

Федеральное агентство по рыболовству

Федеральное государственное унитарное предприятие
"ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ПРЕСНОВОДНОГО РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА" (ФГУП "ВНИИПРХ")

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ФГУП "ВНИИПРХ", к.б.н.

М.В. Михайлова

2010 г.



О Т Ч Е Т

по теме «Токсико-биологическое действие дезавида на рыб,
эффективность его применения против основных патогенов
рыб»

(договор № 688 /09)

Руководитель НИР,
заведующий лабораторией
ихтиопатологии, к.б.н.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "P.P. Golovin".

П.П. Головин

Рыбное, 2010

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Зав. лабораторией, канд.биол.наук	П.П. Головин (общее руководство, сбор материала, написание и оформление отчета)
Вед. науч. сотр., канд.биол.наук	Л.Н. Юхименко (руководитель и ответственный исполнитель работ по бактериологии, написание отчета)
Ст.науч. сотр., канд.биол.наук	Н.Н. Романова (постановка экспериментов по токсикологии, сбор и обработка материала, написание и оформление отчета)
Науч. сотр., канд.биол.наук	О.В. Корабельникова (сбор и обработка материала)
Техник	О.В. Блинова (подготовка питательных сред и посуды)
Зав. лаб. экологической токсикологии, канд.биол.наук	И.С. Шестерин
Зав. лаб. гидробиологии, канд.биол.наук	З.И. Шмакова

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	4
1. Оценка токсико-биологического действия препарата на рыб, кормовые гидробионты.....	6
1.1. Определение влияния ДЕЗАВИДА на качественный и количественный состав фито-и зоопланктона.....	6
1.2. Оценка токсико-биологического действия ДЕЗАВИДА на рыб.....	9
1.2.1. Определение токсичности ДЕЗАВИДА на икру рыб.....	12
1.2.2. Определение токсичности ДЕЗАВИДА на личинок рыб.....	14
1.2.3. Определение острой токсичности для рыб, основных объектов аквакультуры.....	16
1.2.3.1. Острая токсичность ДЕЗАВИДА для карповых рыб на примере карпа – <i>Cyprinus carpio</i>	16
1.2.3.2. Острая токсичность ДЕЗАВИДА для осетровых рыб на примере стерляди – <i>Acipenser ruthenus</i>	18
1.2.3.3. Острая токсичность ДЕЗАВИДА для лососевых рыб на примере радужной форели – <i>Parasalmo mykiss</i>	19
1.2.3.4. Острая токсичность ДЕЗАВИДА для осетровых рыб на примере стерляди – <i>Acipenser ruthenus</i> в воде с повышенным содержанием органических веществ.....	22
1.2.4. Определение хронической токсичности ДЕЗАВИДА для рыб.....	24
1.2.4.1. Воздействие ДЕЗАВИДА на рыбоводно-биологические показатели рыб.....	26
1.2.4.2. Воздействие ДЕЗАВИДА на физиологического состояния рыб.....	26
2. Определение дезинфицирующих свойств ДЕЗАВИДА против основных Патогенов рыб.....	30
3. Оценка эффективности использования средства ДЕЗАВИД при транспортировке.....	33
4. Оценка возможности использования средства ДЕЗАВИД для дезинфекции помещений, рыбоводного оборудования и инвентаря (по материалам НИИ дезинфектологии Минздрава России).....	36
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	39
Литература.....	41
Приложение: проект ИНСТРУКЦИИ.....	42

ВВЕДЕНИЕ

Проблема борьбы с микроорганизмами, вызывающими инфекционные заболевания у животных, в том числе и рыб, весьма актуальна, несмотря на достаточно большой выбор биоцидных препаратов. На сегодняшний день на российском рынке преобладают традиционные хлорсодержащие дезинфицирующие средства (хлорная известь, гипохлорид кальция и натрия, хлорамин и др.), а также формальдегид, которые имеют ряд недостатков: высокая токсичность, с выраженным запахом, нестабильность рабочих растворов, избирательность в отношении патогенных микроорганизмов, коррозионная активность и др. (Павлова и др., 2003). Импортные средства из-за их высокой стоимости практически недоступны отечественному потребителю. В настоящее время растет интерес к дезинфицирующим препаратам, обладающим высокой эффективностью, низкой токсичностью и относительно невысокой стоимостью.

Однако, не все они приемлемы для нужд аквакультуры, что связано с особенностями технологии выращивания рыб и их биологией. Возможность использования и получение эффекта от применения дезинфицирующих средств при рыборазведении определяется многими факторами: составом и содержанием действующего вещества, его токсичностью для гидробионтов, способами дезинфекции, спектром эффективных концентраций против патогенов, с учетом того, что их выдерживают рыбы без значительных нарушений жизненно важных функций и систем организма, содержанием в воде органических и других веществ.

Дезинфекция бассейнов, лотков в промышленных условиях имеет важное значение в комплексе профилактических ветеринарно-санитарных мероприятий. Уничтожение возбудителей инфекционных или инвазионных болезней позволяет обезопасить рыб от патогенов, повысить выживаемость и выход рыбопродукции, как результат, повысить эффективность производства рыбы. Именно поэтому в отечественном рыбоводстве до 40% средств, ежегодно направляемых из бюджета на противоэпизоотические мероприятия (а это около 100 млн. рублей) используется на приобретение дезинфектантов (Павлович и др., 2006).

В этой связи поиск и применение новых и эффективных для промышленной аквакультуры и аквариумистики дезинфектантов весьма актуально. Одним из таких перспективных для аквакультуры препаратов может стать отечественное дезинфицирующее средство нового поколения ДЕЗАВИД, активно действующим веществом которого является четвертичные аммонийные соединения. Препарат не обладает запахом, безвреден для материалов, подлежащих обработке, легко смывается водой, безопасен для человека и окружающей среды, не образует токсичных соединений (в т. ч. канцерогенов). ДЕЗАВИД

настоящее время разрешен для дезинфекции поверхностей в помещениях, в том числе медицинских, белья, посуды, предметов ухода за больными, систем водоподготовки от патогенных бактерий и биологических обрастаний, очистки и обеззараживания городских, промышленных стоков и оборотных вод.

Однако рыбы относятся к пойкилотермным (холоднокровным) животным и у них свои особенности в биологии и технологии выращивания, а эффективные концентрации, выявленные в ветеринарии и медицине не всегда приемлемы для объектов аквакультуры. Поэтому существует необходимость в подборе и апробации дезинфектантов с учетом биологии гидробионтов, качестве водной среды при оценке их токсичности для организма рыбы, определении эффективных концентраций для дезинфекции.

В связи с этим цель настоящего исследования была оценить токсико-биологическое действие ДЕЗАВИДА на рыб, определить эффективность его применения против основных патогенов рыб.

Для решения поставленной цели необходимо было выполнить следующие задачи:

1. Определить влияния ДЕЗАВИДА на качественный и количественный состав фито- и зоопланктона рыбохозяйственного водоема.

2. Оценить острое токсико-биологическое действие препарата на рыб. основных объектов аквакультуры - на примере карпа (икре, личинок и молоди), стерляди, и радужной форели:

2.1. Определение токсичности ДЕЗАВИДА для икры карпа.

2.2. Определение токсичности ДЕЗАВИДА для личинок карпа.

2.3. Определение острой токсичности для молоди рыб,

2.4. Определение хронической токсичности ДЕЗАВИДА для рыб с использованием рыбоводно-биологических показателей (выживаемость, активность питания, темп роста, эффективность использования корма), физиологических параметров (основные гематологические и биохимические показатели рыбы).

3. Определение дезинфецирующих свойств ДЕЗАВИДА (эффективных дозировок и экспозиции обработки препаратом в воде) против возбудителей основных бактериальных инфекций рыб (аэромонады, спорообразующие и капсулообразующие бактерии, моракселлы, ацинетобактеры).

4. На основе полученных материалов разработать проект инструкции по применению ДЕЗАВИДА для дезинфекции воды в рыбоводных хозяйствах и профилактики бактериальных инфекций.

1. Оценка токсико-биологического действия препарата на рыб и кормовые гидробионты

1.1. Определение влияния ДЕЗАВИДА на качественный и количественный состав фито- и зоопланктона

Опыты проведены в сентябре 2009 г. В емкости объемом по 5 л с прудовой водой было внесено по 50 мл суспензии микроводорослей, при доминировании в ней *Scenedesmus quadricauda*, и лабораторную культуру *Daphnia magna* (стандартный тест-объект при проведении подобных опытов).

Испытано влияние трех концентраций ДЕЗАВИДА (2мг/л; 4мг/л и 8мг/л) на содержание растворенного в воде кислорода, фито- и зоопланктона в 2-ой повторности. Контролем служили емкости, в которые препарат не вносили. Содержание в воде кислорода, фито- и зоопланктон оценивали трижды до обработки воды препаратом, через 3 часа и через сутки после обработки (совместно с лаб. гидробиологии ВНИИПРХ).

Температура воды в емкостях в начале эксперимента была равна 22,3°C, через сутки – 23,3°C.

Содержание растворенного в воде кислорода до внесения препарата было практически одинаковым и составляло 6,9-6,95 мг/л. Через 3 часа после внесения было отмечено его повышение: в опытных емкостях до 7,63-8,14 мг/л, в контроле до 8,76 мг/л в контроле. Через сутки количество кислорода составило в контроле 7,39 мг/л, в опыте- 6,49-6,58 мг/л, т.е. произошло небольшое его понижение на 0,81-0,9 мг/л в опытных емкостях, по сравнению с контрольными (табл. 1).

Таблица 1.- Содержание растворенного в воде кислорода (среднее по варианту)

Варианты опыта	До внесения препарата, мг/л	Через 3 часа после внесения Препарата, мг/л	Через сутки после внесения Препарата
Контроль	6,9	8,76	7,39
2 мг/л	6,95	8,14	6,58
4 мг/л	6,9	7,97	6,53
8 мг/л	6,9	7,63	6,49

Значения рН при проведении опыта представлены в табл. 2. В результате было показано, что внесения ДЕЗАВИДА повышает рН, т.е. делает среду более щелочной.

Таблица 2. – Изменения рН воды при внесении ДЕЗАВИДА в воду

Показатели	Контроль	2 мг/л	4 мг/л	8 мг/л
рН	7,9	7,9	8,3	8,8

До внесения препарата в емкости численность фитопланктона составляла 29,3-32,5 тыс.экз/л., биомасса –2,98-4,2 мг/л. В контроле соответственно- 33,4 тыс.экз/л и 4,49 мг/л. Через 3 часа после обработки численность и биомасса водорослей снизились соответственно до 22,4-27,9 тыс.экз/л и 2,64-3,2 мг/л. через сутки после внесения препарата численность составила 13,0-15,7 тыс.экз/л ,биомасса- 1,33-1,86 мг/л. В контроле через 3 часа и через сутки также отмечено снижение численности и биомассы фитопланктона, соответственно, до 22,7-17,3 тыс.экз/л и 3,43-1,59 мг/л (табл. 3).

Более заметное снижение численности и биомассы фитопланктона отмечено при внесении ДЕЗАВИДА в концентрации 8 мг/л, по сравнению с более низкими концентрациями (2мг/л и 4 мг/л) внесения этого препарата.

Таблица 3.- Численность и биомасса фитопланктона в разных вариантах опыта (среднее по варианту)

Варианты опыта	Время отбора проб	Численность, тыс.экз/л	Биомасса, мг/л
	До обработки	33,4	4,49
Контроль	Через 3 часа	22,7	3,43
	Через сутки	17,3 (51,8%)*	1,59 (35%)
2 мг/л	До обработки	29,3	2,98
	Через 3 часа после обработки	22,4	2,64
	Через сутки после обработки	15,7 (53,6%)	1,33 (44,6%)
4 мг/л	До обработки	30,9	3,9
	Через 3 часа после обработки	27,9	2,74
	Через сутки после обработки	13,2 (42,7%)	1,86 (47,7%)
8 мг/л	До обработки	32,5	4,2
	Через 3 часа после обработки	22,8	3,2
	Через сутки после обработки	13,0 (40%)	1,5 (35,7%)

Примечание: *) в (...) указан % от начального количества фитопланктона (до обработки)

Данные по численности зоопланктона в разных вариантах опыта приведены в таблице 4, из которой следует, что испытуемые концентрации ДЕЗАВИДА не оказали существенного влияния на численность зоопланктона, при доминировании в его составе ветвистоусого рачка *Daphnia magna* и веслоногих ракообразных (диаптомусов и циклопов). Изменения показателей численности организмов в разных вариантах были в пределах ошибки.

Таблица 4.- Численность зоопланктона в разных вариантах (среднее по варианту)

Варианты	Время отбора проб	Численность, шт./л
Контроль	До обработки	29,0 из них : D. magna –25,0 Copepoda- 4,0
	Через сутки после обработки	30,0 из них: D. magna- 25,0 Copepoda- 5,0
2 мг/л	Через 3 часа после обработки	31,0 из них : D.magna –25,0 Copepoda- 6,0
	Через сутки после обработки	30,0 из них: D.magna –25,0 Copepoda- 5,0
4 мг/л	Через 3 часа после обработки	31,0 их них: D.magna –27,0 Copepoda-4,0
	Через сутки после обработки	30,0 из них: D.magna –27,0 Copepoda- 3,0
8 мг/л	Через 3 часа после обработки	28,0 из них: D.magna –23,0 Copepoda-5,0
	Через сутки после обработки	29,0 из них: D.magna –23,0 Copepoda- 6,0

На основании полученных результатов можно заключить, что ДЕЗАВИД, в концентрации 2-8 мг/л, не оказал значимого отрицательного влияния на кислородный режим, фито- и зоопланктон. Динамика численности и биомассы фитопланктона и численности зоопланктона в опытных и контрольных емкостях носила сходный характер.

1.2. Оценка токсико-биологического действия ДЕЗАВИДА на рыб

Материал и методы

Оценку токсико-биологического действия ДЕЗАВИДА проводили в экспериментальных условиях аквариальной лаборатории ихтиопатологии ФГУП «ВНИИПРХ».

Опыты с икрой проводили в чашках Петри, с личинками в специальных пластиковых контейнерах, с рыбой в 70-ти литровых аквариумах. Схема испытания и используемые в опытах концентрации ДЕЗАВИДА представлены на рис. 1. Концентрации препарата подбирали исходя из чувствительности объектов. При оценке влияния ДЕЗАВИДА на уровень естественной кормовой базы определяли гидрохимические показатели (уровень кислорода, рН, перманганатную окисляемость, азот аммонийный, нитрит и нитрат-ионы). Летальную концентрацию препарата для 50% объектов (ЛК₅₀) в опытах с острой токсичностью на рыбах определяли, используя метод Кербера (Михеева, 2006) по формуле:

$$ЛК_{50} = \sum(A+B) \times (M-N) / ЛК_{100} .$$

где ЛК₅₀ – летальная концентрация препарата для 50% объектов, мг/л,

A+B – сумма смежных концентраций, мг/л, M-N – разность гибели в смежных концентрациях, %, ЛК₁₀₀ – минимальная концентрация препарата, при которой погибли все рыбы в опыте.

Метод Кербера подходит для большого разброса концентраций. Он был применен для определения ЛК₅₀ на карпе. В других экспериментах ЛК₅₀ рассчитывали по графику зависимости процента гибели рыб от концентрации препарата.

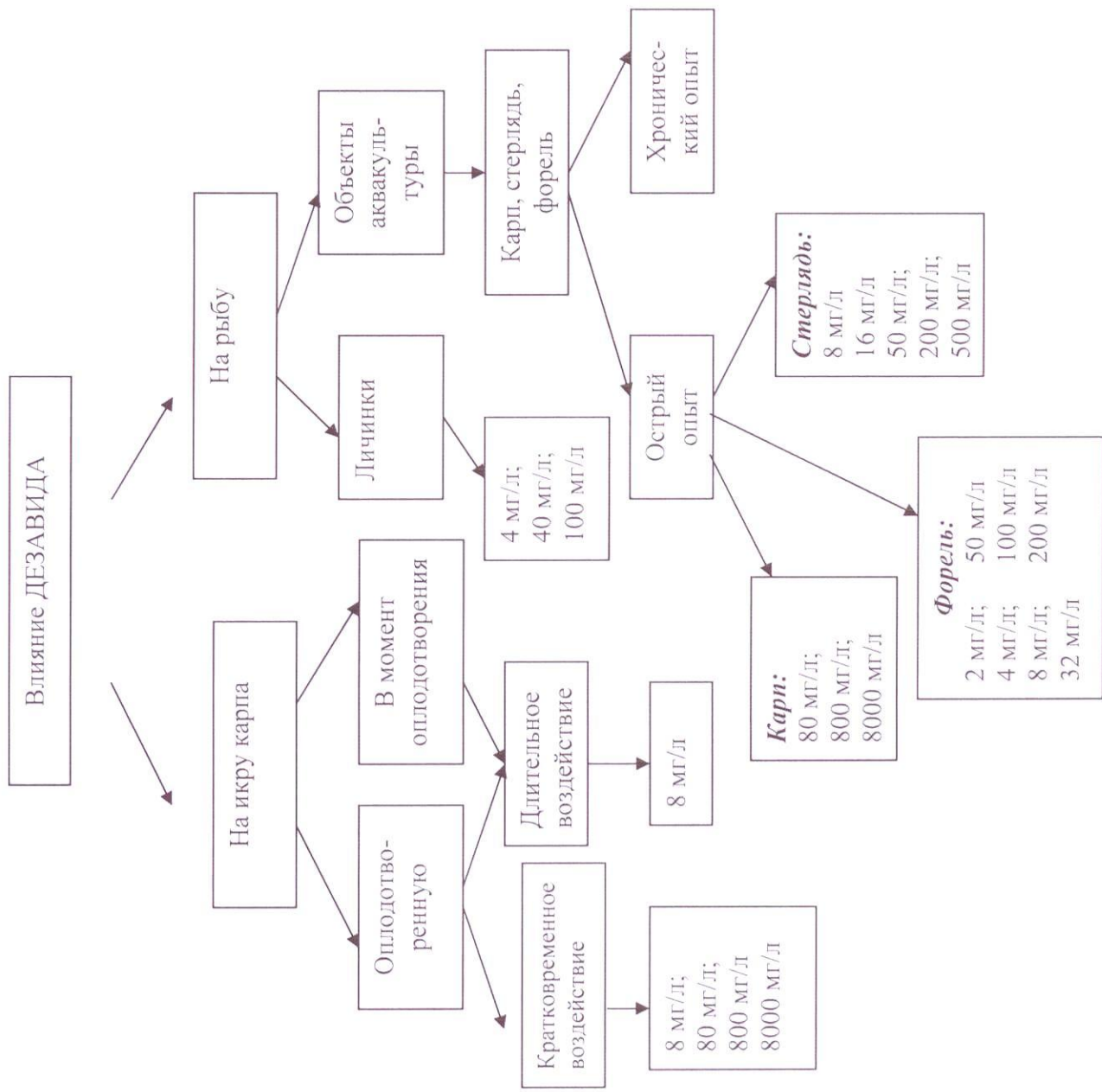


Рисунок 1. Схема постановки опытов с ДЕЗАВИДОМ

1.2.1. Определение токсичности ДЕЗАВИДА для икры рыб

Оценка токсичности препарата для оплодотворенной икры

Икру обрабатывали ДЕЗАВИДОМ через 2 часа после её оплодотворения. Для этого в чашки Петри поместили по 20 шт. икринок и залили прудовой профильтрованной водой в объеме 50 мл (рис.2). Обработку ДЕЗАВИДОМ проводили в течение 30 мин. в опытных группах рыб: 1-я – 8 мг/л (опыт 1), 2-ая – 80 мг/л (опыт 2) и 3-я – 800 мг/л (опыт 3). Параллельно заложили икру для контрольного варианта, в который препарат не вносили.

Дополнительно была заложена икра для оценки длительного влияния на неё ДЕЗАВИДА в концентрации 8 мг/л (опыт 4). Икру выдерживали в препарате до выклева личинок и после него.

В течение опыта наблюдали за развитием икры, выклевом личинок, оценивали процент пораженной икры паразитическим грибом (сапролегнией), темпом роста вылупившихся личинок и их выживаемостью.

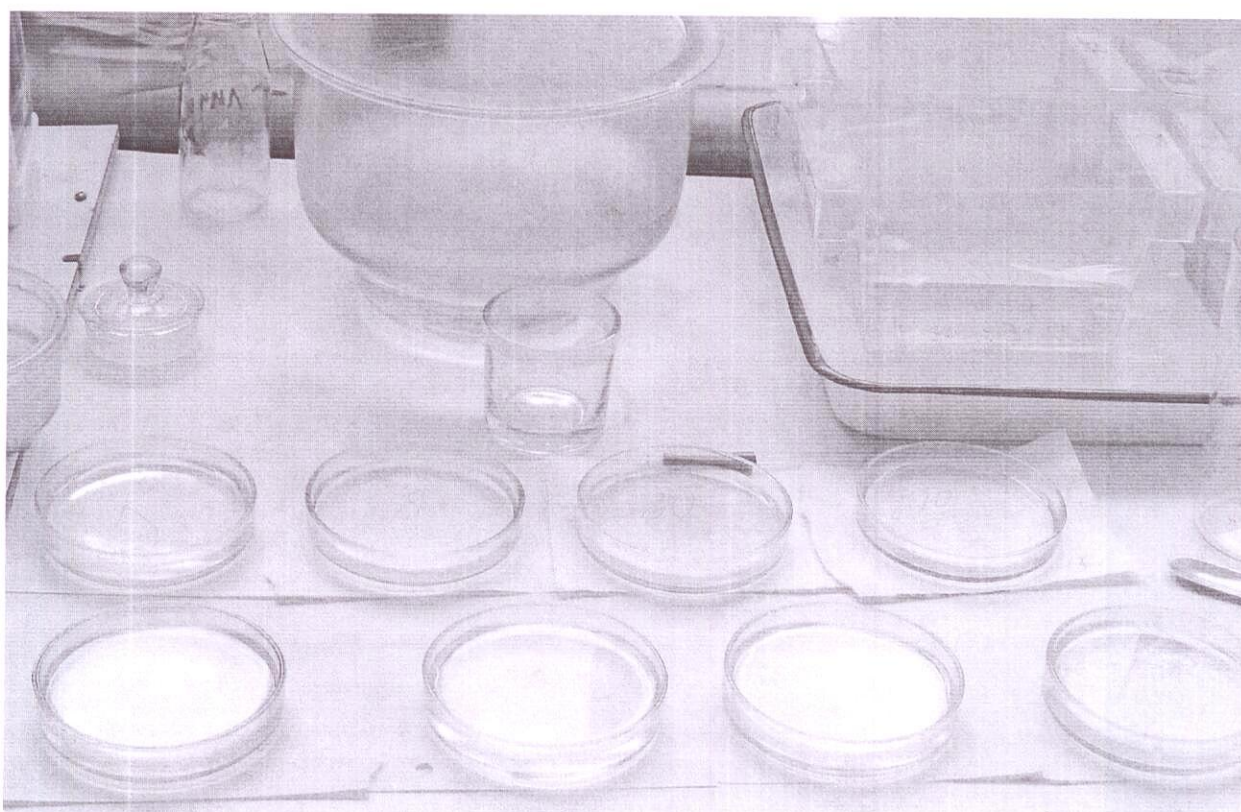


Рисунок 2. Постановка опыта по определению токсичности ДЕЗАВИДА для икры рыб

Результаты

Температура воды в течение опыта составляла 21-22⁰С. Первые выклюнувшиеся личинки (4%) появились на 3 сутки от момента заложения опыта в опытном варианте икры, обработанной препаратом в концентрации 8 мг/л. На 4 и 5 сутки произошло массовое вылупление личинок во всех вариантах, за исключением опыта 4 (длительное воздействие ДЕЗАВИДА), в котором выход личинок был растянут и продолжался до 7-х суток (табл. 5).

Таблица 5. – Вылупление личинок из икры, обработанной ДЕЗАВИДОМ и поражение ее сапроленгией.

Варианты	Количество вылупившихся личинок из икры, %					Количество икринок с неразвивающимися эмбрионами, %	Количество икринок, пораженных сапроленгией, %
	Сутки						
	3	4	5	6	7		
Контроль	0	14	92	-	-	0	8
Опыт 1 (8 мг/л)	4	26	46	-	-	22	32
Опыт 2 (80 мг/л)	0	34	60	-	-	12	28
Опыт 3 (800 мг/л)	0	20	50	-	-	26	24
Опыт 4 (8 мг/л) длительное воздействие	0	4	20	35	48	20	32

При этом из обработанной ДЕЗАВИДОМ в течение 30 мин. икры количество вылупившихся личинок составило 46-60%, против 92% в контроле, т.е. снижается в 1,5-2 раза. При длительном воздействии препарата (опыт 4) выход личинок от икры составил 48%, а 20% икринок оказались с неразвивающимися эмбрионами.

Икра, обработанная препаратом, в большей степени подвергается воздействию сапролегнии (24 – 32% против 8% в контроле). Вероятно, это связано с ослаблением резистентности на фоне слабого токсического воздействия препарата на икру и она становится более подвержена сапролегниозу (табл. 5).

Дальнейшее наблюдение за личинками в течение последующих 10 дней показали, что жизнеспособность и темп роста их во всех вариантах опыта оказались примерно одинаковыми и не отличались от контроля (табл. 6).

Таблица 6. – Выживаемость и размер личинок карпа, полученных от обработанной икры ДЕЗАВИДОМ.

Варианты	Выживаемость, %	Длина личинок, мм
Контроль	93,5	5,6
Опыт 1 (8 мг/л)	91,3	6,0
Опыт 2 (80 мг/л)	96,7	5,8
Опыт 3 (800 мг/л)	92,0	5,8
Опыт 4 (8 мг/л) длительное воздействие	91	5,8

Оценка токсичности препарата на оплодотворение икры

Опыт проводили в двух повторностях. В чашки Петри закладывали икру по 50 шт., добавляли каплю спермы, заливали приготовленным раствором ДЕЗАВИДА в концентрации 8 мг/л и перемешивали с помощью мягкого перышка (оплодотворяли). Выдерживали в течение 30 мин. в препарате, затем раствор сливали и заменяли новым такой же концентрации. Наблюдения за икрой и вылуплением личинок проводили в течение 5 суток. Количество вылупившихся личинок в контрольных вариантах оказалось в 2 раза больше, чем в опытных (табл. 7).

Таблица 7 – Количество вылупившихся личинок из икры, выдерживаемой в растворе ДЕЗАВИДА, %*.

Варианты	Сутки		Поражение икры сапролегнией, %
	4	5	
Контроль	2,5	43	10
Опыт (8 мг/л)	4,7	19	26

Примечание: * - в таблице приведены усреднённые данные по опытам.

Таким образом, по результатам проведенных опытов по оценке токсичности ДЕЗАВИДА выявлено, что препарат в концентрациях 8 – 800 мг/л (как при кратковременном, так и при длительном воздействии) оказывает заметное отрицательное действие на икру. Оно проявляется в снижении количества выклюнувшихся личинок (в 1,5 – 2 раза относительно икры необработанной). Кроме этого после обработки препаратом увеличивается количество икринок с неразвивающимися эмбрионами (до 12 - 26% от общего числа икры), пораженных сапролегнией.

1.2.2. Определение токсичности ДЕЗАВИДА для личинок рыб

Опыты проведены на личинках карпа, перешедших на экзогенное (внешнее) питание. В пластиковые контейнеры с объемом воды 1 л поместили по 20 шт. личинок.

Сформировали 3 опытные группы рыб, которые были обработанные ДЕЗАВИДОМ: 1-я – 4 мг препарата /л (опыт 1), 2-я - 40 мг/л (опыт 2), 3-я - 100 мг/л (опыт 3) и одну контрольную (рис.3).

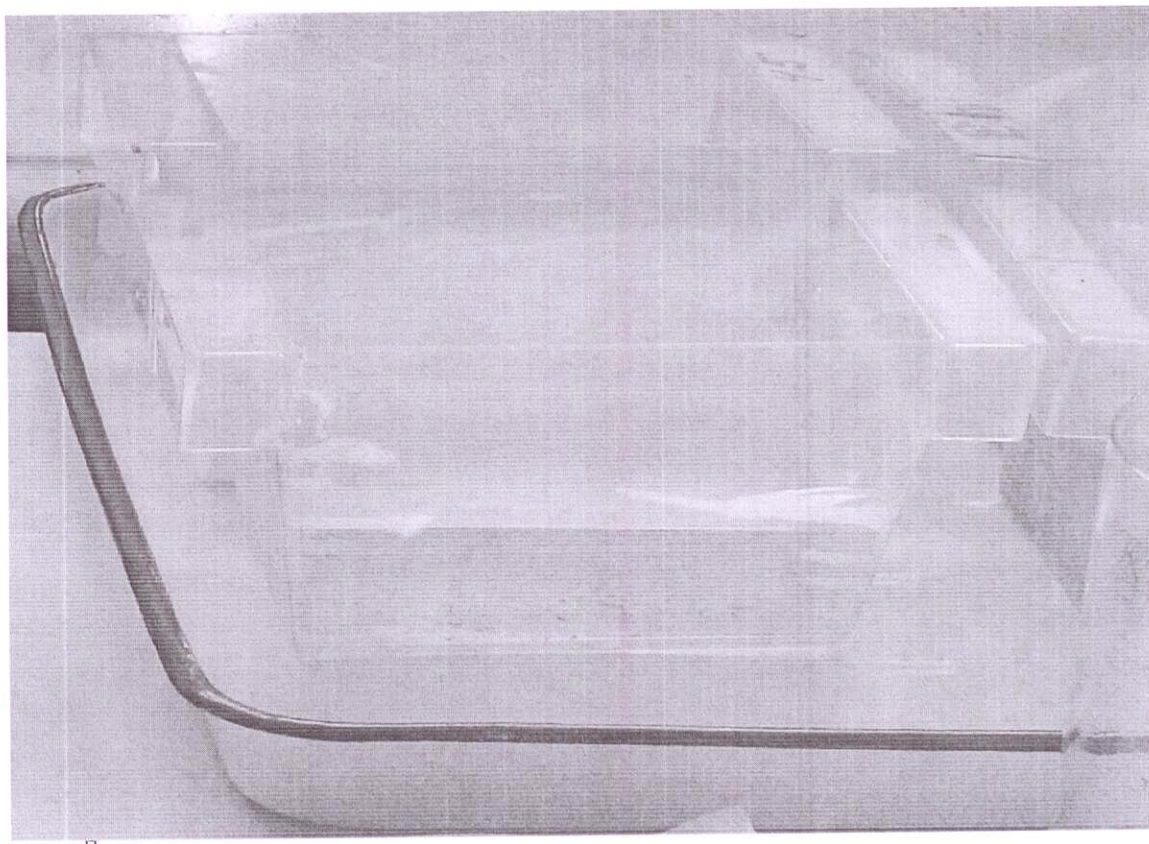


Рисунок 3. Постановка опыта по определению токсичности ДЕЗАВИДА для личинок рыб

Время нахождения личинки карпа в растворе препарата составляло 2 суток. Оценивали активность поведения, питания и выживаемость личинок в опыте и контроле. Температура воды составляла 21⁰С, уровень кислорода 7 мг/л.

Результаты

Первые погибшие личинки были отмечены уже через 30 мин. после начала опыта: при концентрации препарата 100 мг/л количество их составило 30% и при 40 мг/л - 5%. При концентрации ДЕЗАВИДА 4 мг/л гибель началась на вторые сутки (табл. 8), однако через двое суток началась гибель и в контрольном варианте, поэтому опыт был закрыт, а данные, полученные на вторые сутки в расчет не брали.

Таблица 8 – Динамика гибели личинок в растворе ДЕЗАВИДА (% погибших личинок).

Варианты	Время						
	10 мин.	20 мин.	30 мин.	1 ч.	5 ч.	1 сут.	1,5 сут.
Контроль	0	0	0	0	0	0	0
Опыт 1 (4 мг/л)	0	0	0	0	0	5	5
Опыт 2 (40 мг/л)	0	0	5	15	15	30	30
Опыт 3 (100 мг/л)	0	0	30	40	40	85	100

Таким образом, по результатам опыта получены концентрации ДЕЗАВИДА, вызывающие 100 и 50%-ую гибель личинок карпа. На основании результатов рассчитаны ЛК₁₀₀=100 мг/л и ЛК₅₀=57 мг/л.

Концентрация 4 мг/л (поддерживающая) практически не оказывает влияния на личинок карпа. Изменений в поведение у личинок из опытных групп относительно контроля не наблюдали, все особи адекватно плавали и реагировали на внешние раздражители. При внесении взвеси фитопланктона и мелкого зоопланктона в качестве подкормки, потребление их было только у личинок из контрольной группы и опытной при концентрации препарата 4 мг/л.

1.2.3. Определение острой токсичности для рыб, основных объектов аквакультуры

1.2.3.1. Острая токсичность ДЕЗАВИДА для карповых рыб на примере карпа – *Cyprinus carpio*

Острый опыт проводили на годовиках карпа средней массой 20 г, адаптированных к аквариальным условиям. В 70-ти литровые аквариумы поместили по 5 шт. рыб. Были сформированы 3 опытные группы рыб: 1 – ая подвержена воздействию препарата в концентрации 80 мг/л (опыт 1), 2 – ая – 800 мг/л (опыт 2), 3-я – 8000 мг/л (опыт 3) и одна контрольная группа. Температура воды в течение опыта составляла 17-19,5⁰С, уровень кислорода 7,8-8,2 мг/л. Продолжительность опыта 5 суток.

Цель опыта заключалась в определении концентрации ДЕЗАВИДА, вызывающие 100 и 50%-ю гибель рыб (т.е. ЛК₁₀₀ и ЛК₅₀).

В течение опыта наблюдали за поведением и внешними изменениями у рыб. Погибшую рыбу подвергали патологоанатомическому исследованию.

Результаты

Время наступления гибели 100% рыб и симптомы отравления ДЕЗАВИДОМ карпа представлены в табл. 9.

Патологоанатомическое обследование: у всех погибших рыб отмечено небольшое скопление кровянистого экссудата в полости тела. У рыб из опыта 2 печень с выраженными сосудами, более твердой консистенции, у рыб в опыте 3 печень дряблая, относительно нормы, почки увеличены, дряблые, кровенаполненные, других патологических изменений во внутренних органах не выявлено.

По результатам опыта рассчитана концентрация ДЕЗАВИДА, которая вызывает 100%-ю гибель карпа (ЛК₁₀₀) - 800 мг/л. ЛК₅₀, выведенная по формуле Кербера составила 110 мг/л.

Таблица 9. – Время наступления гибели у карпа и симптомы токсического воздействия ДЕЗАВИДА

Варианты	Концентрация препарата, мг/л	Время наступления гибели от начала опыта	Симптомы
Контроль	0	Гибели не было в течение 5 суток	- рыба активная, - корм потребляет
Опыт 1	80	Гибели не было в течение 5 суток	- рыба менее активная, - не берет корм, - держится у компрессора, - повышенное слезотделение.
Опыт 2	800	5,5 ч.	- рыба вялая, - не берет корм, - нарушена координация движений (заваливается на бок), - широко открытый рот, - кожа обильно покрыта сгустками слизи, - на плавниках (ожоги) белая каемка
Опыт 3	8000	3 ч.	- рыба вялая, - не берет корм, - нарушена координация движений, - двигается медленно, - широко открытый рот, - кожа обильно покрыта сгустками слизи, - на плавниках белая каемка (ожоги),

			- не реагирует на внешние раздражители.
--	--	--	---

1.2.3.2. Острая токсичность ДЕЗАВИДА для осетровых рыб на примере стерляди – *Acipenser ruthenus*

Острый опыт проводили на молоди (сеголетках) стерляди в возрасте 4 месяца средней массой 75 г, адаптированных к аквариальным условиям. В 70-ти литровые аквариумы поместили по 3 шт. рыб. Сформировали 5 опытных группы рыб, которые были обработаны ДЕЗАВИДОМ: 1 –я – 8 мг/л (опыт 1), 2 –я – 16 мг/л (опыт 2), 3-я – 50 мг/л (опыт 3), 4-я – 200 мг/л (опыт 4), 5-я – 500 мг/л (опыт 5) и одна контрольная группа. Температура воды в течение опыта составляла 17-19,5⁰С уровень кислорода 7,8-8,2 мг/л. Продолжительность опыта 5 суток.

Цель опыта заключалась в определение концентрации ДЕЗАВИДА, вызывающей 50 и 100% -ю гибель для осетровых рыб.

В течение опыта (5 суток) наблюдали за поведением рыб и внешними изменениями у рыб. Погибшую рыбу подвергали патологоанатомическому исследованию.

Результаты

Время наступления гибели 100% рыб и симптомы отравления ДЕЗАВИДОМ стерляди представлены в табл.10. После внесения ДЕЗАВИДА в аквариумы стерлядь реагирует мгновенно судорогами, затем происходит мобилизация и рыба адаптируется.

Патологоанатомическое обследование погибших рыб: жаберные лепестки с ожогами (1/2 часть жаберных лепестков белая); скопление экссудата в полости тела нет, печень с выраженными сосудами, более твердой консистенции, относительно нормы, почки увеличены, дряблые, кровенаполненные; задней отдел кишечника воспаленный и содержит кровянистый экссудат. Других патологических изменений во внутренних органах не выявлено.

По результатам опыта получена минимальная летальная концентрация ДЕЗАВИДА (ЛК₁₀₀) для стерляди, которая составляет 16 мг/л. Концентрация ДЕЗАВИДА, вызывающая 50%-ую гибель рыб рассчитана по графику зависимости процента гибели стерляди от концентрации препарата (ЛК₅₀) составила 12 мг/л.

Дополнительно была проведена обратимость действия ДЕЗАВИДА. Для этого рыб в предморральном состоянии была перенесена в чистую воду. Обратимости не наблюдали, все рыбы погибли.

Таблица 10. – Время наступления гибели у стерляди и симптомы токсического воздействия ДЕЗАВИДА.

Варианты	Концентрация препарата, мг/л	Время наступления гибели рыб от начала опыта	Симптомы
Контроль	0	Гибели не было до конца опыта	-рыба активная, - корм потребляет
Опыт 1	8	Гибели не было до конца опыта	- плавательная активность снижена, - корм потребляет вяло.
Опыт 2	16	60 ч.	- рыба вялая, - корм не берет, - нарушена координация движений (заваливается на бок), - широко открытый рот, - белая каемка на плавниках (ожоги)
Опыт 3	50	24 ч.	- рыба вялая, - корм не потребляет, - нарушена координация движений, - двигается медленно, - широко открытый рот, - белая каемка на плавниках (ожоги), - не реагирует на внешние раздражители.
Опыт 4	200	4 ч.	-/-
Опыт 5	500	1,5 ч.	-/-

*1.2.3.3. Острая токсичность ДЕЗАВИДА для лососевых рыб на примере радужной форели – *Parasalmo mykiss**

Острый опыт проводили на молоди (сеголетках) форели средней массой 30 г, адаптированных к аквариальным условиям. В 70-ти литровые аквариумы поместили по 3 шт. рыб. Сформировали 8 опытных групп рыб: 1 –я – 2 мг ДЕЗАВИДА/л (опыт 1), 2 –я – 4 мг/л (опыт 2), 3-я – 8 мг/л (опыт 3), 4-я – 16 мг/л, 5-я – 32 мг/л, 6-я – 50 мг/л, 7-я – 100 мг/л, 8-я - 200 мг/л и одна контрольная группа. Температура воды в течение опыта составляла 17-19,5⁰С, уровень кислорода 7,8-8,2 мг/л. Продолжительность опыта 5 суток.

Цель опыта заключалась в определении концентрации ДЕЗАВИДА, вызывающей 50 и 100% -ю гибель для лососевых рыб.

В течение опыта (5 суток) наблюдали за поведением и внешними изменениями у рыб. Погибшую рыбу подвергали патологоанатомическому исследованию.

Результаты

Время наступления гибели 100% рыб и симптомы отравления ДЕЗАВИДОМ радужной форели представлены в табл. 11. После внесения высоких доз ДЕЗАВИДА (50-200 мг/л) в аквариумы форель реагирует мгновенно судорогами, затем происходит мобилизация и рыба адаптируется. Она поднимается к поверхности воды и заглатывает воздух, появляются тяжи слизи из-под жаберной крышки.

Таблица 11. – Время наступления гибели у радужной форели и симптомы токсического воздействия ДЕЗАВИДА.

Варианты	Концентрация препарата, мг/л	Время наступления гибели от начала опыта	Симптомы
Контроль	0	Гибели не было в течение опыта	- рыба активная, - корм потребляет
Опыт 1	2	Гибели не было в течение опыта	- // -
Опыт 2	4	Гибели не было в течение опыта	- // -
Опыт 3	8	Через 10,5 ч. - 50% рыб погибло. Через 24 ч. – 100%	- в течение 3,5 ч. от начала опыта рыба была активная, затем появилось нарушение в координации движения, - рыба совершает глубокие дыхательные движения, иногда поднимается к поверхности и заглатывает воздух
Опыт 4	16	Через 8,5 ч. - 50% рыб погибло. Через 16 ч. – 100%	- // -
Опыт 5	32	Через 10 ч. – 100 %	- // -
Опыт 6	50	Через 8 ч. – 100 %	- форель реагирует мгновенно судорогами, затем происходит мобилизация и рыба адаптируется, рыба поднимается к поверхности воды и заглатывает воздух, - появляются тяжи слизи из-под жаберной крышки
Опыт 7	100	Через 4 ч. – 100%	- // -
Опыт 8	200	Через 1 ч. – 50%, Через 2,5 ч. – 100%	- // -

Патологоанатомическое обследование: у рыбы в опытных группах, при концентрации ДЕЗАВИДА 50-200 мг/л жаберные лепестки анемичные, внутренние органы близки к норме, т.к. гибель произошла за короткий промежуток времени патологические изменения не успели ещё проявиться. У форели из опытных групп с концентрацией ДЕЗАВИДА 8-32 мг/л жабры анемичные, внутренние органы - печень, почки, селезенка в норме. Отмечены изменения в желудочно-кишечном тракте: задний отдел кишечника с кровоизлияниями и скоплением небольшого количества кровянистого экссудата.

По результатам опыта минимально летальная концентрация ДЕЗАВИДА (ЛК₁₀₀) для радужной форели составила 8 мг/л. Полумлетальная концентрация ДЕЗАВИДА рассчитана по графику зависимости процента гибели стерляди от концентрации препарата и составила ЛК₅₀ 6 мг/л.

Все опыты по оценке токсичности на рыбах были проведены на артезианской (питьевой для пос. Рыбное) воде с минимальным содержанием в ней органических веществ. Показатель перманганатной окисляемости её составляет 0,79-1,35 мг O₂/л, биологическое потребление кислорода (БПК₅) =1,80-2,44 мг O₂/л, содержащие аммонийного азота – <0,3 мг NH/мл, нитритов <0,06 мг NO₂/л и нитратов 1,67 мг NO₃/л (по результатам лаб. экологической токсикологии ВНИИПРХ).

В тоже время природная вода открытых водоемов содержит существенно большее количество органического вещества.

В этой связи, были проведены сравнительные испытание токсичности ДЕЗАВИДА на молоди радужной форели, которую содержали в воде из рыбоводного пруда со значительно большим содержанием органического вещества (азотистых соединений и перманганатной окисляемости (Приложение).

Результаты испытания показали, что ЛК₅₀ для такой же молоди радужной форели при прочих равных условиях составила 133 мг ДЕЗАВИДА/л, что более чем в 20 раз выше, чем при содержании рыб в артезианской воде. Это свидетельствует о том, что токсическое действие ДЕЗАВИДА в значительной степени инактивируется присутствием в воде органических веществ. Это позволяет ожидать, что установленные нами ЛК₅₀ и ЛК₁₀₀ для вышеуказанных групп рыб в воде открытых (особенно эфтрофных) водоемов, будут значительно (в несколько раз) выше.

1.2.3.4. Острая токсичность ДЕЗАВИДА для осетровых рыб на примере стерляди – *Acipenser ruthenus* в воде с повышенным содержанием органики

Острый опыт проводили на молоди (сеголетках) стерляди в возрасте 6 месяца средней массой 100 г, адаптированных к аквариальным условиям. В 70-ти литровые аквариумы поместили по 3 шт. рыб. Сформировали 3 опытных группы рыб, которые были обработаны ДЕЗАВИДОМ: 1 –я – 16 мг/л (опыт 1), 2 –я – 80 мг/л (опыт 2), 3-я – 150 мг/л (опыт 3) и одна контрольная группа. Температура воды в течение опыта составляла 17-19,5⁰С уровень кислорода 7,8-8,2 мг/л. Продолжительность опыта 5 суток.

Цель опыта заключалась в определение концентрации ДЕЗАВИДА, вызывающей 50 и 100% -ю гибель для осетровых рыб.

В течение опыта (5 суток) наблюдали за поведением рыб и внешними изменениями у рыб. Погибшую рыбу подвергали патологоанатомическому исследованию.

Результаты

Время наступления гибели рыб и симптомы отравления ДЕЗАВИДОМ стерляди представлены в табл.12.

Таблица 12. – Время наступления гибели у стерляди и симптомы токсического воздействия ДЕЗАВИДА.

Варианты	Концентрация препарата, мг/л	Время наступления гибели рыб от начала опыта	Симптомы
Контроль	0	Гибели не было до конца опыта	-рыба активная, - корм потребляет
Опыт 1	16	Гибели не было до конца опыта	- рыба активная, - корм потребляет вяло.
Опыт 2	80	33% рыб погибло через 8 ч.	- плавательная активность - снижена рыба вялая, - корм не берет, - нарушена координация движений (заваливается на бок)
Опыт 3	150	16 ч.	- рыба вялая, - корм не потребляет, - нарушена координация движений, - двигается медленно, - широко открытый рот, - белая каемка на плавниках (ожоги), - не реагирует на внешние раздражители.

После внесения ДЕЗАВИДА в аквариумы стерлядь реагирует мгновенно судорогами, затем происходит мобилизация и рыба адаптируется.

Патологоанатомическое обследование погибших рыб: жаберные лепестки с ожогами (при концентрации ДЕЗАВИДА 150 мг/л); кровоизлияния на рострума; почки немного увеличены, дряблые. Других патологических изменений во внутренних органах не выявлено.

По результатам опыта получена летальная концентрация ДЕЗАВИДА (ЛК₁₀₀) для стерляди, которая составляет 150 мг/л. Концентрация ДЕЗАВИДА, вызывающая 50%-ую гибель рыб, рассчитанная по методу Кербера, составила 139 мг/л (табл. 13).

Таблица 13. – Расчет полулетальной концентрации ДЕЗАВИДА для стерляди

Показатель	16 мг/л	80 мг/л	150 мг/л
Погибшие/живые, экз.	0/3	0/2	3/0
Погибшие, %	0	33	100
(А+В) - сумма смежных концентраций, мг/л	96	230	
(М-Н) – разность гибели в смежных концентрациях, %	33	77	
(А+В)х(М-Н)	3168	17710	

$$ЛК_{50} = \Sigma(A+B) \times (M-N) / ЛК_{100}$$

$$ЛК_{50} = 3168 + 17710 / 150 = 139 \text{ мг/л.}$$

1.2.4. Определение хронической токсичности ДЕЗАВИДА для рыб

Цель работы: определить токсическое влияние дезинфицирующего средства ДЕЗАВИД на организм рыб при длительном (хроническом) воздействии препарата.

Задачами работы являлись:

- 1) провести оценку влияния ДЕЗАВИДА на выживаемость, ростовые характеристики рыб с использованием рыбоводно-биологических показателей (активность питания, темп роста, эффективность использования корма);
- 2) определить токсическое воздействие ДЕЗАВИДА на уровень физиологического состояния рыб с использованием при длительном содержании в минимальных концентрациях препарата.

Исследования были проведены на трех основных объектах аквакультуры:

- для лососевых рыб на примере радужной форели;
- для осетровых рыб на примере стерляди;
- для карповых рыб на примере карпа.

Материал и методы

Рыба предварительно была адаптирована к аквариальным условиям и размещена в непроточные аквариумы с объемом воды 70 л (рис.4). В качестве подопытных объектов была взята молодь (сеголетки) радужной форели средней массой 30 г, стерляди средней массой 70 г и карпа – 24 г.

Концентрации ДЕЗАВИДА подбирали с учетом результатов опытов по оценке острой токсичности препарата. Для форели использовали 3 мг/л; для стерляди были взяты 3 мг/л и 6 мг/л; для карпа – 8 мг/л и 32 мг/л. Каждые 3 суток воду в аквариумах заменяли на свежую, содержащую такую же концентрацию ДЕЗАВИДА. В аналогичных условиях в непроточных аквариумах находились контрольные группы рыб, не подвергавшиеся влиянию ДЕЗАВИДА.

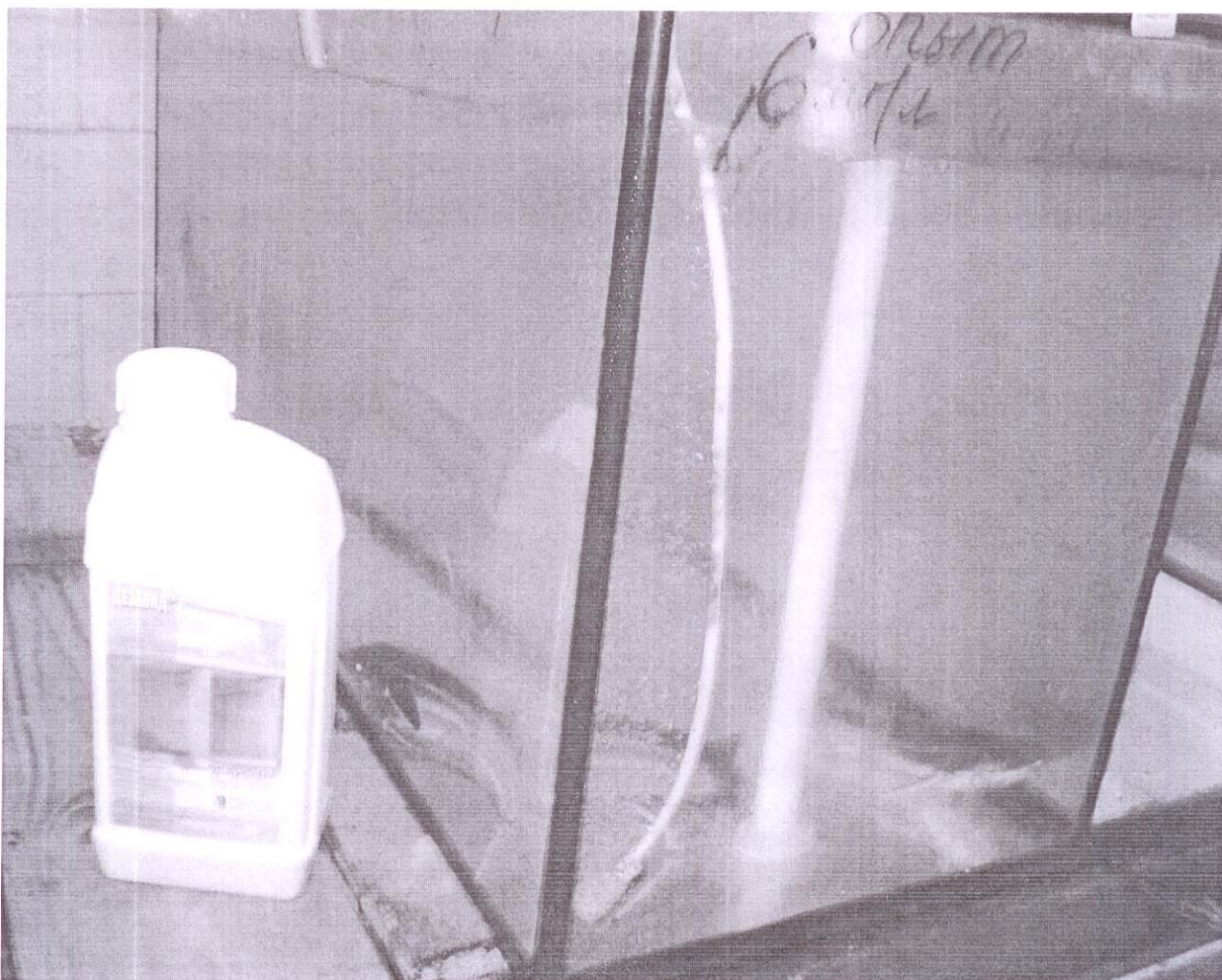


Рисунок 4. Постановка опыта по определению хронической токсичности ДЕЗАВИДА для рыб

Температура воды в течение всего опыта составляла 18-20⁰С, уровень кислорода - 6,7-7,5 мг/л. Длительность эксперимента составляла 30 суток.

Рыбу ежедневно кормили искусственными кормами, предназначенными для этих видов. Суточное количество корма составляла 1-2% от веса ихтиомассы.

В конце эксперимента (по истечению 30 суток) были определены принятые в аквакультуре рыбоводно-биологические показатели (выживаемость, относительный прирост рыб, активность питания и эффективность использования корма), а также проведена оценка физиологического состояния организма.

Относительный прирост, характеризующий интенсивность роста рыб в сравнении с начальной массой определяли по формуле (Щербина и др., 1992):

$$\Delta M_{ср.} = \frac{M_t - M_0}{(M_t + M_0) : 2} 100\%,$$

где: M_0 , M_t – средняя масса рыб в начале и конце эксперимента.

Активность питания оценивали в течение эксперимента, эффективность использования корма – по результатам прироста рыб и наполнения кишечника при патологоанатомическом исследовании.

Физиологическое состояние организма рыб оценивали по изменениям во внутренних органах при патологоанатомическом исследовании и показателям крови. Кровь отбирали из каудального канала общепринятыми методами для ихтиогематологии (Мусселиус и др., 1983). В определяемые показатели вошли наиболее значимые, характеризующие происходящие изменения в организме в результате воздействия на него негативных факторов, в данном случае влияние четвертичных аммонийных оснований, входящих в состав испытуемого препарата (ДЕЗАВИДА).

Уровень гемоглобина определяли цианметгемоглобиновым методом на фотоэлектроколориметре КФК-2МП; количество эритроцитов пробирочным методом в камере Горяева; уровень общего белка на рефрактометре; активность эритропоэза, количество лейкоцитов и лейкоцитарную формулу по окрашенным по Паппенгейму мазкам крови. Пересчет лейкоцитов в абсолютные числа проводили по формуле:

$$X = (A \times B) / 100,$$

где X- абсолютное значение определяемой группы лейкоцитов, шт./мкл;

A – её процентное значение в лейкоцитарной формуле, %;

B – общее число лейкоцитов в 1 мкл крови, тыс.шт./мкл;

100 – общий процент всех лейкоцитов в лейкоцитарной формуле, %.

Кроме того, был проведен гидрохимический анализ воды на определение перманганатной окисляемости, характеризующей органическое загрязнение и бактериологический анализ на оценку эффективности испытуемых дозировок ДЕЗАВИДА в качестве дезинфицирующего средства в емкостях с рыбой.

1.2.4.1. Влияние ДЕЗАВИДА на рыбоводно-биологические показатели рыб

В течение опыта в поведении рыб, содержащих в растворе ДЕЗАВИДА, значительных изменений не наблюдалось. Активность питания у опытных групп была аналогичной с таковыми из контрольных групп. Выживаемость в опытных и контрольных группах рыб составила 100%.

В опытных группах с высокой концентрацией ДЕЗАВИДА – 6 мг/л у стерляди и 32 мг/л у карпа в аквариумах после внесения препарата становилась мутной. При добавлении в аквариум 32 мг/л ДЕЗАВИДА на поверхности воды наблюдали мелкие мыльные пузырьки, которые на следующие сутки исчезали.

Оценка прироста в конце эксперимента показала, что ДЕЗАВИДоказывает отрицательное влияние на массонакопление, что отразилось в снижении прироста рыб, подвергающих воздействию препарата. Наименее значимое влияние ДЕЗАВИДА на относительный прирост выявлено у радужной форели (на 7,5% относительно контрольной группы рыб). Более значимые изменения прослеживались у стерляди. В контрольной группе рыб относительный прирост средней массы за 30 суток составил 15%, а в опытных группах он снизился на 38,7% в опыте с 3 мг/л и на 24,2% в опыте с 6 мг/л.

У карпа в опыте с 8 мг/л относительный прирост средней массы рыб оказался снижен на 20,5% и на 16,4% в опыте с 32 мг/л относительно исходной (начальной) массы. У этого вида рыб мы не наблюдали прироста и в контрольной группе, но даже в этом случае у подопытных карпов его снижение было в 2 раза больше.

1.2.4.2. Влияние ДЕЗАВИДА на физиологическое состояние рыб

Внешних изменений на поверхности тела рыб у опытных групп не отмечено, цвет и структура жаберной ткани соответствовали норме.

При патологоанатомическом вскрытии у рыб из контрольных групп все внутренние органы соответствовали норме. У радужной форели, содержащей в концентрации ДЕЗАВИДА 3 мг/л воды в течение 30 суток печень более анемичная, почки увеличены, задний отдел кишечника с кровоизлияниями, в нем имелись остатки корма, тогда как у рыб из контрольной группы корма в кишечниках практически не было. У стерляди в опытных аквариумах почки были анемичные, печень имела дряблую консистенцию, в

опыте с 3 мг/л ДЕЗАВИДА у 50% рыб задней отдел кишечника имел кровоизлияния, у рыб из опыта 6 мг/л у всех особей отмечены кровоизлияния заднего отдела кишечника и непереваренный корм. У карпа заметных изменений во внутренних органах не выявлено. У 20% рыб в опытных аквариумах в кишечниках имелся корм.

Показатели крови. Проведенный гематологический анализ показал, что у всех трех видов рыб в опытных группах, под воздействием ДЕЗАВИДА происходит снижение уровня гемоглобина: на 10% у карпа, на 14% у радужной форели и на 18-26% у стерляди. Прослеживается тенденция к снижению количества эритроцитов в крови (табл. 14, 15, 16). У рыб опытных групп в эритроцитарной картине выявлены: анизоцитоз (разноразмерность клеток), образование безъядерных эритроцитов и единичные случаи пойкилоцитоза (изменение форм клеток) и гемолиза эритроцитов.

Таблица 14. – Показатели крови радужной форели в хроническом опыте с ДЕЗАВИДОМ

Показатели	Контроль	Опыт 3 мг/л
Гемоглобин, г/л	71,8 ±5,1	57,6 ±2,5
Эритроциты, млн/мкл	1,01± 0,017	0,855± 0,005
Эритропоз, %:		
эритробласты	0	0
базофильные эритроциты	2,5 ±0,1	2,2± 0,2
полихроматофильные эритроциты	2,2 ±0,5	6,4 ±1,7
Всего молодых эритроцитов	4,7±0,4	8,5± 1,8
Лейкоциты, тыс./мкл	39,8 ±8,8	35,1±1,9
Нейтрофилы, %	6,0 ±1,0	5,5 ±2,5
- // - , тыс./мкл	2,0 ±1,4	1,9 ±1,1
Моноциты, %	1,5 ±0,5	2,5 ±1,5
-//-, тыс./мкл	0,6 ±0,07	0,85 ±0,3
Лимфоциты, %	92,5 ±5,5	92,0 ±5,0
-//-, тыс./мкл	37,3 ±10,3	32,4 ±3,5

Лейкоцитарная картина определяется видовой спецификой рыб. В крови у радужной форели достоверных сдвигов не отмечено. Наблюдается лишь незначительное снижение лейкоцитов на фоне увеличения моноцитов (табл. 14). Выявленные патологические изменения во внутренних органах и показателях красной крови (эритроцитах), увеличение

как относительного, так и абсолютного числа моноцитов свидетельствует о начальной стадии токсикоза.

Наиболее значимые изменения отмечены у стерляди. У рыб опытной группы с концентрацией ДЕЗАВИДА 6 мг/л выявили увеличение количества лейкоцитов в 2 раза (табл. 15). На фоне выраженного лейкоцитоза прослеживается нейтрофилез, т.е. увеличение количества нейтрофилов (в 2 раза), моноцитоз - увеличение количества моноцитов (в 4 раза) и лимфопения – снижение количества лимфоцитов (на 33%). Такие сдвиги характерны при токсикозах рыб в стадии «резистентности» (2 стадия токсикоза). У стерляди из опытной группы с концентрацией ДЕЗАВИДА 3 мг/л характер изменений имеет такую же, но менее выраженную направленность (достоверности относительно контрольной группы не выявлено) (табл. 15).

Таблица 15. – Показатели крови стерляди в хроническом опыте с ДЕЗАВИДОМ

Показатели	Контроль	Опыт	
		3 мг/л	6 мг/л
Гемоглобин, г/л	50± 6,8	40,5 ±3,5	36,9 ±1,8
Эритроциты, млн/мкл	0,803 ±0,2	0,732 ±0,05	0,840± 0,03
Белок, %	-	1,2 ±0,23	1,7±0,35
Эритропоз, %:			
эритробласты	0	0,02 ±0,01	0
базофильные эритроциты	1,6±0,07	0,13 ±0,09	0,4 ±0,2
полихроматофильные эритроциты	2,5±0,3	1,4 ±0,5	1,9 ±1,2
Всего молодых эритроцитов	4,1±0,8	1,6±0,6	2,3± 1,4
Лейкоциты, тыс./мкл	35,5 ±9,1	38,3 ±6,9	72,9 ±13,9*
Нейтрофилы:			
миелоциты, %	0,3 ±0,1	0,5 ±0,2	0,3± 0,2
-//-, тыс./мкл,	0,13± 0,1	0,2 ±0,1	0,3 ±0,1
метамиелоциты, %	3,3 ±1,2	3,7 ±0,9	2,8 ±0,9
-//-, тыс./мкл,	1,0 ±0,4	1,4 ±0,4	2,0± 0,9
палочкоядерные, %	6,7 ±0,9	12,5 ±2,3	16,8 ±3,1
-//-, тыс./мкл	2,3± 0,6	4,7 ±1,2	12,3 ±3,0
сегментоядерные, %	9,0 ±1,7	18,3 ±2,4	22,0 ±2,4
-//-, тыс./мкл	3,3 ±1,3	7,3 ±1,7	15,4 ±2,7
Общее число нейтрофилов, %	19,3 ±1,2	35,0 ±5,0	41,8 ±3,25
-//, тыс./мкл	6,8 ±1,7	13,6 ±3,1	30,0 ±5,2*
Эозинофилы, %	1,3 ±0,3	2,8 ±1,2	0,5 ±0,1
-//-, тыс./мкл	0,52 ±0,25	1,3 ±0,57	0,25 ±0,1
Моноциты, %	1,7 ±0,3	2,7 ±0,7	6,5 ±2,0*
-//-, тыс./мкл	0,6 ±0,2	1,0 ±0,3	5,1 ±2,4
Лимфоциты, %	77,3 ±1,9	59,2 ±4,3	51,3 ±4,4*
-//-, тыс./мкл	27,5 ±7,1	22,3 ±4,4	37,5 ±7,8

Примечание: * - различия достоверны между контрольной группой и опытными ($p \leq 0,05$).

У карпа, содержащего в растворах ДЕЗАВИДА с концентрациями 8 и 32 мг/л, наблюдается снижение неспецифической резистентности организма, о чем свидетельствует уменьшение общего количества лейкоцитов (на 12,6% в опыте с 8 мг/л и на 37,8% в опыте с 32 мг/л) и снижение процента зрелых нейтрофилов (сегментоядерных) - клеток, выполняющих фагоцитарную функцию в организме, на фоне увеличения молодых форм этой группы клеток (метамиелоцитов и палочкоядерных нейтрофилов), которые не приспособлены к фагоцитозу (табл. 16).

Таблица 16. – Показатели крови карпа в хроническом опыте с ДЕЗАВИДОМ

Показатели	Контроль	Опыт	
		8 мг/л	32 мг/л
Гемоглобин, г/л	63,1± 2,6	57,4 ±2,9	57,8 ±2,4
Эритроциты, млн/мкл	1,2± 0,03	1,07 ±0,04	1,03 ±0,02*
Белок, %	2,7 ±0,2	2,5 ±0,1	2,4± 0,2
Эритропоэз, %:			
базофильные эритроциты	1,0 ±0,2	1,1 ±0,4	1,8 ±0,4
полихроматофильные эритроциты	12,4 ±0,8	7,9 ±1,0*	5,4 ±0,5*
Всего молодых эритроцитов	13,4± 0,9	9,0 ±1,2*	7,2 ±0,8*
Лейкоциты, тыс./мкл	28,6 ±3,9	25,0 ±3,6	17,8 ±3,6
Нейтрофилы:			
миелоциты, %	0,5 ±0,2	0,8 ±0,3	0,3 ±0,2
-//-, тыс./мкл,	0,15 ±0,05	0,2 ±0,07	0,04 ±0,02
метамиелоциты, %	1,0±0,4	2,5 ±0,6	2,2 ±0,5
-//-, тыс./мкл,	0,23± 0,08	0,67 ±0,2	0,32 ±0,05
палочкоядерные, %	2,3 ±0,6	1,4± 0,5	2,6 ±0,4
-//-, тыс./мкл	0,5 ±0,07	0,27 ±0,07*	0,41 ±0,06
сегментоядерные, %	2,2 ±0,6	0,7 ±0,3*	1,2±0,6
-//-, тыс./мкл	0,52 ±0,1	0,18 ±0,09*	0,16 ±0,07*
Общее число нейтрофилов, %	6,0 ±1,1	5,4 ±0,6	6,3 ±1,1
-//-, тыс./мкл	1,4 ±0,2	1,28±0,2	0,9 ±0,1**
Базофилы, %	2,4 ±0,4	2,5±1,4	2,3 ±0,5
-//-, тыс./мкл	0,6 ±0,1	0,44 ±0,2	0,5 ±0,2
Пенистые клетки, %	0,7 ±0,2	0,1	0,2
-//-, тыс./мкл	0,2 ±0,05	0,02 ±0,01*	0,07 ±0,02
Моноциты, %	2,5 ±0,7	2,0 ±0,6	2,5 ±0,5
-//-, тыс./мкл	0,54 ±0,09	0,4 ±0,1	0,3±0,06*

Лимфоциты, %	88,3 ±2,0	90,0 ±2,0	88,6 ±1,6
-//- , тыс./мкл	25,7 ±4,1	22,8±3,6	15,9 ±3,3

Примечание: * - различия достоверны между контрольной группой и опытными ($p \leq 0,05$); " - различия достоверны между опытными группами рыб ($p \leq 0,05$).

Хронический эксперимент по оценке влияния ДЕЗАВИДА на организм рыб длительностью 30 суток показал его видоспецифическое действие – наиболее устойчив карп, затем форель и более чувствительна стерлядь. В испытуемых концентрациях у радужной форели (3 мг/л) этот препарат вызывает начальную стадию токсического отравления; у стерляди (3 и 6 мг/л) его действия на организм зашло более глубоко, мы наблюдали вторую стадию токсикоза; на карпа (8 и 32 мг/л) токсического влияния ДЕЗАВИД не оказал, изменения получены в пределах адаптивных стрессовых реакций, приводящих к снижению неспецифической резистентности организма рыб.

У форели и стерляди при патологоанатомическом исследовании отмечены анемия и гипертрофия почек, нарушение структуры печени, у стерляди кровоизлияния заднего отдела кишечника, у карпа значимых изменений внутренних органов не наблюдали. Снижение темпа роста у рыб в опытных группах отмечено у всех видов, наиболее четко выявлено у стерляди и карпа. Возможно, это обусловлено снижением усвояемости корма при воздействии ДЕЗАВИДА, т.к. у 20-70% рыб из опытных групп в кишечнике обнаружен корм через сутки после последнего кормления, тогда как при температуре 18-20⁰С он должен утилизироваться в течение 4-6 часов. У рыб из контрольных групп кишечника были пусты. Также возможно использование питательных веществ не на прирост, а на компенсаторные реакции организма против токсического влияния ДЕЗАВИДА. В данном случае эти два аргумента могут быть взаимосвязаны.

2. Определение дезинфицирующих свойств ДЕЗАВИДА против основных патогенов рыб

Результаты исследований

1. Первое испытание активности ДЕЗАВИДА были проведены на чистой культуре аэромонад. В 4 флакона разлили по 100 мл из колбы с суточной бульонной культурой аэромонад, в 3 флакона добавили по 0,4; 0,8 и 1,6 мл маточного раствора, содержащего 1 мл ДЕЗАВИДА на 1 л воды, т.е. концентрация ДЕЗАВИДА составила 4, 8 и 16 мг/л), 4-й флакон служил контролем (К). Через час и 18 часов инкубирования при 35 °С сделали высевы на чашки Петри с эритритагаром и средой Эндо. В результате во всех посевах получен сливной рост.

2. Для следующих испытаний использовали смыв суточной агаровой культуры аэрмонад с эритритагара изотоническим раствором хлорида натрия (ИРХН). После получения однородной суспензии ее разлили в 4 флакона по 100 мл, а для проверки активности препарата эту же культуру аэрмонад внесли в исходный (из упаковочного флакона) и водный маточный (1:1000) раствор ДЕЗАВИДА. Дозировки вносимого препарата ДЕЗАВИД были аналогичные предыдущим. Контрольный высев был сделан через 1,5 часа (табл. 17).

Таблица 17. Чувствительность аэрмонад к различным концентрациям ДЕЗАВИДА

№№	Доза ДЕЗАВИДА, мг/л	Уровень обсемененности, КОЕ/мл
1	Контроль	Сливной рост
2	4	320
3	8	220
4	16	60
5	Маточный раствор	роста нет
6	ДЕЗАВИД(исход.р-р)	-//-

3. Дальнейшие исследования было решено провести с чистыми культурами микроорганизмов, часто выделяющимися из воды и комбикормов и представляющих интерес с этиологической точки зрения: капсулообразующими кишечными палочками (*Escherichia coli*), спорообразующими (*Bacillus sp.*) и неферментирующими щелочеобразователями (*Moraxella sp.*).

Для проведения эксперимента суточные агаровые культуры бактерий смывали ИЗХН, добавляли воду из аквариальной емкости с рыбой и каждую разливали по 4 флакона. В три флакона добавляли ДЕЗАВИД в испытываемых концентрациях, 4-ые служили контролем. Высев делали через час на чашки с эритритагаром (табл. 18).

Таблица 18. Чувствительность *E. coli*, *Bacillus sp.* и *Moraxella sp.* к ДЕЗАВИДУ

Доза ДЕЗАВИДА, мг/л	Уровень обсемененности, КОЕ/мл		
	<i>E. coli</i>	<i>Bac. sp.</i>	<i>Moraxella sp.</i>
4	сливной рост	сливной рост	420
8	сливной рост	сливной рост	480
32	1868	280	420
Контроль	сливной рост	сливной рост	480

Для исключения влияния имеющихся в воде органических частиц эксперимент повторили с водой из аквариальной, отфильтрованной через ватные фильтры. Дозировки ДЕЗАВИДА взяли соответствующие результатам, полученным в экспериментах на рыбе. Высев через час и через сутки делали на чашки с эритритагаром и средой Эндо (табл. 19).

Таблица 19. - Активность ДЕЗАВИДА на фильтрованной воде из рыбоводной емкости

Доза ДЕЗАВИДА, мг/л	Уровень обсемененности, КОЕ/мл			
	через час		через сутки	
	эритритагар	Эндо	эритритагар	Эндо
3	роста нет	роста нет	400	346
6	роста нет	роста нет	760	160
32	роста нет	роста нет	140	роста нет
Контроль	1100	860	19200	16600

Эта серия экспериментов проводилась в небольших пластиковых емкостях (по 5 л), которые нельзя было тщательно простерилизовать, поэтому опыт был повторен с использованием стерильных колб, а воду фильтровали через стерильные марлевые салфетки. Опыт провели в двух повторностях. В первой повторности при высеве через час из контрольной колбы на чашки с эритритагаром, Эндо, Сабуро и энтерококкагар выросло соответственно 39890, 7100, 40 и 160 КОЕ/мл, через сутки – сливной рост. В посевах из колб с ДЕЗАВИДОМ3, 6 и 32 мг/л – рост бактериальной флоры по стандартной методике не обнаружен.

Во второй повторности были получены аналогичные результаты, но чашки не были автоклавированы и через трое суток на чашках 3 мг/л – отмечен рост 60 КОЕ/мл *Vac. sp.*, на чашках 6 и 32 – 180 КОЕ/мл и 160 КОЕ/мл *Moraxella sp.*

4. Следующее испытание ДЕЗАВИДА проведено в условиях производственного эксперимента на одном из осетровых рыбоводных предприятий с замкнутым циклом водоснабжения. В лотках с молодью осетра использовали 2 препарата - ДЕЗАВИД(30 мг/л) и хлорамин (20 мг/л). После часовой экспозиции сделали высев на чашки с эритритагаром и средой Эндо (табл. 20).

Таблица 20. - Результаты обработки воды в лотках ДЕЗАВИДОМ(2) и хлорамином и исходные характеристики с контролем

Проба	Уровень контаминации, КОЕ/мл	
	Эритритагар	Эндо
Контроль	5240	1420
ДЕЗАВИД	380	роста нет
Хлорамин	80	20

Таким образом результаты изучения дезинфицирующих свойств ДЕЗАВИДА позволяют заключить следующее:

- 1) Мясо-пектонный бульон и органические вещества, присутствующие в аквариальной воде, где содержалась рыба, в значительной степени снижают антибактериальную активность ДЕЗАВИДА (нейтрализуют его). На отфильтрованной воде активность препарата более высокая.
- 2) Показано, что у капсулообразующих микроорганизмов, бацилл и моракселл чувствительность к ДЕЗАВИДУ более низкая по сравнению с аэромонадами.
- 3) Отмечено, что на чашках с эритритагаром и Эндо дополнительный рост колоний отмечается до 5 суток. Это говорит о том, что препарат полностью не убивает микроорганизмы, т.е. оказывает бактериостатическое действие. Поэтому, если учесть результаты 5-дневной инкубации, то в опытах на рыбоводном предприятии (табл. 4) результаты в посевах пробы 2 на эритритагаре и Эндо будут не 388 и роста нет, а 600 и 120 КОЕ/мл соответственно. В пробе 3 – не 80 и 20, а 120 и 100 КОЕ/мл соответственно.
- 4) Снижение ОМЧ почти в 9 раз в условиях УЗВ после обработки ДЕЗАВИДОМ позволяет дать препарату положительную характеристику и рекомендовать его применение в аквакультуре как эффективный дезинфектант.

3. Оценка эффективности использования ДЕЗАВИДА при транспортировке живой рыбы

Исследования проведены на молоди стерляди массой 100-130 г и молоди карпа массой 30-50 г в экспериментальных условиях. В аквариумах с объемом воды по 10 л были смоделированы условия перевозки, идентичные таковым при перевозки живой рыбы (в том числе молоди) автотранспортом в специальных термоконтейнерах. Были соблюдены следующие условия содержания рыбы:

- соотношение воды и рыбы (по массе): для осетровых - 20:1, для карпа - 7:1;
- температура воды – 10,9 - 13,0⁰С;
- содержание кислорода в воде (при аэрации газообразным кислородом) –20,3-22,3 мг/л (186-202% насыщения);
- время «перевозки» - 36 часов.

Рыба была рассажена в 5 аквариумов: один с молодью стерляди и четыре с молодью карпа. ДЕЗАВИД добавляли в воду непосредственно перед посадкой рыбы. Первоначально использовали две дозировки 10 мг/л (в аквариум со стерлядью и в одном аквариуме с карпом) и 30 мг/л (в аквариуме с карпом). Четвертый аквариум (с карпом) был контрольным, в который ДЕЗАВИД не добавляли. Исходный уровень бактериальной обсемененности воды перед посадкой рыбы составил 2,4 тыс. КОЕ/мл. В основном это были аэромонады и бактерии группы кишечной палочки.

Эффективность действия ДЕЗАВИДА оценивали по результатам бактериологического анализа воды до внесения препарата, через 1 час после внесения препарата и посадки рыбы и через 24 часа – время «транспортировки» (табл. 21).

Таблица 21. – Бактериальная обсемененности воды при транспортировке рыбы

№ емкости	Вид рыбы, дозировка препарата	Общее микробное число, тыс. КОЕ/мл		Микробиоценоз воды
		через 1 ч.	через 24 ч.	
1	Стерлядь, 10 мг/л	0,78	23,5	Аэромонады, бактерии группы кишечной палочки (БГКП)
2	Карп, 10 мг/л	3,0	39,3	-//-
3	Карп, 30 мг/л	3,7	28,2	-//-
4	Карп, контроль	4,3	40,0	-//-

С учетом того, что состояние рыбы в течение суток в опытных (где добавляли ДЕЗАВИД) и контрольной емкостях было без заметного угнетения, в опытные аквариумы повторно внесли ДЕЗАВИД: в две емкости – со стерлядью (№1) и карпом (№2) в дозе 30 мг/л, а во вторую опытную емкость с карпом (№3) в дозе 60 мг/л

Последующее наблюдение показало, что рыба во всех аквариумах при внесении ДЕЗАВИДА и в последующие часы не проявляла какого-либо беспокойства или угнетения и сохранила жизнедеятельность до конца эксперимента, а также после пересадки ее в дальнейшем в рыбоводные бассейны.

Результаты бактериологического анализа воды показали следующее:

1. Посадка и содержание рыбы в «транспортных» емкостях привела к значительному росту микробной обсемененности воды. В контрольной емкости (с карпом) уже через 1 час она выросла с 2,4 до 4,3 тыс. КОЕ/мл, а через 24 часов до 40 тыс. КОЕ/мл.

2. Добавление ДЕЗАВИДА уже в течение первого часа позволило снизить количество бактерий в емкости со стерлядью более чем в 4 раза (с 2,4 до 0,78 КОЕ/мл), а в емкостях с карпом бактериальная обсемененность воды по сравнению с контролем была ниже на 14-30%.

3. К концу опыта (через 24 часа) общее микробное число воды в целом возросло, однако в опытных емкостях оно было в 1,5 раза ниже чем в контрольной. Микробиоценоз воды был представлен в основном аэромонадами, а также бактериями группы кишечной палочки (*Escherichia coli* и другими).

Дополнительное внесение ДЕЗАВИДА в опытные емкости в рыбой (в емкости №1 (со стерлядью) и №2 (с карпом) - в дозе 30 мг/л, в емкость №3 (с карпом) – 60 мг/л.) спустя 24 часа после начала эксперимента не вызвали какого-либо отрицательного влияния препарата на поведение рыбы и ее жизнедеятельность в последующие 12 часов содержания в этих аквариумах.

Таким образом, добавка ДЕЗАВИДА в воду живорыбных емкостей для транспортировки рыб позволяет значительно в 1,5-4 раза снизить содержание потенциально опасных для рыб бактерий без какого-либо заметного угнетения перевозимой рыбы. Это позволяет рекомендовать применение ДЕЗАВИДА при транспортировке живой рыбы в следующих дозировках: для осетровых рыб 10-20 мг/л, для карпа – 30 и даже 60 мг/л.

3. Оценка возможности использования средства ДЕЗАВИД для дезинфекции помещений, рыбоводного оборудования и инвентаря (по материалам НИИ дезинфектологии Минздрава России)

В 2002-03 годах НИИ дезинфектологии Минздрава РФ по договору №44/02 –Д от 21.03.2002 г. была проведена НИР по лабораторно-экспериментальному изучению дезинфицирующих свойств средства ДЕЗАВИД производства ООО «Адекватные технологии» (Москва, 2003 г.). В результате проведенного исследования были разработаны эффективные режимы использования ДЕЗАВИДА для дезинфекции поверхностей в помещениях, жесткой мебели санитарно-технического оборудования, белья, посуды, предметов ухода за больными, игрушек, уборочного инвентаря, резиновых коврик, центральных систем водоснабжения, нагревательных систем, систем кондиционирования воздуха изделий медицинского назначения, включая стоматологические инструменты при инфекциях бактериальной (включая туберкулез), вирусной и грибковой (кандидозы и дерматофитии) этиологии в лечебно-профилактических и детских учреждениях, на коммунальных объектах (гостиницы, общежития, бани, бассейны, спорткомплексы, парикмахерские), предприятиях общественного питания; на потребительских промышленных рынках, в учреждениях социального обеспечения, пенитенциарных учреждениях и населением в быту против широкого круга грамотрицательных и грамположительных бактерий (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, *Mycobacterium B₅*), вирусов (на примере Poliovirus 1 типа) и грибов (родов *Candida* и *Trichophyton*).

Подавляющая часть возбудителей бактериальных заболеваний культивируемых рыб (в основном грамположительные и некоторые грамотрицательные бактерии) и некоторых микозов (*Candida* и другие) охватываются тем спектром тест-микроорганизмов, которые были использованы специалистами НИИ дезинфектологии при изучении дезинфицирующих свойств средства ДЕЗАВИД. Поэтому рекомендованные ими режимы дезинфекции поверхностей и санитарно-технического оборудования (табл. 22) могут быть эффективно использованы и для дезинфекции инкубационных цехов и других производственных помещений, рыбоводных бетонных и пластиковых бассейнов и лотков, рыбоводного инвентаря, сетного материала (дели), инструментов и лабораторной посуды, заполнения дезбарьеров и дезковриков.

При этом рыбоводные бассейны, лотки, живорыбные транспортные емкости, рыбоводное оборудование и инвентарь перед дезинфекцией должны быть предварительно

очищены от загрязнений и промыты чистой водой. Норма расхода рабочего раствора дезсредства при орошении и протирании составляет – 40 мл/м², при двойном протирании – 80 мл/м².

Также было установлено, что срок хранения рабочего раствора дезинфектанта составляет не более 7 суток в емкости с плотно закрытой крышкой вдали от прямых солнечных лучей. Рабочие растворы средства для дезинфекции посуды и инструментов можно использовать многократно в течение срока годности.

Таблица 22. – Режимы дезинфекции различных объектов рыбоводных предприятий и живорыбного транспорта против бактериальных инфекций рыб

Объекты обеззараживания	Концентрация рабочего раствора (по препарату, %)	Время обеззараживания, мин.	Способ обеззараживания
1. Поверхности производственных помещений, жесткая мебель.	1,0	30	протирание
	1,0	60	орошение
2. Рыбоводные бассейны и лотки (бетонные, пластиковые), транспортные живорыбные емкости (металлические, пластиковые), инкубационные аппараты, устройства для сортировки рыбы, брезентовые носилки.	3,0	30	орошение
3. Транспортные средства (колеса, наружные поверхности), пантонные садковые линии	3,0	30	орошение
4. Рыбоводный инвентарь (сачки, щетки, сетное полотно садков, невода),	3,0	60	Погружение
5. Посуда (тазы, ведра) спецодежда (сапоги, прорезиненные фартуки, куртки, плащи).	3,0	30	протирание

6. Лабораторная посуда, инструменты	1,0	30	погружение
7. Заправка дезбарьеров и дезковриков	3,0	1 раз в неделю	-

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты изучения эколого-токсикологических и дезинфицирующих свойств средства ДЕЗАВИД, производства ООО «Адекватные технологии» с целью его применения в аквакультуре, позволяют заключить следующее:

1. ДЕЗАВИД концентрации 2-8 мг/л не оказывает заметного отрицательного влияния на содержания кислорода, а также численность фито-и зоопланктона в воде рыбоводного пруда.
2. Препарат в концентрациях 8 – 800 мг/л (как при кратковременном, так и при длительном воздействии) оказывает отрицательное действие на икру в виде снижения количества выклюнувшихся личинок (в 1,5 – 2 раза). После обработки препаратом увеличивается количество икринок с неразвивающимися эмбрионами, а также количество икринок пораженных паразитическим грибом сапролегнией
3. На основании лабораторных испытаний установлены параметры острой и хронической токсичности ДЕЗАВИДА рыб разного водраста и вида:
 - для личинок карпа $LK_{100} = 100$ мг/л, $LK_{50} = 57$ мг/л. Концентрации средства до 4 мг/л не оказывают токсического влияния.
 - для крупной молоди карпа летальные концентрации ДЕЗАВИДА значительно выше - $LK_{100} = 800$ мг/л, $LK_{50} = 110$ мг/л. При 80 мг/л рыба не гибнет, но проявляет признаки угнетения и повышенного слизиотделения.
 - для молоди стерляди более чувствительной к ДЕЗАВИДУ эти показатели составили $LK_{100} = 16$ мг/л, $LK_{50} = 12$ мг/л. При 8 мг/л – лишь признаки угнетения.
 - для молоди форели токсические концентрации ДЕЗАВИДА ещё ниже: LK_{100} составила 8 мг/л, $LK_{50} = 6$ мг/л. При 4 мг/л – заметных признаков токсического воздействия не обнаружено.
4. Установлено, что в открытых водоемах, рыбоводных прудах и бассейнов даже небольшое наличие в воде органического вещества значительно снижает (инактивирует) токсическое воздействие ДЕЗАВИДА. Так для молоди радужной форели при перманганатной окисляемости (ПО) воды 3-6 мгО₂/л LK_{50} составляет 133 мг/л, т.е. в 20 раз выше, чем при содержании той же форели на артезианской воде, где ПО = 0,7-1,2 мгО₂/л (LK_{50} составляла 6 мг/л),
Для молоди стерляди летальные концентрации ДЕЗАВИДА при ПО 2,7-3 мгО₂/л также были значительно выше - $LK_{100} = 150$ мг/л, $LK_{50} = 139$ мг/л, а концентрация ДЕЗАВИДА 16 мг/л даже при длительном воздействии не вызывала гибели и снижения активности рыбы.

5. Лабораторные испытания по оценке хронической токсичности ДЕЗАВИДА показали, что

длительное воздействие ДЕЗАВИДА в испытываемых концентрациях (3 мг/л для радужной форели, 3 и 6 мг/л для стерляди, 8 и 32 мг/л для карпа) не отразилось на выживаемости рыб, но зафиксировано отрицательное воздействие препарата на прирост рыб и ухудшение некоторых физиологических показателей (снижение уровня гемоглобина, небольшое снижение числа лейкоцитов при слабом токсическом воздействии у радужной форели и карпа и увеличение их числа при более сильном влиянии препарата у стерляди).

Оценка дезинфицирующих свойств ДЕЗАВИДА по отношению к основным бактериальным патогенам рыб (аэромонады, спорообразующие и капсулообразующие бактерии, моракселлы и ацинетобактеры) показали, что при кратковременной обработке рыб в концентрациях 10-30 мг/л он обладает выраженным бактерицидным действием. Его испытание в опытно-производственных условиях в дозировке 30 мг/л и экспозиции 1 час более чем в 10 раз снижает уровень общего микробного числа (ОМЧ) воды в рыбоводной емкости.

Кроме того результаты исследования проведенные НИИ дезинфектологии Минздрава России против широкого круга бактериальных, грибковых и вирусных патогенов позволяют рекомендовать ДЕЗАВИД также и для дезинфекции инкубационных цехов и других производственных помещений, рыбоводных бетонных и пластиковых бассейнов и лотков, рыбоводного инвентаря, сетного материала (дели), инструментов и лабораторной посуды, заполнения дезбарьеров и дезковриков.

Литература

Мусселиус В.А. и др. Лабораторный практикум по болезням рыб. – М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1983. – 293 с.

Павлова И.Б., Григанова Н.В., Банникова Д.А., Попов Н.И., Архипова Н.Д. Дезинфицирующая активность йодеза и его композиций против микобактерий. Ветеринария. 2003. - №7. – С. 9-11.

Павлович Г.М., Жуков Н.И., Хотева Г.М. Противозпизоотические мероприятия на рыбоводных предприятиях Росрыбхоза. Ветеринария. 2006. - №3. – С. 18-20.

Щербина М.А., Киселев А.Ю., Касаткина А.Е. выращивание карпа в прудах. Минск: Урожай, 1992. – 136 с.

Отчет ГУ НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н.Сысена РАМН о выполнении НИР «Санитарно-эпидемиологическая оценка безопасности и эффективности дезинфицирующего средства «ДЕЗАВИД-концентрат» производства ФГУП «Московский областной центр дезинфекции» (Россия) по технологии фирмы ООО «Адекватные технологии». М., 2009. – 65 с.

Лесников Л.А. Временные методические указания по установлению предельно допустимых концентраций вредных веществ в воде рыбохозяйственных водоемов Л., изд-во ГосНИОРХ, 1973.

Лесников Л.А. Разработка нормативов допустимого содержания вредных веществ в воде рыбохозяйственных водоемов. Л., ГосНИОРХ, 1979, вып.144- с. 3-41

Метелев В.В., Канаев А.И., Дзасохов Н.Г. Водная токсикология. М., изд-во «Колос», 1971 -287 с.

Научный отчет «Лабораторно-экспериментальное изучение дезинфицирующего средства ДЕЗАВИД ООО «Адекватные технологии», Россия. НИИ дезинфектологии Минздрава России, М. 2003 г. – 22 с.