

УДК 639.3

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВИТАЛАЙЗЕРА «ПРАВАД» ДЛЯ
ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВОСПРОИЗВОДСТВА В
УСЛОВИЯХ ИНДУСТРИАЛЬНОЙ АКВАКУЛЬТУРЫ**

Романова Е.М., доктор биологических наук, профессор

Романов В.В., кандидат технических наук, доцент

Любомирова В.Н., кандидат биологических наук, доцент

Шленкина Т.М., кандидат биологических наук, доцент

Шадыева Л.А., кандидат биологических наук, доцент

Свешникова Е.В. кандидат биологических наук, доцент

Фазилов Э.Б.У., аспирант

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: аквакультура, качество икры, эмбриональное развитие, патология, критические стадии, выход личинок.

Работа посвящена решению проблемы повышения качества репродуктивного процесса, реализуемого в условиях индустриальной аквакультуры. Было показано, что функциональный комплекс «Правад» со свойствами виталайзера способен оказать комплексное воздействие на все стадии репродуктивного процесса. Результаты исследований показали, что использование виталайзера «Правад» повысило оплодотворяемость икры до 90%, снизило эмбриональную гибель на этапе гастрюляции на 35%, на стадии органогенеза на 19%, на стадии выклева предличинки на 15%. Выход предличинок на фоне виталайзера достигал 70%, а без него, в контрольной группе не превышал уровня 40%.

Введение. Проблема повышения качества икры в условиях искусственного разведения рыб является актуальной и имеет важное значения для развития индустриальной аквакультуры.

По данным литературных источников, при осуществлении воспроизводства в условиях рыбоводных заводов значительная доля икры является некачественной по разным причинам. У видов рыб с многопорционным нерестом она часто бывает незрелой или же изначально может иметь патологию [1].

Наиболее распространенные дефекты икры - маленькие размеры ооцитов или их деформация. Деформация – это

патологическое состояние оболочек икры. Мелкий размер икринок или уменьшение их дефинитивных размеров, обусловлены снижением количества белка в конкретной яйцеклетке.

На практике из такой икры получается мелкое, зачастую неполноценное потомство, для которого характерен целый спектр отклонений развития [2]. Среди таких отклонений чаще других встречается патология позвоночника, органов обоняния, зрения, пищеварительного тракта, жаберных крышек и т. д.

Помимо вышеизложенного сам процесс инкубации уже оплодотворенной икры является чрезвычайно уязвимым звеном в воспроизводстве рыб. Икра рыб является высокопитательным субстратом, который стремительно заселяется самой разной микробиотой [3-6]. При продолжительной инкубации оплодотворенной икры высок риск заражения эмбрионов условно патогенной и патогенной микробиотой, что не только негативно сказывается на качестве потомства, но резко снижает процент выклева предличинок [7 - 8].

Во всем мире в условиях искусственного разведения на первое место по частоте проявления заболеваний икры выдвигается сапролегниоз. Сапролегниоз икры – проблема мирового масштаба. Достаточно отметить, что грибок молниеносно развивается на оплодотворенной икре, независимо от вида рыб и приводит к гибели эмбрионов, сводя на нет весь процесс репродукции [9-11].

На практике рыбоводы часто сталкиваются с ситуацией, когда перезревшая икра уже внутриутробно была поражена сапролегнией, что можно диагностировать *in situ* с использованием световой микроскопии [12].

Поэтому при искусственном воспроизводстве использование профилактических мероприятий для предотвращения сапролегниоза икры является обязательным [13]. С этой целью мы в своих исследованиях использовали виталайзер «Правда» для профилактической проэмбриональной и эмбриональной обработки икры. В состав виталайзера «Правда» входит пробиотик Акваспорин, 5 % генома которого содержат гены, продуцирующие полиеновые антибиотики, эффективные в борьбе с патогенами.

Помимо пробиотика «Акваспорина» в состав виталайзера вошли адаптоген («Трекрезан»), комплекс витаминов и аминокислот («Чиктоник»).

Рабочая гипотеза состояла в том, что разработанный нами состав виталайзера способен снизить уровень аномалий развития и эмбриональной гибели, повысить количество репродуцированного потомства, его выживаемость и сохранность.

Цель исследований заключалась в оценке влияния виталайзера «Правад» на результативность процесса воспроизводства рыб.

Материалы и методы.

Исследования выполнялись на экспериментальной базе ФВМиБ УлГАУ. Оценка качества ооцитов рыб проводили визуально. С этой целью в чашки Петри с раствором хлористого натрия (0,6%) монослоем распределяли ооциты. Используя окуляр-микрометр, производили замеры половых клеток и исследовали их морфологию. В зоне внимания было расположение ядра, желтка, вакуоли, жировые капли, состояние мембраны ооцита. При проведении исследований икры применяли увеличение $\times 20$.

При оплодотворении икру предварительно обесклеивали 0,05% раствором танина. Таниновое обесклеивание снижает уровень поражения икры сапролегниозом. Затем икру отмывали от танина и оплодотворяли, капая в нее сперму 2-3 самцов, после чего осуществляли бережное перемешивание. Оплодотворения икру промывали водным раствором комплекса «Правад», включавшего 1 г/л пробиотика «Акваспорин», 1 мл/л препарата Чиктоник, 40 мг/л трекрезана. Контрольную порцию оплодотворенной икры отмывали водой. Продолжительность промывки составляла 20 минут.

Фертильность икры оценивали с использованием светового микроскопа. Для этого отбирали оплодотворенные икринки на стадии 4-8, а затем 16 бластомеров. Эмбрионы фиксировали смесью ледяной уксусной кислоты и спирта в отношении 1:3. В качестве оценочных критериев использовали такие показатели как: оплодотворяемость ооцитов, доля патологических эмбрионов, выход предличинок [14].

Результаты исследований. При проведении исследований использовали растворы с варьирующей концентрацией трекрезана от 1 мг/л до 100 мг/л. В установленном диапазоне концентраций трекрезан токсического эффекта не проявлял. Полученные результаты свидетельствуют, что в качестве рабочей концентрации трекрезана при оплодотворении и дальнейших манипуляциях с икрой достаточно его использовать в рекомендуемой дозе 40 мг/л.

В качестве поставщика витаминов и аминокислот в составе виталайзера «Правад» использовался препарат Чиктоник. Его дозировка составляла 1,0 мл/л. При этой концентрации Чиктоника в виталайзере оплодотворяемость достигала 90%, а сохранность эмбрионов и их выход приближались к 70%. При дальнейшем увеличении концентрации Чиктоника до 2 мл/л явных различий по проценту оплодотворяемости не было выявлено.

Этап инкубации оплодотворенной икры – наиболее ответственная процедура в репродуктивном процессе. В развитии эмбриона выделяют ряд критических периодов, которые наиболее чувствительны к повреждающему воздействию неблагоприятных факторов или несоблюдению технологии культивирования. На 12-13 и 18-19 стадиях, которые в развитии эмбриона сопряжены с гастрულიей, чувствительность к повреждающим воздействиям у развивающегося организма значительно возрастает. Высокая чувствительность к повреждающим воздействиям характерна также для эмбрионов в момент формирования сердца. Не менее ответственным моментом является выклев предличинки [14-16].

При визуальном контроле эмбриогенеза в искусственных условиях стадия «глазка», проявлявшаяся пигментацией глаз эмбриона, служила маркером завершения критических периодов развития.

В результате проведенных исследований было показано, что на фоне виталайзера на стадии гастрულიи эмбриональная гибель снижалась на 35%, на стадии органогенеза – 19% раз, на стадии образования зачатка сердца на 17%, на стадии вылупления на 15% по сравнению с контролем (табл. 1).

Таблица 1.

Снижение эмбриональной гибели на фоне виталайзера по отношению к контролю, (%)

На стадии гастрულიи	На стадии органогенеза	На стадии образования зачатка сердца	На стадии вылупления
35%	19%	17%	15%

Виталайзер оказал позитивное влияние на репродуктивный процесс. Есть все основания полагать, что его многофункциональность играет решающую роль в обеспечении выживаемости эмбрионов.

В случае подозрения на внутриутробное заражение сапролегнией икру обрабатывали метиленовым синим из расчета 2 мг/л воды. Дозировка трекрезана при оплодотворении такой икры составляла 40-60 мг/л, доза пробиотика - 2г/л, доза Чиктоника 2мл/л воды. При культивировании эмбрионов использовали концентрацию трекрезана 40 мг/л, пробиотика 2 г/л, Чиктоника 1 мл/л.

Результаты наших исследований также показали, что использование виталайзера позволило повысить выход личинок до 68%, по сравнению с контролем, где он не превышал 38 % (рис. 1), а также снизить долю форм с аномалиями развития. В контроле, в котором не использовался виталайзер и другие профилактические средства, доля выживших особей была на 24 % меньше.

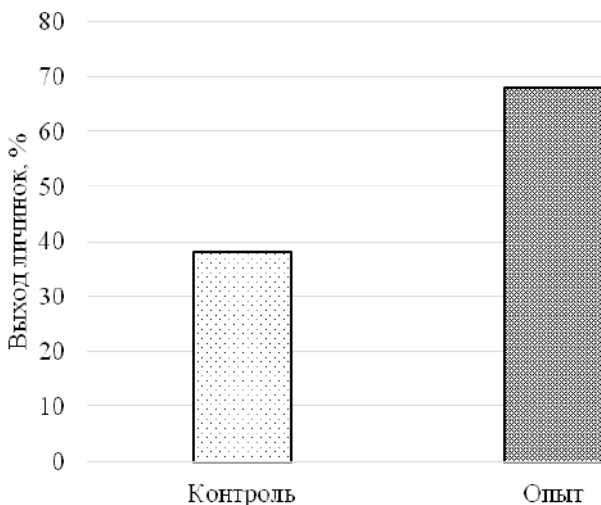


Рис. 1. Выход личинок в контрольной группе и в опытной группе (с использованием виталайзера)

Обсуждение полученных результатов.

При сапролегниозе икры, как показали результаты наших исследований, отмечалась массовая гибель, а у выживших уровень патологии возрастал. Патология выражалась в основном в недоразвитии передних отделов головы и аномалиях позвоночника

полученные нами результаты хорошо согласуются с данными других исследователей [7,8,12,14].

Пробиотик «Акваспорин», в основе конструкции которого две бактерии: *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*, не относятся к числу микроорганизмов, населяющих кишечник рыб, но их присутствие, в силу уникальных свойств генома продуцировать полиеновые антибиотики, оптимизирует структуру микробиоценоза путем прямого антагонизма с патогенной и условно патогенной микробиотой, смещая равновесие в сторону нормобиоты.

В наших исследованиях мы применяли Акваспорин для обработки икры в процессе экстракорпорального оплодотворения и при культивировании эмбрионов из расчета 1 мг/л. Акваспорин новый препарат, который ранее в рыбоводстве не использовался.

По результатам наших исследований выживаемость предличинок и личинок, полученных от самок и самцов, получавших «Правда» в процессе выращивания существенно выше, чем в контрольной группе.

Заключение. Обобщая результаты наших исследований следует отметить, что виталайзер «Правда, в составе которого: пробиотик «Акваспорин», адаптоген «Трекрезан» и витаминно-аминокислотный комплекс «Чиктоник» оказал выраженный эффект на всех стадиях репродуктивного процесса. В частности, использование виталайзера повысило оплодотворяемость икры до 90%, снизило эмбриональную гибель на стадиях гастрюляции на 35%, на стадии органогенеза на 19%, на стадии закладки сердца на 15%, на стадии выклева предличинки на 15%. Выход предличинок на фоне виталайзера составил практически 70%, а без него, в контрольной группе 38-40 %.

Библиографический список

1. Микулина Ю.А. Исследование аномальных ооцитов у кеты и горбуши в связи с их искусственным воспроизводством. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Ю.А. Микулина Ю.А./ФГБОУ ВПО "Московский

государственный университет технологий и управления им. Г.К. Разумовского". Москва, 2007

2. Сковрцова Е.Г. Выживаемость икры и личинок чистых видов и гибридов осетровых рыб /Е.Г.Сковрцова, Т.Д.Репьева// Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2019. - № 6 (80). - С. 304-307

3. Ливадина Л.В. Особенности развития икры атлантического лосося и личинок горбуши на Умбском рыбоводном заводе /Ливадина Л.В. // В сборнике: Современные эколого-биологические и химические исследования, техника и технология производств. Материалы международной научно-практической конференции. Мурманский государственный технический университет. 2016. - С. 119-125.

4. Ефанов В.Н. Основные причины неудачных перевозок икры кеты на лососевые рыбоводные заводы Сахалинской области /В.Н.Ефанов, М.А. Лаврик// В сборнике: Лучшие практики рыбохозяйственного образования. Сборник материалов всероссийской научно-практической школы-конференции. Ответственный редактор В.Н. Ефанов. 2016. – С.60-65.

5. Микодина Е.В. Аномальная икра у тихоокеанских лососей на рыбоводных заводах Сахалина: биотехнические, технологические и нормативные проблемы /Е.В. Микодина, А.Е. Микулин, Ю.А. Микулина// Рыбное хозяйство. 2007. - № 1. - С. 61-63.

6. Михалева А.А. Размягчение оболочки икры лососевых /Михалева А.А.// В сборнике: Проблемы диагностики болезней рыб. Сборник статей. Екатеринбург, 2023. - С. 248-251.

7. Гринберг Е.В. Об основных ошибках при взятии зрелых половых продуктов у производителей тихоокеанских лососей, осеменении икры и подготовки ее к инкубации в условиях лососевых рыбоводных заводов /Е.В. Гринберг// В сборнике: Состояние и пути развития аквакультуры в Российской Федерации в свете импортозамещения и обеспечения продовольственной безопасности страны. Материалы III национальной научно-практической конференции. Под редакцией А.А. Васильева. 2018. - С. 60-65.

8. Гринберг Е.В. Типичные ошибки и нарушения биотехники искусственного разведения тихоокеанских лососей. Часть 2. /Е.В. Гринберг// Рыбоводство и рыбное хозяйство. 2020. - № 8(175). - С. 13-23.

9. Васильева Л.М. Сравнительная оценка репродуктивной функции domesticiрованных самок русского осетра / Васильева Л.М., Кашеева А.Н., Астафьева С.С.// Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания. 2014. - № 4 (4). - С. 28-33.

10. Обухова О.В. Особенности сапролегниоза икры судака (*Sander lucioperca*) в дельте р. Волги /Обухова О.В., Ларцева Л.В., Васильева Л.М.// Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. 2017. - № 2. - С. 70-79.

11. Мышкин А.В. Биологический способ борьбы с сапролегниозом икры рыб при инкубации необесклеенной икры / А.В. Мышкин, Е.А. Мышкина, С.Б. Мустаев, С.С. Мустаев, И.А. Монахов// Патент на изобретение RU 2802585 C1, 30.08.2023. Заявка № 2022110877 от 21.04.2022.

12. Асташева И.А. Влияние Ph воды на развитие сапролегниоза инкубируемой икры осетра сибирского. /И.А. Асташева, А.В. Конев// В сборнике: Ветеринарная медицина: связь поколений как фактор устойчивого развития России. Материалы Международной конференции. Омск, 2023. - С. 17-20.

13. Микулич Е.Л. Основные болезни осетровых рыб в аквакультуре республики Беларусь. /Е.Л. Микулич, В.И. Бородулина// Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. 2022. - Т. 58. - № 4. - С. 71-78.

14. Микулич Е.Л. Болезни ценных видов рыб в аквакультуре республики Беларусь./Микулич Е.Л. Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. 2023. - № 26-2. - С. 142-153.

15. Эмбриональное развитие чира *Coregonus nasus* (Coregonidae) р. Анадырь в условиях рыбоводного завода/ Юсупов

Р.Р., Болотин И.А.// Вестник Северо-Восточного научного центра ДВО РАН. 2009. - № 1. - С. 57-61

16. Кравченко Ю.В. Искусственное воспроизводство рыб /Ю.В. Кравченко, Д.А. Ранделин, А.И. Новокщенова, В.Н. Агапова//Методические указания по выполнению лабораторных работ для обучающихся по направлению подготовки 35.03.08. Водные биоресурсы и аквакультура / Том ЧАСТЬ 2. Волгоград, 2022.

17. Кравченко Ю.В. Искусственное воспроизводство рыб /Ю.В. Кравченко Ю.В., Д.А. Ранделин, А.И. Новокщенова, В.Н. Агапова//

Методические указания по выполнению лабораторных работ для обучающихся по направлению подготовки 35.03.08. Водные биоресурсы и аквакультура / Том ЧАСТЬ 1. Волгоград, 2022.

THE USE OF THE PRAVAD VITALIZER TO INCREASE THE EFFICIENCY OF REPRODUCTION IN INDUSTRIAL AQUACULTURE

**Romanova E.M., Romanov V.V., Lyubomirova V.N., Shlenkina T.M.,
Shadyeva, Sveshnikova E.V., Fazilov E.B.U.**

Keywords: *aquaculture, caviar quality, embryonic development, pathology, critical stages, larval exit.*

The work is devoted to solving the problem of improving the quality of the reproductive process implemented in the conditions of industrial aquaculture. It has been shown that the functional complex "Pravad" with the properties of a vitalizer is able to have a complex effect on all stages of the reproductive process. The research results showed that the use of the Pravad vitalizer increased the fertilization of eggs by up to 90%, reduced embryonic death at the stage of gastrulation by 35%, at the stage of organogenesis by 19%, at the stage of pre-larva hatching by 15%. The yield of predlichins on the background of the vitalizer reached 70%, and without it, in the control group it did not exceed the level of 40%