

ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ В РАБОТАХ ПО КУЛЬТИВИРОВАНИЮ КАМЧАТСКОГО КРАБА (*PARALITHODES CAMTSCHATICUS*)

Р.Р. Борисов, Р.О. Лебедев, А.В. Паршин-Чудин

Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и
океанографии, г. Москва

Введение

Камчатский краб *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1815) также как и многие другие морские представители отряда Decapoda в своем развитии проходит стадию планктонной личинки зоэа (рис. 1.А), которая внешне мало похожа на взрослую особь.

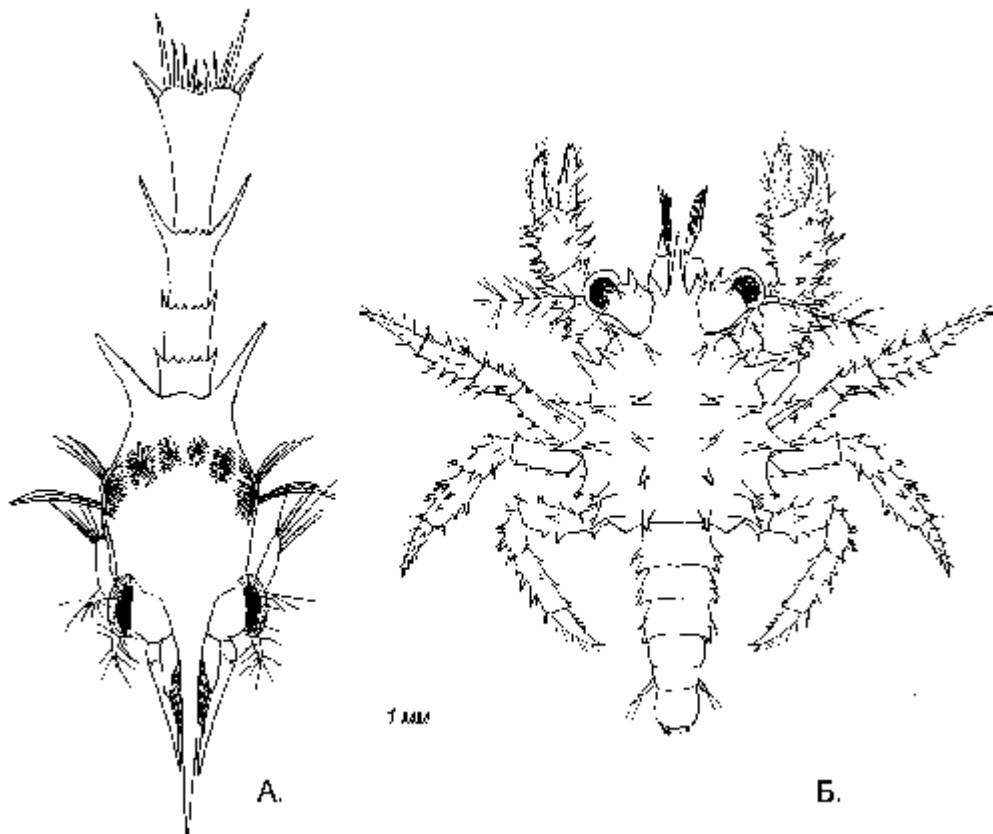


Рис. 1. Внешний вид зоэа II (А) и глаукотоэ (Б) камчатского краба.

Продолжительность планктонного периода в естественной среде составляет 2-3 месяца, а в искусственных условиях при температуре 8°C около месяца. Всего за этот период личинка камчатского краба линяет три

раза и проходит четыре стадии зоэа, зоэа IV линяет на следующую в жизненном цикле стадию – глаукотоэ (рис. 1.Б).

Глаукотоэ уже гораздо больше похожа на взрослую особь, но может подниматься в толщу воды, используя плеоподы. Основной функцией глаукотоэ является поиск подходящего субстрата для оседания, и за все время своего существования (при температуре 8°C это около трех недель) она не питается. Зоэа и глаукотоэ – самые уязвимые и чувствительные к условиям окружающей среды стадии в жизненном цикле камчатского краба.

На данный момент в литературе отсутствуют данные о применении каких-либо лекарственных препаратов при выращивании личинок камчатского краба и неизвестно, какое действие могут оказывать на личинок препараты уже широко используемые в аквакультуре. В качестве первых шагов для решения этих вопросов нами было проведено исследование, имевшее целью выяснить принципиальную возможность использования препаратов антибактериального и более широкого спектра действия при выращивании личинок камчатского краба.

Методика

В 2008-2009 гг. в лаборатории воспроизводства и культивирования ракообразных Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО) нами проведены работы по изучению влияния лекарственных препаратов на личинок камчатского краба. Испытаны препараты производства ООО "Научно-Внедренческий Центр АгроВетзащита" "Антибак" (основное действующее вещество: ципрофлоксацин (*Ciprofloxacinum*) антибактериальный препарат из группы фторхинолонов II поколения), антибактериальный иммунизирующий препарат широкого спектра действия, и "Антипар" (основные компоненты: малахитовый зеленый ($C_{23}H_{25}ClN_2$), метиленовый синий ($C_{16}H_{18}ClN_3S \cdot H_2O$), стабилизированный формалин (CH_2O , в качестве стабилизатора чаще всего используется метиловый спирт), комплексный препарат широкого спектра действия для лечения эктопаразитарных, грибковых, бактериальных и инвазионных болезней. Оба препарата активно используются при лечении рыб. По данным производителя "Антибак" по степени токсического воздействия на организм относится к малоопасным веществам для теплокровных (4 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76) и рыб, а "Антипар" по отношению к рыбам, обладает минимальным уровнем токсичности.

Существует ряд работ, в которых рассматривается влияние ципрофлоксацина на ракообразных (Fang et al., 2007; Wu et al., 2006). Малахитовый зеленый, метиленовый синий, формалин, входящие в состав "Антипара", используются в аквакультуре ракообразных (McVey, 1993; Speare et al., 1996; Boghen, 2006; Мицкевич, 2006 и др.).

В первом эксперименте оценивали выживаемость личинок при применении трех концентраций препаратов в течение суток. В емкости (объемом 0,8 л) высадили по 40 личинок стадии зоэ II. Концентрация препарата в экспериментальных емкостях с добавлением "Антибака": 1,25 ед./л, 2,5 ед./л и 5 ед./л и 0 ед./л в контроле и "Антипара" составила: 0,01 мл/л, 0,02 мл/л, 0,04 мл/л и 0 мл/л в контроле. Выбранные концентрации препаратов составляют 0,5, 1 и 2 от концентраций рекомендуемых производителем для лечебных мероприятий. Каждый вариант эксперимента выполнен в трех повторностях. В качестве корма использовали живые науплии артемии из расчета 600-800 экз./л. Спустя сутки во всех емкостях, включая контроль, провели полную замену воды (свежая вода не содержала лекарственных препаратов) и определили число погибших личинок. Еще через сутки повторно определили число живых и погибших личинок. Также на протяжении эксперимента отмечали наличие экзувиев (шкурок, сброшенных личинками во время линьки на третью стадию зоэ).

Во втором эксперименте оценивали выживаемость личинок при длительном (5 суток) применении препаратов в концентрациях рекомендуемых производителем. В емкости (объемом 0,8 л) высадили по 40 личинок стадии зоэ IV. Поставлено три варианта экспериментальных емкостей: "Антибака" – с концентрацией 2,5 ед./л, "Антипара" – с концентрацией 0,02 мл/л и контроль. Каждый вариант эксперимента выполнен в пяти повторностях. В емкостях ежедневно проводили смену воды, вносили корм, определяли число перелинявших на стадию глаукотоэ и количество погибших особей, оценивали причины гибели. Концентрации "Антибака" и "Антипара" поддерживали в емкостях в течение первых пяти суток эксперимента. Общая продолжительность эксперимента составила 10 суток.

Все эксперименты проведены на искусственной морской воде, приготовленной из соли – “HW-Marinemix professional” (Wiegandt GmbH, Sterkenhofweg 13, D-47807, Krefeld, Germany) с соленостью 32-35‰. Личинок содержали при температуре 7-8°C. Экспериментальные емкости

были оборудованы аэрацией. В качестве корма использовались живые науплии артемии из расчета 600-800 экз./л.

Для статистической обработки данных использовали программы Excel и STATISTICA 6.0. Достоверность различий рассчитывали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни.

Результаты

В первом эксперименте для всех вариантов была зафиксирована высокая выживаемость личинок, а выживаемость личинок в экспериментальных группах достоверно не отличалась от контроля (рис. 2, 3).

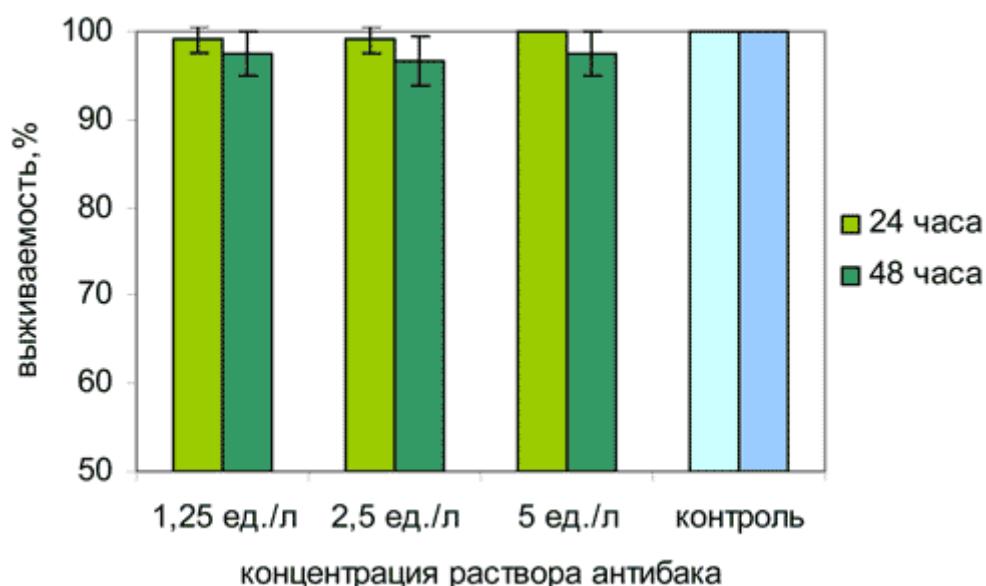


Рис. 2. Выживаемость личинок камчатского краба при разных концентрациях препарата "Антибак" в течение одних и двух суток.
Вертикальные линии – стандартное отклонение.

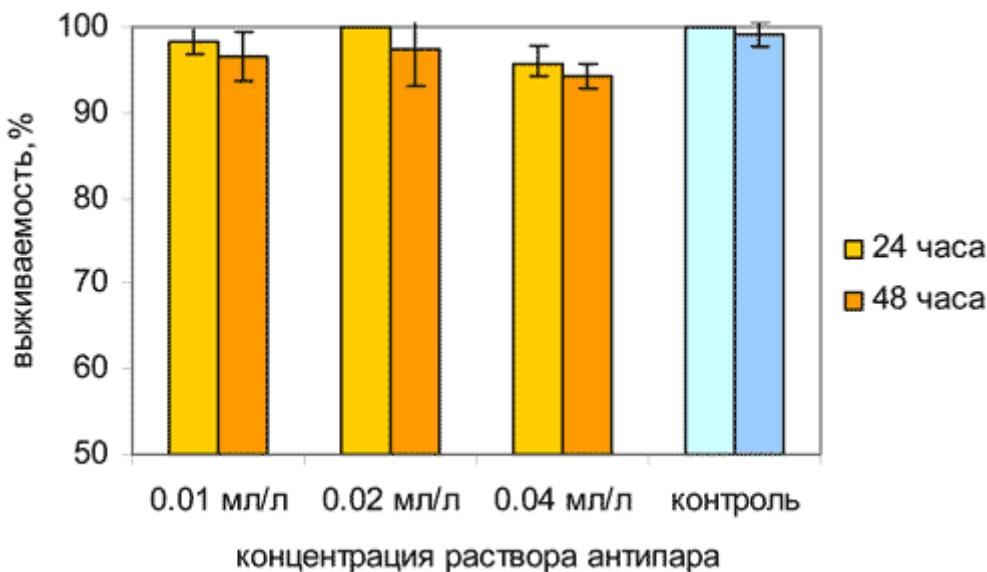


Рис. 3. Выживаемость личинок камчатского краба при разных концентрациях препарата "Антипар" в течение одних и двух суток.
Вертикальные линии – стандартное отклонение.

Гибель за двое суток не превышала 1-3 особей на емкость. При этом гибель личинок не всегда можно связывать только с действием препарата, так как она могла быть следствием механических травм при пересадке, каннибализма среди личинок или проблем, возникших во время линьки. Максимальный отход – 5% зафиксирован среди личинок, содержащихся при концентрации "Антипара" 0,04 мл/л.

Время проведения второго эксперимента совпало с массовой линькой личинок на стадии глаукотоэ. Это один из самых ответственных моментов в жизненном цикле камчатского краба. Выживаемость на 10 сутки (рис. 4) эксперимента в контроле составила в среднем 49% ($SD \pm 11\%$) (16 зоэа IV / 81 глаукотоэ), в варианте с применением "Антибака" 61% ($SD \pm 14\%$) (9 зоэа IV / 112 глаукотоэ) и в варианте с применением "Антипара" 37% ($SD \pm 2\%$) (25 зоэа IV / 50 глаукотоэ). Выживаемость в вариантах эксперимента с "Антибаком" и "Антипаром" достоверно различались ($p=0,009$).

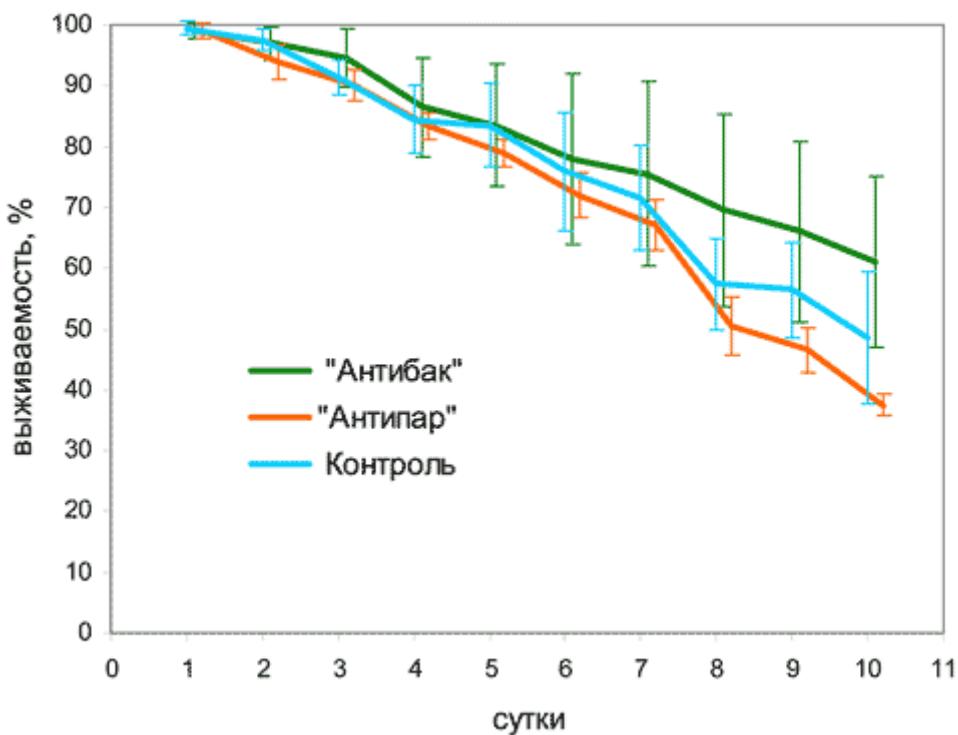


Рис. 4. Выживаемость личинок камчатского краба при использовании препаратов "Антибак" и "Антипар" в течение десяти суток.
Вертикальные линии – стандартное отклонение.

Обсуждение

Применение "Антибака" улучшило выживаемость и способствовало удачной линьке на стадию глаукотоэ. Это свидетельствует о том, что "Антибак" и содержащийся в нем ципрофлоксацин, вероятно, не оказывают негативного воздействия на личинок краба и могут применяться при работах по воспроизведству камчатского краба для борьбы с бактериальными инфекциями. Поскольку личинок камчатского краба можно считать достаточно чувствительным тестовым объектом, можно предполагать, что данный препарат безопасен и для других видов десятиногих ракообразных.

Результаты второго эксперимента подтвердили наши опасения относительно негативного воздействия "Антипара" на личинок, скорее всего проявляющегося в нарушении процессов линьки. Можно предполагать, что причиной этого явился формальдегид, содержащийся в "Антипаре". О негативном влиянии формалина на линьку личинок ракообразных указывают и данные других авторов (Castille and Lawrence, 2007). Однако следует также отметить, что даже длительное (в течение 5 суток) применение "Антипара" не вызвало массовой гибели личинок.

Полученные данные заставляют с осторожностью относиться к возможности применения этого препарата при наличии личинок ракообразных.

Заключение

Применение "Антибака" улучшило выживаемость личинок камчатского краба. Это свидетельствует о том, что "Антибак" и содержащийся в нем ципрофлоксацин, вероятно, не оказывают негативного воздействия на личинок и могут применяться при работах по воспроизведству камчатского краба для борьбы с бактериальными инфекциями.

Применение "Антипара" не вызвало массовой гибели личинок. Однако при его применении наблюдалось снижение выживаемости личинок, что заставляет с осторожностью относиться к возможности применения препарата при наличии личинок ракообразных.

Литература

Мицкевич О.И., 2006. Раколовство и раководство на водоемах Европейской части России. – С-Пб: ГосНИОРХ. 207 с.

Boghen A.D., 2006. Sensitivity of juvenile lobsters, *Homarus americanus* L., to different concentrations of malachite green during various states of the intermoult cycle // J. of Fish Diseases. V. 9, Iss. 3. P. 243–248.

McVey J.P., 1993 CRC handbook of mariculture: crustacean aquaculture. CRC press, Boca Raton. 526 pp.

Fang W.H., Shuai Z., Yu H.J., Hu L.L., Kai Z., Liang S.C., 2007. Pharmacokinetics and tissue distribution of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in *Scylla serrata* following oral gavage at two salinities // Aquaculture. V. 272. № 1–4. P. 180–187.

Wu G., Meng Y., Zhu X., Huang C., 2006. Pharmacokinetics and tissue distribution of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in the Chinese mitten-handed crab, *Eriocheir sinensis* // Anal. Biochem. V. 358. № 1. P. 25–30.

Castille F.L., Lawrence A.L., 2007. The toxicity of erythromycin, minocycline, malachite green, and formalin to nauplii of the shrimp *Penaeus stylirostris* // J. of the World Aquaculture Society V. 17 Is. 1-4, P. 13-18.

Speare D.J., Cawthorn R.J., Horney B.S., MacMillan R., MacKenzie A.L.
1996. Effects of formalin, chloramine-T, and low salinity dip on the behavior and hemolymph biochemistry of the American lobster // Can Vet J. V. 37. № 12. P. 729–734.