозы и микотоксикозы рыб..., 1995; Castell, Tiewes, 1979). У молоди рыб, а также у более старших возрастных групп поражаются кожные покровы, гифы микромицетов разрушают эпидермис и проникают в дерму, нарушая такие важные функции, как слизеотделение, дыхание и осморегуляцию. В отдельных случаях гифы через кожные покровы могут проникнуть в мышцы или даже во внутренние органы. Есть мнение, что рыба, заразившаяся сапролегниозом, умирает из-за нарушения жидкостного баланса, так как через имеющиеся на коже повреждения организм начинает терять собственные жидкости (Флоринская, 1969; Чебанов, Галич, 2011).

Здоровая, нормально развивающаяся икра обычно заражается сапролегнией при контакте с поражённой мертвой икрой. Показано, что у рыб с длительным сроком инкубации икры возможно заражение и живых, развивающихся икринок. Под воздействием микромицетов происходит разрыхление поверхности оболочек икры, их деструкция, вакуолизация. В ряде случаев гифы инвазируют и внутреннее содержимое икринки (Padgett, 1980; Микозы и микотоксикозы рыб..., 1995).

Жизненный цикл сапролегниевых микромицетов сложен и состоит из многих этапов, для них характерно как половое, так и бесполое размножение. Преобладающим способом размножения является бесполое, когда гифа микромицета производит первичные жгутиковые зооспоры, которые размещаются возле гифы и переходят в состояние покоящейся споры. Покоящаяся спора может вырастить новую гифу или сформировать вторичные зооспоры, которые и считаются основным способом распространения плесневых грибов. Вторичные зооспоры могут свободно жить несколько дней или

образовывать покоящиеся споры, способные подолгу выживать в весьма неблагоприятных условиях. Благодаря спорам сапролегниоз обладает способностью к активному распространению (Флоринкая, 1969; Molnár, Székely, Láng, 2019).

Поражения, вызванные сдвигом температурных, оксиметрических и гидрохимических показателей за пределы оптимальных, могут привести к увеличению количества мёртвых объектов (икры, личинки, молоди и т. д.), которые станут субстратом для развития микромицетов.

Таким образом, для успешной инкубации и выращивания объекта аквакультуры необходимо тщательно соблюдать оптимальные для воспроизводимого гидробионта параметры среды, минимизировать риски, связанные со скачками температурных, оксиметрических и гидрохимических показателей. Также следует отметить, что исключить попадание этих патогенов в воду инкубационной или бассейновой системы затруднительно, так как имеющиеся на сегодняшний день системы водоподготовки не имеют блока, позволяющего максимально очистить воду от возбудителей данного заболевания и их зооспор.

## **1.2 Влияние качества воды на эмбриональное развитие осетровых видов рыб в условиях индустриальной аквакультуры**

Эмбриональное развитие для каждого вида рыб происходит в пределах оптимальных значений температурных, оксиметрических и гидрохимических параметров. Амплитуда данных значений у каждого вида различная. Следует отметить, что для качественной икры амплитуда значений параметров среды может быть больше, чем для икры низкого качества (Детлаф, Гинзбург, 1954).

Эмбриональное развитие зародыша осетровых, как и других организмов, протекает внутри яйцевых оболочек, зародыш питается пассивно за счёт питательных веществ желтка. Газообмен осуществляется всей поверхностью

тела, и лишь во второй половине этого периода добавляется густая сеть кровеносных сосудов желточного мешка и сегментальных сосудов.

Эмбриональное развитие осетровых делится на этапы: первый – это время от оплодотворения до конца дробления, второй – процесс образования гастрюлы, третий – период с момента закрытия желточной пробки до вылупления предличинок.

Организм эволюционно приспосабливается к определённым условиям среды: амплитудам температуры, содержанию кислорода и т. д. Резкие изменения того или иного фактора среды, выходящие за пределы оптимальных значений, оказывают негативное влияние на развивающийся организм, приводя к нарушению типичности развития, а в случае резких изменений – его остановке и гибели организма (Детлаф, Гинзбург, 1954; Детлаф, Гинзбург, Шмалькгаузен, 1969).

Максимальное количество нарушений нормального развития эмбрионов регистрируются на стадиях конца гастрюлы – начала нейрулы (Детлаф, Гинзбург, 1954). Чаще всего это неполное закрытие бластопора. Большая часть аномалий, наблюдаемых у эмбрионов на более поздних стадиях, является следствием нарушений в период гастрюляции, а это, в свою очередь, является следствием неправильного режима выдерживания производителей или неблагоприятных условий инкубации (Шалак, Садомов, 2010; Чебанов, Галич, 2013).

При соблюдении биотехники, а также при условии хорошего качества икры в конце гастрюляции встречаются лишь единичные эмбрионы с незакрывшимся бластопором (Детлаф, Гинзбург, Шмалькгаузен, 1969).

Дефицит кислорода во время инкубации (ниже 6 мг/л при 80 % насыщения) приводит к увеличению аномалий (гипертрофия сердца, водянка перикарда и др.) в развитии эмбрионов, концентрация кислорода ниже 3,0–3,5 мг/л приводит к гибели эмбрионов (Чебанов, Галич, 2011).

Известна высокая чувствительность эмбрионов к изменению температуры окружающей среды. При этом неблагоприятными в данном случае могут быть как высокие, так и низкие её значения. Одним из показателей благоприятного

температурного режима является синхронность развития эмбрионов, отсутствие сильного стадийного разброса (не более двух стадий в пробе) и одновременность вылупления предличинок (Детлаф, Гинзбург, 1954; Чебанов, Галич, 2011). Действие этого абиотического фактора выше оптимальных значений приводит к неравномерности дробления – такая икра напоминает партеногенетическую. Также наблюдается процесс нарушения инвагинации во время гастрюляции или её полное отсутствие. На более поздних стадиях эмбриогенеза могут возникнуть сложные аномалии, связанные со строением сердца, хвостового и головного отделов (Детлаф, Гинзбург, 1954).

Помимо температурного и кислородного факторов на икру сильное воздействие оказывает изменение рН. В период естественного нереста реакция воды на нерестилища колеблется от нейтральной до слабощелочной и при рН ниже 6,4 и выше 7,5–8,0 зародыши стерляди уже повреждаются (Детлаф, Гинзбург, Шмалькгаузен, 1969).

Значение водородного показателя находится в сильной зависимости от количества нитратов в воде, и при их увеличении рН сдвигается в кислую сторону, что увеличивает токсическое действие нитритов, которые также воздействуют на оболочку икры, приводят к её повреждению. Следствием повреждения оболочки является увеличение проникающей способности и её уязвимость для сапролегниевых микромицетов.

Увеличение количества мёртвых эмбрионов во время инкубации свидетельствует о степени негативного воздействия параметров среды на них.

Следует отметить, что влияние факторов на эмбриональное развитие может быть весьма разнообразным в разные периоды эмбриогенеза. В период так называемых критических этапов развития эмбрионы наиболее чувствительны даже к небольшим изменениям окружающей среды. Это связано с преобладанием процессов дифференцировки накопленного клеточного материала. Именно поэтому любые манипуляции, в том числе лечебно-профилактические мероприятия, проводят в определённые периоды, например на 16–17 стадиях развития у русского осетра: завершение этапа гастрюляции,

перемещение клеточного материала уже произошло, и на 16-й и 17-й стадиях закрывается бластопор. Далее следуют несколько особо чувствительных стадий, во время которых происходит закладка нервной пластинки, и на 21–22 стадиях развития наступает второй период минимальной чувствительности к манипуляциям. После 22-й стадии критические и некритические периоды очень быстро чередуются между собой, поэтому выделить долговременный период для манипуляций достаточно сложно. В связи с этим считается, что после 22-й стадии эмбрион осетровых нежелательно подвергать действию каких-либо манипуляций (Детлаф, Гинзбург, 1954; Детлаф, Гинзбург, Шмалькгаузен, 1969). Однако при эмбриональном развитии белуги лечебно-профилактическую обработку можно проводить до 28–29 стадий развития, то есть до начала пульсации сердечной трубки (Ларцева, Обухова, Алтуфьев, 2017).

Известно, что развитие эмбриона приводит к усложнению его строения, поэтому и изменения под действием того или иного негативного фактора могут быть разными в зависимости от силы и длительности его воздействия, стадии развития эмбриона и т. д. (Детлаф, Гинзбург, 1954; Детлаф, Гинзбург, Шмалькгаузен, 1969).

Максимальное количество погибающих эмбрионов отмечается сразу после оплодотворения. В этот период может погибать не только оплодотворившаяся икра, но и активированная в теле самки, а также неактивированная икра, которая погибает при любых условиях. Большое количество мёртвых эмбрионов отмечается и на этапе дробления. Во второй половине инкубации на развивающиеся эмбрионы значительное воздействие оказывают сапролегниевые микровицеты, которые на первом этапе заражают сначала мёртвую икру, а потом и живую.

На эмбриогенез большое влияние оказывает качество половых продуктов, полученных от производителей осетровых. Эмбрионы, полученные в результате осеменения качественной икры качественной семенной жидкостью, чаще всего демонстрируют высокую устойчивость к изменениям факторов среды, различным манипуляциям и болезням, в том числе сапролегниозу. Однако



в настоящее время рыбоводные заводы переходят на использование производителей осетровых видов рыб искусственной генерации в связи с дефицитом производителей осетровых естественной генерации (Мамедов, 2011). Поэтому рыбоводы вынуждены использовать весь рыбоводный материал, даже низкого качества, а разработка новой технологии обработки инкубируемой икры позволит получить потомство даже от половых продуктов низкого качества.

Важным фактором, влияющим на качество воды в инкубационной системе замкнутого типа, является соблюдение норм загрузки икры в аппараты, так как при увеличении плотности загрузки происходит снижение кислорода в воде и, как следствие, увеличение количества мёртвой икры и повышение концентрации биогенных элементов в воде.

Таким образом, успешность периода инкубации напрямую зависит от качества воды и соблюдения биотехники. Многочисленные факторы окружающей среды могут по-разному влиять на развитие инкубируемых эмбрионов, вызывая образование различных аномалий в развитии и даже полную остановку развития и гибель.

### **1.3 Влияние химических веществ на эмбриональное развитие осетровых видов рыб**

Живые организмы находятся в непрерывном взаимодействии с окружающей средой, параметры которой постоянно изменяются. Нормальное развитие организма возможно только тогда, когда они находятся в пределах определённых экологических границ. Если изменение какого-либо фактора выходит за пределы оптимума, то развитие организма проходит с отклонениями от нормы. Величины, характеризующие те или иные условия, при которых происходит повреждение и гибель организма, называют пороговыми. Различают

верхние и нижние пороги, между которыми находится зона оптимальных значений, так называемая зона оптимума.

У осетровых период эмбрионального развития короткий, в связи с этим условия инкубации достаточно постоянны и колебания их значений носят случайный характер. Они могут меняться за счёт жизнедеятельности самого организма. Границы нерестовой зоны оптимума определяются более чувствительными стадиями, поэтому в пределах данной зоны развитие зародышей на всех стадиях протекает типично (Детлаф, Гинзбург, Шмалькгаузен, 1969).

Согласно данным теории критических этапов развития (Детлаф, Гинзбург, Шмалькгаузен, 1969), на протяжении эмбрионального и постэмбрионального (личиночного) этапов периоды повышенной чувствительности к воздействию неблагоприятных факторов среды сменяются периодами пониженной чувствительности или устойчивостью к этим факторам. Периоды повышенной чувствительности совпадают с периодами дифференцировки, а периоды пониженной – с периодами роста – количественными изменениями (Серпунин, 2006).

У осетровых после оплодотворения подготовка к дроблению и непосредственно начальные его этапы относятся к чувствительным периодам. Далее переломным этапом является переход от дробления к гастрюляции, характеризующийся топографическим перемещением клеток анимального полюса. Переход от гастрюлы к нейруле при появлении зачатка нервной борозды характеризуется повышенной чувствительностью эмбриона. Высока его чувствительность в начале образования хвостового отдела (25-я стадия) и перед вылуплением (Детлаф, Гинзбург, Шмалькгаузен, 1969).

Таким образом, при обработке инкубируемой икры растворами химических веществ учитывают вышеперечисленные факторы. Традиционно её проводят в два этапа на наименее чувствительных стадиях: первую – на стадии большой и малой желточной пробки (16–17 стадии развития), вторую – на стадии сближения нервных валиков и обозначения зачатков выделительной системы

(21–22 стадии развития). Оказывать активное воздействие на эмбрионы позже 28–29 стадий развития (начало пульсации сердечной трубки) не рекомендуется, так как в этот период чувствительные и нечувствительные стадии выделить сложно.

Оболочки икринок осетровых рыб гораздо тоньше, рыхлее, слабее, чем лососевых. У икры осетровых под фолликулярным слоем эпителиальных клеток находится студенистая оболочка (хорион), состоящая из белков и мукополисахаридов, кроме того, в состав первичных оболочек входят жирные кислоты (Флоринская, 1969; Шалак, Садовов, 2010; Фирсова, Красильникова, Тихомиров, 2020). Оболочка сапролегниевых микромицетов состоит в основном из целлюлозы (Флоринская, 1969), которая является химически неактивным веществом и устойчива к разного рода воздействиям. Поэтому можно предположить, что оболочка икры осетровых видов рыб более восприимчива к действию химических веществ, чем оболочка микромицетов. Соответственно, химические вещества, которые ингибируют или приводят к гибели микромицетов, могут оказывать негативное действие на оболочки икры и самих эмбрионов, приводя их к гибели.

До вступления в силу Федерального закона № 61-ФЗ от 12.04.2010 г. «Об обращении лекарственных средств» (Об обращении лекарственных средств..., 2010), а также ряда других нормативных актов, ограничивающих список веществ и препаратов, используемых в области аквакультуры, инкубируемую икру на рыбоводных заводах обрабатывали органическими красителям, формалином, хлорамином, йодистыми препаратами и т. д. Не всегда данные препараты были эффективными от сапролегниевых микромицетов и безопасными для развивающихся эмбрионов, рабочего персонала и окружающей среды (Микозы и микотоксикозы рыб..., 1995; Риски загрязнения пищевых продуктов..., 2017).

Литературных данных по описанию действия того или иного химического вещества на инкубируемую икру мало, но исходя из основных химических

свойств веществ, можно предположить степень их воздействия на оболочки икры.

Долгое время на рыбоводных хозяйствах формалин использовали как дезинфицирующее средство для лечебно-профилактической обработки икры и рыбы. Данное вещество, относящееся к классу альдегидов, вызывает уплотнение тканевых структур. Механизм его действия основан на коагуляции белков и стабилизации липидов. Учитывая, что оболочка икры имеет белковую природу, становится ясно, что при обработке этим химическим веществом происходило её уплотнение, которое могло привести к нарушению обменных процессов эмбриона с окружающей средой. При этом формалин фиксировал и сами сапролегниевые микромицеты, оказывая на них фунгицидное действие. Это вещество считается канцерогенным, поэтому при его применении необходимо соблюдение строгих мер по технике безопасности персонала. В настоящее время его использование весьма ограничено, но он входит в состав многих лечебно-профилактических препаратов в аквариумистике.

Йодистые препараты способны окислять и денатурировать белки микроорганизмов, вызывая их гибель. Для препаратов молекулярного йода характерно выраженное раздражающее действие на ткани, а в высоких концентрациях – прижигающий эффект. В связи с этим белковая оболочка икры может быть повреждена при действии на неё растворами таких препаратов (Давыдов, Пьянов, Никитенко, 1985).

Перманганат калия долгое время применяли в рыбоводстве, в том числе для обработки инкубируемой икры (Казарникова, Шестаковская, 2005). В малых концентрациях оказывает вяжущее, а в концентрированных растворах – раздражающее, прижигающее и дубящее действие. Кроме того, он обладает сильными окислительными свойствами, и взаимодействие с белковой оболочкой икры может приводить к её повреждению и разрушению.

Органические красители (малахитовый зелёный, фиолетовый кристаллический и т. д.) широко использовались в аквакультуре. Однако изучение их действия на рыб позволило сделать вывод, что данные вещества

аккумулируются в организме гидробионтов, продолжительное время сохраняются в жировой ткани (Васильева, 2001) и обладают канцерогенными и тератогенными свойствами (Риски загрязнения пищевых продуктов..., 2017).

Следует отметить, что эффективность химических веществ может заключаться как в фунгицидном, так и фунгистатическом действии на сапролегниевые микромицеты, то есть вещества могут либо полностью разрушать структуру мицелия и зооспор, либо только ингибировать их рост в период инкубации. Учитывая, что обработке подвергается икра осетровых, возможен подбор химических веществ и концентраций их растворов для подавления роста и развития микромицетов в период инкубации (то есть достижение фунгистатического эффекта), что позволит снизить её заражённость и повысить выживаемость эмбрионов.

#### **1.4 Лечебно-профилактические мероприятия при инкубации икры осетровых видов рыб**

Важной составляющей биотехники разведения осетровых видов рыб (как и других объектов аквакультуры) являются лечебно-профилактические мероприятия. В настоящее время осетроводство весьма ограничено в выборе как профилактических, так и лечебных средств. Проблема профилактики или терапии инкубируемой икры осетровых видов рыб от сапролегниозов существует до сих пор. Средств и методов профилактики и лечения сапролегниозов достаточно много, но некоторые из них в настоящее время не разрешены, некоторые неэффективны либо небезопасны для рыбоводов и объектов аквакультуры.

В первую очередь, необходимо обращать внимание на профилактику возникновения и распространения сапролегниоза: соблюдать ветеринарно-санитарные правила, которые ежегодно прописываются и обновляются в плане ветеринарно-санитарных мероприятий для конкретного рыбоводного хозяйства.

Основные правила заключаются в соблюдении чистоты и порядка на всех объектах рыбоводного предприятия (цеха, бассейна, пруда, инкубационной стойки и т. д.). Деятельность предприятия должна быть организована в соответствии с разными этапами производственного цикла, например раздельное содержание рыб разных возрастов, использование отдельных инструментов для каждого бассейна, закреплять инвентарь и оборудования для каждого помещения. Все ёмкости, бассейны, инвентарь, системы трубопроводов и т. д. должны дезинфицироваться в течение рыбоводного сезона, по его завершении и перед началом работ. Необходимо провести чёткое зонирование всего предприятия на чистые и грязные зоны и обеспечивать соответствующий контроль над соблюдением правил, установленных для этих зон. Внутреннее перемещение рыбы и икры должно планироваться и осуществляться согласно требованиям ветеринарно-санитарных правил. Внешнее перемещение рыбы и икры между рыбоводными хозяйствами должно планироваться и осуществляться под контролем районной ветеринарной станции. Должен проводиться точный учёт всех мероприятий: определение качества воды, лечебно-профилактические мероприятия, учёт отхода, другие виды исследований. Несоблюдение вышеперечисленных мер может привести к снижению общей резистентности организма рыб, поэтому их выполнение является основой успешного развития рыбоводного хозяйства и могут максимально исключить развитие не только сапролегниоза, но и других заболеваний.

Ещё одним важным профилактическим аспектом является использование в нерестовой кампании качественных половых продуктов. Их качество определяет ряд факторов, основным из которых является физиологический статус производителей. Помимо производителей, на качество икры и спермы существенное влияние оказывает правильность биотехнологии получения, опыт рыбоводов, условия хранения и последующей инкубации оплодотворённой икры. Также их качество влияет на оплодотворяемость и развитие эмбрионов,

что при высоких показателях этих параметров может минимизировать заражение мёртвой икры сапролегниевыми микромицетами.

Существенному снижению заражения икры сапролегниевыми микромицетами способствует ежедневный выбор заражённых икринок и соблюдение нормативов по количеству закладываемой икры в инкубационный аппарат. Механический способ борьбы с возбудителями сапролегниоза посредством выборки заражённых икринок не может полностью решить проблему заражения инкубируемой икры, так как рыбоводы выбирают лишь ту икру, на которой гифы разрослись пышно, при этом оставляя в лотках икру на начальных стадиях заражения (Астахова, Мартино, 1968).

Одним из самых распространённых методов для борьбы с сапролегниозом до сих пор остаётся химический, который заключается в обработке инкубируемой икры различными фунгицидными и фунгистатическими средствами. При этом следует помнить о том, что оболочки икры легко проницаемы как для воды, так и для других веществ (Зотин, 1961), что может привести к негативному влиянию данных веществ на развитие эмбриона.

Одними из самых распространённых средств в аквакультуре долгое время являлись органические красители (фиолетовый К, малахитовый зелёный и т. д.).

Лечебно-профилактическую обработку икры осетровых и других видов рыб осуществляли фиолетовым К в течение 30 минут без прекращения проточности, создавая концентрацию препарата 10 мг/л. Кратность обработок зависела от вида рыб (Давыдов, Пьянов, Никитенко, 1985). Впервые фиолетовый К был применён в аквакультуре для борьбы с ихтиофтириозом (Мусселиус, Филиппова, 1969). В качестве фунгицида в борьбе с сапролегниевыми микромицетами фиолетовый К впервые применили в 1977 году на икре карпа при заводском способе получения в концентрации 5 мг/л (Жигин, 2018).

Кроме фиолетового К, для борьбы с сапролегниозом икры лососевых и других видов рыб использовали ещё один органический краситель – малахитовый зелёный в концентрации 1 : 15 000 (67 мг/л) в течение 10–30 секунд (с интервалом в 10 дней) или в концентрации 1 : 200 000 (5 мг/л) в течение

30 минут с интервалом в три дня после начала пигментации глаз (Астахова, 1965; Ихтиопатология..., 2003; Профилактика и лечение сапролегниоза...[Электронные ресурсы]. URL: <http://ribovodstvo.com/books/item/f00/s00/z0000016/st020.shtml>. (Дата обращения: 11.04.2021 г.); Болезни рыб. Сапролегниоз...). Несмотря на хороший фунгицидный эффект, получаемый при применении малахитового зелёного, указанный препарат в соответствии с литературными данными токсичен и канцерогенен (Глаголева, Маликова, 1968; Porównanie efektywno scichowudwu..., 1982; Задорожная, 1993). Это химическое вещество интенсивно поглощается гидробионтами из воды и накапливается в виде основания – лейкомалахитового зелёного, который сохраняется в жировой ткани, в связи с чем скорость его элиминации зависит от количества жира в организме (Задорожная, 1993). Отрицательное влияние малахитового зелёного на гидробионтов было описано гораздо раньше: в 60-х годах XX столетия на рыбноводном заводе Карли Латвийской ССР был проведён эксперимент на молоди лососевых рыб, в результате которого отмечено токсическое действие растворов малахитового зелёного на молодь, выражающееся в интоксикации при малых концентрациях раствора, которая сменялась резко выраженной депрессией при увеличении концентрации (Глаголева, Маликова, 1968).

Для профилактической обработки икры лососевых на рыбноводных хозяйствах применяли раствор формалина концентрацией 0,2–0,5 % (2–5 мл/л стандартного 40%-го формалина). Обработку осуществляли перед размещением икры в инкубационные аппараты в течение одной минуты. В случае увеличения количества поражённой икры лечебную обработку проводили после начала пигментации глаз с интервалом 10 дней 0,5%-м (5мл/л) раствором формалина в течение трёх минут (Здоровая рыба. Профилактика..., 2012).

Из йодосодержащих препаратов применялся йодофор (100 мг/л), в раствор которого икра на стадии «глазка» погружалась на 10–15 минут и осторожно перемешивалась с интервалами в две – три минуты на протяжении всей дезинфекции. Далее икру несколько раз ополаскивали чистой водой



или физиологическим (солевым) раствором (Здоровая рыба. Профилактика..., 2012).

Согласно данным В. И. Крюкова (2007), хорошие результаты были получены при выдерживании икринок в слабых растворах медного купороса (1 : 200 000 в течение 1 ч) и марганцовокислого калия (1 : 100 000 в течение 15 мин.). Однако следует отметить, что данные химические вещества оказались токсичными. Другими авторами рекомендовались в качестве профилактической меры против микозов рыб применение сульфата меди (0,3–0,5 г/м<sup>3</sup>) в зависимости от жёсткости воды (Hoffman, Meyer, 1974; *Alternative Therapy for the Treatment...*, 2018).

По данным Н. М. Исаевой с соавторами (1995), в США предложен метод подавления роста грибов на икре и личинках рыб с помощью соединений хрома.

Не так давно запатентовано лекарственное средство «Монклавит-1», которое прошло апробацию на икре радужной форели. Йодополимерное лекарственное средство «Монклавит-1» не является токсичным для инкубируемой икры радужной форели при трёхкратной обработке (перед закладкой на инкубацию, на 20-й день инкубации и на стадии «глазка») в концентрации от 50 до 300 мл/10 л воды при экспозиции до 20 минут (Нечаева, 2009; *Применение препарата «Монклавит-1»...*, 2017).

Пероксид водорода также применялся для предотвращения заражения сапролегниевыми микромицетами икры форели. Дозировка составляла 500–1 000 мг/л. Он является недорогим и безопасным средством, к тому же не оказывает существенного влияния на окружающую среду, разлагаясь на воду и кислород (Здоровая рыба. Профилактика..., 2012).

Разноречивые данные о способности сапролегниевых микромицетов развиваться при высоких уровнях солёности воды в эстуариях проведены в лабораторных условиях при выращивании этих грибов в специальной камере Паджета и Ландина для культивирования микроорганизмов. Доказана возможность сапролегнии (на примере *Saprolegnia australis*) адаптироваться к высокой солёности воды в эстуариях с помощью образования гемм

из вегетативного мицелия (Porównanie efektywności scichowudwu..., 1982; Микозы и микотоксикозы рыб..., 1995).

Т. В. Астахова (1965, 1968) проводила экспериментальные работы по применению 2,5%-го раствора поваренной соли в период инкубации осетровых видов рыб. Было проведено большое количество исследований по влиянию растворов натрия хлорида разных концентраций на сапролегнии, и многие из них показали положительный результат.

Самые распространённые методы обработки икры и рыбы – это кратковременные ванны без водообмена или обработка непосредственно в инкубационных аппаратах. Методы обработки представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Методы обработки икры, содержащейся в системах с разным режимом водоснабжения [85]

Объект обработки	Метод обработки	Система водоподачи
Икра	Метод рециркуляции воды	Система замкнутого водоснабжения
	Капельный метод	
	Кратковременные лечебные ванны	
Икра	Метод сквозного потока	Система прямочного водоснабжения
	Кратковременные лечебные ванны	

В системах замкнутого водообеспечения возможно применение трёх методов обработки икры: рециркуляционный, капельный и кратковременные лечебные ванны. При применении рециркуляционного метода через инкубационные ячейки многократно пропускается раствор лечебно-профилактического средства. На протяжении определённого времени с помощью сифона или насоса-дозатора в резервуар с водой подаётся средство, после чего в течение некоторого времени воду меняют на свежую (Здоровая рыба. Профилактика..., 2012).

При капельном методе обработке икры в течение некоторого времени в инкубационную систему вводится средство для достижения определённой концентрации и поддержания её на протяжении определённого времени. Далее вода в системе может замениться на свежую за счёт подпитки. Метод позволяет проводить длительную обработку при относительно низких концентрациях

лечебно-профилактического средства, уменьшая негативное воздействие на развивающиеся эмбрионы.

Наиболее популярным методом обработки является метод кратковременных ванн, так как он позволяет обрабатывать икру вне инкубационной системы и без замены системной воды. Его используют как в системах с рециркуляцией воды, так и на проточном режиме водообеспечения.

При применении метода сквозного потока лечебно-профилактическое средство подаётся с помощью сифона или насоса-дозатора в инкубационный сосуд вместе с проточной водой некоторое время (Здоровая рыба. Профилактика..., 2012). Однако он подходит только для систем с проточным водообеспечением.

Интересным приёмом обработки является использование полупроницаемой, диализной оболочки, которую изготавливают вискозным методом и широко используют в производстве колбасных изделий. Препарат, помещённый в оболочку и погружённый в воду, постепенно выделяясь, поддерживает необходимую концентрацию в течение длительного времени (Исаева, 1995).

В настоящее время появляются работы по изучению распространённости сывороточных антител против *Saprolegnia parasitica* у дикой и выращиваемой на фермах форели (Fregeneda-Grandes, Carbajal-González, Aller-Gancedo, 2009), которые могут стать основой для разработки профилактических мер борьбы с данным заболеванием.

В целом методики обработки зависят от вида рыб, типа хозяйства, условий содержания, поэтому для достижения положительного результата необходим индивидуальный подход для каждого рыбоводного хозяйства.

Ниже приведена сводная таблица 3, в которой отмечены основные лечебно-профилактические средства и методы обработки, использованные для подавления сапролегниоза вовремя инкубации.

Таблица 3 – Сводные данные по химическим веществам и лекарственным препаратам, используемым в аквакультуре для лечебно-профилактических обработок икры и рыбы от сапролегниозов

Наименование вещества/препарата	Объект обработки	Возраст	Метод обработки	Экспозиция	Концентрация вещества/препарата	Источник
1	2	3	4	5	6	7
Фиолетовый К	Икра осетровых видов рыб	От 15–17 стадий до стадии «пульсации» сердца	Капельный метод	30 мин.	10 мг/л	Ихтиопатология, 2003; Ларцева, Обухова, Алтуфьев, 2017
	Икра белорыбицы, карпа	–	–	30 мин.	5 мг/л	Исаева, 1954
Малахитовый зелёный	Икра карповых и других видов рыб (щука, судак)	Стадия бластулы-ранней гастрюлы (вторые сутки инкубации)	Кратковременные лечебные ванны	10–30 с	67 мг/л	Астахова, Марино, 1968; Ихтиопатология..., 2003
				30 мин.	5 мг/л	
Формалин	Икра осетровых видов рыб	От 15–17 стадий до стадии «пульсации» сердца	Кратковременные лечебные ванны	3 мин.	2–5 мл/л	Здоровая рыба. Профилактика..., 2012
			Метод рециркуляции воды	30 мин.	0,4 мл/л	
			Метод сквозного потока	30 мин.	0,4 мл/л	
Йодофор	Икра лососевых видов рыб	До стадии «глазка», не более двух раз в неделю	Кратковременные лечебные ванны	10–15 мин.	10 мл/л	Здоровая рыба. Профилактика..., 2012

Продолжение таблицы 3

1	2	3	4	5	6	7
Медный купорос	Икра карповых видов рыб	Данные отсутствуют*	Кратковременные лечебные ванны	60 мин.	0,005 мл/л	Крюков, Музалевская, Юшков, 2007
Перманганат калия	Икра карповых видов рыб	Данные отсутствуют*	Кратковременные лечебные ванны	15 мин.	0,01 мл/л	Крюков, Музалевская, Юшков, 2007
Пероксид водорода	Икра лососевых видов рыб	Данные отсутствуют*	Кратковременные лечебные ванны	20 мин.	500–1 000 мг/л	Здоровая рыба. Профилактика..., 2012
Монклавит-1	Икра радужной форели	При закладке на инкубацию и на стадии «глазка»	Кратковременные лечебные ванны	До 20 мин.	5–30 мл/л	Применение препарата «Монклавит-1»..., 2017
Примечания –*Запись «Данные отсутствуют» означает, что информация по стадиям обработки икры, а также возрастным группам рыб отсутствует.						

Таким образом, химические вещества и лекарственные препараты могут оказывать как фунгицидное действие, то есть полностью подавлять рост и развитие микромицетов, так и фунгистатическое, которое проявляется в подавлении роста и полной его остановке на период воздействия вещества или препарата. После окончания его воздействия рост возобновляется. По этой причине степень воздействия экспериментальных растворов химических веществ заключается в определении фунгицидного или фунгистатического действия растворов на микромицеты.

В производственных условиях для лечения сапролегниозов объектов аквакультуры могут быть использованы вещества и с фунгицидными, и с фунгистатическими свойствами. Следует учитывать, что в состав оболочки сапролегниевых микромицетов входит целлюлоза, разрушить которую сложно. Химические вещества, способные вступать во взаимодействие с целлюлозой и тем самым разрушать оболочку микромицетов, параллельно будут оказывать негативное влияние и на эмбрион во время инкубации, и на ткани рыб, которые заражены микромицетами. Поэтому применение менее агрессивных веществ, способных проявлять фунгистатическое действие, например во время инкубации, даст возможность снизить заражение эмбрионов и повысить количество полученных предличинок (Баринова, Бахарева, Бедрицкая, 2019; Баринова, Баталова, Золотовская, 2020; Предварительные результаты экспериментальных исследований..., 2020).

### **1.5 Физиолого-биохимические исследования крови производителей осетровых видов рыб (белуги и русского осетра) в аквакультуре**

Необходимым условием получения качественных половых продуктов от производителей является тщательный контроль их физиологического состояния.

Резкое сокращение численности популяции осетровых видов рыб (Гераскин, 2019) в море (Сенников, 2013) стало причиной существенного дефицита производителей естественной генерации, используемых на осетровых заводах для искусственного воспроизводства. Это и привело к необходимости формирования маточных стад, реализация которого осуществлялась путём domestikации диких рыб, а также за счёт выращивания зрелых особей в искусственных условиях по принципу «от икры до икры» (Физиолого-биохимическая характеристика..., 1984; Сравнительные морфофизиологические показатели..., 2014). В последнем случае рост, развитие и вступление в репродуктивный период у самок осетровых видов рыб проходит в несвойственной для них среде (Гераскин, 2019).

Если в естественной среде формирование самок-производителей происходит в море, то в заводских условиях – в пресной воде и, как правило, с применением искусственных кормов (Основы индустриальной аквакультуры..., 2019). Показано, что в природных условиях функциональное состояние осетровых рыб строго подчиняется сезонным изменениям параметров водной среды и колебаниям массы кормовых организмов (Alderman, 1982). Как известно, изъятие любого животного из привычной для него среды обитания и вселение в иные условия может изменить не только отдельные параметры метаболических реакций, но и в целом направленность обмена веществ (Оценка физиологической подготовленности..., 2019), что может вызвать, в конечном счёте, отрицательное воздействие и на генеративную функцию.

По результатам проведённых ранее исследований установлено, что изменение условий нагула даже в естественной среде приводит к появлению нарушений в генеративной функции у самок севрюги (Физиолого-биохимическая характеристика..., 1984). Они проявляются в виде сбоя в обмене веществ, наличием у ряда рыб признаков физиологического истощения и нарушениями процесса вителлогенеза. Вследствие этого видоизменяется биохимический состав ооцитов, что делает их неспособными к оплодотворению и, соответственно, к дальнейшему развитию. Нарушения в процессе созревания

ооцитов могут возникать не только по причине изменений в генеративном обмене, но и при отклонениях, возникающих в других физиологических системах.

Таким образом, успех в искусственном воспроизводстве осетровых во многом определяется физиологической полноценностью производителей и степенью их физиологической подготовленности к восприятию гормонального стимулирования, что обусловлено, в первую очередь, условиями содержания и полноценностью кормления производителей продукционного стада (Гераскин, 2019).

Кровь как наиболее лабильная ткань быстро реагирует на действие различных факторов и приводит к восстановлению равновесия между организмом и средой. Поэтому для ранней диагностики отклонений в физиологическом состоянии рыб большое значение имеет определение гематологических показателей.

Кровь – особая ткань, которая состоит из клеточных элементов и жидкой плазмы. Её основной функцией является транспорт разнообразных веществ, но в зависимости от характера переносимого вещества, его природы она выполняет и другие функции: дыхательную, трофическую, экскреторную, гомеостатическую, регуляторную, терморегуляторную и защитную. В состав крови входят белки, липиды, углеводы, витамины, гормоны, макро- и микроэлементы, а также продукты обмена веществ. Необходимо отметить, что её химический состав может изменяться под действием различных факторов (Гераскин, 2019).

В ранее проведённых исследованиях (Грозеску, Бахарева, 2008) показано использование гематологических показателей для отбора рыбоводно-продуктивных самок и самцов осетровых рыб на ОРЗ (Грозеску, Бахарева, 2008). У рыбоводно-продуктивных самок и самцов русского осетра озимой расы отмечали увеличение уровня гемоглобина в крови на 6 и 10 % соответственно, гематокритной величины – на 8–10 % по сравнению с яровыми. Уровень  $\beta$ -липопротеидов в крови у самцов озимой расы (Субботкин, 1979), положительно отреагировавших на гормональную стимуляцию, был выше на 28 %, у самок –



лишь на 4 %. Производители русского осетра, не отреагировавшие на гормональную стимуляцию, характеризовались низким содержанием в крови гемоглобина, повышенной СОЭ, а также более высоким уровнем ОСБ,  $\beta$ -липопротеидов.

В работе М. В. Шалак, Н. А. Садова (2010) представлены данные, характеризующие физиолого-репродуктивный статус производителей осетровых рыб при выращивании в условиях установки замкнутого водоснабжения (Шалак, Садова, 2010). На примере самок стерляди и самцов бестера показано, что концентрация половых гормонов (тестостерона, эстрадиола, прогестерона) у рыб соответствовала значениям, характерным для преднерестового периода половозрелых особей (IV СЗГ). Основные показатели сыворотки крови (общий белок, фосфор, кальций, глюкоза, АсАТ, АлАТ) изменялись в зависимости от половых и функциональных особенностей организма производителей. Высокие показатели красной крови (гемоглобин, эритроциты, гематокрит, эритроцитарные индексы) свидетельствовали о функциональной готовности рыб к нересту (Шалак, Садова, 2010).

В. Д. Сенниковым изучалась динамика гематологических показателей ленского осетра на разных стадиях зрелости (2012). Установлено, что у самок тенденция увеличения содержания гемоглобина крови и количества эритроцитов на IV СЗГ по сравнению с таковыми на III СЗГ была более выраженной. Автором отмечена взаимосвязь между готовностью самок ленского осетра к нересту и содержанием гемоглобина и количеством эритроцитов.

В работе И. Ю. Киреева и И. С. Кононенко (2010) представлен анализ гематологических показателей (гемоглобина, СОЭ, количество эритроцитов) русского осетра на ОРЗ «Кизанский» Астраханской области яровой и озимой рас. Проведённые исследования показали, что от функционального состояния производителей в конечном счёте зависит результат их размножения (Киреев, Кононенко, 2010).

Ряд авторов (Сравнительные морфофизиологические показатели..., 2014; Гайфуллина, Бахарева, Смирнова, 2016) изучали морфофизиологические

показатели крови производителей белуги, использовавшиеся на рыбоводных предприятиях р. Волги в разные временные периоды. Исследовали вариабельность размерно-весовых и физиолого-биохимических показателей крови рыб.

В работе А. А. Кокоты и др. (2014) представлены основные рыбоводные и некоторые функциональные показатели, отражающие состояние диких самок белуги, используемых для рыбоводных целей в 2004–2009 гг. Авторы показали, что в малочисленной популяции белуги по массе полученной икры доминируют впервые созревшие самки на фоне меньшего процента оплодотворения и нормальных физиологических показателей

По данным Э. А. Гайфуллиной и др. (2016) у производителей и молоди белуги, содержащихся в условиях садкового хозяйства Астраханской области в период 2012–2015 гг., основные гематологические показатели (концентрация общего сывороточного белка, гемоглобина и скорости оседания эритроцитов) находились в пределах нормы, что говорит о высокой приспособленности рыбы к условиям содержания, а также об отсутствии патологических процессов в организме.

Таким образом, литературные данные свидетельствуют о том, что исследования физиологического состояния производителей осетровых являются необходимым условием для совершенствования технологии формирования и содержания маточных стад в условиях аквакультуры, а также получения качественного рыбоводного материала. Оно напрямую зависит от состояния производителей. При этом во время инкубации заражение оплодотворённой икры будет ниже, если от производителей получена качественная икра и сперма.

## ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Экспериментальные работы по определению дозировок лечебно-профилактических средств и длительности обработок икры и молоди осетровых проводили в соответствие со схемой, представленной на рисунке 2.

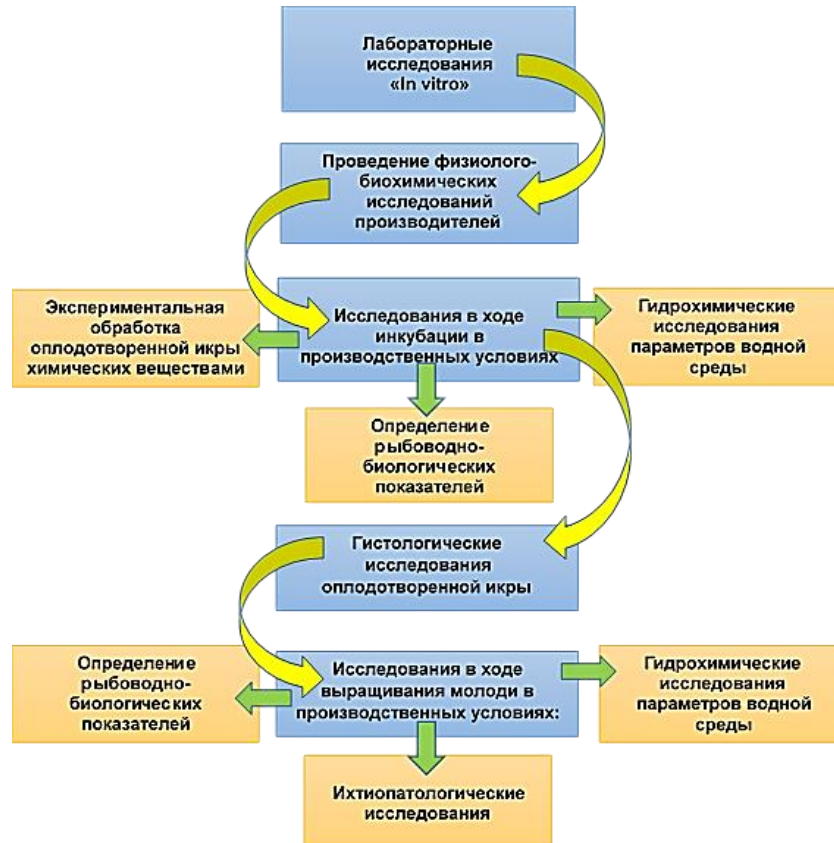


Рисунок 2 – Общая схема проведения экспериментальных работ

Лабораторные исследования были разделены на два этапа. На первом этапе экспериментальных работ устанавливали фунгистатическое и/или фунгицидное действие растворов химических веществ на культуру микромицетов сем. Saprolegniaceae. Выделение культуры и исследование её чувствительности к препаратам разной концентрации проводили от икры стерляди, поражённой сапролегниевыми микромицетами в ходе инкубации. Эксперименты с микромицетами проводили *in vitro*. Данный метод широко применяется для

предварительных лабораторных исследований в разных странах (Alderman, 1982).

Для проведения эксперимента по подавлению роста и развития сапролегниевых микромицетов, выращенных на питательной среде «Сабуро», были использованы растворы пероксида водорода и хлорида натрия разных концентраций. Эти химические вещества на практике широко используют рыбоводы для обработки молоди и производителей осетровых рыб. Несмотря на это, результаты их применения у разных авторов противоречивы, а по обработке оплодотворённой икры практически отсутствуют.

Пероксид водорода является простейшим представителем пероксидов. Антисептическое действие обусловлено оксидантным эффектом. При контакте с повреждённой кожей и слизистыми это вещество под влиянием в первую очередь каталазы, а также пероксидазы распадается с выделением кислорода (в т. ч. активных форм), что создаёт неблагоприятные условия для развития микроорганизмов, особенно анаэробной патогенной и условно-патогенной микрофлоры (Патент № 2344766).

Хлорид натрия, или натриевая соль соляной кислоты, известен в быту как поваренная соль. Хлорид натрия имеет слабые антисептические свойства (10–15%-ное содержание соли предотвращает размножение патогенных и условно-патогенных бактерий). Этот факт обуславливает её широкое применение как консерванта.

Эксперимент по определению эффективных концентраций лекарственных препаратов и химических веществ, а также их экспозиций состоял из двух последовательных этапов.

Первый этап заключался в установлении фунгистатического и/или фунгицидного действия растворов химических веществ на культуру микромицетов сем. *Saprolegniaceae*. Концентрации экспериментальных растворов приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Концентрации лекарственных препаратов и химических веществ, используемых при обработке культуры микромицетов сем. Saprolegniaceae

Вещество	Концентрация, %
Пероксид водорода	0,05
	0,1
	0,3
	0,5
	0,7
	1,0
	1,5
	3,0
Хлорид натрия	1,0
	3,0
	5,0

Концентрации рабочих растворов были выбраны исходя из предварительного анализа литературных данных (Мусселиус, Филиппова, 1969; Hashimoto, Koichi, 1980; Нейш, Хьюз, 1984; Давыдов, Пьянов, Никитенко, 1985; Микозы и микотоксикозы рыб..., 1995; Ихтиопатология..., 2003; Казарникова, Шестаковская, 2005; Нечаева, 2009; Здоровая рыба. Профилактика..., 2012; Применение препарата «Монклавит-1»..., 2017; Ларцева, Обухова, Алтуфьев, 2017; Ларцева, 2017). Дополнительные концентрации были выбраны для определения диапазона влияния веществ на рост и развитие гросс-культуры микромицетов возбудителя.

Для изучения влияния различных химических веществ на сапролегниевые микромицеты наиболее удобным методом является их испытание вне организма (*in vitro*). Данный метод популярен как инновация, а также как форма гуманного обращения с животными.

Культуру сапролегниевых микромицетов выделяли от заражённой во время инкубации икры стерляди, которую проводили в инкубационном цехе

при рН водной среды 8,7 и температуре 16 °С в течение семи суток в аппаратах типа «Осётр». Заражённую микромицетами икру помещали в стерильные контейнеры с водопроводной водой и хранили в холодильнике при температуре 4–5 °С.

Для выделения сапролегниевых микромицетов посев проводили в ламинарном боксе в асептических условиях на питательную среду «Сабуро» по стандартным микологическим методикам (Егоров, 1995; Нетрусов, Егорова, Захарчук, 2005). Инкубирование микромицетов осуществляли в термостате при температуре 23–24 °С в течение двух – пяти суток. Выделенную культуру микромицета просматривали препаратом «раздавленная капля» (окраска фуксином Циля) с помощью микроскопа «ЛабoМед-2» с системой визуализации (Нетрусов, Егорова, Захарчук, 2005). Классификацию микромицетов проводили на основе морфологических и онтогенетических особенностей (Гарибова, Лекомцева, 2005).

Для определения ингибирующего действия растворов химических веществ на микромицеты сем. *Saprolegniaceae* применяли метод диффузии в агар (Егоров, 1995). После посева культуры растворы заливали в лунки по 0,1 мл. Контролем служила чашка со стерильной водой. Инкубировали при температуре 23–24 °С до появления первых гиф микромицет. Зоны ингибирования роста микромицета измеряли в миллиметрах, мицелий просматривали в зоне непосредственного воздействия химических растворов.

Для проведения эксперимента по определению чувствительности культуры сем. *Saprolegniaceae* к химическим веществам выбраны пероксид водорода ( $H_2O_2$ ) и хлорид натрия ( $NaCl$ ) как средства, обладающие противомикробным и фунгицидным/фунгистатическим действиями (Изучение заболеваний, разработка современных..., 2019; Баринова, Бахарева, Баталова, 2020; Предварительные результаты экспериментальных исследований..., 2020).

Раствор пероксида водорода необходимой концентрации готовили методом разбавления маточного раствора дистиллированной водой. Расчёт

количества дистиллированной воды и маточного раствора проводили методом диагональной модели «конверта Пирсона», или «правила креста». В столбик записывали массовые доли имеющихся растворов (маточных), одну над другой. Правее, между двумя предыдущими массовыми долями, записывали массовую концентрацию, которую необходимо получить (рис. 3). По диагонали вычитали значения и получали массовые доли для обоих растворов или соотношение, в котором необходимо их смешать для приготовления конечного.

$$\begin{array}{ccc}
 \omega_1 & & \omega_3 - \omega_2 \\
 & \omega_3 & \\
 \omega_2 & & \omega_1 - \omega_3
 \end{array}$$

Рисунок 3 – Расчёт концентраций растворов методом модели «конверта Пирсона»

Маточный раствор пероксида водорода содержал 3 % пероксида водорода. Раствор хлорида натрия готовили путём растворения кристаллического порошка водой. Контролем служила лунка с добавлением дистиллированной воды. После инкубирования наблюдали зоны ингибирования роста микромицета в миллиметрах в районе прямого влияния химических веществ и лекарственных препаратов.

Вторым этапом эксперимента было определение эффективных экспозиций при обработке химическими веществами культуры микромицетов сем. *Saprolegniaceae*. По результатам первого этапа эксперимента были выбраны растворы веществ, с которыми продолжили работу по определению эффективной экспозиции. Схема второго этапа эксперимента представлена в таблицах 5, 6. Приготовление экспериментальных растворов описано в первом этапе исследований.

Кусочки агара с гифами микромицетов, взятые с края растущей колонии, помещали в дезинфицирующий раствор на определённое время согласно схеме эксперимента.

Таблица 5 – Схема второго этапа эксперимента: концентрации и экспозиции растворов пероксида водорода (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Концентрация, %/Т, мин.	T <sub>1</sub> , мин.	T <sub>2</sub> , мин.	T <sub>3</sub> , мин.	T <sub>4</sub> , мин.	T <sub>5</sub> , мин.
0,1	1	2	3	4	5
0,2	1	2	3	4	5
0,3	1	2	3	4	5
0,4	1	2	3	4	5
0,5	1	2	3	4	5

Таблица 6 – Схема второго этапа эксперимента: концентрации и экспозиции растворов хлорида натрия (NaCl)

Концентрация, %/Т, мин.	T <sub>1</sub> , мин.	T <sub>2</sub> , мин.	T <sub>3</sub> , мин.	T <sub>4</sub> , мин.	T <sub>5</sub> , мин.
3,0	1	2	3	4	5
3,5	1	2	3	4	5
4,0	1	2	3	4	5
4,5	1	2	3	4	5

После обработки часть агара с культурой промывали в дистиллированной воде и переносили на фильтровальную бумагу с порами диаметром 0,45 мкм, далее на чашки Петри с питательной средой «Сабуро». Рост грибов учитывали через 24, 48 и 96 часов. Оценивали интенсивность роста мицелия микромицетов на питательной среде. На основе полученных данных делали вывод об эффективности растворов химических веществ, воздействующих на сем. Saprolegniaceae.

На основании предварительных исследований *in vitro* определили диапазон эффективных концентраций растворов пероксида водорода и хлорида натрия и приступили к следующему этапу определения эффективных концентраций растворов химических веществ, необходимых для обработки развивающейся икры осетровых рыб в производственных условиях.



Исследования проводили на НЭКА «БИОС» в период инкубации белуги и русского осетра.

На первом этапе инкубации белуги определяли эффективные концентрации растворов пероксида водорода и хлорида натрия. Экспозиция со всеми испытуемыми растворами была одинаковой. По результатам первого этапа на втором этапе выбрали несколько наиболее эффективных концентраций и провели эксперимент с разными экспозициями.

Концентрации экспериментальных растворов и длительность обработки инкубируемой икры белуги в первый и второй этапы представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Концентрации экспериментальных растворов и длительность обработки инкубируемой икры белуги в период первой и второй инкубации

№ лотка	Название вещества	Концентрация, %	Время обработки, мин.	Кол-во икры на опытную группу, г
1	2	3	4	5
<b>Первый этап</b>				
1	Контроль	0,0	0,0	100
2	Пероксид водорода	0,05	10	100
3		0,05	10	100
4		0,1	10	100
5		0,1	10	100
6		0,2	10	100
7		0,2	10	100
8		0,3	10	100
9		0,3	10	100
10		0,4	10	100
11		0,4	10	100
12	Хлорид натрия	0,9	1	100
13		0,9	1	100
14		3,0	1	100
15		3,0	1	100
16		3,5	1	100

Продолжение таблицы 7

1	2	3	4	5
17		3,5	1	100
18		4,0	1	100
19		4,0	1	100
<b>Второй этап</b>				
1	Контроль	0,0	0,0	100
2	Пероксид водорода	0,05	5	100
3		0,05	10	100
2	Хлорид натрия	0,8 п. р.*	2	100
3		0,8 п. р.	5	100
4		0,9 п. р.	2	100
5		0,9 п. р.	5	100
6		0,9 г. р.**	2	100
7		0,9 г. р.	5	100
8		2,0	2	100
9		2,0	5	100
10		3,0	2	100
11		3,0	5	100
Примечание:				
*Приготовленный раствор хлорида натрия.				
**Готовый раствор хлорида натрия.				

В ходе инкубации эмбрионов русского осетра испытывали одну концентрацию раствора пероксида водорода (0,05 %) и одну – хлорида натрия (0,9 %), которые были выбраны по результатам экспериментальных работ с эмбрионами белуги. Схема эксперимента представлена в таблице 8.

Половые продукты на первом этапе эксперимента были получены от одной самки массой 95,4 кг и трёх самцов белуги средней массой  $93,5 \pm 4,3$  кг. На втором этапе – от одной самки массой 82,9 кг и четырёх самцов белуги средней массой  $89,7 \pm 13,1$  кг. В ходе проведения экспериментальных работ икру получали от

самок искусственной генерации, сперма была получена от самцов как искусственной, так и естественной генерации.

Таблица 8 – Концентрации экспериментальных растворов и длительность обработки инкубируемой икры русского осетра в период инкубации.

№ лотка	Название вещества	Концентрация, %	Время обработки, мин.	Кол-во икры на опытную группу, г
1	Контроль	0,0	0,0	100
2	Пероксид водорода	0,05	10	100
3				100
13	Хлорид натрия	0,8	2	100
14				100

Средняя масса самки русского осетра составила 22,2 кг, самцов –  $19,06 \pm 0,12$  кг. Икру для экспериментальных работ получали от доместичированной самки и трёх доместичированных самцов.

Оплодотворённую и обесклеенную танином икру инкубировали в аппаратах типа «Осётр» в условиях прямоточного водообеспечения. Поступающая вода предварительно подогревалась до необходимой температуры. В течение инкубации проводили ежедневный контроль окситермического и гидрохимического режимов в инкубационной системе (Инструкция по химическому анализу..., 1985).

Обработку икры исследуемыми веществами проводили методом кратковременных лечебных ванн (Казарникова, Шестаковская, 2005; Пронина, Корягина, 2015). Обработку эмбрионов белуги в яичевых оболочках на первом этапе проводили на стадии большой желточной пробки (16-я стадия развития) и на этапе нейруляции на стадии сближения нервных валиков эмбриона (21-я стадия развития). На втором этапе эксперимента обработка была смещена на более поздние стадии, так как заражение инкубируемой икры белуги сапролегниевыми микромицетами регистрировали только на этапе ранней нейрулы, и эмбриональное развитие белуги позволяло сместить обработку

на более поздние этапы. Поэтому первую обработку проводили на стадии сближения нервных валиков (21-я стадия), вторую – на стадии прямой удлинённой сердечной трубки (28-я стадия) до начала её пульсации (29-я стадия) (Ихтиопатология..., 2003; Ларцева, Обухова, Алтуфьев, 2017; Ларцева, 1987).

Обработку инкубируемых эмбрионов русского осетра проводили однократно на стадии сближения нервных валиков эмбриона (21-я стадия развития), так как только на этой стадии были зарегистрированы заражённые микромицетами икринки. В дальнейшем обработку не проводили, так как показатель заражения на последующих стадиях был низким.

Для оценки степени воздействия экспериментальных растворов на развитие эмбрионов определяли количество оплодотворённой икры, развивающихся эмбрионов, вылупившихся предличинок (Сборник инструкций и нормативно-методических..., 1986), а также число заражённой микромицетами сем. *Saprolegniaceae* икры и аномально развивающихся эмбрионов (Атлас нарушений в гаметогенезе..., 2004). Определение проводили с использованием микроскопа «Биомед МС-1 Стерео». В течение всего периода инкубации осуществляли контроль и фотофиксацию эмбрионального развития белуги (Поиск эффективных средств от сапролегниоза..., 2019). Количество вылупившихся предличинок определяли весовым методом (Сборник инструкций и нормативно-методических..., 1986).

Следующий за инкубацией этап выращивания полученных после второй инкубации предличинок, личинок и молоди белуги осуществляли в бассейнах с использованием живых и искусственных кормов (Сборник инструкций и нормативно-методических..., 1986).

Цель данного этапа заключалась в определении пролонгированного действия экспериментальных растворов пероксида водорода и хлорида натрия, которыми были обработаны опытные группы икры белуги.

Предличинки белуги (средней массой 34 мг), полученные от икры, обработанной дезинфицирующими средствами, и из контрольной группы были рассажены в бассейны типа ИЦА-1 в цехе с установкой замкнутого водоснабжения, далее переведены в бассейны с прямоточным режимом водоснабжения.

В течение всего периода выращивания предличинок, личинок и молоди белуги осуществляли ежедневный контроль температурного и гидрохимического режимов воды в бассейнах (Инструкция по химическому анализу воды прудов..., 1985).

На 45-й стадии развития перевод на активное питание личинок осуществляли с применением живых кормов – *Artemia sp.* и её декапсулированных яиц. Ручное кормление проводили до достижения массы молоди 1,0 г, периодичность кормления варьировалась в зависимости от количества перешедших на активное питание предличинок от 3 часов (на начальных этапах) до 1 часа (при 100%-м переходе).

Стартовый корм “Сорпепс” (протеин – 56 %, жир – 15 %) начали вводить в рацион с этапа полного перехода на активное питание 100 % личинок (Инкубация икры осетровых рыб...[Электронный ресурс] URL: [https://osetrdoma.ucoz.org/publ/tekhnologija\\_raboproizvodstva/obshaja\\_informatsia/inkubacija\\_i\\_kry\\_osetrovykh\\_ryb\\_i\\_podrashhivanie\\_ikh\\_do\\_5\\_gramm/7-1-0-8/](https://osetrdoma.ucoz.org/publ/tekhnologija_raboproizvodstva/obshaja_informatsia/inkubacija_i_kry_osetrovykh_ryb_i_podrashhivanie_ikh_do_5_gramm/7-1-0-8/). (Дата обращения 06.11.2021 г.). Живые корма (*Artemia sp.*) сохраняли в рационе в разных соотношениях с искусственным кормом до достижения массы 1,0 г. Далее кормление стартовым кормом осуществляли с использованием автокормушек. Суточная норма кормления особей массой от 0,06 до 3,00 г составляла 4,0–5,0 %.

При достижении молоди белуги средней массы 3,0 г определяли абсолютный ( $Pa$ ) и среднесуточный прирост ( $Pc$ ) (Правдин, 1966), среднесуточную скорость роста ( $A$ ) – по формуле сложных процентов, коэффициент массонакопления – по Купинскому ( $Km$ ) (Купинский, Баранов, Резников, 1986) и коэффициент упитанности – по Фультону (Fulton, 1902).

На протяжении всего периода выращивания молоди белуги каждые 14 дней проводился ихтиопатологический контроль состояния предличинок, личинок и молоди. Патологоанатомическое обследование проводили с применением микроскопии в соответствии с требованиями МУ 3.2.1756-03, МУК 3.2.988-00 (Эпидемиологический надзор...; Методы санитарно-паразитологической...).

Гистологический анализ развивающихся эмбрионов проводили в лаборатории молекулярной генетики и физиологии Волжско-Каспийского филиала ФГБНУ «ВНИРО» («КаспНИРХ»). Были отобраны пробы эмбрионов (по 10 эмбрионов в яичевых оболочках в одной пробе) после оплодотворения на разных стадиях развития.

Гистологические исследования проводили стандартными гистологическими методами (Ромейс, 1954) с фиксацией в жидкости Буэна и дальнейшей проводкой через серию спиртов возрастающей крепости и заливкой в парафин. При изготовлении гистологических препаратов использовали окраску гематоксилин-эозином и кислым фуксином с доокраской по Маллори. Просмотр препаратов проводили под микроскопом “OLYMPUS VX40”. Фотографии изготовили с помощью цифровой камеры-окуляра для микроскопа ДСМ500.

Физиолого-биохимические исследования крови производителей белуги проводили в лаборатории молекулярной генетики и физиологии Волжско-Каспийского филиала ФГБНУ «ВНИРО» («КаспНИРХ»).

У производителей белуги и русского осетра, половые продукты которых были использованы в экспериментах, отбирали прижизненно кровь из хвостовой вены с помощью медицинского шприца в соответствии с общепринятыми методиками (Методические указания по проведению..., 1999) после получения половых продуктов: для самок – посредством надрезания яйцеводов (Подушка, 1999), для самцов – с помощью уретрального катетера, соединённого со шприцом Жане (150 мл) (Бахарева, 2016).

Концентрацию гемоглобина в крови определяли унифицированным цианметгемоглобиновым фотометрическим методом (Drabkin, Austin, 1932; Бахарева, 2016), скорость оседания эритроцитов (СОЭ) устанавливали в микрокапиллярах Панченкова (Методические указания по проведению..., 1999). Биохимические показатели в сыворотке крови рыб исследовали на анализаторе “BioChem Analette”. Концентрации общего белка изучали биуретовым методом (Gornall, Bardawill, David, 1949), холестерина, триглицеридов – по реакции Триндера (Trinder, 1969). Анализ общих сывороточных липидов проводили по Цельнеру (Zollner, Kirsch, 1962), бета-липопротеидов – по Бурштейну (Химические методы исследования биологических..., 1969).

Содержание общих липидов в неоплодотворённой икре осетровых определяли модифицированным методом с сульфофосфованилиновым реактивом по Цельнеру – Киршу (Методы ветеринарной клинической..., 2004; Сенников, 2012), концентрацию водорастворимого белка – методом Варбурга и Христьяна (Методы биологии развития..., 1974; Правдин, 1966).

Гемоглобин, общие липиды и бета-липопротеиды в крови, общие липиды и водорастворимый белок определяли на спектрофотометре “Shimadzu-UV-3600 Plus”. В работе использовали диагностические наборы «Медлакор», “High Tecnology”, “DAC-SpectroMed”.

Для оценки влияния повышения концентраций экспериментальных растворов на выживаемость эмбрионов в период инкубации использовали дисперсионный однофакторный анализ (Гланц, 1998), рассчитывали коэффициент аппроксимации.

В процессе исследований было отобрано более 1 000 проб на гематологические, гистологические, микологические и рыбоводно-биологические исследования, проведено свыше 20 000 измерений, взвешиваний, расчетов рыбоводных показателей.

## ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1 Анализ гидрохимических показателей воды в период инкубации икры, выращивания молоди белуги и русского осетра

Системный контроль условий выращивания необходим для обеспечения полноценного развития гидробионтов. К ним можно отнести все внешние факторы среды, которые оказывают непосредственное или косвенное влияние на объект аквакультуры (абиотические и биотические параметры).

К числу абиотических факторов, оказывающих отрицательное влияние на исход инкубации и выращивания гидробионтов, относятся физико-химические параметры среды, которые зависят от источника водоснабжения рыбоводных хозяйств.

В настоящее время вода, поступающая на предприятие из водоисточника (рукав р. Волги – Бахтемир) характеризуется щелочной реакцией среды. Результаты гидрохимических исследований представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Окислительные и гидрохимические показатели воды в рукаве р. Волги – Бахтемир в период инкубации эмбрионов русского осетра и белуги

Дата	t, °C	pH	O <sub>2</sub> , мг/л	O <sub>2</sub> , %	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , мг/л	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мг/л	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , мг/л
1	2	3	4	5	6	7	8
<b>Период инкубации эмбрионов русского осетра</b>							
31.03	13,0	8,3	13,5	99	0,05	0,007	0,3
02.04	13,4	8,3	13,8	103	0,06	0,007	0,3
03.04	14,3	8,4	13,7	106	0,09	0,006	0,4
05.04	14,8	8,4	13,5	105	0,14	0,005	0,4
<i>M±m</i>	13,8±0,4	8,3±0,02	13,6±0,07	103,2±1,5	0,09±0,02	0,006±0,00	0,3±0,02
<b>Период инкубации эмбрионов белуги</b>							
13.04.	15,5	8,25	12,6	100	0,28	0,028	1,4
14.04.	15,7	8,3	12,4	99	0,25	0,031	1,3



Продолжение таблицы 9

1	2	3	4	5	6	7	8
15.04.	16,0	8,4	12,4	99	0,18	0,032	1,4
20.04.	17,0	8,25	12,0	99	0,15	0,02	1,4
21.04.	17,2	8,25	12,0	99	0,14	0,02	1,4
22.04.	17,2	8,25	12,0	100	0,15	0,01	1,2
23.04.	17,3	8,3	12,0	99	0,15	0,019	1,1
24.04.	17,4	8,3	12,0	99	0,14	0,020	0,8
<i>M±m</i>	16,6±0,3	8,3±0,02	12,1±0,08	99,2±0,2	0,18±0,02	0,022±0,002	1,2±0,07
ПДК*	–	–	от 4,0	–	0,5	0,08	40
Примечание – *ПДК для водных объектов рыбохозяйственного значения высшей и первой категорий в соответствии с Приложением к Приказу Министерства сельского хозяйства РФ от 13 декабря 2016 г. № 552 (с изменениями от 12 октября 2018 г., 10 марта 2020 г.).							

При оптимальных для развития эмбрионов значениях температуры воды и растворенного кислорода, водородный показатель превышал рекомендуемые нормы и характеризовал водную среду как слабощелочную –  $8,3\pm 0,02$  ед. Использование такой воды предполагает повышение значения этого показателя в инкубационной системе.

Значения окситермических и гидрохимических показателей воды в цехе в период инкубации эмбрионов русского осетра и белуги представлены в таблице 10, 11.

Таблица 10 – Окситермические и гидрохимические показатели воды в аппаратах «Осетр» в период этапа инкубации русского осетра

Дата	t, °C	pH	O <sub>2</sub> , мг/л	O <sub>2</sub> , %	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , мг/л	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мг/л	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , мг/л
1	2	3	4	5	6	7	8
31.03	16,5	8,5	9,1	91,0	0,08	0,012	1,0
01.04	16,4	8,4	9,0	92,0	0,08	0,031	1,5
02.04	16,7	8,5	8,6	89,0	0,16	0,091	4,1
03.04	16,7	8,4	8,7	88,0	0,16	0,090	4,2
04.04	16,6	8,4	8,8	89,0	0,17	0,085	3,8
05.04	16,7	8,5	8,9	89,0	0,16	0,084	3,5

Продолжение таблицы 10

1	2	3	4	5	6	7	8
$M \pm m$	16,6±0,05	8,4±0,02	8,8±0,07	89,6±0,6	0,14±0,02	0,06±0,01	3,0±0,6
Рекомендуемая норма для индустриальных рыбоводных хозяйств*	до 18,0	до 8,0	от 7,5	от 80	до 0,5	до 0,1	до 5,0
Примечание – *В соответствии с литературными данными (Брайнбалле, 2010; Чебанов, Галич, Чмырь, 2004; Чебанов, Галич, 2011) для бассейновых хозяйств с установкой замкнутого водообеспечения.							

Таблица 11 – Окситермические и гидрохимические показатели воды в аппаратах «Осётр» в период первого и второго этапов инкубации эмбрионов белуги

Дата	t, °C	pH	O <sub>2</sub> , мг/л	O <sub>2</sub> , %	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , мг/л	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мг/л	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , мг/л
1	2	3	4	5	6	7	8
<b>Первый этап</b>							
10.04	15,5	8,4	9,5	100	0,17	0,047	2,1
11.04	15,3	8,4	9,5	100	0,23	0,038	2,4
12.04	15,7	8,5	9,3	95	0,21	0,039	2,1
13.04	15,9	8,2	9,2	95	0,19	0,041	2,2
14.04	15,9	8,4	9,0	95	0,17	0,040	2,2
15.04	15,9	8,4	9,5	100	0,16	0,043	2,3
$M \pm m$	15,7±0,1	8,4±0,04	9,3±0,08	97,5±1,11	0,18±0,01	0,04±0,001	2,2±0,04
<b>Второй этап</b>							
20.04	15,5	8,3	9,4	99	0,21	0,032	1,7
21.04	15,5	8,4	9,2	88	0,21	0,028	1,5
22.04	15,6	8,4	8,5	90	0,22	0,028	1,4
23.04	15,6	8,3	8,8	92	0,27	0,051	1,1
24.04	15,8	8,4	9,6	98	0,19	0,050	1,2
25.04	15,9	8,4	9,5	97	0,20	0,045	1,1
$M \pm m$	15,6±0,06	8,4±0,02	9,2±0,2	94,0±1,9	0,22±0,01	0,04±0,004	1,3±0,09
Рекомендуемая норма для индустриальных рыбоводных хозяйств*	до 18,0	до 8,0	от 7,5	от 80	до 0,5	до 0,1	до 5,0

Примечание – \*В соответствии с литературными данными (Брайнбалле, 2010; Чебанов, Галич, Чмырь, 2004; Чебанов, Галич, 2011) для бассейновых хозяйств с установкой замкнутого водообеспечения.

Физико-химические показатели воды в процессе инкубации эмбрионов белуги и русского осетра не превышали рекомендуемых норм (ОСТ 15372-87. Вода для рыбоводных хозяйств..., 1988; Чебанов, Галич, Чмырь, 2004; Чебанов, Галич, 2011; Руководство по ветеринарно-санитарному..., 2018; Бирикова, Душин, 2019), кроме значения водородного показателя (рН), который изменялся от 8,25 до 8,5 ед. (табл. 9). Следует отметить, что смещение реакции водной среды в щелочную сторону возможно спровоцировано повышением концентрации свободного аммиака. Однако концентрация ионов аммония в воде инкубационной системы не превышала нормативных значений (Чебанов, Галич, Чмырь, 2004; Чебанов, Галич, 2011; Бирикова, Душин, 2019).

Гидрохимические показатели водоисточника в период подращивания молоди осетровых рыб не превышали предельно допустимых концентраций для водных объектов рыбохозяйственного значения высшей и первой категорий (Об утверждении нормативов качества воды..., 2016).

Согласно полученным данным, превышение рекомендуемых норм для промышленных рыбоводных хозяйств отмечено по показателям нитрат-ионов, которые колебались в пределах от 1,0 до 6,0 мг/л, а также нитрит-ионов – до 0,15 мг/л (табл. 12,13).

Таблица 12 – Гидрохимические показатели водной среды р. Бахтемир в период выращивания молоди осетровых видов рыб на НЭКА «БИОС»

Дата	Показатели						
	t, °С	O <sub>2</sub> , мг/л	рН	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , мг/л	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мг/л	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , мг/л	CO <sub>2</sub> <sup>2-</sup> , мг/л
1	2	3	4	5	6	7	8
29.04	8,4	12,5	8,2	0,16	0,02	1,3	0,56
12.05	11,0	11,5	8,4	0,13	0,03	1,5	1,76
22.05	12,7	11,3	8,4	0,15	0,04	2,0	1,32
01.06	16,0	10,0	8,4	0,12	0,04	2,8	1,32

Продолжение таблицы 12

1	2	3	4	5	6	7	8
11.06	19,6	8,8	7,9	0,08	0,02	1,8	4,12
22.06	22,0	7,6	7,9	0,11	0,02	1,2	4,22
02.07	23,3	8,3	7,8	0,17	0,02	1,7	5,28
20.07	25,7	9,0	8,4	0,18	0,02	0,8	2,64
31.07	25,0	8,3	8,3	0,15	0,02	1,0	0,88
<i>M±m</i>	18,2±2,1	9,7±0,6	8,2±0,08	0,14±0,01	0,02±0,002	1,6±0,2	2,4±0,6
ПДК*	–	от 4,0	–	0,5	0,08	40	-

Примечание – \*ПДК для водных объектов рыбохозяйственного значения высшей и первой категорий в соответствии с Приложением к Приказу Министерства сельского хозяйства РФ от 13 декабря 2016 г. № 552 (с изменениями от 12 октября 2018 г., 10 марта 2020 г.).

Таблица 13 – Гидрохимические показатели водной среды в бассейнах при выращивании личинок и молоди осетровых видов рыб

Дата	Показатели						
	t, °C	O <sub>2</sub> , мг/л	pH	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , мг/л	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мг/л	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , мг/л	CO <sub>2</sub> <sup>2-</sup> , мг/л
1	2	3	4	5	6	7	8
29.04	18,1	8,6	8,3	0,24	0,03	1,7	0,88
12.05	18,0	8,3	8,4	0,17	0,03	2,7	1,76
22.05	18,0	7,6	8,3	0,40	0,05	2,5	0,88
01.06	17,9	7,2	8,25	0,50	0,12	5,6	0,44
11.06	20,0	7,8	7,8	0,50	0,15	6,0	5,86
22.06	22,2	9,5	7,8	0,28	0,06	2,7	5,86
02.07	23,3	6,5	7,8	0,49	0,09	3,6	5,86
20.07	26,2	6,8	8,0	0,95	0,11	2,4	3,52
31.07	24,7	8,3	8,3	0,13	0,02	1,0	0,44
<i>M±m</i>	20,9±1,1	7,8±0,3	8,1±0,1	0,4±0,1	0,07±0,01	3,1±0,6	2,8±0,8
Норма для индустриальных рыбоводных хозяйств*	15–25	от 6,0	до 8,0	до 2,5	до 0,5	до 1,0	10–15

Примечание – \*В соответствии с литературными данными (ОСТ 15372-87. Вода для рыбоводных хозяйств..., 1988; Брайнбалле, 2010; Чебанов, Галич, Чмырь, 2004; Чебанов, Галич, 2011) для бассейновых хозяйств с установкой замкнутого водообеспечения.

Реакция среды водоисточника и в рыбоводных емкостях была щелочной. Такие условия оказывают негативное воздействие на выращиваемые объекты при увеличении концентрации свободного аммиака в воде. Однако в период выращивания концентрация аммония не превышала предельно допустимых значений и не влияла на состояние объектов.

Количество нитрат-ионов (6,0 мг/л) превышало допустимые значения, что может быть связано с накоплением их в системной воде в процессе нитрификации. Кислая реакция среды катализирует процесс денитрификации способствуя накоплению нитритов, оказывающих токсическое действие на рыб (Токсичность нитрата для водных животных... [Электронный ресурс]. URL: <https://aquavitro.org/2018/12/12/toksichnost-nitrata-dlya-vodnyx-zhivotnyx/> (Дата обращения: 10.05.2022)). В процессе выращивания рН в системе было в среднем  $8,1 \pm 0,1$  ед. При критических уровнях нитратной группы ионов увеличивали «подпитку» системы до 10%.

Остальные гидрохимические показатели в установке соответствовали оптимальным значениям, необходимым для нормального роста, развития и выживаемости личинок и молоди белуги, а также для поддержания двигательной и пищевой активности (Брайнбалле, 2010).

Таким образом, гидрохимические показатели источника водоснабжения и воды в рыбоводных емкостях были в пределах рекомендуемых норм для рыбоводных хозяйств, за исключением рН и концентраций нитрит и нитрат-ионов.

### **3.2 Физиолого-биохимическая оценка состояния производителей белуги и русского осетра из маточного стада НЭКА «БИОС»**

В условиях искусственного воспроизводства и товарного выращивания осетровых рыб одним из критериев получения качественного рыбопосадочного материала является оценка функционального состояния производителей.

Высокие плотности посадки, напряжённые гидрохимические условия, длительное голодание в период зимовки, а также рыбоводные манипуляции в нерестовый период и сопутствующие стресс-факторы могут быть основными причинами нарушений обмена в организме самок и самцов рыб (Барулин, 2009).

В оценке интенсивности обменных процессов живого организма исключительная роль принадлежит гемоглобину – важнейшему элементу реализации дыхательной функции животных, осуществляющему транспорт кислорода к тканям и органам и выведение углекислого газа. Концентрация гемоглобина в крови у самки белуги составила 71,2 г/л, у самцов – 76,1 до 90,6 г/л. Кровь самки и самцов русского осетра отличалась более высоким уровнем железосодержащего белка – 88,3 г/л, и 101,1–102,0 г/л, соответственно, что согласуется с данными ряда исследователей (Долидзе, 1981; Шевченко, Попова, Пискунова, 2005; Serum parameters of Adriatic..., 1998; Drabkin, Austin, 1932) и шкалой метаболического гомеостаза крови, разработанной А. Р. Лозовским (2010).

Таблица 14 – Физиолого-биохимические показатели крови и икры производителей белуги и русского осетра, используемых в экспериментальных работах

Показатели											
Масса, кг	Происхождение	Кровь								Икра	
		СОЭ, мм/ч	Гем., г/л	ОБ, г/л	ХС, ммоль/л	ОЛ, г/л	ТГ, г/л	Р, ммоль/л	β-ЛП, г/л	ОЛ	ВРБ
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>Самка белуги, I генерация</b>											
116,7	Дом.* 2012	2	71,2	39,6	3,9	5,0	1,7	14,0	4,1	7,96	119,19
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>Самцы белуги</b>											
61,7	Рмс.** 2000	4	76,1	27,2	1,8	8,0	1,6	10,0	2,3	–	–
114,8	Дом.* 2002	3	90,6	24,7	3,6	9,0	1,9	9,0	4,0	–	–
<b>Самка русского осетра, II генерация</b>											

Продолжение таблицы 14

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
22,6	Дом.* 2012 г.	5	88,3	38	4,9	13,3	2,0	2,5	3,8	9,49	100,96
<b>Самцы русского осетра</b>											
21,9	Дом.* 2012 г.	1	102, 0	28, 5	1,5	6,6	1,8	2,5	1,0	–	–
26,7	Дом.* 2005 г.	2	101, 1	26,5	1,8	7,0	1,9	3,6	1,4	–	-
Примечание – * – domesticated producers; ** – производители искусственной генерации.											

Зафиксированные величины гемоглобина у самок осетровых, вероятно связано со стрессом в период нерестовой компании.

Белок сыворотки крови является динамичным показателем, отражающим общее состояние организма, так как быстро реагирует на действие разнообразных внутренних и внешних факторов. Определение белка в сыворотке крови рыб имеет важное значение для выявления патологических изменений в организме, особенно у производителей, так как низкое содержание белка в крови может свидетельствовать об их истощении (Лукьяненко, Кулик, 1994).

В период созревания и нереста производителей рыб обмен веществ перестраивается для полноценного функционирования репродуктивной системы, способствуя снижению концентрации белка в крови и его увеличению в гонадах. Содержание общего сывороточного белка в крови самок белуги (39,6 г/л) и русского осетра (38 г/л) было выше на 21% и 17%, чем у самцов.

Комплексная оценка показателей крови самок и самцов русского осетра исключает наличие гипопроteinемия, связанной с длительным голожением во время зимовки (Давыдов, Темниханов, Куровская, 2006; Шалак, Садомова, 2010).

Известно, что липиды являются одним из структурных элементов клеточных мембран, то есть входят в липидный бислой мембран (Новые биотехнологические методы..., 2016). Содержание липидов зависит от вида

клеток и может колебаться от 30 до 55 %. Изменение свойств клеточных мембран с модификацией их компонентов приводит к развитию различных патологий (Липиды в структуре и функционировании..., 2014; Липиды биологических мембран в норме..., 2017). Уменьшение запасов липидов, а также изменение соотношения их отдельных компонентов у рыб вызывают нарушение проницаемости клеточных мембран, деструктивные и функциональные изменения в органах и тканях, что приводит к истощению организма, снижению его резистентности и последующей гибели (Кириллов, 2009).

Характерной особенностью осетровых рыб является высокое содержание липидов в сыворотке крови. У рода осетров этот показатель достигает 12,0–15,0 г/л, белуг – 9,0–13,0 г/л (Общая характеристика липидного состава..., 1995). В своих исследованиях Ю.Б. Долидзе (1981) показали, что в естественных условиях у самок белуги с гонадами, близкими к V-й стадии зрелости, содержание сывороточных липидов в крови составляло 7,41 г/л, самцов – 7,76 г/л. После гормональной стимуляции их концентрация у белуги составляла 6,23 г/л для самок, 6,52 г/л – для самцов. Результаты наших исследований выявили снижение показателей общих липидов белуги до 5,0 г/л. У русского осетра наблюдалась противоположная картина, характеризующаяся увеличением липидов в 2 раза, до 13,3 г/л. Изменение липидного спектра крови производителей белуги привело к закономерному снижению энергетического запаса в ооцитах, который проявился в низком уровне липидов – 7,96 г/л. Ооциты русского осетра оказались более обеспечены резервным веществом, концентрация липидов в ооцитах была выше в 1,2 раза чем в ооцитах белуги.

В связи с тем, что липиды входят в структуру биомембран яйцевых оболочек, снижение концентрации липидов ведет к изменению степени вязкости биомембран (Немова, Нефедова, Мурзина, 2014), что способствует нарушению обменных процессов в период эмбриогенеза.

Таким образом, снижение концентрации общих липидов в крови осетровых рыб может являться индикатором устойчивости эмбрионов к инвазии



сапролегниевыми микромицетами. Это предположение подтверждается низкой степенью заражения инкубируемой икры русского осетра (менее 10 %) и высокой – у белуги (более 90 %).

Холестерин является необходимым элементом для роста организма и нормального процесса деления клеток, а также входит в состав клеточных мембран. В крови производителей русского осетра его уровень составил 1,5–4,9 ммоль/л, у белуги – 1,8–3,90 ммоль/л. В связи с тем, что устойчивость структуры биологических мембран зависит от содержания холестерина, снижение его концентрации в крови приводит к нарушению строения клеточных оболочек и их уязвимости.

В наших исследованиях концентрация холестерина в крови не выходила из установленного в исследованиях А.Р. Лозовского и Д. Л. Теплового (2009) диапазона средних величин – 1,44–4,07 ммоль/л. Однако полученные результаты оказались ниже значений, указанных в работе Ю.Б. Долидзе (1981), который утверждал, что в крови белуги из естественных условий обитания, в период нереста уровень холестерина у самок достигал 4,47 ммоль/л, у самцов – 5,02 ммоль/л.

Транспортировка холестерина к тканям осуществляется при участии бета-липопротеидов – это холестерин липопротеидов низкой плотности в комплексе с белком и другими жирами и жироподобными веществами. По данным исследователей (Лозовский, Теплый, 2009), средний диапазон бета-липопротеидов в крови осетровых рыб в удовлетворительном состоянии составляет 0,45–3,52 г/л. Их концентрации в сыворотке крови исследуемых самок незначительно превышают средние значения: белуги – 4,1 г/л, русского осетра – 3,8 г/л. В межполовом различии их уровень обычно ниже у самцов по сравнению с самками, что подтверждается литературными данными (Субботкин, 1979).

Уровень триглицеридов в сыворотке крови самок белуги и русского осетра в количественном отношении был схожим, составляя 1,7 и 2,0 г/л

соответственно. По данным А. Р. Лозовского и Д. Л. Теплового (2009), у самок русского осетра через три дня после прижизненного получения овулировавших ооцитов количество триглицеридов было в пределах 1,25–7,46 г/л. Согласно шкале метаболического гомеостаза крови (Лозовский, 2010), после прижизненного получения овулировавших ооцитов количество триглицеридов у самок и самцов было на уровне средних значений, что соответствует удовлетворительному физиологическому состоянию.

Исследование фосфора в крови важно для подтверждения или исключения гипо- или гиперфосфатемии, что может происходить при нарушении обменных процессов (Шалак, Садовиков, 2010). Согласно представленным данным (табл. 14), концентрация фосфора в сыворотке крови белуги находилась в пределах 14 ммоль/л у самок, 9,0–10,0 ммоль/л – у самцов. У русского осетра содержание этого биохимического компонента в сыворотке крови составляло 2,5 ммоль/л у самок, 2,5–3,6 ммоль/л – у самцов. В результате отмечены большие концентрации неорганического фосфора у самок белуги относительно русского осетра. Согласно нашим исследованиям, наибольшее содержание неорганического фосфора в крови у белуги относительно русского осетра является видоспецифичным признаком и требует дальнейших исследований.

Таким образом, отмечены различия в биохимическом составе крови самок, которые свидетельствуют о напряженном физиологическом статусе белуги и удовлетворительном состоянии русского осетра. Снижение концентрации общих липидов в крови белуги относительно этих показателей у русского осетра может указывать на предрасположенность инкубируемой икры к заражению сапролегниевыми микромицетами.

### 3.3 Определение степени влияния химических веществ на развитие сапролегниевых микромицетов *in vitro*

Основным систематическим признаком микромицетов сем. Saprolegniaceae является отсутствие септ в их гифах, а родовая особенность – это способ прорастания зооспорангия.

Выделенная от заражённой икры стерляди гросс-культура микромицетов относилась к классу Oomycetes сем. Saprolegniaceae. Мицелий микромицета представлен разветвлёнными несептированными тонкими гифами (рис. 3б, в). По строению зооспорангия, а также наличию гемм в культуре (рис. 3б–г) были выделены представители двух основных родов – Saprolegnia и Achlya.

Микромицеты данного семейства хорошо развиваются на агаризированных средах, но зачастую не спороносят на них, образуя только геммы (рис. 3г) и abortивные оогонии, что также затрудняет их родовую и видовую идентификацию (Баринова, Бахарева, Баталова, 2020).

На первом этапе исследования в результате микроскопии двухдневной культуры, зооспоры и половые органы в мицелии обнаружены не были. На третий день инкубации культура сапролегнии увеличилась и разрослась по поверхности агара хлопковидным густым слоем кремового цвета.

Воздействие на культуру микромицетов растворов пероксида водорода и хлорида натрия разной концентрацией оказывало различное фунгистатическое действие на изучаемые объекты, при этом подавление роста было зафиксировано только в первые сутки. Рост сапролегниевых микромицетов возобновлялся через 24 часа из-за испарения и впитывания вещества, находящегося в лунке, – агаром. Результаты экспериментов представлены в таблице 15.

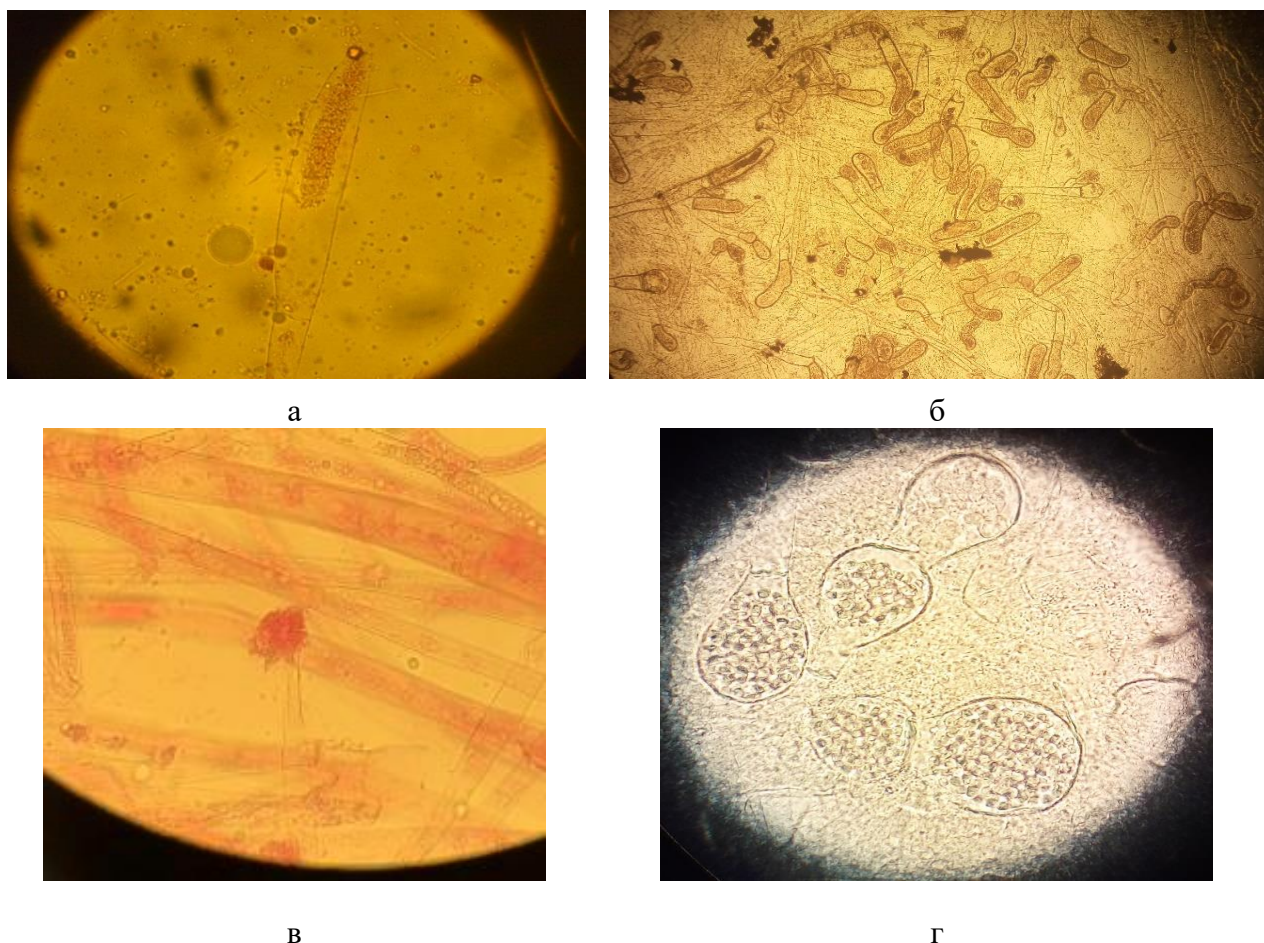


Рисунок 3 – Микромицеты сем. Saprolegniaceae (10×100): а – р. Saprolegnia (зооспорангий, выход зооспор); б – культура сапролегниевых микромицетов с многочисленными зооспорангиями; в – р. Achlya (выход первичных цист); г – р. Saprolegnia (геммы)

Максимальное фунгистатическое действие на рост микромицетов отмечали вокруг лунок с 3,0%-м раствором пероксида водорода (30 мм), в целом практически все концентрации этого вещества (кроме 0,05%-го раствора) ингибировали рост сапролегниевых микромицетов. Фунгицидным действием обладал только раствор натрия хлорида с концентрацией 5,0 %.

Таблица 15 – Показатели степени ингибирования роста микромицетов сем. Saprolegniaceae растворами веществ через 24 часа

Концентрации растворов, %	Зона ингибирования, мм
1	2
<b>Пероксид водорода, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	
0,05	Сплошной рост
0,1	2

Продолжение таблицы 15

1	2
0,3	1
0,5	5
0,7	9
1,0	5
1,5	5
3,0	30
<b>Хлорид натрия, NaCl</b>	
1,0	Заращение лунок
3,0	Заращение лунок
5,0	Отсутствие роста
Примечание – Контрольная группа микромицетов обработана дистиллированной водой.	

На втором этапе исследования оценивали влияние не только концентраций растворов химических веществ, но и длительность их воздействия на микромицеты. Зависимость роста культуры сапролегниевых микромицетов от концентрации и экспозиции растворов показана на рисунках 4 и 5.

Длительность воздействия химических веществ являлась фактором, определяющим интенсивность роста микромицетов. В контрольном варианте с дистиллированной водой через 24 часа отмечено интенсивное развитие культуры, диаметр роста которой составил 43 мм, то есть зона их ингибирования отсутствовала.

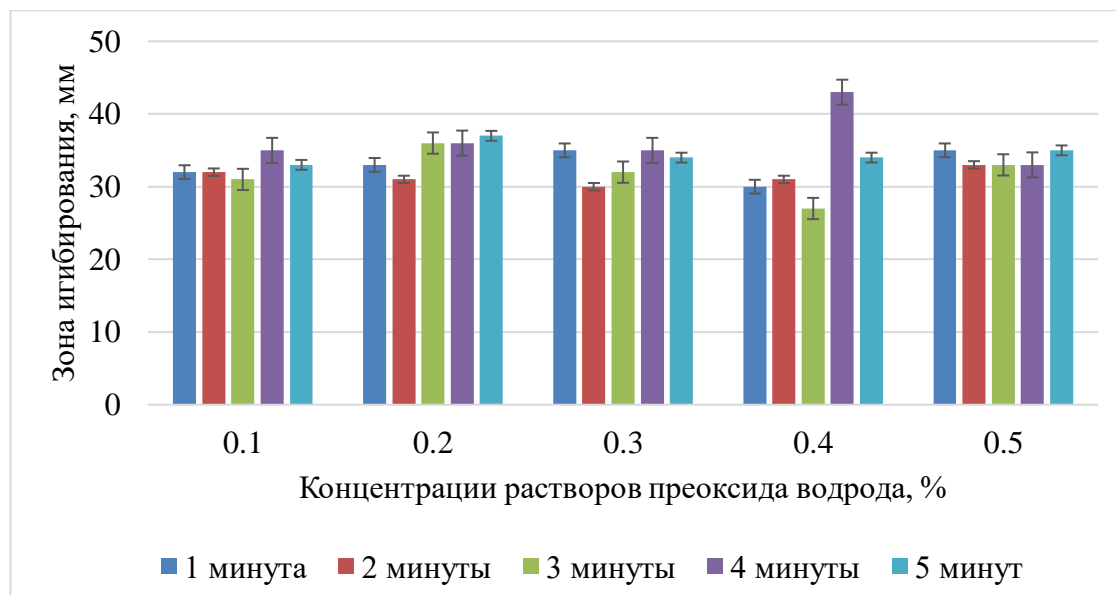


Рисунок 4 – Зависимость роста культуры микромицетов сем. Saprolegniaceae от концентрации и экспозиции растворов пероксида водорода на первые сутки

На фоне значений роста культуры микромицетов в контрольной группе, отмечено фунгистатическое действие пероксида водорода (рис. 5) всех концентраций. Максимальное ингибирующее действие зарегистрировано при применении 0,4%-го раствора и экспозицией 4 минуты.

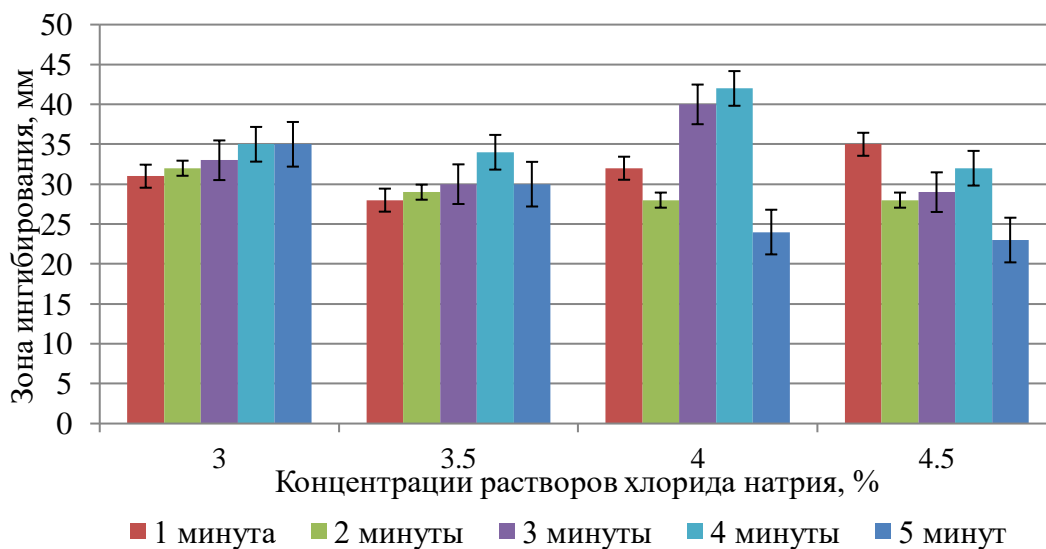


Рисунок 5 – Зависимость роста культуры микромицетов сем. Saprolegniaceae от концентрации и экспозиции растворов хлорида натрия на первые сутки

Хлорид натрия ингибировал рост культуры микромицетов при наибольших концентрациях (4 %) и экспозиции в течение 3 и 4 минут. Остальные концентрации растворов данного вещества воздействовали на рост микромицетов в меньшей степени (рис. 5).

Через 48 часов в контрольных и экспериментальных пробах происходил активный рост микромицетов сем. *Saprolegniaceae*, которые покрыли плотным слоем всю питательную среду, что объясняется отсутствием в лунке химического вещества в связи с его испарением или впитыванием в агар (рис. 6).

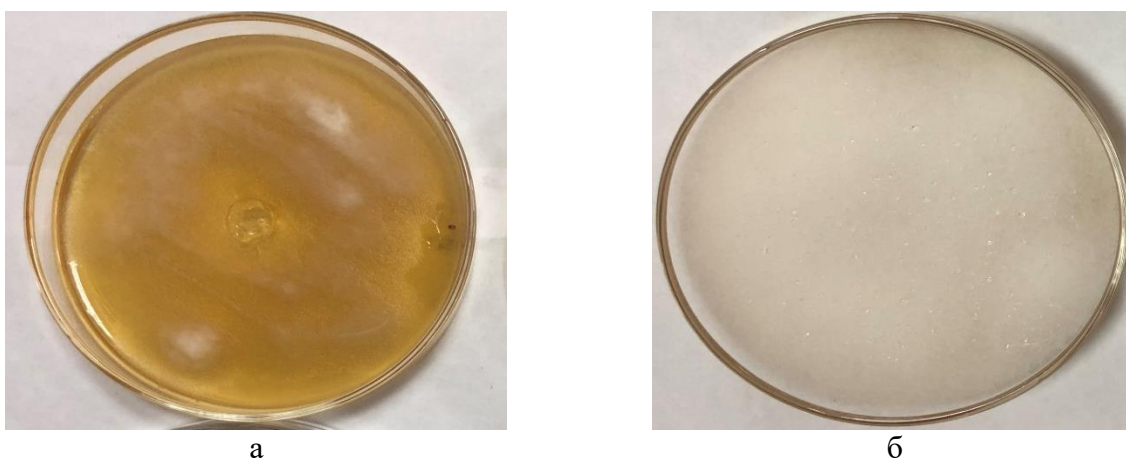


Рисунок 6 – Рост микромицета сем. *Saprolegniaceae* через: а – 24 часа; б – 48 часов

Результаты второго этапа эксперимента по определению действующих экспозиций используемых препаратов показали, что фунгистатическим действием обладали растворы хлорида натрия (4,0 % с экспозицией в течение 3–4 мин.) и пероксида водорода (0,4 % с экспозицией в течение 4 мин.).

Таким образом, экспериментально установлено, что культура микромицетов, выделенная с заражённой икры стерляди, относилась к классу *Oomycetes*, порядку *Saprolegniales*, семейству *Saprolegniaceae*, родам *Saprolegnia* и *Achlya*.

Все экспериментальные растворы химических веществ и лекарственных препаратов проявляли фунгистатическое действие на сапролегниевые микромицеты, так как подавляли их рост.

Диапазон эффективных концентраций растворов пероксида водорода составил 0,1–3,0 %. Среди растворов хлорида натрия фунгицидное действие оказал раствор в концентрации 5,0 %.

Максимальное ингибирующее действие на рост и развитие сапролегниевых микромицетов оказывали растворы хлорида натрия (4,0 % в течение 3–4 мин.) и 0,4%-го пероксида водорода с экспозицией 4 минуты.

Таким образом, в результате исследований определены наиболее эффективные концентрации растворов пероксида водорода и хлорида натрия и их экспозиции, которые рекомендованы к испытаниям в производственных условиях с учётом оценки степени влияния на эмбриональное и постэмбриональное развитие осетровых видов рыб.

### **3.4 Влияние химических веществ на выживаемость эмбрионов осетровых рыб и экстенсивность их инвазии микромицетами сем. *Saprolegniaceae***

Результатом предварительных исследований с культурой микромицетов стало выявление диапазонов концентраций растворов пероксида водорода и хлорида натрия, которые подавляли рост и развитие выделенной культуры сапролегниевых микромицетов на питательной среде.

Однако концентрации хлорида натрия (от 4,0 до 5,0 %) для обработки инкубируемой икры являются очень высокими, так как при воздействии на эмбрионы приводили к остановке их развития, даже с учётом кратковременной экспозиции (Изучение заболеваний, разработка..., 2019), в связи с чем в производственном эксперименте применялись менее концентрированные растворы этого препарата.

Производственный эксперимент по испытанию выбранных концентраций пероксида водорода и хлорида натрия, а также отработке экспозиций (с учётом



их негативного действия на развитие эмбрионов белуги и русского осетра) проводили на базе Научно-экспериментально комплекса аквакультуры «БИОС».

Экспериментальную обработку икры проводили двумя химическими веществами – пероксидом водорода и хлоридом натрия.

Производственный эксперимент по определению дозировок и экспозиций растворов пероксида водорода и хлорида натрия для подавления роста, и развития сапролегниевых микромицетов проводили в два этапа (с учётом негативного действия на все стадии развития эмбрионов белуги). Целью экспериментальных работ являлось определение наиболее эффективных концентраций пероксида водорода и хлорида натрия и экспозиций.

Наиболее точно степень негативного влияния фактора характеризует количество выживших эмбрионов. Данные по выживаемости эмбрионов белуги в контрольной и опытных группах в ходе первого этапа показаны в таблице 16.

Изучение динамики выживаемости эмбрионов белуги после обработки растворами веществ (экспозиция 10 мин.) на 16-й и 21-й стадиях эмбриогенеза показало, что к 28–29 стадиям развития количество выживших эмбрионов уменьшалось как в контрольной, так и в опытных группах. При этом количество выживших эмбрионов в опытных группах, обработанных 0,05%-м раствором пероксида водорода и растворами хлорида натрия, было на уровне или выше значений контрольной группы (исключение составляет опытная группа с раствором хлорида натрия 4,0 %). В остальных опытных группах с растворами пероксида водорода выживаемость эмбрионов белуги была существенно ниже значений контрольной группы.

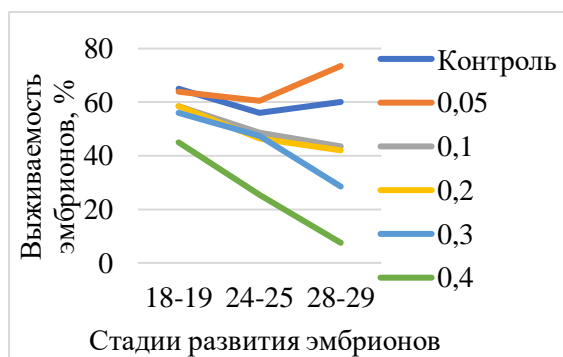
Таблица 16 – Влияние растворов химических веществ разной концентрации на выживаемость эмбрионов белуги в ходе первого этапа инкубации

Концентрация растворов, %	Выживаемость, %			
	до обработки (14–15 стадии развития)	после 1-й обработки (18–19 стадии развития)	после 2-й обработки (24–25 стадии развития)	28–29 стадии развития
<b>Пероксид водорода</b>				

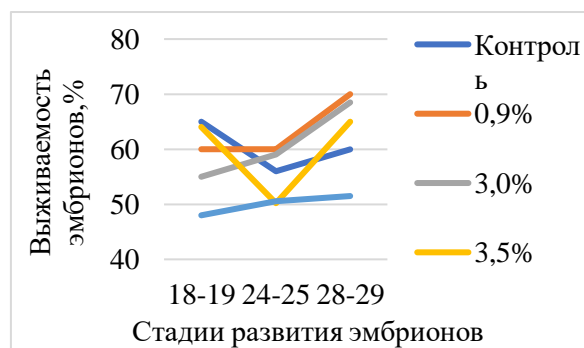
Продолжение таблицы 16

1	2	3	4	5
0	85,5±2,75	65,0±1,81	56,00±1,9	60,0±2,81
0,05	86,5±0,50	64,0±0,00	60,5±9,5	73,5±2,5
0,1	84,9±1,45	58,5±3,50	48,5±9,50	43,5±1,50
0,2	80,2±1,35	58,5±0,50	46,5±3,50	42,0±2,00
0,3	83,2±5,21	56,0±5,00	47,5±3,50	28,5±0,50
0,4	83,6±6,32	45,0±5,00	25,5±13,50	7,5±0,50
<b>Хлорид натрия</b>				
0	85,5±2,75	65,0±1,81	56,00±1,9	60,0±2,81
0,9	83,6±1,90	60,0±1,05	60,0±1,45	70,0±0,10
3,0	86,0±2,40	55,0±1,00	59,0±2,00	68,5±6,50
3,5	80,0±1,10	64,0±0,01	50,2±1,50	65,0±0,50
4,0	81,2±3,30	48,0±0,01	50,5±6,50	51,5±0,50

Максимальное количество выживших эмбрионов на 28–29 стадиях развития наблюдалось при обработке 0,05%-м ( $73,5 \pm 2,5$  %) раствором пероксида водорода (рис. 7). В остальных вариантах выживаемость эмбрионов была ниже, чем в контроле. Минимальное количество жизнеспособных эмбрионов отмечено при применении 0,4%-го ( $7,5 \pm 0,5$  %) раствора.



а



б

Рисунок 7 – Изменение количества выживших эмбрионов при воздействии растворов пероксида водорода (а) и хлорида натрия (б) в первую инкубацию

При обработке растворами хлорида натрия максимальное количество выживших эмбрионов на 28–29 стадиях развития отмечено при использовании экспериментальных растворов концентраций 0,9%-м ( $70,0 \pm 0,1$ ), 3%-м ( $68,5 \pm 6,5 \%$ ) и 3,5%-м ( $65,0 \pm 0,5 \%$ ). На фоне значений контрольной группы ( $60,0 \pm 2,81$ ) выживаемость эмбрионов в опытных группах была выше на 28–29 стадиях развития, причём значительное увеличение показателя отмечено после второй обработки.

По результатам проведённых статистических расчётов с помощью однофакторного дисперсионного анализа в опытных группах с пероксидом водорода было выявлено, что  $F$  равное 4,68 больше значения  $F$  критического равного 3,11. Это даёт возможность утверждать, что нулевая гипотеза ( $H_0$ ), заключающаяся в предположении, что повышение концентрации растворов пероксида водорода не оказывает влияния на выживаемость эмбрионов белуги, неверна. При этом  $P = 0,013$  меньше значения  $\alpha = 0,05$ , что позволяет утверждать, что  $H_0$  неверна с очень низкой вероятностью ошибки. Таким образом, это подтверждает гипотезу о том, что низкие концентрации пероксида водорода не будут влиять на выживаемость эмбрионов.

При статистической обработке данных по опытным группам с хлоридом натрия была выявлена другая закономерность. Значение  $F$  равно 2,27, что меньше значения  $F$  критического равного 3,47, поэтому нулевая гипотеза ( $H_0$ ), заключающаяся в предположении, что повышение концентрации растворов хлорида натрия не оказывает влияния на выживаемость эмбрионов белуги, верна. Однако значение  $P = 0,13$  было больше значения  $\alpha = 0,05$ , следовательно, утверждение, что  $H_0$  неверна, имеет вероятность ошибки. Таким образом, есть вероятность негативного влияния на выживаемость как высоких, так и низких концентраций растворов хлорида натрия.

Помимо однофакторного дисперсионного анализа были рассчитаны коэффициенты аппроксимации, которые представлены в таблице 17.

Таблица 17 – Значения коэффициентов аппроксимации

Вещество	Обработка	Коэффициент аппроксимации ( $R^2$ )
Пероксид водорода	I	0,8503
	II	0,7355
Хлорид натрия	I	0,4564
	II	0,2156

Вычисленные значения коэффициента аппроксимации ( $R^2$ ) по опытным группам с пероксидом водорода стремятся к единице, что свидетельствует о достоверной зависимости снижения количества выживших эмбрионов с повышением концентраций растворов пероксида водорода.

Вычисленные значения коэффициента аппроксимации ( $R^2$ ) по опытным группам с пероксидом водорода стремятся к единице, что свидетельствует о достоверной зависимости снижения количества выживших эмбрионов с повышением концентраций растворов пероксида водорода.

Значения коэффициента аппроксимации по опытным группам с хлоридом натрия меньше, чем единица, поэтому говорить о достоверной зависимости негативного влияния повышения концентрации на выживаемость эмбрионов нельзя. При этом в соответствии с графиком на рисунке 76 видно, что выживаемость эмбрионов может уменьшаться и при обработке низкоконцентрированными растворами. Подтверждение вывода, что снижение выживаемости эмбрионов с повышением концентрации раствора хлорида натрия с помощью дисперсионного анализа, возможно лишь с вероятной ошибкой, а подтверждение отсутствия влияния повышения концентрации растворов с помощью коэффициента аппроксимации может свидетельствовать о том, что как высокие, так и низкие экспериментальные концентрации хлорида натрия могут оказывать негативное влияние на выживаемость эмбрионов.

Повышение концентрации растворов пероксида водорода оказывало негативное влияние на выживаемость эмбрионов, что подтверждается дисперсионным анализом и значением коэффициента аппроксимации.

Это позволяет утверждать, что использование растворов с более низкой концентрацией не будет влиять на выживаемость эмбрионов.

Таким образом, по итогам первой инкубации были установлены следующие растворы, оказавшие минимальное влияние на выживаемость: 0,05%-й раствор пероксида водорода и 0,9%-й, 3,0%-й и 3,5%-й растворы хлорида натрия. Данные растворы были испытаны во второй период инкубации.

Во втором этапе, так же, как и в первом, степень воздействия выбранных в первом этапе эксперимента концентраций растворов и различных экспозиций оценивали по выживаемости эмбрионов в опытных группах, данные которой представлены в таблице 18.

В результате проведённых исследований выявлено, что при снижении концентрации раствора пероксида водорода степень его негативного влияния на эмбриональное развитие белуги снижается. При этом увеличение экспозиции до 10 минут привело к увеличению количества выживших эмбрионов, что свидетельствует о возможном снижении заражения.

В опытных группах с растворами хлорида натрия отмечена положительная динамика. Снижение концентраций растворов и экспозиции способствовало увеличению количества выживших эмбрионов, в том числе и относительно значений контрольной группы.

Таблица 18 – Влияние растворов химических веществ разной концентрации и экспозиций на выживаемость эмбрионов белуги в ходе второй инкубации.

Концентрация растворов, %	Экспозиция, мин.	Выживаемость (%) после 1-й обработки (26-я стадия развития)	Выживаемость (%) после 2-й обработки (30-я стадия развития)
1	2	3	4
<b>Пероксид водорода</b>			
0	–	76,0±0,75	74,0±1,01
0,05	5	78,5±0,50	79,5±4,50
1	10	79,5±1,10	82,3±2,30
<b>Хлорид натрия</b>			

Продолжение таблицы 18

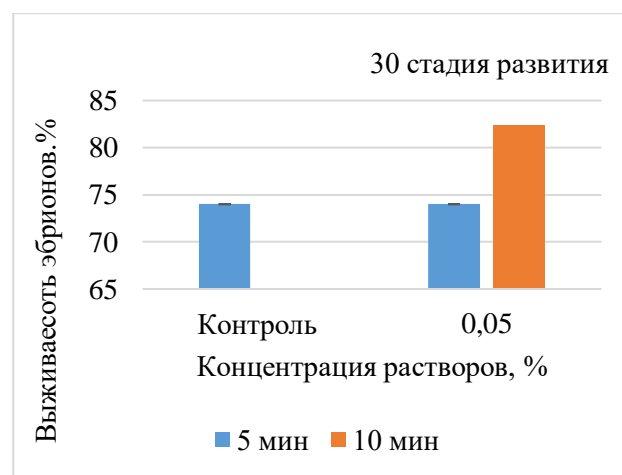
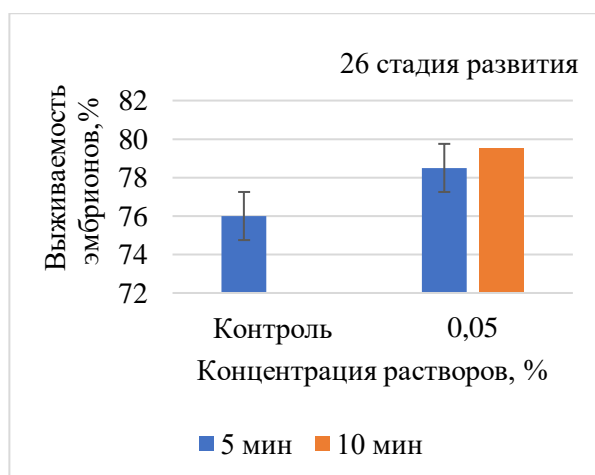
1	2	3	4
0	–	76,0±0,01	74,0±0,01
0,8 п. р.*	2	67,0±1,10	82,0±0,92
0,8 п. р.	5	73,0±2,11	80,0±2,31
0,9 п. р.	2	63,0±3,21	66,0±1,20
	5	65,0±1,10	59,0±4,10
0,9 г. р.**	2	66,0±2,51	69,0±1,60
	5	70,0±1,52	76,0±2,40
2,0	2	57,5±4,56	63,0±4,98
	5	51,5±5,30	47,5±4,96
3,0	2	74,0±5,10	67,0±3,98
	5	70,0±4,36	74,0±3,98

Примечание:

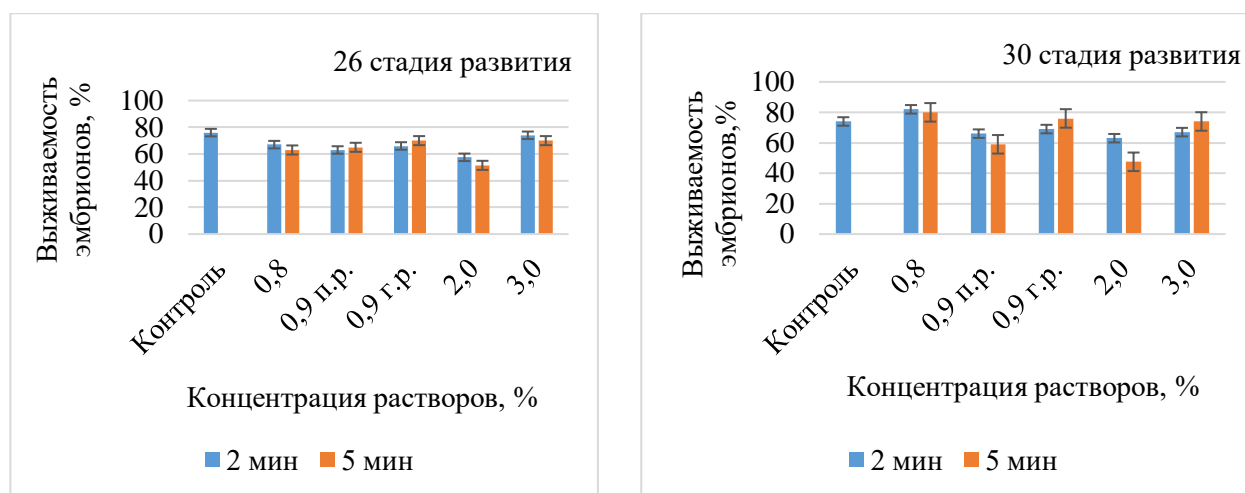
\*Приготовленный физиологический раствор хлорида натрия.

\*\*Готовый физиологический раствор хлорида натрия.

Динамика выживаемости эмбрионов белуги в контрольной и опытных группах во вторую инкубацию приведены на рисунке 8.



а



б

Рисунок 8 – Изменение количества выживших эмбрионов при воздействии растворов пероксида водорода (а) и хлорида натрия (б) во вторую инкубацию

Максимальное количество выживших эмбрионов на фоне значений контрольной группы ( $74,00 \pm 0,01$  %), на 30-й стадии развития (после второй обработки) отмечено в группе с использованием 0,05%-го раствора пероксида водорода при экспозиции 10 минут –  $82,30 \pm 2,30$  %.

При обработке икры растворами хлорида натрия максимальные значения выживаемости на 30-й стадии развития отмечены при обработке 0,8%-м приготовленным раствором хлорида натрия с экспозицией 2 минуты ( $82,00 \pm 0,92$ %) и 5 минут ( $80,00 \pm 2,31$ ), 0,9%-м готовым физиологическим раствором ( $76,00 \pm 2,40$ % при экспозиции 5 минут) и 3,0%-м раствором хлорида натрия ( $74,00 \pm 3,98$  % при 5-минутной экспозиции).

Обработку инкубируемой икры русского осетра проводили двумя веществами, концентрации которых были выбраны по итогам экспериментальных работ с белугой (табл. 19). Во время инкубации икры русского осетра выживаемость эмбрионов была высокой как в контрольной, так и в опытных группах.

Таблица 19 – Влияние растворов химических веществ разной концентрации на выживаемость эмбрионов русского осетра

Концентрация растворов, %	Экспозиция, мин.	Выживаемость (%) после 1-й обработки (26-я стадия развития)	Выживаемость (%) после 2-й обработки (30-я стадия развития)

Продолжение таблицы 19

1	2	3	4
<b>Пероксид водорода</b>			
0	–	94,0±0,09	90,0±0,01
0,05	10	94,0±2,00	91,0±0,01
<b>Хлорид натрия</b>			
0,8	2	94,0±1,77	99,0±1,95

После двух последовательных обработок максимальное количество выживших эмбрионов отмечено в группе с использованием 0,8%-го раствора хлорида натрия. В контрольной и опытной группах с использованием раствора пероксида водорода значение показателя выживаемость были практически одинаковыми.

Таким образом, после двух последовательных обработок инкубируемой икры белуги и русского осетра максимальное количество выживших эмбрионов отмечено в опытных группах, обработанных 0,8%-м приготовленным раствором хлорида натрия с экспозицией в течение 2 и 5 минут и 0,05%-м раствором пероксидом водорода с экспозицией 10 минут.

Заражение инкубируемой икры как белуги, так и русского осетра сапролегниевыми микромицетами и в первую, и во вторую инкубацию регистрировали с 24–25 стадий развития.

Как и в ранее проведённом исследовании Л. В. Ларцевой (Ларцева, Алтуфьев, 1987) при анализе гистологических срезов заражённой икры отмечены нарушения в строение оболочек и их окраске. Поверхностный слой студенистой оболочки был рыхлым, отмечена неравномерность окрашивания оболочек, а также присутствие гиф в толще оболочек и содержимом икры (рис. 9).



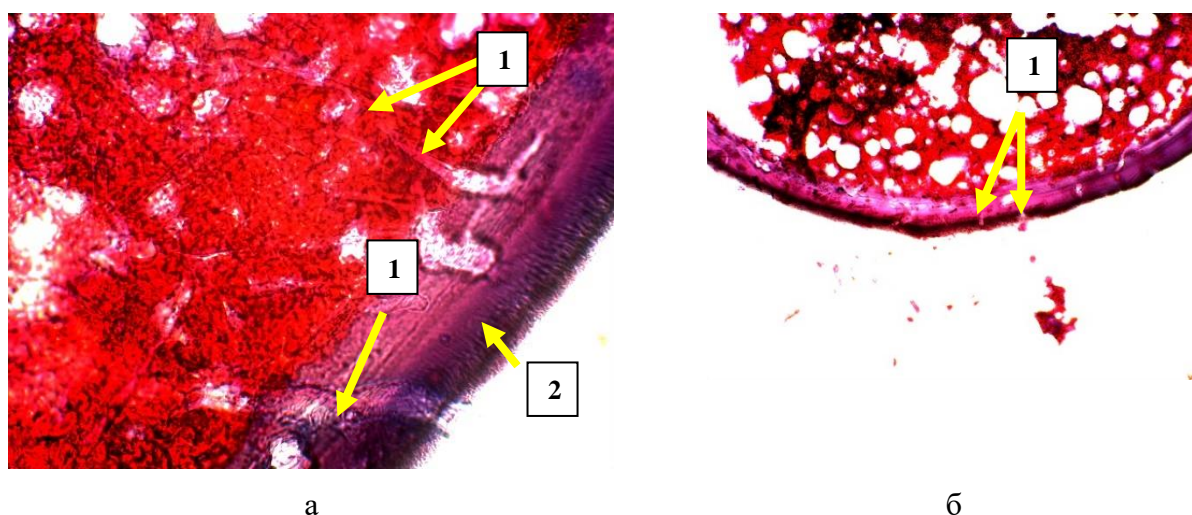


Рисунок 9 – Оплодотворённая икра белуги с поражёнными сапролегниевыми микромицетами оболочками: а – ув.  $\times 200$ ; б – ув.  $\times 100$ : 1 – гифы сапролегниевых микромицетов; 2 – разрыхлённость поверхностного слоя студенистой оболочки

Данные по количеству заражённых эмбрионов в опытной и контрольной группах в ходе эксперимента представлены в таблице 20.

В первый этап эксперимента после двух последовательных обработок эмбрионов белуги растворами химических веществ минимальное заражение отмечено при использовании 0,05%-го раствора пероксида водорода (экспозиция 10 мин.) и 0,9- и 3,0%-го растворов хлорида натрия (экспозиция 5 мин.).

Таблица 20 – Влияние растворов химических веществ разной концентрации на количество заражённой икры белуги сапролегниевыми микромицетами в период первой инкубации

Концентрация растворов, %	Заражение, %		
	после обработок (24–25 стадии развития)	после обработок (28–29 стадии развития)	после обработок (34–35 стадии развития)
1	2	3	4
<b>Пероксид водорода</b>			
0	4,0 $\pm$ 0,00	5,0 $\pm$ 0,00	55,0 $\pm$ 0,00
0,05	0,00 $\pm$ 0,00	11,0 $\pm$ 9,00	5,5 $\pm$ 3,50
0,1	2,5 $\pm$ 0,50	12,5 $\pm$ 6,50	35,5 $\pm$ 4,50
0,2	3,0 $\pm$ 1,01	22,5 $\pm$ 0,50	57,0 $\pm$ 2,00
0,3	1,5 $\pm$ 0,50	34,0 $\pm$ 1,00	71,5 $\pm$ 7,50
0,4	33,0 $\pm$ 1,20	30,0 $\pm$ 1,00	100,0 $\pm$ 0,90

Продолжение таблицы 20

1	2	3	4
<b>Хлорид натрия</b>			
0	4,0±0,00	5,0±0,00	55,0±0,00
0,9	2,0±0,02	2,0±0,01	40,0±1,25
3,0	1,5±0,50	22,05±9,00	38,0±1,00
3,5	2,0±0,00	36,0±0,00	43,0±0,00
4,0	81,2±3,30	48,0±0,01	50,5±6,50

Динамика заражения инкубируемой икры белуги в первую инкубацию представлена на рисунке 10.

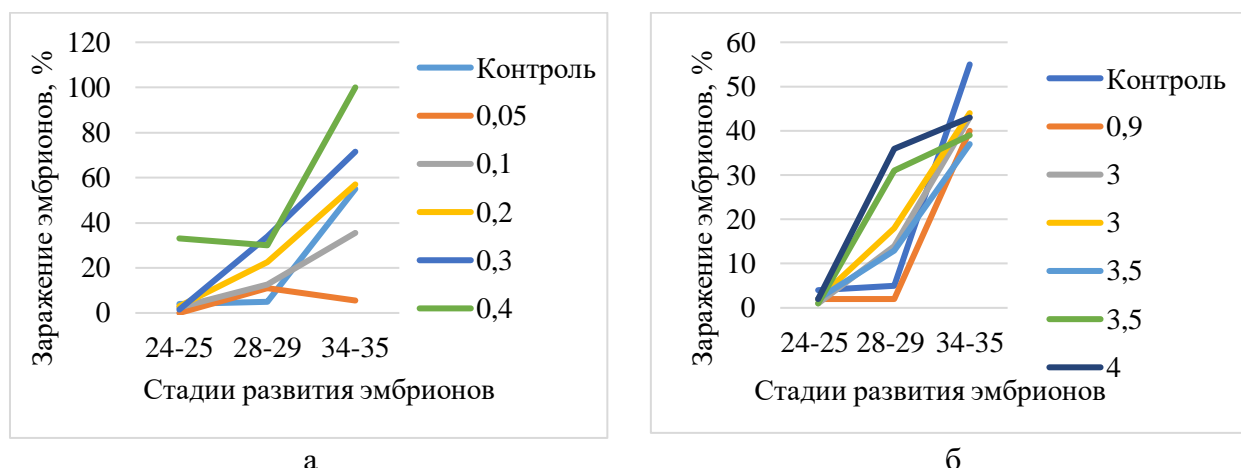


Рисунок 10 – Динамика заражения инкубируемой икры белуги, обработанной растворами пероксида водорода (а) и хлорида натрия (б) в первую инкубацию

В период первой инкубации количество заражённой икры возрастало с 24-й к 35-й стадии развития. Однако при использовании 0,05%-го раствора пероксида водорода количество заражённых сапролегниевыми микромицетами снизилось до 5,5±3,50 % к 34-й стадии развития. Максимальное количество зараженной икры (до 100 %) после первой и второй обработок регистрировали после применения 0,4%-го раствора пероксида водорода, что может быть связано с увеличением количества погибших эмбрионов, которые являются доступным субстратом для сапролегниевых микромицетов. Минимальное заражение

регистрировалось при обработке эмбрионов 0,05%-м ( $5,5 \pm 3,5$  %) и 0,1%-м ( $35,5 \pm 4,5$ ) растворами.

Раствор хлорида натрия оказывал ингибирующее действие в отношении микромицетов во всех испытываемых концентрациях. После двух последовательных обработок (34–35 стадии развития) отмечено снижение заражаемости эмбрионов в опытных группах относительно контрольной. Растворы хлорида натрия в концентрациях 0,9%-м ( $40,00 \pm 1,25$  %) и 3,0%-м ( $38,00 \pm 1,00$  %) показал максимальное фунгистатическое действие.

Данные по заражению эмбрионов белуги в опытных и контрольных группах во второй этап инкубации представлены в таблице 21.

Заражение эмбрионов после двух последовательных обработок 0,05%-м раствором пероксида водорода, при экспозиции 10 минут, снизилось относительно контроля в 2,8 раза. Фармацевтический препарат физиологического раствора (0,9%), а также 2,0 %-й приготовленный раствор при экспозиции 5 минут, не оказали фунгистатического действия на микромицеты.

Таблица 21 – Влияние растворов химических веществ разной концентрации на количество зараженной икры белуги сапролегниевыми микромицетами во вторую инкубацию.

Концентрация растворов, %	Экспозиция, мин.	Заражаемость (%) после 2-й обработки (26-я стадия развития)	Заражаемость (%), 30-я стадия развития
1	2	3	4
<b>Пероксид водорода</b>			
0	–	$1,00 \pm 0,00$	$18,00 \pm 0,00$
0,5	5	$9,00 \pm 1,45$	$11,00 \pm 2,11$
	10	$12,00 \pm 3,32$	$6,50 \pm 1,50$
<b>Хлорид натрия</b>			
0	–	$1,00 \pm 0,00$	$18,00 \pm 0,01$
0,8 п. р.*	2	$2,50 \pm 0,50$	$9,50 \pm 4,50$
	5	$4,50 \pm 0,15$	$11,50 \pm 2,5$
0,9 п. р.	2	$7,00 \pm 5,50$	$12,00 \pm 5,32$

Продолжение таблицы 21

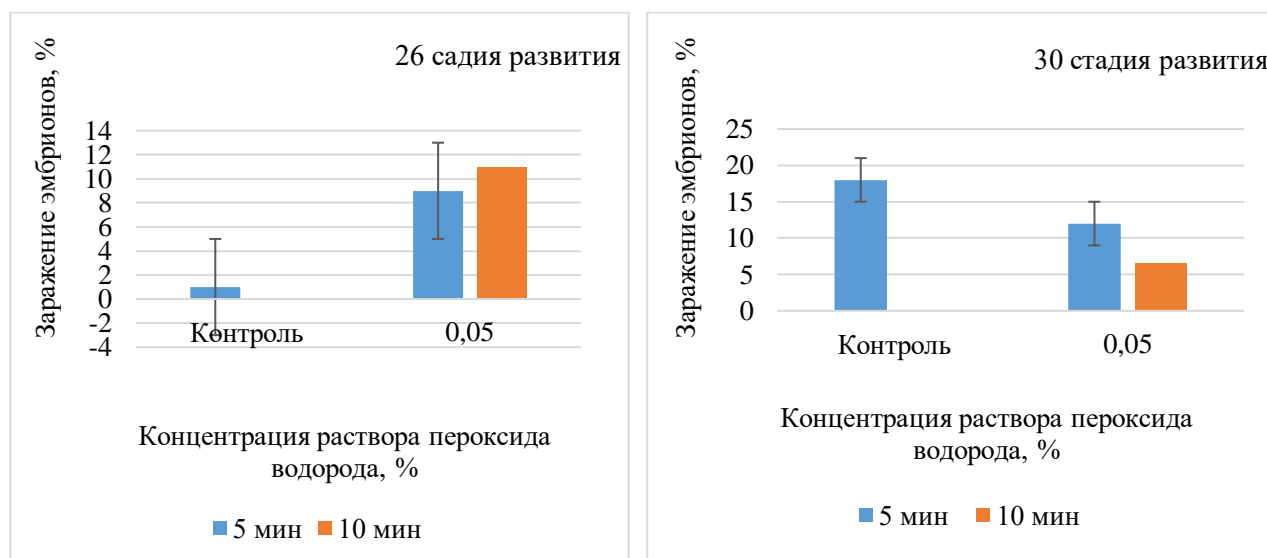
1	2	3	4
	5	2,00±4,51	14,00±4,28
0,9 г. р.**	2	3,00±4,10	9,00±5,11
	5	0,00±0,00	21,00±3,91
2,0	2	1,00±1,01	5,50±0,91
	5	16,0±1,02	23,00±1,01
3,0	2	0,00±3,10	8,00±1,98
	5	1,00±2,36	5,00±2,56

Примечание:

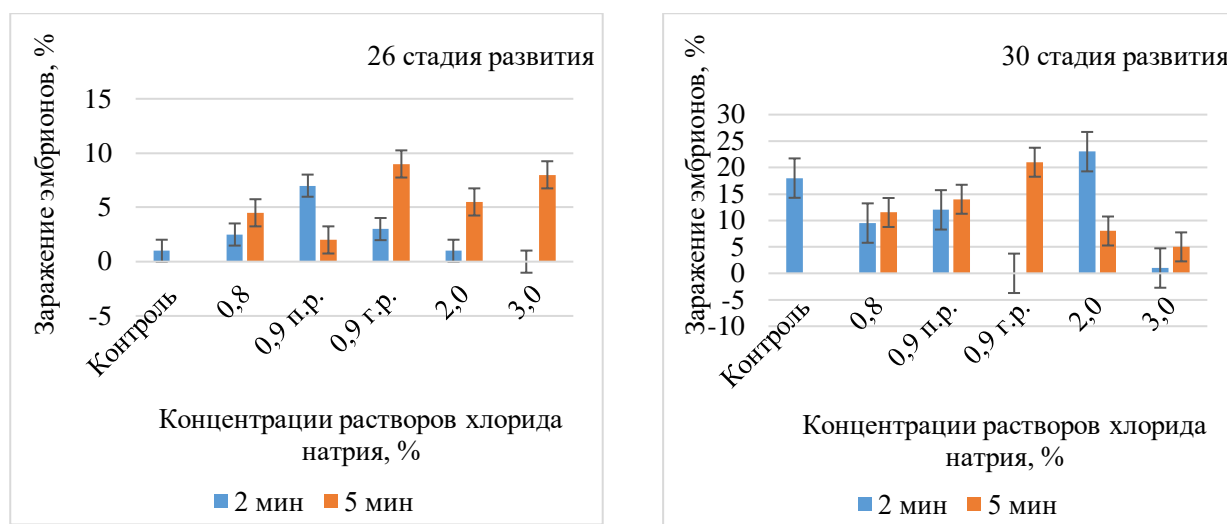
\*Приготовленный физиологический раствор хлорида натрия.

\*\*Готовый физиологический раствор хлорида натрия.

Динамика заражения эмбрионов белуги в период второй инкубации представлена на рисунке 11.



а



б

Рисунок 11 – Динамика заражения инкубируемой икры белуги, обработанной раствором пероксида водорода (а) и хлорида натрия (б) во вторую инкубацию

При обработке эмбрионов 0,05%-м раствором пероксида водорода с экспозицией 5 и 10 минут на 30-й стадии развития (после второй обработки) интенсивность заражения была ниже чем в контроле в среднем в 2,2 раза. Минимальные показатели заражения отмечены при обработке данными растворами с 10-минутной экспозицией ( $6,50 \pm 1,50$  %).

При обработке инкубируемой икры растворами хлорида натрия положительная динамика отмечена в опытных группах с 2,0%-м раствором при экспозиции 2 минуты ( $5,50 \pm 0,91$  %), 3,0%-м раствором с экспозицией 2 и 5 минут ( $8,0 \pm 2,1$  и  $5,0 \pm 1,9$  % соответственно), 0,9%-м приготовленным физиологическим раствором при двух экспозициях ( $12,0 \pm 1,1$  % с экспозицией 2 мин. и  $14,0 \pm 0,9$ % с экспозицией 5 мин.), 0,9%-м готовым физиологическим раствором с экспозицией 2 минуты ( $9,0 \pm 1,6$  %) и 0,8%-м приготовленным раствором хлорида натрия с экспозицией 2 минуты ( $9,5 \pm 4,50$  %).

В ходе инкубации эмбрионов русского осетра начало заражения икры регистрировали на 26-й стадии развития. Показатели контаминации яйцевых оболочек эмбрионов русского осетра в сравнении с опытными группами показаны в таблице 22

Таблица 22 – Влияние растворов химических веществ разной концентрации на заражение эмбрионов русского осетра сапролегниевыми микромицетами

Концентрация растворов, %	Экспозиция, мин.	Заражение (%) после 1-й обработки (26-я стадия развития)	Заражение (%) после 2-й обработки (30-я стадия развития)
<b>Пероксид водорода</b>			
0	–	1,00±0,10	1,5±0,50
0,05	10	Единичное	единичное
<b>Хлорид натрия</b>			
0,8*	2	1,00±1,21	3,00±1,25
Примечание – *Приготовленный физиологический раствор хлорида натрия.			

После однократной обработки инкубируемой икры русского осетра растворами исследуемых веществ инвазия микромицетами как в опытных, так и контрольной группе была очень низкой. При этом количество поражённой икры в опытных группах с применением 0,05%-го раствора пероксида водорода с экспозицией 10 минут было менее 1,0 % (при заборе пробы в чашку Петри не попадали заражённые икринки, тогда как в лотке они были видны, но их количество насчитывалось единицами).

Таким образом, по результатам проведённых исследований можно сделать вывод, что максимальные значения выживаемости эмбрионов белуги на фоне низкого количества зараженной икры зарегистрированы при применении 0,05%-го раствора пероксида водорода с экспозицией 10 минут и 0,8%-го приготовленного раствора хлорида натрия с экспозицией 2 минуты.

Выживаемость эмбрионов русского осетра была выше нормативных значений (О внесении изменений в Методику расчёта..., 2015), при этом контаминация икры сапролегниевыми микромицетами в опытных и контрольных группах составляла менее 4 %, что свидетельствует о хорошем качестве половых продуктов и отсутствии необходимости проведения обработок при высоком уровне выживаемости эмбрионов и низкой заражённости.

### **3.5 Влияние растворов химических веществ на развитие тканей и органов белуги и русского осетра в период эмбрионального развития**

Получение рыбопосадочного материала осетровых видов рыб является начальным этапом в процессе выращивания товарной продукции в индустриальных хозяйствах. При этом основополагающим фактором, влияющим на эффективность производства, является нормальное развитие эмбрионов и предличинок (Пономарев, Иванов 2009).

После проникновения сперматозоида в яйцеклетку происходит несколько последовательных процессов: разрушаются кортикальные гранулы, их содержимое освобождается в пространство под желточной оболочкой. В результате она несколько отделяется от яйца, далее выделяются антителоподобные вещества, видимо, блокирующие проникновение других сперматозоидов и чужеродных микроорганизмов (Детлаф, Гинзбург, 1954; Ларцева, Обухова, Алтуфьев, 2017).

Определение типичности строения зародышей и размера отхода икры в период инкубации необходимо для определения качества рыбоводного материала, правильности применения способа осеменения и условий инкубации (Сборник инструкций и нормативно-методических..., 1986).

Рыбоводное качество ооцитов зависит от физиологической полноценности производителей и характеризуется оплодотворяемостью, а также количеством нормально развивающихся особей.

Икра плохого качества представляет собой сборную группу, состоящую из так называемой «перебитой» икры, то есть мятой и лопнувшей, «слабой» икры, которая держит форму, но оболочки её тонкие и при небольшом давлении лопаются. Такую икру не используют для рыбоводных целей. Иногда визуально

икра кажется нормальной, но в дальнейшем она не развивается. Это группы активированной и неактивированной икры.

Активированная икра – это икра, которая начала развиваться ещё в теле самки. Эти яйца развиваются партеногенетически. На активацию икры могут влиять различные факторы, например резкое увеличение температуры во время перевода на нерестовый режим (Сборник инструкций и нормативно-методических..., 1986).

Неактивированная, или неоплодотворившаяся икра, внешне практически не отличается от доброкачественной. Причиной утраты способности оплодотворяться может быть ее задержка после овуляции в полости самки.

На ранних стадиях развития (дробления) можно отметить группу полиспермных яиц – с избыточным числом бластомеров на первой стадии деления. Они образуются при проникновении в ооцит нескольких сперматозоидов. Если нормальные яйца на этой стадии имеют два бластомера, то полиспермные – три или четыре (Сборник инструкций и нормативно-методических..., 1986).

Активированные, или партеногенетические яйца, могут развиваться некоторое время, но дробление их происходит неравномерно.

Кроме вышеперечисленных существуют другие отклонения в развитии эмбрионов, специфические для каждой стадии, например образование нервной пластинки при наличии желточной пробки, удвоение головы, сердца, хвоста и т. д. Если процесс инкубации проходил при оптимальных нерестовых условиях, то количество уродств не превышает 6 % от общего числа эмбрионов. Однако если условия инкубации нарушались или рыбоводное качество половых продуктов было низким, то количество уродств может достигать 25 % (Детлаф, Гинзбург, Шмалькгаузен, 1969).

Таким образом, для определения влияния апробированных химических веществ на типичность развития эмбрионов белуги в первую очередь необходимо обращать внимание на частные отклонения в развитии после обработок



химическими веществами. При этом для характеристики качества икры до и после оплодотворения следует обратить внимание на количество активированных и полиспермных яиц.

В ходе эксперимента определяли общее количество икры с аномалиями в развитии до и после обработок. В начале инкубации регистрировали партеногенетическое развитие яиц, которое выражалось в незакономерном расположении борозд дробления. Данный вид аномального развития отмечен до обработок икры единично. Большое количество партеногенетических яиц в партии икры, полученной от самки, может быть обусловлено неблагоприятными условиями нерестового режима, например несвоевременным повышением температуры и последующим её падением.

Аномалии эмбрионов регистрировали на стадии закрытия бластопора и перехода этапа гастрюляции к этапу нейруляции (18–19 стадии), при образовании сердечной трубки (26–28 стадии) и формировании изгиба сердечной трубки зародыша (29–30 стадии), что представлено на рисунке 12.

Количество аномально развивающихся эмбрионов в период первой инкубации в контрольной группе составляло не более  $5,0 \pm 1,9$  %. Их минимальное количество после первой и второй обработок отмечено с растворами хлорида натрия –  $2,0 \pm 0,5$  % при обработке 0,9%-м раствором и  $3,0 \pm 0,5$  % – при обработке 3,5%-м раствором. Число аномально развивающихся эмбрионов с пероксидом водорода –  $7,5 \pm 0,5$  % при обработке 0,05%-м раствором,  $7,5 \pm 2,5$  % – при обработке 0,1%-м раствором,  $8,5 \pm 2,5$  % – при обработке 0,2%-м раствором,  $3,0 \pm 2,0$  % – при обработке 0,3%-м раствором,  $5,0 \pm 1,5$  % – при обработке 0,4%-м раствором.

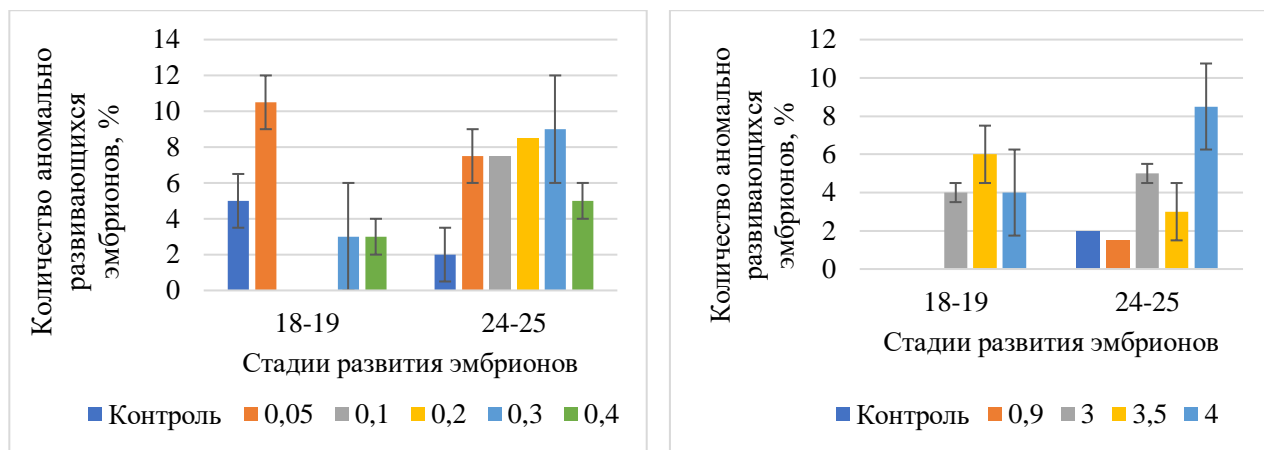
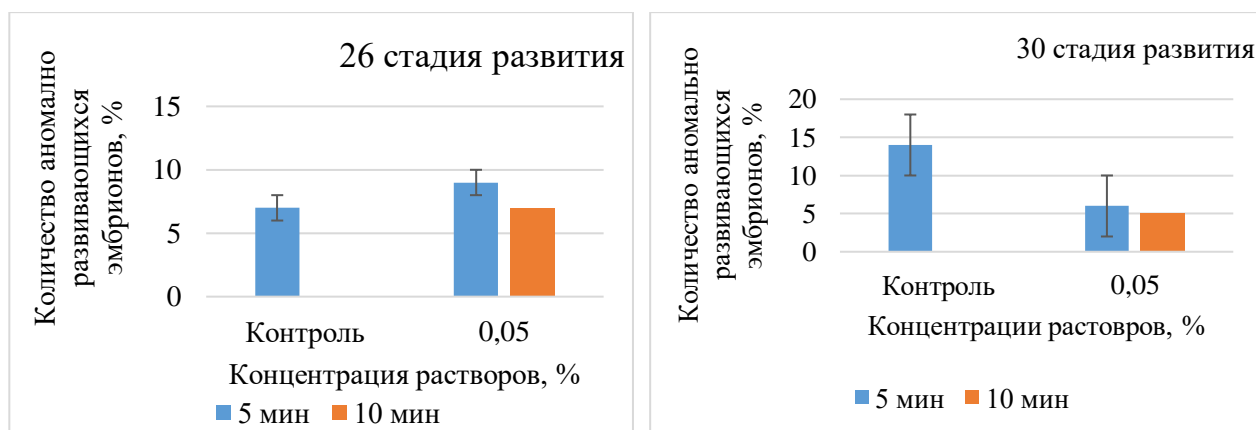


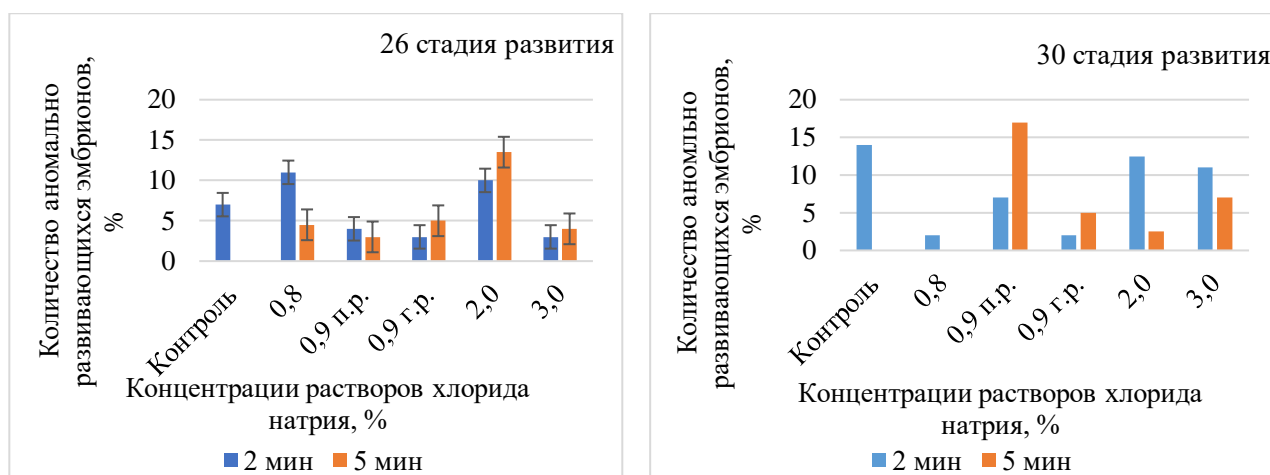
Рисунок 12 – Количество аномально развивающихся эмбрионов белуги в период первой инкубации по опытным группам с растворами пероксида водорода (а) и растворами хлорида натрия (б)

Исходя из полученных данных можно сделать вывод о увеличении количества аномально развивающихся эмбрионов при воздействии на них растворами пероксида водорода, относительно раствора хлорида натрия.

Во второй период инкубации количество аномально развивающихся эмбрионов после первой обработки в контрольной группе составило  $7,0 \pm 1,6$  %, после второй –  $14,0 \pm 2,1$  %. С 0,05%-м раствором пероксида водорода количество аномалий составило  $9,0 \pm 1,1$  % после первой обработки с экспозицией 5 минут и  $7,0 \pm 0,9$  % – с экспозицией 10 минут.



а



б

Рисунок 13 – Количество anomalно развивающихся эмбрионов белуги в период второй инкубации по опытным группам с растворами пероксида водорода (а) и растворами хлорида натрия (б)

После второй обработки количество регистрируемых аномалий значительно уменьшилось и составило  $6,0 \pm 1,2$  % при экспозиции 5 минут,  $5,0 \pm 2,1$  % – при экспозиции 10 минут, что было более чем в два раза меньше значений в контрольной группе. Минимальное количество аномалий эмбрионов с использованием растворов хлорида натрия отмечено после второй обработки икры 0,8%-м приготовленным раствором хлорида натрия ( $2,0 \pm 2,1$  %) с экспозицией 2 минуты, в опытной группе с экспозицией 5 минут аномалий обнаружено не было, с 0,9%-м готовым раствором с экспозицией 2 минуты –  $2,0 \pm 1,5$  %, с 2,0- и 3,0%-м растворами с экспозицией 5 минут –  $2,5 \pm 1,3$  и  $7,0 \pm 2,3$  % соответственно. Почти во всех опытных группах – и с пероксидом водорода, и с хлоридом натрия – на 30-й стадии развития количество аномалий меньше, чем в контрольной.

В период инкубации русского осетра количество anomalно развивающихся эмбрионов было минимальным как в опытных, так и в контрольной группе, их количество представлено на рисунке 14.

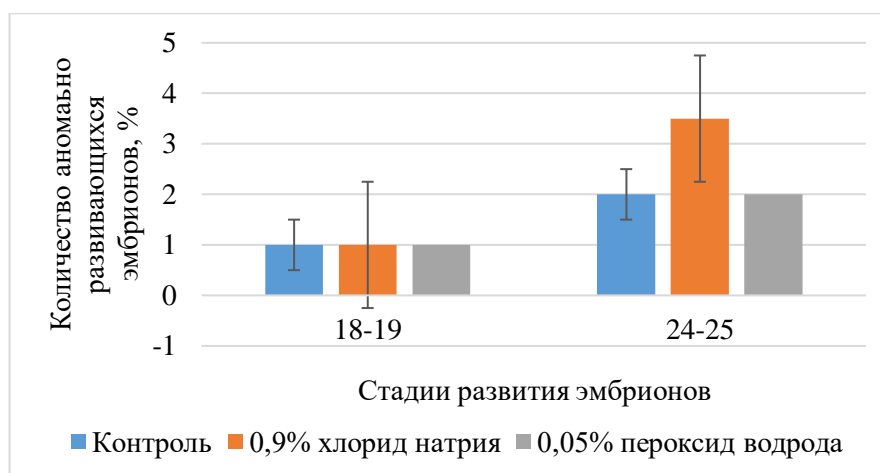
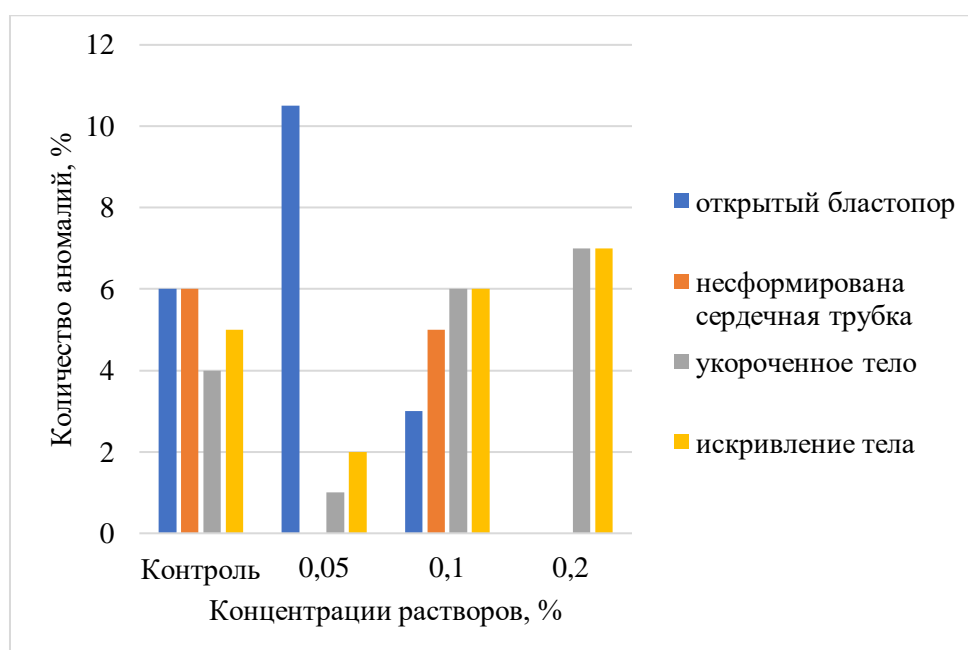


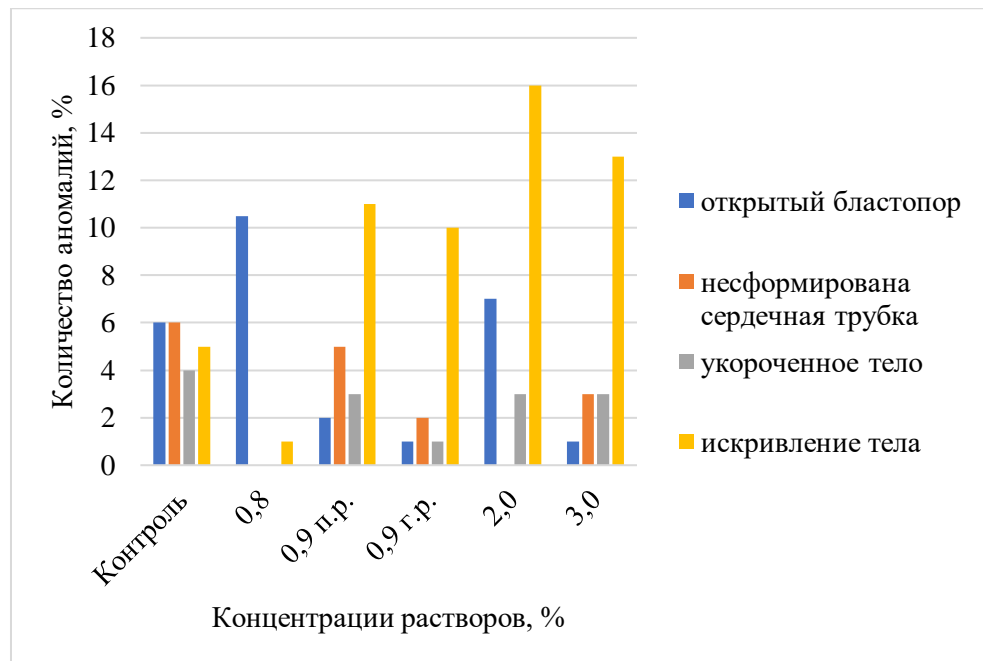
Рисунок 14 – Количество anomalно развивающихся эмбрионов русского осетра в ходе инкубации по опытным группам с растворами пероксида водорода (а) и растворами хлорида натрия (б)

Минимальное количество anomalно развивающихся эмбрионов русского осетра после двух последовательных обработок зарегистрировано в контрольной и опытной группах с использованием 0,05%-го раствора пероксида водорода.

Виды anomalий, встречаемых во время инкубации в контрольных и опытных группах, представлены на рисунке 15.



а



б

Рисунок 15 – Виды аномалий эмбрионов белуги, встречаемые по опытным группам с растворами пероксида водорода (а) и хлорида натрия (б) в период второй инкубации

Наиболее часто встречающиеся виды аномалий – формирование тела эмбриона при открытом бластопоре (более 10 % от общего числа аномалий) и в опытных группах с применением растворов пероксида водорода, а также хлоридом натрия. Морфологические изменения, такие как искривление и укорочение тела эмбриона, в большинстве случаев регистрировали при воздействии растворов хлорида натрия, что может быть связано с действием этих растворов на оболочки икры, их уплотнением, а также сжатием икринки и уменьшением её диаметра (Флоринская, 1969; Рыкова, 1970). Эмбрионы с несформированной сердечной трубкой встречались в группах с применением растворов пероксида водорода и растворов хлорида натрия, их количество не превышало 6% от общего числа аномалий. Следует отметить, что чаще всего такая патология приводила к гибели эмбриона.

Количество аномалий русского осетра по видам представлено на рисунке 16.

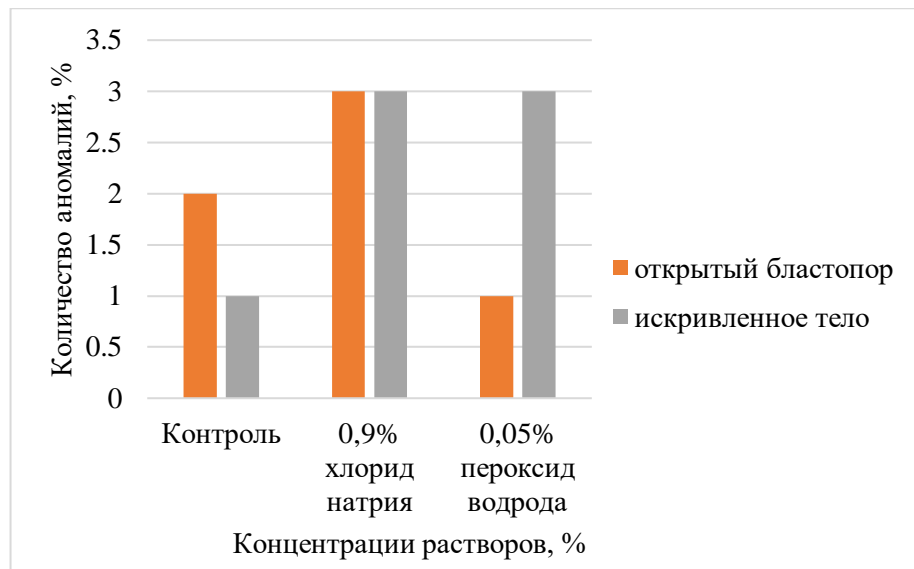


Рисунок 16 – Встречающиеся виды аномалий эмбрионов русского осетра по опытным группам в период их инкубации

В опытных группах с применением растворов пероксида водорода и хлорида натрия чаще всего регистрировали эмбрионов с незакрывшимся бластопором при формирующейся нервной пластинки, а также с искривлением их тела.

В целом количество эмбрионов белуги и русского осетра в контрольной и опытных группах с аномалиями в строении составило не более 14 %, что свидетельствует о хорошем рыбноводном качестве икры (Детлаф, Гинзбург, 1954). В течение первого и второго периодов инкубации закономерного роста числа аномально развивающихся эмбрионов с повышением концентрации химических веществ, увеличением экспозиции и кратности обработок не отмечено. Количество нарушений строения эмбрионов в некоторых опытных группах было меньше, чем в контрольной, что подтверждает слабое влияние экспериментальных растворов на типичность развития эмбрионов белуги и русского осетра.

По результатам гистологического анализа отмечены следующие изменения: отслаивание оболочек икры от содержимого, а также расслаивание студенистой и желточной оболочек, неравномерность окрашивания оболочек, связанных с действием какого-либо фактора; разрывы студенистой оболочки; образование

полостей в клеточной массе развивающейся икры (некоторые из них заполнены веществом невыясненной природы).

Из общего количества аномалий, отмеченных в ходе инкубации, большую часть (до 90 %) составляли нарушения в строении оболочек, что связано с непосредственным контактом последних с экспериментальными растворами веществ. Однако изменения в структуре оболочек эмбрионов белуги были отмечены и в контрольной группе, которая не подвергалась воздействию экспериментальных растворов. На 18-й стадии развития у некоторых эмбрионов отмечено локальное разрушение студенистой оболочки, отслаивание оболочек от содержимого икры (рис. 17).

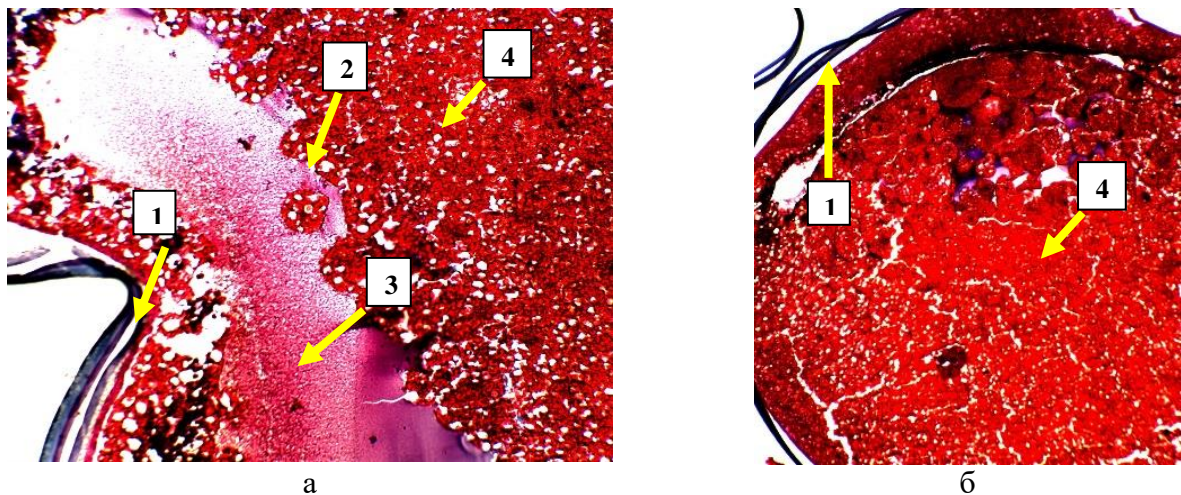
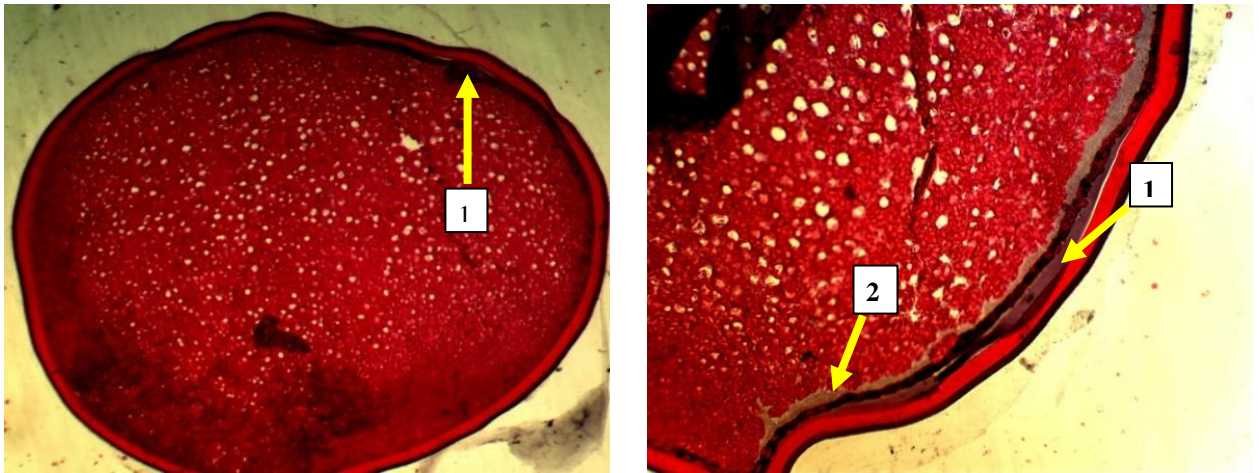


Рисунок 17 – Фрагменты оплодотворённой икры белуги контрольной группы (окраска кислым фуксином с докраской по Маллори): а – 18–19 стадии развития, ув. 10×10; б – 28–29 стадии развития, ув. 4×10; 1 – расслаивание оболочек, отслаивание студенистой оболочки от содержимого икры; 2 – зачаток хорды; 3 – целом; 4 – содержимое икры

В опытной группе с применением 0,05%-го раствора пероксида водорода отмечено отслаивание оболочек от содержимого икры, а также полости в содержимом икры непосредственно под оболочками, заполненными веществом невыясненной природы (рис. 18).



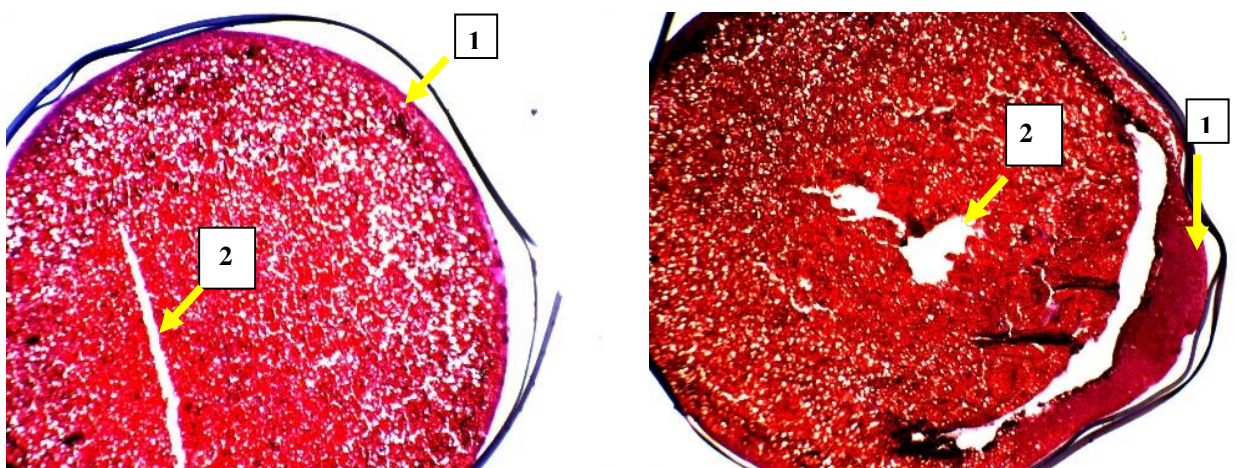


а

б

Рисунок 18 – Фрагменты оплодотворённой икры белуги, обработанной 0,05%-м раствором пероксида водорода (окраска кислым фуксином с докраской по Маллори): а – 18–19 стадии развития, ув. 4×10; б – 28–29 стадии развития, ув. 10×10; 1 – отслаивание оболочки от содержимого икры; 2 – полости в содержимом икры, заполненные веществом невыясненной природы

У эмбрионов после первой обработки 0,1%-м раствором пероксида водорода на завершающей стадии гаструляции (18 стадия развития) отмечено расслаивание и отслаивание оболочек от содержимого икры, образование полостей в содержимом икры (рис. 19а). После второй обработки тем же раствором на стадии начала пульсации сердечной трубки (28–29 стадии развития) регистрировали отслаивание оболочек, расслаивание студенистой и желточной оболочек, образование полостей в содержимом икры (рис. 19б).



а

б

Рисунок 19 – Фрагменты оплодотворённой икры белуги, обработанной 0,1%-м раствором пероксида водорода (окраска кислым фуксином с докраской по Маллори): а – 18–19 стадии развития, ув. 4×10; б – 28–29 стадии развития, ув. 40×10; 1 – отслаивание оболочки от содержимого икры; 2 – полости в содержимом икры



При обработке икры 0,2%-м раствором пероксида водорода на 18-й стадии развития выявлено образование вакуолей, заполненных содержимым не выясненной природы, разрывы и отслаивание оболочки от формирующегося эмбриона (рис. 20а). На 28–29 стадиях развития, после второй обработки регистрировали отслаивание оболочек от формирующегося эмбриона, а также образование полостей (рис. 20б).

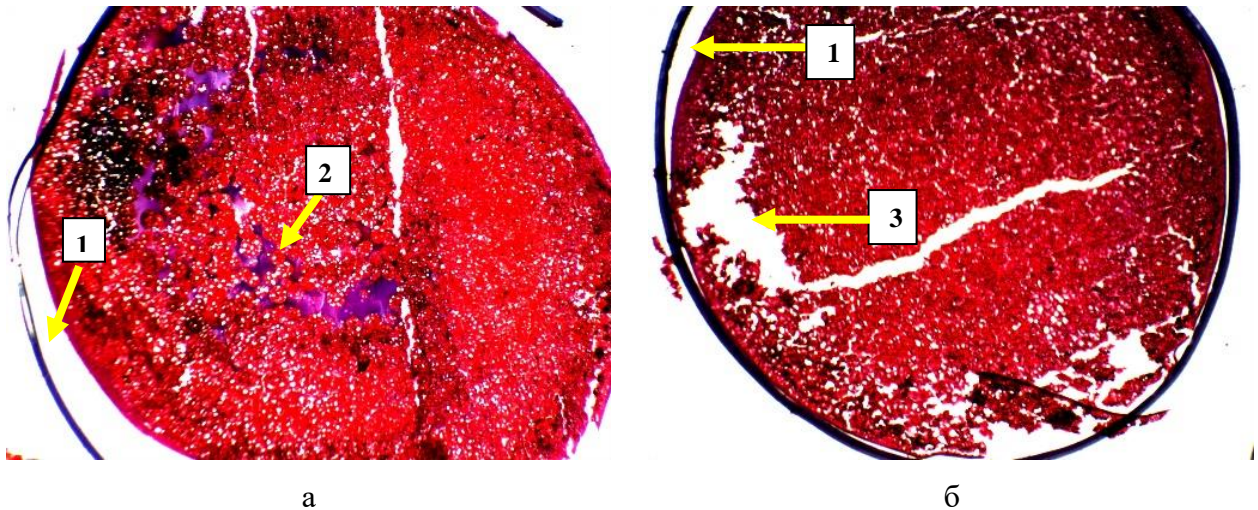


Рисунок 20 – Фрагменты оплодотворённой икры белуги, обработанной 0,2%-м раствором пероксида водорода (окраска кислым фуксином с докраской по Маллори): а – 18–19 стадии развития, ув. 4×10; б – 28–29 стадии развития, ув. 10×10; 1 – отслоившаяся оболочка от содержимого икры; 2 – вакуоль с содержимым не выясненной природы; 3 – полость в содержимом икры

В опытных группах с применением 0,3%-го раствора пероксида водорода отмечено отслаивание оболочек от содержимого икры, расслаивание студенистой и желточных оболочек (рис. 21).

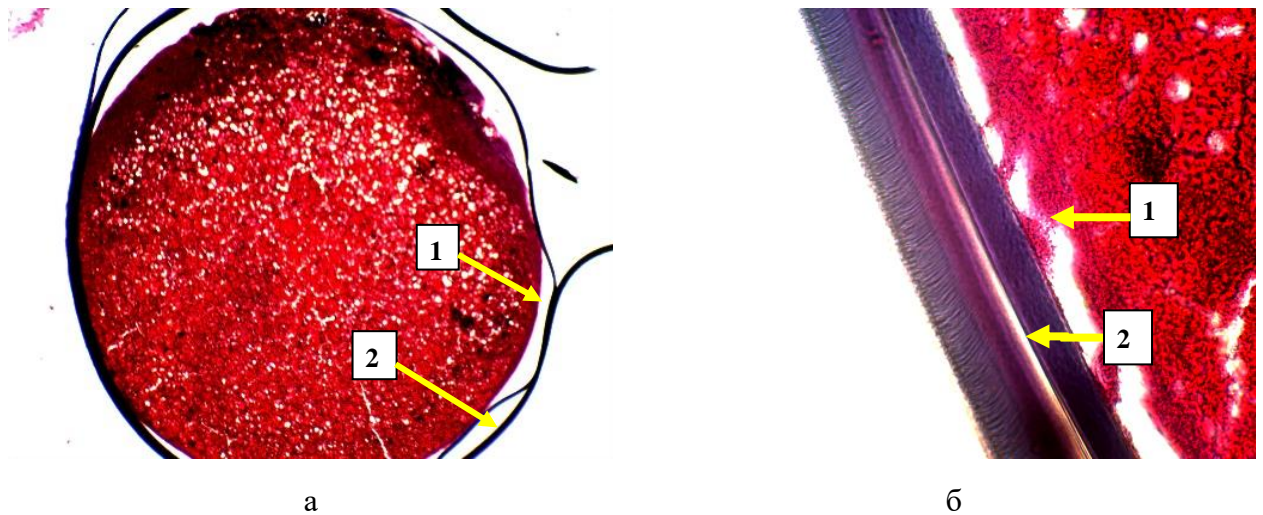


Рисунок 21 – Фрагменты оплодотворённой икры белуги, обработанной 0,3%-м раствором пероксида водорода (окраска кислым фуксином с докраской по Маллори): а – 18–19 стадии развития, ув.  $4\times 10$ ; б – 28–29 стадии развития, ув.  $10\times 10$ ; 1 – отслаивание оболочки от содержимого икры; 2 – расслаивание желточных оболочек

При обработке инкубируемой икры 0,4%-м раствором пероксида водорода отмечены следующие аномалии: отслаивание оболочек от содержимого икры, их разрывы, расслаивание студенистой и желточной оболочек, образование вакуолей с веществом невыясненной природы (рис. 22).

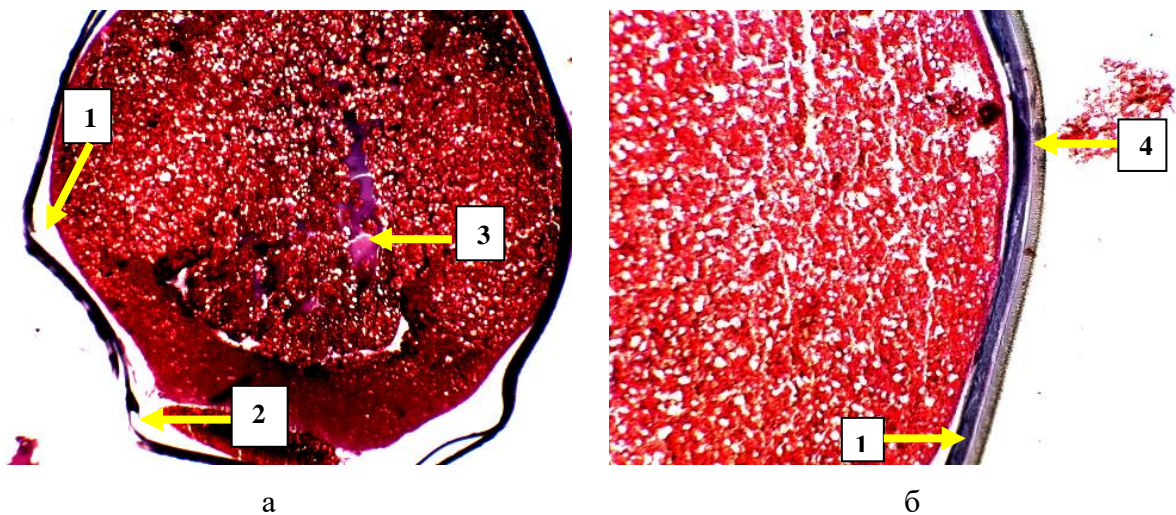


Рисунок 22 – Фрагменты оплодотворённой икры белуги, обработанной 0,4%-м раствором пероксида водорода (окраска кислым фуксином с докраской по Маллори): а – 18–19 стадии развития, ув.  $4\times 10$ ; б – 28–29 стадии развития, ув.  $40\times 10$ ; 1 – отслаивание оболочки от содержимого икры; 2 – разрывы оболочки; 3 – вакуоль, заполненная содержимым невыясненной природы; 4 – расслаивание оболочек



Обработка, инкубируемых эмбрионов белуги в яичевых оболочках 0,8%-м раствором хлорида натрия приводила к отслаиванию оболочек от содержимого икры. Следует отметить, что подобные аномалии встречались у единичных особей (рис. 23).

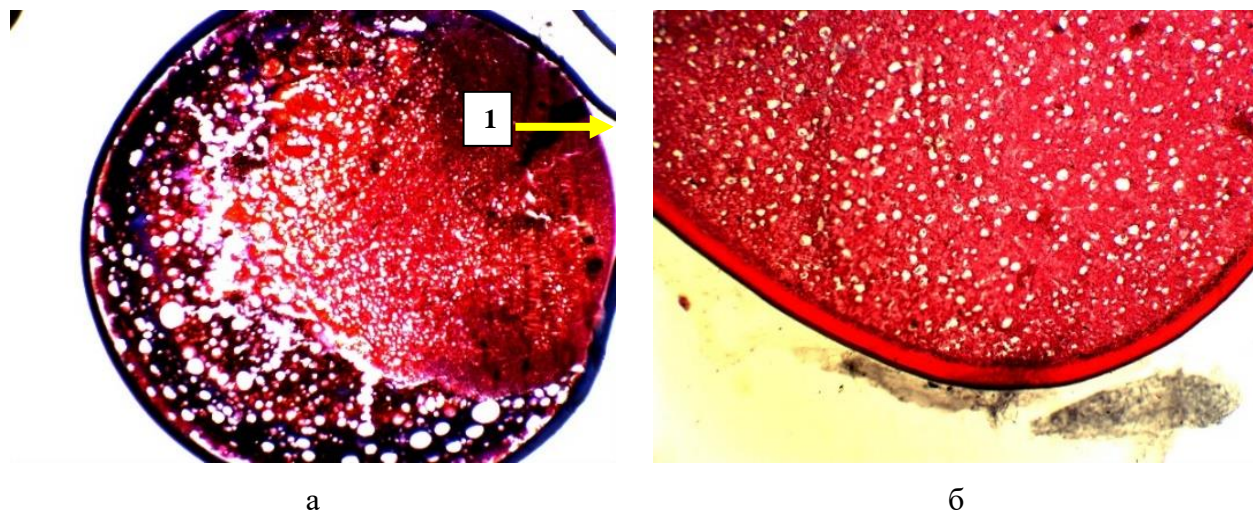


Рисунок 23 – Фрагменты оплодотворённой икры белуги, обработанной 0,8%-м раствором хлорида натрия (окраска кислым фуксином с докраской по Маллори): а – 18–19 стадии развития, ув.  $4\times 10$ ; б – 28–29 стадии развития, ув.  $10\times 10$ ; 1 – отслаивание оболочки от содержимого икры

У эмбрионов, обработанных 0,9%-м раствором хлорида натрия, регистрировали локальное отслаивание оболочек от содержимого икры, образование полостей в клеточной массе икры (рис. 24).

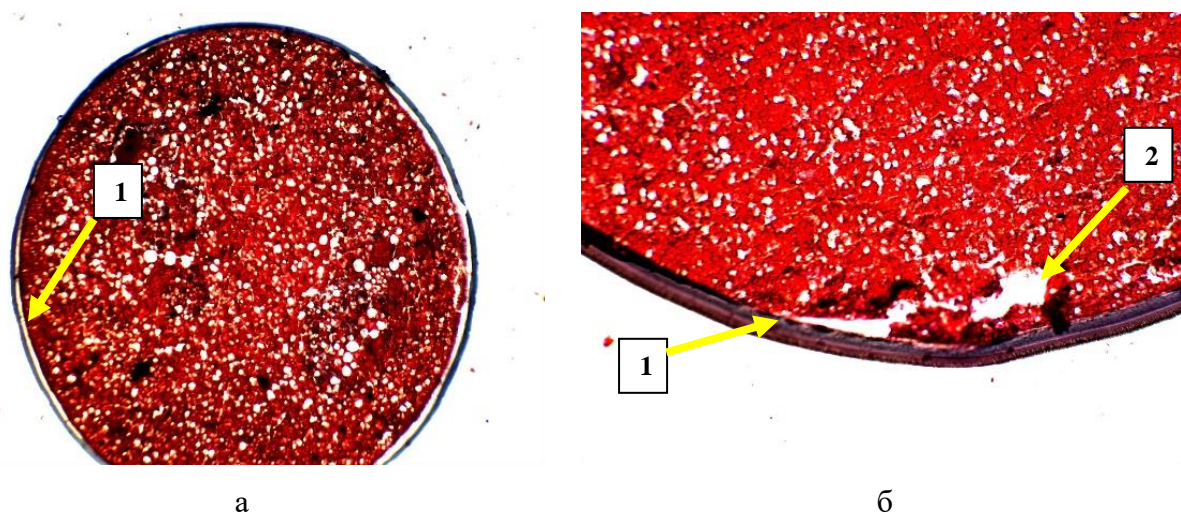


Рисунок 24 – Фрагменты оплодотворённой икры белуги, обработанной 0,9%-м раствором хлорида натрия (окраска кислым фуксином с докраской по Маллори): а – 18–19 стадии развития, ув.  $4\times 10$ ; б – 28–29 стадии развития, ув.  $10\times 10$ ; 1 – отслаивание оболочки от содержимого икры; 2 – полость в содержимом икры

В опытных группах с применением 2,0%-го раствора хлорида натрия выявлено отслаивание оболочки от содержимого икры, расслаивание студенистой и желточной оболочек, разрывы студенистой оболочки, а также неравномерность окрашивания желточной оболочки (рис. 25).

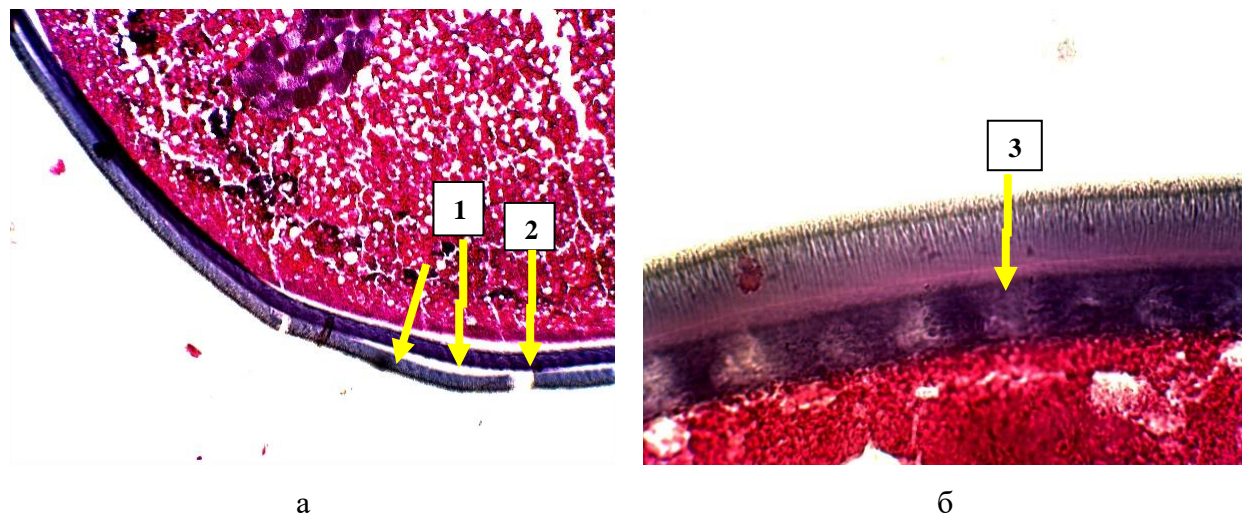


Рисунок 25 – Фрагменты оплодотворенной икры белуги, обработанной 2,0%-м раствором хлорида натрия (окраска кислым фуксином с докраской по Маллори): а – 18–19 стадии развития, ув. 10×10; б – 28–29 стадии развития, ув. 40×10; 1 – расслаивание оболочек и отслаивание оболочки от содержимого икры; 2 – разрыв студенистой оболочки; 3 – неравномерность окрашивания желточной оболочки

При повышении концентрации раствора хлорида натрия до 3,0 % отслаивание оболочек от клеточной массы икры стало более масштабным, также регистрировали образование полостей в содержимом икры. После второй обработки, помимо вышеназванных аномалий, регистрировали разрывы студенистой оболочки, неравномерность окрашивания оболочек (рис. 26).



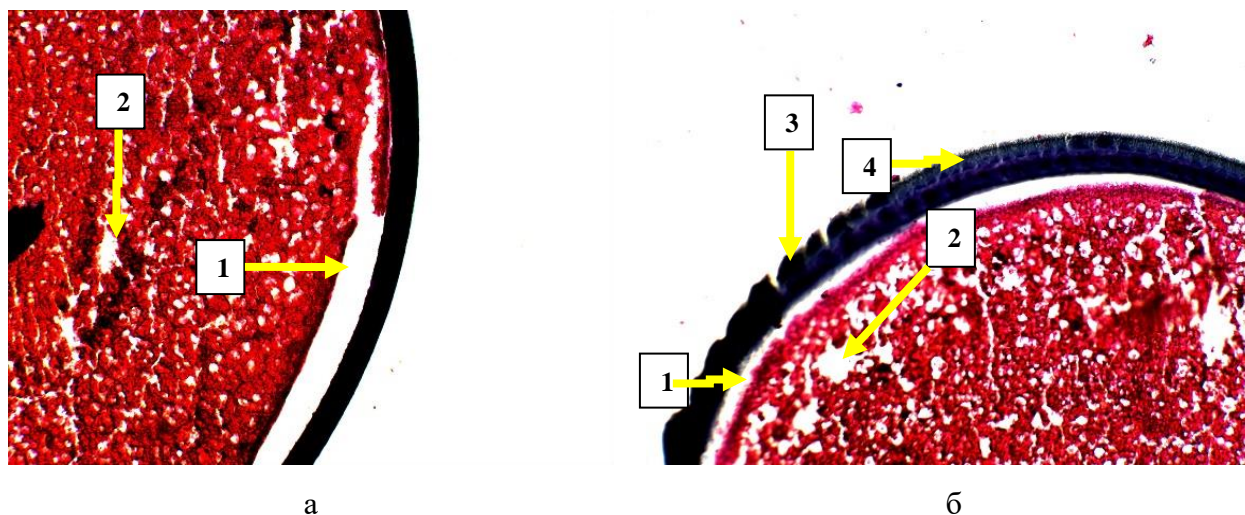


Рисунок 26 – Фрагменты оплодотворённой икры белуги, обработанной 3,0%-м раствором хлорида натрия (окраска кислым фуксином с докраской по Маллори): а – 18–19 стадии развития, ув.  $10\times 10$ ; б – 28–29 стадии развития, ув.  $10\times 10$ ; 1 – отслаивание оболочки от содержимого икры; 2 – полость в содержимом икры; 3 – разрывы студенистой оболочки; 4 – неравномерность окрашивания оболочки

При обработке 4,0%-м раствором хлорида натрия доля аномалий, связанных с оболочками, увеличилась, отслаивание оболочки происходило по всей поверхности икры, а также была отмечена неравномерность окрашивания ее оболочек и образование полостей в клеточной массе (рис. 27).

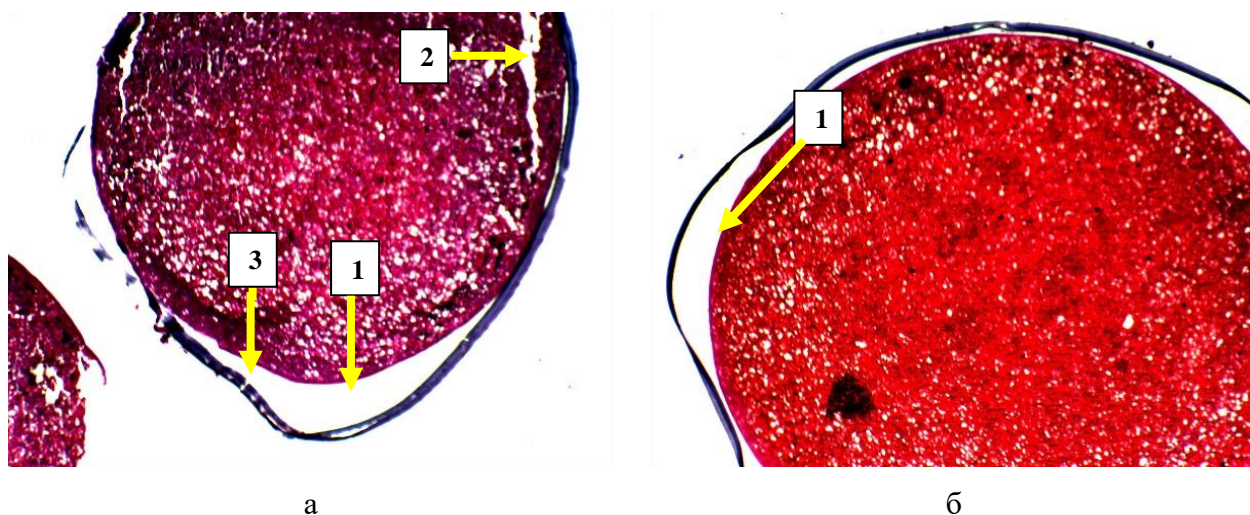


Рисунок 27 – Фрагменты оплодотворённой икры белуги, обработанной 4,0%-м раствором хлорида натрия (окраска кислым фуксином с докраской по Маллори): а – 18–19 стадии развития, ув.  $4\times 10$ ; б – 28–29 стадии развития, ув.  $10\times 10$ ; 1 – отслаивание оболочки от содержимого икры; 2 – полость в содержимом икры; 3 – неравномерность окрашивания оболочки

С увлечением концентрации экспериментальных растворов степень проявления аномалий возрастала. Так, если при обработке растворами низких концентраций отмечено локальное отслаивание оболочек, то после двух этапов обработок оболочки отслаивались по всей поверхности икры.

В результате гистологического анализа икры русского осетра выявлены изменения в студенистой и желточной оболочках как в контрольной, так и в опытных группах. В контрольной группе это были разрывы в студенистой оболочке, а также неравномерное окрашивание желточных оболочек, что свидетельствует о нарушении их структуры (рис. 28).

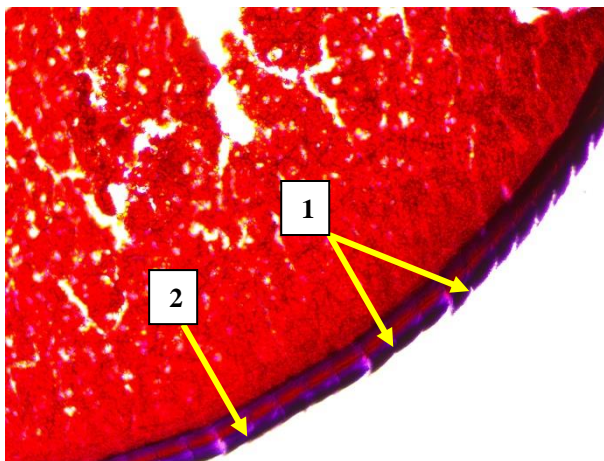


Рисунок 28 – Фрагмент оплодотворённой икры русского осетра контрольной группы (окраска кислым фуксином с докраской по Маллори), 28–29 стадии развития, ув. 10×10: 1 – разрывы студенистой оболочки; 2 – неравномерное окрашивание желточных оболочек

При применении 0,8%-го раствора хлорида натрия обнаружено то же изменение, что и в контрольной, – разрывы студенистой оболочки, но желточные оболочки были окрашены равномерно (рис. 29).

Те же изменения регистрировали при воздействии 0,05%-го раствора пероксида водорода, а также отслаивание желточной оболочки от содержимого икры (рис. 30).

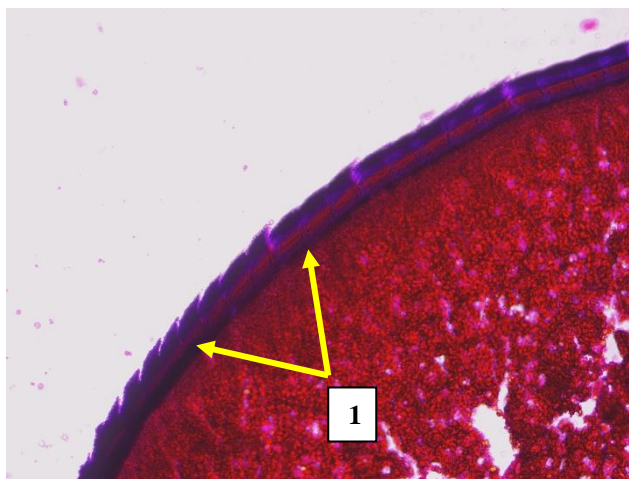


Рисунок 29 – Фрагменты оплодотворённой икры русского осетра, обработанной 0,8%-м раствором хлорида натрия (окраска кислым фуксином с докраской по Маллори), 28–29 стадии развития, ув. 10×10: 1 – разрывы студенистой оболочки

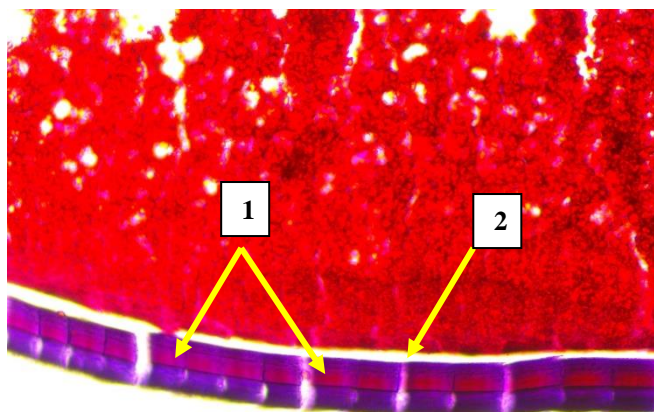


Рисунок 30 – Фрагменты оплодотворённой икры русского осетра, обработанной 0,05%-м раствором пероксида водорода (окраска кислым фуксином с докраской по Маллори), 28–29 стадии развития, ув. 10×10: 1 – разрывы студенистой и желточных оболочек; 2 – отслаивание 2-й желточной оболочки от содержимого икры

Таким образом, закономерного роста количества аномалий в развитии эмбрионов с увеличением концентрации экспериментальных растворов в опытных группах не отмечено. Патологические отклонения встречались как в экспериментальных, так и в контрольной группе. Их количество в развитии эмбрионов не было критичным и в большинстве опытных групп после второй обработки было ниже, чем в контрольной.

### 3.6 Рыбоводно-биологическая характеристика белуги, полученной от икры, обработанной растворами химических веществ

Для оценки пролонгированного воздействия экспериментальных растворов предличинки белуги, полученные после второго этапа инкубации, были рассажены в пластиковые бассейны (согласно опытным группам).

Выход свободных эмбрионов после инкубации, а также их выживаемость после перехода на экзогенное питание (ЭП) показаны на рисунке 31.

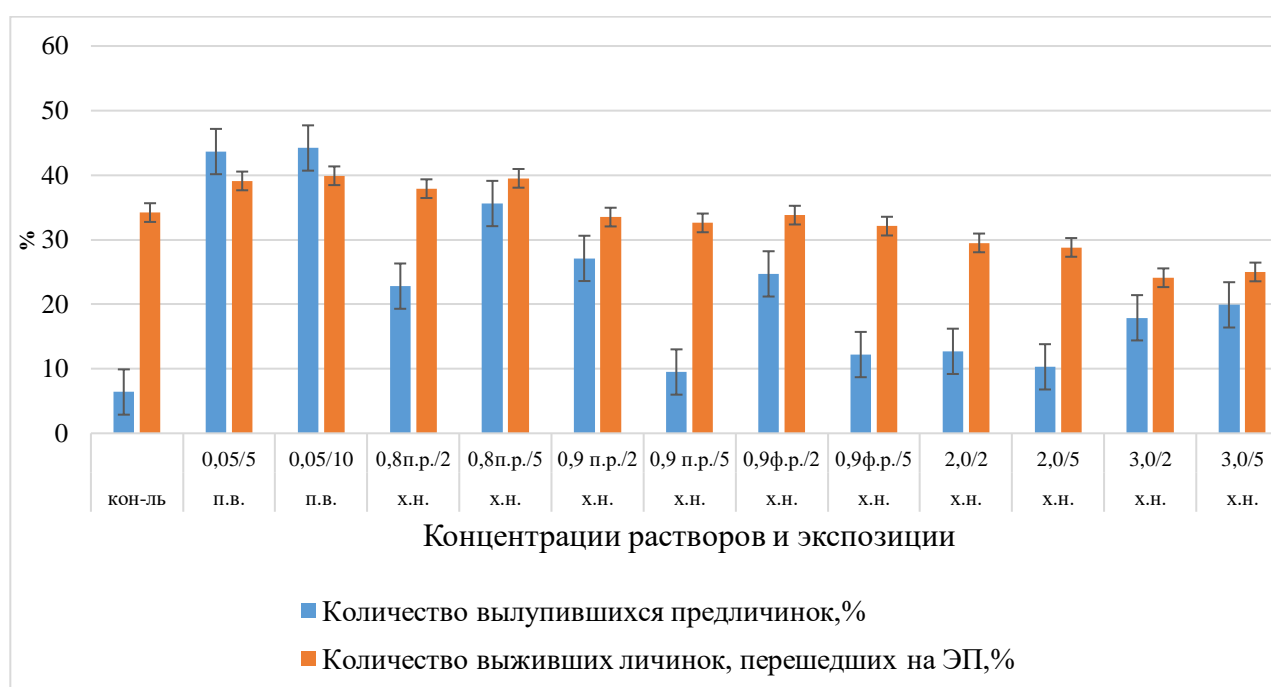


Рисунок 31 – Динамика значений показателей выхода предличинок белуги после экспериментальной обработки икры растворами хлорида натрия и пероксида водорода разной концентрации

Максимальное количество вылупившихся предличинок получено от икры, обработанной 0,05%-м раствором пероксида водорода при экспозиции 5 и 10 минут (в среднем  $43,9 \pm 0,3\%$ ). Количество полученных предличинок от икры, обработанной растворами хлорида натрия было выше, чем в контроле. Максимальное их количество получено при применении 0,8%-го раствора хлорида натрия с экспозицией 2 и 5 минут (в среднем  $29,2 \pm 6,4\%$ ). С увеличением



концентрации растворов хлорида натрия выход свободных эмбрионов после инкубации снижался. Вероятнее всего, это связано с уплотнением оболочек, что приводило к увеличению давления на развивающиеся эмбрионы, а также нарушению обмена веществ с окружающей средой (Рыкова, 1970) и, как следствие их гибели.

Постэмбриональное развитие предличинок до 45 стадии проходило без отклонений от нормативов (1 сутки – 1 стадия) (Чебанов, Галич, 2011). Увеличение отхода предличинок отмечено при переходе на жаберное дыхание (41 стадия). На 43–44 стадиях личинка начала «роиться», на 45-й стадии отмечали переход на экзогенное питание, который длился 96 часов.

Установлено, что выживаемость личинок, перешедших на экзогенное питание, полученных от икры, обработанной 0,05%-м раствором пероксида водорода и 0,8%-м раствором хлорида натрия была выше, чем в контроле. В остальных опытных группах выживаемость после перехода на экзогенное питание регистрировали на уровне значений контрольной группы.

Основные рыбоводно-биологические показатели, определяемые по окончании экспериментального периода выращивания, показаны в таблице 22.

Максимальную среднюю массу и длину достигла молодь из опытных групп с применением 0,05%-го раствора пероксида водорода и 0,8%-го раствора хлорида натрия. Следует отметить, что значения средней массы молоди в опытных и контрольных группах отличались незначительно.

Таблица 22 – Рыбоводно-биологические показатели молоди белуги в конце экспериментального периода выращивания

Показатели	Контроль	Концентрации растворов, %											
		пероксид водорода		хлорид натрия									
		0,05		0,8		0,9 п. р.		0,9 г. р.		2,0		3,0	
		Экспозиция, мин											
		5	10	2	5	2	5	2	5	2	5	2	5
$M_{нач.}, \Gamma$	0,027 ±0,02	0,029 ±0,01	0,028 ±0,01	0,029 ±0,01	0,028 ±0,01	0,027 ±0,01	0,026 ±0,02	0,027 ±0,01	0,028 ±0,01	0,027 ±0,01	0,026 ±0,01	0,027 ±0,01	0,028 ±0,01
$M_{кон.}, \Gamma$	2,954 ±0,03	3,25 ±0,02	3,31 ±0,03	3,28 ±0,02	3,23 ±0,03	3,14 ±0,08	3,12 ±0,09	3,05 ±0,04	3,01 ±0,09	3,01 ±0,03	3,11 ±0,02	3,06 ±0,01	3,12 ±0,01
$L_{нач.}, \text{см}$	0,15 ±0,03	0,15 ±0,03	0,15 ±0,03	0,15 ±0,01	0,14 ±0,02	0,15 ±0,03	0,15 ±0,03	0,15 ±0,02	0,15 ±0,01	0,14 ±0,02	0,15 ±0,03	0,15 ±0,01	0,15 ±0,03
$L_{кон.}, \text{см}$	7,7 ±0,01	7,50 ±0,02	7,60 ±0,02	7,80 ±0,01	7,70 ±0,02	7,60 ±0,01	7,50 ±0,02	7,70 ±0,01	7,80 ±0,03	7,90 ±0,01	7,90 ±0,01	8,00 ±0,02	7,70 ±0,02
$P_a, \Gamma$	2,1	3,22	3,28	3,25	3,23	3,11	3,12	3,02	3,01	2,99	3,08	3,03	3,09
$P_c, \text{г/сут.}$	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
$A, \%$	5,102	5,15	5,21	5,15	5,18	5,23	5,22	5,23	5,10	5,14	5,22	5,14	5,14
$Q\phi, \%$	0,65	0,77	0,75	0,68	0,71	0,59	0,74	0,43	0,64	0,61	0,63	0,68	0,68
$K_m, \%$	0,025	0,037	0,038	0,037	0,037	0,035	0,037	0,037	0,036	0,036	0,037	0,037	0,037

В целом размерно-массовые характеристики полученных предличинок не выходили за пределы нормы (Технологии и нормативы по товарному..., 2006; Мухрамова, 2012; Основы индустриальной аквакультуры..., 2019). При переходе на экзогенное питание (7–8 день от начала инкубации) при температуре выращивания от 22 до 26 °С средняя масса личинок белуги должна достигать 60–70 мг, а длина тела – 22–27 мм (Чебанов, Галич, 2011). В экспериментальных группах личинки достигли средней массы от 49,0 до 58,0 мг и средней длины от 20,0 до 20,5 мм на 10-е сутки от начала их выращивания. Темпы роста полученных и выращиваемых личинок в опытных и контрольной группах были ниже, так как в начале выращивания температура воды в бассейнах была 18,1 °С, и до 22 °С температуру подняли на 53-е сутки выращивания – именно в этот период наблюдалось повышение темпов роста. Средней массы 4,0 г белуга достигает за 45 суток от начала выращивания (Чебанов, Галич, 2011). В контрольной и опытных группах средней массы 3,0 г молодь достигла только на 94-е сутки от начала выращивания, что показывает снижение ее темпов роста в два раза. На снижение темпов роста не могла оказать влияние обработка экспериментальными растворами, так как подобная тенденция сохранялась не только в опытных группах, но и в контрольной.

Согласно полученным результатам, максимальные значения абсолютного прироста регистрировали в опытных группах с применением 0,05%-го раствора пероксида водорода и 0,8%-го хлорида натрия. Значение показателя среднесуточного прироста было одинаковым во всех экспериментальных вариантах, а значение коэффициента массонакопления отличалось лишь на тысячные доли, максимальное значение было отмечено у рыб с использованием 0,05%-го раствора пероксида водорода (экспозиция 10 мин.).

Максимальное значение показателя среднесуточной скорости роста отмечено в у рыб с применением 0,8%-го раствора хлорида натрия и 0,05%-го раствора пероксида водорода.

Одним из показателей, отражающих физиологическое состояние рыб, является коэффициент упитанности, который рассчитывали по Фультону. Выявленные значения у молоди белуги свидетельствуют об ее удовлетворительном состоянии как в контрольной, так и в экспериментальных вариантах (Васильева, Ноякшева, 2000). Максимальные значения коэффициента упитанности отмечены у рыб с 0,05%-м раствором пероксида водорода и 0,8%-м раствором хлорида натрия. В остальных вариантах значение показателя упитанности было на уровне значений контрольной группы.

В течение всего периода выращивания проводили клиническое и патологоанатомическое обследование личинок и молоди белуги.

В первые дни личинки находились в толще воды бассейна, на шумовой и тактильный раздражители реагировали положительно. При клиническом осмотре отклонений в их развитии обнаружено не было.

В течение всего периода выращивания молодь белуги в экспериментальных бассейнах локализовалась преимущественно у дна. В контрольной группе регистрировали большое количество молоди у поверхности. В опыте особи белуги адекватно реагировали на шумовой и тактильный раздражители, в контрольном варианте – реакции были заторможены. Повреждение кожных покровов и плавников рыб не отмечено. Слизь на поверхности тела была прозрачная, тянущаяся, однородной консистенции. После перехода на экзогенное питание у особей в контрольной группе и опытных группах, полученных от икры, обработанной 2,0%-м и 3,0%-м растворами хлорида натрия отмечалась слабая реакция на корм (Оценка воздействия растворов пероксида водорода..., 2019).

В результате патологоанатомического обследования молоди отмечено следующее: жабры были красного цвета, ослизнение в пределах нормы, кровеносный сосуд немного расширен. Стенки желудочно-кишечного тракта были прозрачные и целостные. У 48 % обследованной рыбы из контрольной группы желудочно-кишечный тракт не был наполнен сухим кормом, отмечено

вздутие желудка и газообразование в кишечнике. В опытных группах количество особей с наполненным желудочно-кишечным трактом достигало 91 %, отмечено газообразование, что является признаком дисбактериоза кишечника. Печень у обследованных рыб в контрольной и во всех опытных группах была бежевого цвета (рис. 32б), нормальной формы, мажущей консистенции, что может быть связано с кормлением сухими кормами, составляющими основу рациона питания. (Оценка воздействия растворов пероксида водорода..., 2019). Изменений в селезенке и почках у обследованных особей не отмечено. В сердце патологий не выявлено. (Оценка воздействия растворов пероксида водорода..., 2019).

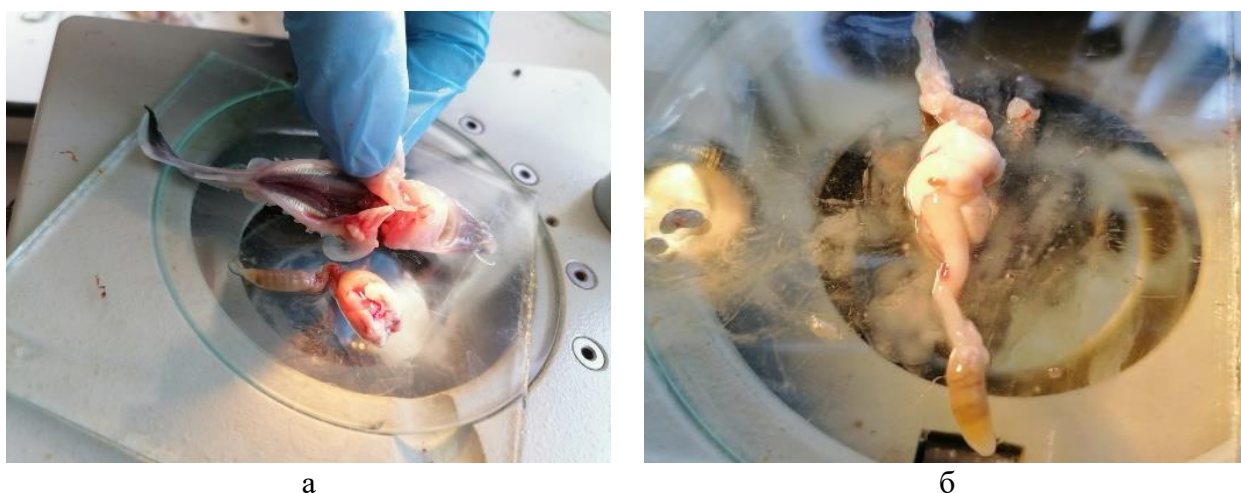


Рисунок 32 – Состояние органов молоди белуги, полученной от икры, обработанной дезинфицирующими средствами: а – вскрытая молодь белуги; б – внутренние органы

Таким образом, максимальное количество выживших личинок после перехода на экзогенное питание регистрировали в опытных группах с использованием 0,05%-м раствором пероксида водорода с экспозицией 5 и 10 минут и 0,8%-м хлоридом натрия при испытуемых экспозициях 2 и 5 минут.

В течение всего периода выращивания отмечено, что темпы роста полученных предличинок были низкими во всех группах, включая контрольную. Всесторонний анализ данного явления показал, что максимальные размерно-массовые показатели регистрировали у молоди, полученной от икры,

обработанной 0,05%-м раствором пероксида водорода и 0,8%-м раствором хлорида натрия. Значение рыбоводно-биологических показателей по опытным группам изменялись незначительно. Ихтиопатологическое обследование молоди белуги показало изменения в пищеварительной системе (газообразование в желудочно-кишечном тракте), что могло послужить причиной отказа от корма и, как следствие, привело к низким показателям её выживаемости.

Таким образом, максимальное количество вылупившихся свободных эмбрионов получено в опытных группах от икры, обработанной 0,05%-м раствором пероксида водорода при экспозиции 5 и 10 минут и опытной группы с применением 0,8%-го раствора хлорида натрия с экспозицией 5 минут. Высокая выживаемость личинок при переходе на экзогенное питание и максимальные размерно-массовые показатели отмечены в тех же опытных группах. Дальнейшее наблюдение за темпом роста и состоянием молоди белуги не выявило пролонгированного токсического действия химических растворов.

## ГЛАВА 4 РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКЕ ИКРЫ ОСЕТРОВЫХ ВИДОВ РЫБ (БЕЛУГИ И РУССКОГО ОСЕТРА) ПРИ ИНКУБАЦИИ

Для подавления роста и развития сапролегниевых микромицетов на инкубируемой икре осетровых видов рыб допустимо проводить обработку 0,05%-м раствором пероксида водорода, приготовленного из маточного раствора (36–38 %), а также 0,8%-м раствором хлорида натрия, который может быть приготовлен из поваренной соли.

**Вариант 1.** Для приготовления 0,05%-го раствора пероксида водорода используют 38%-й маточный раствор. Необходимую концентрацию получают из маточного раствора путём разбавления его водой. Количество дистиллированной воды и маточного раствора рассчитывают методом диагональной модели «конверта Пирсона» (табл. 23).

Таблица 23 – Расчёт объёма маточного раствора пероксида водорода и воды, необходимых для приготовления 0,05%-го раствора пероксида водорода

0 % – H <sub>2</sub> O	0,05 %	37,95 мл – H <sub>2</sub> O
38 % – маточный раствор*		0,05 мл маточного раствора
Примечание – *Концентрация маточного раствора пероксида водорода может меняться от 38 до 36 %.		

Далее проводят перерасчёт на объём воды, необходимый для проведения обработки икры. Её проводят во время инкубации методом кратковременных лечебных ванн на 16–17, 21–22 и 27–28 стадиях развития для белуги и на 16–17 и 21–22 стадиях развития для русского осетра (Поиск эффективных средств..., 2019). Следует учитывать гидрохимические условия инкубации. При температуре выше 25 °С, а также при концентрации биогенов (NH<sub>4</sub><sup>-</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) в воде выше предельно допустимых обработку проводить не рекомендуется.

Таблица 24 – Сводные данные по обработке икры белуги 0,05%-м раствором пероксида водорода, приготовленным из 36–38%-го маточного раствора

Вид рыбы	Возрастная группа	Количество икры, кг	Концентрация приготовленного раствора, %	Время воздействия, мин.	Объём воды, л	Объём маточного раствора, мл
Белуга	Эмбрионы (икра)	1	0,05	5,0–10,0	20	26,4
Русский осётр	Эмбрионы (икра)	1	0,05	10,0	20	26,4

В отдельную ёмкость (или стеклопластиковый бассейн типа ИЦА-1) наливают 20 л воды и добавляют 26,4 мл маточного раствора пероксида водорода, перемешивают. Лотки из инкубационного аппарата типа «Осётр» аккуратно вынимают и погружают в раствор на 5,0–10,0 минут. В течение всего времени их медленно покачивают, обеспечивая аэрацию и промывание икры. После обработки лотки с икрой вновь возвращают в инкубационный аппарат. Приготовленный раствор используют для однократной обработки при загрузке икры 1 кг на лоток.

**Вариант 2.** Для приготовления 0,8%-го физиологического раствора используют поваренную соль 2-го помола. Обработку икры проводят во время инкубации методом кратковременных лечебных ванн на 16–17, 21–22 и 27–28 стадиях развития для белуги и на 16–17 и 21–22 стадиях развития для русского осетра (Поиск эффективных средств..., 2019).

Таблица 25 – Сводные данные по обработке икры белуги 0,8%-м раствором хлорида натрия, приготовленным из поваренной соли

Вид рыбы	Возрастная группа	Количество икры, кг	Концентрация приготовленного физиологического раствора, %	Время воздействия, мин.	Объём воды, л	Масса поваренной соли, кг
Белуга	Эмбрионы (икра)	1	0,8	2,0–5,0	10	0,08
Русский осётр	Эмбрионы (икра)	1	0,8	2,0	10	0,08



Следует учитывать гидрохимические условия инкубации. При температуре выше 25 °С, а также при концентрации биогенов ( $\text{NH}_4^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ) в воде выше предельно допустимых обработку проводить не рекомендуется.

В отдельную ёмкость (или стеклопластиковый бассейн типа ИЦА-1) наливают 10 л воды и добавляют 80 г поваренной соли, размешивают до полного растворения. Лотки из инкубационного аппарата типа «Осётр» аккуратно вынимают и погружают в раствор на 2–5 минут. В течение всего времени лотки медленно покачивают, обеспечивая аэрацию и промывание икры. После обработки лотки возвращают в инкубационный аппарат. Приготовленный раствор используют на 1 обработку при загрузке икры 1 кг на лоток.

## ГЛАВА 5 ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ ОБРАБОТОК ИКРЫ ОСЕТРОВЫХ ВИДОВ РЫБ В ПЕРИОД ИНКУБАЦИИ

По результатам исследований был проведён расчёт экономической эффективности (Как рассчитать экономическую эффективность... [Электронный ресурс]. URL: <https://yagla.ru/blog/upravlenie/kak-rasschitat-ekonomicheskuyu-effektivnost--2108m94955/>. (Дата обращения: 02.06.2022 г.)) и рентабельности (Анализ рентабельности продукции... [Электронный ресурс]. URL: <https://www.moedelo.org/club/upravlencheskiy-uchet/rentabelnost-produkcii-raschet-i-analiz>. (Дата обращения: 02.06.2022 г.) на основании применения 0,05%-го раствора пероксида водорода и 0,8%-го раствора хлорида натрия.

Средняя массы одной икринки белуги составляла 0,026 г. Общее количество икры в 1 кг – 38 461,5 шт. Расчёт выхода молоди средней массой 3 г с 1 кг икры, заложенной на инкубацию, представлен в таблице 26.

Таблица 26 – Расчёт выхода молоди (3 г) от 1 кг заложенной на инкубацию икры

Опытная группа	Показатель оплодотворения, %	Количество полученных предличинок		Количество личинок, перешедших на ЭП		Количество полученной молоди	
		%	шт.	%	шт.	%	шт.
Контроль	95	6,4	2 338	34,2	800	55	440
0,05 % (5 мин.) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	90	43,6	15 092	39,1	5 901	69	4 072
0,05% (10 мин.) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	90	44,2	15 300	39,9	6 105	68	4 151
0,8 % (2 мин.) NaCl	91	37	12 950	37,9	4 908	63	3 092
0,8 % (5 мин.) NaCl	91	36	12 600	39,5	4 977	68	3 384

Для оценки экономической эффективности использовали формулу:

$$\mathcal{E} = \text{РД}/3,$$

где РД – результат деятельности, руб.;

З – затраты, руб.

Результатом деятельности считали полученную молодь со средней массой 3 г. В затраты вошла стоимость оплодотворённой икры из расчёта стоимости одной оплодотворённой икринки 5 руб. Так как расчёт вёлся от закладки 1 кг икры, то общая стоимость составила:

$$38\,461,5 \cdot 5 = 192\,307,5 \text{ тыс. руб.}$$

Также в затраты вошли расходы на электроэнергию из расчёта 0,5кВ/ч за период выращивания 60 дней (всего затраты составили 3 607,2 руб.) и сухие корма, потраченные на выращивание белуги до 3 г. Стоимость корма, затраченного на выращивание молоди, варьировала в зависимости от опытной группы, так как количество полученной предличинки и личинки, перешедшей на экзогенное питание, а также количество молоди, доросшей до 3 г, было разным.

Результаты расчёта экономической эффективности приведены в таблице 27.

Таблица 27 – Расчёт экономической эффективности при выращивании молоди белуги до средней массы 3 г от икры по опытным группам

Опытная группа	Результат деятельности (РД), руб.	Затраты (З), руб.	Экономическая эффективность (Э)	Рентабельность (R <sub>пр</sub> )
Контроль	13 200	198 473,1	0,07	6,60
0,05 % (5 мин.) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	122 160	201 414,7	0,61	60,65
0,05 % (10 мин.) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	124 530	201 514,7	0,62	55,20
0,8 % (2 мин.) NaCl	92 760	200 349,5	0,46	46,30
0,8 % (5 мин.) NaCl	101 520	200 414,7	0,51	50,65

Важным показателем, который говорит об эффективности затрат и показывает долю прибыли в каждом рубле, затраченном на производство продукции, является рентабельность. Формула расчёта представляет собой отношение прибыли к себестоимости:

$$R_{\text{пр}} = \Pi_{\text{п}} / C_{\text{с}} \cdot 100,$$

где R<sub>пр</sub> – рентабельность продукции;

$P_p$  – прибыль;

$C_c$  – себестоимость.

Результаты расчёта экономической эффективности показали, что по сравнению с контрольной группой максимальный экономический эффект отмечен в опытных группах с применением обработки инкубируемой икры 0,05%-м раствором пероксида водорода с экспозицией 5 и 10 минут, а также с использованием 0,8%-го раствора хлорида натрия с экспозицией 2 и 5 минут.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе работы впервые проведены комплексные исследования влияния растворов пероксида водорода и хлорида натрия разной концентрации, а также разной экспозиции на выживаемость эмбрионов белуги и русского осетра, их заражение сапролегниевыми микромицетами, на нормальность эмбриогенеза и влияние на яйцевые оболочки эмбрионов. По результатам исследования нами повторно было установлено, что наиболее эффективными химическими веществами для подавления роста и развития возбудителей сапролегниоза являются растворы пероксида водорода концентрацией 0,05 % с экспозицией 5 и 10 минут, хлорида натрия концентрацией 0,8 % с экспозицией 2 и 5 минут.

Проведены физиолого-биохимические исследования производителей белуги и русского осетра, от которых были получены половые продукты. По результатам анализа полученных данных был сделан вывод об удовлетворительном состоянии производителей, а снижение концентрации липидов в крови белуги относительно этих значений в крови русского осетра может свидетельствовать о предрасположенности к заражению икры сапролегниевыми микромицетами. Видимо поэтому заражение инкубируемых эмбрионов белуги было выше, чем эмбрионов русского осетра.

В ходе инкубации белуги и русского осетра, а также в процессе выращивания молоди белуги проводили гидрохимические и окситермический контроль условий выращивания, по результатам которого можно сделать вывод об их стабильности. Установлено, что превышение некоторых показателей (рН, нитрит- и нитрат-ионы) не приводило к гибели объектов исследования.

В работе научно обосновано применение раствора пероксида водорода (0,05 % с экспозицией 5 и 10 минут) и хлорида натрия (0,8 % с экспозицией 2 и 5 минут) для подавления роста и развития сапролегниевых микромицетов.

Наиболее эффективно проводить обработку на 16–17, 21–22 и 27–28 стадиях развития для белуги и 21–22 стадиях развития – для русского осетра.

Применение в ходе инкубации белуги и русского осетра 0,05%-го раствора пероксида водорода с экспозицией 5 и 10 минут и 0,8%-го раствора хлорида натрия с экспозицией 2 и 5 минут приведёт к снижению заражения эмбрионов сапролегниевыми микромицетами и увеличит выход свободных эмбрионов в результате инкубации в среднем в шесть раз и повысит рентабельность предприятия в среднем на 40,4 %. При этом экспериментальные растворы данных веществ оказывали минимальное воздействие на эмбриональное и постэмбриональное развитие белуги, что подтверждено рыбоводно-биологическими и ихтиопатологическими исследованиями.

Проведённые исследования позволили сделать следующие **выводы**:

1. Установлено фунгистатическое действие 0,4%-го раствора хлорида натрия с экспозицией 3 и 4 минуты и 0,4%-го раствора пероксида водорода с экспозицией 4 минуты на гросс-культуру сапролегниевых микромицетов *in vitro*.

2. Физиолого-биохимические исследования крови русского осетра и белуги не выявили значимых различий в показателях. Так, концентрация общего сывороточного белка составляла в среднем 38,8 г/л, холестерина – 4,4 ммоль/л, триглицеридов – 1,85 г/л, бета-липопротеидов – 3,95 г/л. Значительные отличия наблюдались в содержании общих липидов в крови: у самок белуги – 5,0 г/л, у русского осетра – 13,3 г/л, а также в икре: от самок белуги – 7,46 % в сухом веществе, русского осетра – 9,49 %.

3. Выявлено, что максимальная выживаемость эмбрионов белуги ( $79,5 \pm 4,5$  %) и русского осетра ( $91,0 \pm 0,01$  %) зарегистрирована в опытной группе с использованием 0,05%-го раствора пероксида водорода с экспозицией 5 и 10 минут и 0,8%-го раствора хлорида натрия – с экспозицией 2 и 5 минут.

4. Определено, что применение 0,05%-го раствора пероксида водорода с экспозицией 5 и 10 минут в качестве лечебно-профилактического средства

снижает экстенсивность инвазии сапролегниевыми микромицетами эмбрионов белуги на 7 и 11,5 % соответственно экспозициям, 0,8%-го раствора хлорида натрия с экспозицией 2 и 5 минуты – на 8,5 и 7,5 % соответственно экспозициям.

5. Установлено, что роста числа аномально развивающихся эмбрионов белуги и русского осетра с повышением концентрации химических веществ и увеличением экспозиции не отмечено, однако степень их проявления увеличивается. Максимальное количество аномально развивающихся эмбрионов отмечено при применении растворов хлорида натрия – до 16 %. Большинство аномалий были связаны с нарушением строения яйцевых оболочек, что объясняется непосредственным контактом последних с экспериментальными растворами.

6. Выявлено, что количество свободных эмбрионов белуги, полученных в результате инкубации в опытных группах с применением 0,05%-го раствора пероксида водорода и 0,8%-го раствора хлорида натрия, больше, чем в контроле в среднем в шесть раз. Максимальное количество выживших личинок после перехода на экзогенное питание регистрировали при обработке икры 0,05%-м раствором пероксида водорода с экспозицией 5 и 10 минут –  $39,5 \pm 0,4$  % и 0,8%-м раствором хлорида натрия с экспозицией 2 и 5 минут –  $38,7 \pm 0,8$  %. Максимальный прирост отмечен у молоди, полученной от икры, обработанной 0,05%-м раствором пероксида водорода (в среднем 3,25 г) и 0,8%-м раствором хлорида натрия (в среднем 3,24 г).

7. Разработанные технологические приёмы инкубации икры осетровых рыб позволяют снизить экстенсивность инвазии сапролегниевыми микромицетами в среднем в два – три раза, повысив выживаемость на всех этапах онтогенеза.

8. Новый метод борьбы с сапролегниозом эмбрионов осетровых рыб повышает уровень рентабельности предприятия по получению молоди стандартной массы 3 г на 40,4 %.

Проведенные исследования позволили разработать следующие **практические рекомендации**

1. При проведении инкубации икры белуги и русского осетра для снижения степени заражения её сапролегниевыми микромицетами рекомендуем проводить обработку методом кратковременных ванн 0,05%-м раствором пероксида водорода с экспозицией 5 и 10 минут и 0,8%-м раствором хлорида натрия с экспозицией 2 и 5 минут.

2. Обработку икры белуги рекомендуем проводить на 16–17, 21–22 и 27–28 стадиях с учётом степени заражения инкубируемой икры сапролегниевыми микромицетами. Обработку икры русского осетра следует проводить на 16–17 и 21–22 стадиях развития с учётом степени заражения её сапролегниевыми микромицетами.

3. Приготовление растворов и обработку ими икры проводить в соответствии разработанными рекомендациями.

Перспективы дальнейшей разработки темы: дальнейшее развитие данной темы возможно в части отработки различных методических подходов по обработке инкубируемой икры осетровых видов рыб для разных типов инкубационных систем, с учетом биологического и экономического эффекта. Кроме того, работа будет продолжена по направлению расширения списка химических веществ, эффективных для подавления развития сапролегниевых микромицетов, заражающих эмбрионы осетровых в период инкубации и расширению списка видов, к которым они применимы.



**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Об обращении лекарственных средств : Федеральный закон от 12 апреля 2010 года № 61 (с изменениями на 22 декабря 2020 года) (редакция, действующая с 1 января 2021 года) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_99350](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_99350), ограниченный. – Заглавие с экрана. – Яз. рус.

2. О внесении изменений в Методику расчёта объёма добычи (вылова) водных биологических ресурсов, необходимого для обеспечения сохранения водных биологических ресурсов и обеспечения деятельности рыбоводных хозяйств, при осуществлении рыболовства в целях аквакультуры (рыбоводства), утверждённую приказом Минсельхоза России от 30 января 2015 года № 25 [Электронный ресурс] : [Приказ Министерства сельского хозяйства Российской Федерации от 25 августа 2015 г. № 377]. – Режим доступа: [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_188208/2ff7a8c72de3994f30496a0ccb1ddafdaddf518/](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_188208/2ff7a8c72de3994f30496a0ccb1ddafdaddf518/), ограниченный. – Заглавие с экрана. – Яз. рус.

3. Об утверждении нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения : Приказ Министерства сельского хозяйства Российской Федерации от 13 декабря 2016 г. № 552 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/420389120>, ограниченный. – Заглавие с экрана. – Яз. рус.

4. ОСТ 15372-87. Вода для рыбоводных хозяйств. Общие требования и нормы [Электронный ресурс] : [утверждён Министерством рыбного хозяйства СССР (Минрыбхоз СССР) 1 апреля 1988 г.]. – Режим доступа:

[https://standartgost.ru/g/%D0%9E%D0%A1%D0%A2\\_15.372-87](https://standartgost.ru/g/%D0%9E%D0%A1%D0%A2_15.372-87), свободный. – Заглавие с экрана. – Яз. рус.

5. МУ 3.2.1756-03. Эпидемиологический надзор за паразитарными болезнями [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200042676>, свободный. – Заглавие с экрана. – Яз. рус.

6. МУК 3.2.988-00. Методы санитарно-паразитологической экспертизы рыбы, моллюсков, ракообразных, земноводных, пресмыкающихся и продуктов их переработки [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200030400>, свободный. – Заглавие с экрана. – Яз. рус.

7. Сборник инструкций и нормативно-методических указаний по промышленному разведению осетровых рыб в Каспийском и Азовском бассейнах [Текст]. – Москва : ВНИРО, 1986. – 271 с.

8. Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб [Текст] / ответственные за выпуск: начальник отдела организации противоэпизоотических мероприятий, к. в. н. Н. А. Яременко, гл. специалист, к. в. н. А. Н. Мачнев, проф. Ю. А. Стрелков, д. б. н. А. М. Наумова. – Москва : Отдел маркетинга АМБ-агро, 1998.

9. Государственный реестр лекарственных средств для ветеринарного применения. Запись № 8434. Девастин. Повидон йод [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://galen.vetrif.ru/#/registry/pharm/registry?page=1&f\\_name=%D0%94%D0%B5%D0%B2%D0%B0%D1%81%D1%82%D0%B8%D0%BD/](https://galen.vetrif.ru/#/registry/pharm/registry?page=1&f_name=%D0%94%D0%B5%D0%B2%D0%B0%D1%81%D1%82%D0%B8%D0%BD/), свободный. – Заглавие с экрана. – Яз. рус.

10. Инструкция по химическому анализу воды прудов [Текст] : [утверждена Министерством рыбного хозяйства СССР 20.03.1984]. – 2-е изд., доп. – Москва : ВНИИПРХ, 1985. – 46 с.

11. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики [Текст] : справочник / под ред. проф. И. П. Кондрахина. – Москва : КолосС, 2004. – 520 с.
12. Методы биологии развития. Экспериментально-эмбриологические, молекулярно-биологические и цитологические [Текст] / Т. А. Детлаф и [др.] ; под ред. Т. А. Детлаф. – Москва : Наука, 1974. – 619 с.
13. Методические указания по проведению гематологического обследования рыб № 13-4-2/1487 от 02 февраля 1999 г. [Текст] / Министерство сельского хозяйства и продовольствия Российской Федерации (Минсельхозпрод России), Департамент ветеринарии. – Москва : Минсельхозпрод России, 1999. – 6 с.
14. Химические методы исследования биологических субстратов в профпатологии [Текст] : практическое руководство / под. ред. П. А Розенберга, Н. К. Бялко. – Москва : Медицина, 1969. – 183 с.
15. Атлас нарушений в гаметогенезе и строении молоди осетровых [Электронный ресурс] / Н. В. Акимова [и др.]. – Москва : ВНИРО, 2004. – 120 с. – Режим доступа: <http://dspace.vniro.ru/handle/123456789/1777>, свободный. – Заглавие с экрана. – Яз. рус.
16. Патент № 2344766 Российская Федерация, МПК А61В17/00, А61К31/047, А61К31/19, А61К33/40, А61Р11/00, А61М27/00. Способ лечения гнойных плевролегочных полостей: заявл. 23.05.2007 : опубл. 27.01.2009 / Базаев Т.В., Базаев Ю. Т., — 5 с.
17. Изучение заболеваний, разработка современных методов и средств диагностики, профилактики, лечения и инструктивно и методической документации по охране здоровья объектов аквакультуры [Текст] : отчет о НИР (2 квартал) / руководитель И. В. Бурлаченко ; ответственные исполнители В. В. Баринаева [и др.]. – Москва : ВНИРО, 2019. – Т. 2. – 1709 с.

18. Астахова, Т. В. Опыт работы с грибковыми заболеваниями икры осетровых [Текст] / Т. В. Астахова // Рыбное хозяйство. – 1965. – № 3. – С. 20–21.

19. Астахова, Т. В. Меры борьбы с грибковым заболеванием икры осетровых на заводе [Текст] / Т. В. Астахова, К. В. Мартино // Вопросы ихтиологии. – 1968. – Т. 8, вып. 2 (49). – С. 332–341.

20. Баринова, В. В. Определение степени воздействия растворов химических веществ разной концентрации на рост и развитие культуры микромицетов сем. *Saprolegniaceae* «in vitro» [Текст] / В. В. Баринова, А. А. Бахарева, Р. Р. Баталова // Вестник Астраханского государственного технического университета. Сер. Рыбное хозяйство. – 2020. – Вып. 4. – С. 121–131.

21. Баринова, В. В. Предварительные результаты экспериментальных исследований по подавлению роста микромицетов сем. *Saprolegniaceae* растворами пероксида водорода и хлорида натрия при инкубации икры белуги [Текст] / В. В. Баринова, А. А. Бахарева, И. Н. Бедрицкая // Современная наука: перспективы, достижения и инновации : материалы III Международной научно-практической конференции. – Астрахань : ВНИРО, Волжско-каспийский филиал ФГБНУ («КаспНИРХ») ; Астраханский гос. тех. ун-т, 2019. – С. 13–19.

22. Баринова, В. В. Оценка воздействия растворов пероксида водорода на физиологическое состояние молоди стерляди [Электронный ресурс] / В. В. Баринова, А. А. Бахарева, Н. В. Козлова, Ф. И. Никитин // Состояние и пути развития аквакультуры в Российской Федерации: материалы IV национальной научно-практической конференции. – Калининград : Изд-во: ООО «Амирит», Саратов, 2019. – С. 21-28.

23. Баринова, В. В. Результаты экспериментальных работ по оценке влияния растворов хлорида натрия на эмбриональное развитие белуги в процессе инкубации [Электронный ресурс] / В. В. Баринова, Р. Р. Баталова, О. В. Золотовская // Современное состояние и развитие аквакультуры: экологическое

и ихтиопатологическое состояние водоёмов и объектов разведения, технологии выращивания : сборник материалов Международной конференции (г. Новосибирск, 11–13 ноября 2020 г.) / Новосибирский государственный аграрный университет ; Новосибирский филиал ФГБОУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» (ЗапсибВНИРО). – Новосибирск, 2020. – С. 62–66 – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=43831616>, свободный. – Заглавие с экрана. – Яз. рус.

24. Баринаева, В. В. Предварительные результаты экспериментальных исследований по подавлению роста микромицетов сем. *saprolegniaceae* растворами пероксида водорода и хлорида натрия при инкубации икры белуги [Электронный ресурс] / В. В. Баринаева [и др.] // Современная наука: перспективы, достижения и инновации : сборник материалов III Международной научно-практической конференции (г. Астрахань, 30 июня 2020 г.). – Астрахань : Астраханский государственный университет, 2020. – С. 13–19. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=43831578>, свободный. – Заглавие с экрана. – Яз. рус.

25. Барулин Н. В. Рыбоводно-биологическое обоснование применения лазерного излучения в технологии аквакультуры осетровых (*Acipenser*) [Текст] : дис. ...к.с/х.наук / Н.В. Барулин. – Горки, 2009. – 152 с.

26. Бахарева, А. А. Научно-обоснованные методы повышения продуктивности ремонтно-маточных стад осетровых рыб за счет оптимизации технологии кормления и содержания в условиях рыбоводных хозяйств Волго-Каспийского бассейна [Текст] : автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук / А. А. Бахарева. – Усть-Кинельский, 2016. – 32 с.

27. Бирикова, О. И. Исследования влияния температуры среды на биологические процессы в моделях типа ASM1. [Текст] / О. И. Бирикова, С. Е. Душин. // Известия СПбГЭТУ «Лети». – 2019. – № 5 – С. 25–31.

28. Брайнбалле, Я. Руководство по аквакультуре в установках замкнутого водоснабжения. Введение в новые экологические и высокопродуктивные замкнутые рыбоводные системы [Текст] / Я. Брайнбалле. – Копенгаген, 2010. – 70 с.

29. Васильева, Л. М. Технологии и нормативы по товарному осетроводству в VI рыбоводной зоне [Текст] / Л. М. Васильева [и др.] ; под ред. Н. В. Судаковой. – Москва : ВНИРО, 2006. – 100 с.

30. Васильева, Л. М. Биологические и технологические особенности товарной аквакультуры осетровых в условиях Нижнего Поволжья [Электронный ресурс] / Л. М. Васильева. – Астрахань : БИОС, 2001. – 190 с. – Режим доступа: <https://search.rsl.ru/ru/record/01003208409>, свободный. – Заглавие с экрана. – Яз. рус.

31. Васильева, Л. М. Лечебные и профилактические мероприятия при выращивании осетровых [Текст] / Л. М. Васильева, Т. А. Ноякшева. – Астрахань : БИОС, 2000. – 15 с.

32. Вишторская, А. А. О сроках выведения трифенилметановых красителей после обработки рыб [Текст] / А. А. Вишторская, Н. Н. Романова, П. П. Головин // Рыбное хозяйство. – 2020. – № 3. – С. 94–100.

33. Володина, В. В. Поиск эффективных средств против сапролегниоза икры осетровых рыб [Текст] / В. В. Володина, В. В. Барина [и др.] // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2019. – Вып. 3 (43). – С. 9.

34. Воль, К. Исследования сапролегнии при инкубации [Текст] / К. Воль // Научная информация ВНИРО. – 1960. – № 13. – С. 1–4.

35. Гайфуллина, Э. А. Морфофизиологическая характеристика производителей белуги и их потомства, содержащихся в условиях садкового хозяйства [Текст] / Э. А. Гайфуллина, А. А. Бахарева, Н. В. Смирнова // Естественные науки. – 2016. – № 2 (55). – С. 46–50.

36. Гарибова, Л. В. Основы микологии : морфология и систематика грибов и грибоподобных организмов [Текст] : учебное пособие / Л. В. Гарибова, С. Н. Лекомцева. – Москва : Тов-во науч. изданий КМК, 2005. – 220 с.

37. Гераскин, П. П. Оценка физиологической подготовленности к репродуктивной функции domestцированных самок белуги и выращенных от икры в искусственных условиях [Текст] / П. П. Гераскин [и др.] // Вестник Астраханского государственного технического университета. Сер. Рыбное хозяйство. – 2019. – № 4. – С. 95–103. – DOI: 10.24143/2073-5529-2019-4-95-103.

38. Гераскин, П. П. Физиолого-биохимическая характеристика самок севрюги, используемых для искусственного воспроизводства [Текст] / П. П. Гераскин [и др.] // Осетровое хозяйство водоемов СССР. – Астрахань : ЦНИИ осетрового хоз-ва, 1984. – С. 81–83.

39. Глаголева, Т. П. Влияние малахитовой зелени на состав крови у молоди балтийского лосося [Текст] / Т. П. Глаголева, Е. М. Маликова // Рыбное хозяйство. – 1968. – № 5. – С. 15–18.

40. Гланц С. Медико-биологическая статистика [Текст] : пер. с англ. / С. Гланц. – Москва : Практика, 1998. – 459 с.

41. Головина, Н. А. Ихтиопатология [Текст] : учебник / Н. А. Головина [и др.]. – Москва : Мир, 2003. – 448 с. – (Учебники и учебные пособия для студентов высших учебных заведений).

42. Грозеску, Ю. Н. Использование гематологических показателей для отбора рыбоводно-продуктивных самок и самцов осетровых рыб [Текст] / Ю. Н. Грозеску, А. А. Бахарева // Вестник Астраханского государственного технического университета. – 2008. – № 3 (44). – С. 18–21.

43. Давыдов, О. Н. Новое поколение в профилактике сапролегниоза икры рыб [Текст] / О. Н. Давыдов, В. М. Пьянов, А. Г. Никитенко // Рыбоводство. – 1985. – № 1. – С. 30.

44. Давыдов, О. Н. Патология крови рыб [Текст] / О. Н. Давыдов, Ю. Д. Темниханов, Л. Я. Куровская. – Москва : Инкос, 2006. – 206 с.

45. Детлаф, Т. А. Зародышевое развитие осетровых рыб (севрюги, осетра и белуги) в связи с вопросами их разведения [Текст] / Т. А. Детлаф, А. С. Гинзбург. – Москва : АН СССР, 1954. – 228 с.

46. Детлаф, Т. А. Развитие осетровых рыб [Текст] / Т. А. Детлаф, А. С. Гинзбург, О. И. Шмалькгаузен. – Москва : Книга по требованию, 1969. – 223 с.

47. Долидзе, Ю. Б. Физиолого-биохимическая характеристика производителей белуги в преднерестовый и нерестовый периоды / Ю. Б. Долидзе [Текст] // Рациональные основы ведения осетрового хозяйства : тезисы докладов научно-практической конференции. – Волгоград : ЦНИОРХ, 1981. – С. 75–76.

48. Долидзе, Ю. Б. Сравнительный биохимический анализ функционального состояния производителей белуги в естественных и заводских условиях [Текст] / Ю. Б. Долидзе // Рациональные основы ведения осетрового хозяйства : тезисы докладов научно-практической конференции. – Волгоград : ЦНИОРХ, 1981. – С. 71–73.

49. Егоров, Н. С. Руководство к практическим занятиям по микробиологии [Текст] / Н. С. Егоров. – Москва : Московский гос. ун-т, 1995. – 224 с.

50. Жигин, А. В. Рыбоводные установки в аквакультуре [Текст] / : учебное пособие / А. В. Жигин. – Москва : ЭйПиСиПабблишинг, 2018. – 296 с.

51. Задорожная, Н. А. О чувствительности молоди осетровых рыб к некоторым лечебным препаратам [Текст] / Н. А. Задорожная // Проблемы развития пресноводной аквакультуры : Всероссийское совещание. – Москва : ВНИИПРХ, 1993. – С. 40–41.

52. Зотин, А. И. Физиология водного обмена у зародышей рыб и круглоротых [Текст] / А. И. Зотин. – Москва : АН СССР, 1961. – 21 с.

53. Исаева, Н. М. Микозы и микотоксикозы рыб [Текст] / Н. М. Исаева [и др.]. – Киев : Ин-т зоологии НАН Украины, 1995. – 168 с.



54. Казарникова, А. В. Основные заболевания осетровых рыб в аквакультуре [Текст] / А. В. Казарникова, Е. В. Шестаковская. – Москва : ВНИРО, 2005. – 104 с

55. Киреева, И. Ю. Оценка физиологического состояния производителей русского осетра [Текст] / И. Ю. Киреева, И. С. Кононенко // Научные Ведомости. Сер. Естественные науки. – 2010. – № 15 (86), вып. 12. – С. 94–97.

56. Кириллов, В. Н. Особенности липидного обмена в организме рыб в условиях повышенной минерализации воды [Текст] / В. Н. Кириллов // Вестник Астраханского государственного технического университета. Сер. Рыбное хозяйство. – 2009. – № 1. – С. 132–133.

57. Кокоза, А. А. Сравнительные морфофизиологические показатели производителей белуги, используемых на рыбоводных предприятиях Нижней Волги в разные временные периоды [Текст] / А. А. Кокоза [и др.] // Актуальные вопросы рыбного хозяйства и аквакультуры бассейнов южных морей России : материалы Международной научной конференции (г. Ростов-на-Дону, 1–3 октября 2014 г.). – Ростов-на-Дону : ЮНЦ РАН, 2014. – С. 145–150.

58. Крюков, В. И. Рыбоводство. Разведение карпа заводским способом [Текст] / В. И. Крюков, Ю. А. Музалевская, П. А. Юшков. – Орел : А. Воробьева, 2007. – 44 с.

59. Кузнецов, В. И. Липиды в структуре и функционировании биологических мембран [Текст] / В. И. Кузнецов, В. В. Моррисон, О. Б. Лиско, Т. Д. Царева, Д. А. Сретенская, И. Б. Гаврилова, О. А. Хлебожарова // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2014. – Вып. 10 (2). – С. 262–266.

60. Кузнецова, Е. В. Применение препарата «Монклавит-1» для лечебно-профилактической обработки икры при сапролегниозе [Электронный ресурс] / Е. В. Кузнецова [и др.] // Состояние и пути развития аквакультуры в российской федерации в свете импортозамещения и обеспечения продовольственной безопасности страны : материалы II Национальной научно-практической

конференции. – Санкт-Петербург : ЦеСАин, 2017. – С. 95–102. – Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=30498052>, свободный. – Заглавие с экрана. – Яз. рус.

61. Купинский С. В. Радужная форель – предварительные параметры стандартной модели массонакопления [Текст] / С. В. Купинский, С. А. Баранов, В. Ф. Резников // Индустриальное рыбоводство в замкнутых системах : сборник научных трудов ВНИИПРХ. – Москва : ВНИИПРХ, 1986. – Вып. 46. – С. 109–115.

62. Лаврухина, О. И. Риски загрязнения пищевых продуктов на различных стадиях их производства. [Текст] / О. И. Лаврухина, В. Г. Амелин, Л. Б. Прохвятилова, О. И. Ручнова. // Ветеринария сегодня. – 2017. - № 3(22) - С. 33-40.

63. Лакин, Г. Ф. Биометрия [Текст] : учебник / Г. Ф. Лакин. – Москва : Высшая школа, 1990. – 293 с.

64. Ларцева, Л. В. Патогенность сапроогниевых грибов для икры севрюги при искусственном её разведении [Текст] / Л. В. Ларцева, Ю. В. Алтуфьев // Гидробиологический журнал. – 1987. – Т. 23, № 2. – С. 51–57.

65. Ларцева, Л. В. Сапролегниоз икры судака при искусственном разведении в дельте р. Волги [Текст] / Л. В. Ларцева. – Москва : ВНИРО, 2016. – С. 129–137.

66. Ларцева, Л. В. Сапролегниоз икры ценных видов рыб при искусственном разведении в дельте р. Волги: таксономия, экология, профилактика и терапия [Текст] / Л. В. Ларцева, О. В. Обухова, Ю. В. Алтуфьев. – Астрахань : Издатель: Сорокин Роман Васильевич, 2017. – 98 с.

67. Ларцева, Л. В. Профилактика и терапия сапролегниоза икры осетровых и белорыбицы при искусственном их разведении [Текст] : автореф. дис. ... канд. биол. наук / Л. В. Ларцева. – Москва, 1987. – 22 с.

68. Лизенко, Е. И. Общая характеристика липидного состава липопротеидов сыворотки крови осетровых (*Acipenseridae*) [Текст] / Е. И. Лизенко [и др.] // Вопросы ихтиологии. – 1995. – Т. 35, № 4. – С. 553–557.

69. Лозовский А. Р. Гомеостаз крови самок русского осетра после получения овулировавших ооцитов методом надрезания яйцевода [Текст] / А. Р. Лозовский, Д. Л. Теплый // Естественные науки. – 2009. – № 1 (26). – С. 49–55.

70. Лозовский, А. Р. Гомеостаз некоторых функциональных систем и рост осетровых рыб в аквакультуре [Текст] : автореф. дис. ... д-ра биол. наук / А. Р. Лозовский. – Астрахань : Астраханский гос. ун-т, 2010. – 42 с.

71. Лукьяненко, В. И. Физиолого-биохимическая и рыбоводная характеристика разновозрастных производителей волго-каспийских осетровых рыб [Текст] / В. И. Лукьяненко, П. В. Кулик. – Рыбинск, 1994.

72. Мамедов, Ч. А. оглы. Резервы повышения эффективности воспроизводства осетровых рыб на рыбоводных заводах в современных экологических условиях [Текст] / Ч. А. оглы Мамедов // Вестник Костромского государственного университета им. Н. А. Некрасова. – 2011. – № 2. – С. 9–12.

73. Мусселиус, В. А. Испытание новых препаратов для борьбы с ихтиофтириозом в прудовых хозяйствах [Текст] / В. А. Мусселиус, Н. Т. Филиппова // Труды Всероссийского научно-исследовательского института пресноводного рыбного хозяйства. – 1969. – Т. 16. – С. 288–300.

74. Мухомедзянова, С. В. Липиды биологических мембран в норме и патологии (обзор литературы) [Текст] / С. В. Мухомедзянова, Ю. И. Пивоваров, О. В. Богданова, Л. А. Дмитриева, А. А. Шулунов // Acta Biomedica Scientifica. – 2017. – Т. 2, № 5, ч. 1. – С. 43–49.

75. Мухрамова, А. А. Оценка состояния молоди русского осетра по рыбоводно-биологическим параметрам и биохимическим показателям крови после кормления экспериментальными кормами [Текст] / А. А. Мухрамова // Вестник Казахского национального университета им. Адь-Фараби. Сер. Экологическая. – 2012. – № 1 (33). – С. 103–106.

76. Наумова, А. М. Руководство по ветеринарно-санитарному контролю племенных рыбоводных хозяйств [Текст] : научно-практическое издание / А. М.

Наумова, Г. Е. Серветник, Л. А. Розумная, С. А. Фигурков, А. Ю. Наумова, Л. С. Логинов. – Москва : Росинформагротех, 2018. – 52 с.

77. Немова, Н. Н. Особенности динамики липидов в раннем развитии атлантического лосося *Salmo salar* L. [Текст] / Н. Н. Немова, З. А. Нефедова, С. А. Мурзина // Труды Карельского научного центра РАН. – 2014. – № 5. – С. 44–52.

78. Нечаева, Т. А. Оценка эффективности применения Монклавита-1 с целью повышения сохранности инкубируемой икры радужной форели и защиты ее от сапролегниоза [Текст] / Т. А. Нечаева // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2009. – Вып. 4. – С. 41–43.

79. Нейш, Г. Микозы рыб [Текст] / Г. Нейш, Г. Хьюз. – Москва : Легкая и пищевая промышленность, 1984. – 96 с.

80. Нетрусов, А. И. Практикум по микробиологии [Текст] / А. И. Нетрусов, М. А. Егорова, Л. М. Захарчук. – Москва : Академия, 2005. – 608 с.

81. Обухова, О. В. Особенности сапролегниоза икры судака (*Sander lucioperca*) в дельте р. Волга [Текст] / О. В. Обухова, Л. В. Ларцева, Л. М. Васильева // Вестник Астраханского государственного технического университета. Сер. Рыбное хозяйство. – 2017. – Вып. 2. – С. 70–79.

82. Переведенцева, Л. Г. Микология: грибы и грибоподобные организмы [Текст] : учебное пособие / Л. Г. Переведенцева. – Пермь : Пермский гос. ун-т, 2009. – 199 с.

83. Подушка, С. Б. Получение икры у осетровых с сохранением жизни производителей [Текст] / С. Б. Подушка // Научно-технический бюллетень лаборатории ихтиологии ИНЭНКО. – Санкт-Петербург, 1999. – Вып. 2. – С. 4–19.

84. Пономарев, С. В. Индустриальное рыбоводство [Текст] : учебник / С. В. Пономарев, Ю. Н. Грозеску, А. А. Бахарева. – Изд. 2, испр. и доп. – Санкт-Петербург : Лань, 2013. – 416 с.

85. Пономарев, С. В. Индустриальная аквакультура [Текст] / С. В. Пономарев, Ю. Н. Грозеску, А. А. Бахарева. – Астрахань : Грицай, 2006. – 312 с.
86. Пономарев, С. В. Осетроводство на интенсивной основе [Текст] / С. В. Пономарев, Д. И. Иванов. – Москва : Колос, 2009. – 312 с.
87. Пономарев, С. В. Биологические основы разведения осетровых и лососевых рыб на интенсивной основе [Текст] : монография / С. В. Пономарев, Е. Н. Пономарева. – Астрахань : Астраханский гос. тех. ун-т, 2003. – 256 с.
88. Пономарева, Е. Н. Новые биотехнологические методы криоконсервации репродуктивных клеток осетровых видов рыб [Текст] / Е. Н. Пономарева, А. А. Красильникова, А. М. Тихомиров, А. В. Фирсова // Юг России: Экология, развитие. – 2016. – Т. 11, № 1. – С. 59–68.
89. Правдин, И. Ф. Руководство по изучению рыб [Текст] / И. Ф. Правдин ; под ред. проф. П. А. Дрягина и канд. биол. наук В. В. Покровского. – 4-е изд., перераб. и доп. – Москва : Пищевая промышленность, 1966. – 376 с.
90. Привезенцев, Ю. А. Рыбоводство [Текст]: Учебники и учеб, пособия для студентов высш. учебных заведений / Ю. А. Правдин, В.А. Власова // Москва : Мир, 2004. — 456 с.
91. Пронина, Г. И. Референсные значения физиолого-иммунологических показателей гидробионтов разных видов [Текст] / Г. И. Пронина, Н. Ю. Корягина. // Вестник Астраханского государственного технического университета. Сер. Рыбное хозяйство. – 2015. – № 4, – С. 103–108.
92. Рахконен, Р. Здоровая рыба. Профилактика, диагностика и лечение болезней. Nuкураино [Текст] / Р. Рахконен [и др.]. – Хельсинки : НИИ охотничьего и рыбного хозяйства, 2012. – 180 с.
93. Ромейс, Б. Микроскопическая техника [Текст] / Б. Ромейс. – Москва : Изд-во иностр. лит-ры, 1954. – 718 с.

94. Рыкова, Т. И. Некоторые аспекты действия солевого фактора в онтогенезе пестрого толстолобика [Электронный ресурс] / Т. И. Рыкова // Труды Всесоюзного научно-исследовательского института морского рыбного хозяйства и океанографии. – 1970. – Т. 74. – С. 197–221. – Режим доступа: [http://aquacultura.org/upload/files/pdf/biblio/fish/%D0%A0%D1%8B%D0%BA%D0%BE%D0%B2%D0%B0\\_1970.pdf](http://aquacultura.org/upload/files/pdf/biblio/fish/%D0%A0%D1%8B%D0%BA%D0%BE%D0%B2%D0%B0_1970.pdf), свободный. – Заглавие с экрана. – Яз. рус.

95. Сенников, В. Д. Динамика гематологических показателей ленского осетра на разных стадиях зрелости [Текст] / В. Д. Сенников // Вопросы рыбного хозяйства Беларуси. – 2012. – Вып. 28. – С. 133–140.

96. Субботкин, М. Ф. Динамика содержания бета-липопротеидов у русского осетра в связи с развитием половых продуктов [Текст] / М. Ф. Субботкин // Осетровое хозяйство внутренних водоемов СССР : тезисы докладов II Всесоюзного совещания. – Астрахань, 1979. – С. 253.

97. Фирсова, А. В. Исследование взаимодействия воды с первичными оболочками яйцеклеток рыб как сигнала к их перестройке [Текст] / А. В. Фирсова, А. А. Красильникова, А. М. Тихомиров // Вестник Астраханского государственного технического университета. Сер. Рыбное хозяйство. – 2020. – № 4. – С. 147–153.

98. Флоринская, А. А. Сапролегниевые грибы-возбудители заболеваний рыб и икры в хозяйствах Северо-Запада РСФСР, их систематика, экология и патогенное значение [Текст] : автореф. дис. ... канд. биол. наук / А. А. Флоринская. – Ленинград : Гос. науч.-исслед. ин-т озерного и речного рыбного хоз-ва, 1969. – 19 с.

99. Хрусталева, Е. И. Основы индустриальной аквакультуры [Текст] : учебник / Е. И. Хрусталева [и др.]. – 2-е изд., перераб. и доп. – Санкт-Петербург : Лань, 2019. – 280 с.

100. Черкесова, Д. У. Токсическое воздействие нитритов на организм рыбы [Текст] / Д. У. Черкесова, А. Б. Шахназарова // Юг России: экология, развитие. 2009. – Вып. 4. – С. 126–130.

101. Чебанов, М. С. Руководство по разведению и выращиванию осетровых рыб [Текст] / М. С. Чебанов, Е. В. Галич, Ю. Н. Чмырь. – Москва : Росинформагротех, 2004. – 148 с.

102. Чебанов, М. С. Руководство по искусственному воспроизводству осетровых рыб [Текст] / М. С. Чебанов, Е. В. Галич // Технические доклады ФАО по рыбному хозяйству и аквакультуре. – Анкара : ФАО, 2011. – № 558. – 297 с.

103. Шалак, М. В. Физиолого-репродуктивный статус производителей осетровых рыб в преднерестовый период в условиях аквакультуры [Текст] / М. В. Шалак, Н. А. Садомов // Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии. – 2010. – № 3. – С. 102–105.

104. Шевченко, В. Н. Нормативно-методическое указание по технологии формирования ремонтно-маточных стад осетровых рыб в садках [Текст] / В. Н. Шевченко, А. А. Попова, Л. В. Пискунова. – Астрахань : Каспийский науч.-исслед. ин-т рыбн. хоз-ва, 2005. – 35 с.

105. Alderman, D. J. Invitro testing of fisheries chemoterutans [Text] / D. J. Alderman // Fish diseases. – 1982. – № 2. – P. 113–123.

106. Ajagbe, S. O. Alternative Therapy for the Treatment of Saprolegniasis Disease of Fish [Text] / S. O. Ajagbe [et al.] // A. Review. International journal of applied research and technology. – June 2018. – Vol. 7, № 6. – P. 39–47.

107. Castell, J. D. Report of the EIFAC, IUS and ICES Worcing Group on the standardization of the methodology in fish nutrition research [Text] / J. D. Castell, K. Tiews // EIFAC Tech. pap. (Hamburg, Federal Republic of Germany, March 21–23, 1979). – Hamburg, 1979. – № 36. – P. 1–24.

108. Cataldi, E. Serum parameters of Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* (Pisces: Acipenseriformes): effects of temperature and stress [Text] / E. Cataldi [et al.] // Comparative Biochemistry and Physiology. – 1998. – Vol. 121. – P. 351–354.

109. Drabkin, D. L. Spectrophotometric studies: I. Spectrophotometric constants for common hemoglobin derivatives in human, dog, and rabbit blood [Text]

/ D. L. Drabkin, J. H. Austin // Journal of Biological Chemistry. – 1932. – Vol. 98. – P. 719–733.

110. Eskelinen, P. Mädin desinfiointi jodoforeilla. [Text] / P. Eskelinen, L. Forsman. // RKTL, Kalatutkimuksia – Fiskundersök-ningar. – 1996. – P. 5–37.

111. Fregeneda-Grandes, M. J. Prevalence of serum antibodies against *Saprolegnia parasitica* in wild and farmed brown trout *Salmo trutta* L. [Text] / M. J. Fregeneda-Grandes, M. T. Carbajal-González, J. M. Aller-Gancedo // Diseases of aquatic organisms. – 2009. – Vol. 83. – P. 17–22.

112. Fulton, T. Rate of growth of sea fish [Text] / T. Fulton // Fish. Scotl. Sci. Invest. Report. – 1902. – Vol. 20. – P. 226–334.

113. Gornall, A. G. Determination of serum proteins by means of the biuret method [Text] / A. G. Gornall, C. S. Bardawill, M. M. David // J. Biol. Chem. – 1949. – Vol. 177. – P. 751–766.

114. Hashimoto, K. Болезни рыб и лечебные препараты для рыбного хозяйства [Text] / K. Hashimoto, T. Koichi // Хаккотокоче. – 1980. – № 7. – С. 648–661.

115. Hoffman, G. L. Parasites of freshwater fishes, a review of their treatment and control. [Text] / G. L. Hoffman, F. P. Meyer T. // F. H. Publications, Neptune City, New Jersey. – 1974. – 224 pp.

116. Lewkowicz, S. Porównanie efektywności i kosztów produkcji [Text] / S. Lewkowicz [et al.] // Gosp. Ryb. – 1982. – № 7. – P. 3–4.

117. Luisa González de Canales, M. Saprolegniasis en poblaciones naturales de peces. Saprolegniasis in wild fish populations [Text] / Luisa González de Canales, M. J. Bosco Ortiz, Manuel González del Valle, Carmen Sarasquete // Ciencias Marinas. – 2001. – Vol. 27 (1). – P. 125–137.

118. Molnár, K. Field guide to the control of warmwater fish diseases in Central and Eastern Europe, the Caucasus and Central Asia [Electronic resource] / K. Molnár, C. Székely, M. Láng // FAO. Fisheries and Aquaculture Circular. – Ankara : FAO,



2019. – № 1182. – P. 124. – Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. – Режим доступа: <https://www.fao.org/3/ca4730en/CA4730EN.pdf>, свободный. – Заглавие с экрана. – Яз. англ.

119. Padgett, D. E. Vegetative propagation of some Saprolegniaceae under simulated esturine-culture conditions [Text] / D. E. Padgett // *Mycologia*. – 1980. – № 2. – P. 410–415.

120. Trinder, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen receptor [Text] / P. Trinder // *Annals of clinical biochemistry*. – 1969. – Vol. 6. – P. 24–27.

121. Zollner, N. Colorimetric method for determination of total lipid in serum [Text] / N. Zollner, K. Kirsch // *Z. Ges. Exp. Med.* – 1962. – № 135. – P. 135–545.

122. Read, Ph. Diagnosis, treatment and prevention of the diseases of the australian freshwater fish silver perch (*Bidyanus bidyanus*) [Electronic resource] / Ph. Read, M. Landos, J. R. Stuart, Ch. Mifsud ; Fisheries research and development Corporation. – Режим доступа: [https://www.dpi.nsw.gov.au/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0010/638416/Silver-Perch-Diseases-Manual.pdf](https://www.dpi.nsw.gov.au/__data/assets/pdf_file/0010/638416/Silver-Perch-Diseases-Manual.pdf), свободный. – Заглавие с экрана. – Яз. англ.

123. Анализ рентабельности продукции: формула и порядок расчёта [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://www.moedelo.org/club/upravlencheskiy-uchet/rentabelnost-produkcii-raschet-i-analiz>, свободный. – Заглавие экрана. – Яз. рус.

124. Аквакультура. Информационный портал. Болезни рыб. Сапролегниоз [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://akvakultura.ru/disease?id=181>, свободный. – Заглавие экрана. – Яз. Рус.

125. Инкубация икры осетровых рыб и подращивание их до 5 г [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://osetrdoma.ucoz.org/publ/tekhnologija\\_raboproizvodstva/obshaja\\_informatsia/inkubacija\\_i\\_kry\\_osetrovykh\\_ryb\\_i\\_podrashhivanie\\_ikh\\_do\\_5\\_gramm/7-1-0-8](https://osetrdoma.ucoz.org/publ/tekhnologija_raboproizvodstva/obshaja_informatsia/inkubacija_i_kry_osetrovykh_ryb_i_podrashhivanie_ikh_do_5_gramm/7-1-0-8)), свободный. – Заглавие экрана. – Яз. Рус.

126. Как рассчитать экономическую эффективность [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://yagla.ru/blog/upravlenie/kak-rasschitat-ekonomicheskuyu-effektivnost--2108m94955/>, свободный. – Заглавие экрана. – Яз. рус.

127. Качество водной среды при выращивании рыбы в УЗВ [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://fish-agro.ru/fish-agro/about\\_water/197-uroven-pH-i-kak-ego-regulirovat.html/](https://fish-agro.ru/fish-agro/about_water/197-uroven-pH-i-kak-ego-regulirovat.html/), свободный. – Заглавие экрана. – Яз. рус.

128. Профилактика и лечение сапролегниоза. Краткий словарь рыбовода [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://ribovodstvo.com/books/item/f00/s00/z0000016/st020.shtml>, свободный. – Заглавие с экрана. – Яз. рус.

129. Токсичность нитрата для водных животных [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://aquavitro.org/2018/12/12/toksichnost-nitrata-dlya-vodnykh-zhivotnykh/>, свободный. – Заглавие с экрана. – Яз. рус.