

На правах рукописи
УДК 639.371.2:639.3.043.13

САЗОНОВА
Людмила Викторовна

**“БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ МИНЕРАЛЬНЫХ
ПРЕПАРАТОВ (НА ПРИМЕРЕ ВОКСА) ПРИ ВОСПРОИЗВОДСТВЕ ОСЕТРОВЫХ
ВИДОВ РЫБ”**

Специальности: 03.00.10 – Ихтиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва
2006

Работа выполнена в ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» (ВНИРО)

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Микодина Екатерина Викторовна
Всероссийский научно-исследовательский
институт рыбного хозяйства и океанографии,
г. Москва

Официальные оппоненты: доктор биологических наук
Городилов Юрий Николаевич
Биологический научно-исследовательский институт
Санкт-Петербургского Государственного Университета

кандидат биологических наук
Смирнов Борис Павлович
Всероссийский научно-исследовательский
институт рыбного хозяйства и океанографии,
г. Москва

Ведущая организация: Ростовский Государственный университет технологий и управления.

Защита состоится 20 октября 2006 г. в 11 часов на заседании диссертационного совета Д 307.004.01 при Всероссийском научно-исследовательском институте рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО) по адресу: 107140, Москва, ул. Верхняя Красносельская, д.17. Факс (095) 264-91-87, электронная почта sedova@vniro.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ВНИРО

Автореферат разослан « ____ » _____ 2006 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук



М.А.Седова

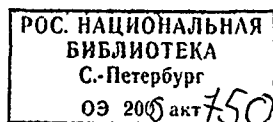
2006А
18729

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Зарегулирование стока нерестовых рек Волги, Дона и Кубани, наряду с ухудшением экологического состояния водоемов, привело к катастрофическому снижению уловов осетровых (за последние 25 лет в 60 раз). При этом резко снизились как численность производителей, так и их рыбоводное качество. Искусственное воспроизводство становится во многих случаях единственным источником как восстановления природных популяций осетровых, так и сохранения их видового разнообразия (Лукьяненко, 2001).

При воспроизводстве осетровых на рыбоводных заводах приходится сталкиваться с целым рядом негативных факторов, воздействие которых приводит к повышенному отходу икры и личинок, формированию ослабленной некондиционной молоди, с пониженной резистентностью и, соответственно, высокой уязвимостью по отношению к абиотическим и биогенным стрессам. Формирование защитных систем организма, обеспечивающих выживание рыб, происходит в течение ранних периодов онтогенеза, поэтому именно этим периодам развития должно быть уделено особое внимание (Лукьяненко, 1966, 1971; Коза, 1983; Микодина, 1998). Одним из путей решения этой проблемы является использование биологически активных факторов, направленных на улучшение состояния организма рыб, а также качества среды обитания и кормов. К таким относятся препараты, обогащенные микро- и макроэлементами, которые играют исключительно важную биологическую роль в организме животных и человека. Они успешно применяются в рыбоводстве для увеличения жизнестойкости эмбрионов, личинок и молоди (Ковальский, 1967; Морозов, Петухов, 1986; Воробьев 1990; Лобзакова, 2002 и др.).

Для эффективного выращивания молоди необходимо, помимо витаминных премиксов, добавлять в комбикорма и минеральные вещества, которые улучшают их продукционные свойства. В составе минеральных премиксов чаще всего используют добавки, содержащие химические элементы Са, Р, Fe, Zn, Cu, Mn, Co, J, реже Mo и Mg (Цирильская, Люкшина, 1981), которые принимают активное участие в обмене веществ организмов. Многие из микроэлементов могут адсорбироваться из воды эмбрионами через оболочки икринок, а также непосредственно через жабры и кожу (Аскеров, Кязимов, 1968; Воробьев, 1978, 1980; Орлов, 1982) Применяемые на заводах для стандартной профилактической и лечебной обработки вещества не вполне безопасны для рыб, в



частности, антибиотики являются иммунодепрессантами (Яндовская, 1966; Микодина, 1998; Болезни рыб, 2000; Скальный, 2004 и др.).

Среди микроэлементных препаратов особый интерес представляет полиминеральный препарат Вокс, который получают из природных минералов. Положительный эффект его действия связан с присутствием в препарате элементов - Se, Zn, S, Cu, Fe, Mg и Mn. Многие из них характеризуются антиоксидантными свойствами, а также участвуют в составе металлоферментов, обеспечивающих поддержание ряда клеточных функций, в том числе тех, которые повышают резистентность живого организма (Воробьев, 1979). Комплексное воздействие микро- и макроэлементов обеспечивает биологическую активность препарата Вокс.

В данной работе мы изучали действие полиминерального препарата Вокс, используя его в процессе воспроизводства рыб на предприятиях индустриального типа, предполагая, что он окажет положительное влияние на этот процесс.

Цель и задачи. Цель работы - повышение эффективности искусственного воспроизводства осетровых видов рыб.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Провести исследования препарата Вокс для оценки его безопасности.
2. Изучить свойства препарата Вокс в модельных экспериментах (в условиях аквариального выращивания).
3. Установить оптимальные концентрации препарата при использовании его в рыбоводном процессе.
4. Разработать способы применения препарата Вокс на различных этапах онтогенеза рыб (эмбрионы, предличинки, личинки, сеголетки, годовики).
5. Оценить рыбоводно-биологические и физиолого-биохимические результаты использования препарата.
6. Оценить экономическую эффективность использования препарата.

Научная новизна. Впервые получены рыбоводно-биологические и физиолого-биохимические результаты использования препарата Вокс на ранних этапах онтогенеза осетровых видов рыб. Это легло в основу рекомендаций о целесообразности его применения при искусственном воспроизводстве осетровых видов рыб.

Получены три патента на изобретение в Патентном ведомстве РФ (ФИПС).

Практическое значение работы. По материалам диссертационной работы разработана «Методика применения в рыбоводстве полиминерального препарата Вокс». Часть 1. Осетроводство, которая может использоваться для повышения эффективности воспроизводства осетровых рыб. Данный результат достигается за счет повышения выживаемости эмбрионов, личинок и сеголеток, улучшения их рыбоводно-биологических и физиолого-биохимических характеристик и снижения материальных и трудовых затрат на рыбоводных заводах. Увеличение выпуска физиологически полноценных сеголеток способствует восстановлению запасов и увеличению промывзврата осетровых видов рыб.

Разработаны и утверждены нормативные документы, необходимые для производства и применения препарата Вокс для рыбоводных целей:

- Разрешение на использование препарата от Департамента ветеринарии Минсельхоза России;

- Наставление на применение препарата Вокс для рыбоводных целей;

- ТУ-9296-001-45934125-03 «Добавка Вокс»;

- Сертификат соответствия. Кормовая минеральная добавка Вокс, РОСС RU.ПР15, 5915100;

- Аттестат аккредитации Испытательного центра «Препарат Вокс», №РОСС RU.0001/21ПН40.

Апробация работы. Основные материалы работы докладывались на научно-практических конференциях и форумах:

- Научно-практическая конференция «Проблемы и перспективы развития аквакультуры в России». 2001 г., Адлер.

- Научно-практическая конференция «Водные биоресурсы России: решение проблем их изучения и рационального использования». Москва, ВНИРО, 2003 г.

- Международный симпозиум «Холодноводная аквакультура: старт в XXI век», С.- Пб. 2003 г.

- «World Aquaculture 2003», Salvador, Brazil.

- Международная научно-практическая конференция «Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития», Астрахань, 2004 г.

Проведены производственные испытания на 7 осетровых заводах России.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 128 страницах и состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов и практических рекомендаций.

Список цитируемой литературы включает 202 работы, из которых 45 работ на иностранных языках. Работа иллюстрирована 15 рисунками и 17 таблицами.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В работе приведен анализ литературных данных отечественных и зарубежных авторов по характеристике осетровых видов рыб, а также современного состояния осетроводства. Отмечена необходимость дальнейшего совершенствования биотехники заводского воспроизводства, нацеленного на сохранение максимально возможного количества икры и молоди.

Приведены данные по влиянию на организмы рыб, теплокровных животных и человека наиболее важных элементов и соединений, входящих в состав препарата Вокс. Анализ литературных данных показал недостаточный уровень исследований эффективности применения микроэлементов на ранних этапах онтогенеза осетровых видов рыб в условиях аквакультуры.

Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работы по испытанию препарата Вокс нами были проведены в течение 2000-2005 годов. Исследования проводили в аквариальных ВНИРО, ВНИИПРХа, КрасНИИРХа и АзНИИРХа, а также в условиях осетровых рыбоводных заводов (ОРЗ): Волгоградского (Нижневожрыбвод), Донского (Азоврыбвод), Можайского ПЭРЗ (Мосрыбвод), Конаковского завода товарного осетроводства (Мосрыбвод), Кизанского (Севкаспрыбвод), РВХ Краснодарской ТЭЦ и ЗАО «Казачка» (Ростовская обл.). В качестве объектов исследования были использованы эмбрионы, предличинки, личинки, сеголетки и годовики осетровых видов рыб: белуга (*Huso huso* Linnaeus, 1758.), русский осетр (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt, 1833), севрюга (*Acipenser stellatus* Pallas, 1771), стерлядь (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758) и межвидовой гибрид (*Huso huso* x *Acipenser ruthenus*) бестер (Bester Nikojukin, 1953). Выбор данных видов обусловлен не только их высокой пищевой ценностью, но и перспективностью, как объектов искусственного рыборазведения.

На первом этапе необходимо было оценить безопасность препарата. Для этого анализировался химический состав каждой партии Вокса на соответствие ГОСТам: 26664, 27082, 27207. Определение генотоксичности препарата проводили методами SOS-lux и анафазного теста (Rabbow Elke, 2002). Степень токсичности препарата оценивали с использованием биологического метода (по выживаемости инфузорий и снижению интенсивности размножения дафний).

Тератогенное влияние препарата определяли методом подсчета аномалий строения тела и обонятельного органа (Подушка, Левин, 1988; Краснодарская, 1989). Затем были проведены модельные испытания препарата Вокса на базе аквариальных ВНИРО и ВНИИПРХа, где была отработана предварительная схема применения препарата.

После получения разрешения Департамента ветеринарии Минсельхоза, согласованного с Главрыбводом, на проведение испытаний препарата в производственных условиях, исследования были продолжены на ряде осетровых рыбзаводов России.

Содержание экспериментальных партий рыб проводили в стандартных емкостях, придерживаясь нормативной плотности посадки. Опыты проводились в двух-кратной повторности. Препарат Вокс использовали в виде раствора для кратковременной обработки подопытного живого материала и в условиях длительного содержания, а также в виде добавок в корма.

При выборе сроков обработки икры учитывали литературные данные, а также опыт ихтиопатологической службы, касающийся чувствительности эмбрионов к внешним воздействиям на различных стадиях эмбриогенеза. В результате были выбраны 2 стадии: стадия 1 (оплодотворение) и стадия 16 (по: Детлаф, 1981), как наиболее благоприятные для обработки препаратом. Препарат Вокс использовали также в качестве добавки в сухой гранулированный корм в количестве от 10 и 20 мл/кг.

В процессе исследования в экспериментах было использовано 18 самок разных видов осетровых рыб и межвидового гибрида (Бестер), 1990 тыс. штук икринок, 594 тысячи личинок и сеголеток. Для исследований биохимических и гематологических показателей было взято 780 проб. Для снятия различных физиологических показателей было использовано 1320 рыб. При оценке влияния обработок препаратом Вокс анализировали следующие рыбоводно-биологические и физиолого-биохимические показатели: процент оплодотворения икры; степень поражения сапролегниевыми грибами; стадии развития икры и типичность развития по В.А.Мейену; эффективность выхода предличинок; выживаемость и скорость роста (Винберг, 1968); упитанность (по Фультону); гематологические показатели (содержание гемоглобина, величина гематокрита, интенсивность эритропоза – по методике Т.И.Ивановой, 1974). Кроме того, анализировали данные химического состава тела, липиды (по методу Фолча) и функциональное состояние внутренних органов (Бауер, Мусселиус, 1977, 1981). Скорость роста и увеличение массы рыб определяли используя

выборку из 30-50 рыб в каждом варианте опыта. Полученные данные подвергались обработке общепринятым методом вариационной статистики (Лакин, 1990, Плохинский, 1970). Статистические обработки полученных результатов проводили с помощью программы «Ехсел». Обозначение периодов и стадий развития принято по Т.А. Детлаф (1981), морфометрическая обработка - по И.Ф.Правдину (1966).

В качестве основного критерия определения степени жизнестойкости заводских сеголеток использовали физиологические тесты: метод полифункциональных нагрузок (Лукьяненко, 1966, 1971), реакцию пигментных клеток (меланофоров) и наличие аномалий органа обоняния (Краснодембская, 1989; Подушка, Левин 1988, 1999).

Приняты следующие обозначения возрастных групп: «предличинки» - с момента вылупления до начала перехода на смешанное питание; «личинки» - от начала перехода на смешанное питание до полного рассасывания желточного мешка и перехода на активное питание; «сеголетки» - молодь до конца первого года жизни; «годовики» - с января до начала вегетационного периода (апрель – май) второго года жизни.

2.1. Краткая характеристика препарата Вокс

Препарат Вокс получен в Японии путем переработки природного минерала. Он представляет собой жидкость желто-зеленого цвета, без запаха, рН 1,5-1,7, удельный вес 1,02 г/см³, сухой остаток – 20 г/л, нетоксичен, хорошо растворим в воде. В его состав входит до 40 микро- и макроэлементов, из них основных насчитывается до 20.

Концентрации большинства элементов, которые содержатся в рабочем растворе Вокса (1 мл/л), существенно ниже ПДК, принятых для рыбохозяйственных водоемов. (Перечень рыбохозяйственных нормативов...., 1999). Кроме перечисленных в таблице 1 элементов, в препарате Вокс содержатся также в микроколичествах редкие элементы – Rb (рубидий), В (бор), Sn (олово), Nb (ниобий), Ta (тантал), U (уран), Th (торий), Bi (висмут).

Таблица 1

Химический состав препарата Вокс

№	Элемент	Концентрация, мг/л		
		ПДК для рыбохозяйственных водоемов	в препарате	в рабочем растворе
1	Zn	0,01	0,16	0,00016
2	Cr	0,02-0,07	0,99	0,00099
3	Pb	0,01	0,012	0,000012
4	Cu	0,001	0,11	0,00011
5	Cd	0,01	0,001	0,000001
6	Fe	0,1	57,93	0,058
7	Mn	0,01	0,87	0,00087
8	Ag	<0,05	0,0016	0,0000016
9	Co	0,01	0,03	0,00003
10	Ni	0,01	0,005	0,000005
11	Li	0,08	0,14	0,00014
12	Ca	180,0	37,18	0,037
13	Mg	40,0	434,0	0,434
14	P	0,15	1,96	0,002
15	Na	120,0	5320,0	5,320
16	Se	0,002	0,49	0,0005
17	V	0,001	1,33	0,0013
18	Al	0,04	48,57	0,049
19	K	50,0	62,38	0,062
20	Si	10,0	4,38	0,004

В настоящее время Вокс широко применяют в различных областях сельского хозяйства Японии, в том числе в рыбоводстве, как средство профилактики и лечения различных заболеваний. Установлено, что препарат проявляет бактерицидную активность в отношении бактерий группы кишечной палочки, подавляет рост грибов рода *Candida* и некоторых возбудителей кожных заболеваний рыб. Запатентован в Японии как «Средство ускорения роста рыб, профилактики и лечения заболеваний» и «Препарат для очистки воды, предназначенной для обитания рыб».

В России первые исследования с использованием препарата были проведены в лабораториях Российского Научного Центра восстановительной медицины и курортологии, в Институте пивоваренной промышленности и НИИ ВОДГЕО. В этих учреждениях были подтверждены данные японских исследователей о высокой активности препарата для живых организмов, что явилось одной из предпосылок для его испытания в рыбоводстве.

Результаты исследования безопасности препарата Вокс для рыб:

1. **Химический анализ** препарата Вокс проводился при получении каждой новой партии. Отмечены некоторые незначительные различия по содержанию отдельных элементов, что связано с происхождением (районом добычи) исходного сырья, которое использовали для получения препарата Вокс.

2. **Токсикологические исследования** препарата, проведенные на инфузориях и дафниях, показали отсутствие токсического эффекта при испытаниях препарата в концентрациях от 0,01 до 10 мл/л.

3. **Генотоксичность.** Воздействие препарата Вокс на севрюгу в раннем онтогенезе не вызывает генотоксического эффекта, что подтверждено SOS-lux тестированием и исследованием хромосомных aberrаций.

4. **Тератогенный эффект.** Не выявлено различий в количестве аномалий строения тела и обонятельного органа между опытными и контрольными партиями молоди, что свидетельствует об отсутствии тератогенного эффекта.

Полученные данные указывают на отсутствие отрицательного влияния препарата Вокс и его безопасность для организма рыб.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА ВОКС В МОДЕЛЬНЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАХ

Основная задача модельных экспериментов состояла в отработке оптимальной дозировки препарата и оценке его эффективности для молоди стерляди в оптимальных и неблагоприятных условиях содержания. Работы проводили в аквариальной ВНИРО в установках с замкнутым циклом водоснабжения вместимостью 300 л. Температуру воды поддерживали на уровне 23-25°C, содержание кислорода в воде составляло 8-9,5 мл/л, рН 7,45. Для экспериментов отбирали сеголетки стерляди одинаковой массы (в среднем 3г) в возрасте 3-х месяцев. Рыб постоянно содержали в воде с добавлением маточного раствора Вокса, при постоянных рабочих концентрациях препарата 1,0, 0,1 и 0,05 мл/л. Опыты проводили в двух вариантах. В первом варианте сеголетки содержались в растворе препарата при оптимальных условиях. Во втором – имитировался ряд экстремальных ситуаций: дефицит кислорода, повышенная температура, токсичные корма.

Модельные испытания на сеголетках стерляди, которых содержали в оптимальных условиях в течение 24 суток, выявили низкую эффективность препарата. Анализ полученных данных не обнаружил каких-либо достоверных различий в скорости весового и линейного роста сеголеток стерляди. Сущест-

венных различий в распределении сеголеток по массе и длине внутри каждой группы также не отмечено. Выживаемость рыб в опытном и контрольном вариантах составила 100%.

При оптимальных условиях обитания организм мало чувствителен к внешним воздействиям. Очевидно, по этой причине благоприятное влияние препарата Вокс оказалось незамеченным.

При неблагоприятных условиях, согласно теории генерализованного адаптационного синдрома, восприимчивость организма к различным воздействиям, в том числе и к благоприятным, значительно возрастает (Селье, 1972).

Следующий цикл исследований был связан с изучением влияния препарата Вокс на сеголеток рыб в неблагоприятных условиях содержания, когда действие позитивного фактора может проявиться в максимальной степени.

3.1. Воздействие дефицита кислорода

Исследования влияния препарата на устойчивость сеголеток стерляди к гипоксии (3 мл O_2 /л) показали, что время появления асфиксии (фиксируемой по повышению частоты дыхания, нарушению координации движений) у сеголеток стерляди в 1 мл/л растворе Вокса увеличилось с 21 мин в контроле до 39 мин в опыте. При меньшей концентрации препарата (0,1 мл/л) эффект менее выражен и асфиксия наступала через 31 минуту (рис.1).

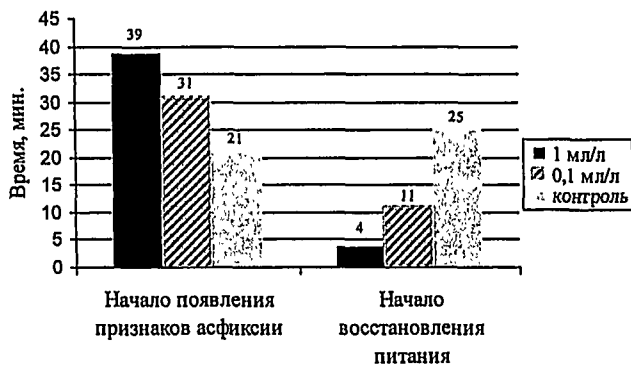


Рис.1. Влияние препарата Вокс на рыбоводные показатели сеголеток стерляди в условиях гипоксии

После нормализации кислородного режима скорость восстановления физиологического состояния (начало питания большинства рыб) сокращалась при концентрации 0,1 мл/л с 25 минут в контроле до 11 минут в опыте (0,1 мл/л), а при концентрации 1 мл/л - до 4 минут.

3.2. Воздействие повышенной температуры

При повышении температуры (свыше 30°C, при одновременном снижении содержания кислорода в воде) в летний период на ОРЗ, расположенных на юге России, отмечается повышение отхода молоди осетровых. Использование препарата Вокс в такой ситуации может его существенно снизить.

Устойчивость сеголеток стерляди к повышенной температуре воды оценивали по выживаемости рыб в течение 7 дней. Сеголеток стерляди содержали при температуре 23-25°C, затем постепенно (в течение двух суток) температуру повышали до 29-30°C.

В опытном варианте при концентрации препарата 1 мл/л выживаемость стерляди составляла 100%, в растворе с меньшей концентрацией - 91% и наименьшая выживаемость была в контроле - 77%. Отмечено также увеличение прироста массы сеголеток опытной партии в 1,5-2,5 раза по сравнению с контрольной (рис.2).



Рис. 2. Влияние препарата Вокс на рыбоводные показатели сеголеток стерляди в условиях повышенной температуры

3.3. Воздействие кормов низкого качества

Корма низкого качества являются одним из факторов стресса на осетровых заводах. Около половины всех используемых комбикормов по токсикологическим показателям не соответствует нормативным требованиям. Особенно эта ситуация усугубляется в весенне-летний период в связи с быстрой порчей кормов из-за высокой температуры воздуха.

Кормление сеголеток стерляди кормами низкого качества в течение 5 суток в контрольном варианте привело к гибели 5% рыб, вздутию кишечника и нарушениям поведенческих реакций: потеря ориентации, «кувыркание», снижение подвижности. К концу эксперимента (10 сутки) в контроле общий отход составил 36%. В то же время в опытной партии при концентрации препарата 1 мл/л выживаемость была 100%, поведенческие нарушения отсутствовали. При более низкой концентрации препарата (0,1 мл/л) отход был только среди самых мелких рыб (9%), а из поведенческих нарушений наблюдалась потеря ориентации.

Результаты модельных экспериментов показали, что наибольший эффект препарата достигается при концентрации 1мл/л и только в неблагоприятных условиях содержания. Отмечено повышение устойчивости сеголеток стерляди к повышенной температуре, гипоксии и кормам низкого качества. Полученные данные указывают на антистрессорный механизм действия Вокса, мобилизующего защитные силы организма рыб.

4. ЭФФЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА ВОКС НА ОСЕТРОВЫХ РЫБОВОДНЫХ ЗАВОДАХ

4.1. Испытания на эмбрионах и предличинках

Эффективность применения препарата Вокс оценивали по выживаемости эмбрионов, развитию сапролегниевых грибов и выходу предличинок (табл.3).

4.1.1. Икра высокого рыбоводного качества.

Опыты проводились на икре бестера высокого рыбоводного качества, о чем свидетельствует высокий процент развивающихся эмбрионов (98%) на стадии 4-х бластомеров. Процесс инкубации икры проходил в экстремальных условиях (высокий уровень мутности воды, резкие суточные колебания температуры от 15 до 23°C, пониженное содержание кислорода в воде).

Наиболее эффективной оказалась двойная обработка икры, первая из которых проходила в период оплодотворения, а вторая - на эмбриональной стадии развития 16. В этом варианте выживаемость предличинок составила 64,5% от количества заложеной икры. Несколько меньше этот показатель оказался в вариантах, когда икру обрабатывали однократно: 52,0% после обработки на стадии 15-16 и 33,5% на стадии оплодотворения. Выживаемость в контроле при этом составила 22%.

Более высокий выход предличинок бестера после двойной обработки исследуемым препаратом скорее всего обусловлен его кумулятивным действием. Учитывая этот результат, данный прием можно рекомендовать в качестве стандартного биотехнологического метода. Действие препарата может быть связано с активацией механизмов резистентности эмбрионов, что прослеживается по снижению количества пораженных сапролегнией икринок с 65% в контроле до 10-22% в опыте (рис. 3).

Аналогичные данные получены для севрюги, осетра и стерляди: во всех опытах прослеживается уменьшение поражения икры сапролегНИЕвыми грибами и 1,5-3- кратное увеличение выхода предличинок (в зависимости от качества икры и условий инкубирования).



Рис. 3. Поражение икры сапролегНИЕвыми грибами и выход предличинок бестера

4.1.2. Икра с пониженным уровнем рыбоводного качества

Двойная обработка препаратом Вокс икры русского осетра с пониженным уровнем рыбоводного качества (на стадии 4-х бластомеров количество нормально развивающихся эмбрионов не превышает 25-31%) позволила в значи-

тельной степени нивелировать ожидаемый отрицательный эффект от использования самок с низким уровнем качества половых продуктов. Обработки препаратом позволили существенно снизить поражение икры сапролегниевыми грибами, улучшить ее физиологическое состояние и увеличить выход предличинок. Так, процент нормального развития икры на стадии 4-х бластомеров увеличился с 31 до 70% (заводская норма составляет 90%). Количество эмбрионов с нормальным развитием возросло в 2,2 раза, выход предличинок - в 3 раза, выживаемость личинок за первую декаду после вылупления - почти в 2 раза.

Таким образом, обработка препаратом Вокс может способствовать увеличению продуктивности производителей, у которых выявляется низкий уровень качества половых продуктов.

4.1.3. Транспортировка развивающейся икры

Экспериментальное моделирование транспортировки икры русского осетра осуществлялось в рыбоводных пакетах объемом 50 л при температуре 13-14°C с добавкой препарата Вокс в концентрациях 0,1 и 0,05 мл/л.

Транспортировка икры осетра на стадии поздней гастролы в растворе Вокса концентрацией 0,1 мл/л в течение 26 часов и последующая доинкубация практически полностью предотвращали поражение сапролегниевыми грибами (табл.2).

При меньшей концентрации препарата (0,05 мл/л) эффект менее выражен, т.е. на икре русского осетра, так же как при обработке икры бестера, проявляется зависимость доза-эффект.

Таблица 2

Рыбоводно-биологические показатели икры русского осетра в условиях транспортировки в растворе препарата (0,1 мл/л)

Показатели	Опыт, %	Контроль, %
Живые эмбрионы в начале эксперимента	88	88
Живые эмбрионы после «перевозки»	86	79
Выход предличинок	75	53
Развитие сапролегнии при перевозке	3	30
Развитие сапролегнии во время доинкубации	5	45

Стимулирующее действие препарата Вокс выражалось не только в подавлении поражения икры сапролегниевыми грибами, но также в повышении жизнестойкости эмбрионов. Так, выживаемость эмбрионов после транспортировки в контроле уменьшилось на 9%, тогда как в опыте на 2%. Соответственно выход предличинок в опыте был на 22 % выше, чем в контроле.

4.2. Испытания на личинках и молоди

Для проверки влияния препарата на выживаемость молоди было испытано два способа воздействия препарата: выдерживание в растворе препарата и добавка его в корм. Эффективность влияния препарата оценивали по рыбоводно-биологическим и физиолого-биохимическим показателям (табл.3).

4.2.1. Выдерживание личинок и молоди в растворе Вокса (1 мл/л)

Рыбоводно-биологические показатели

В опытах с осетром, севрюгой и белугой использовали производителей с низким уровнем качества половых продуктов. С другой стороны, личинки бестера были получены из икры высокого качества, но период инкубации проходил в экстремальных условиях. Выживаемость сеголеток в различных вариантах опыта обычно повышалась: у белуги с 93 до 99%, у осетра с 19 до 33%. На более ранних стадиях онтогенеза различия между опытом и контролем были существенно выше. Так, выживаемость предличинок осетра в опытах с обработкой препаратом была в 2-3 раза больше, чем в контроле. Выживаемость опытных личинок максимально возрастала у севрюги (в 2,6 раза).

Минимальное влияние препарата проявилось у белуги, обработанной на стадии личинки. Возможно, это объясняется тем обстоятельством, что икра белуги не подвергалась обработке препаратом.

На важную роль ранних стадий онтогенеза в повышении жизнестойкости развивающихся организмов указывает более высокая выживаемость сеголеток осетра, севрюги и бестера, икра которых проходила обработку в растворе Вокса. Анализ рыбоводных результатов после зимовки молоди бестера показал, что лучшая выживаемость (80%) была у молоди, которая обрабатывалась Воксом в течение 5 месяцев, при этом в контроле выживаемость составила 44%. У всех видов рыб опытной группы отмечено увеличение массы, по сравнению с контролем, однако, достоверное увеличение выявлено только у севрюги и бестера (соответственно, на 18,6 и 5,2%). Такой результат, скорее всего, объясняется применением полноциклового лечения (икра, личинки и сеголетки) и

продолжительностью воздействия препарата, то есть проявляется зависимость доза-эффект. Различия по массе сеголеток между опытным и контрольным вариантами проявлялись только в конце эксперимента и не были заметны на ранних стадиях онтогенеза. Наиболее заметные различия отмечены на ослабленной, отстающей в росте, стерляди в возрасте 1 месяца. Двукратная обработка препаратом Вокс 2-х групп сеголеток средним весом 180 и 310 мг выразилась в увеличении массы тела, соответственно, в 3,7 и 2,1 раз. Из этого можно сделать вывод, что сеголетки с меньшей массой реагируют на обработку более значительным увеличением массы тела (до нормативных показателей).

Таблица 3

**Влияние препарата Вокс на рыбоводно-биологические показатели
рыб осетровых пород**

Виды рыб, варианты опыта	Выживаемость, %				Средняя масса тела сеголеток в конце опыта, г	Продолжи- тельность опыта, сутки
	Предличи- нки (выклев)	Личинки в первую декаду	Сеголетки в конце опыта			
			от количе- ства икры	от количе- ства пред- личинок		
Осетр *						46
Опыт	58	80	19	33	6,0±0,4	
Контроль	19	45	4	19	5,4±0,3	
Севрюга **						55
Опыт	53	85	21	39	8,67±0,4	
Контроль	25	32	8	30	7,31± 0,3	
Белуга ***						35
Опыт	-	42	-	99	1,5±0,1	
Контроль	-	23	-	93	1,4±,1	
Бестер ****						150
Опыт	65	85	49	75	101,0±2,2	
Контроль	22	45	12	56	96,0±1,3	
Стерлядь *****						9
Опыт	-	-	-	95	17±0,7	
Контроль	-	-	-	70	10±0,4	

обработка икры; ** обработка икры, предличинок, добавка в корм;
*** обработка предличинок, добавка в корм; **** обработка икры, предличи-
нок, личинок и сеголеток; ***** добавка в корм

Распределение сеголеток севрюги (обработка препаратом проводилась на стадии икры и предличинок, сеголетки получали препарат с кормом) по массе свидетельствует о сдвиге модального класса по этому показателю в опытной серии вправо (в сторону больших значений), по сравнению с контролем. Доля

обработанных препаратом рыб с массой более 2,6 г составила 27%, тогда как в контрольной группе только 8%, что является показателем улучшения физиологического состояния опытной молодежи (рис.4).

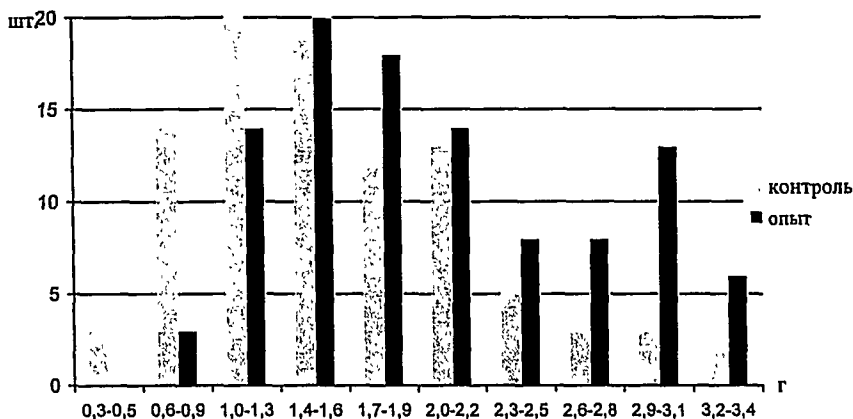


Рис.4. Распределение сеголеток севрюги по массе тела

Физиолого-биохимические эффекты

Гематологические показатели являются наиболее объективным индикатором физиологического состояния рыб. Анализ крови показал, что у сеголеток осетра из опытной партии средние показатели крови были лучше, чем у контрольных (табл.4). Среднее значение скорости оседания эритроцитов (СОЭ) у рыб обработанных препаратом Вокс составило $1,5 \pm 0,33$ мм/ч, в контроле $1,7 \pm 0,36$ мм/ч (при норме 1,5-2 мм/ч). Средние показатели концентрации сывороточного белка крови молодежи опытных и контрольных партий существенно не различались (соответственно $15,34 \pm 1,33$ г/л и $14,6 \pm 0,92$ г/л (при норме 15 г/л). Анализ мазков красной крови у опытных рыб показал увеличение интенсивности эритропоэза на 70,4%.

Таблица 4

Гематологические показатели сеголеток русского осетра

Показатели	Опыт	Контроль
Гемоглобин, г/л	61,6±1,92	53,2±2,41
Гематокрит, %	53±0,05	52±0,1
Эритробласты, млн. клеток /мкл	0,4±0,08	0,30±0,15
Нормобласты:		
Базофильные	2,32±1,01	1,81±0,18
Полихроматофильные	9,84±2,22	5,25±0,77
Ортохромные	87,44±2,96	92,63±0,54
Интенсивность эритропоза	12,56±2,96	7,37±0,54
Лейкоцитарная формула в тыс. клеток /мкл:		
Лимфоциты	67,98±11,0	67,36±8,04
Эозинофилы	13,14±3,76	12,03±2,08
Нейтрофилы:	18,88±1,8	20,61±1,7
В т.ч.: Промиелоциты	0,93±0,38	1,52±0,79
Миелоциты	0,48±0,14	1,53±0,70
Метамиелоциты	0,61±0,14	1,09±0,71
палочкоядерные	13,03±2,27	14,64±7,58
сегментоядерные	3,83±2,67	1,83±0,56
Тромбоциты, шт. /500 эритроцитов	4±1,0	7±1,0

Липидный обмен также хорошо характеризует физиологическое состояние рыб, особенно соотношение $\omega 3/\omega 6$ жирных кислот, как составляющих липидного обмена, протекающего в метаболически активных тканях организма. Большая величина этого соотношения у опытных сеголеток осетра свидетельствует о лучшем физиологическом статусе. В опытном варианте отмечено увеличение баланса $\omega 3/\omega 6$ кислот в общих липидах почти в 1,5 раза и фосфолипидов – в 1,3 раза.

Гистологический анализ печени годовиков осетра выявил картины позитивного влияния препарата: на срезах печени у группы рыб после обработки, в отличие от контроля, отсутствовали следы деструктивных нарушений ткани.

Благоприятное влияние препарата сказалось также на физиологическом статусе сеголеток осетра, что проявилось в накоплении резервов жира в гепатоцитах до 20,3%. Этот показатель сближает их с сеголетками, выросшими в естественных водоемах, и свидетельствует о более высокой подготовленности ко времени выпуска в реку, поскольку обеспечивает более высокую выживаемость в условиях возможного недостаточного питания.

Еще одним индикатором физиологической полноценности является реакция пигментных клеток меланофоров. Адаптивные реакции меланофоров, которые были исследованы у опытных и контрольных личинок осетра с использо-

ванием белого и темного фона и при изменениях освещенности, свидетельствуют о хорошем физиологическом состоянии личинок опытной партии и несколько худшем у личинок контрольной партии.

Иммунорезистентность. В первые сутки после выклева бактерицидность тканей предличинок севриги (обработанной на стадии икры препаратом «Вокс») была очень низкой и тормозила развитие микроорганизмов на 10-12%. Разницы между опытными и контрольными партиями не выявлено. Повторная обработка препаратом предличинок (в возрасте 5 суток) оказала несколько больший эффект, так в контрольной группе бактерицидность тканей была в пределах 15-17%, в опытной – 16-20 %.

Не выявлено достоверных отличий между бактерицидностью тканей у опытных и контрольных групп молоди севриги перед выпуском, рост тест-микроорганизмов подавлялся на 45-50%. Тем не менее, коэффициент варибельности показателя бактерицидности в опытной группе был несколько меньшим (12,2%, по сравнению с 15,1% в контроле), что можно расценивать как дополнительный показатель более стабильного иммунологического состояния обработанных рыб. Кроме того, возможно, проявляется отдаленная реакция на препарат за счет увеличения его суммарной дозировки.

4.2.2. Добавка препарата Вокс в кормовые рационы

Использование Вокса в качестве кормовой добавки имеет преимущество по сравнению с обработкой рыб его раствором. Такая форма поступления препарата в организм рыб существенно облегчает его применение в производственных условиях; значительно снижаются потери препарата, что делает его использование экономически выгодным. Кроме того, длительное нахождение Вокса в желудочно-кишечном тракте рыб усиливает его влияние за счет более высокой действующей дозировки по сравнению с растворенной формой препарата. Использование препарата в виде добавки в корм обогащает его микро- и макроэлементами и, возможно, улучшает его вкусовые качества, что приводит к повышению пищевой активности.

Рыбоводно-биологические показатели

Быстрая позитивная ответная реакция рыб на добавку препарата в корм отчетливо проявляется в опыте на сеголетках стерляди с признаками алиментарного токсикоза (вздутие кишечника, почки некротические с разжиженной

структурой, бактериальная контаминация внутренних органов превышала норму в 6-120 раз). Введение в корм препарата Вокс (10 мл/кг) оказало выраженное положительное влияние. Через трое суток в опытной партии прекратился отход, нормализовалось состояние кишечника и внутренних органов (в том числе отмечено отсутствие повышенной бактериальной контаминации), особенно положительный эффект сказался на состоянии почек и печени. На 9 сутки в опыте выживаемость была на 25% больше, чем в контроле, при этом средняя масса тела опытных сеголеток превышала контрольную (соответственно 17 и 10г).

Годовиков белуги, которых ранее Воксом не обрабатывали, на протяжении 30 суток кормили комбикормом с добавкой Вокса в количестве 20 мл/кг корма. За период эксперимента прирост в опытной партии был на 21 % больше, по сравнению с контрольной. Отход рыб в этом периоде не наблюдался.

Добавка препарата в корм (10 мл/кг) сеголеткам севиюги (выращенным из обработанных препаратом икры, предличинки и личинки), привела к повышению выживаемости сеголеток за 13 суток на 10%. Ко времени выпуска выживаемость сеголеток в опыте также превысила соответствующий показатель в контроле (на 9%), при этом средняя масса сеголеток из опыта была на 12% больше, чем в контрольной партии (рис. 5).

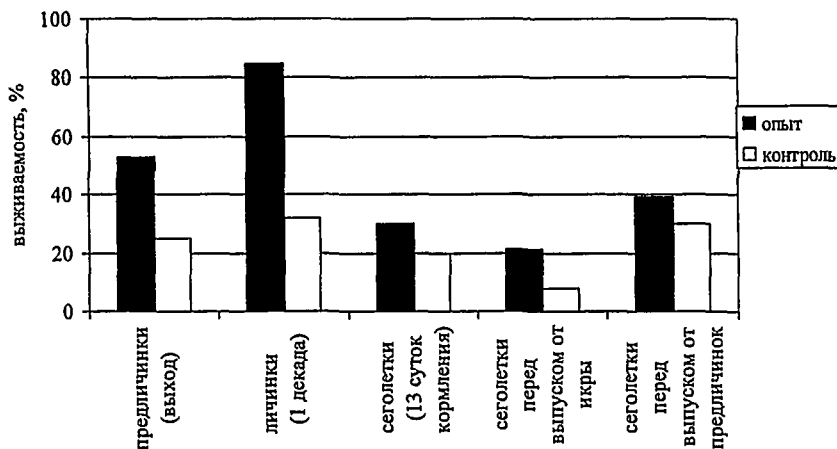


Рис. 5. Выживаемость севиюги выращенной на кормах с добавкой Вокса

Физиолого-биохимические показатели

Уровень гемоглобина и гематокрита был ниже в крови годовиков белуги из контрольной партии (76 г/л и 39% соответственно), чем у рыб получавших с кормом препарат Вокс (83 г/л, и 46% соответственно). Концентрация общего сывороточного белка в опыте была выше, чем в контроле, соответственно 37,4 и 36,0 г/л.

В результате аварийного прекращения подачи кислорода (в течение 2 часов) в бассейны в конце опыта, уровень кислорода снизился до 4 мг/л. В результате физиологические показатели в контрольной партии белуги снижались более значительно, чем в опыте. Так, содержание гемоглобина в опытной партии снизилось с 83,0 до 75 г/л, тогда как в контрольной – до 66 г/л. Концентрация общего сывороточного белка в опыте снизилась с 37,4 г/л до 9,5 г/л, в контроле – до 6,0 г/л.

Таким образом, применение препарата Вокс при кормлении годовиков белуги показало его определенную эффективность в плане повышения резистентности организма рыб, особенно в стрессовых ситуациях, что иллюстрируется улучшением физиологических показателей в опытном варианте. Опытные сеголетки имели лучший физиологический статус и были хорошо подготовлены к выпуску в реку и скату в условиях возможного недостаточного питания.

Внесение препарата (10 мл/ кг) в корма приводит к такому же эффекту, как обработка сеголеток раствором (1 мл/л) этого же препарата. С точки зрения экономичности, рационально ограничиться использованием препарата в виде раствора для обработки развивающейся икры и для сеголеток в качестве добавки в корм.

4.3. Оценка эффективности применения препарата методом полифункциональных нагрузок по В.И. Лукьяненко (1989)

Исследование воздействия препарата проводилось на сеголетках северяги с пониженным исходным качеством (средняя масса 1,86 г, возраст 50 суток), получавших препарат Вокс с начала кормления. Оценивали содержание в крови гемоглобина, общего сывороточного белка, исследовали мазки крови рыб. Гематологический анализ включал также исследование морфологии крови. Кроме того, для дополнительной характеристики белкового обмена и состояния выделительной системы определяли концентрацию мочевины в сыворотке.

Устойчивость сеголеток к повышенной солености (12 ‰) изучали в течение 4 суток. За первые 12 часов эксперимента в контрольной группе произошла

гибель более 50% сеголеток севрюги, тогда как в растворе Вокса все сеголетки выжили. К концу вторых суток погибли все сеголетки контрольного варианта, 100%-ная гибель опытных сеголеток была зафиксирована только на четвертые сутки (рис.6).

Отсутствие отхода опытных сеголеток севрюги свидетельствует о том, что они приобрели более высокую жизнестойкость в результате добавления в корм препарата Вокс, по сравнению с контрольной группой, которая эту кормовую добавку не получала.

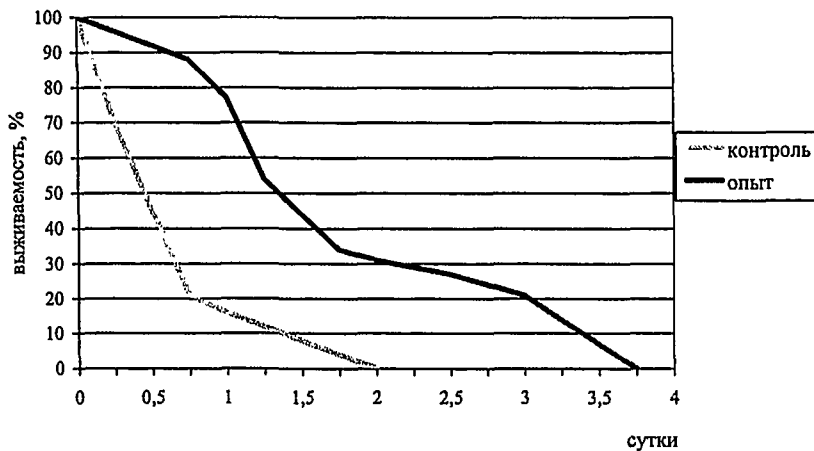


Рис. 6. Динамика выживаемости сеголеток севрюги при 12% солености

Выдерживание сеголеток севрюги при температуре 32°C без добавки препарата уже через час приводило к гибели рыбы (отход 3%), через трое суток погибла вся рыба. Опытные сеголетки оказались устойчивее контрольных, их отход начался только через трое суток, а на четвертые-пятые сутки он составил 36,7% (рис.7).

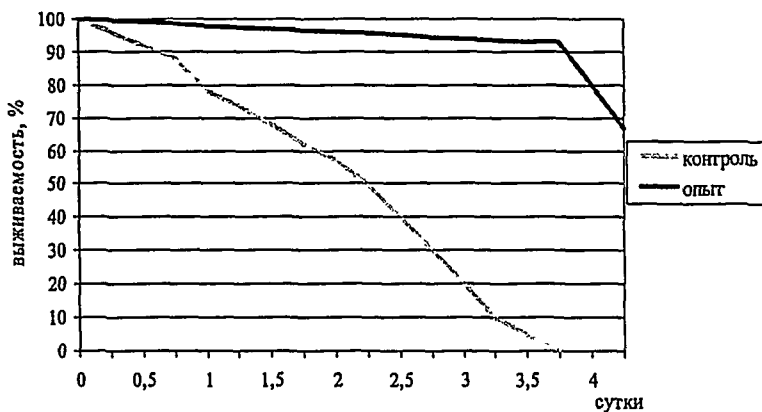


Рис.7. Динамика выживаемости сеголеток севрюги при температуре воды 32°C

Более развернутая картина патологических изменений из-за низкого исходного качества сеголеток севрюги наблюдалась в опыте с голоданием.

Через сутки после начала опыта резко повысилась интенсивность отхода в контроле. Через двое суток содержание сывороточной мочевины у контрольных сеголеток составило 19 ммоль/л, у опытной значительно ниже - 13 ммоль/л. Через 7 суток у погибших контрольных сеголеток концентрация мочевины в крови достигала 27 ммоль/л, у выживших в опыте рыб - 8,5 ммоль/л. Концентрация гемоглобина в конце эксперимента составляла в опыте 48 г/л, в контроле - 33 г/л. Однако, патологические изменения в опытном варианте, в основном, касались размеров и формы клеток. В контроле же отмечалась инвагинация ядер эритроцитов и кариорексис. Такие патологии, вкупе с резким повышением концентрации мочевины в сыворотке крови контрольных сеголеток, обычно являются несовместимыми с жизнью. Отход сеголеток севрюги за весь период эксперимента (7 суток) составил 55,6% в опыте и 100% в контроле.

Благотворное действие препарата, очевидно, обусловлено активизацией процессов азотистого обмена, нарушение которого, вследствие длительного истощения сопровождается выраженной уреимией и интоксикацией с последующим летальным исходом.

ВЫВОДЫ

1. Препарат Вокс не оказывает на живые организмы токсических, генотоксических и тератогенных влияний.

2. Наиболее эффективно действие препарата Вокс проявляется при неблагоприятных условиях содержания (недостаточная концентрация кислорода, повышенная температура воды, некачественные корма и транспортировка).

3. Оптимальные концентрации препарата для обработки икры, личинок и молоди в растворе 1 мл/л и 10 мл/кг в качестве добавки в корма.

4. Наиболее эффективным и экономичным методом применения препарата следует считать обработку икры и добавку в корм сеголеткам.

5. Использование препарата приводит к следующим позитивным рыбо-водно-биологическим и физиолого-биохимическим эффектам:

-значительно улучшается эффективность оплодотворения икры, снижается поражение ее сапролегниевыми грибами и повышается выход предличинок; увеличивается жизнестойкость предличинок, личинок и сеголеток в условиях физиологических нагрузок (высокая температура воды, низкое содержание кислорода, голодание); нормализуются размерно-весовые, патолого-анатомические и физиолого-биохимические показатели личинок, сеголеток и годовиков и, в первую очередь, у ослабленных и отстающих в росте;

-улучшается физиологическое состояние сеголеток в опытах, что подтверждается повышением концентрации в крови гемоглобина, сывороточного белка и эозинофилов, а также отсутствием деструктивных нарушений ткани печени;

- нормализуется жировой обмен: о чем свидетельствует близкие значения накопление жира в гепатоцитах сеголеток опытной партии и из естественных водоемов,

а также увеличение баланса $\omega 3/\omega 6$ кислот в общих липидах тканей тела рыб опытной партии в 1,5 раза и в фосфолипидах – в 1,3 раза.

6. Механизм действия препарата связан с наличием в его составе микро- и макроэлементов, обеспечивающих поддержание ряда клеточных функций, в том числе тех, которые повышают резистентность организма рыб. Эффект повышения жизнестойкости икры и рыб подчиняется закономерности доза-эффект.

7. Расчетный экономический эффект (для 4-х ОРЗ Севкаспрыбвода) составил около 6 млн. рублей. Повышение жизнестойкости сеголеток увеличива-

ет их выживаемость как минимум на 10%, что обеспечивает дополнительную численность в количестве 3,88 млн. штук.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Результаты исследований, изложенные в диссертационной работе, позволяют рекомендовать препарат Вокс использовать в качестве средства повышения эффективности искусственного воспроизводства осетровых видов рыб:

- для обработки раствором препарата (1 мл/л) икры во время оплодотворения и на эмбриональной стадии 16;

- для обработки раствором препарата (1 мл/л) предличинок в день вылупления, на третьи сутки после вылупления, а также перед переходом на активное питание;

- в качестве добавки препарата в кормовой рацион сеголеток из расчета 10 мл/кг кормов.

ОСНОВНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Новый биологически активный препарат // Ж. Рыбоводство и рыболовство. М.- 2001, с.35-36 (Соавторы Белоусов А.Н., Дергалева Ж.Т., Цвылев О.П.).

2. Новый препарат для повышения эффективности рыбоводства // Тез. докл. научно-практической конференции «Проблемы и перспективы развития аквакультуры в России». Адлер, 24-27 сентября 2001.- с. 102-103 (Соавтор Цвылев О.П.).

3. Методы повышения жизнестойкости сеголеток ценных объектов марикультуры в условиях заводского выращивания // Тез. докл. Международного симпозиума «Холодноводная аквакультура: старт в XXI век». 8-13 сентября 2003 г., Санкт-Петербург, 2003. -с. 97 (Соавторы Дергалева Ж.Т., Цвылев О.П.).

4. Новые методы повышения жизнестойкости ценных видов рыб при искусственном воспроизводстве. // Тез. докл. Научно-практической конференции «Водные биоресурсы России: решение проблем их изучения и рационального использования». М., ВНИРО, 2003. - с.98-99 (Соавторы Дергалева Ж.Т., Цвылев О.П.).

5. The influence of mineral composition of water upon the efficiency of fish farming. // "World Aquaculture 2003", Salvador, Brazil, May19-23, 2003. Book of Abstracts, vol. 1, P. 233 (Co-authors J. Dergaleva, O. Tsvilev).

6. Эффективность применения полиминерального препарата естественного происхождения при выращивании осетровых. III Международная научно-

практическая конференция, Сб. «Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития», Астрахань, 2004.- с. 206-210 (Соавтор Абросимов С.С.).

7. Результаты обработки природным минеральным препаратом икры и сеголеток осетровых на ОРЗ «Севкасприбвода». III Международная научно-практическая конференция, Сб. «Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития». Астрахань, 2004.- с. 132-133 (Соавторы Цвылев О.П. Михайлова М.В.).

8. Влияние минерального раствора в различные периоды развития русско-го осетра. III Международная научно-практическая конференция «Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития». Астрахань, 2004.- с. 67-68 (Соавторы Переверзева Е.В., Нижельская М.А., Пономарев Д.В.).

9. «Методика применения в рыбоводстве полиминерального препарата Вокс Часть 1. Осетроводство. М.: ВНИРО, 2006.- 41 с. (Соавтор Цвылев О.П.).

10. Патент на изобретение № 2005112845/12 (014824), от 28.04.2005 г. «Способ воспроизводства и выращивания осетровых рыб» (Соавтор Цвылев О.П.).

11. Патент на изобретение № 2005112844/12 (014823) от 28.04.2005 г. «Способ повышения жизнестойкости икры, личинок и сеголеток рыб» (Соавтор Цвылев О.П., Дергалева Ж.Т.).

12. Патент на изобретение № 2005112843/12 (014822) от 28.04.05 г. «Способ биологической реабилитации городских водоемов» (Соавтор Цвылев О.П.).

Автор приносит благодарность сотрудникам ВНИРО и коллегам из других организаций за помощь, оказанную при выполнении работы: Микодиной Е.В., Цвылеву О.П., Дергалевой Ж.Т., Смирнову Б.П., Сафронову А.В.(ВНИРО), Абросимовой Н.А (АзНИИРХ), Михайловой М.В. (КрасНИРХ), а также сотрудникам осетровых рыбоводных заводов за содействие в организации и проведении исследовательских работ



Подп. в печать 14.09.06 Объем 1,5 п.л. Тираж 100 экз. Заказ 75

ВНИРО. 107140, Москва, В. Красносельская, 17

2006A
18729

R18729