

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/283509355>

# MANUAL FOR USING OF THE ANESTHETICS "CLOVE OIL" IN AQUACULTURE РУКОВОДСТВО ПО ПРИМЕНЕНИЮ АНЕСТЕТИКА "ГВОЗДИЧНОЕ МАСЛО" В АКВАКУЛЬТУРЕ

Book · January 2011

CITATIONS

0

READS

349

5 authors, including:



[E. V. Mikodina](#)

Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography

23 PUBLICATIONS 129 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



[Svetlana Piyanova](#)

Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography

24 PUBLICATIONS 40 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Wally Pollok Theragra Chalcogramma Gender Gametogenesis and Its Maturity Stages [View project](#)



Федеральное агентство по рыболовству

**Научно-технические и методические  
документы**

**Аквакультура**

**ВЫПУСК 6**

**РУКОВОДСТВО ПО ПРИМЕНЕНИЮ  
АНЕСТЕТИКА «ГВОЗДИЧНОЕ МАСЛО»  
В АКВАКУЛЬТУРЕ**

Издательство ВНИРО

Москва • 2011

**Федеральное агентство по рыболовству**

**Федеральное государственное унитарное предприятие**

**Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии**

**(ФГУП «ВНИРО»)**

**Научно-технические и методические документы**

**АКВАКУЛЬТУРА**

**ВЫПУСК 6**

**РУКОВОДСТВО ПО ПРИМЕНЕНИЮ  
АНЕСТЕТИКА "ГВОЗДИЧНОЕ МАСЛО"**

**В АКВАКУЛЬТУРЕ**

**Издательство ВНИРО**

**Москва 2011**

УДК 597.639.3:615.211

**Авторы-составители:**

**ФГУП "ВНИРО"**, Россия - д-р биол. наук, профессор Е.В. Микодина, канд. биол. наук М.А.

Седова, канд. биол. наук С.В. Пьянова;

**СЕНАКВА** (Исследовательский центр аквакультуры и биоразнообразия гидроценозов

Университета Южной Богемии), Чешская Республика – инженер, PhD. Я. Коуржил, инженер Й.

Гамачкова.

**Рецензенты:** д-р биол.наук Н.В. Кловач (ВНИРО), к. биол.наук В.Н. Кошелев (Хабаровский

филиал ТИНРО-центра).

Р 49 Аквакультура. Выпуск 6. **Руководство** по применению анестетика "гвоздичное масло" в

аквакультуре. – М.: Изд-во ВНИРО, 2011. - 58 с.

Научно-технический и методический документ содержит описание общих свойств анестетика для рыб - гвоздичного масла, его влияния на организм рыб, приводятся данные о видовой специфичности характеристик и продолжительности разных фаз анестезии, а также их зависимость от температуры воды. Описан способ применения данного анестетика в практике аквакультуры для различных видов рыб, в том числе ценных промысловых объектов.

Для специалистов области аквакультуры, ихтиологии.

Одобрено Ученым Советом ФГУП "ВНИРО" № 15 17 мая 2011 г.

ISBN 978-5-85382-429-4

© Издательство ВНИРО, 2011

## ПРЕДИСЛОВИЕ

В мировой аквакультуре третьего тысячелетия важной составляющей рыбоводной биотехники является использование анестетиков, или наркотизирующих препаратов, которые способствуют снижению стресса, предупреждают механические травмы рыб при рыбоводных манипуляциях, способствуют их сохранению. Анестезию используют также при ихтиологических исследованиях с применением хирургических имплантов, в частности, электронных чипов при мечении. Кроме того, применение анестетиков необходимо в свете современных требований российского и международных законодательств о защите животных и гуманном отношении к ним. В связи с этим, актуальность выхода в свет Руководства по применению в аквакультуре одного из современных, натуральных анестезирующих препаратов – гвоздичного масла, не вызывает сомнений.

В предлагаемом читателю Руководстве проанализированы литературные источники, касающиеся особенностей применения анестетиков, в том числе гвоздичного масла, в мировой, европейской и отечественной аквакультуре, а также многолетние экспериментальные исследования авторов по разработке методик применения гвоздичного масла для минимизации манипуляционного стресса у объектов искусственного воспроизводства и аквакультуры. Авторы разработали ряд методик анестезии с помощью гвоздичного масла для многих видов рыб – объектов аквакультуры, в том числе: карпа, белого и черного амуров, европейского и клариевого сомов, ельца, серебряного карася, красноперки, ряда других видов, лососевых рыб, что особенно ценно – осетровых. Последнее представляется важным в условиях интенсификации мероприятий в области осетроводства, эксплуатации маточных стад осетровых рыб, их товарного выращивания. В издании приведены особенности приготовления анестетика, продолжительность фаз анестезии и его действие на различные виды рыб. Подчеркнуты

преимущества гвоздичного масла для применения в рыбоводной практике: отсутствие негативных физиологических последствий для организма рыб, экономическая выгода и доступность.

Достоинством издания является комплексный подход, изложение доступным и понятным языком всех аспектов применения анестетика «гвоздичное масло». Издание снабжено обширным библиографическим списком и исчерпывающим иллюстративным материалом.

Оно окажется полезным ученым-ихтиологам, рыбоводам, а также преподавателям и студентам высших и средних специальных учебных заведений, которые могут использовать его в качестве методического пособия в курсах лекций по специальностям «Ихтиология», «Аквакультура», «Декоративное рыбоводство» и других, проведении практических занятий, полевых практик, выполнении курсовых и дипломных работ.

Зав. лаб. экологии и промысла тихоокеанских лососей ФГУП "ВНИРО", д-р биол. наук Н.В. Кловач,

Старший научный сотрудник лаборатории биоресурсов реки Амур Хабаровского филиала ФГУП "ТИНРО-центр", канд. биол. наук В.Н. Кошелев.

## ВВЕДЕНИЕ

Необходимость защиты животных от жестокого обращения сегодня признана на международном уровне. Европейская конвенция по защите домашних животных № 125 от 13.11.87 запрещает причинение страданий животным, а Европейская Конвенция по защите экспериментальных животных от 1986 г. указывает на необходимость уменьшить страдания животных в эксперименте. Гражданский кодекс РФ от 30.11.1994 г. N 51-ФЗ, Статья 137 запрещает «жестокое обращение с животными, противоречащее принципам гуманности» (Гражданский ..., 2009). Следовательно, использовать анестезирующие средства при работе с рыбохозяйственными объектами необходимо с целью соблюдения законодательств о защите животных.

Немаловажно, что в мировом и отечественном рыбном хозяйстве - ихтиологических исследованиях, аквакультуре, аквариумистике (Kouřil et al., 2006) использование анестетиков, или наркотизирующих препаратов, способствует снижению стресса и предупреждает механические травмы при рыбоводных и ихтиологических манипуляциях. Анестезирующие вещества применяют для кратковременного (на несколько минут) обездвиживания рыб с целью пересадки из одной емкости в другую, для проведения инъекционных работ, для длительного снижения активности рыб (на несколько часов) при их перевозке, а также для искусственного получения половых продуктов, например, у производителей аборигенных малочисленных и краснокнижных видов рыб с целью поддержания их запасов или реституции. В аквакультуре анестетики используют на федеральных и частных рыбоводных заводах при искусственном воспроизводстве и товарном выращивании рыб, в том числе осетровых, а также в природных условиях при проведении научных

ихтиологических и рыбоводных работ. Кроме того, анестезию используют для обезболивания рыб во время хирургических имплантаций, в частности, радиопередатчиков в тело морских рыб для ихтиологических исследований (Blackman, 2002), или электронных чипов при их мечении. Следовательно, перспективы использования анестетиков рыб значительно расширяют возможности рыбоводов и ихтиологов для щадящих методов при манипуляциях с рыбами, в том числе при бонитировке, инъекировании, мечении.

Разработаны требования к идеальному анестетику в рыбоводстве (Marking, Meyers, 1985) и характеристики отдельных веществ (Климонов и др., 1995). В российском и зарубежном рыбоводстве часто используют анестетики (Микодина, 1995), в том числе MS-222 (метакаин, трикаинметансульфонат) и другие каины – на форели *Salmonidae* и осетровых *Acipenseridae* (Никонов и др., 2005); полосатом окуне *Morone saxatilis* (Глубоков и др., 1992), на пиленгасе *Mugil so-iuu* (Kouřil et al., 1992; Mikodina et al., 1995), лине (Hamáčková et al., 2004b) хинальдин (ЛГС-416, винилоксихинолин) и прописцин (0,2% раствор этомидата) – на морских рыбах (Микулин и др., 1992) и осетровых (Никонов и др., 2005; Kolman, 1998), а также хлорэтан (хлорбутанолгидрат) на форели *Oncorhynchus mykiss* (sin *Salmo gairdneri*) (Химические и биологические вещества ..., 1981), уретан (эфир карбаминовой кислоты). Анестетик 2-феноксиэтанол использовали отечественные исследователи при экспериментальном разведении сахалинского тайменя *Parahucho perryi*, при этом анестезия наступала через 3-5 мин (Кораблина, Иванова, 2001; Коуржил, Микодина, Микулин и др., 2009). Анестезия прописцином нами использована на лососевых и карповых *Cyprinidae* видах рыб (Hamáčková et al., 2002), а также

осетровых.

Российско-чешское сотрудничество в области аквакультуры между ФГУП "ВНИРО" и исследовательским центром аквакультуры и биоразнообразия гидроценозов Университета Южной Богемии (CENAKVA) (до 2010 г. – VÚRH) имеет длительную историю, начало которой было положено в 1986 г. Важнейшим направлением совместной научной экспериментальной работы стала разработка современных методов оптимизации рыбоводного процесса (Микодина, 1995; Микодина, Глубоков, 1996; Глубоков и др., 1991; Микодина, Коуржил, 2004). В последнее десятилетие в силу совершенствования отечественной и зарубежной нормативной правовой базы стало необходимым применение анестетиков для снижения стресса при хендлинге у рыб. Этой проблеме были посвящены наши исследования в начале третьего тысячелетия.

В последние два десятилетия в мировой аквакультуре в качестве анестетика все чаще используют натуральный продукт гвоздичное масло, или эвгенол, которое издавна и широко используется в стоматологии, ароматерапии, пищевой промышленности и быту. В 2001-2003 гг. нами было апробировано действие анестетика гвоздичного масла на многих видах пресноводных рыб (табл. 1), используемых в европейской аквакультуре, а уже с 2003 г. ученые ФГУП "ВНИРО" начали инициативные экспериментальные исследования по разработке методик применения этого анестетика для минимизации манипуляционного стресса у объектов российского искусственного воспроизводства и аквакультуры.



**Таблица 1.** Анестетики и объекты рыбоводства, использованные в экспериментах

Год	Анестетик	Вид рыб	Возраст рыб	Место проведения экспериментов
2001	гвоздичное масло, 2-фенокси-этанол, прописцин	речной окунь <i>Perca fluviatilis</i>	производители	Чешская Республика, VÚRH, совместно с сотрудниками ВНИРО
2003	гвоздичное масло	налим <i>Lota lota</i>	производители	
		голец (американская паляя) <i>Salvelinus fontinalis</i>	производители	
		сибирский осетр <i>Acipenser baerii</i>	0+	
2004 - 2009		севрюга <i>A. stellatus</i>	0+	
		стерлядь <i>A. ruthenus</i>	0+	
		белуга <i>Huso huso</i>	5+	
		амурский осетр <i>A. schrenckii</i>	4+	
		сахалинский осетр <i>A. mikadoi</i>	12+	
		кижуч <i>Oncorhynchus kisutch</i>	0+, производители	
		кета <i>O. keta</i>	производители	
сахалинский таймень	производители			
				Россия, ВНИРО (совместно с сотрудниками VÚRH)

Федеральное агентство по рыболовству РФ финансирует лишь с концептуальные отраслевые научные исследования по аквакультуре, но не разработки по оптимизации биотехнологий. Осознавая необходимость совершенствования рыбоводной биотехники в России, а также

учитывая мировой опыт в этом направлении, для разработки метода использования в отечественной аквакультуре и искусственном воспроизводстве нового экологичного анестетика для рыб - гвоздичного масла, мы использовали имеющиеся в ФГУП "ВНИРО" возможности международного сотрудничества. Начиная с 1986 г. и по настоящее время между ФГУП "ВНИРО" и Институтом рыбоводства и гидробиологии Чешской Республики - VÚRH в г. Водняны (с 2011 г. - Исследовательским центром аквакультуры и биоразнообразия гидроценозов Университета Южной Богемии - SENAKVA) действует договор о научном сотрудничестве в области аквакультуры на основе прямых научно-технических связей. Именно благодаря этому договору разработаны научные основы предлагаемого "Руководства по применению анестетика "гвоздичное масло" в аквакультуре". Оно создано на основе российско-чешских исследований, результатом которых стали 23 совместных публикации по данной проблеме. Поскольку почти половина из них (11) издана на чешском или английском языках, представлялось целесообразным резюмировать их, представив в виде практического руководства для российских специалистов по аквакультуре и работников рыбохозяйственной науки.

Результаты данных исследований уже используются научными сотрудниками в России с ориентиром на имеющиеся публикации. Авторы выражают уверенность, что благодаря настоящему Руководству они широко и прочно войдут в практику российской и зарубежной аквакультуры.

## **1. АКТУАЛЬНОСТЬ И ЦЕЛЬ**

Актуальность исследований, направленных на выявление

методических особенностей использования гвоздичного масла как анестетика в рыбоводстве, не вызывает сомнений, о чем свидетельствует его широкое использование в зарубежной аквакультуре. Особую важность данный вопрос имеет в том случае, если анестезия осуществляется в процессе искусственного воспроизводства ценных видов рыб, таких как осетровые, лососевые, карповые, окуневые, а также при работе с ремонтно-маточными стадами и молодью объектов аквакультуры.

Авторы настоящего методического руководства, учитывая требования российского и международных законодательств о защите животных и гуманном отношении к ним, а также интересы рыбоводов по снижению травматизации рыб при различных манипуляциях с ними, пришли к целесообразности детальной разработки нового для российской аквакультуры экологичного метода анестезии, основанного на использовании гвоздичного масла.

Цель данного методического руководства – на основании обобщения сведений о гвоздичном масле и его коммерческих препаратах, а также на базе собственных экспериментальных работ по анестезии с помощью гвоздичного масла рыб – объектов аквакультуры, дать практические рекомендации рыбоводам по использованию данного анестетика при искусственном воспроизводстве и товарном выращивании ценных видов рыб.

Щадящие методы манипуляций с рыбами необходимы для минимизации стресса, возникающего у них при рыбоводных работах. К ним мы относим отлов, бонитировку, инъекцирование производителей, получение половых продуктов, в том числе с помощью лапароскопии (Бурцев, 1969; Бурцев и др., 2005) или по методу подрезания яйцеводов (Подушка, 1999), а также профилактические и лечебные

мероприятия, мечение, пересадки, транспортировку производителей, молоди, икры.

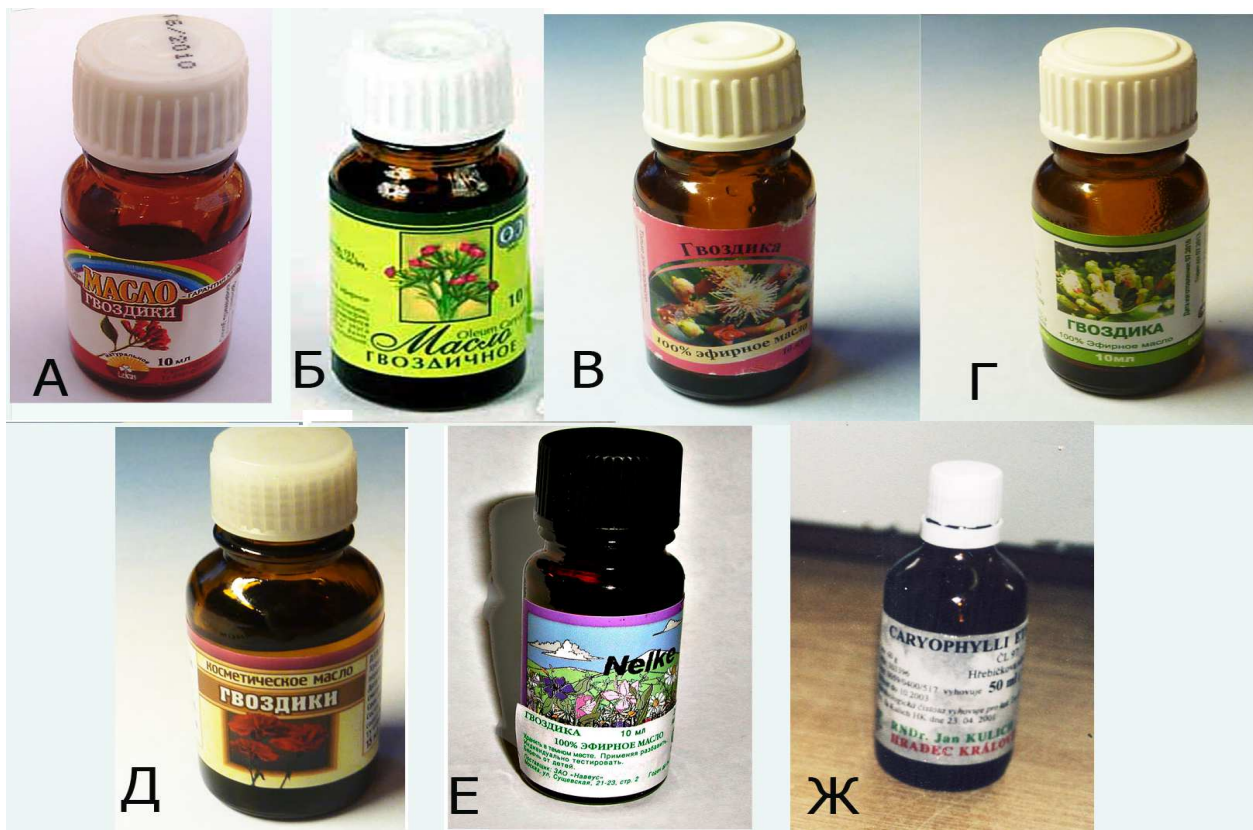
## 2. ОБОРУДОВАНИЕ И ПРЕПАРАТЫ ГВОЗДИЧНОГО МАСЛА

Используется обычное лабораторное и рыбоводное оборудование, приборы, посуда и реактивы, в том числе:

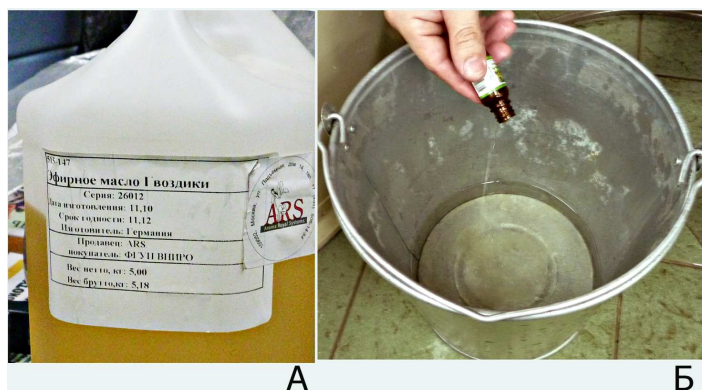
- Колбы мерные, ГОСТ 1770-74Е, вместимостью 50 и 100 мл.
- Цилиндры мерные, ГОСТ 1770-74Е.
- Стаканы химические, ГОСТ 25336-82Е, вместимостью 50 и 500 мл.
- Стеклянная палочка лабораторная.
- Термооксиметр.
- Таймер.
- Аэраторы.
- Ванночки пластиковые, вместимостью 50 и 100 л. (для мелких рыб).
- Бассейны пластиковые, вместимостью до 500 л (для крупных рыб).
- Масло гвоздичное эфирное, флаконы по 10, 15 мл, бутылки по 5 л.

В экспериментах по анестезии рыб мы использовали анестетик "гвоздичное масло эфирное" (далее - гвоздичное масло), произведенный в разных странах: Германии, Чехии, России, в различных концентрациях. Данное вещество является масляным раствором. Образцы флаконов данного препарата, продаваемые в России, представлены на рис. 1.

Гвоздичное масло абсолютно доступно. Его стоимость невелика, в аптечных сетях России она колеблется от 37 до 125 руб. за флаконы по 10 или 15 мл. За рубежом этот препарат также является дешевым: в Чешской Республике гвоздичное масло (Hřebíčková silice – по-чешски) стоит до 150 чешских крон за флакон 50 мл, в Канаде – 60 долларов США за 1 кг).



**Рис. 1.** Флаконы с эфирным маслом гвоздики разных производителей: а – г, е – 100%-ное эфирное масло производства России, д – раствор гвоздичного масла в соевом масле производства России, ж – 100%-ное эфирное масло Hřebíčková sílice производства Чехии.



**Рис. 2.** Подготовка к проведению анестезии осетровых на экспериментальном рыбноводном модуле ФГУП «ВНИРО», а – бутылка гвоздичного масла производства «ARS», б – предварительное разведение рабочего раствора гвоздичного масла производства ООО «Аспера» в горячей воде.

На разных видах осетровых рыб нами протестировано 7 видов отечественных и импортных медицинских форм гвоздичного масла (см. рис. 1 и рис. 2), в том числе:

1. Гвоздика «Nelke» – 100%-ное эфирное масло, флакон объемом 10 мл, производство ЗАО «Навеус», цена 125 руб./флакон;
2. Гвоздика – 100%-ное эфирное масло, флакон объемом 10 мл, производство ООО «ОЛТРИ ТРЕЙДИНГ» по заказу ООО «Долголетие-М», цена 47 руб./флакон.
3. Гвоздика – 100%-ное эфирное масло, флакон объемом 10 мл, производство ООО «Аспера», цена 54 руб./флакон;
4. Гвоздика *Syzygium aromaticum* – 100%-ное эфирное масло, флакон объемом 10 мл, производство ООО «Медикомед», цена 49 руб./флакон;
5. Косметическое масло гвоздики – флакон объемом 15 мл, производство ООО «Дина+» по заказу ООО «Эльффарма», цена 37 руб./флакон.
6. Гвоздичное масло Hřebíčková silice (чеш.) – флакон объемом 50 мл, производство «Кулих» (Чехия, г. Градец Кралове), цена – около 150 крон или 5.1 EUR/флакон.
7. Эфирное масло Гвоздики – 100%-ное эфирное масло, бутылка объемом 5 л, производство производства фирмы «ARS» (Германия), цена 3250 руб. (рис. 2а).

Гвоздичное масло американского производства, произведенное компанией HUMCO, Texarkana, TX 75501, USA, также можно приобрести во флаконах объемом 30 мл по каталогам, однако его действие нами до настоящего времени не опробовано.

Эксперименты с данным препаратом показали, что

эффективность процесса анестезии достигается только при использовании 100%-ного эфирного масла в рекомендованных концентрациях (Микодина и др., 2004), а применение раствора гвоздичного масла в соевом масле (например, косметического масла гвоздики, произведенного компанией ООО «Дина+» по заказу ООО «Эльффарма») не дает необходимого результата. Это установлено нами на осетровых рыбах - старшем ремонте (семилетках) ремонтно-маточного стада (РМС) бестера (*Acipenser nikoijukini*<sup>1</sup>) Аксайской и Бурцевской пород на базе экспериментального рыбоводного модуля ФГУП «ВНИРО» в г. Дзержинский (Московская область) и аквариальной института, оборудованной установкой замкнутого водообеспечения (г. Москва).

### 3. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ ОБ АНЕСТЕТИКЕ «ГВОЗДИЧНОЕ МАСЛО»

Гвоздичное масло *Oleum caryophylli* (лат.), или эвгенол — это эфирное масло, которое содержится в цветах, цветочных почках, цветоножках, листьях и стеблях тропического вечнозеленого гвоздичного дерева *Syzygium aromaticum* (L.) Merrill & Perry семейства миртовых Myrtaceae (рис. 3), иногда относимого к роду *Eugenia* (Keen et al., 1998). Это растение имеет несколько равнозначно употребляемых синонимов: *Eugenia aromatica*, *E. caryophyllata*, *E. caryophyllus*, *Caryophyllus aromaticus*, *Caryophylli aetheroleum*. Родина гвоздичного дерева – Индонезия (Молуккские острова), а его высота до 20 м. Культивируют растение в тропиках: в Бразилии, в Индонезии, Индии, Шри-Ланке,

---

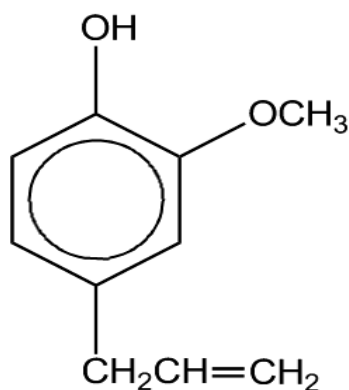
<sup>1</sup> не обсуждая валидность латинского имени данного гибрида, отсылаем читателя к публикациям, где оно было использовано (Арефьев и др., 2003; Barmintsev et al., 2007; Арефьев, Бурцев, 2008)

Малайзии, на островах у восточного берега Африки – Занзибаре, Гвинее, на Мадагаскаре. Главное производство (до 80 %) сосредоточено в Танзании, и на островах Занзибар и Пемба.



**Рис. 3.** Цветущая ветвь гвоздичного дерева (по Муравьевой, 1983)

Гвоздичное масло (эвгенол) (рис. 4), получаемое из гвоздичного дерева — маслянистая подвижная коричневая или жёлтая жидкость с запахом гвоздики и жгучим вкусом, ее плотность 1.043—1.018 г/см<sup>3</sup> (Хейфиц, Дашунин, 1994). Его получают путем водно-паровой дистилляции сырья.



**Рис. 4.** Структурная химическая формула эвгенола (4-аллил-2-метоксифенол)  $C_{10}H_{12}O_2$  (по Триптофан-Ятрохимия, 1998).



Гвоздичное масло имеет следующий химический состав: эвгенол (4-allyl-2-methoxyphenol) – 70-90% массы, эвгенол-ацетат – более 17% массы, кариофилен-5 – 12% массы (Hermani, Tangendja, 1988), терпеноиды, придающие характерный запах гвоздики и горьковатый вкус (Ross L., Ross B., 1999). Оно обладает антиоксидантными и антибиотическими свойствами, противогрибковым действием (Bullerman et al., 1977), блокирует действие часто встречающихся в комбикормах афлотоксинов, не токсично, не кумулируется в тканях рыб, не вызывает аллергии. Известно, что эвгенол и его метаболиты способны быстро выводиться из кровотока и тканей, не являются канцерогенным для человека и животных веществом. Эвгенол имеет установленную Всемирной Организацией Здравоохранения норму ежедневного потребления для человека 2.5 мг/кг.

Гвоздичное эфирное масло используется в пищевой промышленности и медицине (стоматология, хирургия, ароматерапия), поскольку обладает выраженным обезболивающим, успокаивающим и антисептическим действием. Гвоздичное масло применяют в кулинарии, пищевой промышленности, в табачной и парфюмерно-косметической промышленности, фармацевтике. Его используют как сырьё для производства ванилина и репеллентов для отпугивания комаров.

С учетом успокаивающего и обезболивающего действия, гвоздичное масло достаточно давно применяется в искусственном воспроизводстве различных видов рыб (Endo et al., 1972; Jolla et al., 1972; Ross L., Ross B., 1999; Taylor, Roberts, 1999): карпа *Cyprinus carpio* (Hikasa et al., 1986), европейского сома *Silurus glanis* (Trzebiatowski et al., 1996), африканского сомика *Clarias gariepinus* (Karvankova, 2003), канального

сомика *Ictalurus punctatus* (Waterstrat, 1999), золотой рыбки *Carassius auratus* (Perdikaris et al., 2010), щуки *Esox lucius* (Zaikov et al., 2008). Имеются публикации и в отношении морских рыб, в частности коралловой рыбы *Pomacentrus ambionensis* (Munday, Wilson, 1997) и *Siganus lineatus* (Soto, Burhanuddin, 1995), хариуса *Thymallus arcticus* (Blackman, 2002; Kouřil et al., 2009) для их обездвиживания.

Опубликованы положительные результаты по лососевым – радужной форели (Anderson, McKinley, Colavecchia, 1997; Keene et al., 1998; Perdikaris et al., 2010), семге *Salmo salar* (Hoskonen, Prihonen, 2004), тихоокеанским лососям р. *Oncorhynchus* и хариусу (Cho, Heath, 2000; Taylor, Roberts, 1999; Kouřil et al., 2009). Для молоди тихоокеанских лососей рекомендована концентрация гвоздичного масла, равная 0.025 мл/л (Kouřil et al., 2009). В КНР имеется положительный опыт использования данного анестетика при концентрации 0.1 мл/л при рыбоводных манипуляциях с производителями русского осетра (Подушка, Чебанов, 2007).

#### **4. ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИГОТОВЛЕНИЮ ГВОЗДИЧНОГО МАСЛА ДЛЯ АНЕСТЕЗИИ РЫБ, ФАЗЫ ДЕЙСТВИЯ, ОБЪЕКТЫ**

##### **4. 1. Процедура приготовления рабочего "раствора" гвоздичного масла**

"Раствор" или эмульсию гвоздичного масла (далее - раствор) перед употреблением в качестве анестетика для рыб необходимо приготовить непосредственно перед использованием, хранение недопустимо. Полученный рабочий раствор можно использовать для анестезии 10-15 крупных рыб. Перед проведением работ рассчитанное количество

анестетика (табл. 2) следует растворить в небольшом объеме горячей воды температурой +50 °С в мерном стакане или иной посуде. Пример расчета: на 50 литров воды при дозе анестетика, равной 0.03 мл/л, необходимо взять 1.5 мл анестетика ( $0.03 \text{ мл} \times 50 \text{ л} = 1.5 \text{ мл}$ ). Следует строго выдерживать рекомендации по концентрации раствора, поскольку при передозировке анестетика у рыб происходит остановка дыхания и они могут погибнуть. Температуру воды в емкости для анестезии устанавливают согласно нашим рекомендациям, приведенным в табл. 2. Содержимое стакана быстро, тщательно и долго перемешивают стеклянной палочкой до получения мелкодисперсной эмульсии. Затем полученную эмульсию добавляют к рабочему объему чистой воды в контейнер без притока (таз, ванну, аквариум), в котором будет находиться рыба для усыпления, и всю воду вновь тщательно перемешивают.

Для крупных осетровых рыб, которых обездвигивают в бассейне большого объема, возможно предварительное приготовление рабочего "раствора" гвоздичного масла в большой емкости с теплой водой, например в ведре (см. рис. 2б), после перемешивания образовавшуюся эмульсию сразу же вливают в подготовленный для анестезии рыб бассейн. В каждом бассейне желательно установить по одному аэратору. Для прекращения наркоза рыб аккуратно пересаживают в свежую воду с аналогичными показателями температуры и рН.

#### **4. 2. Анестезирующее действие гвоздичного масла на рыб, фазы анестезии**

По нашим данным, в начале своего воздействия на рыб (Намáčková et al., 2001; Намáčková et al., 2002) гвоздичное масло после непродолжительного возбуждения вызывает эффект успокоения, затем

приводит к потере равновесия и далее – двигательной и дыхательной активности.

При проведении анестезии в гвоздичном масле регистрируют такие параметры воды как концентрация кислорода и температура. Поведение рыб в анестетике оценивают по поведенческим и функциональным характеристикам:

- а) двигательная активность рыб,
- б) равновесие,
- в) акустический рефлекс,
- г) дыхательная активность рыб.

Определяя реакцию рыб на анестетик по их поведению, используют в качестве критериев 5 фаз анестезии, установленных ранее (Namácková et al., 2002; Kouřil et al., 2003; Namácková et al., 2003, Микодина и др., 2011) - I, II А, II Б, III и IV. Эти фазы легко идентифицировать по ряду признаков, отражающих поведенческие реакции:

- фаза I – резкое первоначальное возбуждение рыб;
- фаза II – замедление двигательной активности,

подфазы:

фаза II А – успокоение и колебательные движения рыб, умеренный наклон на бок,

фаза II Б – рыба лежит на боку без движения;

- фаза III – положение на спине, нет движения, остановка дыхания.

Восстановление функций у рыб после их переноса в чистую воду без анестетика (по Namácková et al., 2006 с нашими модифицициями) проходит обратным усыплению порядком через следующие фазы:

- фаза II – пробуждение после анестезии, появление дыхания и акустического рефлекса;

- фаза I – начало движения, подфазы:
  - фаза I А – боковая позиция;
  - фаза I Б – беспорядочные движения, дыхание ритмичное;
- фаза 0- нормальное физиологическое состояние:
  - фаза 0 А – слабая двигательная активность,
  - фаза 0 Б – нормальная двигательная активность, пробуждение полное.

#### 4. 3. Виды рыб – экспериментальных объектов по изучению действия гвоздичного масла как анестетика

Методики анестезии с помощью гвоздичного масла экспериментально разработаны для многих видов рыб - объектов аквакультуры, в том числе нами (табл. 2, 3): амура белого *Stenopharyngodon idella*, амура чёрного *Mylopharyngodon piceus*, ельца *Leuciscus*



*leuciscus*, карася серебряного *Carassius auratus*, краснопёрки *Scardinius erythrophthalmus*, линя *Tinca tinca*, налима *Lota lota*, пескаря *Gobio gobio*, плотвы *Rutilus rutilus*, пеляди *Coregonus peled*, европейского сома, судака *Sander lucioperca*, тилапии нильской *Oreochromis niloticus*, усача *Barbus barbus*, хариуса *Thymallus thymalus* (Kouřil et al., 2009), щуки *Esox lucius*, язя *Leuciscus idus* (Hamáčková et al., 2000; Hamáčková, Lepičová et al., 2001), карпа *Cyprinus carpio*, речного окуня (Hamáčková, Sedova et al., 2001; Hamáčková et al., 2002; Policar et al., 2009), гольца - американской палии (Hamáčková et al., 2004a; Sedova et al., 2006).

**Таблица 2.** Влияние анестетика гвоздичное масло на разные виды рыб при различной концентрации анестетика и экспозиции 10 мин в экспериментальных условиях

Вид	Масса рыб, г	Концентрация гвоздичного масла, мл/л	Температура воды, °С	Продолжительность анестезии, мин:сек		Источник
				Обездвиживание	Восстановление	
Окунь речной	32.2-40.4	0.033	12.5	07:34	06:04	Намáčková, Sedova, Pjanova, Lepičová, Lepič, Kouřil, 2002
			15	07:15	09:12	
			17.5	06:58	06:23	
			20	07:28	07:44	
Сибирский осетр	100-180	0.07	4	03:54:00	15:54	Коуржил Я., Гамачкова Й., Ступка З., Микодина Е.В., Седова М.А., Вахта Р.Р. 2003.
			8	03:32	04:57	
			12	02:32	-	
			16	02:30	-	
Стерлядь	128.2 ±10.8	0.07	4	03:01	10:04	Намáčková, Sedova, Kouřil, Stupka, Mikodina, Lepič, Kozák, Lepičová, Vachta, 2004
			20	01:23	04:30	
Палия, голец	30.1±10.9	0.033	5	03:33	01:55	Намáčková, Sedova, Pjanova, Kouřil, 2004; Sedova, Pianova, Намáčková, Kouřil, 2006
		0.35		00:29	35:57	
		1.5		00:20	гибель	
Пелядь (самки)	529±43	0.033	1	1:32	18:40	Коуржил, Швингер, Микодина, Седова, Павлишта, Гамачкова, 2010
Пелядь (самцы)	429±8					
Сахалинский таймень (самцы)	2135.1±92.7	0.02	7	02:22	35:33	Микулин, Коуржил, Микулина, Микодина, 2005;
		0.033		01:53	01:01:08	
Сахалинский таймень (самки)	2016.6 ±68.7	0.01		04:23	21:03	Коуржил, Микодина, Микулин, Гамачкова, Любаев, 2009
		0.015		02:42	19:41	

Кижуч (самцы)	2155± 803.1	0.03		01:22	17:19	Микулин, Коуржил, Микулина, Микодина, 2005
Кижуч (сеголетки)	-	0.02	6	05:00	10:00	
Кета (самки)	2540± 212.0	0.033	6.7	05:33	11:23	Отчет ВНИРО о НИР, 2003
Кета (самцы)	3050± 253.9	0.03		01:49	14:09	
Кета (сеголетки)		0.03		01:42	23:20	
Сахалин- ский осетр	10433.8 ±1041.7	0.07		04:13	11:42	Микодина и др., 2004
Севрюга (молодь)		0.07		10:00	15:00	Коуржил, Седова, Гамачкова, Ступка, Микодина, Вахта, 2004
Амурский осетр	3945.6± 439.4	0.07		04:35	06:58	Микодина и др., 2004
Белуга	1025.2± 28.3	0.07		03:32	14:27	
Бестер** (сеголетки)	87.5	0.07		24	02:30	6:00
Бестер*	3000	0.04	19	05:00	05:10	

Примечание: - отсутствие данных, \* - три породы бестера (Аксайская, Бурцевская и Внировская), \*\*\*- Бурцевская порода.

**Таблица 3.** Рекомендуемые концентрации анестетика гвоздичное масло при анестезии разных видов рыб при разной температуре воды и экспозиции 10 мин

Вид	Т воды, °С	Концентрация гвоздичного масла, мл/л
Амур белый	8	0.033
Амур чёрный	20	
Голец	10	0.066
Елец	10	
Карась серебряный	20	

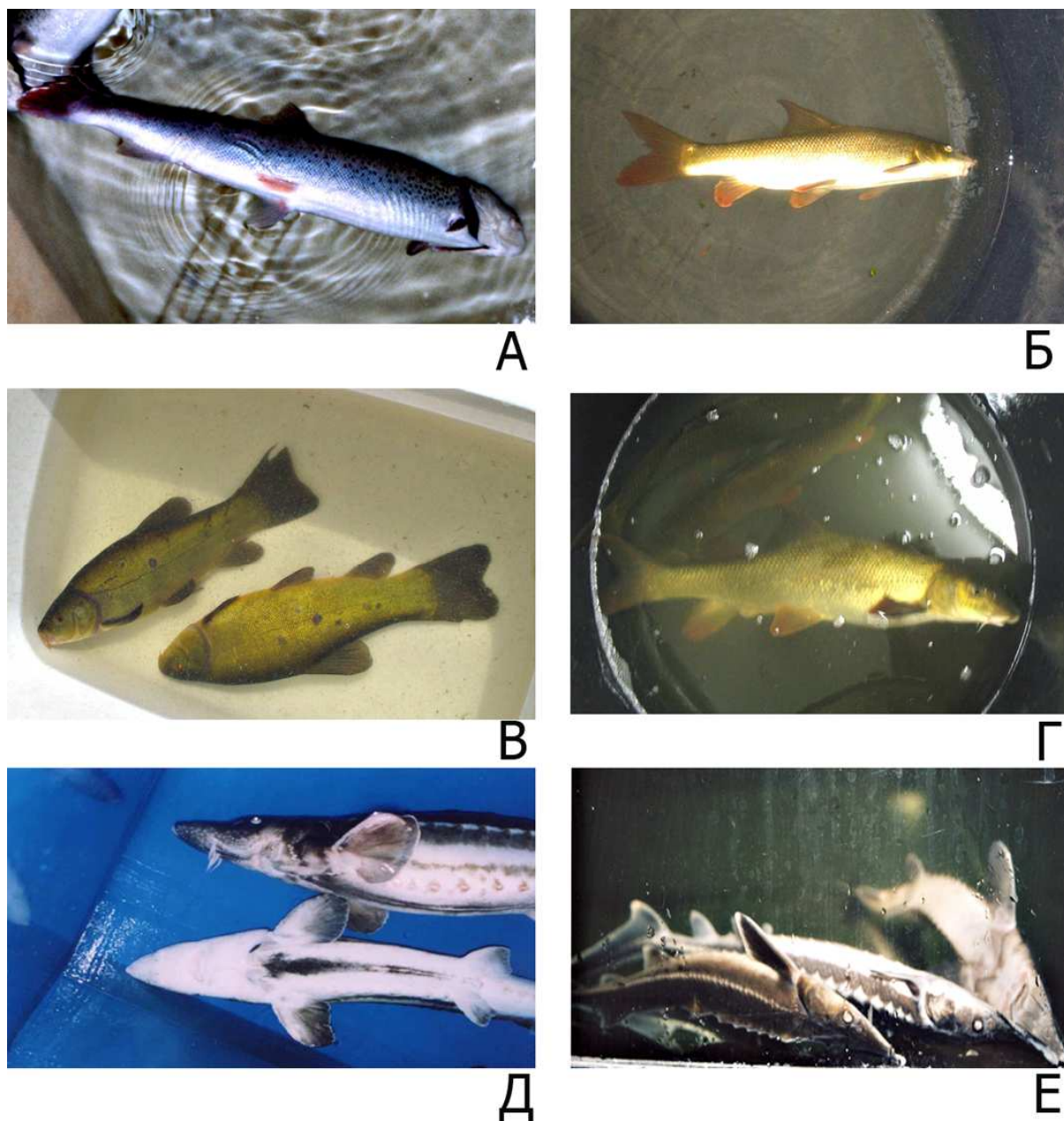
Карп	20	0.049
	15	0.033
Линь	20	
	17	
	15	
Налим	15	
Окунь	15	
Пескарь	15	
Плотва	15	
Сом европейский	20	0.050
	18	0.033
Сомик африканский	20	0.045; 0.0675
Тилапия нильская	20	0.033
Усач	15	
Хариус	10	
Щука	10	
Краснопёрка	15	
Язь	12	0.050
Судак	10	0.045
Стерлядь, осетр сибирский, севрюга	4	0.070
	8	
	12	
	16	
	20	
Радужная форель	10	0.033
Таймень сахалинский	8	0.070

Положение разных видов рыб в фазе II Б (обездвиживание) в анестетике гвоздичное масло проиллюстрировано на рис. 5.

Кроме этого, разработаны приемы использования гвоздичного масла для таких ценных в России видов водных биологических ресурсов как лососевые: сахалинский таймень, кета, кижуч, и объектов аквакультуры - радужная форель. Методики использования гвоздичного масла нами разработаны также для 7-ти видов рыб сем. Acipenseridae: белуги, сахалинского осетра, амурского осетра (Микодина и др., 2004), сибирского осетра (Коуржил и др., 2003), севрюги (Коуржил и др.,



2004; Namáčková et al., 2004), стерляди, а также сахалинского тайменя (Коуржил и др., 2009; Микулин и др., 2005), гибрида осетровых бестера и его пород, а для белого осетра *A. transmontanus* североамериканского континента - в США (Taylor, Roberts, 1999).



**Рис. 5.** Положение рыб в растворе гвоздичного масла в фазе II Б анестезии: а – сахалинский таймень, б – пелядь, в – линь, г – усач, д – сахалинский осетр, е – севрюга.

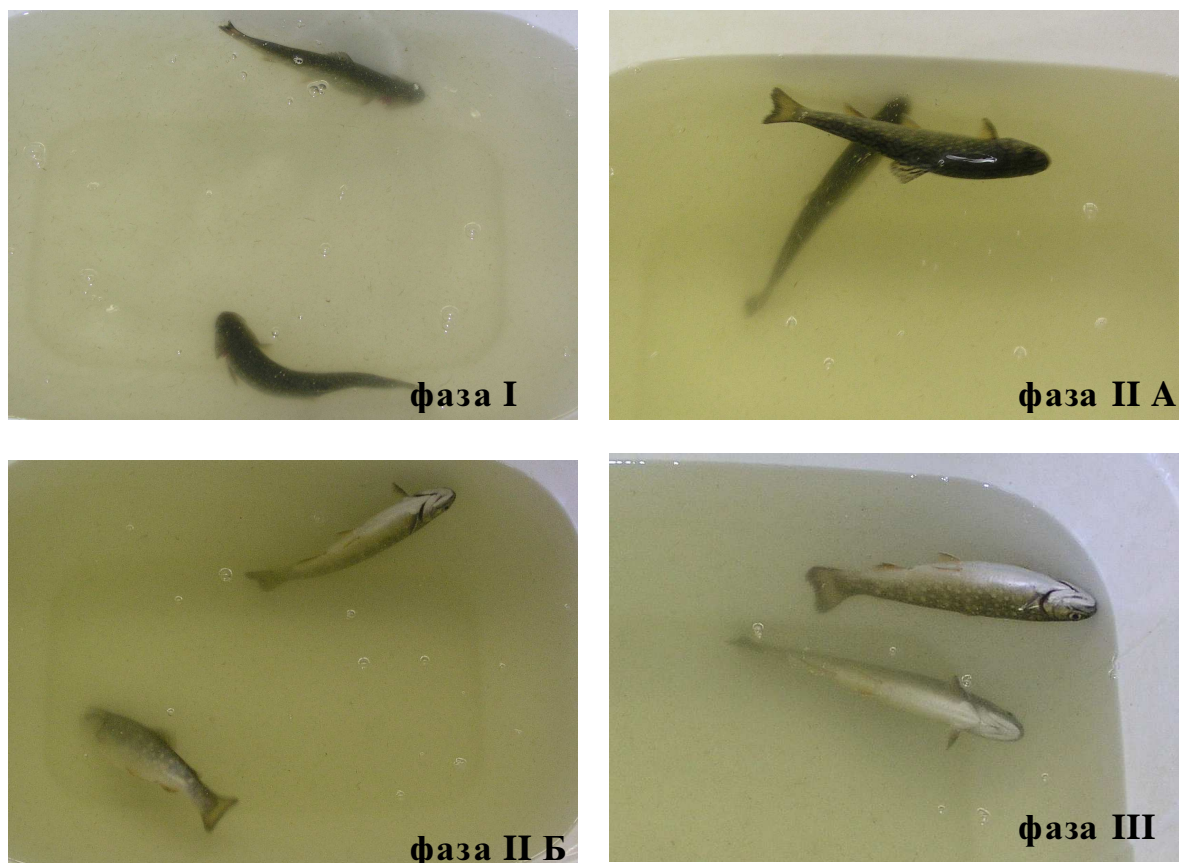
Опыт собственных исследований мы предлагаем вниманию заинтересованных специалистов.

## **5. ОСОБЕННОСТИ АНЕСТЕЗИИ РАЗНЫХ ВИДОВ РЫБ**

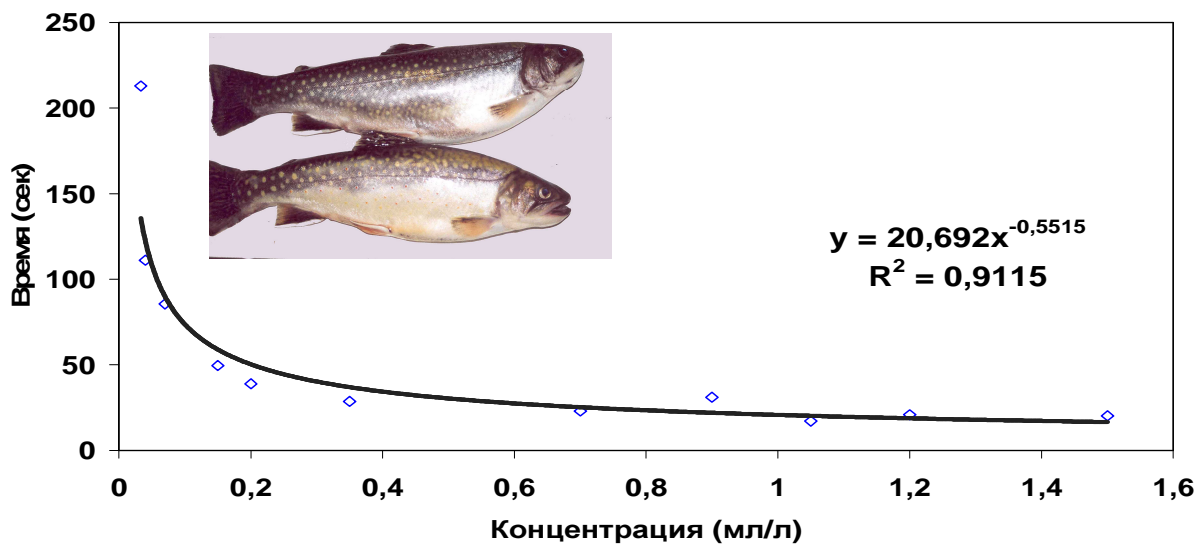
Эффективность анестезии с помощью гвоздичного масла зависит от его концентрации и от экспозиции. Для большинства исследованных нами видов рыб выявлена прямая связь между продолжительностью фазы II Б и концентрацией анестетика. Нами установлены оптимальные концентрации гвоздичного масла при 10-минутной экспозиции для разных видов рыб – объектов искусственного воспроизводства (см. табл. 2). Масса некоторых видов рыб, использованных для анестезии, дана в этой таблице.

### **5. 1. Влияние гвоздичного масла на поведенческие реакции пресноводных рыб**

*Влияние концентрации гвоздичного масла на время наступления разных фаз анестезии.* Действие гвоздичного масла в разных концентрациях протестирована нами на американской палии или гольце, что позволило оценить и токсичность анестетика (Hamáčková et al., 2004a; Sedova et al., 2006). Внешний вид особей этого гольца на разных фазах во время проведения анестезии гвоздичным маслом представлен на фото (рис. 6).

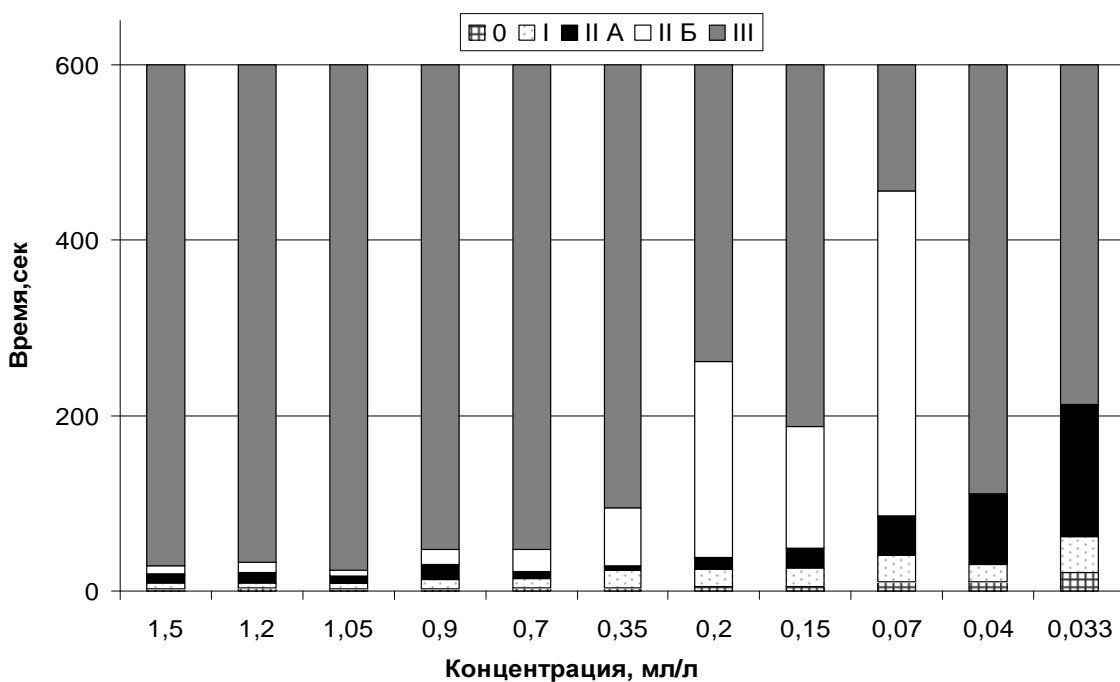


**Рис. 6.** Внешний вид американской палии на разных фазах анестезии во время обработки в гвоздичном масле при концентрации 0.033 мл/л, температуре воды 5 °С и экспозиции 10 мин



**Рис. 7.** Влияние различных концентраций гвоздичного масла на время наступления фазы II Б анестезии у американской палии при экспозиции 10 мин и температуре воды 5 °С

Исследована реакция 110 экз. рыб в 11 разных концентрациях гвоздичного масла от 0.033 до 1.5 мл/л в течение 10 мин при температуре воды 5°C (см. табл. 1). Выявлена тесная связь между продолжительностью фазы II Б и концентрацией анестетика в воде (рис. 7, 8), описываемая уравнением  $y=20.692x^{-0.5515}$ ,  $R^2=0.9115$ . Наступление Фазы II Б не ускорялось при концентрациях 0.033 и 0.04 мл/л. Установлено отсутствие гибели при концентрациях 0.033-0.2 мл/л; летальная концентрация гвоздичного масла для 50% особей (LC<sub>50</sub>) выявлена при концентрации 0.61 мл/л, а летальная концентрация гвоздичного масла для 100% особей (LC<sub>100</sub>) - при 1.92 мл/л.



**Рис. 8.** Продолжительность различных фаз анестезии у американской палии в зависимости от концентрации гвоздичного масла при экспозиции 10 мин и температуре 5 °С

***Влияние температуры воды на продолжительность разных фаз анестезии в гвоздичном масле у пресноводных рыб***

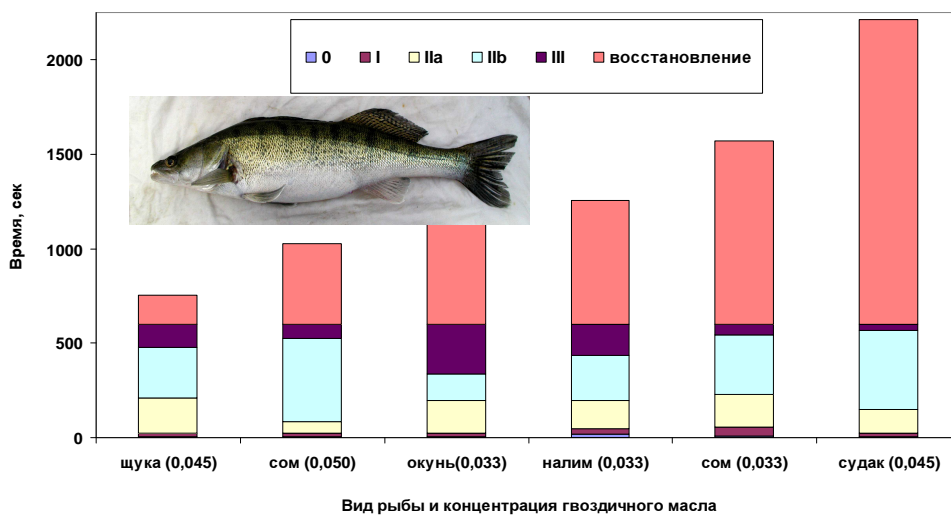


Рис. 9. Продолжительность разных фаз анестезии разной концентрации у пресноводных видов рыб при 10 °С

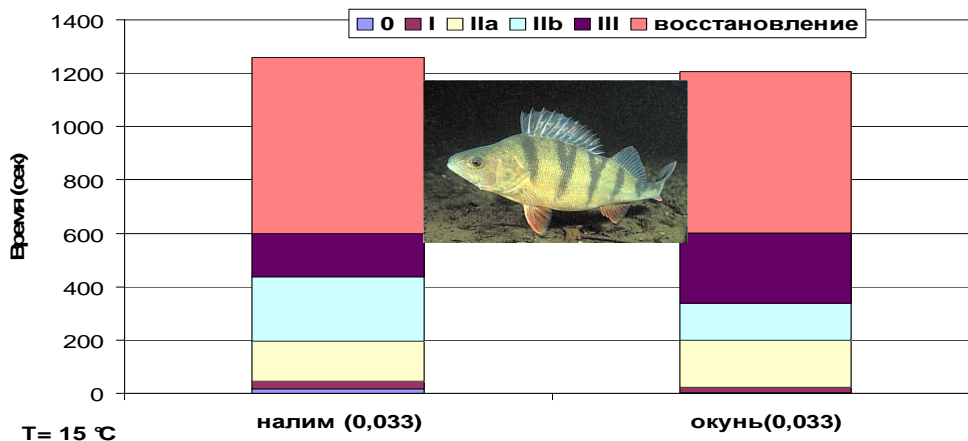


Рис. 10. Продолжительность фаз анестезии у налима и окуня при 15°C

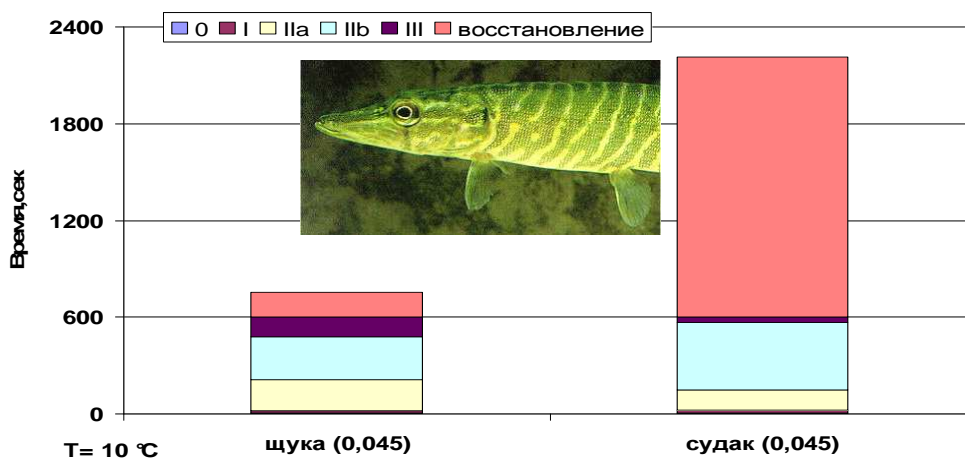


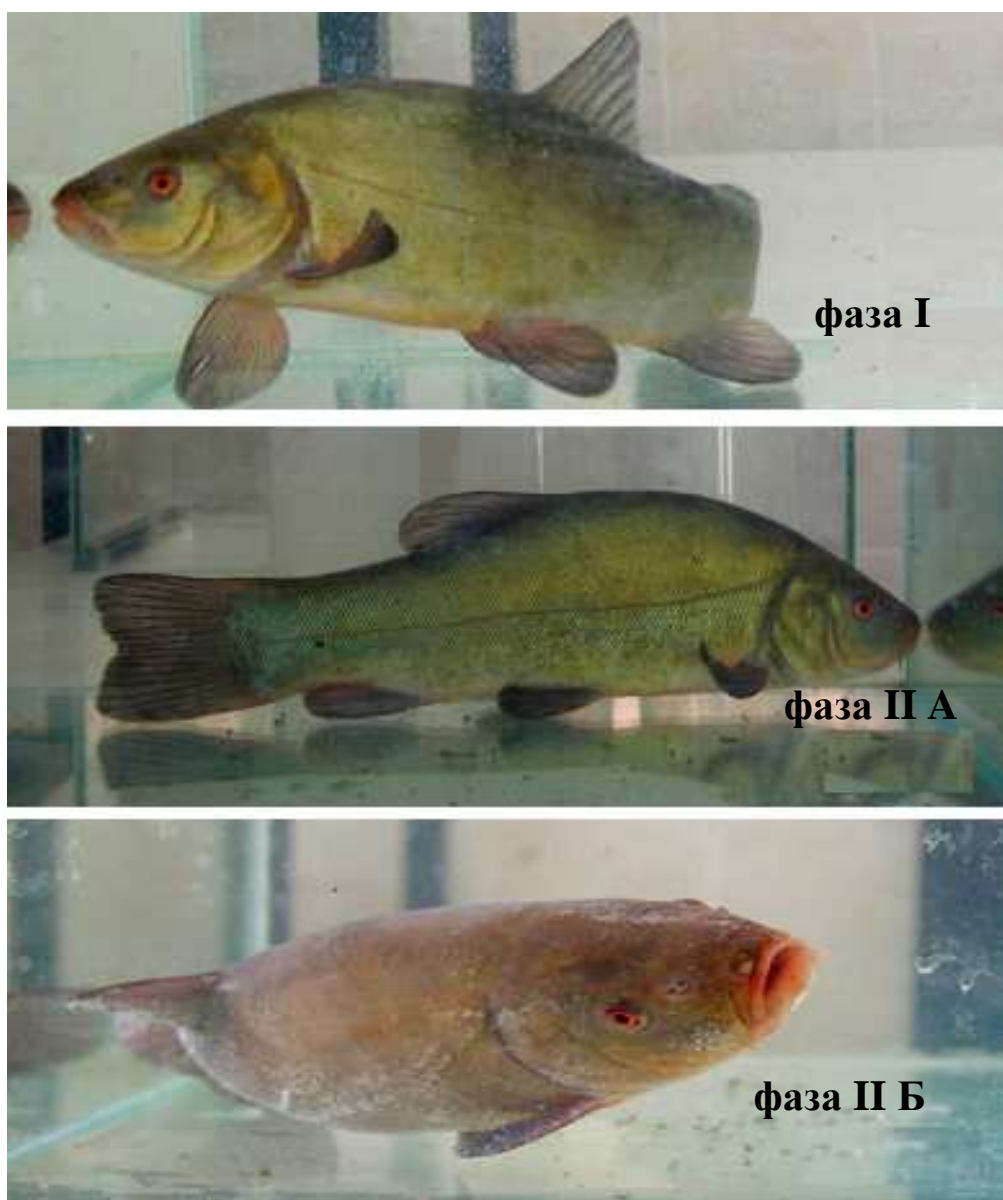
Рис. 11. Продолжительность разных фаз анестезии у щуки и судака при 10°C

. Продолжительность разных фаз анестезии гвоздичным маслом разной концентрации у пресноводных видов рыб (щука, судак, сом, линь, окунь и налим) проиллюстрирована на рис. 9, 10, 11 и в табл. 4. Среди выбранных видов щука имеет наименьший период восстановления, а судак – наибольший.

Пространственное расположение линя (обычного и золотого) при анестезии в гвоздичном масле на ее разных фазах проиллюстрировано ниже (рис. 12).

**Таблица 4.** Влияние температуры воды на время наступления анестезии (фаза II Б) и восстановления у линя при экспозиции 10 мин и концентрации гвоздичного масла 0.033 мл/л

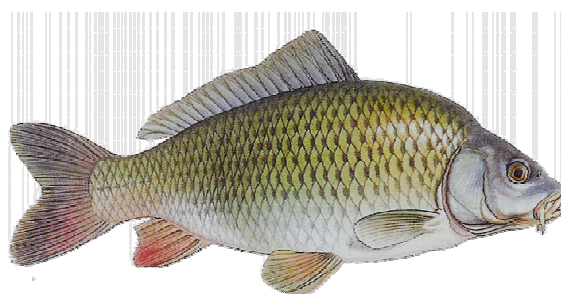
Время наступления фаз анестезии, мин	Температура воды, °С			
	17.9	20.4	22.5	25.1
Обездвижение (фаза II Б)	4.15±1.53	4.03±1.48	2.95±0.80	2.95±0.97
Восстановление	17.30±4.68	16.77±3.73	10.65±2.35	8.53±3.58



**Рис. 12.** Положение тела у обычного (фаза I, фаза IIА) и золотого (фаза II Б) линя в растворе анестетика на разных фазах анестезии, при концентрации гвоздичного масла 0.033 мл/л, температуре воды 15 °С, экспозиции 10 мин

*Влияние массы тела рыб на анестезию гвоздичным маслом и его токсичность.*

Токсичность



гвоздичного масла определена нами у карпа. Показано, что масса рыб имеет значительное влияние на этот показатель. Так, у мальков карпа при температуре воды 20 °С толерантность к гвоздичному маслу, как токсиканту, меньше, чем у более крупной молоди, в 2-3 раза (табл. 5). Полагаем, что у производителей, имеющих массу на порядок выше, толерантность будет ещё выше, а время анестезии - дольше.

**Таблица 5.** Зависимость летальной концентрации гвоздичного масла (мл/л) для 50% особей (LC<sub>50</sub>) от массы карпа при различной экспозиции и температуре 20 °С

Масса рыб, г	Экспозиция, мин			
	5	10	20	40
226	4.6	2.8	1.9	1.3
11	2.6	1.1	0.6	0.4

У карпа также оценено время наступления разных фаз анестезии гвоздичным маслом. Установлено, что время начала отдельных фаз при большей концентрации гвоздичного масла сокращается, а восстановления функций после анестезии увеличивается. Эффективная концентрация, которую мы предлагаем для карпа, как и у большинства видов рыб, составляет 0.033 мл/л (Namácková et al., 2003).

## **5. 2. Влияние гвоздичного масла на поведенческие реакции осетровых и лососевых рыб**

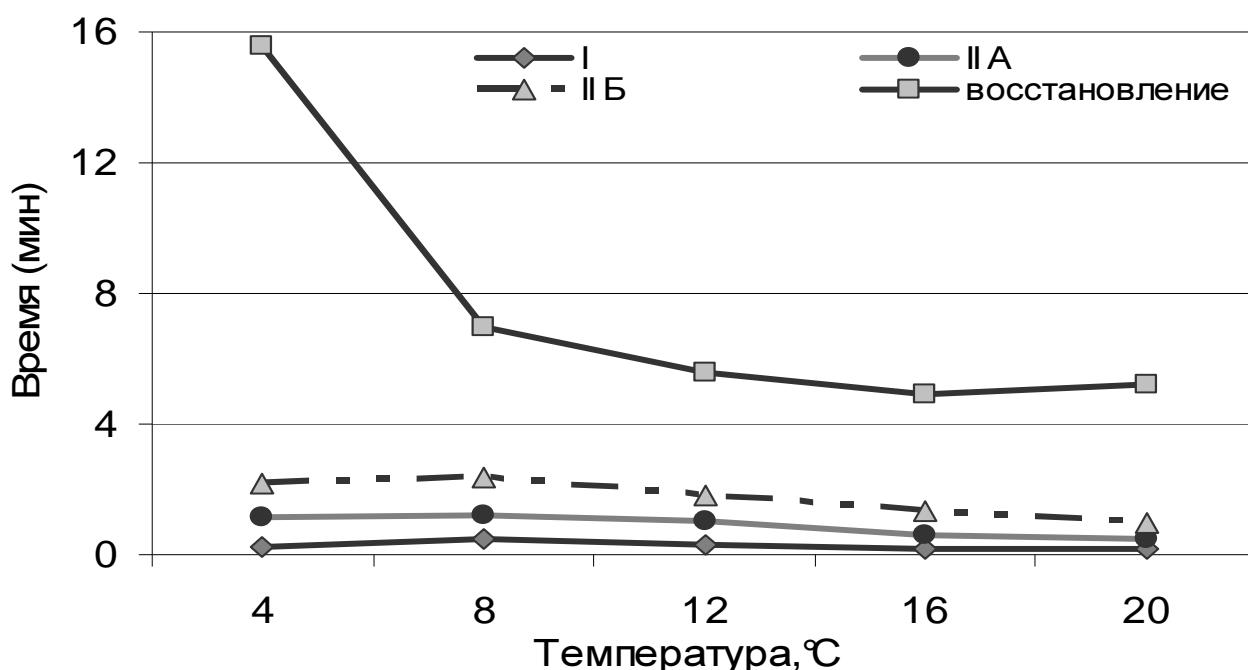
Особое внимание в экспериментальной работе всегда уделяют ценным видам рыб, поэтому проведено детальное исследование поведенческих реакций осетровых рыб на гвоздичное масло в процессе анестезии в условиях аквакультуры. В результате совместных исследований с чешскими коллегами на примере сибирского осетра



(Коуржил и др., 2003) и севрюги (Коуржил и др., 2004) для осетровых была установлена зависимость наступления фаз анестезии в гвоздичном масле от температуры воды.

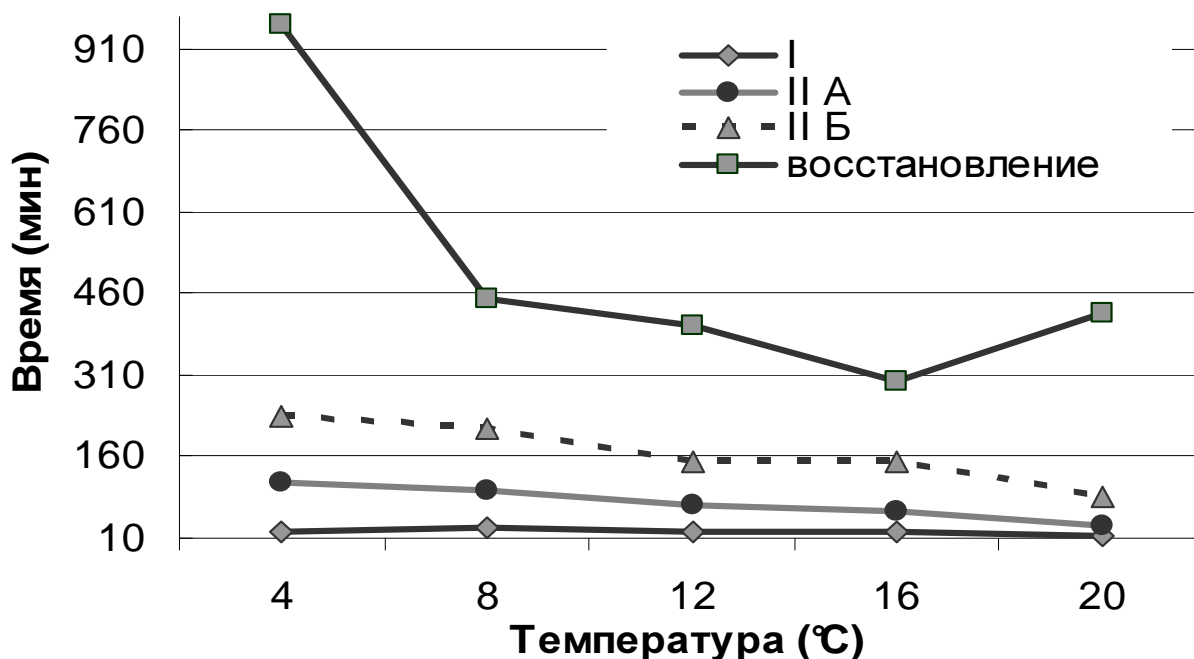
***Влияние температуры воды на анестезию сибирского осетра.***

Влияние гвоздичного масла на сибирского осетра было изучено при его концентрации 0.07 мл/л, экспозиции 10 мин, в диапазоне температур воды от 4 до 20 °С (Коуржил и др., 2004). Анестезия (фаза II Б) в среднем достигалась в течение 1 мин при высокой температуре воды (20 °С), а при низкой (4 °С) - за 3.02 мин. Среднее время анестезии и пробуждения сибирского осетра при анестезии гвоздичным маслом варьировало, увеличиваясь по мере снижения температуры воды (Намáčková et al., 2004). Время анестезии севрюги было короче, чем пробуждения (рис. 13).



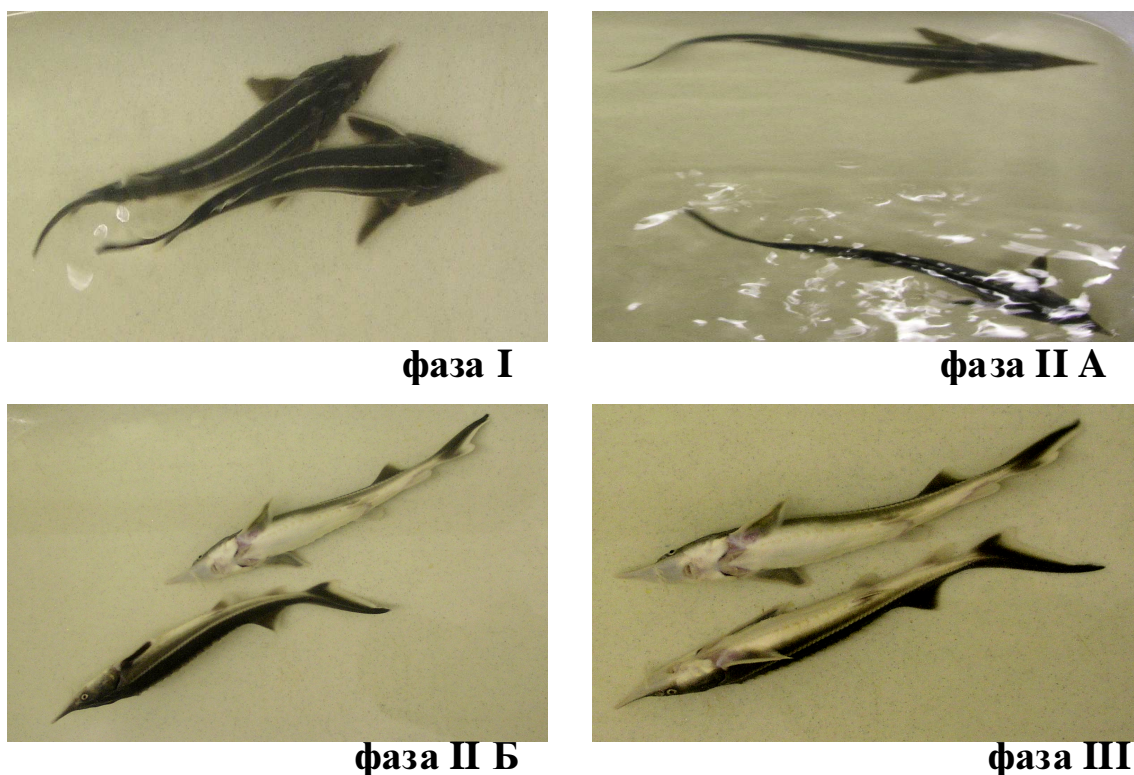
**Рис. 13.** Влияние пяти различных температурных режимов воды (4-20 °С) на время наступления отдельных фаз анестезии (I, II а, II б, восстановления) от момента помещения в анестезирующее вещество при экспозиции 10 мин и концентрации гвоздичного масла 0.07 мл/л у сибирского осетра

**Влияние температуры воды на анестезию севрюги.** Влияние гвоздичного масла на молодь севрюги (0+) массой  $128.2 \pm 10.8$  г было изучено при его концентрации 0.07 мл/л, экспозиции 10 мин, в диапазоне температур воды от 4 до 20 °С (Коуржил и др., 2004). Анестезия молоди (фаза II Б) в среднем достигалась в течение 1.39 мин при высокой температуре воды (20 °С), а при низкой (4 °С) - за 3.01 мин (рис. 14). Среднее время анестезии и пробуждения молоди севрюги при анестезии гвоздичным маслом варьировало, увеличиваясь по мере снижения температуры воды (Нама́сковá et al., 2004). Время анестезии севрюги было в 3.2-3.8 короче, чем пробуждения.



**Рис. 14.** Влияние пяти различных температурных режимов воды (4-20 °С) на время наступления отдельных фаз анестезии (I, II а, II б, восстановления) от момента помещения в анестезирующее вещество при экспозиции 10 мин и концентрации гвоздичного масла 0.07 мл/л у севрюги

**Влияние анестетика на поведенческие реакции стерляди.** Во время обездвиживания гвоздичным маслом стерляди положение тела рыб в "растворе" анестетика на разных фазах анестезии представлено на рис. 15. Оно типично для всех осетровых рыб, а прохождение отдельных фаз анестезии у стерляди в сравнении с другими видами исследованных осетровых представлено на гистограмме (рис. 16).



**Рис. 15.** Внешний вид стерляди во время обработки в растворе гвоздичного масла на разных фазах анестезии при концентрации 0.07 мл/л, температуре 20°C и экспозиции 10 мин

**Влияние анестетика на поведенческие реакции белуги.** Анестезию проводили в процессе бонитировки на базе ЛРЗ «Охотский» (р. Ударница, Сахалинская область). Особей белуги ( $n=10$ ) средней длиной 67 см в возрасте 5 лет выдерживали в бассейне 400 л с гвоздичным маслом

при концентрации 0.07 мл/л, экспозиции 10 мин и температуре 7.5 °С. Время обездвиживания в среднем составило 3:32 мин, а восстановления – 14:27 мин (см. табл. 2). Особенностью анестезии белуги является то, что при засыпании в анестетике после полного замедления дыхания рыбы начинают слабые колебательные движения хвостом (Микодина и др., 2004).

***Влияние температурных режимов на время наступления фаз анестезии в гвоздичном масле у стерляди, сибирского осетра и севрюги.***

Время наступления фаз анестезии в гвоздичном масле в зависимости от температуры воды изучено на примере стерляди,



сибирского осетра (Коуржил и др., 2003) и севрюги (Коуржил и др., 2004). Время наступления фаз анестезии при экспозиции 10 мин и концентрации гвоздичного масла 0.07 мл/л у этих трех видов осетровых представлено на рис. 16 (см. стр. 28). Показано, что анестезия гвоздичным маслом молодежи севрюги в возрасте 0+ при массе  $128.2 \pm 10.8$  г при концентрации 0.07 мл/л и экспозиции 10 мин фаза II Б в среднем достигалась в течение 1.39 мин при высокой температуре воды (20 °С) и за 3.01 мин - при низкой (4 °С). Время анестезии в 3.2- 3.8 короче, чем продолжительность периода пробуждения. Среднее время пробуждения молодежи севрюги после анестезии гвоздичным маслом также увеличивается по мере снижения температуры воды.

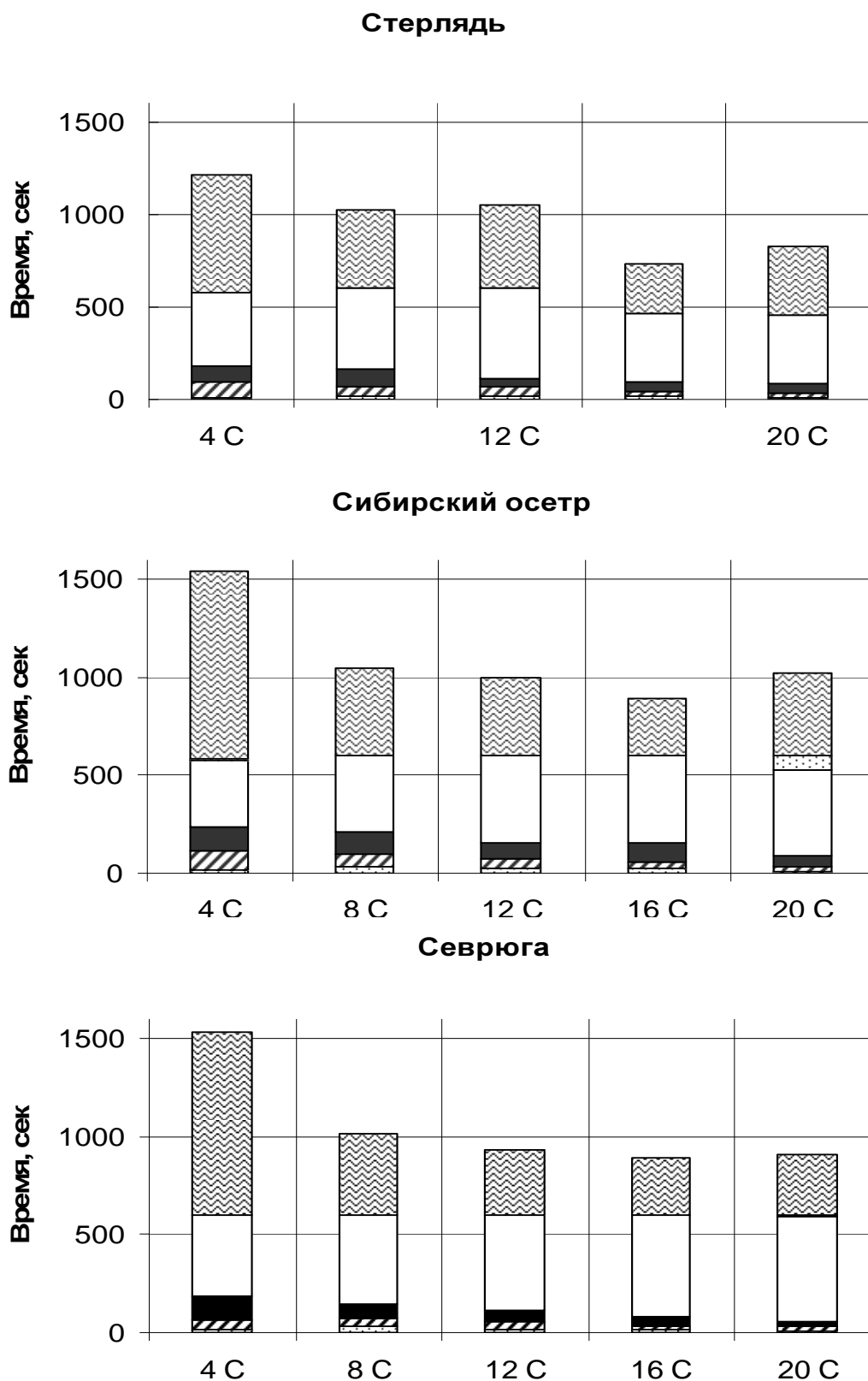


Рис. 16. Время наступления фаз анестезии при экспозиции 10 мин и концентрации гвоздичного масла 0.07 мл/л у трех видов осетровых: стерляди, сибирского осетра и севрюги при разных температурах

***Влияние анестетика на поведенческие реакции бестера.***

Анестезия бестера выполнена в процессе бонитировки старшего ремонта (семилеток) ремонтно-маточного стада (РМС) на базе аквариальной ФГУП "ВНИРО" (г. Москва) и экспериментального рыбоводного модуля ФГУП "ВНИРО" (г. Дзержинский, Московская область) в условиях замкнутого водообеспечения. Анестезию 35 особей проводили в бассейнах объемом 500 л, при рН воды 6.5, содержании в воде растворенного кислорода - 6.5 мг/л, температуре воды 19 °С.

Анестезия наступила через 5 мин (табл. 6), однако процесс восстановления сопровождался явлениями легкой гипоксии, которая проявлялась в виде гиперемии жаберной области у части самок и захватыванием атмосферного кислорода в течение первых 2 мин после начала движения (Микодина и др., 2011).

**Таблица 6.** Результат воздействия гвоздичного масла разного производства на анестезию бестера, УЗВ ФГУП "ВНИРО", (г. Дзержинский, Московская область и г. Москва)

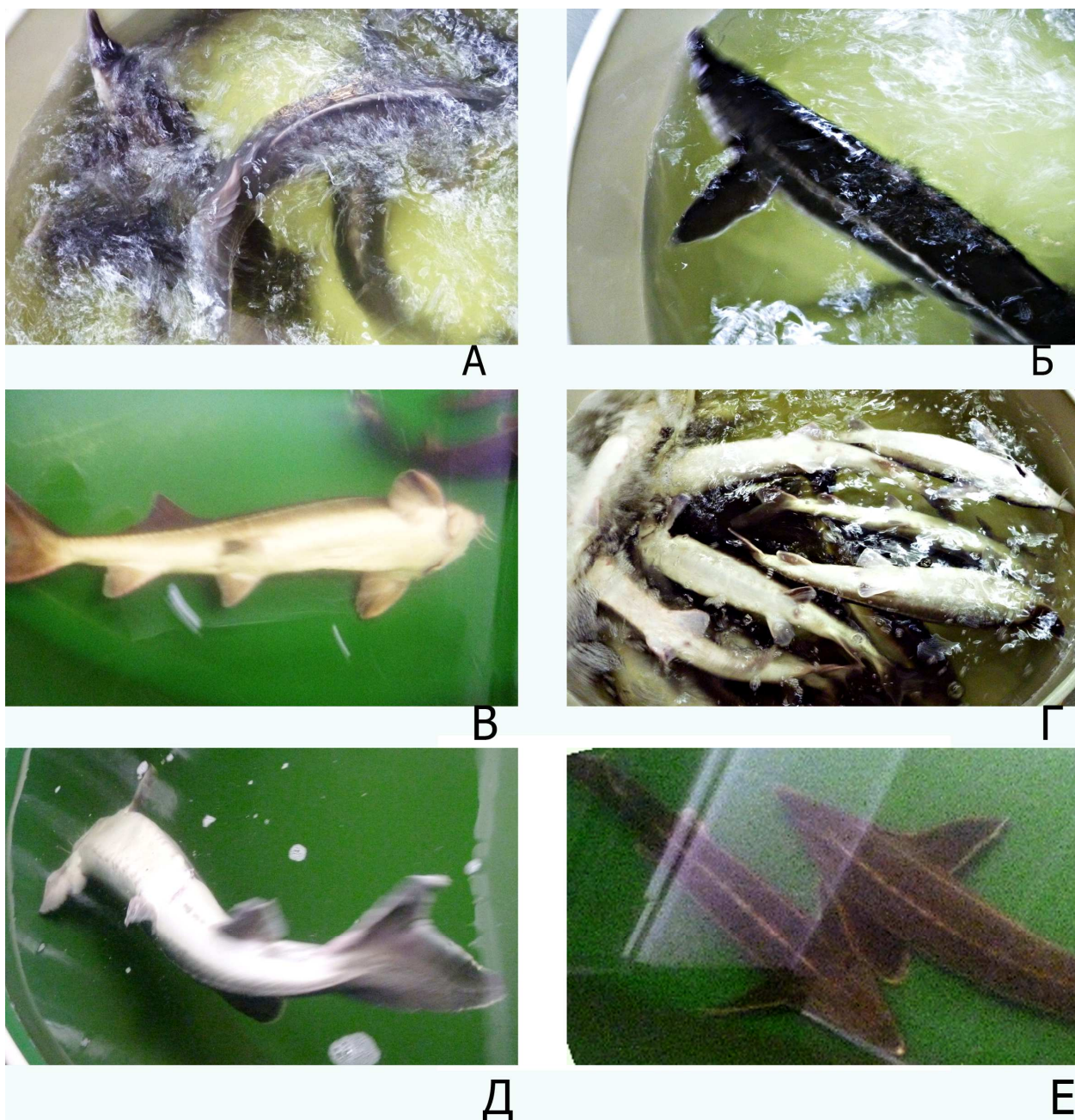
Порода бестера	Показатели						
	число рыб, экз.	возраст, лет	масса рыб (lim), кг	Т воды, °С	концентрация, мл/л	экспозиция, мин	результат анестезии
<b><i>гвоздичное масло ООО "Дина+"</i></b>							
Аксайская	5	6+	1.46 (0.8-1.8)	19	0.08, 0.04, 0.035	15	нет
Бурцевская	5	6+	4.7 (3.2-7.2)	19	0.08, 0.04, 0.035	15	нет
<b><i>гвоздичное масло ООО "Олтри Трейдинг"</i></b>							
Аксайская	16	6+	1.46 (0.8-1.8)	19	0.04, 0.035	6.5 / 7*	есть
Бурцевская	24	6+	4.7 (3.2-7.2)	19	0.04, 0.035	6.5 / 7	есть

<i>гвоздичное масло ООО "Аспера"</i>							
Аксай-ская	17	6+	1.46 (0.8-1.8)	19	0.08, 0.04, 0.035	3/25, 6.5/7	есть
Бурцев-ская	25	6+	4.7 (3.2-7.2)	19	0.08, 0.04, 0.035	6.5-7	есть
<i>гвоздичное масло "ARS, Германия"</i>							
Аксай-ская, Бурцев-ская	66	6+	7.5 (6-11)	19	0.04	5/5	есть

Примечание. \* время наступления анестезии / время пробуждения

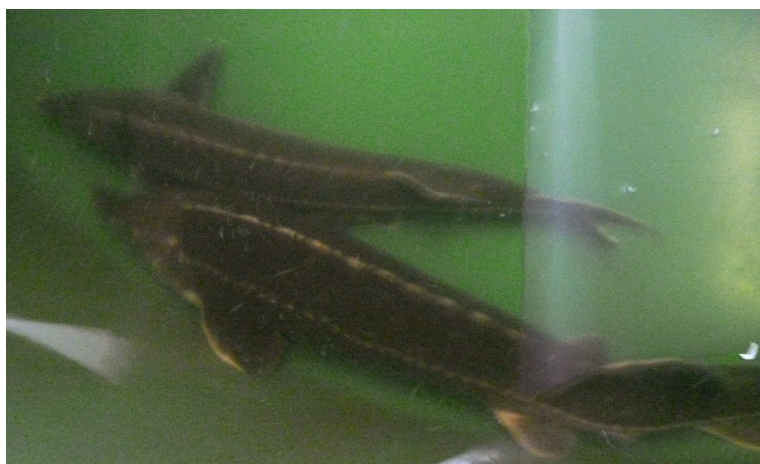
Особенностью анестезии бестера при концентрации 0.04 мл/л является полное обездвиживание, сочетающееся с активным дыханием, что мы наблюдали примерно у 20% самок (Микодина и др., 2011а). Основные черты поведенческих реакций бестера в растворе гвоздичного масла сходны с поведением других осетровых видов рыб (рис. 17).

***Воздействие гвоздичного масла разного производства на анестезию бестера.*** Анестезию проводили в процессе бонитировки семилеток из ремонтно-маточного стада (РМС) бестера (рис. 18) Аксайской ( $n=12$ ) и Бурцевской ( $n=3$ ) пород и в процессе получения икры по методу Подушки (1999) на базе ЭРМ ФГУП "ВНИРО" (г. Дзержинский, Московская область), а также сеголеток (рис. 19) в условиях замкнутого водообеспечения в изолированном бассейне с объемом воды 300 л при принудительной аэрации..



**Рис. 17.** Внешний вид бестера во время анестезии при концентрации 0.04 мл/л, температуре 19°C: а - фаза I, резкое возбуждение; б - фаза II А успокоение, наклон на бок, в - фаза II Б – положение на боку без движения, г - фаза III – положение на спине, д - пробуждение, беспорядочные движения, е – восстановление.





**Рис. 18.** Вид бестера до обработки анестетиком гвоздичное масло (УЗВ ЭРМ ФГУП "ВНИРО")



**Рис. 19.** Внешний вид сеголеток бестера во время обработки в растворе гвоздичного масла при концентрации 0.07 мл/л, температуре 24°C, фаза I.

При температуре воды 13 °С анестезия бестера наступила через 3 мин, однако процесс пробуждения самок (Аксайская порода – масса 0.6-2.4 кг, Бурцевская порода – масса 4.5-9.8 кг) после сцеживания икры в течение 5 мин увеличился до 25 мин, что не противоречит результатам, полученным ранее. Важно подчеркнуть, что все испытанные нами препараты гвоздичного масла, не имеющие добавки в виде соевого

масла, привели к успешной наркотизации бестера (см. табл. 6).

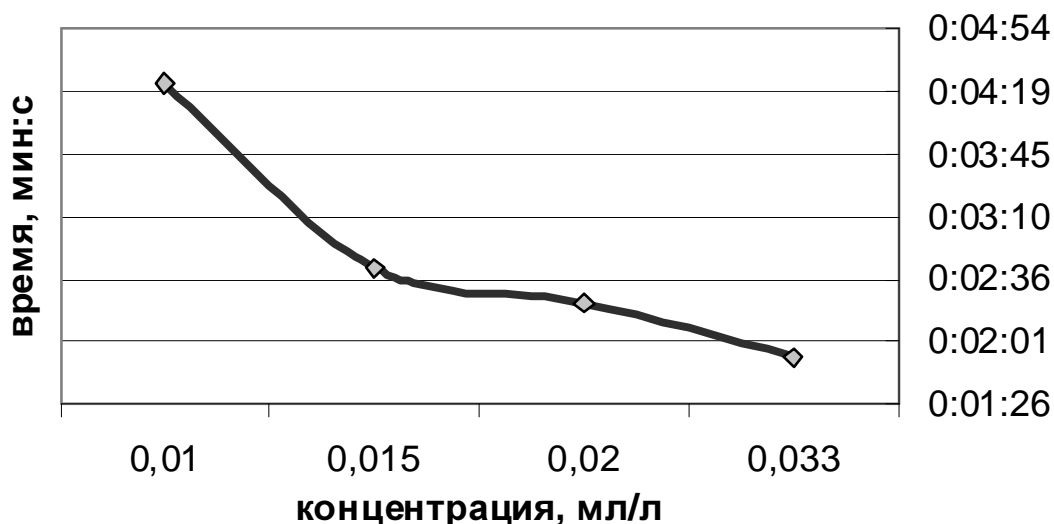
***Общие особенности поведения осетровых на разных фазах анестезии гвоздичным маслом***

- Резкое возбуждение в фазе I, ее кратковременность - 15-35 сек.
- Реакция осетровых на анестетик гвоздичное масло видоспецифична, зависит от возраста, температуры воды.
- Нечетко выражена фаза III: рыбы переворачиваются, неподвижны, отсутствует реакция на звук, но дыхание не прекращается, хотя замедленно (например, у амурского осетра у 100% рыб, белуги – у 20%, сахалинского осетра - у 16.7%).
- Время наступления обездвиживания рыб видоспецифично – 1.4-4 мин,
- Время пробуждения также видоспецифично и дольше, чем время анестезии: 4.5-15 мин (наименьшее у амурского осетра, наибольшее - у белуги).



***Влияние концентрации гвоздичного масла на время наступления разных фаз анестезии у сахалинского тайменя.*** Поведение сахалинского тайменя при анестезии в гвоздичном масле с различной концентрацией (0.01, 0.015, 0.02 и 0.033 мл/л) отличается от такового у таких видов лососей как кета и кижуч (Микодина, Любаев, 2005; Kouřil et al., 2009). В фазе II Б лососи и другие виды рыб обычно лежат на боку, тогда как

таймень - на спине. Динамика изменения продолжительности фазы «II Б» при равной экспозиции 10 мин и одинаковой температуре воды 7.5 °С представлена на рис. 20.



**Рис. 20.** Снижение продолжительности фазы «II Б» при анестезии сахалинского тайменя гвоздичным маслом с уменьшением его концентрации.

***Влияние концентрации гвоздичного масла на время наступления разных фаз анестезии у кеты.*** Анестезию проводили в процессе получения икры на базе ЛРЗ «Охотский» (юго-восточный Сахалин). Самок кеты ( $n=10$ ) выдерживали в бассейне с раствором гвоздичного масла при концентрации 0.033 мл/л (8.25 мл на 250 л воды), экспозиции 10 мин, температуре воды 6.7 °С, содержании кислорода 10.4 мл/л и рН 5.6. Время обездвиживания и восстановление приведено выше (см. табл. 2). Особенностью анестезии кеты является то, что при засыпании самки плохо заваливаются на бок, иногда их надо переворачивать, при пробуждении они качаются, а из-под жаберной крышки рыб выходят пузыри как перед фазой III, так и при пробуждении.

***Влияние концентрации гвоздичного масла на время наступления разных фаз анестезии у сеголеток кижуча.*** Изучен процесс анестезии сеголеток кижуча при различных концентрациях анестетика "гвоздичное масло" в пресной и морской воде (Микулин и др., 2005). Раствор гвоздичного масла в концентрации 25 мл/л последовательно разбавляли пресной водой в пять раз. После помещения рыб в растворы гвоздичного масла различной концентрации (25, 5, 1, 0.2, 0.04, 0.05, 0.025, 0.0125, 0.0063 и 0.0031 мл/л) при температуре воды 5.5-6 °С отмечали время переворачивания рыб, а также их пробуждения после выдерживания в растворе спящими в течении 5 или 15 мин и 1 часа.

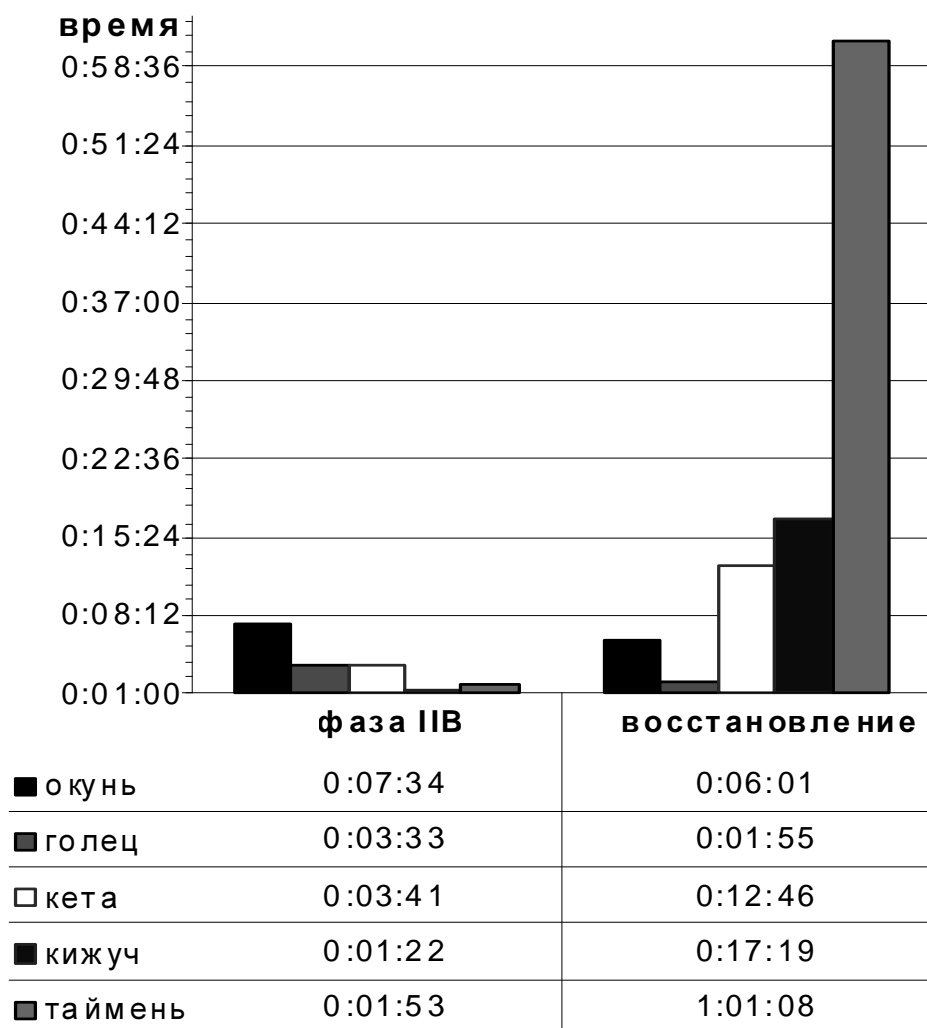
Установлено, что оптимальной концентрацией гвоздичного масла для анестезии сеголеток кижуча в пресной воде является 0.025 – 0.03 мл/л при экспозиции 5 мин. В морской воде оптимальная концентрация для анестезии сеголетков кижуча гвоздичным маслом составляет 0.0125 мл/л, т.е. в 2 раза меньше, чем в пресной воде.

Анестезию молоди тихоокеанских лососей с длительным пресноводным циклом можно использовать в заводских условиях при их бонитировках, проведении лечебно-профилактических работ, мечении и т.п.

### **5. 3. Продолжительность фаз анестезии у разных видов рыб при одинаковой температуре воды и концентрации гвоздичного масла**

Для иллюстрации проявления видовой специфичности в отношении продолжительности разных фаз анестезии при одинаковой температуре воды и концентрации гвоздичного масла, установленной в ходе проведенных нами экспериментов, ниже приведены сравнительные

данные по пяти видам рыб (рис. 21).



**Рис. 21.** Продолжительность анестезии гвоздичным маслом одинаковой концентрации (0.033 мл/л) у различных видов рыб при одинаковой температуре воды 7.5 °С.

Сравнение длительности анестезирующего действия гвоздичного масла при одинаковой концентрации показало, что быстрее других наступает обездвиживание у кижуча, а медленнее – у окуня. Для тайменя характерен наиболее длинный период восстановления, а для гольца - самый короткий.

## **6. ВОЗДЕЙСТВИЕ ГВОЗДИЧНОГО МАСЛА НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И ЗДОРОВЬЕ РЫБ**

Известно, что все анестетики, изготовленные синтетическим путем, в процессе анестезии не только временно модифицируют поведение и физиологию рыб, но и нормализуют биохимию крови (например, содержание катехоламинов), предотвращая последствия стресса, что было показано еще при воздействии анестетика наиболее популярного - MS-222, на радужную форель (Ginderich, Drottar, 1989).

Немногочисленные исследования, посвященные анализу изменений биохимии крови рыб в результате воздействия гвоздичного масла, в основном, свидетельствуют об отсутствии негативных последствий, таких как биохимические показатели крови и последующая смертность (Kouřil et al., 2007). Аналогичные результаты позднее были получены на радужной форели и золотой рыбке (Perdikaris et al., 2010). Есть сведения о мягком повышении концентрации глюкозы и неорганического фосфата сразу же после 10 мин экспозиции в 0.03 мл/л растворе анестетика у карпа обычного (Velysek et al., 2005), однако через 24 ч эти показатели нормализовались, гистологических изменений в жабрах обработанных рыб не было выявлено.

Оценка воздействия гвоздичного масла на сибирского осетра показала, что оно не вызывает ни смертности, ни изменений в концентрации альбумина, глюкозы, активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и аспаратаминотрансферазы (АсАТ). В то же время отмечены обратимые гистологические изменения в печени и жабрах (отек и гемолиз эритроцитов) рыб спустя 24 ч после наркоза в растворе концентрацией 0.075 мг/л, а также повышение содержания общего белка, общего

глобулина, триглицеридов и активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) в плазме крови. Авторы этого исследования (Gomulka et al., 2008) считают, что эвгенол можно безоговорочно использовать для анестезии рыб, поскольку существенных необратимых последствий для организма рыб он не вызывает.

### **6. 1. Влияние длительного выдерживания в гвоздичном масле ценных видов рыб на содержание глюкозы в их крови**

Настоящая оценка проведена на примере сахалинского тайменя из РМС и молоди кижуча. Выявлено, что после применения анестетика гвоздичное масло у этих рыб могут возникнуть нежелательные функциональные последствия в виде продолжительной гипергликемии (Микулин и др., 2005).

В ходе экспериментальной работы произведена перевозка длительностью 2 ч 34 мин производителей сахалинского тайменя в возрасте семи лет на ЛРЗ Сахалинской области с использованием гвоздичного масла. Перед перевозкой рыб выдержали в растворе гвоздичного масла 10 мин при концентрации 0.02 мл/л в бассейне объемом 300 л и температуре воды 8.2 °С. После окончания анестезии рыб поместили в транспортные контейнеры объемом по 400 л при той же температуре воды. Выживаемость рыбы после транспортировки составила 100%, что доказывает протекторный эффект гвоздичного масла (Микулин и др., 2005). Однако в течение последующих 6 месяцев 32 экз. из перевезенных рыб погибли, покрывшись язвами, а у выживших тайменей содержание глюкозы в крови было высоким и составило 4.5-7.7 Ммоль/л при норме 2.9 Ммоль/л. Вероятно, причиной гибели тайменей стало эндокринологическое нарушение, спровоцированное действием

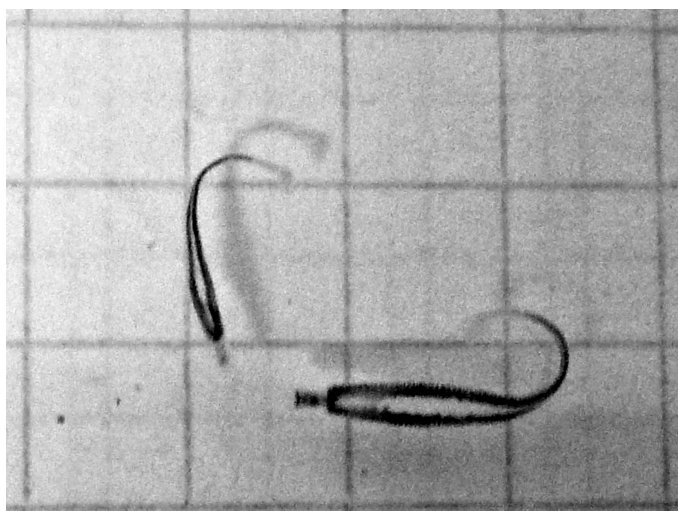
гвоздичного масла как стрессора. В медицине известно, что толчком к развитию инсулинзависимого диабета является резкий или продолжительный стресс на фоне гиподинамии.

Для проверки этой гипотезы проведены исследования влияния раствора гвоздичного масла на содержание глюкозы в крови сеголеток кижуча при имитации их транспортировки в пресной воде с добавлением этого анестетика (Микулин и др., 2005). Рыб анестезировали в течение 10 мин гвоздичным маслом концентрацией 0.006-0.007 мл/л, затем перемещали в раствор, разбавленный в 10 раз пресной водой для пролонгирования процесса сна, и имитировали транспортировку. В этих условиях содержание глюкозы в крови рыб повышается в 2-4 раза. В то же время, кратковременное обездвиживание сеголетков кижуча анестетиком не приводит к повышению глюкозы в крови, как в процессе сна, так и после их пробуждения в пресной воде.

## **6. 2. Влияние анестезии в гвоздичном масле на жаберных паразитов**

При проведении бонитировки бестера разных пород с помощью гвоздичного масла обнаружен новый, неизвестный ранее эффект его воздействия на животных. По нашим данным, приведенные выше концентрации гвоздичного масла обездвиживали не только позвоночных (осетровых), но и беспозвоночных, а именно паразитирующих на бестере червей — дигенетических сосальщиков рода *Diclybothrium* и моногенетических рода *Dactylogyrus*, часто прикрепляющихся к жаберным лепесткам рыб.





**Рис. 22.** Внешний вид паразитирующих на жабрах бестера паразитов, полностью отделившихся после обработки рыб в растворе гвоздичного масла при концентрации 0.04 мл/л (сторона квадрата 5 мм).

Количество паразитов на жабрах у исследованных нами рыб было высоким, достигая 35-40 экз. на рыбу. При нахождении рыб в бассейне с гвоздичным маслом в качестве анестетика происходило отделение паразитических червей (рис. 22) от покровов рыбы в течение тех же 6-7 мин, которые требовались для усыпления бестера. Однако если бестер после прекращения действия гвоздичного масла восстанавливал свою жизнедеятельность, то большинство паразитирующих червей погибали, а оставшиеся особи теряли активность и опали на дно бассейна. Исходя из этого, мы рекомендуем использовать гвоздичное масло не только для анестезии осетровых рыб, но и в качестве лечебного средства для их освобождения от паразитических жаберных сосальщиков.

## 7. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработаны и предложены оптимальные концентрации анестетика гвоздичное масло при 10-минутной экспозиции для применения при

рыбоводных манипуляциях с ценными видами рыб – объектами воспроизводства и культивирования на рыбоводных заводах (см. табл. 2, 3 и табл. 7).

Гвоздичное масло как относительно новый в аквакультуре России анестетик имеет значительные преимущества перед использовавшимися ранее: естественное происхождение и экологичность, доступность и низкая стоимость препарата – по сравнению с MS-222 оно дешевле в 40 раз (Taylor, Roberts, 1999). Имеется видовая специфичность в характеристике и продолжительности разных фаз анестезии, а также их зависимость от температуры воды.

**Таблица 7.** Рекомендации по использованию гвоздичного масла (экспозиция 10 мин, температура +7 °С) для ценных видов дальневосточных рыб (Микодина и др., 2011)

Виды рыб	Оптимальные концентрации, мл/л
Сахалинский таймень	0.02-0.03
Кижуч (производители)	0.03
Кижуч (сеголетки)	0.03
Кета (производители)	0.05
Сахалинский осетр, амурский осетр, белуга	0.04-0.07

## 8. ВЕРИФИКАЦИЯ МЕТОДА

Методики разработаны и апробированы нами на рыбоводных заводах Российской Федерации и в ФГУП "ВНИРО" (Охотский ЛРЗ, ЭРМ и УЗВ аквариальной ФГУП "ВНИРО") и Чешской Республики: Model VÚRH (г. Водняны), Mydlovary, Hluboká, Tisová-u-Sokolova. Методика применения анестетика гвоздичного масла для рыбоводных целей при выращивании и перевозке сахалинского тайменя и других

ценных дальневосточных видов рыб была апробирована при перевозке сахалинского тайменя с Охотского ЛРЗ на «Лесное» и сахалинского осетра с Охотского ЛРЗ (о. Сахалин) на Можайский экспериментальный осетровый завод (Московская область). Результаты методических исследований по анестезии рыб гвоздичным маслом опубликованы сотрудниками ВНИРО в соавторстве с коллегами из Чешской Республики как в России, так и за рубежом (рис. 23).



**Рис. 23.** Совместная экспериментальная работа международной группы ученых в 2005-2008 гг. Слева - к.б.н. С.В. Пьянова на экспериментальной рыбоводной базе Факультета рыбоводства и охраны водной среды Южно-Чешского университета в г. Водняны; справа - инж. PhD. Я. Коуржил, к.б.н. М.А. Седова, проф. Е.В. Микодина, тепловодное рыбоводное хозяйство "Tisová u Sokolova", Чешская Республика

## **9. ВЫВОДЫ**

1. Применение метода анестезии рыб гвоздичным маслом соответствует законодательствам о защите животных, таким как Европейская Конвенция по защите экспериментальных животных и ФЗ "Гражданский кодекс Российской Федерации" (Статья 137).
2. Большое преимущество использования данного анестетика состоит в том, что он является природным веществом, не дает побочных эффектов для рыб и человека, не представляет ни экономической, ни экологической, ни гигиенической опасности, одобрен Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ).
3. Метод анестезии рыб, основанный на применении гвоздичного масла, показал надежные результаты для многих видов рыб, в том числе осетровых, лососевых, сиговых и карповых.
4. Возможности метода позволяют применять его для минимизации манипуляционного стресса у объектов аквакультуры и предупреждение повреждений.
5. Гвоздичное масло не имеет негативных физиологических последствий на организм анестезируемых рыб.
6. На основании собственных экспериментов и данных литературы гвоздичное масло можно рекомендовать для применения в рыбоводной практике как удобное, экономически выгодное и доступное анестезирующее средство.

## **10. БЛАГОДАРНОСТИ**

Исследования, положенные в основу данного Руководства, выполнены в соавторстве с директором Исследовательского центра аквакультуры и биоразнообразия гидроценозов (CENAKVA)

Университета Южной Богемии П. Козаком (P. Kozák), а также другими сотрудниками этого Центра, дипломантами и докторантами.

Авторы приносят искреннюю благодарность руководству Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии (ФГУП "ВНИРО") Российской Федерации, ФГУ "ЦУРЭН", ФГУ «Сахалинрыбвод», руководству и рыбоводам Охотского и Лесного ЛРЗ (Российская Федерация, о. Сахалин), а также директору и сотрудникам СЕНАКВА и рыбоводных хозяйств Чешской Республики за сотрудничество и помощь в проведении научных экспериментов.

Экспериментальные работы финансировались из собственных средств ФГУП "ВНИРО", а также при финансовой поддержке национальных грантов Чешской Республики № MSM6007665809 (2004-2006 гг.), № MSM6007665809 (2005–2011 гг.) и международного чешско-российского проекта «Контакт» (KONTAKT): № ME853 MŠ (2004-2006 гг.), № ME853 MŠ (2006 – 2008 гг.).

## 11. СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Арефьев В.А., Бурцев И.А. 2008. О видовом статусе бестера *Acipenser nikołjukini* // Генетика, селекция, гибридизация, племенное дело и воспроизводство рыб. Тез. докл. межд. конф., посвященной 100-летию со дня рождения Валентина Сергеевича Кирпичникова. СПб, 10-12 сентября 2008. С. 87-88.
2. Арефьев В.А., Бурцев И.А., Крылова В.Д., Николаев А.И., Николукин Н.И., Серебрякова Е.В., Тимофеева Н.А., Филиппова О.П. 2003. Бестер *Acipenser nikołjukini* Аксайская. Патент на селекционное достижение № 1829.
3. Бурцев И.А. 1969. Способ получения икры от самок рыб. Авт. свид. 244793.

4. Бурцев И.А., Николаев А.И., Сафронов А.С. 2005. Способ получения икры от самок осетровых рыб. Патент № 2290794.
5. Глубоков А.И., Вудс Л.С., Тейсен Д.Д., Коуржил Я. 1992. Влияние двух анестетиков - бензокаина и менокaina, на полосатого окуня *Morone saxatilis* Walb. // 8 Конф. по экологической физиологии и биохимии рыб. Петрозаводск. Т. 1. С. 67-68.
6. Глубоков А.И., Коуржил Я., Микодина Е.В., Барт Т., Вахта Р.. 1991. Стимуляция созревания пиленгаса с помощью гонадолиберинов и нейролептиков // Рыбное хозяйство. №12. С.63-65.
7. Гражданский кодекс Российской Федерации. 2009. М.: Издательство: Эксмо. 912 с. <http://www.gk-rf.ru/>
8. Климонов В.О., Никоноров С.И., Витвицкая Л.В. 1995. Справочник по применению анестезирующих веществ в рыбоводстве. М.: Мединор, 169 с.
9. Кораблина О.В., Иванова Л.В. 2001. Опыт разведения сахалинского тайменя *Hucho perryi* (Brevoort, 1856) на лососевых рыбоводных заводах и в лабораторных условиях // Чтения памяти В.Я. Леванидова. Вып. 1. Владивосток: Дальнаука. Р. 359-366.
10. Коуржил Я., Гамачкова Й., Ступка З., Микодина Е.В., Седова М.А., Вахта Р.Р. 2003. Влияние температуры на чувствительность сибирского осетра (*Acipenser baeri*) к гвоздичному маслу как анестетику // Мат-лы Межд. Симп. "Холодноводная аквакультура - старт в XXI век", 8-13 сентября 2003, Россия. М.: Росинформагротех. С. 111.
11. Коуржил Я., Микодина Е.В., Микулин А.Е., Гамачкова Й., Любаев В.Я. 2009. Влияние концентрации гвоздичного масла на анестезию сахалинского тайменя *Parahucho perrii* // Проблемы и перспективы использования водных биологических ресурсов Сибири в 21 веке. Мат-лы Всерос. конф. с межд. участием, посвященной 100-летию Енисейской ихтиологической лаборатории (ФГНУ "НИИЭРВ"). Красноярск, 8-12

декабря, 2008. Красноярск: ИПК СФУ. С. 97-101.

12. Коуржил Я., Седова М.А., Хамачкова Й., Ступка З., Микодина Е.В., Вахта Р. 2004. Влияние температуры на чувствительность севрюги (*Acipenser stellatus*) к анестезирующему действию гвоздичного масла // Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития. Мат-лы докл. III Межд. науч.-прак. конф. Астрахань, 2004 г. С. 184-186.
13. Коуржил Я., Швингер В., Микодина Е.В., Седова М.А., Павлишта Р., Гамачкова Й. 2010. Синхронизация и ускорение овуляции у самок и улучшение заводского метода размножения пеляди (*Coregonus peled*) с помощью гормональной стимуляции на фоне анестезии // Биология, биотехника разведения и состояние запасов сиговых рыб. Мат-лы Седьмого межд. науч.-произв. сов. Тюмень, 16-18 февраля 2010 года. Тюмень: Госрыбцентр. С. 219-222.
14. Микодина Е.В. 1995. Анестетики у рыб // Рыбоводство и рыболовство. Вып. 2. С. 45-46.
15. Микодина Е.В., Глубоков А.И. 1996. Итоги и перспективы российско-чешского сотрудничества в области аквакультуры // ВНИЭРХ. Сер. Аквакультура. Вып. 4. С. 1-20.
16. Микодина Е.В., Коуржил Я. 2004. ВНИРО и НИИРГ ЮУ (Чешская республика): международное сотрудничество в области аквакультуры // Рыб. хоз-во. № 2. С. 44-46.
17. Микодина Е.В., Коуржил Я., Седова М.А., Пьянова С.В. 2011. Экологичный анестетик «гвоздичное масло» в биотехнике искусственного воспроизводства рыб // Рыбоводство. № 3-4. С. 46-47.
18. Микодина Е.В., Любаев В.Я. 2005. Выращивание маточного стада сахалинского тайменя *Parahucho perryi* (Brevoort) на лососевых заводах юго-восточного Сахалина // Аквакультура и интегрированные технологии: проблемы и возможности. Сб. науч. тр. ГНУ ВНИИР и

РГАУ-МСХА им. К.А.Тимирязева. Т. 3. С. 195-212.

19. Микодина Е.В., Микулин А.Е., Коуржил Я., Любаев В.Я. 2004. О новом анестетике "гвоздичное масло" и его использовании при манипуляциях с белугой, амурским и сахалинским осетром // Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития. Мат-лы III Межд. науч.-прак. конф. Астрахань: "Альфа-Аст". С. 51-55.
20. Микодина Е.В., Сафронов А.С., Дудин К.В., Пьянова С.В. 2011а. Анестетик «гвоздичное масло» в аквакультуре осетровых рыб: итоги и новые данные // Вопр. рыболовства (в печати).
21. Микулин А.Е., Микодина Е.В., Коуржил Я. 1992. Действие анестетиков хинальдина и менокаина на некоторые виды черноморских рыб // Водные биоресурсы, воспроизводство и экология гидробионтов. Сб. науч. тр. ВНИИПРХ. Вып. 66. С. 123-127.
22. Микулин А.Е., Коуржил Я., Микулина Ю.А., Микодина Е.В. 2005. Роль анестетиков как диабетогенного фактора у рыб // Актуальные проблемы экологической физиологии, биохимии и генетики животных: Мат-лы Межд. науч. конф. Ручин А.Б. (отв. ред.). Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2005. С. 152-154.
23. Муравьева Д.А. 1983. Тропические и субтропические лекарственные растения. 2-е изд.. М.: Медицина. 336 с.
24. Никоноров С.И., Климонов В.О., Голованова Т.С., Крылова В.Д., Кольман Р., Витвицкая Л.В. 2005. Применение анестезирующих веществ в осетроводстве // Вопр. рыболовства. Т. 6. № 3(23). Р. 575-598.
25. Подушка С.Б. 1999. Получение икры у осетровых с сохранением жизни производителей // Науч.-техн. бюл. лаб. ихтиологии ИНЭНКО. № 2. С. 4-19.
26. Подушка С.Б., Чебанов М.С. 2007. Икорно-товарное осетроводство в Китае // Науч.-тех. бюл. лаб. ихтиологии ИНЭНКО. № 13. С. 5-15.
27. Отчет ВНИРО о НИР по договору № 46 "Провести мониторинг



- состояния и рациональной эксплуатации искусственных популяций кеты и горбуши в Сахалино-Курильском регионе". 2003. М.: ВНИРО, 157 с.
28. Триптофан-Ятрохимия. 1998. Химическая энциклопедия в 5 томах. Т. 5. М.: Большая Российская Энциклопедия. 784 с.
29. Хейфиц Л.А., Дашунин В.М. 1994. Душистые вещества и другие продукты для парфюмерии. М.: Химия, 256 с.
30. Химические и биологические вещества, применяемые в прудовом рыбоводстве (рекомендации). Под ред. Лаптева В.И. 1981. Темрюк. 164 с.
31. Anderson W.G., McKinley R.S., Colavecchia M. 1997. The use of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance // N. Amer. J. Fish Manag. № 17. P. 301–307.
32. Barmintsev V.A., Barmintseva A.E., Muge N.S. 2007. Molecular genetic identification of bester strains (*H. huso* × *A. ruthenus*, sin *A. nikoljukini*). М.: VNIRO, 10 p.
33. Blackman B.G. 2002. Notes on the use of clove oil as an anaesthetic for northern fish species and for the surgical implantation of radio transmitters into Arctic grayling (*Thymallus arcticus*). Peace/Williston Fish and Wildlife Compensation Program, Report No. 255. 8p.
34. Bullerman, L.B., Lieu F.Y., Seir S.A. 1977. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils; cinnamic aldehyde and eugenol // Journal of Food Science. № 4. P. 1107-1116.
35. Cho G.K., Heath D.D. 2000. Comparison of tricaine methanesulphonate (MS 222) and clove oil anaesthesia effects on the physiology of juvenile chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum) // Aquacult. Res. V. 31(6). P. 537-546.
36. Endo T., Ogihima K., Tanaka H., Oshima S. 1972. Studies on the anaesthetic effect of eugenol in some fresh water fishes // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. № 38. P. 761–767.
37. Gingerich W.H., Drott K.R. 1989. Plasma catecholamine concentrations in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) at rest and after anesthesia and

- surgery // Gen. Comp. Endocrinol. V. 73. P. 390–397.
38. Gomulka P., Własow T., Velíšek J., Svobodová Z., Chmielinska E. 2008. Effects of eugenol and MS-222 anaesthesia on siberian sturgeon *Acipenser baerii* Brandt // Acta Vet. Brno. № 7. P. 447-453.
39. Hamáčková J., Kouřil J., Kozák P., Stupka Z. 2006. Clove oil as an anaesthetic for different freshwater fish species // Bulg. J. Agric. Sci. V. 12. P. 185-194.
40. Hamáčková J., Lepičová A., Kouřil J., Lepič P., Kozák P., Policar T., Stupka Z., 2001. Anesteziologický účinek hřebíčkového oleje u lína obecného (*Tinca tinca*) v závislosti na teplotě vody // Bull. VÚRH Vodňany. № 37(4). P. 147-152.
41. Hamáčková J., Sedova M.A., Pjanova S.V., Lepičová A. 2001. The effect of 2-phenoxyethanol, clove oil and propiscin anaesthetics on perch (*Perca fluviatilis*) in relation to water temperature // Czech J. Anim. Sci. V. 46. № 11. P. 469-473.
42. Hamáčková J., A. Lepičová P., Kozák Z., Stupka J., Kouřil P., Lepič A. 2004. The efficacy of various anaesthetics in tench (*Tinca tinca*) related to water temperature // Vet. Med. Czech. № 49(12). P. 467-472.
43. Hamáčková J., Sedova M.A., Kouřil J., Stupka Z., Mikodina J.V., Lepič P., Kozák P., Lepičová A., Vachta R. 2004. Anestézie jesetera malého (*Acipenser ruthenus*) pomocí hřebíčkového oleje při různých teplotách vody // Sb. Spumy, P. "55 let rybářské specializace na MZLU v Brně". Brno 30.11.-1.12.2004. S. 105-113.
44. Hamáčková J., Sedova M.A., Pjanova S.V., Lepičová A., Lepič P., Kouřil J. 2002. Použití anestetik u okouna říčního (*Perca fluviatilis*) při různých teplotách vody // Produkce násadového materiálu ryb a raků. Vykusová B. (Red.) Vodňany, VÚRH JU. S. 46-51.
45. Hamáčková J., Sedova M.A., Pjanova S.V., Kouřil J. 2004a. Toxicita hřebíčkového oleje a vliv jeho koncentrací na průběh a odeznění anestézie u sivena amerického (*Salvelinus fontinalis*) // Sb. Vykusová B. (ed.) VII České

- ichtyologické konference, Vodňany 6.-7.5.2004, VÚRH JU Vodňany, s. 155-158.
46. Hamáčková J., Stupka Z., Kouřil J., Lepičová A. 2000. The effect of various anaesthetics on tench (*Tinca tinca*) related to its weight // III International workshop of Biology and Culture of the tench (*Tinca tinca* L.). Proc. of Abstr., Machern, Germany. 1 p.
47. Hamáčková J., Stupka Z., Lepič P., Kouřil J., Lepičová A., Kozák P., Polícar T., Mikodina E.V., Sedova M.A., Pjanova S.V. 2003. Použití hřebíčkového oleje jako anestetika pro ryby // Bull. VURH Vodnany. N ½. P. 22-30.
48. Hernani T., Tangendaja B. 1988. Analisis mutu minyak nilam dan minyak cengkeh secara kromatografi // Media Penelitian Sukamandi. V. 6. P. 57-65.
49. Hikasa Y., Takasa K., Ogasawara T., Ogasawara S. 1986. Anaesthesia and recovery with tricaine methanesulphonate, eugenol and thiopental sodium in the carp, *Cyprinus carpio* // Jap. J. Vet. Sci. V. 48. P. 341 – 351.
50. Hoskonen P., Prihonen J. 2004. Temperature effects on anaesthesia with clove oil in six temperate-zone fishes // J. Fish Biology. № 64. P. 1136-1137.
51. Jolla D.W., Mawdesley-Thomas L.E., Bucke D. 1972. Anaesthesia of fish // Veterinary Record. V. 91. P. 424-426.
52. Karvánková J. 2003. Vliv teploty na účinek dvou různých anestetik (2-fenoxyethanol a hřebíčkový olej) u sumečka afrického (*Clarias gariepinus*). Diploma thesis, Jihočeská univerzita Pedagogická fakulta, České Budějovice, 185 s.
53. Keene J.L., Noakes D.L.G., Moccia R.D., Soto C.G. 1998. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) // Aquacult. Res. V. 29. P. 89-101.
54. Kolman R. 1998. Chow ryb jesiotrovatých // Broszura IRS, №177.
55. Kouřil J., Hamáčková J., Stupka Z., Votrúbec J., Šticha J., Karvánková J., Mikodina E., Mikulín A., Sedova M., Pjanova S., Škeřík J., Mašek L., Chmel M., Vykusová B. 2006. Utilization anaesthetic in ichthyological

- research, aquaculture and aquaristic // Abstr. 12 Conf. Feriancove dni. PRIF UK. Bratislava, Slovenia. P. 27-28.
56. Kouřil J., Hamáčková J., Stupka Z., Mikodina E.V. 1992. Uciněk anestetika menokain na cipala *Mugil soi-uy* // Živočišna Vyroba. V. 37. S. 921-926.
57. Kouřil J., Mikodina E., Mikulin A., Lubayev V., Škeřík, J., Švinger V. 2009. Different sensitivity between adult salmonids fish species and grayling to an anaesthetic clove oil // Aquaculture Europe 2009. EAS, Trondheim (Norway), August 14 – 17.
58. Kouřil J., Sedova M.A., Svoboda M., Hamáčková J., Kalab P., Kolářová J., Lepičová A., Savina L., Moreno Rendón P., Svobodová Z., Barth T., Vykusová B. 2007. Repeated administration of different hormonal preparations for artificial stripping and their effects on reproduction, survival and blood biochemistry profiles of female tench (*Tinca tinca* L.) // Czech Jour. of Animal Sci. № 52 (6). P. 183-188.
59. Marking L.F., Meyers F.P. 1985. Are better anesthetics needed in fisheries? // Fisheries. № 10(6). P. 1-5.
60. Mikodina E.V., Hamáčková J., Lebedeva N.E., Glubokov A.I. 1995. Effect of stress and anesthetic in acclimatizant Pacific mullet *Mugil so-iuy* Bas. and other species of fish // International Ichthyohaematological Conference, Oct.30-Nov.3. Ohrada Hunting Lodge by Hluboká-nad-Vltavou, Czech Republic.
61. Munday P.L., Wilson S.K. 1997. Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in anaestetization *omacentrus amboinensis* a coral reef fish // J. Fish Biol. № 51. P. 931-938.
62. Perdikaris C., Nathanailides C., Gouva E., Gabriel U.U., Bitchava K., Athanasopoulou F., Paschou A., Paschos I. 2010. Size-relative effectiveness of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) and goldfish (*Carassius auratus* Linnaeus, 1758) // ACTA VET. BRNO. № 79. P. 481–490.
63. Policar T., Stejskal V., Bláha M., Alavi S.M.H., Kouřil J. 2009.

- Technologie intenzivního chovu okouna říčního (*Perca fluviatilis* L.). Metodika. VÚRH JU Vodňany: Technologická řada., No. 89. 49 p.
64. Ross L.G., Ross B. 1999. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals // Instit. Aquacult. Univ. Stirling. P. 58 –155.
65. Sedova M., Pianova S., Hamáčková J., Kouřil J. 2006. Effect of clove oil concentration on the course of anesthesia and recovery in brook trout *Salvelinus fontinalis* // Abstr. Int. Conf. «AQUA 2006», May 9-13. WAS and EAS. (CD-ROM) Florence, Italy. P. 484.  
<http://www.was.org/meetings/AbstractData.asp?AbstractId=11360>
66. Soto C.G., Burhanuddin S. 1995. Clove oil a fish anaesthetic for measuring length and weight of rabbitfish (*Siganus lineatus*) // Aquaculture. V. 136. P. 149-152.
67. Taylor P.W., Roberts S.D. 1999. Clove oil: An alternative anaesthetic for aquaculture // North Am. J. Aquacult. V. 61. P. 150 –155.
68. Trzebiatowski R., Stepanowska K., Siwicki A.K., Kazuń K. 1996. Badania nad przydatnością preparatu propiscin do znieczulenia ogólnego sumy europejskiego // Komunikaty Rybackie (Olsztyn). № 1. S. 14-18.
69. Velisek J., Svobodová Z., Piackova V., Groch L., Nepejchalova L. 2005. Effects of clove oil anaesthesia on common carp (*Cyprinus carpio* L.) // Vet. Med. Czech. № 50 (6). P. 269-275.
70. Waterstrat P.R. 1999. Induction and recovery from anesthesia in channel catfish *Ictalurus punctatus* fingerlings exposed to clove oil // J. World Aquacult. Soc. № 30(2). P. 250–255.
71. Zaikov A., Iliev I., Hubenova T. 2008. Induction and recovery from anaesthesia in pike (*Esox lucius* L.) exposed to clove oil // Bulgarian Jour. of Agricultural Sci. Plovdiv. V. 14 (No 2). P. 165-170.

## СОДЕРЖАНИЕ

	Введение.....	1
1.	Актуальность и цель.....	5
2.	Оборудование и препараты гвоздичного масла .....	7
3.	Общие сведения об анестетике "гвоздичное масло" .....	10
4.	Инструкция по приготовлению гвоздичного масла для анестезии рыб, фазы действия, объекты.....	13
4.1	Процедура приготовления рабочего "раствора" гвоздичного масла.....	13
4.2	Анестезирующее действие гвоздичного масла на рыб, фазы анестезии.....	14
4.3	Виды рыб – экспериментальных объектов по изучению действия гвоздичного масла как анестетика .....	16
5.	Особенности анестезии разных видов рыб.....	21
5.1	Влияние анестетика на поведенческие реакции пресноводных рыб.....	21
	Влияние концентрации гвоздичного масла на время наступления разных фаз анестезии.....	21
	Влияние температуры воды на продолжительность разных фаз анестезии в гвоздичном масле у пресноводных видов рыб .....	23
	Влияние массы тела рыб на анестезию гвоздичным маслом и его токсичность .....	26
5.2	Влияние гвоздичного масла на поведенческие реакции осетровых и лососевых рыб.....	27
	Влияние температуры воды на анестезию сибирского осетра.....	28
	Влияние температуры воды на анестезию севрюги.....	29
	Влияние анестетика на поведенческие реакции стерляди.....	30
	Влияние анестетика на поведенческие реакции белуги.....	30

	Влияние температурных режимов на время наступления фаз анестезии в гвоздичном масле у стерляди, сибирского осетра и севрюги.....	31
	Влияние анестетика на поведенческие реакции бестера.....	33
	Воздействие гвоздичного масла разного производства на анестезию бестера.....	34
	Общие особенности поведения осетровых на разных фазах анестезии гвоздичным маслом.....	37
	Влияние концентрации гвоздичного масла на время наступления разных фаз анестезии у сахалинского тайменя.....	37
	Влияние концентрации гвоздичного масла на время наступления разных фаз анестезии у кеты.....	38
	Влияние концентрации гвоздичного масла на время наступления разных фаз анестезии у сеголеток кижуча.....	39
5.3	Продолжительность фаз анестезии у разных видов рыб при одинаковой температуре воды и концентрации гвоздичного масла.....	39
6.	Воздействие гвоздичного масла на биохимические показатели и здоровье рыб.....	41
6.1	Влияние длительного выдерживания в гвоздичном масле ценных видов рыб на содержание глюкозы в их крови .....	42
6.2	Влияние анестезии в гвоздичном масле на жаберных паразитов .....	43
7.	Заключение.....	44
8.	Верификация метода.....	45
9.	Выводы.....	47
10.	Благодарности.....	47
11.	Список использованной литературы .....	48

**АКВАКУЛЬТУРА**

**Выпуск 6**

**Руководство по применению анестетика "гвоздичное масло" в  
аквакультуре**

Подписано в печать  
Печ. л.    Формат 60×84 1/16  
Тираж 150. Заказ №

Издательство ВНИРО  
107140, Москва, ул. Верхняя Красносельская, 17  
Тел.: (499) 264-65-33  
Факс (499) 264-91-87