

**Дмитровский рыбохозяйственный технологический институт (филиал)
Федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Астраханский государственный технический университет»
(ДРТИ ФГБОУ ВО «АГТУ»)**

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор

_____ В.С. Баньков

«_____» _____ 2017 г.

**«Изучение воздействия препарата Маг Трит®
на показатели воды, фитопланктон и токсико-
биологические параметры рыб – объектов пресноводной
аквакультуры»**

Руководитель работ:
Зав. кафедрой аквакультуры,
доктор биол. наук, профессор

Головина Н.А.

Рыбное, 2017 г.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	3
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	5
1. Оценка влияния препарата «Маг Трит» на гидрохимические и бактериологические показатели воды	5
2. Оценка saniрующих свойств препарата «Маг Трит»	8
3. Оценка влияния препарата «Маг Трит» на фитопланктон	11
4. Оценка токсичности препарата «Маг Трит» для рыб.....	12
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	13
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	15

Введение

Исследование посвящено поиску препаратов для повышения качества воды в рыбохозяйственных водоемах, в том числе снижения различных форм азотистых соединений, тяжелых металлов, подавления избыточного развития микроводорослей (фитопланктона), возможность санирования водной среды. С этой целью, для испытания была взята сухая форма гидроксида магния «Маг Трит», производства ООО «Русское горно – химическое общество», который, помимо своего основного применения рекомендован также для биологической очистки промышленных стоков, нейтрализации кислот и очистки воды от тяжелых металлов.

Цель работы: скрининговая оценка воздействия препарата гидроксида магния (ГМ) «Маг Трит» на показатели воды и токсико-биологические параметры рыб – объектов пресноводной аквакультуры.

Задачи исследования:

1. Оценка влияния различных концентраций препарата ГМ на основные для аквакультуры гидрохимические показатели водной среды.
2. Влияние различных концентраций препарата на водную микрофлору – потенциальных возбудителей бактериальных заболеваний рыб (оценка дезинфицирующих свойств препарата).
3. Скрининговая оценка действия препарата ГМ на численность и качественный состав микроводорослей - представителей естественных биоценоза открытых водоемов и рыбоводных прудов.
4. Оценка токсичности препарата ГМ для молоди трех видов рыб – основных объектов отечественной аквакультуры: карпа, сибирского осетра и радужной форели.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Препарат гидроксид магния «Маг Трит» (Приложение 1) представляет собой белый, плохо растворимый в воде порошок, состоящий в основном из гидроксида магния $MgO/Mg(OH)$ – 64-93%, а так же CaO (до 2,5%), SiO_2 (до 2,0%) и Fe_2O_3 (до 0,2%).

Все исследования проведены в аквариальных (лабораторных) условиях с отбором воды для опытов из рыбоводного водоема с повышенным уровнем антропогенного загрязнения и с естественным (на конец ноября) уровнем развития микроводорослей (фитопланктона).

Опыты на рыбах проведены в аквариумах. Для молоди карпа навеской 20-25 г объем воды составлял 1,5 л/рыбу, для молоди осетра и радужной форели навеской 5-6 и 7-9 г, соответственно, по 1 л/рыбу с обязательной аэрацией воды микрокомпрессорами в течение всего периода эксперимента.

Температура воды в опытах с молодью карпа и осетра составляла 19-22 °С, с молодью форели – 10-12 °С, содержание кислорода от 5-7 до 8-9 мг/л. Оценивали поведение и выживаемость рыб в период экспериментов. Рыбу в период содержания не кормили и только в последний день опыта оценивали их реакцию на дачу корма. Все опыты проведены с двойной повторностью (то есть было по две группы рыб в каждом варианте опыта).

Для испытания были взяты следующие концентрации препарата ГМ в воде:

1. Для оценки влияния ГМ на гидрохимические показатели воды взяты 4 дозировки препарата – 5, 30, 100, 500 мг/л (г/м³), взяв за основу дозировки негашеной извести которая уже более 300 лет широко используется в отечественной и зарубежной аквакультуре, особенно прудовой в дозировках от 5 до 20-30 г/м³.

В качестве первого контроля взята вода без добавления препарата.

В качестве второго (дополнительного) – во всех экспериментах была использована порошкообразная негашеная известь производства ОАО «Завод производства извести» (Приложение 2) в дозе 20 мг/л, содержащая 70-90% СаО и до 2% MgO . Экспозиция препаратов - ГМ и негашеной извести – 1 сутки.

2. Для оценки влияния препарата на микроводоросли (фитопланктон) использовали также три дозировки препарата «Маг Трит» – 5, 30 и 100 мг/л. В качестве первого контроля (К₁) была вода без добавления препаратов, в качестве второго контроля (К₂) - с добавкой негашеной извести (доза - 20 мг/л). Экспозиция опыта) – 3 суток. Температура воды составляла 16-18 °С.

3. Для оценки влияния ГМ на рыб использовали три концентрации препарата – 5, 30, и 100 мг/л, продолжительность опытов на молоди осетра и карпа– 5-6 дней, на молоди форели - 10 дней.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Оценка влияния препарата «Маг Трит» на гидрохимические и бактериологические показатели воды

1.1. Определение содержания кислорода и рН воды проводили каждые 4 часа в течение первых 12 часов опыта и его конце - через 24 часа. После этого был произведен отбор проб воды для гидрохимического и бактериологического анализов.

Результаты измерения содержания в воде кислорода (O₂) и рН после внесения препарата «Маг Трит» (в исследованных концентрациях) показали, что он оказывает значимое влияние (повышая её щелочность) только на рН воды (таблица 1, рисунки 1-4).

Таблица 1 – Содержание кислорода и величины рН в воде в опытах с оценкой влияния гидроксида магния «Маг Трит» (15-16.12.2016 г.)

Варианты опыта	Время после внесения препаратов (час.)							
	4		8		12		24	
	рН	O ₂ , мг/л	рН	O ₂ мг/л	рН	O ₂ мг/л	рН	O ₂ мг/л
1. Контроль 1	7,4	7,5	7,4	7,4	7,4	7,4	7,5	7,2
2. Контроль 2 (негашеная известь 20 мг/л)	8,5	7,4	8,5	7,4	8,0	7,3	8,2	7,2
3.«Маг Трит» (5 мг/л)	7,5	7,3	7,5	7,3	7,5	7,2	7,4	7,2
4.«Маг Трит» 30 мг/л	7,8	7,3	7,8	7,3	7,8	7,2	7,7	7,2
4.«Маг Трит» 100 мг/л	8,4	7,3	8,4	7,2	8,4	7,2	8,2	7,1
5.«Маг Трит» 500 мг/л	9,0	7,3	9,0	7,2	9,0	7,2	8,8	7,2

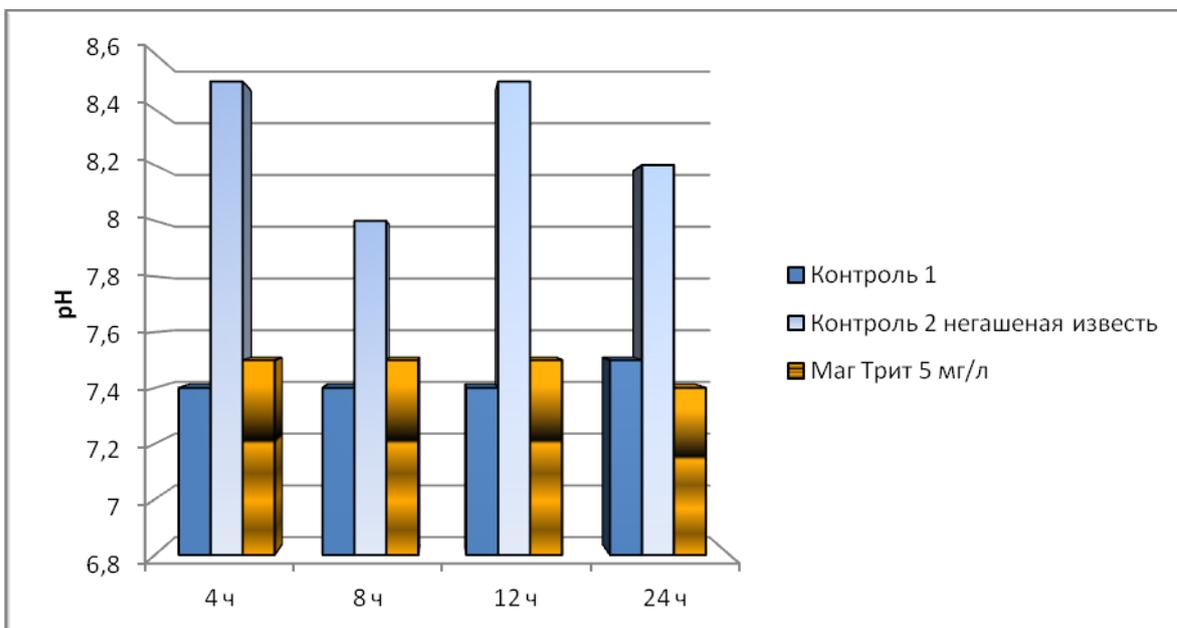


Рисунок 1 – Изменение рН воды в период опыта при добавлении препарата Маг Трит в концентрации 5 мг/л

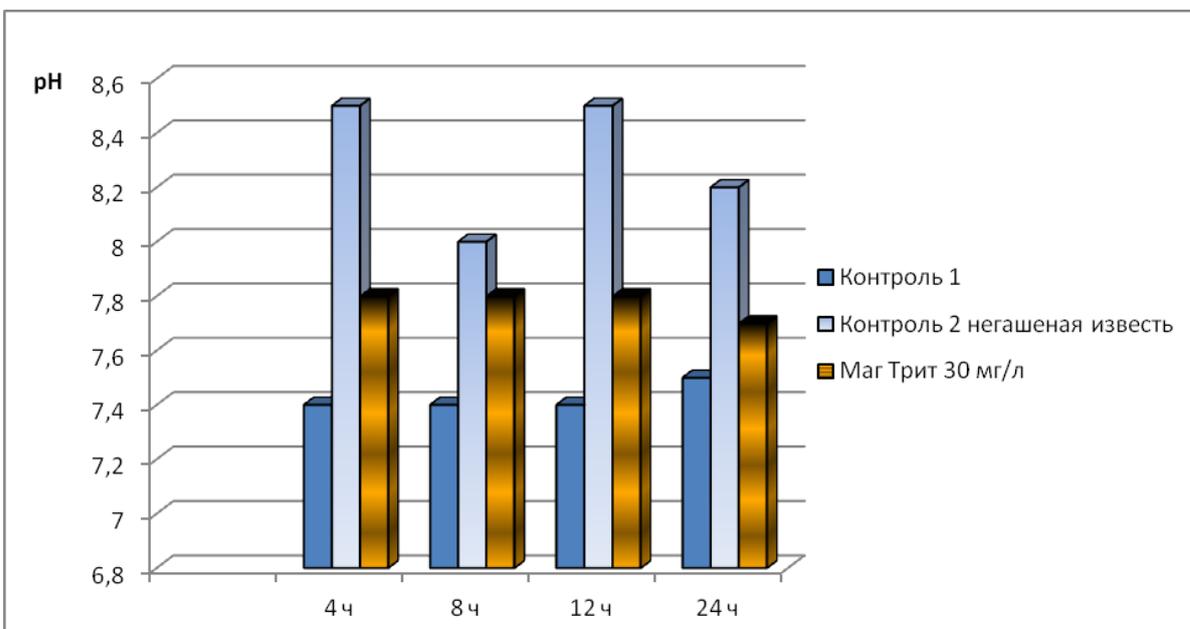


Рисунок 2 – Изменение рН воды в период опыта при добавлении препарата Маг Трит в концентрации 30 мг/л

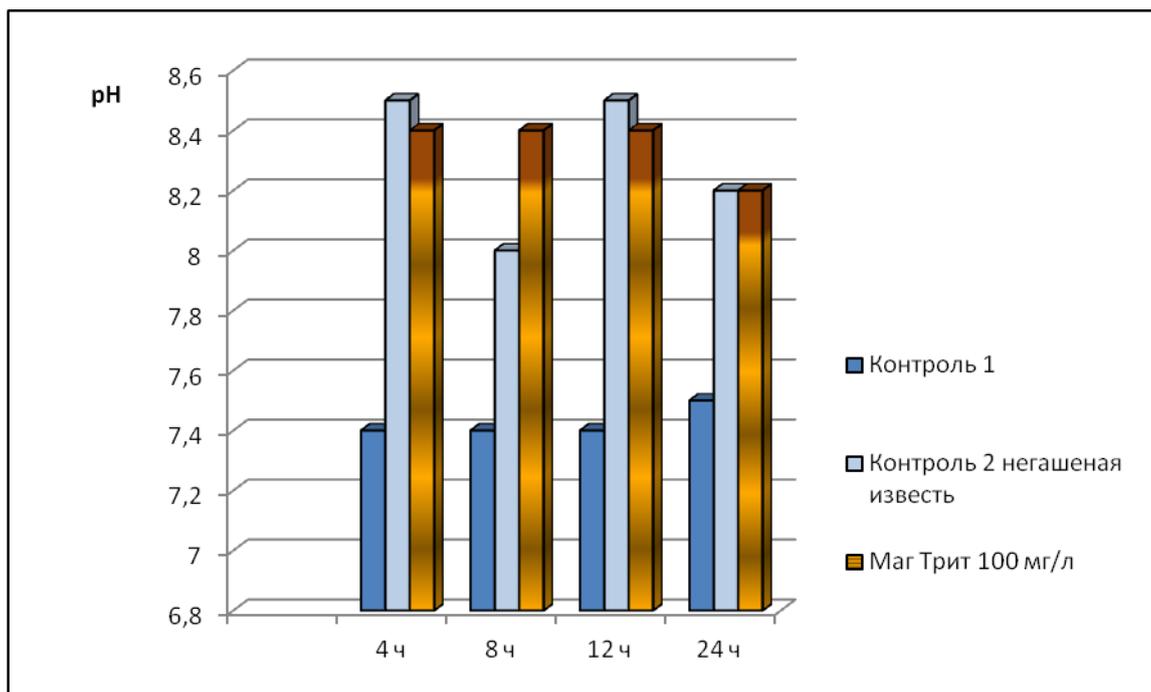


Рисунок 3 – Изменение рН воды в период опыта при добавлении препарата Маг Трит в концентрации 100 мг/л

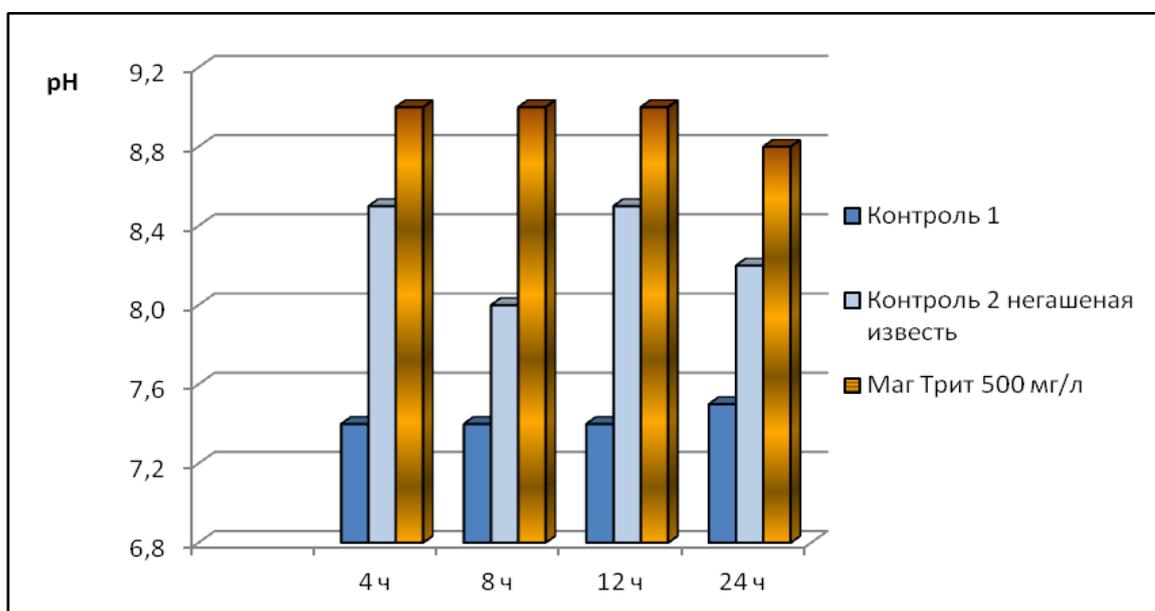


Рисунок 4 – Изменение рН воды в период опыта при добавлении препарата Маг Трит в концентрации 500 мг/л

Результаты эксперимента показали, что в дозировках ГМ 5 и 30 мг/л изменения рН воды было незначительным, особенно по сравнению с

сопоставимой дозировкой негашеной извести (контроль) 2 и только в дозировке ГМ 100 мг/л повышение рН было сопоставимо с ним. При более высокой дозировке ГМ - 500 мг/л величина рН повышалась весьма значительно, превышая K_1 на 2,4 единицы, а K_2 - на 0,5-0,6 единиц. Содержание же кислорода при этом практически не изменялось во всех вариантах опыта и в контроле 1 и 2.

1.2. Другая часть оценки препарата на качество воды проведена с использованием основных гидрохимических показателей, которые применяются для определения качества воды рыбохозяйственных водоемов. Вода для опытов была отобрана из рыбоводного пруда, уровень загрязнения которой была заведомо повышенный (особенно по количеству аммонийного азота и фосфатам).

Отбор проб воды на анализ как в опыте, так и в контрольных вариантах, произведен спустя сутки (24 ч.) после внесения препарата (т.е. от начала эксперимента). Результаты анализа воды показали (Приложение), что с учетом величины погрешности метода препарат во всех испытанных концентрациях не оказал достоверно значимого влияния на содержание в воде аммонийного азота, нитритов и нитратов.

В тоже время при повышении концентрации препарата 500 мг/л выявлено относительно невысокое (около 20%) снижение в воде фосфатов, являющихся интегрированным показателем антропогенного загрязнения водоемов и окисляемости, которая отражает содержание в воде органических веществ. В тоже время уже при концентрации ГМ 100 мг/л отмечено заметное (почти на 50%) уменьшение содержания в воде общего железа, что имеет весьма важное значения для рыб, особенно в зимний (подледный) период.

2. *Оценка saniрующих свойств препарата «Маг Трит»*

Опыты также были проведены в аквариальных условиях, при этом каждый вариант опыта имел двойную повторность. Всего было испытано 5 различных концентраций препарата ГМ - 5, 30, 100, 500 и 1000 мг/л, а также

два контроля: K_1 - вода без каких-либо добавок и K_2 – с добавлением негашеной извести в концентрации 20 мг/л.

Отбор проб на бактериологический анализ также проводили через 24 ч после внесения препаратов в воду. Температура воды составляла 11-12⁰С.

Бактериологический анализ проводили путем посева 0,05 мл исследуемой воды на две плотные питательные среды – эритрит-агар для определения общего количества микроорганизмов и среду Эндо для определения энтеробактерий и аэромонад, которые представляют эпизоотическую опасность для рыб.

Результаты эксперимента показали (таблица 2), что в дозировках от 5 до 100 мг/л saniрующего действия препарата на водную микрофлору не выявлено. И в опытных и в контрольных вариантах рост микрофлоры был минимальным. Несколько более выраженное воздействие гидроксида магния на микрофлору воды просматривается в концентрации 500 и 1000 мг/л, однако полного освобождения воды при этом не достигнуто, сохранились единичные споры бацилл.

Несомненно, что трудно было ожидать получения убедительных результатов saniрующих свойств от гидроксида магния, который по своей природе является флокулянтom, а не дезинфектантом, как и собственно и негашеная известь (в отличии, например, от хлорной извести) и относительно невысокий «дезинфицирующий» эффект последней в основном основан на снижении в воде органических веществ – субстрата и пищи микроорганизмов (бактерий и грибов). Тем более, что опыты были проведены на воде с очень низким содержанием органики и микробным загрязнением. При этих экспериментах вопросы о значимости и достоверности КОЕ не должны ставиться. Но все это не исключает получения положительного эффекта при испытании препарата с водой в более загрязнений микроорганизмами и органическими веществами, которое имеет место в рыбоводных и естественных водоемах в весенне-летний период.

Таблица 2 - Влияние препарата «Маг Трит» на микрофлору воды.

Варианты	Проба	Рост на питательных средах, КОЕ/мл		Микробиоценоз
		Эритрит	Эндо	
К ₁ ¹⁾	1	р/нет ⁴⁾	р/нет	-
	2	20	20	Bacillus sp.
К ₂ ²⁾	3	20	р/нет	Bacillus sp.
	4	60 (затянуто) ⁵⁾	20	Bacillus sp.
1 ³⁾ «Маг Трит»- 5 мг/л	5	160	р/нет	Bacillus sp.
	6	20 (затянуто)	р/нет	Bacillus sp.
2 «Маг Трит»- 30 мг/л	9	40 (затянуто)	20	Bacillus sp.
	10	40 (затянуто)	р/нет	Bacillus sp.
3 «Маг Трит»- 100 мг/л	11	80 (затянуто)	р/нет	Bacillus sp.
	12	80 (затянуто)	р/нет	Bacillus sp.
4 «Маг Трит»- 500 мг/л	13	р/нет	р/нет	-
	14	40 (затянуто)	р/нет	Bacillus sp.
5 «Маг Трит»- 1000 мг/л	15	20	р/нет	Bacillus sp.
	16	р/нет	р/нет	-

Примечание:

- 1) К₁ - контроль 1 (без препарата);
- 2) К₂ – контроль 2 (с негашеной известью);
- 3) 1–5 – варианты с добавлением препарата;
- 4) р/нет – рост на чашке со средой отсутствует;
- 5) затянуто - разрастание одной колонии по всей поверхности среды в чашке.

3. Оценка влияния препарата «Маг Трит» на фитопланктон

Пробы воды на определение качественного и количественного развития фитопланктона отобраны из рыболовного пруда Московской области в декабре 2016 г. Проба № 1 служила контролем с исходным количеством и качественным составом фитопланктона. Вода в пробе №3 была обработана негашеной известью из расчета 20 мг/л. В пробах № 7, № 9 и № 11 вода была обработана гидроксидом магния из расчета внесения, соответственно, 5 , 30 и 100 мг/л.

Камеральная обработка проб фитопланктона разных вариантов опыта выполнена отстойным методом, с использованием камеры Нажотта и микроскопа МИКМЕД-6. Полученные результаты отражены в таблице 3.

Таблица 3 – Влияние различных концентраций препарата «Маг Трит» на численность (N) и биомассу (Б) фитопланктона

Группы водорослей	Контроль		Негашеная известь		Препарат					
	К1		К2 (20 мг/л)		ГМ (5 мг/л)		ГМ (30 мг/л)		ГМ (100 мг/л)	
	N*	Б**	N	Б	N	Б	N	Б	N	Б
Диатомовые	1,06	0,53	1,18	0,31	1,51	0,392	0,95	0,353	0,22	0,115
Протококковые	0,6	0,2	0,47	0,09	0,2	0,033	0,44	0,056	0,13	0,014
Эвгленовые	0,016	0,031	0	0	0,001	0,003	0	0	0	0
Золотистые	0,048	0,004	0,014	0,001	0,056	0,009	0	0	0	0
Пирофитовые	0,024	0,073	0,028	0,089	0	0	0	0	0	0
Улотриксковые	0,024	0,037	0	0	0	0	0	0	0	0
Синезеленые	0	0	0,028	0,015	0,11	0,041	0,34	0,004	0,11	0,004
Желтозеленые	0	0	0,11	0,005	0	0	0	0	0	0
Вольвоксовые	0	0	0	0	0,25	0,36	0,056	0,057	0,001	0,001
ИТОГО	1,77	0,87	1,83	0,51	2,13	0,84	1,78	0,47	0,46	0,134

*)- численность клеток (млн.кл./л); **)- биомасса клеток (мг/л).

В контрольном варианте численность водорослей составила 1,77 млн.кл./л, биомасса - 0,87 мг/л. При обработке препаратом ГМ в концентрации 5 мг/л (проба №7) численность водорослей составила 2,13 млн.кл./л, биомасса была на уровне контроля - 0,84 мг/л.

С повышением концентрации внесения препарата – 30 мг/л, при близкой к контрольному варианту численности 1,78 млн.кл./л, биомасса фитопланктона уменьшилась в 1,9 раза и составила 0,47 мг/л.

В варианте с концентрацией внесения препарата 100 мг/л., произошло значительное снижение не только численности клеток водорослей, которая уменьшилась в 3,8 раза, но и биомассы – в 6,5 раз по отношению к обоим контролям. Следует отметить, что при анализе результатов гидробиологических материалов (в частности по фито- и зоопланктону) при относительно небольшом количестве проб, не позволяющий провести статистический анализ, значительным считают различие превышающие 10%-ю величину показателя.

В пробе №3, обработанной негашеной известью (K2) численность фитопланктона сохранилась примерно на том же уровне, что и в контроле (K1) - 1,8 млн.кл./л, а биомасса снизилась в 1,7 раза – до 0,51 мг/л, то есть оказалась сопоставимой со сходной дозой (30 мг/л) гидрооксида магния.

Таким образом, внесение препарата Маг Трит в концентрации 30 и 100 мг/л (г/м³) оказывает значительное влияние на фитопланктон, в сторону уменьшения его количественного развития. Однако полученные результаты являются предварительными, их применение в практических целях требуется проведение дополнительных испытаний.

4. Оценка токсичности препарата «Маг Трит для рыб

Исследование проводили на молоди трех видов рыб – карпа (массой 20 -25 г), сибирского осетра (5 – 7 г) и радужной форели (массой 7 – 10 г). На всех видах рыб было испытано 3 концентрации препарата: 5, 30 и 100 мг/л (г/м³).

На молоди карпа и осетра опыты проводили с 21 по 26.12.2016 г. при температуре воды 21-22°C и содержании кислорода 6-7 мг/л. Во всех испытанных концентрациях препарата ГМ поведение молоди и карпа и осетра не отличалось от контрольной группы в течение всего опыта.

Опыт на молоди форели, завезенной из 13.01.2017 г. из рыбоводной установки с замкнутым водоснабжением был проведен с 14 по 24. 01.2017 г. при температуре воды 10 - 12°C и содержании кислорода 7-8 мг/л. В течении всего опыта (10 дней) поведение рыбы было активным, без клинико-патологических признаков какого-либо негативного воздействия на рыб во всех испытываемых концентрациях препарата (5, 30 и 100 мг/л). В конце эксперимента опытным и контрольным рыбам был дан гранулированный комбикорм фирмы Biomar. Во всех аквариумах рыба стала активно питаться.

Проведенные эксперименты позволяют сделать вывод об отсутствии токсического воздействия на рыб препарата ГМ в концентрации от 5 до 100 мг/л.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты скринингового исследования по влиянию гидроксида магния «Маг Трит» на качественные показатели воды, фитопланктон и молодь трех видов рыб - основных объектов аквакультуры – карпа, сибирского осетра и радужной форели позволяют сделать следующие заключения:

1. Гидроксид магния «Маг Трит» в испытанных концентрациях - 5, 30 и 100 мг/л (г/м³) не оказал клинического токсического воздействия на молодь исследованных трех видов рыб - карпа, сибирского осетра и радужной форели.

2. Выявлено заметное влияние препарата на фитопланктон в сторону подавления его развития в концентрации 30 и 100 мг/л. При этом величина этого воздействия оказалась сопоставимой с воздействием взятой для контроля негашеной извести (в дозировке 20 мг/л) при сравнительно равных концентрациях и заметно возрастала при больших дозировках препарата (100 мг/л).

3. При оценке влияния препарата на качественные показатели воды выяснено, при внесении 500 мг/л происходит повышение рН с 7,4 до 9,0 единиц. Кроме того, в испытанных концентрациях от 100 до 500 мг/л препарат вызывает небольшое снижение в воде фосфатов и окисляемости и значительное (на 50%) уменьшение содержания общего железа, тем самым повышая качество воды, используемой для целей рыборазведения.

4. Оценка saniрующих свойств препарата показала, что заметное дезинфицирующее его свойство проявляется лишь при самых высоких испытанных концентрациях 500 и 1000 мг/л. Это не позволяет отнести препарат к дезинфектантам - аналогам, которые используются в аквакультуре (например хлорная известь).

Таким образом, проведенные предварительные испытания гидроксида магния Маг Трит выявили несколько его потенциальных положительных для аквакультуры качеств:

- низкая токсичность для рыб;
- способность снижать развитие фитопланктона;
- положительно влиять на некоторые химические показатели качества водной среды (содержание общего железа, фосфатов и перманганатной окисляемости),

Полученные результаты несомненно являются предварительными и для их практического применения в аквакультуре необходимы дополнительные экспериментальной и опытно-производственной испытания..