

УДК 639.3.091

Э. К. СКУРАТ¹, С. М. ДЕГТЯРИК¹, Е. И. ГРЕБНЕВА¹, Н. А. БЕНЕЦКАЯ¹,
Т. А. ГОВОР¹, А. С. КОВТИК¹, А. Н. ЛЕМЕЗА¹, Р. Л. АСАДЧАЯ²

ОПЫТ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ БОРЬБЫ ПРОТИВ ЭКТОПАРАЗИТОВ РЫБ

¹ Институт рыбного хозяйства

² Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского

(Поступила в редакцию 23.02.2011)

Для рыбоводной отрасли республики в настоящее время характерно интенсивное ведение хозяйства, которое, помимо прочих условий, предполагает высокие плотности посадки рыбы в пруды и акклиматизацию новых видов. Подавляющее большинство прудовых хозяйств производит водозабор из поверхностных водоисточников, в которых обитают дикие и сорные рыбы – носители возбудителей заболеваний различной природы. В данных условиях особенно актуально встает вопрос защиты рыб от комплекса болезней, вызываемых эктопаразитами – инфузориями и моногенетическими сосальщиками.

В настоящее время из всего многообразия встречающихся в водоемах республики эктопаразитов (пиявки, ракообразные, инфузории, моногенеи) наибольшую опасность для прудовых рыб представляют ресничные инфузии р. *Trichodina*, р. *Ichthyophthirius*, р. *Chilodonella*, относящиеся к типу *Ciliophora*, и моногенетические сосальщики р. *Dactylogyrus*, р. *Gyrodactylus* – представители класса *Monogenea*. При проникновении в прудовые хозяйства указанные паразиты могут являться причиной заболеваний, наносящих значительный экономический ущерб рыбоводной отрасли. Эктопаразиты традиционно считаются возбудителями, опасными только для младших возрастных групп рыб, в то время как старшевозрастные рыбы являются их носителями [1, 2]. Однако имеются примеры, когда инфузии, находя в садках либо прудах хозяйства благоприятные условия для своего развития, вызывали массовую гибель товарной рыбы и ремонтно-маточного стада (РМС) [3].

Отличительной особенностью перечисленных выше эктопаразитов является их чрезвычайная распространенность в географическом аспекте и широчайший круг рыб-хозяев [4]. В подавляющем большинстве естественных водоемов, в том числе водоисточниках прудовых хозяйств, они присутствуют у рыб, как правило, в виде носительства. В рыбоводные пруды эктопаразиты могут проникать вместе с рыбой из естественных водоемов с водой при заливке прудов, а также с рыбой, завозимой из других прудовых хозяйств, не прошедшей должную обработку. Они способны проникать в пруды даже при наличии заградительных решеток и фильтров из-за чрезвычайно малых размеров как самих паразитов – от нескольких десятков мкм (хилодонеллы и триходини) до 1,5 мм (гиродактилюсы и дактилогирусы), так и их яиц, цист, бродяжек.

Защитой для прудовых рыб от эктопаразитов может служить регулярная своевременная профилактика, включающая проведение комплекса рыбоводно-биологических и ветеринарно-санитарных мероприятий, а также применение антипаразитарных препаратов. Для борьбы с эктопаразитарными заболеваниями ранее применялись растворы малахитового зеленого – основного органического трифенилметанового красителя, а также технические основные красители – ярко-зеленый (оксалат) и фиолетовый К (хлоргидрат) в концентрациях 0,05–0,2 г/м³. В настоящее время эти препараты запрещены к применению в рыбоводстве. Применялись также

ванны из аммиака (0,1–0,2%, 0,5–1,0 мин), но указанный препарат достаточно токсичен для рыб. Для лечения и профилактики эктопаразитозов в настоящее время рыбу перед посадкой в зимовальные пруды обрабатывают в ваннах из 5%-ного раствора поваренной соли с экспозицией 5 мин, перманганата калия (10% в течение 10 мин), непосредственно в прудах – бриллиантовым зеленым (0,05–0,1 г/м³ без прекращения водоподачи). За рубежом для указанных целей применяют ванны из формалина (1:4000 – 1:8000 в течение 15–30 мин), солевые ванны (поваренная соль, концентрация – 2,0–2,5%, экспозиция – 10–15 мин) [1, 2, 5, 6].

Цель настоящих исследований – разработка современных отечественных препаратов для профилактики и лечения эктопаразитарных болезней прудовых рыб.

Материалы и методы исследования. Исследования по созданию препаратов и отработке схемы их применения проводили в 2007–2009 гг. на базе лабораторных помещений и аквариальной Института рыбного хозяйства. Производственные испытания осуществляли в 2010 г. в условиях рыбопитомника «Черница» НП «Браславские озера» (обработка рыбы в прудах) и ОАО «Опытный рыбхоз «Селец» (обработка в живорыбной таре и в ваннах инкубатора).

Для постановки опытов в лабораторных условиях были использованы: сеголетки карпа – 290 экз., двухлетки карпа – 80 экз., годовики карпа – 1196 экз., двухгодовики карпа – 386 экз., трехлетки карпа – 40 экз., годовики стерляди – 10 экз., годовики белого амура – 240 экз., годовики пестрого толстолобика – 290 экз., трехлетки белого амура – 40 экз., трехлетки пестрого толстолобика – 40 экз. Подопытная рыба была искусственно (путем совместного содержания с больной рыбой) заражена иктиофтириусами, триходинами и другими эктопаразитами, при этом экстенсивность инвазии составляла 100%.

При проведении производственных испытаний использовано 2460 кг годовиков карпа, 16000 экз. личинки форели (ОАО «Опытный рыбхоз «Селец»), 700 кг годовиков белого амура и 300 кг годовиков пестрого толстолобика (рыбопитомник «Черница» НП «Браславские озера»). Препаратом Дисоль–Na обработан сеголеток карпа однократно в живорыбной таре в концентрации 1 г/л при экспозиции 60 мин, в ваннах – в концентрации 10 г/л при экспозиции 10 мин; личинка форели – двукратно с интервалом 24 ч в концентрации 1 г/л в течение 20 мин. Препарат Дисоль–K однократно вносили в пруды в дозе 2 г/м³, экспозиция составила 24 ч.

Паразитологические исследования проводили по методикам Быховской–Павловской [7]. Основным показателем противопаразитарной эффективности препаратов являлось снижение ЭИ (экстенсивности инвазии – процент зараженных рыб от общего количества обследованных рыб) и ИИ (интенсивности инвазии – количество паразитов в одном поле зрения при микроскопии соскобов с поверхности тела, жабр и плавников).

Изучение токсических свойств исходных субстанций и готовых препаратов проводили согласно Методическим указаниям по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве [8]. Для изучения острой токсичности по 8 или 10 экз. годовиков карпа (общее количество 476 экз.) массой 15–28 г помещали в аквариумы с различными концентрациями соответствующего препарата. Температура воды в аквариумах на момент проведения опытов находилась в пределах 10–14 °С. Время экспозиции составляло 30–60 мин. В контрольных аквариумах рыба содержалась в тех же условиях, что и в опыте, но без добавления препаратов.

Для изучения хронической токсичности по 10 экз. годовиков карпа массой 20–26 г (общее количество 260 экз.) помещали в аквариумы с различными концентрациями соответствующих препаратов. Температура воды в аквариумах на момент проведения опытов составляла 12–14 °С. Кроме концентрации учитывали время экспозиции, когда начинались изменения в поведении рыб или ее гибель. Время экспозиции – 24–72 ч, что соответствует периоду 1–3 сут. В контрольных аквариумах соблюдались те же условия, что и в опыте (экспозиция опыта, температура воды), но без добавления препаратов. По окончании эксперимента рыбу помещали в аквариумы с водой без препаратов и продолжали наблюдение в течение 30 сут, после чего проводили патолого-анатомическое вскрытие.

Физиолого-биохимическое обследование рыбы проводили согласно методикам, изложенным в Методических указаниях по проведению гематологического обследования рыб [9] и Инструкции по физиолого-биохимическим анализам рыбы [10]. Изучены следующие показатели: СОЭ, содер-

жание гемоглобина, количество эритроцитов и лейкоцитов, общий белок сыворотки крови, коэффициент упитанности по Фультону, содержание сухого вещества и жира в тканях, массовая доля белковых веществ в пересчете на сухое вещество. Использовано по 30 экз. трехлеток карпа, белого амура и пестрого толстолобика из каждого пруда. Контролем служила рыба тех же видов и того же возраста, содержащаяся в аналогичных условиях, но не подвергавшаяся обработке препаратом.

Образцы комбинированных препаратов создавали путем механического перемешивания компонентов.

Результаты и их обсуждение. В результате проведенного скрининга доступных отечественных компонентов для создания противоэктопаразитарных препаратов подобраны соли (хлористый калий, хлористый натрий, сульфат магния, сульфат меди), йодсодержащие препараты (раствор Люголя, йодиол), щелочи (NaOH, KOH) и перекись водорода, обладающие ярко выраженным антипротозойным действием. Ранее доказано, что йодсодержащие препараты обладают высокой антипаразитарной активностью по отношению к ресничным инфузориям, а щелочи – к моногенетическим сосальщикам. Антипаразитарное действие данных субстанций проявляется при добавлении их в воду и основано на подавлении двигательной активности и нарушении мембранных функций у паразитов на любых стадиях их развития. Сочетания данных компонентов в различных пропорциях были взяты за основу создания препаратов, эффективных против эктопаразитов.

В лабораторных условиях были изучены антипаразитарные свойства перечисленных субстанций. Установлено, что все они в той или иной степени вызывают гибель эктопаразитов. Наибольшей эффективностью обладали: йодиол (погибло 80–85% паразитов), щелочи (80–95%), сульфат меди (до 88–96%), хлористый натрий (83–90%). Все испытанные вещества, за исключением щелочей, обладали слабой токсичностью для рыб. Щелочи KOH и NaOH даже в терапевтических дозах (0,5–1 мг/л) вызывали волнение и гибель рыбы; LD₅₀ некоторых других субстанций (сульфат магния, хлористый калий) в 3–5 раз превышали терапевтические дозы. Не удалось определить LD₅₀ для препарата йодиол, так как концентрации, превышающие терапевтические в 15–40 раз, не оказывали токсического действия на организм рыб. Токсичность остальных субстанций проявляется волнением рыбы при дозах, превышающих терапевтические в 3–5 раз.

Из перечисленных выше субстанций, с учетом их терапевтической активности и токсичности для рыб, было создано 11 лабораторных образцов комбинированных препаратов (в различных соотношениях соли меди, натрия и калия, а также некоторые другие вещества), получивших рабочие названия «Антипар–1» – «Антипар–11». Результаты испытаний их антипаразитарной активности представлены в табл. 1.

Таблица 1. Эффективность лабораторных образцов комбинированных антипротозойных препаратов против триходиниоза и ихтиофтириоза карпа при применении методом ванн

Препарат	Гибель паразитов, %	
	триходины	ихтиофтириусы
«Антипар–1»	90	85
«Антипар–2»	73	65
«Антипар–3»	65	50
«Антипар–4»	75	65
«Антипар–5»	55	35
«Антипар–6»	48	30
«Антипар–7»	95	75
«Антипар–8»	73	60
«Антипар–9»	50	50
«Антипар–10»	70	45
«Антипар–11»	80	75
Контроль	0	0

Примечание. Концентрация препарата – 1:20, экспозиция – 10 мин.

Отмечено, что наибольшей эффективностью обладали образцы «Антипар-1», получивший впоследствии название Дисоль-К, вызывающий гибель 90% триходин и 85% ихтиофтириусов, и «Антипар-7», получивший название Дисоль-На, вызывающий гибель 95% триходин и 75% ихтиофтириусов.

Дисоль-К представляет собой неоднородный кристаллический порошок голубого цвета с белыми вкраплениями; Дисоль-На – мелкокристаллический порошок от белого до зеленого цвета с мелкими голубыми вкраплениями.

Определен оптимальный температурный режим применения экспериментальных образцов препаратов. Установлено, что наибольшая антипаразитарная активность препарата Дисоль-К наблюдается при температуре воды от 12 до 20 °С, препарата Дисоль-На – от 10 до 20 °С. При температуре свыше 20 °С наблюдается токсическое действие препаратов на организм рыб, достигая максимума при 24 °С.

Для отработки кратности применения препаратов были использованы двухгодовики карпа, зараженные ихтиофтириусами (ЭИ – 100%, ИИ – 1–4 пар. в п. зр.) и триходинами (ЭИ – 100%, ИИ – 1–2 пар. в п. зр.). Обработки проводились одно-, двух- и трехкратно с интервалом в 3 сут. Схема и результаты опыта представлены в табл. 2.

Т а б л и ц а 2. Эффективность экспериментальных образцов препаратов против протозойной инвазии карпа

Кратность применения	Гибель пазитов, %	
	ихтиофтириусы	триходины
<i>Дисоль-На</i>		
Однократно	65–75	85–95
Двукратно	75–90	85–98
Трехкратно	85–90	85–98
<i>Дисоль-К</i>		
Однократно	70–80	80–95
Двукратно	80–95	80–98
Трехкратно	85–95	85–98
<i>Контроль</i>		
–	–	–

Антипаразитарная активность обоих препаратов по отношению к возбудителю ихтиофтириоза значительно повышается при двукратном применении (процент гибели увеличился от 75–80 до 90–95%). Антипаразитарная активность препаратов по отношению к возбудителям триходиниоза с повышением кратности их применения существенно не возрастала. В контрольных аквариумах за время эксперимента уровень инвазии эктопаразитами увеличился на 30–50%.

Нами отмечена высокая эффективность препарата Дисоль-На при триходиниозе стерляди. Экстенсивность инвазии годовиков стерляди инфузориями *Trichodina sp.* перед началом эксперимента составляла 100%, интенсивность инвазии – 20–50 пар. в п. зр. и более. Гибель паразитов при применении препарата составила 98–100%.

Изучена острая и хроническая токсичность созданных препаратов для рыб. При определении острой токсичности препаратов Дисоль-К и Дисоль-На наблюдения за физиологическим состоянием и поведением подопытной рыбы велись непосредственно во время обработки и в течение 3 сут после ее окончания. Нарушений в поведении, гибели рыб, патологических изменений жабр и внутренних органов при обработке препаратами в терапевтических дозах не отмечено. Волнение рыбы начиналось при обработке препаратом Дисоль-На в концентрации 25 г/л через 30 мин после начала обработки, при обработке препаратом Дисоль-К – через 40 мин при концентрации 30 г/л. Повышая концентрации препаратов и экспозицию опыта, удалось установить LD₅₀: для Дисоль-На – 30 г/л, для Дисоль-К – 50 г/л. Таким образом, указанные препараты в дозах, рекомендуемых к применению, не токсичны для рыб.

Для определения влияния препаратов на гематологический и биохимический статус организма рыб (трехлеток карпа, белого амура и пестрого толстолобика) нами проведено физиолого-биохимическое обследование рыбы после ее обработки препаратами в терапевтических дозах (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Гематологические и биохимические показатели рыбы после обработки препаратами Дисоль-К и Дисоль-На

Показатель	Карп		Белый амур		Пестрый толстолобик	
	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль
<i>Препарат Дисоль-К</i>						
СОЭ, мм/ч	1,4	1,5	2,0	1,8	1,7	1,9
Содержание гемоглобина, г/л	12,5	13,2	9,9	9,6	11,4	11,2
Количество эритроцитов, млн/мкл	1,38	1,44	1,85	1,88	1,12	1,23
Количество лейкоцитов, тыс/мкл	22,4	22,0	23,7	24,0	58,6	57,2
Общий белок сыворотки крови, %	3,6	3,3	4,5	4,2	3,8	3,5
Коэффициент упитанности по Фультону	2,6	2,7	1,7	1,6	1,5	1,6
Содержание сухого вещества, %	24,6	23,8	21,1	23,0	19,6	21,3
Содержание жира в тканях, %	4,37	4,41	2,44	2,42	1,31	1,33
Массовая доля белковых веществ в пересчете на сухое вещество, %	16,7		19,2	18,8	22,4	21,7
<i>Препарат Дисоль-На</i>						
СОЭ, мм/ч	1,6	1,8	2,0	1,9	2,1	2,2
Содержание гемоглобина, г/л	14,3	14,7	10,0	10,2	12,0	11,8
Количество эритроцитов, млн/мкл	1,30	1,35	1,87	1,89	1,22	1,20
Количество лейкоцитов, тыс/мкл	20,8	22,2	23,4	23,2	56,2	53,4
Общий белок сыворотки крови, %	3,3	3,3	4,1	4,0	3,3	3,4
Коэффициент упитанности по Фультону	2,5	2,4	1,7	1,7	1,8	1,6
Содержание сухого вещества, %	23,0	23,5	21,7	22,0	19,9	20,7
Содержание жира в тканях, %	4,28	4,35	2,38	2,36	1,35	1,28
Массовая доля белковых веществ в пересчете на сухое вещество, %	1,68	16,9	18,9	18,7	22,0	21,9

Дисоль-К применяли из расчета 5 мг/л в течение 24 ч, Дисоль-На – из расчета 1 г/л в течение 60 мин. Контролем служила рыба аналогичного вида и возраста, содержащаяся в аналогичных условиях, но не обработанная препаратами. Отмечено, что гематологические и биохимические показатели всех видов рыб как в опыте, так и в контроле оставались в пределах нормы (достоверных отличий между опытом и контролем не наблюдалось).

Производственные испытания препаратов Дисоль-К и Дисоль-На, проведенные в условиях рыбопитомников «Черница» и «Межаны» НП «Браславские озера», ОАО «Опытный рыбхоз «Селец» и ОАО «Рыбокомбинат «Любань» в прудах, живорыбной таре и ваннах, подтвердили их высокую эффективность при эктопаразитах прудовых рыб.

Препарат Дисоль-На эффективен при ихтиофтириозе и дактилогирозе карпа. Однократная обработка годовика карпа в живорыбной таре способствовала снижению экстенсивности инвазии ихтиофтириусами с 90 до 28–40%, интенсивности – с 14–22 до 3–4 пар/рыбу. Следует учесть, что обследование проводили непосредственно после применения препарата, в то время как большое количество паразитов погибает в течение суток после обработки.

При однократном применении Дисоль-На в виде ванн ЭИ ихтиофтириусами карпа снизилась с 90 до 20–24%, ИИ – с 14–22 до 1–3 пар/рыбу. Препарат Дисоль-На также эффективен при ихтиофтириозе форели. В результате двукратной обработки препаратом (с интервалом 24 ч) ЭИ снизилась со 100 до 20%, ИИ – с 11 до 4 пар/рыбу.

Живых инфузорий *Chilodonella cyprini* и *Trichodina sp.* на рыбе (форель, карп) после однократной обработки препаратом не выявлено, в то время как перед обработкой в соскобах с поверхности тела и жабр обнаруживались единичные паразиты указанных видов.

При обработке белого амура и пестрого толстолобика препаратом Дисоль-К отмечено значительное снижение уровня инвазии триходинами и дактилогирусами. ЭИ *Trichodina sp.* у белого

амура снизилась на 16%, у пестрого толстолобика – на 12%, *Dactylogyrus sp.* обнаружены только у пестрого толстолобика, при этом ЭИ снизилась на 28%.

Следует отметить, что паразиты, не погибшие под действием препарата, теряют способность к размножению и не представляют опасности для рыб.

Выводы

1. В качестве компонентов для создания препаратов, предназначенных для лечения и профилактики эктопаразитарных болезней у рыб, подобраны субстанции, обладающие ярко выраженным антипротозойным действием. На их основе созданы два препарата – Дисоль-К и Дисоль-На, в состав которых вошли натрия хлорид, калия хлорид, меди сульфат.

2. При температурах 8–11 °С можно рекомендовать применение препарата Дисоль-На в концентрации 5 г/л при экспозиции 60 мин либо в концентрации 10 г/л в течение 30 мин. При повышении температуры до 12–14 °С экспозиция может быть несколько снижена и составлять 40–60 мин (концентрация препарата 5 г/л) и 20–30 мин (концентрация 10 г/л). В случае обработки рыбы при температуре 15–21 °С можно, по мере необходимости, использовать два варианта: препарат в концентрации 1 г/л в течение 60 мин либо 10 г/л в течение 10–20 мин.

Активность препарата Дисоль-К не в такой степени зависит от изменения температуры воды. Данный препарат в применяют дозах 5–10 мг/л (5–10 г/м³) в течение суток.

3. При ихтиофтириозе целесообразно двукратное применение препаратов, при других эктопаразитарных заболеваниях – однократное.

4. Согласно ГОСТ 12.1.007–76, препараты могут быть отнесены к веществам III класса опасности, т. е. к малотоксичным веществам.

5. Препараты Дисоль-На и Дисоль-К могут быть рекомендованы для использования в рыбноводных хозяйствах.

Литература

1. Васильков Г. В. Болезни рыб: справочник / Г. В. Васильков, Л. И. Грищенко, Е. Т. Егнашев; под ред. В. С. Осетрова – М., 1989. – С. 116–122.
2. Грищенко, Л. И. Болезни рыб и основы рыбоводства / Л. И. Грищенко, М. Ш. Акбаев, Г. Л. Васильков. – М., 1999. – С. 289–300.
3. Дегтярик, С. М. Хилодонеллез – опасное заболевание рыб в условиях прудовых хозяйств Беларуси / С. М. Дегтярик, А. И. Чигир // Стратегия развития аквакультуры в условиях XXI века: материалы междунар. науч.-практ. конф. – Минск, 2004. – С. 296–298.
4. Дегтярик С. М. Паразитозы рыб, распространенные в естественных водоемах и прудовых хозяйствах Беларуси // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. аграр. наук. – 2006. – № 1. – С. 162.
5. Бауер, О. Н. Болезни прудовых рыб / О. Н. Бауер, В. А. Мусселиус, Ю. А. Стрелков. – М., 1981. – С. 9, 112, 115–119, 122, 124.
6. Здоровая рыба. Профилактика, диагностика и лечение болезней / Р. Рахконен [и др.]. – Хельсинки, 2003. – С. 103.
7. Быховская–Павловская, И. Е. Паразиты рыб / И. Е. Быховская–Павловская. – М., 1985. – С. 16, 45, 63.
8. Методические указания по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве // Ветеринарные препараты: справочник / сост.: Л. П. Маланин, А. П. Морозов, А. С. Селиванова; под ред. А. Д. Третьякова. – М., 1988. – С. 239–289.
9. Методические указания по проведению гематологического обследования рыб / разр. ТИНРО-центр и КаспНИРХ; утв. Минсельхозпродом РФ 02.02.1999. – М., 1999.
10. Инструкция по физиолого-биохимическим анализам рыбы: утв. М-вом рыбного хоз-ва СССР 11.07.84. – М.: ВНИИПРХ, 1984. – 60 с.

*E. K. SKURAT, S. M. DZEGTYARIK, E. I. GREBNEVA,
N. A. BENETSKAYA, T. A. GOVOR, A. S. KOVTIK, A. N. LEMEZA, R. L. ASADCHAYA*

EXPERIMENT OF THE CREATION OF NEW PREPARATIONS TO FIGHT AGAINST FISH ECOPARASITES

Summary

The article deals with the information on the new preparations Disol-K and Disol-Na recommended for fighting with fish ectoparasites such as *Trichodina sp.*, *Ichthyophthirius multifiliis*, *Dactylogyrus sp.* and others. The prophylactic and therapeutic efficiency of these preparations as well as their influence on a fish organism are identified.