

21 ЯНВ 1998

*На правах рукописи*

**ЕГОРОВ**  
Михаил Алексеевич

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ  
АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ  
ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСКУССТВЕННОГО  
ВОСПРОИЗВОДСТВА ОСЕТРОВЫХ В  
СОВРЕМЕННЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ**

**Специальность - 11.00.11 - Охрана окружающей среды  
и рациональное использование природных ресурсов**

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук



**Астрахань 1998**

Работа выполнена в Астраханском государственном  
техническом университете

Научный руководитель: доктор биологических наук  
*Л. В. Витвицкая*

Официальные оппоненты: доктор биологических наук  
профессор *С. В. Пономарев*  
доктор медицинских наук  
*Г. Ф. Журавлева*

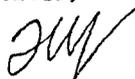
Ведущая организация: Межведомственная ихтиологическая  
комиссия, г. Москва

Защита диссертации состоится "22" декабря 1998 г. в 14 часов  
главный корпус, аудитория 309 на заседании диссертационного  
совета К 117.07.04 при Астраханском государственном техни-  
ческом университете по адресу: 414025, Астрахань,  
ул. Татищева, 16.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Астраханского  
государственного технического университета.

Автореферат разослан "20" ноября 1998 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат биологических наук



*Мелякина Э. И.*

### Общая характеристика работы

#### Актуальность проблемы

Основной причиной сокращения численности и исчезновения ценных проходных видов рыб является усиливавшееся антропогенное воздействие. В отличие от естественных эволюционных причин, оно резко ускорило темпы преобразования фауны и изменило его направленность. Антропогенное воздействие становится все более многофакторным; возникает все большее число синергических эффектов, которые, к сожалению, слабо изучены (Карнаухов, 1994).

Самые различные формы негативного антропогенного влияния имеют часто одни и те же механизмы воздействия на рыб: нарушение миграционных путей и жизненных циклов, нарушение гаметогенеза, гибель икры, личинок, молоди, гибель производителей, нарушение генофонда популяций и популяционной структуры, ухудшение экологических условий, в том числе кормовой базы, резкое сокращение доли ценных видов (Павлов, 1990).

Несмотря на многолетнюю практику, до сих пор не существует единых подходов и стратегии охраны и искусственного воспроизводства рыб. Отщепленной становится в настоящее время точка зрения о необходимости охраны не только видов и подвидов рыб, но и отдельных экологических форм, сезонных рас, а в ряде случаев и отдельных популяций (Miller 1972; Павлов и др., 1983; 1985; Nilsson, 1984; Threatened animals... 1987; Varus et al., 1988; Lowe-McConnell, 1990).

Важнейшим промысловым районом для трех коммерчески наиболее важных видов осетровых - белуги, русского осетра и севрюги - является Каспийское море, где добывается около 90% всех мировых уловов осетровых. Наиболее важным является Волго-Каспийский район, поставляющий около 80.1% общей добычи осетровых Каспия. Падение промысловых уловов русского осетра, севрюги и особенно белуги отражают снижение численности их популяций (Khodogrevskaya et al., 1993; Иванов, 1997; Ходогревская, 1997).

Около 36-40% осетра, 91% белуги и 30% севрюги, вылавливаемых Российской частью Каспийского моря, имеют заводское происхождение (Баранникова, 1992; Barannikova et al., 1993), что определяет особую важность искусственного воспроизводства осетровых как природоохранного мероприятия.

Проблемы искусственного воспроизводства осетровых стали еще более актуальными в связи с продолжающимся спадом развития рыбохозяйственной отрасли, отсутствием четко работающей экономической и юридической базы, которая бы обеспечивала должный контроль за использованием природных ресурсов в стране, в целом, и на Каспии, в частности. В силу этих и ряда других причин искусственное воспроизводство осетровых в России

находится в сложном положении, для преодоления которого, наряду с мерами по обеспечению рыбоводных заводов необходимыми средствами для обеспечения нормального технологического режима работы, необходимо также внедрять и использовать новые альтернативные подходы в рыборазведении (Малютин, 1994). Одним из возможных альтернативных подходов к решению данных проблем является использование на осетровых рыбоводных заводах некоторых биологически активных веществ (БАВ), выполняющих роль биостимуляторов и протекторов от неблагоприятных воздействий окружающей среды в раннем онтогенезе.

#### Цели и задачи исследования

Цель работы - исследовать возможность использования биологически активных веществ (БАВ) для повышения эффективности искусственного воспроизводства осетровых в современных экологических условиях.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи.

1. Оценить влияние трех БАВ - нейропептидного препарата сыворотки крови кур биостимулирующей (СКБ), фитогормонального препарата эпина и олигонуклеотидного препарата энкада в ранее выбранных оптимальных дозах на выживаемость зародышей русского осетра на разных стадиях эмбриогенеза - от оплодотворения до выклева.

2. Определить роль температуры и неблагоприятных гидрохимических факторов (соленость, дефицит кислорода) в десинхронизации развития и терратогенезе молоди осетровых и поставить комплексный эксперимент по оценке влияния БАВ на возникновение дефектов развития на фоне действия этих факторов.

3. В производственных условиях провести обработку части икры русского осетра одним из БАВ (эпин - производным фитогормона эпибрасинолида) в период осеменения и обесклеивания и определить процент оплодотворения обработанной и контрольной (необработанной) икры, процент выклева, провести бонитировочный учет выращенной в прудах молоди.

4. Изучить влияние эпибрасинолида на время подвижности сперматозоидов разных видов осетровых. Оценить такое влияние при разных температурах среды, а также после криоконсервации. На основе этих работ соз-

дать экспресс-метод для оценки качества разных партий этого препарата.

5. Провести производственную проверку использования биологически активного вещества эпибрасинолида в эмпирически подобранных концентрациях на выживаемость эмбрионов на ранних этапах онтогенеза русского осетра.

6. Дать практические рекомендации по применению биологически активного вещества эпибрасинолида в практике осетровых рыбоводных заводов для русского осетра.

### Научная новизна работы

Впервые проведен сравнительный анализ эффективности различных биологически активных веществ нейропептидной (СКБ), олигонуклеотидной (энкад) и фитогормональной (эпин) природы на выживаемость и развитие зародышей осетровых рыб.

Проведено оригинальное исследование непосредственного воздействия фитогормона эпибрассинолида в виде растворов эпина с крайне низкими концентрациями по действующему веществу ( $10^{-4}$  -  $10^{-9}$  мг/л) на организмы животного происхождения, в частности, на осетровых рыб, на ранних стадиях онтогенеза.

Установлено, что обработка эпином икры русского осетра и севрюги на стадии осеменения и обесклеивания имеет безусловно положительный эффект, повышая процент оплодотворения икры и процент выклева личинок на 5-20% по сравнению с контролем (икрой от тех же самок без обработки), причем этот эффект был тем более выражен, чем худшие исходные результаты были у икры от данной самки (эффект "чем хуже, тем лучше").

Показано, что добавление в активирующую среду определенных доз эпибрассинолида увеличивает время подвижности сперматозоидов до их полной остановки, т.е. благоприятно воздействует на жизнедеятельность клеток, что должно сказаться на проценте оплодотворения и жизнеспособности будущего потомства. Обнаружены температурные зависимости этих эффектов.

Установлено, что наиболее выраженное действие этого биорегулятора отмечается в неблагоприятных условиях, когда сильно сниженная подвижность спермиев в критических ситуациях снова повышается в 1.5-3 раза, хотя и не достигает контрольных величин.

Способ обработки икры осетровых эпибрассинолидом оформлен в виде заявки на изобретение N 97117958/ 13(018477) от 21.10.97).

### Теоретическая и практическая значимость работы.

Полученные результаты могут значительно дополнить имеющиеся сведения о некоторых биологически активных веществах (БАВ) и помогут более конкретно понять механизм воздействия новых препаратов на ранние этапы онтогенеза осетровых. Так как в работе с осетровыми данные БАВ, и в частности, эпибрассинолид, использованы нами впервые, это дает возможность на основе представленного материала показать наиболее перспективные направления для дальнейших исследований в указанной области. Практический интерес представляет вынесенное на основании производственных испытаний предложение о возможности использования эпина в осетроводстве, как биопротектора от влияния некоторых неблагоприятных экологических воздействий, а также способ биотестирования актив-

ности этого препарата на сперме осетровых. По материалам работы подготовлена заявка на изобретение, готовятся методические указания для рыбоводов. Собранный обзор литературных данных, а также собственные результаты работы о состоянии и перспективах развития осетроводства в свете экологических и технологических проблем используются в лекционном курсе по осетроводству и на практических занятиях студентов рыбохозяйственного факультета АГТУ. Они могут войти в лекционные и практические курсы обучения студентов рыбохозяйственных специальностей других ВУЗов.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы доложены на Международной конференции "Экология и регион" (Ростов-на-Дону, 1995), на Международной конференции "Каспий - настоящее и будущее" (Астрахань, 1995), на Студенческих научно-технических конференциях Астраханского государственного технического университета 1996-1997 гг., на Научно-технических конференциях профессорско-преподавательского состава Астраханского государственного технического университета 1997-1998 гг., на Первом конгрессе ихтиологов России (Астрахань, 1997) и на I Международной конференции Ассоциации Прикаспийских государств (Астрахань, 1998), на III Ассамблее ассоциации университетов Прикаспийских государств (Актау, 1998).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 12 работ, 4 работы находятся в печати.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 134 страницах машинописного текста, иллюстрирована 5 рисунками и 21 таблицей. Работа состоит из введения, 6 глав, результатов обсуждения и их заключения, выводов, практических рекомендаций и списка цитируемой литературы, который включает 235 источника, из них 71 иностранных. Приложения изложены на 46 страницах.

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Работа была выполнена в течение 1995-1998 гг. и включала в себя четыре этапа. В 1995 г. выполнены экспериментальные работы в лаборатории и на производственных участках Кизанского осетрового рыбоводного завода (КОРЗ, Астраханская область) с использованием трех биологически активных веществ. В 1996 г. проведены производственные эксперименты (производственная проверка разработанного способа на одном из ранее испытанных веществ) в цехах Лебяжьего осетрового рыбоводного завода (ЛОРЗ). Разработку экспресс-биотеста проводили в 1997 г. в лаборатори-

ях Лебяжьего и Кизанского ОРЗ и в Проблемной лаборатории осетроводства АГТУ. Логическим завершением предыдущих работ явилась проведенная в 1998 году на ЛОРЗ и КОРЗ производственная проверка.

Объектом исследований являлись икра, личинки и молодь русского осетра, развивающиеся эмбрионы севрюги, а также сперма белуги, русского осетра и севрюги. Всего использован материал от 49 самок и 12 самцов русского осетра (*Acipenser gueldenstaedti*), 2 самок и 9 самцов севрюги (*Acipenser stellatus*), 2 самок и 16 самцов белуги (*Huso huso*).

Постановка экспериментов по воздействию различных биологически активных веществ на выживаемость и развитие эмбрионов осетровых рыб

Икру от каждой самки, выделенной для проведения эксперимента, делили на четыре части, каждую из которых помещали в отдельный эмалированный таз. Три части были опытными, их подвергали обработке биологически активными веществами (БАВ); четвертая часть служила контролем.

Растворы биологически активных веществ вносили непосредственно в тазы дважды: при осеменении, сразу после добавления раствора спермы (осеменение производили полусухим способом) и при обесклеивании, после внесения суспензии активного ила. Соответственно, время воздействия БАВ на икру составляло 3 мин в период осеменения + 45 мин в период обесклеивания вручную и в аппаратах АОИ.

Из большого количества потенциально пригодных БАВ были выбраны:

- сублимированный препарат из сыворотки крови кур биостимулирующий (СКБ), содержащий комплекс нейропептидов биостимулирующего и регулирующего действия, в концентрации 400 мг/л;

- препарат "эпин" - раствор синтетического фитогормона эпибрассинолида из семейства brassinosteroidов в спирте и поверхностно активном веществе (ПАВ), известный в растениеводстве как мощный регулятор иммунной системы и стимулятор роста, в дозе  $10^{-4}$  мг/л по действующему веществу (эпибрассинолиду);

- препарат "энкад", представляющий собой водный раствор олигонуклеотидов - продуктов специфического ферментативного гидролиза дрожжевой РНК, в концентрации 5 мг/л по рибонуклеотидам.

После обесклеивания экспериментальные и контрольные партии икры закладывали в отдельные маркированные ячейки аппарата "Осетр" для дальнейшей инкубации. Во время инкубации через каждые 12 часов осуществляли контроль за гидрохимическим состоянием воды.

На развивающейся икре севрюги после обесклеивания проводили многофакторный эксперимент, где кратковременное воздействие каждого из неблагоприятных факторов (повышенной температуры, солености, дефицита

кислорода) трижды в период эмбриогенеза сочеталось с обработкой каждым из БАВ, что давало возможность изучать роль БАВ как протекторов развития зародышей в экстремальных условиях. Для каждой партии икры в дальнейшем определяли процент живых эмбрионов незадолго до выклева, в том числе, зародышей находящихся на разных стадиях эмбриогенеза, и процент особей, имеющих наиболее типичные дефекты развития.

#### Методика проведения производственной проверки

В режиме производственной проверки было испытано лишь одно биологически активное вещество - эпибрасинолид в виде препарата "эпин", показавшее наилучшие результаты в предварительных экспериментальных работах.

На Лебяжьем ОРЗ были проинъецированы 24 самки русского осетра. Пригодную для оплодотворения икру дали 20 самок. Икру от каждой самки в зависимости от ее веса делили на два или три таза. Один из тазов служил опытом, т.е. при осеменении и обесклеивании икры в него добавляли эпин до концентрации  $10^{-4}$  мг/л по эпибрасинолиду. Еще один или два таза служили контролем и проходили процедуру осеменения и обесклеивания согласно стандартной технологии. Икру, обработанную эпином, закладывали в ячейки аппаратов "Осетр" в левой части цеха, а контрольную икру - в правой части цеха для того, чтобы обеспечить скат выклюнувшейся опытной и контрольной личинки по разным желобам в разные накопительные емкости с целью дальнейшего просчета. Определение процента оплодотворения икры было проведено на стадии желточной пробки. В каждой опытной и контрольной ячейке количество живой и мертвой икры просчитывали трижды. Количество однодневной личинки определяли весовым методом и рассаживали по 80 тыс. шт. в пластиковые бассейны. Всего контрольной личинкой было зарыблено 16.5 бассейна (1320000 шт.), опытной - 14.5 бассейна (1160000 шт.). Ежедневно чистили опытные и контрольные бассейны, собирали и поштучно пересчитывали отход, в случае необходимости (большое количество отхода) меняли воду.

Готовых к переходу на активное питание личинок пересаживали в пруды. Перед пересадкой было проведено взвешивание всех личинок в трех контрольных и трех опытных бассейнах. Одновременно были взяты пробы личинок из нескольких контрольных и опытных бассейнов для оценки их среднего веса на момент зарыбления.

Всего контрольными и опытными личинками было зарыблено 6 прудов: три опытных и три контрольных. Все 6 экспериментальных прудов были расположены рядом, имели одинаковую глубину и площадь (2.2 га), были алиты одновременно и имели сходный гидрохимический режим. В каждый из прудов было посажено 266 тыс. шт. опытных или контрольных личинок. Ос-

тавшиеся личинки были смешаны и выращивались в других прудах ЛОРЗ, не участвующих в эксперименте. Через 34 дня после зарыбления была проведена бонитировка экспериментальных и контрольных прудов - траление, подсчет молоди в трале, отбор выборок для контрольного взвешивания.

Метод оценки влияния различных концентраций эпина  
на подвижность спермы осетровых рыб

Для определения активности различных препаратов эпина был разработан экспресс-метод основанный на оценке времени подвижности сперматозоидов осетровых при активации чистой водой и растворами этого вещества. Эксперименты выполнены на нативной сперме от 16 самцов белуги, 12 - русского осетра и 9 - севрюги, 12 криоконсервированных образцах спермы белуги. В работе использовали три разных образца препарата "Эпин": N 1 - образец 1995 г., на котором были получены основные экспериментальные результаты; N 2 - образец 1996 г., использованный при проведении производственной проверки, и N 3 - образец 1997 г., при изготовлении которого была достигнута еще более высокая степень очистки от ингибирующих действие фитогормона стереоизомеров.

Для удобства, быстроты и эффективности просмотра сразу нескольких опытных вариантов и контроля, чашку Петри делили стеклографом на 8-12 секторов. В каждый сектор при микродозатором вносили каплю активирующей среды объемом 0.1 мл: чистую воду (контроль, 1-2 повтора) и сравниваемые партии "Эпина" в четных концентрациях:  $10^{-10}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-4}$  и  $10^{-2}$  мг/л по эпибрассинолиду. Затем быстро (в течение 10 с) в каждую из капель скальпелем вносили небольшое количество спермы, так что активация спермы в каждой капле происходила практически одновременно. В то же время запускали секундомер, после чего сперму в каждой капле размешивали скальпелем и помещали чашку Петри на предметный столик микроскопа "Биолам" так, что при ее повороте на 1 сектор под объективом каждый раз оказывалась следующая капля. Чашку Петри поворачивали под микроскопом по часовой стрелке, просматривали состояние спермы в каждой капле с интервалами около 1 мин (по 6-10 с на каждую попадающую под объектив каплю) и фиксировали по секундомеру время полной остановки всех сперматозоидов в том или ином растворе. Каждый такой опыт повторяли трижды с постоянным учетом температуры растворов.

Для более эффективного и быстрого проведения подобной работы в заводских условиях, нами было предложено устройство для одновременного тестирования подвижности спермы (ОТПС), заменяющее чашку Петри.

Методика проведения заключительной производственной проверки

Вторая производственная проверка была проведена в течение рыбного сезона 1998 на Лебяжьем и Кизанском осетровых рыбоводных заводах. В данной работе нами использованы только материалы, полученные лично нами на русском осетре. В этих экспериментах, в отличие от предыдущей проверки, был использован спиртовой раствор эпибрассинолида в концентрации  $10^{-7}$  мг/л, предварительно подобранной именно для этого препарата на сперме того же вида. В остальном методика постановки производственных экспериментов не отличается от таковой 1996 г.

Полученные экспериментальные данные были подвергнуты статистической обработке на персональном компьютере в специально составленных для этих целей программах по стандартным формулам (Плохинский, 1985).

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Влияние биологически активных веществ на эмбриональное развитие русского осетра

Установленно, что процент оплодотворения икры, обработанной различными биологическими веществами, и необработанной икры от тех же самок существенно различается (Табл. 1).

Таблица 1

Влияние биологически активных веществ на процент живой икры русского осетра на разных стадиях эмбриогенеза

Стадии развития	Поздняя гастрюляция	Поздняя нейруляция	Поздний органогенез
Тип воздейств.	% жив. икринок	% жив. икринок	% жив. икринок
Контроль M+m	53.3±0.70	52.3±0.52	51.2±0.38
СКБ M+m	57.2±0.61**	70.2±1.85***	73.6±1.13***
Эпин M+m	83.8±0.44**	62.1±1.08**	73.1±1.19***
Энкад M+m	59.6±0.83**	73.6±0.92***	77.3±0.79***

Примечание. Звездочками отмечены величины, достоверно отличающиеся от соответствующих значений в контроле: \* -  $p < 0.05$ ; \*\* -  $p < 0.01$ ; \*\*\* -  $p < 0.001$ .

Через 24 часа после оплодотворения максимальное количество живых икринок, в среднем, наблюдалось для партий, обработанной эпином ( $10^{-4}$  мг/л по эпибрассинолиду) и превосходило среднюю величину для контроля (необработанной икры) на 30.5%. Возможно, это связано с иммуномодулирующим действием эпина, доводящего до уровня "физиологической нормы" икринок с незначительными отклонениями, которые в ином случае претерпели бы дефектное развитие и погибли. Два других биологически активных ве-

щества - СКБ и энкад - также дали статистически значимый положительный эффект, повысив процент выживших зародышей на 3.9% и 6.3%, соответственно. Анализ процента живой икры на следующие сутки (42-45 часов после осеменения) показал (Табл.1), что максимальное количество живых икринок отмечено в образцах, обработанных СКБ и, особенно, энкадом (средний процент живой икры в этих случаях был увеличен по сравнению с контролем на 17.9% и 21.3%, соответственно). Возможно, наиболее выразительный результат, полученный для проб, обработанных энкадом, объясняется сильным регенерирующим действием этого вещества, репарировавшего отдельные дефекты развития, возникшие на этапе гастрюляции. Непосредственно перед выклевом был трижды проведен подсчет живых и погибших зародышей в экспериментальных и контрольных ячейках. В этом случае средний процент живых икринок по сравнению с контролем был повышен в пробах, обработанных СКБ, на 22.4%, эпином - на 21.9%, энкадом - на 26.1%. По всей видимости, к концу органогенеза каждый из использованных препаратов смог в максимальной степени проявить свои биостимулирующие, иммуномодулирующие и регенерирующие свойства.

Совместное влияние гидротимических факторов и биологически активных веществ на развитие зародышей северюги

Для того, чтобы оценить протекторное действие биологически активных веществ против неблагоприятных воздействий факторов внешней среды, был поставлен комплексный эксперимент.

В первом блоке таблицы 2 показана зависимость выживаемости икры от воздействия различных БАВ без дополнительных воздействий в начале гастрюляции. Учитывая исходно высокий процент живой икры у использованных самок, не удивительно, что обработка икры БАВ на указанной стадии не дала достоверного эффекта.

Воздействие повышенной температуры в течение 30 мин на той же стадии заметно понизило процент живой икры (блок 2 табл. 2), однако предварительная обработка икры БАВ, особенно, эпином, в значительной степени нивелировала этот эффект. При кратковременном (30 мин) дефиците кислорода достоверного протектирующего эффекта от обработки БАВ на этапе гастрюляции не обнаружено (блок 3 табл.2). Воздействие временно-го повышения солености ( $10^0/_{\text{‰}}$ , 30 мин) наиболее сильно снизило процент живой икры в пробах, однако применение всех трех БАВ, особенно, эпина, несомненно, защитило зародыши от солевого стресса и существенно повысило их выживаемость (блок 4 табл. 2).

Повторная аналогичная обработка всех партий развивающейся икры северюги гидротимическими факторами была проведена на этапе поздней гастрюляции, сразу после предыдущего подсчета и отбора погибшей икры,

Таблица 2

Влияние биологически активных веществ на процент живой икры северяги, подвергающейся действию неблагоприятных факторов, на разных стадиях эмбриогенеза

Вар. обраб	Поздняя гастрюляция	нейруляция	органогенез
Биологич. активное вещество	Тип гидрохимическ. воздейств.	Процент живых икринок, P+mp	Процент живых икринок, P+mp
-	Контроль	Блок 1	Блок 5
СКБ	t = 22° С,	65.9±1.17	63.7±1.32
Эпин	7.5 мг/л O <sub>2</sub>	66.4±1.44	67.2±1.20
Энкад	Пресн. вода	69.4±1.39	70.0±1.02*
		64.5±1.07	65.2±1.44
		Блок 2	Блок 6
-	Повышение температуры до 29° С	59.1±1.69	56.3±0.84
СКБ		62.4±1.02	64.4±1.19*
Эпин		64.6±1.90*	65.3±1.33*
Энкад		60.4±1.75	62.2±1.99*
		Блок 3	Блок 7
-	Снижение содержания кислорода до 2.5 мг/л	59.7±2.59	54.8±1.97
СКБ		63.2±1.46	60.9±1.76*
Эпин		63.3±1.08	63.3±1.98*
Энкад		59.9±1.04	59.9±1.04*
		Блок 4	Блок 8
-	Повышение солёности до 10‰	52.3±1.82	53.9±1.20
СКБ		60.3±1.36*	61.1±1.83*
Эпин		64.6±1.38*	65.6±1.25*
Энкад		61.1±1.34*	62.2±1.94*
		Блок 9	Блок 10
		61.2±1.29	54.2±0.50
		66.0±0.99*	61.7±0.92*
		69.6±0.82*	65.9±1.08*
		63.1±1.06	61.0±0.87*
		Блок 11	Блок 12
		53.8±1.83	53.6±1.03
		58.3±0.56*	61.8±0.94*
		62.6±1.10*	64.4±0.71*
		58.9±0.85*	61.2±0.85*

Примечание. Здесь звездочками отмечены величины, достоверно (p<0.05) отличающиеся от соответствующих значений в группах, не обработанных БАВ.

а анализ полученных эффектов - в конце нейруляции. Видно (блок 5), что даже в контроле обработка эпином несколько повысила выживаемость икры. Воздействие на этой стадии неблагоприятных гидрохимических факторов отрицательно повлияло на выживаемость икры (блоки 6-8 табл. 2), однако предварительная обработка БАВ, как и на предыдущей стадии, во всех случаях снизила отход зародышей.

Третье воздействие экстремальных факторов было осуществлено на стадиях завершения нейруляции и начала органогенеза, а оценка полученных результатов - на последних стадиях органогенеза перед выклевом (блоки 9-12 табл. 2). В целом, обнаружены те же закономерности, что и на предыдущих стадиях развития: в отсутствие гидрохимических воздействий наибольший процент живых зародышей был в партиях, обработанных эпином и СКБ; после третьего воздействия неблагоприятных факторов достоверно повышенная выживаемость обнаружена во всех экспериментальных (обработанных БАВ) партиях, причем наибольший процент живых эмбрионов

обнаружен во всех случаях в партии икры, прошедшей обработку эпином в дозе  $10^{-4}$  мг/л по эпибрассинолиду.

После последнего просчета процента живой икры, часть живых зародышей была зафиксирована и проанализирована морфологически. Замечена существенная дисперсия стадий развития эмбрионов, подвергавшихся стрессовым воздействиям, а также синхронизация развития и некоторое его ускорение под влиянием БАВ.

В зафиксированном материале для каждой партии под биноклем был определен процент "условной нормы" и зародышей с разного рода дефектами развития (в т.ч., нарушения развития ЦНС, осевого скелета, сердечно-сосудистой системы и т.д.). Воздействие экстремальных факторов существенно уменьшило процент зародышей без очевидных дефектов: при воздействии высокой температуры их количество снизилось на 16%, асфиксии - на 18.5%, солевого шока - на 26%. Предварительная обработка БАВ фактически во всех случаях снизила процент уродств того или иного типа.

Можно, по-видимому, констатировать, что помимо биостимулирующего и иммуномодулирующего действия, использованные биологически активные вещества в большей или меньшей степени обладают антитерратогенным эффектом.

Результаты производственных испытаний влияния эпина на эффективность искусственного воспроизводства русского осетра на Лебяжем осетровом рыболовном заводе.

На основании приведенных экспериментальных данных, а также учитывая многочисленные данные об экологической безопасности и отсутствию мутагенной активности эпибрассинолида (Приложения к диссертации), в 1996 г. была проведена производственная проверка влияния этого препарата на показатели эффективности искусственного воспроизводства русского осетра в Волго-Каспийском регионе.

Норматив выхода живой икры ("процент оплодотворения") составляет для русского осетра 80%. И в контроле, и в опыте эта величина была превышена (87.7 и 89.9%, соответственно). Норматив выхода личинок от количества живой икры для осетра - 70% (Временные биотехнические нормативы по разведению молоди ценных промысловых рыб на предприятиях Главрыбвода, 1991). Соответственно этому, в контроле ожидаемый выход личинок составлял 1495470 шт., а фактический составил 1320000 шт., т.е. 61.8% от живой икры. В опыте ожидаемый выход личинок составлял 1211683 шт., а реальный - 1160000 шт., т.е. 67.0% от живой икры (на 5.2% больше, чем в контроле).

Таким образом, выполненный эксперимент на первом своем этапе показал, что, в целом, обработка икры русского осетра эпибрассинолидом в концентрации  $10^{-4}$  мг/л на стадии осеменения и обесклеивания не только

не вредит, но и способствует повышению жизнеспособности икры в период эмбриогенеза.

Полученные данные подтверждают положение, что эпин нельзя рассматривать как биостимулятор, способный ускорить развитие и рост рыб выше установленных природой пределов, а лишь как вещество, мобилизующее собственные защитные силы организма в неблагоприятных условиях и способствующее достижению естественной физиологической нормы развития.

При взвешивании проб свежих личинок из опытных и контрольных бассейнов на лабораторных весах было установлено, что средняя масса опытных личинок на 24% выше, чем контрольных.

Контрольными и опытными личинками осетра были зарыблены 6 прудов площадью 2.2 га со сходной кормовой базой и гидрохимическим режимом.

При бонитировочном учете количества и средней массы выращенной молоди русского осетра получены следующие результаты (табл. 3).

Согласно нормативам, выживаемость русского осетра в прудах должна составлять 50%, а стандартная навеска - 2.0-2.5 г.

Как видно из таблицы 3, в опытных прудах выживаемость молоди была примерно на 9% выше, чем в контрольных. Если в контрольных прудах выживаемость ниже нормативной, то в опытных норматив был превышен, в среднем, почти на 6%. В результате в этих прудах выросло почти в 1.2 раза больше молоди, чем в контрольных. Навеска выращенной опытной молоди также была заметно выше и достигала возрастнo-весового стандарта для молоди осетра (Лукьяненко и др., 1984), тогда как среди контрольной многие особи не достигли стандартной навески.

Таблица 3.

Результаты бонитировочного учета контрольной и опытной молоди русского осетра в шести прудах Лебяжьего ОРЗ.

№ пруда	Посажено личинки шт.	Количество молоди в пруду, шт.	Средн. вес молоди в уловах, г	Выживаемость, %
Контрольные пруды				
78	266000	116285	0.845	43.6
80	266000	119350	1.241	44.8
82	266000	138580	1.044	52.0
В сред.	266000	124738	1.043	46.8
Опытные пруды				
79	266000	134846	1.469	50.6
81	266000	140786	2.462	52.8
83	266000	171433	2.409	64.4
В сред.	266000	149022	2.113	55.9

Результаты работ по созданию экспресс-биотеста активности разных партий препарата эпина

Результаты производственных испытаний 1996 г. показали, что разные партии эпина, несмотря на одинаковую концентрацию сухого эпибрасинолида ( $10^{-4}$  мг/л), разные препараты могут обладать неодинаковой активностью из-за нестандартизированной до сих пор технологии синтеза этого фитогормона. В связи с этим, мы разработали простой биотест для оценки активности различных образцов препарата эпин и подбора оптимальных концентраций этого вещества для разных видов осетровых при разной температуре воды. Такой биотест удалось создать на основе определения подвижности сперматозоидов осетровых в растворах эпина с разной концентрацией по действующему веществу.

Тестирование активности разных партий препарата "Эпин" в разных концентрациях по показателю их влияния на активность спермы осетровых

В таблице 4 приведены суммарные результаты одного из экспериментов, выполненного на сперме 3-х самцов русского осетра.

Учитывая наши эмпирические наблюдения, время поступательного движения большинства спермиев в пробе, как правило, составляет около 1/3 времени от активации до их полной остановки. Тогда сперма от самца N 1 с полным временем подвижности 3.13 мин реально будет пригодна для осеменения икры лишь немногим более 1 мин, хотя согласно стандартной технологии осеменение икры осетровых рыб должно продолжаться не менее 3 мин. Активация этой спермы раствором эпина-1 с концентрацией действующего вещества  $10^{-4}$  мг/л позволила повысить время жизни спермиев в 2.3 раза. Препарат эпин-2 подействовал в максимальной степени на этот образец в концентрации  $10^{-6}$  мг/л, а препарат эпин-3 вызывал более, чем двукратное увеличение времени жизни спермы от самца 1 при использовании в дозах  $10^{-8}$ - $10^{-6}$  мг/л.

На исходно более сильной сперме от самца N 2 более, чем двукратное увеличение времени жизни спермиев дала активация растворами препарата 1 с концентрациями эпибрасинолида  $10^{-8}$ ,  $10^{-6}$  и  $10^{-4}$  мг/л. Препарат 2 давал наиболее выразительные эффекты при более низких концентрациях: в два с лишним раза при  $10^{-10}$  мг/л; в 4 с лишним раза - при использовании концентрации  $10^{-8}$  мг/л; в 3 раза - при  $10^{-6}$  мг/л. Сходные данные получены и при использовании препарата эпина 3 (1997 г. выпуска)

Наконец, наименее выраженным воздействием биостимулятора оказалось при использовании в качестве тест-объекта спермы от самца N 3 с исходно высоким временем подвижности. В этом случае при подборе оптимальных

Таблица 4

Абсолютное (минуты) и относительное (% от контроля) время подвижности сперматозоидов от разных самцов русского осетра при активации чистой водой и растворами эпина разной концентрации

Препарат эпина	№ сам- цов	Единица измер.	Контр. 0	Концентр. по эпибрассинолиду, мг/л				
				$10^{-10}$	$10^{-8}$	$10^{-6}$	$10^{-4}$	$10^{-2}$
N 1 (1995)	1	мин.	3.13	4.10	4.49	6.16	7.24	2.23
		% от контроля	100.0	131.0	135.6	196.8	231.3	71.2
	2	мин.	6.03	10.4	14.3	13.6	17.3	4.55
		% от контроля	100.0	172.5	232.2	225.5	286.9	75.4
	3	мин.	23.4	26.3	31.5	37.8	35.3	13.5
		% от контроля	100.0	112.3	134.6	161.5	150.8	57.6
	M+ш	мин.	10.8+	13.6+	16.8+	19.2+	19.9+	6.76+
			6.32	6.60	7.89	9.55	8.21	3.43
	M+ш	% от контроля	100.0+	138.6+	169.1+	194.6+	223.0+	68.4+
			0.00	17.5	34.0	18.5	39.5	5.05
N 2 (1996)	1	мин.	3.13	4.12	5.83	8.22	5.03	2.62
		% от контроля	100.0	131.6	186.3	262.6	160.7	83.7
	2	мин.	6.03	12.5	24.3	18.3	5.06	3.34
		% от контроля	100.0	207.3	403.0	303.5	83.9	55.3
	3	мин.	23.4	24.5	35.6	41.1	30.3	18.4
		% от контроля	100.0	104.7	152.1	175.6	129.5	78.6
	M+ш	мин.	10.8+	13.7+	21.9+	22.5+	13.5+	8.12+
			6.32	5.91	8.67	9.71	8.42	5.14
	M+ш	% от контроля	100.0+	147.9+	247.1+	247.2+	124.7+	72.5+
			0.00	30.7	78.6	37.7	22.3	8.74
N 3 (1997)	1	мин.	3.13	5.86	8.74	7.32	5.18	2.48
		% от контроля	100.0	187.2	279.2	233.9	165.5	79.2
	2	мин.	6.03	18.6	28.5	17.2	11.4	3.95
		% от контроля	100.0	308.5	472.6	295.2	189.0	65.5
	3	мин.	23.4	26.3	41.9	38.6	26.4	12.6
		% от контроля	100.0	112.4	179.0	165.0	112.8	54.7
	M+ш	мин.	10.8+	16.9+	26.4+	21.0+	14.3+	6.41+
			6.32	5.96	9.63	9.23	6.30	3.22
	M+ш	% от контроля	100.0+	202.7+	310.3+	231.4+	155.8+	66.4+
			0.00	57.1	86.2	37.6	22.5	12.3

концентраций веществ удавалось продлить время жизни спермиев всего на 60-79%. Это подтверждает принцип работы эпина как биорегулятора: "Чем хуже, тем лучше", т.е. наиболее сильное влияние он оказывает на ослаб-

ленные клетки.

Эксперименты по осеменению икры русского осетра спермой, активированной растворами разных препаратов эпина в разной концентрации, показали высокую корреляцию процента оплодотворения с активностью сперматозоидов, определенной предложенным способом.

Сравнительная оценка влияния одних и тех же доз эпибрассинолида в разных температурных условиях

В табл. 5 приведены данные по оценке влияния эпина на время подвижности спермы белуги при разных температурах активирующих растворов. Для удобства сравнения данные приведены в процентах от контроля - усредненной активности спермы тех же самцов при активации чистой водой той же температуры.

Таблица 5  
Влияние растворов препарата эпина N 2 на время подвижности спермиев белуги при разных температурах

Условия опыта	10-11 °C	12-15 °C	18-19 °C	24-25 °C	27-28 °C
Контроль, мин	29.1	20.1	8.98	5.59	4.03
Контроль, %	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Эпин, 10 <sup>-9</sup> мг/л	131.3	74.9	121.7	105.6	129.6
% от 10 <sup>-8</sup> мг/л	217.2	277.5	221.2	153.5	147.9
конт- 10 <sup>-7</sup> мг/л	231.7	138.2	195.5	146.1	443.3
роля 10 <sup>-6</sup> мг/л	374.6	167.9	118.4	131.1	423.8
10 <sup>-5</sup> мг/л	347.2	118.3	64.9	129.3	400.0
10 <sup>-4</sup> мг/л	141.9	180.5	77.7	91.0	329.0
10 <sup>-3</sup> мг/л	161.9	90.9	77.9	86.7	67.6

Анализируя данные таблицы, можно отметить, что при низких температурах (10-11°C) вполне удовлетворительный эффект (повышение времени подвижности сперматозоидов белуги) был достигнут при диапазоне концентраций от 10<sup>-9</sup> до 10<sup>-3</sup> мг действующего вещества на 1 л воды, при более высоких температурах (12-15°C) диапазон эффективных концентраций укорачивается (10<sup>-8</sup>-10<sup>-4</sup> мг/л); а при 18-19°C заметный положительный эффект обнаружен лишь при 10<sup>-8</sup>-10<sup>-7</sup> мг/л. Активация спермы растворами более высоких концентраций (10<sup>-5</sup>-10<sup>-3</sup> мг/л) приводила к сокращению периода подвижности сперматозоидов.

При более высоких температурах воды (24-25°C и 27-28°C), выходящих за пределы нерестовых температур белуги, исходное время подвижности сперматозоидов при активации водой без эпина понижается, а при активации растворами эпина - возрастает. Так, при экстремальной температуре 27-28°C сперма белуги выживала в водной среде, в среднем, около 4

мин, тогда как в растворах эпина с концентрацией действующего вещества  $10^{-7}$ - $10^{-4}$  мг/л этот показатель возрастал более, чем в 3-4 раза. Обнаруженный факт может быть учтен при необходимости работы с производителями при температурах, намного превосходящих их нормальные нерестовые температуры.

Таким образом, и в этом случае воздействие эпина наиболее наглядно проявилось в экстремальных условиях - при температурах, которые существенно выше нерестовых температур, характерных для размножения данного вида.

#### Использование растворов эпибрассинолида для повышения активности спермы белуги после криоконсервации

На 12 самцах белуги было установлено, что время подвижности нативной спермы составляет от 3.0 до 13.4 мин. Криоконсервация была проведена сотрудниками ВНИПРХ по стандартной методике (Цветкова и др., 1997). После разморозки время жизни спермы уменьшилось более, чем в 2 раза и составило, в среднем, 45.6% от такового для нативных образцов. Использование раствора эпибрассинолида в качестве активирующей среды позволило повысить время подвижности клеток, подвергавшихся криоконсервации, в среднем, почти в 1.6 раза (разница достоверна при  $p < 0.05$ ), так что оно составило 71.7% от исходного.

При осеменении икры белуги нативной спермой одного из самцов процент оплодотворения составил 75.0%, выклев личинок - 60.7%. Осеменение криоконсервированной спермой от того же самца при активации ее водой давало, в лучшем случае, процент оплодотворения 20%, выклева - 36.8%. Использование для активации размороженной спермы раствора эпибрассинолида  $10^{-7}$  мг/л позволило повысить эти показатели до 28.0% и 49.0%, соответственно.

Таким образом, использование эпибрассинолида для повышения эффективности использования криоконсервированной спермы с целью повышения генетического разнообразия белуги и других редких и исчезающих видов представляется нам перспективным.

#### Результаты второй производственной проверки влияния эпина на эффективность искусственного воспроизводства русского осетра на Лебяжем и Кизанском осетровых рыбоводных заводах.

В ходе данной проверки нами было поставлено три независимых эксперимента в разные сроки и на разных осетровых рыбоводных заводах, в работе которых есть некоторые различия. Всего в экспериментах была использована икра от 21 самки. В таблице 6 приведены итоговые статистически обработанные, результаты этих экспериментов. Для эксперимента №3

приведены суммарные результаты по количеству живой икры, личинки и процента выклева. В таблице также указаны итоговые значения по средним взвешенным и средним арифметическим результатам всей проведенной работы на русском осетре.

Эксперимент N 1 на 10 самках русского осетра Лебяжьего ОРЗ был выполнен 21-22 мая 1998 г. при температуре воды в инкубационном цеху 17-19°С с использованием раствора эпибрассинолида концентрацией 10<sup>-7</sup> мг/л. Статистически значимых различий между средними взвешенными и средними арифметическими величинами в опыте и контроле не обнаружено. Несомненно, имеются опытные данные, близкие по величине к контрольным, однако это характерно для тех случаев, когда процент оплодотворения был изначально высоким вследствие наличия у отдельных самок икры с высоким процентом оплодотворения. Поэтому ожидать повышения выживаемости икры, и так близкой в контроле к 100%, не было никаких оснований. Другое дело, когда рыводные качества икры были низкими.

Таблица 6  
Процент оплодотворения икры русского осетра Лебяжьего и Кизанского ОРЗ после обработки раствором эпибрассинолида в концентрации 10<sup>-7</sup> мг/л (опыт) и без обработки (контроль).

N Эк	Завод К-во самок	О П Ы Т			К О Н Т Р О Л Ь		
		Общ. к-во икры	в том числе живой	Процент оплодотвор. $P \pm m_p$	Общ. к-во икры	в том числе живой	Процент оплодотвор. $P \pm m_p$
1	ЛОРЗ 10 шт	6973	6559	94.1±0.29	7657	7175	93.7±0.28
2	КОРЗ 3 шт.	2273	1877	82.6±0.80*	2217	1362	61.4±1.03
3	КОРЗ 8 шт.	5433	4739	87.2±0.45*	5146	4053	78.8±0.57
Среднее взвешен. ИТОГОВОЕ		14679	13175	89.8±0.25*	15021	12590	83.8±0.30
Среднее арифмет.				88.7±3.10			84.3±3.36

Примечание. Здесь звездочками отмечены величины, достоверно (p<0.05) отличающиеся от соответствующих значений в контроле

Эксперимент N 2 был поставлен на трех самках русского осетра Кизанского ОРЗ 24 мая 1998 г. при температурах воды 18-19°С. Средняя взвешенная величина в опыте была достоверно выше таковой в контроле (на 21.2%), что свидетельствует об эффективном действии эпибрассиноли-

да в данном эксперименте. Полученные результаты нуждались в дальнейшем подтверждении, особенно в тех случаях, когда инкубация проводится в неоптимальных условиях. Учитывая достаточно поздние календарные сроки начала инкубации, последнюю партию производителей и высокие показатели температуры воды ( $22-24^{\circ}\text{C}$ ), нами на русском осетре был заложен Эксперимент N 3 на восьми самках Кизанского ОРЗ 3-4 июня 1998 г. В опыте и контроле между средними взвешенными обнаружено статистически значимое различие (в процентном отношении разница между этими величинами составила 8.4%).

От 8 самок, обработанных в третьем эксперименте, в контроле было получено 654.1 тыс. шт. живой икры, из которой 7-8 июня 1998 г. выклюнулось 420 тыс. личинок. Процент выклева в контроле (64.2%) был несколько ниже нормативного (70%). В опыте было получено 752.5 тыс. шт. живой икры, из которой выклюнулось 560 тыс. личинок. Таким образом, процент выклева личинок из икры, обработанной эписбрассинолидом, составил 74.5%, т.е. на 4.5% выше норматива и на 10.3% выше, чем в контроле (разница достоверна при  $p < 0.001$ ).

Учитывая статистически обработанные и проанализированные данные экспериментов и производственных проверок, можно утверждать, что использование эписбрассинолида на русском осетре дали положительный результат, что выразилось в повышении выживаемости зародышей и процента выклева личинок, особенно, при исходно пониженном проценте оплодотворения или неблагоприятных условиях инкубации.

#### ВЫВОДЫ

1. Обработка икры русского осетра биологически активными веществами (СКБ, 400 мг/л, эписбрассинолидом  $10^{-4}$  мг/л и энкадом 5 мг/л) в период осеменения и обесклеивания в экспериментальных условиях позволила достоверно повысить выживаемость зародышей в период эмбриогенеза: количество зародышей осетра, готовых к выклеву, повысилось под влиянием обработки СКБ в 2.1 раза, эпином - в 2.7 раза, энкадом - в 2.4 раза.

2. Заведомо неблагоприятные факторы внешней среды (кратковременное повышение температуры до  $29^{\circ}\text{C}$ , солености до  $10^{\circ}/_{\text{о}}$ , снижение содержания кислорода до 2.5 мг/л) увеличивали процент отхода икры русского осетра и севрюги и вызвали отставание в развитии. Предварительная обработка зародышей биологически активными веществами, особенно, эпином перед стрессовыми воздействиями в значительной степени нивелировала их отрицательные эффекты.

3. Периодическое воздействие экстремальных гидрохимических факторов резко повысило процент уродств среди зародышей русского осетра и

сеvрюги. Обработка икры перед экстремальными воздействиями биологически активными веществами, особенно, эпином, позволила на 10-20% снизить уровень терратогенеза.

4. Обработка раствором эпибрассинолида  $10^{-4}$  мг/л икры 20 самок Лебязьего ОРЗ в производственных условиях повысила процент оплодотворения от 87.7% до 89.9%, процент выхода живых личинок от 61.8% до 67.0%, выживаемость молоди в прудах от 46.8% до 55.9%.

5. Установлено, что добавление растворов эпибрассинолида в среду, активирующую сперму осетровых, существенно сказывается на времени подвижности сперматозоидов, увеличивая его при оптимальных концентрациях в 2-3 раза. Оптимальные концентрации могут быть неодинаковыми для разных партий эпина. В связи с этим разработан экспресс-метод тестирования активности разных образцов этого препарата.

6. Подвижность спермы осетровых существенно угнетается при температурах выше нерестовых, а также после криоконсервации. Добавление в среду эпибрассинолида в оптимальных концентрациях позволяет повысить жизнеспособность спермы в экстремальных температурных условиях в 4 и более раза, а продолжительность жизни криоконсервированной спермы - более, чем в 1.5 раза, что существенно увеличило процент оплодотворения икры белуги размороженной спермой.

7. Производственная проверка эффективности использования раствора эпибрассинолида  $10^{-7}$  мг/л на 21 самке русского осетра Лебязьего и Кизанского ОРЗ показала, что в среднем по двум заводам, процент оплодотворения икры повысился на 6%, а процент выклева личинок - на 10.3%. Это указывает на перспективность использования данного препарата в практике искусственного воспроизводства русского осетра.

#### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Из исследованных биологически активных веществ, наибольшей доступностью, дешевизной и экологической безопасностью обладает фитогормон эпибрассинолид в виде спиртовых растворов или препарата "эпин".

2. Растворы эпибрассинолида в концентрациях, подобранных на основании экспресс-теста на активность препарата на сперме соответствующих видов, могут быть использованы для повышения выживаемости икры и процента выклева личинок осетровых рыб на рыбоводных заводах.

3. Обработку икры осетровых рыб целесообразно проводить в период осеменения и обесклеивания.

4. Обработку икры русского осетра следует проводить в течение всего рыбоводного сезона, особенно, в случае ухудшения гидрохимических показателей технологической воды и повышения температур в конце рыбоводного сезона.

Список публикаций по материалам диссертации

1. Егоров М.А. Антитерратогенное действие некоторых биологически активных веществ на зародыши осетровых рыб в неблагоприятных экологических условиях. // Международная научно-практическая конференция Экология и регион, Ростов-на-Дону, 1995. - С.93.
2. Егоров М.А. Протектирующее влияние биологически активных веществ на выживаемость зародышей осетровых рыб в норме и при экстремальных гидрохимических воздействиях. // Международная научно-практическая конференция Экология и регион, Ростов-на-Дону, 1995. - С.93.
3. Егоров М.А., Витвицкая Л.В. Влияние иммуномодуляторов и биостимуляторов на морфогенез зародышей русского осетра и севрюги в норме и при экстремальных гидрохимических воздействиях. // Тез.Межрег. конф.-сов. "Каспий - настоящее и будущее". Астрахань. 1995. С. 165 - 166.
4. Егоров М.А. Исследование влияния иммуномодуляторов и биостимуляторов на морфогенез русского осетра и севрюги при экстремальных гидрохимических воздействиях. //XXXX науч.-тех. конф. проф. преп. сост. АГТУ, Астрахань, 1996: Тез. докл. -Астрахань, 1996. - С. 85-86.
5. Витвицкая Л.В., Егоров М.А. Антитерратогенный эффект биологически активных веществ и перспективы их применения в осетроводстве. //Тез. XXXX науч.-тех. конф. проф. преп. сост. АГТУ, Астрахань. 1996. С. 81-82.
6. Егоров М.А. Антитерратогенное воздействие некоторых биологически активных веществ в условиях осетровых рыбоводных заводов. //I конгресс ихтиологов России. Тезисы докладов. Москва. Изд-во ВНИРО. 1997. С. 310.
7. Егоров М.А., Витвицкая Л.В. Опыт использования биологически активных веществ для повышения выживаемости эмбрионов, личинок и молоди осетровых. //I конгресс ихтиологов России. Тезисы докладов. Москва. Изд-во ВНИРО. 1997. С. 311.
8. Витвицкая Л.В., Егоров М.А., Абтахи Б. Исследование последствий обработки икры осетровых рыб биологически активными веществами. //Вестник АГТУ. Астрахань. 1997. С. 29-34.
9. Егоров М.А. Сперма осетровых как тест-объект для экспресс оценки активности биостимуляторов. //I Международная научн. студ. конф. Ассоц. Прикаспийских государств. Тез. докладов. Астрахань. 1998. С. 135-136.
10. Витвицкая Л.В., Егоров М.А. Возможность применения фитогормона эпибрассинолида в качестве биорегулятора развития и токсикопротектора каспийских осетровых при искусственном воспроизводстве. //III Асамблея ассоциации университетов Прикаспийских государств. Актау 19-21 октября 1998. Тез. докладов. Актау. 1998. С. 102-103.
11. Vitvitskaya L.V., Egorov M.A. The evaluation of biologically active substances influence on sturgeon embryogenesis under unfavorable conditions. //The Caspian sea science education technologies. International journal of collected academic articles. Book I. Astrakhan. 1998. P. 104-109.
12. Vitvitskaya L.V., Tikhomirov A.M., Egorov M.A. Phytohormone epibrassinolide is the development regulator and the toxicoprotector of young sturgeons in aquaculture. //Aquaculture Europe'98 conference, Bordeaux, France, October 7-10: Abstr. Bull. /1998.

Находятся в печати

13. Егоров М.А., Витвицкая Л.В., Тихомиров А.М., Никоноров С.И., Малеванная Н.Н. Влияние биорегулятора эпина на выживаемость русского осетра в раннем онтогенезе. //Рыбное хоз-во. М. 1999, N 3-4.

14. Витвицкая Л.В., Тихомиров А.М., Никоноров С.И., Егоров М.А., Малеванная Н.Н., Крипач В.А., Кабинский В.Н. "Способ повышения выживаемости зародышей, личинок и молоди осетровых рыб на рыбоводных предприятиях" (заявка N 97117958/ 13(018477) от 21.10.97).

15. Егоров М.А. Определение диапазонов оптимальных концентраций разных партий биорегулятора эпина на сперме осетра и севрюги и их зависимость от температуры среды. // Тез.ХХХХII науч.-тех. конф. проф. преп. сост. АГТУ, Астрахань.

16. Егоров М.А. Исследования влияния биорегулятора эпинбрасинолида на выживаемость русского осетра в раннем онтогенезе. //Тез. докл. совещания "Проблемы рыбного хозяйства внутренних водоемов". Ст-Петербург. 1998.

Тип. ЗАКАЗ 0149 ТИР. 100 экз  
19.11.98.