

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

КОВАЛЕНКО БОГДАН ЮРІЙОВИЧ

УДК 639.2.09:616.8-009.614:665.34

ДИСЕРТАЦІЯ

**ТЕХНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ЗАСТОСУВАННЯ ГВОЗДИЧНОЇ ОЛІЇ
В АНЕСТЕЗІЇ РИБ**

207 «Водні біоресурси та аквакультура»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень.

Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання
на відповідне джерело

Б.Ю. Коваленко

Науковий керівник: Коваленко Василь Олександрович, кандидат
сільськогосподарських наук, доцент

Київ – 2023

АНОТАЦІЯ

Коваленко Б. Ю. Технологічні аспекти застосування гвоздичної олії в анестезії риб. — Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 207 «Водні біоресурси та аквакультура» (20 «Аграрні науки та продовольство»). Національний університет біоресурсів і природокористування України. Київ, 2023.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню анестезуючого впливу гвоздичної ефірної олії (*Oleum aryophylli*) на шість видів риб – цінних об'єктів аквакультури України: стерлядь (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758), африканського кларієвого сома (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822), коропа (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758), нільську тиліпію (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758), білого товстолобика (*Hypophthalmichthys molitrix* Valenciennes, 1844) і білого амура (*Ctenopharyngodon idella* Valenciennes, 1844).

Мета роботи - удосконалити технологію використання гвоздичної олії в якості природного анестетика для роботи з різновіковим матеріалом об'єктів прісноводного рибиництва.

Дисертаційні дослідження було виконано упродовж 2020-2023 рр. у межах наукової тематики кафедри аквакультури у рибному господарстві «Науково-виробниче сільськогосподарське підприємство «Бестер»» (м. Ржищів Київської області) та на дослідній базі Національного університету біоресурсів і природокористування України: в акваріальній Центру водних біоресурсів та аквакультури (м. Київ) та у навчально-науково-виробничій лабораторії рибиництва кафедри аквакультури (с.м.т. Немішаєве Київської області).

Вперше досліджено можливість використання гвоздичної олії в якості анестетика для об'єктів рибиництва України, в роботі з якими цей препарат раніше не застосовували. Визначено оптимальну концентрацію препарату анестетика в роботі з шістьма видами риб різних розмірно-вікових груп та за різних температурних умов.

Вперше в Україні проведено порівняльну оцінку трьох способів приготування препарату гвоздичної олії для анестезії риб – «холодного», «гарячого» та «спиртового» – за ступенем анестезуючого впливу на риб.

Вперше досліджено можливість застосування гвоздичної олії для полегшення забою риби (на прикладі африканського кларієвого сома), згідно вимог законодавства щодо гуманного поводження із тваринами.

Вперше зроблено оцінку економічної ефективності використання гвоздичної олії для анестезії маточного матеріалу риб (на прикладі білого товстолобика).

Встановлено, що гвоздична олія має анестезуючий вплив на стерлядь у концентраціях препарату від 0,05 до 0,15 мл/л. Оптимальними концентраціями водної емульсії холодного способу приготування цього анестетика для однорічок та трирічок стерляді є 0,05 і 0,07 мл/л, а для риб старшого віку – 0,1 мл/л. На підставі біохімічного дослідження крові доведено антистресову дію гвоздичної олії на рибу: вміст кортизолу у крові плідників стерляді, яких піддавали процедурі анестезії, достовірно менший у порівнянні з контрольною групою риб (43,47 нмоль/л проти 134,33 нмоль/л).

Препарат гвоздичної олії у вигляді водної емульсії холодного способу приготування має анестезуючий вплив на кларієвого сома у концентраціях від 0,05 до 0,15 мл/л в інтервалі температур води 24-30 °С. Оптимальними концентраціями препарату для роботи із двомісячною молоддю цієї риби є 0,05 мл/л, для 6-місячних особин і старших – 0,1 мл/л. Встановлено, що ступінь анестезуючого впливу гвоздичної олії на кларієвого сома залежить від маси тіла риб: крупніші за розміром риби повільніше за менших особин входять у стан наркозу і швидше відновлюються до нормального стану. Також встановлено, що на дію анестетика чинить вплив температура водної емульсії препарату: вхід у стан наркозу та вихід із цього стану пришвидшуються із зростанням температури.

Встановлено, що дволітки коропа і двомісячні мальки нільської тиляпії мають чутливість до анестезуючого впливу гвоздичної олії. Ефективна концентрація анестетика у вигляді водної емульсії від холодного способу приготування препарату є однаковою для обох видів риб і становить 0,1 мл/л.

Експериментально доведено, що гвоздична олія чинить анестезуючий вплив на білого амура і білого товстолобика. Рекомендована концентрація водної емульсії від холодного способу приготування препарату для трирічків і старших особин білого амура – 0,03-0,04 мл/л, для плідників білого товстолобика віком від 6 років – 0,05-0,07 мл/л.

Доведено, що всі три відомі способи приготування гвоздичної олії для анестезії риб (гарячий, холодний і спиртовий), забезпечують ступінь анестезуючого впливу на кларієвого сома, коропа і нільську тиляпію, який відповідає критеріям, встановленим для вибору ефективного анестетика. При цьому, порівняно кращим для кларієвого сома виявився препарат від гарячого способу приготування водної емульсії, а для коропа і тиляпії – препарат від спиртового способу приготування розчину гвоздичної олії.

Встановлено, що використання гвоздичної олії для глибокої анестезії кларієвого сома товарних розмірів в процесі підготовки риб до вимушеного забою позбавляє рибу від страждань і полегшує умови роботи працівників. Рекомендована концентрація гвоздичної олії у водній емульсії від холодного способу приготування препарату – 0,1 мл/л, яка забезпечує досягнення рибами стадії глибокої анестезії протягом близько 5 хвилин.

Економічно вигідним є використання гвоздичної олії у якості природного анестетика для маточного поголів'я білого товстолобика. Завдяки подовженню строків репродуктивного використання плідників цієї риби більше, ніж у 2 рази, витрати на поповнення стада риб (у цінах 2022-2023 рр.) зменшуються на 32924 грн. з розрахунку на кожні 100 екз. плідників.

Отримані результати дисертаційного дослідження дають змогу розширити теоретичні уявлення про можливості гвоздичної ефірної олії, як ефективного

природного анестетика для риб, та створюють умови для практичного використання препарату у рибництві, з метою зменшення рівня технологічного стресу і збільшення виживаності біологічного матеріалу об'єктів товарного вирощування, для подовження строків репродуктивного використання маточного поголів'я риб та покращення виробничих умов для працівників підприємств рибного господарства. За матеріалами досліджень було підготовлено практичні рекомендації з використання гвоздичної олії для анестезії риб на підприємствах рибної галузі України.

Основні положення дисертаційної роботи використовуються у навчальному процесі НУБіП України при підготовці майбутніх фахівців за спеціальністю 207 «Водні біоресурси та аквакультура», при викладанні навчальних дисциплін «Аквакультура природних водойм» і «Аквакультура штучних водойм» для студентів ОС «Бакалавр» та «Технології відтворення осетрових та лососевих риб» для студентів ОС «Магістр».

Виробничу перевірку та впровадження результатів дисертаційних досліджень здійснено в умовах рибного господарства «Науково-виробниче сільськогосподарське підприємство «Бестер»» (м. Ржищів Київської області).

Ключові слова: аквакультура, кларієвий сом (*Clarias gariepinus*), вода, риба, рибне господарство, наркоз, стрес, знерухомлення, стерлядь (*Acipenser ruthenus*), виживання, товстолобик (*Hypophthalmichthys molitrix*), плідники, температура води, короп (*Cyprinus carpio*), водне середовище.

ABSTRACT

Kovalenko B. Yu. Technological aspects of using clove oil in fish anesthesia. — Qualifying scientific work with manuscript rights.

Dissertation for the Doctor of Philosophy degree in the field of specialization 207 «Water Bioresources and Aquaculture» (20 «Agricultural Sciences and Food»). National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. Kyiv, 2023.

The dissertation is dedicated to the study of the anesthetic effect of clove essential oil (*Oleum aryophylli*) on six species of fish - valuable objects of aquaculture in Ukraine: sterlet (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758), African catfish (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822), common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758), Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758), silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Valenciennes, 1844), and grass carp (*Ctenopharyngodon idella* Valenciennes, 1844).

The purpose of this work is to enhance the technology of using clove oil as a natural anesthetic for handling fish of various ages in freshwater fish farming facilities.

The dissertation research was conducted from 2020 to 2023 within the scientific theme of the Department of Aquaculture in Fishery "Scientific-production agricultural enterprise "Bester"" (Rzhyschiv, Kyiv Oblast) and on the research facilities of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. This included the Aquatic Bioresources and Aquaculture Center (Kyiv) and the educational, scientific, and production laboratory of fisheries of the Department of Aquaculture (Nemishayeve, Kyiv Oblast).

For the first time, the possibility of using clove essential oil as an anesthetic for fish species in Ukraine, for which had not been previously used with this substance, was investigated. The optimal concentration of the anesthetic preparation was determined for working with six different fish species of various size and age groups under different temperature conditions.

For the first time in Ukraine, a comparative assessment of three methods of preparing clove oil preparation for fish anesthesia - "cold," "hot," and "alcohol-based" - was conducted based on their anesthetic effect on fish.

For the first time, the possibility of using clove oil to facilitate fish stunning (using African catfish as an example) in accordance with animal welfare legislation has been investigated.

For the first time, an assessment of the economic efficiency of using clove oil for anesthesia of broodstock fish (using silver carp as an example) has been conducted.

It has been established that clove oil has an anesthetic effect on sterlet within the concentration range of 0.05 to 0.15 ml/l. The optimal concentrations of the water emulsion prepared using the cold method for anesthetizing one to three-year-old sterlet are 0.05 and 0.07 ml/l, while for older fish, it is 0.1 ml/l. Based on the biochemical blood analysis, the stress-reducing effect of clove oil on fish has been demonstrated: the cortisol content in the blood of broodstock of sterlet subjected to the anesthesia procedure was significantly lower compared to the control group of fish (43.47 nmol/l compared to 134.33 nmol/l).

The clove oil preparation, in the form of a cold-prepared water emulsion, exhibits an anesthetic effect on African catfish within the concentration range of 0.05 to 0.15 ml/l within a water temperature range of 24-30°C. Optimal concentrations of the preparation for working with two-month-old juveniles of this fish are 0.05 ml/l, while for individuals aged six months and older, it is 0.1 ml/l. It has been determined that the degree of the anesthetic effect of clove oil on African catfish depends on the body mass of the fish. Larger fish take longer to enter a narcotic state compared to smaller individuals and recover to normal conditions more quickly. It has also been established that the temperature of the water emulsion of the preparation influences its anesthetic action on fish: entry into and recovery from the narcotic state is accelerated with increasing temperature.

It has been established that two-year-old common carp and two-month-old Nile tilapia fry are sensitive to the anesthetic effects of clove oil. The effective

concentration of the anesthetic in the form of a water emulsion prepared using the cold method is the same for both fish species and is 0.1 ml/l.

Experimental evidence has demonstrated that clove oil has an anesthetic effect on grass carp and silver carp. The recommended concentration of the water emulsion prepared using the cold method for three-year-old and older grass carp is 0.03-0.04 ml/l, while for broodstock silver carp aged 6 years and older, it is 0.05-0.07 ml/l.

It has been proven that all three known methods of preparing clove oil for fish anesthesia (hot, cold and alcoholic) provide a degree of anesthetic effect on African catfish, carp and Nile tilapia, which meets the criteria established for the selection of an effective anesthetic. At the same time, the drug from the hot method of preparing an aqueous emulsion turned out to be comparatively better for clary catfish, and for carp and tilapia - the drug from the alcoholic method of preparing a solution of clove oil.

It has been established that the use of clove oil for deep anesthesia of market-sized African catfish during the process of preparing fish for forced slaughter relieves the fish of suffering and facilitates the working conditions of the staff. The recommended concentration of clove oil in a water emulsion prepared using the cold method of preparation is 0.1 ml/l, which ensures that the fish reach a deep anesthesia stage for approximately 5 minutes.

The use of clove oil as a natural anesthetic for broodstock of silver carp is economically advantageous. Thanks to the extension of the reproductive use of these fish by more than 2 times, the costs for replenishing the fish population (at 2022-2023 prices) decrease by 32,924 UAH per 100 broodstock.

The obtained results of the dissertation research expand the theoretical understanding of the potential of clove essential oil as an effective natural anesthetic for fish. They also create opportunities for practical utilization of the preparation in fisheries with the aim of reducing technological stress levels, enhancing the survival rate of biological material in commercial aquaculture, prolonging

the reproductive use of broodstock fish, and improving working conditions for fisheries industry personnel. Based on the research findings, practical recommendations have been developed for the use of clove oil for fish anesthesia in Ukrainian fisheries enterprises.

The main findings of the dissertation work are utilized in the educational process at the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine (NULES) in the training of future specialists in the field of Specialty 207 "Water Bioresources and Aquaculture." These findings are incorporated into the teaching of courses such as "Aquaculture of Natural Water Bodies" and "Aquaculture of Artificial Water Bodies" for students in the Bachelor's and Master's degree programs. Additionally, they are applied in the course "Technologies for the Reproduction of Sturgeon and Salmonid Fish" for students in the Master's degree program.

The production verification and implementation of the results of the dissertation research was carried out in the conditions of the fishery "Scientific-production agricultural enterprise "Bester"" (Rzhyschiv, Kyiv region).

Key words: aquaculture, african catfish (*Clarias gariepinus*), water, fish, fishery, anesthesia, stress, immobilization, sterlet (*Acipenser ruthenus*), survival, silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*), broodstocks, water temperature, carp (*Cyprinus carpio*), aquatic environment.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України:

1. Коваленко Б. Ю., Коваленко В. О., Кононенко Р. В., Шевченко П. Г., Макаренко А. А. Дослідження анестезуючого впливу препарату гвоздична олія на кларієвого сома (*Clarias gariepinus*). Водні біоресурси та аквакультура. 2022. № 1. С. 63-72. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та дослідження впливу різних концентрацій гвоздичної олії на кларієвого сома).*

2. Коваленко Б. Ю., Коваленко В. О. Забій риби з використанням гвоздичної олії. Таврійський науковий вісник. 2022. № 126. С. 270-275. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, проведено дослідження щодо впливу різних концентрацій гвоздичної олії на кларієвого сома та можливостей використання гвоздичної олії для забою риби).*

3. Kovalenko B., Kovalenko V., Kononenko R., Klymkovetskyi A., Matvieiev M. Influence of the method of preparation of clove oil emulsion on the anaesthetic effect in fish (on the example of *Clarias gariepinus*). Animal Science and Food Technology. 2023. № 4. P. 30-38. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та дослідження щодо впливу різних способів приготування робочого розчину гвоздичної олії на анестезуючий ефект для кларієвого сома).*

4. Коваленко Б. Ю., Коваленко В. О. Вплив способу приготування емульсії гвоздичної олії на ефект анестезії у коропа і тиляпії. Таврійський науковий вісник. 2023. № 129. С. 285-292. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та дослідження щодо впливу різних концентрацій гвоздичної олії на коропа та тиляпію, оцінено анестезуючий ефект від трьох способів приготування робочого розчину гвоздичної олії на цих риб).*

Тези доповідей:

5. Коваленко Б. Ю., Шарило Д. Ю., Коваленко В. О. Анестезія для риб та її значення для боротьби зі стресом. 75-та Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасні технології у тваринництві

та рибництві: навколишнє середовище – виробництво продукції – екологічні проблеми», м. Київ, 25-26 березня 2021 р. С. 24-26. *(Здобувачем проведено аналіз літературних даних).*

6. Коваленко Б. Ю., Кисельова О. М., Рудаков Д. А. Транспортування риби в стані анестезії. Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту» Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування: освіта – наука – виробництво, м. Біла Церква, 20 жовтня 2022 р. С. 18-20. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, проведено дослідження щодо можливості використання гвоздичної олії для транспортування риби в стані анестезії).*

7. Kovalenko B., Kovalenko V. Humane slaughter of fish as an element of animal welfare. Animal science: «Sustainable livestock production and animal welfare». Kyiv - Stockholm, 17-18 January 2023. P. 57. *(Здобувачем проведено аналіз літературних даних та перевірено можливість використання гвоздичної олії для полегшення забою риби).*

Патенти на корисну модель:

8. Коваленко Б. Ю., Вдовенко Н. М., Коваленко В. О., Шарило Д. Ю. Спосіб використання препарату "гвоздична олія" для анестезії кларієвого сома. Патент України № 147549. МПК А01К61/10 Патентовласник Національний університет біоресурсів і природокористування України; u202007891; заявлено 09.12.2020; опубліковано 19.05.2021. *(Здобувачем виконані дослідження, здійснено обробку даних та підготовлено матеріали до патентування).*

9. Коваленко Б. Ю., Шарило Д. Ю., Вдовенко Н. М., Коваленко В. О., Поплавська О. С., Шумова В. М. Спосіб анестезії рослиноїдних риб білого амура та товстолобика за допомогою гвоздичної олії. Патент України № 149136. МПК А01К61/00 Патентовласник Національний університет біоресурсів і природокористування України; u202102798; заявлено 27.05.2021;

опубліковано 20.10.2021. *(Здобувачем взято участь у проведенні досліджень та підготовці матеріалів до патентування).*

10. Коваленко Б. Ю., Шарило Д. Ю., Вдовенко Н. М., Коваленко В. О., Поплавська О. С., Шумова В. М. Спосіб анестезії стерляді за допомогою гвоздичної олії. Патент України № 149068. МПК А01К61/10 Патентовласник Національний університет біоресурсів і природокористування України; u202102799; заявлено 27.05.2021; опубліковано 13.10.2021. *(Здобувачем взято участь у проведенні досліджень та підготовці матеріалів до патентування).*

11. Коваленко Б. Ю., Вдовенко Н. М., Шарило Д. Ю., Боярчук С. В., Дмитришин Р. А., Климковецький А.А., Коваленко В. О. Спосіб забою риби. Патент України № 153007. МПК А22В3/00. Патентовласник Національний університет біоресурсів і природокористування України; u202203298; заявлено 08.09.2022; опубліковано 10.05.2023. *(Здобувачем взято участь у проведенні досліджень та підготовці матеріалів до патентування).*

12. Коваленко Б. Ю., Дмитришин Р. А., Вдовенко Н. М., Коваленко В. О., Шарило Д. Ю. Спосіб приготування робочого розчину для анестезії риб. Патент України № 154494. МПК А01К61/10. Патентовласник Національний університет біоресурсів і природокористування України. u202303166; заявлено 29.06.2023; опубліковано 15.11.2023. *(Здобувачем взято участь у проведенні досліджень та підготовці матеріалів до патентування)*

Методичні рекомендації:

13. Коваленко Б. Ю., Вдовенко Н. М., Плічко В. Ф., Коваленко В. О., Шарило Ю. Є., Тищенко А. В., Дмитришин Р. А., Коваль В. В., Павленко Н. Г. Методичні рекомендації з використання гвоздичної олії для анестезії риб через призму впливу формування пропозиції на агропродовольчу продукцію на ринку. Київ: НУБіП України. 2023. 30 с.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	16
ВСТУП	17
РОЗДІЛ 1_НАУКОВО-ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ ЗАСТОСУВАННЯ ГВОЗДИЧНОЇ ОЛІЇ ДЛЯ АНЕСТЕЗІЇ РИБ: ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ ЗА ТЕМОЮ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	22
1.1 Законодавче вирішення проблеми забезпечення добробуту тварин у світовій практиці.	22
1.2 Сучасні погляди на поняття болю та стресу у риб	25
1.3 Поняття про анестезію та загальна характеристика анестетиків.....	27
1.4 Характеристика гвоздичної олії.....	35
1.5 Сучасний стан і перспективи використання гвоздичної олії в якості анестетика для об'єктів аквакультури.....	41
1.6 Шляхи вирішення проблеми вимушеного забою риби з дотриманням вимог гуманного поводження із тваринами	45
Висновки до розділу 1	48
РОЗДІЛ 2_МІСЦЕ, МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	50
2.1. Загальна характеристика експериментальної бази	50
2.2. Матеріал та методи досліджень.....	52
РОЗДІЛ 3_РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ	59
3.1 Ефективність анестезуючого впливу гвоздичної олії на стерлядь.....	60
3.1.1. Вплив гвоздичної олії на старшовіковий племінний матеріал стерляді..	60
3.1.2. Вплив гвоздичної олії на однорічок стерляді.....	62
3.1.3. Вплив анестезії плідників стерляді за допомогою гвоздичної олії на вміст кортизолу у крові риб.	64
Висновок до підрозділу 3.1	65
3.2 Анестезуючий вплив гвоздичної олії на кларієвого сома	65
3.2.1. Вплив гвоздичної олії на двомісячних мальків кларієвого сома.	65

3.2.2. Вплив гвоздичної олії на кларієвого сома шестимісячного віку.	68
3.2.3. Вплив маси тіла риб на тривалість стадій анестезії у кларієвого сома.....	69
Висновок до підрозділу 3.2	70
3.3 Вплив гвоздичної олії на звичайного коропа та нильську тиляпію	70
3.3.1. Вплив гвоздичної олії на дволітків коропа за різних концентрацій водної емульсії препарату.	72
3.3.2. Вплив гвоздичної олії на двомісячних мальків тиляпії за різних концентрацій препарату анестетика.....	73
Висновок до підрозділу 3.3	75
3.4. Анестезуючий вплив гвоздичної олії на білого амура і білого товстолобика	75
3.4.1. Вплив гвоздичної олії на білого амура за різних концентрацій водної емульсії препарату анестетика.....	76
3.4.2. Вплив гвоздичної олії на білого товстолобика за різних концентрацій препарату анестетика.....	77
Висновок до підрозділу 3.4	78
3.5 Порівняння трьох способів приготування маточного препарату гвоздичної олії за ефектом анестезуючого впливу на риб.....	78
3.5.1. Експеримент на кларієвому сомі.....	79
3.5.2 Перевірка ефективності різних способів підготовки маточного препарату для анестезії коропа і тиляпії.....	83
Висновок до підрозділу 3.5	85
3.6 Забій кларієвого сома з використанням гвоздичної олії	86
Висновок до підрозділу 3.6	87
3.7. Економічна ефективність використання гвоздичної олії для анестезії риб.....	87
Висновок до підрозділу 3.7	89
РОЗДІЛ 4. ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	90

ВИСНОВКИ.....	98
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ	100
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	103
ДОДАТКИ	123

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

ВООЗт - Всесвітня організація охорони здоров'я тварин

ЄС – Європейський союз

ННВЛ – Навчально-науково-виробнича лабораторія

НУБіП України – Національний університет біоресурсів і природокористування України

ПП «Бестер» – приватне підприємство «Науково – виробниче сільськогосподарське підприємство «Бестер»

ТМ – Торгова марка

ТОВ – Товариство з обмеженою відповідальністю

Центр ВБА – Центр Водних біоресурсів та аквакультури

EU - European Union

FAWC - Farm Animal Welfare Committee

FDA - Food and Drug Administration

GRAS - Generally recognized as safe

MS-222 - Tricaine methanesulfonate

SPSS - Statistical Package for the Social Sciences

ВСТУП

Актуальність теми. Зростання рівня інтенсифікації технологій рибництва вимагає постійного покращення методів роботи з маточно-ремонтним поголів'ям та різновіковими групами риб, задля зниження впливу стрес-факторів на об'єктів культивування і збереження цінного біологічного матеріалу. Зростає потреба у використанні заспокійливих препаратів (далі – анестетики) в роботі з рибами. Актуальними проблемами є також мінімізація негативного впливу аквакультури на природні екосистеми та забезпечення якості і безпечності харчової продукції, що обумовлює потребу у використанні анестетиків природного походження, які швидко виводяться з організму риб і є нешкідливими для навколишнього середовища.

Широке впровадження методів анестезії у практику аквакультури протягом останніх десятиліть набуло особливої актуальності у зв'язку із закріпленням у міжнародному законодавстві таких понять, як добробут тварин і захист їх від жорстокого поводження. Під ці поняття також підпадає потреба вимушеного гуманного забою риби в дослідницьких лабораторіях та на підприємствах з вирощування риби і переробки рибної продукції. Доведено, що у випадку використання методів анестезії перед забоєм для харчових цілей риба позбавляється відчуття болю перед смертю, а якість її м'яса покращується.

У зв'язку з вищевикладеним, дослідження технологічних аспектів застосування природного анестетика «гвоздична олія» в анестезії риб є актуальним як у науковому, так і у практичному відношенні.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження за темою дисертаційної роботи виконувалися у Національному університеті біоресурсів і природокористування України, у межах наукової тематики кафедри аквакультури, на базі Центру водних біоресурсів та аквакультури і навчально-науково-виробничої лабораторії рибництва

та у виробничих умовах рибницького підприємства товарного осетрівництва «ПП НВСП «Бестер»» (м. Ржищів, Київська обл.).

Дисертація є частиною проведених досліджень за науковим проектом Використання сучасних біологічно-активних препаратів в аквакультури» номер держреєстрації БФ/37-2021 (2021-2025 рр.).

Мета і завдання досліджень. Мета роботи - удосконалити технологію використання гвоздичної олії в якості природного анестетика для роботи з різновіковим матеріалом об'єктів прісноводного рибництва.

Для досягнення поставленої мети було сформульовано наступні завдання:

- дослідити можливість використання гвоздичної олії в якості анестетика для об'єктів рибництва України, в роботі з якими цей препарат раніше не застосовували: стерляді (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758), білого товстолобика (*Hypophthalmichthys molitrix* Valenciennes, 1844), білого амура (*Ctenopharyngodon idella* Valenciennes, 1844), африканського кларієвого сома (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822), коропа (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) і тиляпій (на прикладі нільської тиляпії *Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758);

- визначити оптимальну концентрацію препарату анестетика в роботі з різними видами і розмірно-віковими групами риб за різних температурних режимів;

- провести порівняльну оцінку ефективності використання трьох способів приготування робочого препарату гвоздичної олії для анестезії риб: «холодного», «гарячого» та «спиртового»;

- дослідити можливість застосування гвоздичної олії для полегшення забою риби (на прикладі африканського кларієвого сома *Clarias gariepinus* Burchell, 1822), згідно вимог сучасного законодавства щодо гуманного поводження із тваринами;

- визначити економічну ефективність застосування гвоздичної олії в роботі з маточним матеріалом риб, на прикладі білого товстолобика (*Hypophthalmichthys molitrix* Valenciennes, 1844).

Об'єкт дослідження – анестезуючий ефект ефірної олії гвоздичного дерева (*Syzygium aromaticum*) на цінних об'єктах прісноводного рибицтва України.

Предмет дослідження — анестезуючий вплив препарату на риб, в роботі з якими цей препарат раніше не використовували (стерлядь, кларієвий сом, тиляпія, білий амур, білий товстолобик); оптимальні концентрації препарату гвоздичної олії для різновікового матеріалу риб за використання у різних температурних умовах; порівняльна ефективність різних способів приготування препарату гвоздичної олії для анестезії риб; можливість застосування гвоздичної олії для забезпечення умов гуманного забою риби; економічна ефективність використання анестезії у роботі з маточним матеріалом риб (на прикладі білого товстолобика).

Методи дослідження: рибицькі, іхтіологічні, біохімічні, біотехнологічні, гідрохімічні, гідробіологічні, економічні, аналітичні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. На підставі власних експериментальних досліджень розширено уявлення щодо можливостей використання препарату гвоздичної олії в аквакультурі, удосконалено технологічні аспекти застосування препарату в анестезії риб за різних виробничих умов. Вперше оцінено ефективність застосування різних способів підготовки маточного розчину гвоздичної олії для анестезії риб. Вперше визначено оптимальні концентрації гвоздичної олії за «холодного» способу приготування препарату для анестезії стерляді, білого амура, білого товстолобика, коропа, нільської тиляпії та кларієвого сома та встановлено можливість застосування гвоздичної олії в передзабійній підготовці кларієвого сома. Вперше розраховано економічний ефект від використання гвоздичної олії в анестезії маточного матеріалу риб (на прикладі білого товстолобика).

Практичне значення одержаних результатів. Результати дисертаційного дослідження розширюють можливості практичного використання гвоздичної олії в анестезії риб, для запобігання проявам технологічного стресу і збереження цінного біологічного матеріалу об'єктів культивування та покращення виробничих умов для працівників рибних господарств. За матеріалами досліджень підготовлено практичні рекомендації виробництву.

Результати досліджень за темою дисертації використовуються у навчальному процесі НУБіП України при підготовці майбутніх фахівців рибної галузі за спеціальністю 207 «Водні біоресурси та аквакультура», при викладанні навчальних дисциплін «Аквакультура природних водойм» і «Аквакультура штучних водойм» для студентів ОС «Бакалавр» та «Технології відтворення осетрових та лососевих риб» для студентів ОС «Магістр».

Особистий внесок здобувача. Здобувачем особисто проведено пошук та аналіз джерел науково-технічної інформації за темою дисертаційної роботи, на підставі чого було сформульовано мету та визначено етапи досліджень, проведено експерименти та зібрано експериментальний матеріал та здійснено його аналіз і статистичну обробку, узагальнено результати досліджень, спільно з науковим керівником сформульовано висновки та підготовлено рекомендації виробництву.

У підготовлених у співавторстві наукових працях, в яких викладено основний матеріал дисертаційних досліджень, здобувачеві належить істотна частина у постановці цілей і завдань та провідна роль у зборі експериментальних матеріалів, аналізі й інтерпретації даних та формулюванні висновків і пропозицій.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи доповідалися на засіданнях Наукової ради НДІ технологій та якості продукції тваринництва НУБіП України, а також на міжнародних та всеукраїнських науково-практичних конференціях: «Сучасні технології у тваринництві

та рибництві: навколишнє середовище – виробництво продукції – екологічні проблеми» (м. Київ, 25-26 березня 2021 р.); «Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту. Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування: освіта – наука – виробництво» (м. Біла Церква, 20 жовтня 2022 р.); «Animal science: Sustainable livestock production and animal welfare» (Kyiv - Stockholm, 17-18 January 2023).

Публікації. Основні положення дисертаційної роботи та отримані результати досліджень опубліковано у 4 наукових працях у фахових виданнях України, які включено до міжнародних наукометричних баз даних, у 3-х тезах наукових доповідей, що опубліковані у збірниках матеріалів конференцій, та покладено в основу 5-х патентів України на корисну модель і одних методичних рекомендацій підприємствам рибної галузі.

Структура та обсяг дисертації. Загальний обсяг дисертаційної роботи становить 131 сторінку і складається із анотації, вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів досліджень, результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, обговорення результатів дослідження, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел та додатків. Робота містить 17 таблиць та 21 рисунок. Список використаних джерел включає 193 найменування, з яких 148 — латиною.

РОЗДІЛ 1

НАУКОВО-ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ ЗАСТОСУВАННЯ ГВОЗДИЧНОЇ ОЛІЇ ДЛЯ АНЕСТЕЗІЇ РИБ: ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ ЗА ТЕМОЮ ДОСЛІДЖЕНЬ

1.1 Законодавче вирішення проблеми забезпечення добробуту тварин у світовій практиці.

В Україні сьогодні існує низка невирішених проблем щодо забезпечення гуманного поводження з тваринами. Разом із цим, імплементація Україною Угоди про асоціацію з Європейським Союзом вимагає приведення вітчизняної нормативно-правової бази у відповідність з європейськими нормами законодавства, у тому числі тими, які стосуються благополуччя тварин (Благополуччя тварин, 2023).

Проблему добробуту тварин в Європі почали вирішувати на законодавчому рівні в 60-90-ті роки 20 ст. Покращення законодавства триває, хоча до сьогодні так і не розроблено єдиних нормативно-правових норм для всього світу.

Серед організацій, що займаються благополуччям тварин, виокремлюється Всесвітня організація охорони здоров'я тварин (ВООЗт). Розробка міжнародних стандартів щодо здоров'я та добробуту тварин (поводження та гуманний вимушений забій) на основі останньої наукової інформації є однією з задач ВООЗт. Підготовлені цією організацією стандарти не мають юридичної сили, проте, коли делегати ВООЗт голосують за їх прийняття на щорічній Генеральній сесії, вони зобов'язуються втілювати їх у своє національне законодавство (Всесвітня організація охорони здоров'я тварин).

Протягом періоду існування ВООЗт, нею було розроблено багато рекомендацій та стандартів, які лягли в основу багатьох законодавчих актів щодо

гуманного поводження із тваринами, тому числі і основних конвенцій ЄС по забезпеченню добробуту тварин.

У Європейському Союзі було прийнято декілька нормативно-правових актів, що складають основу законодавства ЄС щодо забезпечення добробуту тварин: «Про захист тварин при міжнародному перевезенні» (1968 р.), «Про захист хребетних тварин, що використовуються для наукових експериментів або в інших наукових цілях» (1986 р.), «Про захист тварин, що утримуються на фермах» (1987 р.), «Про захист домашніх тварин» (1992 р.), в яких закладено основоположні принципи гуманного поводження з тваринами, поваги права кожної тварини на життя, її здатності страждати і пам'ятати біль (Зубченко, 2016). Для дотримання цих принципів було розроблено низку рекомендацій щодо гуманного поводження із тваринами. Зокрема, у положеннях Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, що використовуються для наукових експериментів або в інших наукових цілях», вказується про обов'язковість застосування для піддослідних тварин методів загальної або місцевої анестезії або методів анальгії, що призначені для максимально можливого усунення довготривалих пошкоджень, болю, страждань або тривоги. Україна приєдналася до даної конвенції 2 травня 2017 р. (Лихач, 2022).

В 2010 році у ЄС була прийнята директива «Про охорону тварин, які використовуються у наукових цілях» (Directive, E. (2010). 63/EU). У документі прописано, як потрібно утримувати, проводити дослідження та, за потреби, умертвляти піддослідних тварин гуманними методами. В статті 14, пункт 1, дослівно говориться таке:

«Держави-члени ЄС гарантують, за винятком випадків, коли це недоцільно, що процедури проводитимуться під загальним наркозом або місцевою анестезією, і щоб аналгезія або інший відповідний метод застосовувалися для того, щоби біль, муки, страждання та інші наслідки спричиненої шкоди були мінімальними. Процедури, що включають серйозні

травми, які можуть спричинити жорстокий біль, не повинні проводитися без анестезії» (Directive, E. (2010). 63/EU).

Також в директиві вказано підстави для позбавлення життя тварин. Зокрема: *«Тварина позбавляється життя, якщо, ймовірно, вона продовжуватиме відчувати помірний або жорстокий біль, муки, страждання та інші наслідки заподіяної шкоди».*

У дослідженнях з рибою дозволено використовувати лише два способи позбавлення життя: сильний удар струмом або евтаназія за допомогою передозування препарату анестетика. Відсічення голови чи руйнування мозку дозволяються і вважаються гуманним, якщо до цього рибу було піддано удару струмом або введено у стан глибокої анестезії (Directive, E. (2010). 63/EU).

Найпрогресивнішим у відношенні до благополуччя тварин є німецьке законодавство. Починаючи з 2002 року в конституції цієї країни прописано заборону на жорстоке поводження з тваринами та гарантовано їх захист від такого поводження. Поправки в конституцію слугували стимулом для внесення таких поправок в Договір про функціонування Європейського Союзу (Кобзєва & Шеїн, 2021).

У різних куточках світу до захисту тварин, зокрема – риб, та забезпечення їх добробуту відносяться по різному: в одних країнах прийнято відповідні закони, в інших - ні. Так, у країнах Європи риби потрапляють під захист на стадії розвитку, коли отримують здатність до самостійного харчування. Наприклад, у рибки даніо реріо (*Danio rerio*) таке відбувається через 120 годин від запліднення, за температури води 28,5°C (Sneddon, 2020).

У Сполучених Штатах Америки риб не включено до переліку тварин, які знаходяться під захистом, як теплокровні тварини, за винятком пацюків (рід *Rattus*) та мишей (рід *Mus*). В Австралії та Південно-Африканській Республіці під захист потрапляють хребетні тварини і головоногі молюски на всіх стадіях розвитку, тоді як у Китаї та Індії поводження із тваринами,

включаючи безхребетних, прописане лише у експериментальних етичних рекомендаціях (Sneddon et al. 2017).

Рада із забезпечення добробуту сільськогосподарських тварин Великобританії (The Farm Animal Welfare Council of the UK) повідомила, що рибогосподарський сектор економіки країни добровільно прийняв належну практику добробуту водних тварин, та порадила останньому поводитися з рибою так, ніби риба відчуває біль протягом вирощування (FAWC 2014a) та під час забою (FAWC 2014b), як це було встановлено в результаті наукових досліджень. Враховуючи різні контексти, у яких використовується риба, було вказано на важливість з моральної та етичної точки зору розуміння здатності риб відчувати біль (Sneddon, 2020).

В Україні законодавство, що має забезпечувати добробут тварин, знаходиться на початковому етапі розвитку. Окрім ратифікації ряду вищезазначених нормативно-правових актів ЄС у цій сфері, в національному законодавстві з'явилися закони «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006 р.) та «Про ветеринарну медицину» (2021 р.). У статті 21 першого із названих законів, вказано:

«Під час проведення таврування, біркування, біостерилізації, обрізання частини дзьоба, видалення або обрізання рогів та інших болісних процедур обов'язково застосовуються методи знеболення» (Закон України, 2006)

Щодо прав тварин, як частини концепції прав природи, то тварини не можуть мати рівних прав з людиною. Також права тварин, як і права людини, не є абсолютними та, за вагомої моральної аргументації, можуть порушуватися. Однак, на думку провідних науковців у сфері екологічної етики, слід прагнути до максимальної реалізації захисної функції прав тварин (Ladwig, 2023).

1.2 Сучасні погляди на поняття болю та стресу у риб

До 2002 року більшість дослідників заперечували можливість риби відчувати біль, поки на емпіричних даних не було доказано протилежне

(Rose, 2002). На сьогодні думка більшості дослідників схиляється до того, що тварини, в тому числі і риби, відчувають біль, так як у них є ноцицептивна система, хоч і механізм відчуття рибою болю відрізняється від такого у наземних тварин (Neiffer & Stamper, 2009; Sneddon, 2015; Kristiansen et, 2020; Ladwig, 2023;).

Відчуваючи біль, риби проявляють фізіологічні реакції, як і на інші загрозливі фактори (стресори) для свого організму. Загальна фізіологічна реакція на такі фактори називається стресом (Selye, 1950; Schreck & Tort, 2016).

Реакція на стрес у риб виникає майже одразу після сприйняття стресора і проявляється у формі нейро-гуморальної відповіді, яка має адаптувати організм до несприятливих умов (див. рис. 1.1).

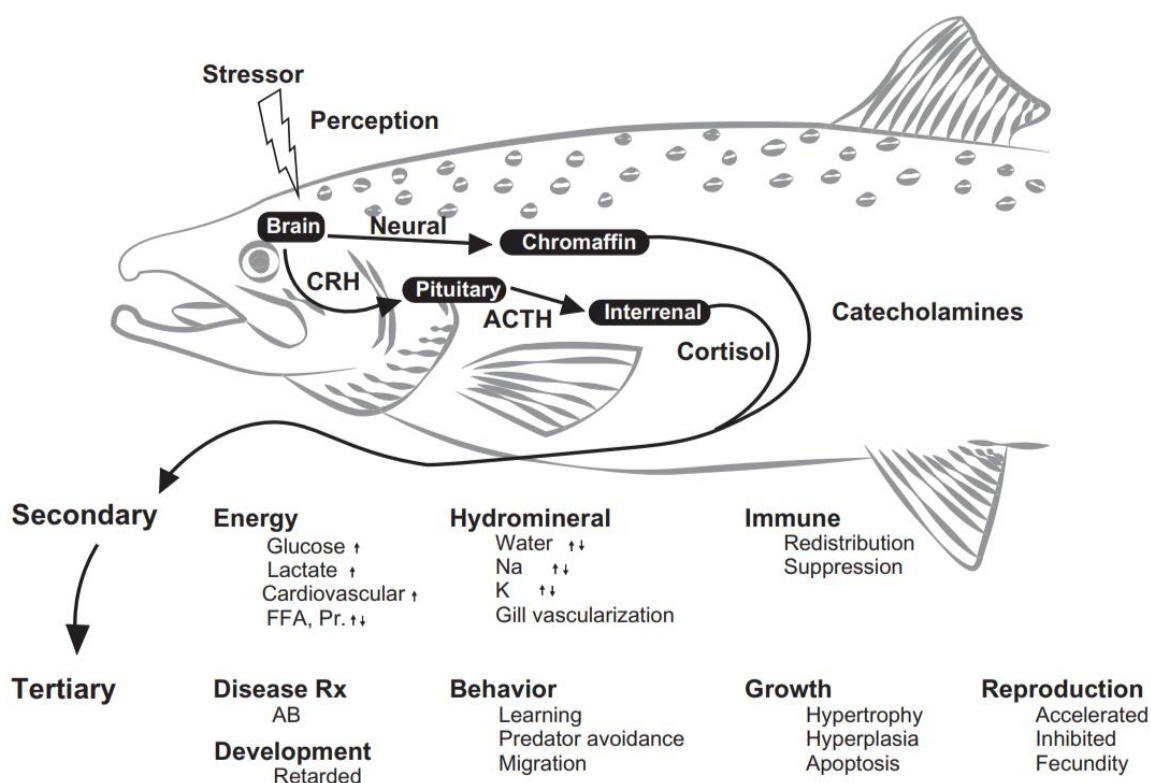


Рис.1.1. Механізм запуску і розвитку стресу в організмі риб (Schreck & Tort, 2016)

Риба, яку вирощують в аквакультурі або утримують у наукових лабораторіях в якості біологічного об'єкта для досліджень, часто піддається

вилову, зважуванню, сортуванню, міченню, біопсії тканин, відбору зрілих статевих продуктів (ікри і сперми) та різним хірургічним втручанням (Maricchiolo & Genovese, 2011; Aydın, 2020;). Наслідки таких маніпуляцій об'єднують під загальним терміном «handling stress» (Barton, 1998).

В аквакультурі досить поширеною є практика мічення риб підрізанням плавців. Така інвазивна процедура викликає стрес у риб (Sharpe et al. 1998). Нещодавнє дослідження з використанням рибок данію періо продемонструвало, що підрізання хвостових плавців у риб призвело до аномальної поведінки та фізіологічних змін, які були пом'якшені аспірином і лідокаїном (Schroeder & Sneddon, 2017).

Стрес-реакція призводить до збільшення вмісту у крові риб гормону кортизолу та глюкози, прискорення дихання, погіршення споживання кормів (Kreiberg, Н. (2000) Гриб, 2011; Sadoul, 2019). У дослідженнях це може спричинити викривлення результатів експериментів (Krejszeff, 2013; Солдатов, 2021). Крім того, застосування інвазивних процедур в роботі з рибою може стати причиною серйозного травмування як самого об'єкту впливу, так і працівника, що проводить маніпуляції з крупною і сильною рибою.

1.3 Поняття про анестезію та загальна характеристика анестетиків

Люди користуються анестезуючими засобами протягом декількох тисячоліть (Moroz, 2006), за іншими відомостями – десятків тисяч років (Weyrich, 2017). В якості анестетиків використовують рослини які містять знеболюючу речовину (переважно, ефірну олію) або алкоголь (Ray, 2009; Campoy & Read, 2013).

Перші спроби використання ефіру були зроблені в середині 16 ст. (Ball, 1996; Jones, 2002), але опублікування цих результатів відбулося лише на початку 17 ст. (Clutton, 2020). У 1665 році видатний англійський хімік Роберт Бойль разом із помічниками вперше провів внутрішньовенну ін'єкцію опіуму собаці, спостерігав за її поведінкою при входженні до наркотичного стану

та успішно вивів її з наркозу (Dorrington & Poole, 2013). Сер Гамфрі Деві в 1800 році за допомогою оксиду азоту ввів у стан анестезії морську свинку та kota (Humphry, 1800; Stevenson, 1963). Пізніше, у 20-х роках 19 століття, було встановлено анестезуючий вплив CO₂ на тварин, але ці результати не були опубліковані (Buxton, 1926). І лише 16 жовтня 1846 році було проведено першу публічну анестезію на людях, перед цим перевірену на тваринах (Bruce, 2001; Попов, 2013).

Перші відомості про використання анестезуючих засобів для заспокоєння та знеболення риби відносяться до початку 20 ст. (Hale, 1915; Keys & Wells, 1930; McFarland, 1959; Priborsky & Velisek, 2018).

В Україні анестезію риб почали застосовувати з 50-х років минулого століття (Никоноров & Климонов 1984). У 70-80-ті роки метод анестезії широко використовували в іхтіологічних дослідженнях (Абросимова, 1976) та для окремих рибогосподарських потреб (Стребкова, 1970;).

Найбільш поширеними анестетиками на той час були хінальдін (Сказкина, 1975) та MS-222 (Стребкова, 1970; Климонов, 1989). Цими анестетиками і сьогодні користуються в світі та рекомендують, як у навчальній, так і в науковій літературі, до використання в умовах України (Андрющенко & Вовк, 2014; Матвієнко, 2017). Однак, ці препарати є досить високовартісними, тому користування ними на виробничих підприємствах, в роботі з великою кількістю риб, є досить затратним.

Заміною вище згаданим традиційним препаратам деякий час слугував пропісцин. Цей препарат активно використовували на лососевих видах риб в процесі відбору овульованої ікри у самиць (Хандожівська, 2013; Мрук, 2013; Кучерук та ін., 2015).

Протягом останніх 30 років використання анестетиків в Україні, при роботі з рибою в аквакультурі та при іхтіологічних дослідженнях, зменшилося. Це викликано як спадом виробництва риби, що, в свою чергу, зменшило об'єм рибного матеріалу для маніпуляцій, які вимагають застосування

анестезії, так і загальним зниженням рівня технологічної культури, коли вимоги до кваліфікації технологів аквакультури стали проблемою виключно роботодавців, на відміну від часу, коли перевірку рівня підготовки рибоводів середньої та вищої ланок періодично проводили державні органи влади у рибній галузі, особливо, у відношенні кадрів, які відповідали за селекційно-племінну роботу у рибництві (Коваленко, 2017). Інші вагомі причини – це дороговизна та дефіцит традиційних препаратів для анестезії риб.

Але навіть враховуючи вищесказане, в Україні, використання анестезуючих засобів при роботі з рибою не зупинялось.

Серед найбільш відомих препаратів – феназепам. Його успішно дослідили для використання на рослиноїдних видах риб, коропі та чорному амурі (Зіньковський & Потрохов, 1993). Найбільшим його недоліком є те, його внесли до Списку № 2 Переліку наркотичних засобів, психотропних речовин і прекурсорів з поміткою, що феназепам відноситься до психотропних речовини, обіг яких на території України обмежений (Про затвердження переліку, 2000).

На сьогоднішній день існує велика кількість анестетиків, які використовуються в аквакультурі. Їхній перелік з часом змінюється, в залежності від зміни вимог до їх застосування. Деякі анестетики можуть бути заборонені через токсичність, можливість використання в якості наркотичного засобу або через появу більш ефективних замінників. За даними О. М. Давидова, у 1987 році налічували до 40 назв анестетиків, використовуваних в аквакультурі (Давидов, 1987), а вже у 2021 році, за даними О. О. Солдатова, їхній перелік скоротився до 25 найменувань (Солдатов, 2021).

Взагалі слід сказати, що ідеальних анестетиків не існує. Всі вони мають низку переваг та недоліків. Іноді недоліком анестетика є не його фізична характеристика як препарату, а шкідлива дія на людину, на рибу, довгий час який потрібен, щоб препарат вийшов з організму. Для прикладу можна привести MS-222, який в організмі риб знаходиться до 21-го дня. Тому використовувати його перед забоєм риби не рекомендовано. Проведені

дослідження дозволили встановити, що рибне борошно зроблене з таких тушок містять залишки препарату (Marking & Meyer, 1985).

Анестезію визначають як зменшення чутливості будь-якої області тіла або органу, аж до повної її втрати. Штучна анестезія викликається шляхом застосування різних засобів для знеболювання, наприклад при хірургічних операціях або інших больових маніпуляціях (Завьялова, 2012)

Наркоз або загальна анестезія – це штучно викликаний стан гальмування центральної нервової системи, що супроводжується втратою свідомості, сном, амнезією, знеболенням, розслабленням скелетних рефлексів при введенні одного або кількох загальних анестетиків. У медичній практиці оптимальна концентрація та комбінація таких анестетиків підбираються лікарем-анестезіологом, з урахуванням індивідуальних особливостей конкретного пацієнта та залежно від типу процедури (Poberezhny et al., 2018).

Седація – це стан відсутності або зниження рівня свідомості організму, пригнічення рефлексів та зниження больової чутливості, який викликається застосуванням седативних медикаментів, переважно для полегшення проведення медичної процедури (Brown, 2005).

Всі три стани викликаються під дією хімічних препаратів, які називають анестетиками.

За походженням анестетики розділяють на синтетичні та природні (Purbosari et al., 2019). Серед синтетичних препаратів, поширених у практиці аквакультури, варто виділити MS-222 (Park, 2019), 2-феноксіетанол (Bahrekazemi & Yousefi 2017), хінальдін (Muench, 1958), феназепам (Зиньковский и др, 2000).

Найбільш поширеними природними анестетиками є гвоздична олія (Griffiths, 2000), олія ромашки (Ak et al., 2022;) і евкаліптова олія (Bodur, 2018).

До хімічних методів анестезії риб також відноситься застосування вуглекислого газу (Fan, 2022; Tan, 2022).

Окрім анестезії хімічними препаратами, використовують фізичні методи впливу, що включають застосування електричного струму та використання

гіпотермії (впливу низьких температур) (Корнієнко, 2020; Ross & Ross, 2008). Такі методи не спричиняють загальної анестезії, але гіпотермію можна використовувати для перевезення риби, а електрострум – для заспокоєння риби при лабораторних дослідженнях. При використанні фізичних методів анестезії зберігається біохімічний склад крові, який може змінюватись при використанні хімічних препаратів (Жуйков, 1989). Недоліками цих методів є технічна складність та неможливість використовувати їх за межами лабораторії, аби дотриматися певного рівня безпечності для виконавців.

Враховуючи велику кількість препаратів для введення риби в анестезію, способи подання в організм анестезуючої речовини поділяють на оральні, ін'єкційні та інгаляційні (найбільш поширені)

Оральна анестезія в аквакультурі використовується не часто. Судь даного методу полягає в тому, що анестетик (наприклад, діазепам) вводять у корм, який риба поїдає і через деякий час входить у стан анестезії. Позитивною рисою використання способу є те, що рибу не потрібно тривожити перед введенням в анестезію. Недоліком цього способу є складність забезпечити рівномірність введення препарату до складу корму та споживання рибами (Murai, 1979).

Ін'єкційна анестезія використовується частіше, як місцеве знеболення перед проведенням хірургічного втручання. Часто використовуваним препаратом є кетамін (Чебанов, 2013). Недоліком цього способу введення анестетика великим риbam є те, що перед ін'єкціями їх доводиться попередньо заспокоювати за допомогою інгаляційного способу (Ross & Ross, 2008).

Інгаляційний спосіб полягає у введенні анестетика через органи дихання. Оскільки дихання у переважної більшості видів риb відбувається у воді, доводиться вносити анестетик у водне середовище, в якому перебуває об'єкт впливу. І лише для невеликих груп дводишних видів риb анестезію можна проводити поза водою (Ross & Ross, 2008).

Одним із різновидів інгаляційної анестезії є нанесення анестетика безпосередньо на зябра риби. Для цього використовують спрей, що містить розчин анестетика. Такий спосіб рекомендовано для використання на особинах великих розмірів (Gilbert & Wood, 1957; Neiffer & Stamper, 2009; Bojjink et al. 2016).

Нервова система усіх хребетних тварин на дію анестетиків реагує, загалом, однаково [Павлов, 2010], хоча механізм потрапляння анестетика в організм риби відрізняється від наземних тварин і має наступний вигляд: розчинена у воді речовина потрапляє на зябра, через які всмоктується в кров і з кров'ю потрапляє у нервову систему (Yostawonkul et al., 2019) (див. рис.1.2).

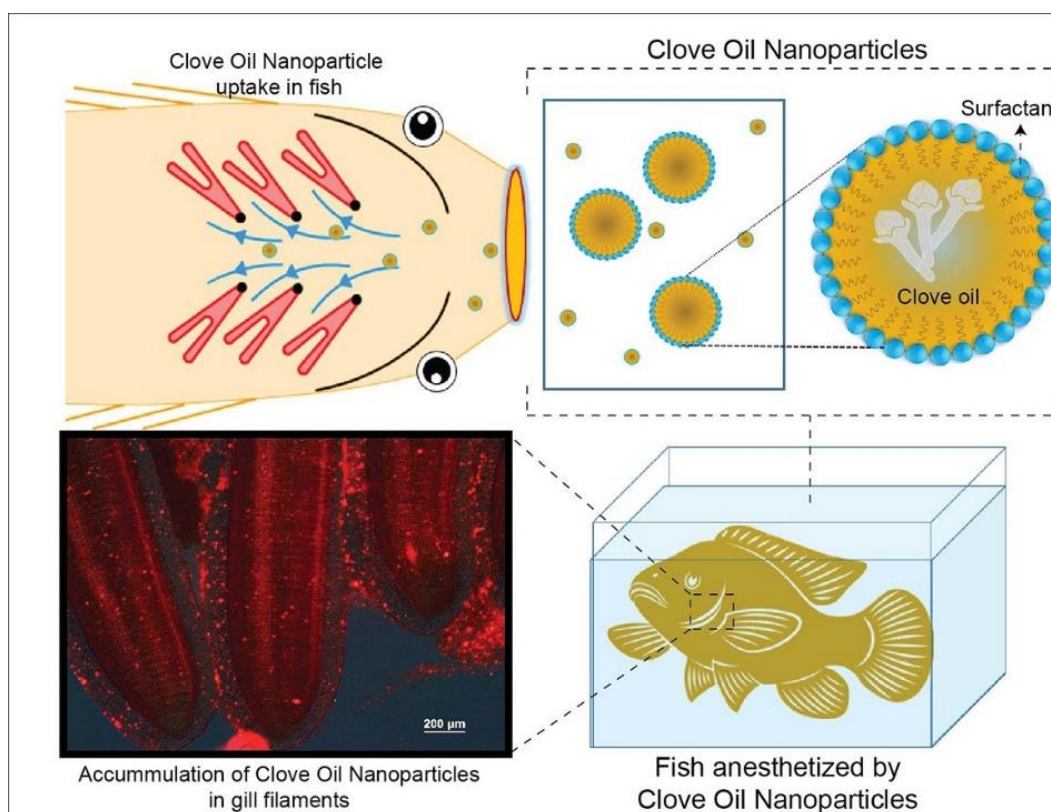


Рис.1.2 Схема дії анестетика (Yostawonkul et al., 2019)

Потрапивши до нервової системи, анестетик блокує проведення імпульсів через нервові волокна від периферії до головного мозку. В результаті виникає втрата больової чутливості, настає розслаблення скелетної мускулатури, зникають захисні рефлексії (Слюсаренко, 2018).

Дія великої дози анестезуючого засобу, необхідної для досягнення сильного седативного ефекту, може призвести до того, що риба буде послідовно переходити на все більш глибокі стадії втрати чутливості, аж до настання зупинки дихання і смерті (Завьялова и др., 2012). Таку здатність анестетиків можна використовувати для евтаназії риб шляхом передозування препарату (Neiffer, D. L., & Stamper, 2009; Posner et al. 2019; Directive 2010/63/EU).

Виведення анестетика з організму риби відбувається через зябра та шкіру, коли рибу поміщають у чисту воду (Ross & Ross, 2008).

Хоча механізм потрапляння препарату в організм риб, в основному, однаковий, існує велика кількість факторів, які можуть впливати на час входу в анестезію і виходу з цього стану. Ці фактори поділяють на біологічні та екологічні (див. табл. 1.1).

Таблиця 1.1

Фактори, що впливають на ефективність впливу анестетиків на риб

Факторна група	Фактор
Біологічні	<ul style="list-style-type: none"> • Видові відмінності • Порода чи генетичний варіант • Розмір і/або вага • Стать і статеві зрілість • Вміст ліпідів • Стан тіла • Статус захворювання • Стрес
Екологічні	<ul style="list-style-type: none"> • Температура • РН • Солоність • Мінералізація води

Для прикладу впливу біологічних відмінностей різних видів риб на ефект від використання хімічних анестетиків можна взяти форель, яка швидше відреагує на дію анестетика, ніж камбала або вугор таких самих розмірів, адже має більшу питому площу зябер по відношенню до маси тіла.

Дводишні риби, у яких від зябер залишилась, в більшості випадків, одна дуга для осморегуляції та виділення продуктів життєдіяльності організму, будуть реагувати на дію розчину анестетика повільніше, ніж риби із розвиненим зябровим диханням (Ross & Ross, 2008).

Реакції на різні анестезуючі препарати добре вивчені у наземних вищих хребетних тварин, але недостатньо – у водних, не зважаючи на велику кількість видів останніх, що є завданням і предметом для досліджень науковців у цій сфері знань (Green, 1979).

Інтенсивність метаболізму в організмі має важливе значення для підбору анестетика. Так, риби з високим рівнем метаболізму будуть швидше входити в анестезію та виходити з цього стану, ніж риби з низьким рівнем. Мальки риб, у яких рівень метаболізму вищий, ніж у дорослих риб, швидше реагуватимуть на дію одного і того ж анестетика, ніж дорослі особини (Ross & Geddes, 1979).

Деякі анестетики є жиророзчинними, тому при їх застосуванні на рибах, що мають великі запаси жиру, вихід з анестезії буде довший. Це пояснюється тим, що препарат накопичується в ліпідному шарі. До числа таких анестетиків відносяться MS-222 і бензокаїн (Coyle, 2004).

Виснажені і хворі риби по іншому реагують на анестетик, за однакової концентрації препарату, ніж здорові риби. Так, щука і судак після нересту і форель, хвора на сапролегніоз значно довше виходили зі стану анестезії, викликаной MS-222 і хінальдіном, ніж здорові представники їхніх видів (Schoettger & Steuke, 1970; Ross & Ross, 2008).

Екологічні чи абіотичні фактори, що впливають на анестезію. Важливе значення для вибору препарату та його ефективної концентрації має температура води (Grynevych et al., 2022). Температура тіла у переважної більшості риб (за винятком, хіба що, тунців), є такою ж, як і температура середовища, в якому вони знаходяться, тому при виборі ефективного анестетика достатньо врахувати лише температуру води. Встановлено,

що при використанні MS-222, бензокаїну та феноксіетанолу ці препарати із підвищенням температури води втрачають ефективність (Sehdev et.al, 1963).

На дію анестетика може вплинути величина рН. При використанні MS-222 за концентрації 30 мг/л і рН води 3,8 розчин препарату негативно впливає на рибу: починає діяти як стрес-фактор (Ross & Ross, 2008).

Ряд анестетиків чутливі до рівня солоності води. Наприклад, барбітурати, ефективні при використанні у прісній воді, втрачають активність у морській воді (McFarland and Klontz, 1969). Отже, виконавці процедури анестезії риб з використанням хімічних анестетиків мають враховувати значну кількість факторів для досягнення потрібного ефекту.

1.4 Характеристика гвоздичної олії

Гвоздична олія – масляниста коричнева або жовта рідина з запахом гвоздики та пекучим смаком, що добувається зі стебел, листя і бруньок гвоздичного дерева (*Syzygium aromaticum*), що росте у тропічних широтах (Рис.1.3).



Рис.1.3 Гвоздична олія

Діюча речовина в олії – еugenol. Хімічний склад гвоздичної олії може відрізнитись та залежати від сировини з якої її зроблено, від місця де було зібрано сировину або ж залежати від виробника. Основні компоненти

гвоздичної олії еugenol 70-95%, еugenol-ацетат близько 17 %, каріофілен до 12 % (Briozzo et al., 1989; Микодина, 2011; Nowak et. al. 2012; Matthews & Varga, 2012). Щільність гвоздичної олії становить 1.040 – 1.067 г/ мл (см3) (Góra & Lis, 2005).

Детальний склад наведений в таблиці 1.2

Таблиця 1.2

Склад гвоздичкової олії в залежності від походження сировини (Nowak et. al. 2012; Góra & Lis, 2005)

Компонент	Вміст %					
	Мадагаскар	Занзібар	Індонезія	Індія	Коморські о-ви	Європа*
Гептан-2-он	0.01	0.01	0.05	0.05	0.03	tr
α -Копеан + α -Іланген	0.08	0.29	1.70	0.84	0.08	tr
Кариофиллен	0.08	0.29	1.70	0.84	0.08	tr
α -гумулен	0.47	0.52	2.10	1.06	0.44	1.40
δ -кадінен	0.19	0.33	5.30	0.54	0.18	tr
Каламенен	0.30	0.20	0.49	tr	1.14	tr
Евгенол	73.80	70.00	36.00	77.13	63.80	84.80
Евгенол-ацетат	14.20	11.00	11.70	5.04	21.80	0.30

* - олія, що знаходиться в торгових мережах;

Tr - лише слідові кількості.

Використання гвоздичної олії різноманітне. З давніх часів еugenol використовувався в стоматології: він демонструє антимікробну дію проти бактерій, пов'язаних із карієсом зубів і пародонтозом, а також має дезінфікуючі властивості, а також було встановлено, що він знімає місцевий біль, такий як пульпіт і гіперчутливість дентина, як місцевий анальгетик (Daniel et.al. 2009; Tammannavar et.al, 2013; Pavithra, 2014; Pytko-Polończyk & Muszyńska, 2016;).

Завдяки своїм лікувальним властивостям еugenol також використовується для лікування інфекцій верхніх дихальних шляхів і шлунково-кишкового тракту, а також при болях у суглобах. Він також входить до складу різних препаратів,

призначених для лікування запалення слизової оболонки верхніх дихальних шляхів і для профілактики простудних захворювань (Ulanowska & Olas, 2021).

Евгенол вважається загалом безпечною сполукою при низьких концентраціях і має різноспрямовану дію, його широко використовують у фармацевтиці, харчових продуктах, косметичці, а також як місцевий антисептик і болезаспокійливий засіб. Він також є поширеним інгредієнтом побутових товарів, таких як мило, парфуми, засоби догляду за шкірою, сигарети, де він використовується як ароматизатор і ароматизатор. Він також використовується як консервант для захисту харчових продуктів від мікроорганізмів, а також як пестицид і фумігант. Об'єднана продовольча та сільськогосподарська організація та Комітет експертів ВООЗ з харчових добавок встановили, що максимально допустима добова норма споживання евгенолу або гвоздичної олії становить 2,5 мг/кг маси тіла для людини [Tammannavar at.al, 2013; Mohammadi, 2017; Batiha 2020; Ulanowska & Olas, 2021].

Завдяки різноспрямованій активності евгенолу, включаючи антибактеріальну та протигрибкову, він знаходить застосування в сільському господарстві та харчовій промисловості. Благотворний ефект евгенолу пов'язаний з низькою концентрацією ефективної дії, що є важливою перевагою. Крім того, ця речовина є ефективною проти багатьох харчових патогенів (наприклад, *Salmonella typhi* та *Aspergillus ochraceus*), тому використання евгенолу у процесі підготовки харчових продуктів для вживання запобігає гострим харчовим отруєнням.

Антисальмонельозна активність евгенолу включає зниження проникності клітинної мембрани збудника, що супроводжується витоком іонів, втратою клітинного вмісту та, зрештою, загибеллю клітини [Marchese at.al, 2017, Мак, at.al, 2019]. Тому в сільському господарстві евгенол використовується як засіб біоконтролю для зерна, оскільки було виявлено, що евгенол може зменшити забруднення органічних продуктів сальмонелою через

пригнічення її росту в ґрунті. Евгенол також здатний пригнічувати вироблення охратоксину-А *Aspergillus ochraceus*. Протигрибкові властивості евгенолу використовуються для захисту фруктів, таких як полуниця, яблука та персики, а також їхніх соків від шкідливого впливу мікроорганізмів. Одним із найпоширеніших харчових збудників є золотистий стафілокок. Дослідження показують, що вплив евгенолу на *S. aureus* ґрунтується на його здатності пригнічувати вироблення стафілококових ентеротоксинів А і В і токсину синдрому токсичного шоку 1, а також експресію альфа-гемолізіну [Mak, et.al, 2019].

Евгенол продемонстрував антибактеріальні властивості проти багатьох видів бактерій, таких як *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Escherichia coli* (Marchese et. al. 2017; Devi, 2010). Вважається, що проти грамнегативних бактерій евгенол діє шляхом пошкодження цитоплазматичної мембрани; Будучи гідрофобною молекулою, він може легко проникати крізь ліпополісахаридну клітинну мембрану і проникати в цитоплазму. Потрапивши в клітину, він може викликати зміни в структурі останньої, що призводить до витоку внутрішньоклітинних компонентів. Було припущено, що гідроксильна група евгенолу інгібує дію протеази, гістидинкарбоксилази та амілази шляхом зв'язування з ними (Marchese et. al.; Devi, 2010). Подібним чином було виявлено, що евгенол потенційно пригнічує активність мембранозв'язаної АТФази у *Escherichia coli* та *Listeria monocytogenes* (Gill & Holley, 2006). Ця речовина також продемонструвала синергічний ефект зі звичайними протимікробними засобами (Mak, 2019). Крім того, вважається, що евгенол здатний викликати вироблення внутрішньоклітинних активних форм кисню (АФК), які можуть спричиняти загибель клітин шляхом пригнічення їх росту, руйнування клітинної мембрани та пошкодження ДНК (Hyldgaard, 2012).

Хоча гвоздичну олію вважають анестетиком місцевої дії, насправді її вплив на риб є системним, коли у ванні з анестетиком препарат

всмоктується через зябра та шкіру риби, наприклад, у безлускової риби з добре васкуляризованою шкірою (Ferreira et al., 1984). Потрапляючи в зябра, анестетик проникає у кров і поширюється по всьому тілу (Summerfelt & Smith 1990).

Гвоздична олія уповільнює частоту дихання шляхом гальмування дихального центру в довгастому мозку, у зв'язку з депресією центральної нервової системи (Hikasa et al., 1986). Ця речовина має високу ліпофільність, завдяки чому прилипає до епітелію зябер і швидко проникає в нього та поглинається тканинами тіла, такими як жир і мозок, потрапляючи у кровообіг (Summerfelt & Smith, 1990).

Ін'єкції гвоздичної олії є неефективними, оскільки препарат виводиться занадто швидко, щоб викликати анестезію (Allen & Hunn, 1986; Burka et al., 1997). Таким чином, для переважної більшості процедур, пов'язаних з рибою, гвоздична олія використовується у формі ванни з водним розчином препарату анестетика, попередньо розведеного у етиловому спирті (Anderson, 1997) або з дрібнодисперсною водною емульсією, підготовленою гарячим (Микодина и др., 2011) або холодним (Поплавська та ін., 2016) способами. Універсального, рекомендованого для практичного використання, способу підготовки робочого препарату анестетика для зовнішнього використання – немає. Відсутня також інформація щодо ефективності застосування того чи іншого способу, в залежності від умов роботи, що створює проблему вибору для технологів, які планують використовувати гвоздичну олію для анестезії риб.

Рибу вводять у стан анестезії шляхом занурення в анестезуючу ванну, із подальшим безперервним зрошенням зябер розчином анестетика, за необхідності. Хоча до сьогодні втрата нервової функції у риб була недостатньо задокументована, зміни поведінки під час індукції анестезії задокументовані та використовуються у дослідженнях для вимірювання рівня анестезії, яку відчують риби (Summerfelt & Smith, 1990; Ross & Ross, 2008).

Рух анестетика через зябра регулюється такими факторами, як гілкова вентиляція, перфузія та площа ефективного обміну. Встановлено, що оперкулярні показники за високої температури є більшими, ніж за низької, і відновлення після анестезії буде швидшим через вищу швидкість метаболізму. Альтернативна гіпотеза, яка пояснює недостатність вентиляції та медулярний колапс у деяких риб, полягає в тому, що еугенол має нейротоксичні та гепатотоксичні властивості у риб, подібні до описаних у ссавців (Sladky et al., 2001). Кортизол, основний кортикостероїд, який відіграє роль у проміжному метаболізмі, іонній регуляції та осморегуляції та імунній функції, викликає набряк еритроцитів (Iwama et al. 1989; Sharp et al., 2004; Mommsen et al., 1999). Цей набряк може блокувати зяброві пластини та призводити до зниження поглинання кисню. У міру збільшення часу індукції концентрація кортизолу зростає, як і пов'язані з нею гематологічні компоненти: концентрації глюкози, лактату, натрію та калію (Wedemeyer та ін. 1990; Sladky та ін. 2001; Sharp та ін. 2004;).

Відмічено, що у деяких риб гвоздична олія зменшує споживання корму порівняно з контрольними групами риб без анестезії. Однак, таке зниження спостерігалось і при використанні MS-222 для анестезії. При повторній анестезії з використанням гвоздичної олії спостерігали значний негативний вплив на конверсію корму рибами (Hoskonen & Pirhonen, 2004). Враховуючи це, як і той факт, що дослідники зустрічали окремі зміни у гематології та біохімії риб, яких вводили в анестезію з використанням гвоздичної олії, важливо проводити подальші дослідження, аби оцінити ступінь таких фізіологічних змін під впливом цього анестетика та розробити відповідний регламент робіт (Park et al. 2008; Carter та ін. 2011). Крім того, на дію анестетика впливають якість води і біологічні фактори, такі як вид риби, її довжина і маса, стать, пора року, фізіологічний стан (зокрема, хвороба або стрес), які можуть змінити та/або посилити фізіологічні реакції, наприклад,

виробництво кортизолу (Carter et al. 2011). Неправильне використання гвоздичної олії може знизити життєздатність або призвести до загибелі риб.

1.5 Сучасний стан і перспективи використання гвоздичної олії в якості анестетика для об'єктів аквакультури

Як хімічний анестетик в аквакультурі, гвоздична олія була досліджена відносно нещодавно (Soto & Burhanuddin, 1995; King et al., 2005; Neiffer & Stamper, 2009). До того часу в анестезії риб домінувало використання недешевих синтетичних препаратів: трикаїн (MS-222), хінальдіну, 2-феноксіетанолу, бензокаїну та пропісцину (Muench, 1958; Стребкова, 1970; Сказкина, 1975; Priborsky & Velisek, 2018). Подальше масштабування робіт із анестезії риб, які вийшли за межі лабораторних досліджень або використання на особливо цінних видах риб (зокрема, на лососевих та осетрових), потребувало застосування більш дешевих препаратів і таких, що не впливають на якість харчової продукції.

Гвоздична олія дешевша за вище згадані препарати і, відповідно більш доступна (Coyle et al., 2004; Ross & Ross, 2008; Brown, 2011). Крім того, ця речовина має природне походження, не викликає жодних побічних ефектів у рибі та не представляє жодних екологічних та гігієнічних ризиків (Hamackova et al., 2006; Purbosari et al., 2019). Крім того, дослідники встановили, що цей препарат сильніший, ніж традиційні анестетики, що використовуються для риб (Woody et al. 2002; Soto & Burhanuddin, 1995).

Тривалий час у ряді країн існували обмеження на використання гвоздичної олії в роботі з рибою. Так, у США єдиним хімічним анестетиком, зареєстрованим для використання в роботі з рибами, був трикаїн. При цьому, застосування препарату у виробничих умовах було обмеженим, згідно із рекомендаціями FDA: трикаїн дозволено було використовувати для анестезії риб не пізніше 21-денного періоду до відправлення риби на переробку або у торгову мережу. Інші хімічні анестетики (в т. ч. гвоздичну олію, ізоевгенол, пропофол

і пропісцин), рекомендували до використання у дослідженнях або у роботі із нехарчовою рибою (Priborsky & Velisek, 2018). У країнах ЄС існують граничні норми концентрації залишків евгенолу у харчових продуктах (European Commission, 2011).

У подальшому, коли було взято до уваги той факт, що гвоздичну олію протягом багатьох років використовували у якості місцевого знеболюючого засобу у стоматології та харчової добавки і консервуючої речовини – при приготуванні їжі, підходи на користь використання препарату стали змінюватися.

У дослідницькій лабораторії морепродуктів Нової Зеландії було розроблено нову анестетичну суміш для риби під комерційною назвою AQUI-S, із нульовим часом виведення, яка містить діючу речовину гвоздичної олії - евгенол (Ross and Ross, 2008). Повідомляється, що у AQUI-S 50 % ізоевгенолу і 50 % - полісорбату-80. Ці матеріали класифікуються FDA як GRAS (загальноновизнані безпечні) (Ross and Ross 2008; Sharp et al., 2004; FDA, 2007).

Все частіше гвоздичну олію почали рекомендувати як ефективний у малих концентраціях, легкодоступний і економічно вигідний природний анестетик для риб (Namackova et al., 2006; Javahery et al., 2012). Ці обставини послужили основними причинами того, що препарат став предметом широкої уваги серед науковців і практиків аквакультури, а його застосування в аквакультурі та водних дослідженнях набувало дедалі більшого масштабу. У наукових лабораторіях та на багатьох рибовідтворювальних підприємствах гвоздичну олію почали використовувати для анестезії або короткотривалого знерухомлення риби з метою мічення, сортування, процедур штучного розмноження та хірургічних операцій (Cho & Heath, 2000; Iversen et al., 2003; Velíšek et al., 2005).

Переваги та недоліки гвоздичкової олії, як анестетика для риб, оцінювали багато авторів (Fisher et al., 1990; Soto and Burhanuddin 1995; Anderson et al. 1997; Keene et al. 1998; Waterstrat, 1999; Stone and Tostin, 1999; Sladky et al. 2001; Kildea et al., 2004; Bressler & Ron 2004; Detar & Mattingly 2004). Більшість дослідників

вважають, що ця речовина є безпечним і ефективним анестетиком для риб, адже еugenol швидко всмоктується та метаболізується після перорального прийому, і майже повністю виводиться із сечею протягом 24 годин без видимих негативних наслідків у риби (Fischer et al. 1990).

Гвоздична олія була досліджена як потенційний анестетик для деяких видів декоративних риб і об'єктів холодноводного та тепловодного рибництва (Wagner et al., 2003; Holloway et al. 2004; Velisek & Svobodova, 2004; Hajek et al., 2006; Gomulka et al., 2008; Priborsky & Velisek, 2018).

Дослідники порівнювали ефективність вуглекислого газу (CO₂), трикаїну і гвоздичної олії, як анестетиків для молоді та дорослої райдужної форелі *Onchorhynchus mykiss*. Було встановлено, що при використанні CO₂ час індукції стану анестезії та відновлення риби після наркозу є надто тривалими, а анестезія – неглибока, порівняно з трикаїном. Гвоздична олія виявилася таким же ефективним анестетиком для обох вікових груп форелі, як і трикаїн. У однакових з трикаїном дозах гвоздична олія мала дещо коротший час індукції та довший період відновлення (Anderson et al., 1997; Keene et al., 1998). Анестетики на основі еugenolu також рекомендовано використовувати як заспокійливий засіб для зниження стресу у смолтів атлантичного лосося *Salmo salar* L., щоби покращити добробут тварин та їх виживаність під час технологічних маніпуляцій (Iversen et al., 2003). Встановлено, що для лососевих риб гвоздична олія найкраще діє у концентраціях 40–60 мг/л⁻¹; при цьому препарат перед додаванням у воду рекомендують спочатку розчинити в етанолі, із рекомендованим співвідношенням речовини і етилового спирту у маточному розчині як 1:9 (Anderson et al., 1997). На підставі результатів цих досліджень було запропоновано вважати гвоздичну олію як альтернативу трикаїну в анестезії лососевих риб.

Гвоздичну олію також рекомендовано використовувати в аквакультурі для анестезії європейського морського окуня *Dicentrarchus labrax* і доради *Sparus aurata* (Mylonas et al., 2005). Низька концентрація гвоздичної олії

(від 5 до 9 мг/л⁻¹) є ефективною для пом'якшення наслідків стресу при транспортуванні молоді великоротого окуня *Micropterus salmoides* (Cooke et al., 2005).

Встановлено, що еugenol є безпечним анестетиком для нільської тилapia *Oreochromis niloticus* Linnaeus (Deriggi et al., 2006), бурий паку *Colossoma macropomum* (Roubach et al., 2005) та звичайного коропа *Cyprinus carpio* (Hajek et al., 2006).

Не зафіксовано негативних наслідків від використання гвоздичної олії в концентрації 30 мг/л⁻¹ при анестезії європейського сома *Silurus glanis* L. (Velíšek et al., 2006), а концентрація 100 мг/л⁻¹ є безпечною для анестезії каналного сома *Ictalurus punctatus* (Small, 2003).

Гвоздична олія визнана ідеальним анестетиком для розведення морських коників *Hippocampus kuda* з точки зору стресу, виживання та продуктивності (Pawar et al., 2011). Її також рекомендовано використовувати при транспортуванні сріблястого сома *Rhamdia quelen* (Becker et al., 2012).

Разом із тим, у доступній літературі практично відсутня інформація щодо використання гвоздичної олії для анестезії таких цінних об'єктів вітчизняного прісноводного рибиництва, як білий амур *Ctenopharyngodon idella*, білий товстолобик *Hypophthalmichthys molitrix* і стерлядь *Acipenser ruthenus*. Використання анестезії полегшило би роботу технологів при бонітуванні племінного поголів'я перших двох видів, які є великими за розміром та сильними рибами, сприяло би ефективному вирішенню існуючої проблеми дефіциту маточного матеріалу білого товстолобика, чутливого до впливу стрес-факторів, та збільшило би строк експлуатації плідників цих трьох видів риб. Невирішеною залишається і проблема використання хімічного методу анестезії для гуманного вимушеного забою риби.

Гвоздичну олію почали використовувати і при розведенні методами аквакультури нерибних видів гідробіонтів. Так, анестетик на основі еugenol виявився безпечним та ефективним для роботи із дорослими особинами

прісноводної креветки *Macrobrachium rosenbergii* та корисном для пом'якшення стресу під час обробки (Mohammed & Pal, 2009). Для транспортування личинок цієї креветки тривалістю до трьох годин гвоздичну олію можна безпечно використовувати за концентрації 15 мг/л⁻¹ (Vartak & Singh, 2006), а при перевезеннях пост-личинок індійської креветки *Fenneropenaeus indicus* – за концентрації 1,3 мг/л⁻¹ (Akbari et al., 2010).

У дослідженнях звичайний восьминіг *Octopus minor*, за концентрації гвоздичної олії 200 мг/л⁻¹, швидко входив у анестезію і так само швидко відновлювався, що вказує на придатність препарату у роботі з цим видом головоногих молюсків (Seol et al., 2007).

Визнано безпечним використання гвоздичної олії під час обробки ламінарії *Epinephelus bruneus* (Park et al., 2008).

Бактерицидна та бактеріостатична дія гвоздичної олії можуть також впливати на роботу біофільтру, адже очищення води у фільтрі забезпечують бактерії родів *Nitrobacter* і *Nitrosomonas* (Ruiz, 2019). У випадку використання даного анестетика в замкнутій системі, для заспокоєння риб перед обловом, може бути негативна дія препарату на бактерій, яку слід своєчасно виявляти і, за потреби, застосовувати заходів для забезпечення безперебійної роботи біофільтру. Загалом, це питання вимагає додаткового вивчення, з метою розроблення безпечного методу роботи з анестетиком в умовах рециркуляційної аквасистеми.

1.6 Шляхи вирішення проблеми вимушеного забою риби з дотриманням вимог гуманного поводження із тваринами

Удосконалення методів забою водних тварин в аквакультурі, в основному, спрямоване на досягнення якості товарного продукту, ефективності процесу переробки продукції і безпеки виробництва (Conte, 2004). Останнім часом усе більшого значення набуває етичний аспект вирішення цього завдання.

Гуманні методи забою побудовані на принципі вимушеного позбавлення життя тварин з максимальною швидкістю, мінімальним страхом і болем. Для лабораторних тварин такими методами вважаються передозування анестетика, удар електричним струмом або обезголовлення/руйнування мозку сильним ударом після застосування електричного струму чи анестетика.

Існує безліч способів позбавити рибу життя, але більшість з них не відповідають вимогам гуманного забою. Зокрема:

Штучна задуха на повітрі. У світовій практиці це найбільш поширений спосіб, яким вбивають рибу. Але, в той же час, цей спосіб вважається найбільш негуманним (Coelho at.al, 2022).

Перерізання зябер. Передбачає знекровлення риби через переріз зябрових кровоносних судин, без попереднього оглушення тварини. Ознакою негуманності такого способу забою є те, що риба тривалий час залишається живою, поки «стікає» кров'ю, що спричиняє їй страждання (Van De Vis at al. 2003).

Оглушування. Один з найбільш поширених способів забою риби. Передбачає сильний удар металевим або дерев'яним предметом по голові риби, на ділянці, під якою знаходиться довгастий мозок, що порушує роботу нервової системи, і риба втрачає координацію та чутливість. Різновидом даного способу є пошкодження довгастого мозку за допомогою гострого предмету. Такий спосіб інколи застосовують у домашніх умовах та використовують в лабораторіях фахівці, які добре знаються на анатомії риб. Недоліком способу є потреба нанести сильний і точний удар у потрібне місце, що може зробити не кожна людина. Також слід врахувати, що для різних видів риби потрібна різна сила удару. Наприклад, лососеві риби мають хрящовий череп, а кларієві соми – міцний кістяний, який добре захищає мозок від удару [Van De Vis at al., 2003]. Слабкий або неточний удар може спричинити тільки струс мозку, що викликатиме у риби больові відчуття і страждання. У покращеному варіанті даного способу для нанесення сильного і точного

удару використовують пневматичний пістолет для забою теплокровних тварин [Robb at al, 2000].

Використання вуглекислого газу. Проводять у воді з рН 5, насичений вуглекислим газом. Рибу поміщають у підготовлену воду, щонайменше, на 4 хв., після чого виймають і перерізають їй зябра. За результатами досліджень даний спосіб також не вважається гуманним (Poli, 2013; Robb at al, 2000).

Удар електричним струмом. Такий спосіб оглушення риби до її забою можна вважати гуманним за умови, якщо рибу вб'ють до того, як вона відійде від отриманого шоку. Недоліком способу є те, що від удару електричним струмом у риби виникає судорожне скорочення м'язів і навіть розрив частини м'язових волокон, що негативно впливає на харчову якість рибної продукції (Rey, 2019; 2020).

Охолодження у крижаній воді. Рибу перед забоєм висаджують в ємність, заповнену льодом і водою у співвідношенні 1:1. Зниження температури тіла у пойкилотермних тварин, зокрема – риб, нижче критичної величини призводить до зупинки життєвих функцій організму, заціпеніння і загибелі. Однак, даний спосіб передзабійної підготовки не вважається гуманним через те, що багато видів риб, в тому числі і кларієвий сом, не зважаючи на відсутність прояву зовнішніх ознак активності, залишаються живими у такій воді тривалий час і відчують біль [Brijs at.al.2021].

Обезголовлення. На підприємствах аквакультури такий спосіб забою використовують не часто, через відсутність спеціальних механізмів і відповідних санітарно-гігієнічних умов. Застосування даного способу можна зустріти на спеціалізованих рибопереробних підприємствах та у мережі роздрібної торгівлі. Даний спосіб не вважають гуманним при забої деяких видів риб: наприклад, більшість видів вугрів залишаються живими протягом 8 годин після обезголовлення (Verheijen, 1997).

Введення у стан анестезії. Даний спосіб є гуманним при забої. Для введення риби перед забоєм у стан наркозу використовують хімічні

препарати анестетики.

Для кожного виду і розмірної групи риб, перед введенням їх в стан наркозу, обирають препарат та його ефективну дозу для загальної анестезії, після чого рибу, яка перебуває у стані наркозу, вбивають у той чи інший спосіб (Robb & Kestin, 2002).

Використання анестетиків дозволяється при забої риби для досліджень, або для позбавлення життя хворої риби [OIE, 2019].

На сьогоднішній день хімічний метод анестезії для передзабійної підготовки риби для харчових потреб не використовують, адже у випадку застосування синтетичних препаратів, наприклад, MS-222, їхні залишки у м'ясі знаходяться до 21 дня; природні ж анестетики на основі еугенолу (гвоздична олія, AQU1-S™) залишають специфічний запах ефірної олії. Хоча слід зазначити, що у дослідженнях якість м'яса риб після використання анестетика на основі еугенолу для передзабійної підготовки була вищою, ніж при забої без попереднього використання процедури анестезії (Bosworth, 2007).

Висновки до розділу 1

Імплементація Україною Угоди про асоціацію з Європейським Союзом вимагає впровадження нормативно-правової бази до рівня ЄС в області благополуччя тварин. Дане законодавство ґрунтується на твердженні, що тварини, в тому числі і риба, відчують страждання та біль, які в свою чергу викликають стрес, що негативно впливає на організм впродовж тривалого часу.

Для боротьби з вищезазначеними проблемами використовують метод анестезії, що зменшує прояви болю та стресу. Серед хімічних анестетиків виділяють синтетичні та природні препарати.

Перелік препаратів, дозволених для використання в аквакультурі, досить обмежений і включає, переважно, синтетичні анестетики. Останнім часом у світовій практиці стали віддавати перевагу речовинам з вираженим анестезуючим впливом, що мають природне походження, швидко виводяться

з організму, не чинять негативних побічних ефектів і є нешкідливими для природного середовища. До числа таких речовин відноситься і гвоздична олія. Ця речовина набуває все ширшого застосування в аквакультурі, як хімічний анестетик для риб і безхребетних водних тварин. Також вважається перспективним використання гвоздичної олії для полегшення забою риби.

Дослідження, присвячені використанню гвоздичної олії в якості анестетика для таких поширених у рибництві України, видів риб, як короп і кларієвий сом, мають обмежений обсяг інформації і, здебільшого, не містять чітких рекомендацій щодо застосування цієї речовини в анестезії риб. Відсутність регламенту і норм використання гвоздичної олії для анестезії таких цінних об'єктів вітчизняної аквакультури, як стерлядь, білий амур і білий товстолобик, стримує впровадження цього препарату у практику аквакультури задля збільшення строку експлуатації племінного матеріалу і забезпечення ефективності селекційно-племінної роботи з цими видами риб. Невирішеною залишається і проблема використання анестезії для забезпечення гуманного вимушеного забою риби.

РОЗДІЛ 2

МІСЦЕ, МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Загальна характеристика експериментальної бази

В основу дисертаційної роботи покладені результати експериментальних досліджень, проведених упродовж 2020–2023 рр. у ПП «Науково-виробниче сільськогосподарське підприємство «Бестер»» (м. Ржищів Київської області; надалі у тексті скорочено – ПП «Бестер») та на дослідній базі Національного університету біоресурсів і природокористування України: в акваріальній Центру водних біоресурсів та аквакультури (м. Київ; надалі у тексті скорочено – Центр ВБА) та у навчально-науково-виробничій лабораторії рибництва кафедри аквакультури (с.м.т. Немішаєве Бородянського району Київської області; надалі у тексті скорочено – ННВЛ рибництва).

ПП «Бестер» за регіональним розташуванням відноситься до зони Лісостепу України. Протягом періоду збору експериментальних матеріалів виробнича база підприємства знаходилася поблизу с. Трипілля Обухівського району Київської області, у зоні скидного каналу Трипільської ТЕС. Пізніше виробничу базу підприємства було перенесено до м. Ржищів.

Зазначене підприємство є рибоводним господарством індустріального типу з вирощування чистих видів і гібридних форм осетрових риб у плаваючих сітчастих садках різних категорій загальною площею 1500 м², розташованих на акваторії Канівського водосховища (рис. 2.1).

Підприємство має власний польовий інкубаційний цех і басейнову ділянку для вирощування мальків риб із комбінованим водопостачанням (вода з р. Дніпро та з артезіанської свердловини). Для виконання експериментів у виробничих умовах ПП «Бестер» було використано біологічний матеріал з числа осетрових риб, вирощуваних на підприємстві.



Рис. 2.1. Садки ПП «Бестер» на акваторії Канівського водосховища

Центр ВБА та ННВЛ рибництва є навчально-науковими підрозділами факультету тваринництва та водних біоресурсів НУБіП України, із відповідним матеріально-технічним оснащенням для проведення практичних занять зі студентами спеціальності 207 «Водні біоресурси та аквакультура» та дослідження гідробіонтів в лабораторних умовах штучного утримання. Експерименти за темою дисертації було проведено у акваріальних, оснащених автономними аквасистемами для тривалого утримання гідробіонтів (рис. 2.2).



Рис. 2.2. Акваріальні Центру ВБА (ліворуч) і ННВЛ рибництва (праворуч)

2.2. Матеріал та методи досліджень

Матеріалом для досліджень були різновікові групи стерляді (*Acipenser ruthenus*, L.), звичайного коропа (*Cyprinus carpio*, L.), кларієвого сома *Clarias gariepinus*, B.) і нільської тиляпії (*Oreochromis niloticus*, L.). Кількість рибного матеріалу, використаного у процесі досліджень, представлена у таблиці (табл. 2.1).

Таблиця 2.1

Вид, вікова група і кількість риб, використаних у експериментах

Назва експерименту	Вид риби	Вік риби	Кількість, екз.
Оцінка анестезуючого впливу препарату гвоздичної олії на риб в залежності від концентрації препарату та температури води під час проведення процедури анестезії	Стерлядь	4-11 років	90
		1 рік	112
	Кларієвий сом	2 місяці	180
		6 місяців	60
	Короп	18 місяців	30
	Тиляпія	2 місяці	60
	Білий товстолобик	6-8 років	54
Порівняльна оцінка ефективності трьох способів приготування препарату гвоздичної олії за рівнем анестезуючого впливу на риб	Білий амур	3-7 років	48
	Кларієвий сом	2 місяці	60
	Короп	18 місяців	30
Використання гвоздичної олії для евтаназії риб	Тиляпія	2 місяці	60
	Кларієвий сом	6 місяців	40

При поводженні з біологічним матеріалом риб у ході досліджень керувалися вимогами Закону України № 3447 – IV від 21.02.06 р. “Про захист тварин від жорстокого поводження”, “Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та наукових цілей”

(Страсбург, 1986), Національного конгресу з біоетики “Загальні етичні принципи експериментів на тваринах” (Київ, 2001) та Про охорону тварин, які використовуються у наукових цілях» (Directive, E. (2010). 63/EU; Рєзников, 2003; de l'Europe, C., 1986.). Загальна схема виконання експериментальних робіт за напрямками досліджень наведена на рисунку 2.3.



Рис. 2.3. Загальна схема досліджень

Для утримання біологічного матеріалу до початку експериментів було використано: у ПП «Бестер» - рибницькі сітчасті плаваючі садки з площею поверхні кожного 10 м²; у Центрі ВБА і ННВЛ рибориства – скляні акваріуми об’ємом 400 і 100 дм³. Умови середовища, в якому знаходився біологічний

матеріал до початку експериментів, відповідали технологічним вимогам для кожного виду риби.

Спостереження протягом всього періоду досліджень за основними параметрами якості водного середовища (температура, рН, вміст розчиненого кисню та концентрація азотних сполук у воді) проводили з використанням контрольно-вимірювальних приладів (термооксиметр AZ-86021 DO, рН-метр EZODO-6011) і експрес-тестів Ptero Test (рис. 2.4).

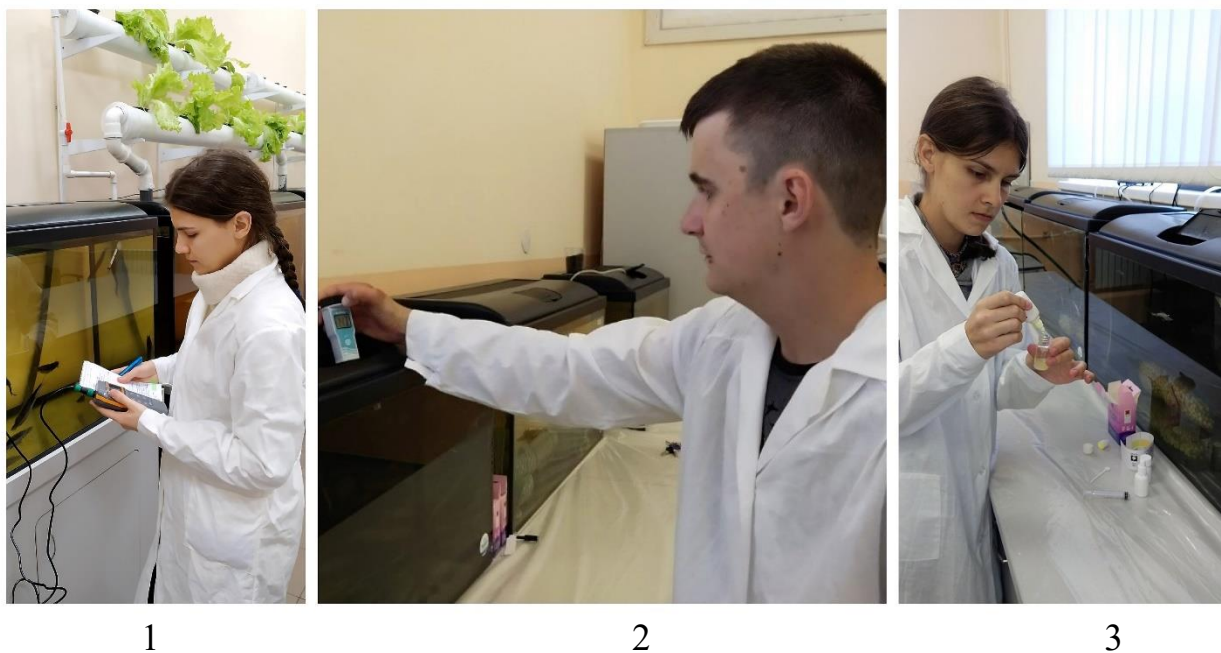


Рис. 2.4. Контроль якості води в ємностях з рибою:

1 – вимірювання термооксиметром вмісту кисню і температури води; 2 – визначення рН води; 3 – визначення вмісту азотних сполук за допомогою експрес-тестів

У маніпуляціях з біологічним матеріалом використовували рибницький інвентар і лабораторне приладдя: сачки для вилову та емальовані кювети для зважування риби. Для визначення індивідуальної маси риб користувалися лабораторними вагами ТВЕ-0,15-0,001/2 або ТВЕ-0,6/2, залежно від розмірів риби.

У дослідженнях використовували гвоздичну олію ТМ «Ароматика», яку купляли в аптеках м. Києва у флаконах об'ємом 5 або 10 мл. Для дозування

гвоздичної олії користувалися градуйованими медичними шприцами об'ємом 1-2 мл, а для приготування робочої суспензії або розчину препарату потрібної концентрації – мірними стаканами та скляними або пластиковими ємкостями різного об'єму (Коваленко та ін., 2023).

Приготування маточного препарату гвоздичної олії для анестезії риб за трьома способами включало наступні дії:

1. Гарячий спосіб (Микодина и др., 2011):

- з флакона з гвоздичною олією набирали шприцом 1 мл препарату і вливали у ємність для рідини (скляну банку з кришкою об'ємом 0,2 л);
- за допомогою шприца додавали у ємність 10 мл води, підігрітої до температури +50 °С;
- ємність закривали кришкою та протягом 30 секунд збовтували вручну, до утворення дрібнодисперсної емульсії.

2. Холодний спосіб (Поплавська та ін., 2016):

- з флакона з гвоздичною олією набирали шприцом 1 мл препарату і вливали у ємність для рідини;
- за допомогою шприца додавали у ємність 10 мл води кімнатної температури;
- ємність закривали кришкою та протягом 30 секунд збовтували вручну, до утворення дрібнодисперсної емульсії.

3. Спиртовий спосіб (Anderson, 1997):

- з флакона з гвоздичною олією набирали шприцом 1 мл препарату і вливали в ємність для рідини;
- за допомогою шприца додавали у ємність 10 мл 95 %-го етилового спирту;
- ємність закривали кришкою та протягом 30 секунд збовтували вручну, для кращого розчинення олії у спирті.

Маточний препарат гвоздичної олії, підготовлений будь-яким із трьох способів, вливали у ємність для анестезії риб і додавали необхідну кількість води, щоби досягти потрібної концентрації гвоздичної олії.

Анестезію риб проводили: у ПП «Бестер» – у пластикових тазах місткістю 60 л, у Центрі ВБА – у скляних акваріумах з робочим об'ємом 30 дм³, у ННВЛ рибництва – у пластикових контейнерах місткістю 40 л та у склопластикових басейнах ЩА-2 (рис. 2.5).

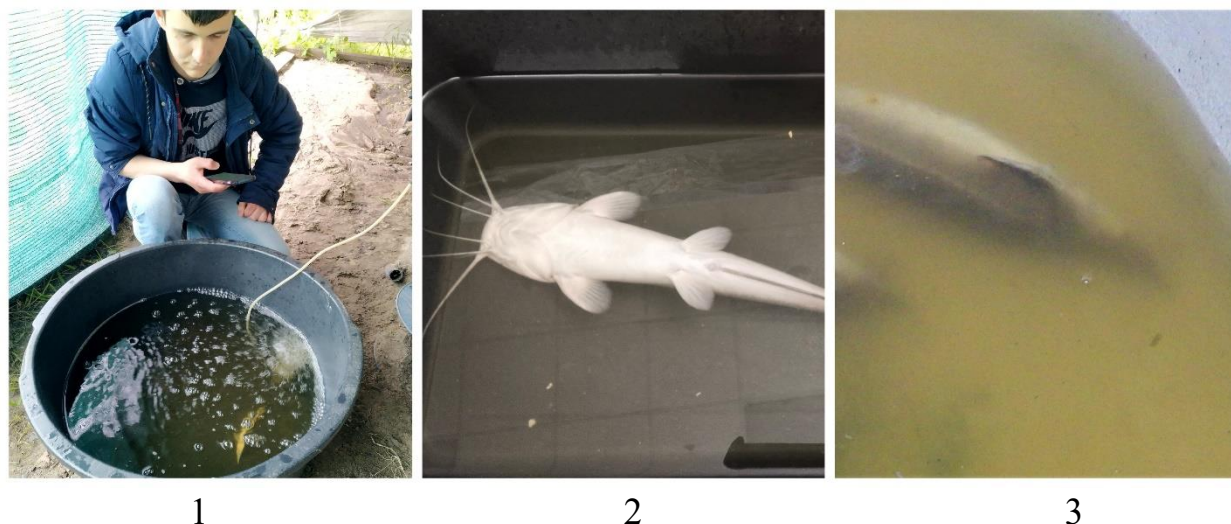


Рис. 2.5. Риба в ємностях для анестезії: 1 – у пластиковому тазі; 2 – у скляному акваріумі; 3 – у склопластиковому басейні ЩА-2.

Після введення у стан наркозу рибу вилучали із ємності з анестетиком, зважували на лабораторних вагах і поміщали в іншу ємність, з водою, збагаченою киснем до 90-95 % насичення за допомогою повітряного компресора із розпилювачем.

Ефективність анестезуючого впливу гвоздичної олії на риб оцінювали за даними хронометражу тривалості окремих стадій анестезії і виведення риби зі стану наркозу. Для визначення цих стадій користувалися загальноновживаними у рибогосподарських дослідженнях протоколами індукції анестезії (Zahl et al, 2012), в яких прописано візуально видимі поведінкові зміни у риб: модель плавання, частота дихання, наявність і характер реакції на зовнішні подразники (рис. 2.6).

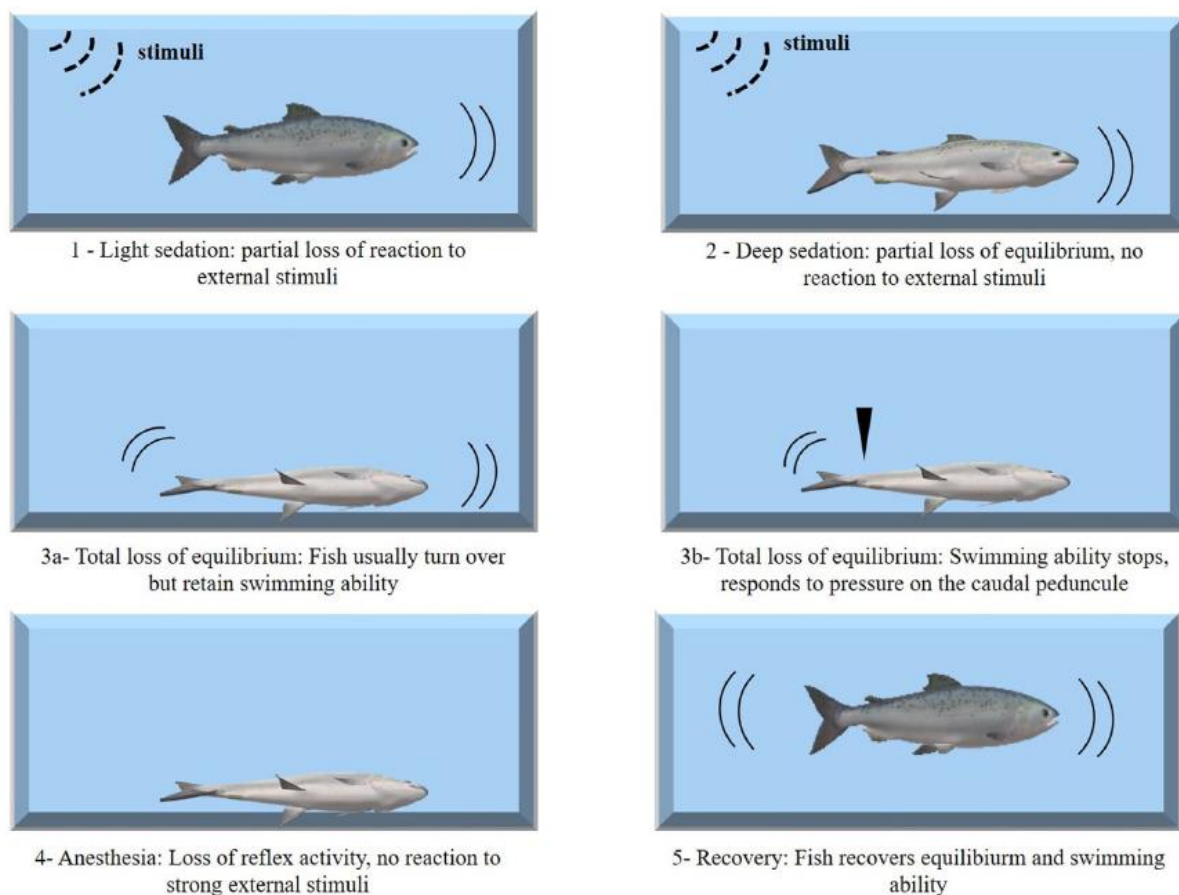


Рис. 2.6. Стадії анестезії у риб [Zahl et. al, 2012]

Для фіксації тривалості процесів введення риб у стан наркозу і виведення їх із цього стану користувалися секундоміром із додатку «Годинник», встановленого на смартфоні.

Кількісну оцінку рівня стрес-реакції у маточного поголів'я стерляді проводили під час інкубаційної кампанії, при температурі води 15 °С, за концентрацією в крові риб гормону стресу кортизолу. Кров у риб відбирали із хвостової вени, за допомогою шприца з тонкою голкою, через 15 хвилин після завершення останньої технологічної маніпуляції з рибою, згідно з рекомендаціями [Иванов, 2003]. Пробу крові об'ємом 1,0-1,5 мл поміщали у суху мікропробірку типу «Еппендорф» і фіксували гепарином натрію. Визначення вмісту кортизолу в крові риб проводили у приватній ветеринарній лабораторії ТОВ «Бальд» (м. Київ), за допомогою методу імуноферментного аналізу (Catalog number: ARG81162).

Математичну обробку цифрових даних експерименту проводили за допомогою методів, загальноприйнятих у тваринництві (Рубан *та ін.*, 2020), та з використанням комп'ютерних програм SPSS та Microsoft Excel.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ

Впровадження анестезії риб у практику виробничої діяльності рибницьких підприємств стримується через відсутність достатньої нормативно-технологічної бази, починаючи із вибору методу анестезії та підбору активного і, водночас, безпечного анестетика, визначення способу приготування та ефективних доз препарату відповідно до умов використання, таких як вид і розмірно-вікова група риб, температура води під час проведення робіт, потрібний рівень седації та ін.

Важлива передумова для набуття популярності методу хімічної анестезії риб серед технологів аквакультури – це наявність нескладного, придатного для використання у виробничих умовах, способу підготовки робочого препарату. До сьогодні відомо про три способи приготування препарату гвоздичної олії для анестезії риб: гарячий (Микодина и др., 2011), спиртовий (Anderson, 1997) і холодний (Поплавська та ін., 2016), але відсутня порівняльна оцінка ефективності застосування цих способів на підприємствах аквакультури у різних умовах використання.

З огляду на відносну простоту холодного способу приготування водної емульсії гвоздичної олії (Поплавська та ін., 2016), саме цей спосіб було використано у дослідженнях із перевірки ефективності анестезуючого впливу гвоздичної олії за різних концентрацій препарату та різних температурних умов на різновіковий матеріал стерляді (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758), африканського кларієвого сома (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822), звичайного коропа (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758), тиляпій (на прикладі нільської тиляпії *Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758), білого товстолобика (*Hypophthalmichthys molitrix* Valenciennes, 1844) та білого амура (*Ctenopharyngodon idella* Valenciennes, 1844).

3.1 Ефективність анестезуючого впливу гвоздичної олії на стерлядь

Стерлядь – єдиний туводний представник родини осетрових у континентальних водоймах України, занесена до Червоної книги України із природоохоронним статусом «зникаючий вид» (Червона книга України). Цей вид риб здавна був і залишається одним із найбільш поширених об’єктів аквакультури осетрових риб (Персов, 1963).

До сьогодні використання методів анестезії в роботі із стерляддю, зважаючи на відносно невеликі розміри і стійкість риби до маніпуляцій, вважалося необов’язковим, що, на думку науковців (Поплавська та ін. 2016), є помилкою, яка призводить до недоотримання товарної продукції і передчасної втрати цінного біологічного матеріалу.

Недостатність науково-технічної інформації щодо використання анестезії в роботі із стерляддю спонукала до проведення відповідних досліджень на різновіковому матеріалі риб, за різних температурних режимів, які відповідали б умовам найбільш поширених у рибництві технологічних процесів: весняної та осінньої інвентаризацій біологічного матеріалу (7-9°C), проведення робіт із штучного відтворення стерляді (12-17 °C), контрольні лови та сортування риби в процесі вирощування (18-22 °C).

3.1.1. Вплив гвоздичної олії на старшовіковий племінний матеріал стерляді. Дослідження на племінному матеріалі стерляді 4-11-річного віку було проведено за варіантами, представленими у таблиці (див. табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Варіанти експерименту, проведеного на старшовіковому племінному матеріалі стерляді

Умови експерименту									
Температура води, °C	7			15			20		
Концентрація препарату, мл/л	0.05	0.1	0.15	0.05	0.1	0.15	0.05	0.1	0.15
Кількість риб, екз. (n)	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Результати спостережень за реакцією риб на анестезію представлено на діаграмі (див. рис. 3.1):

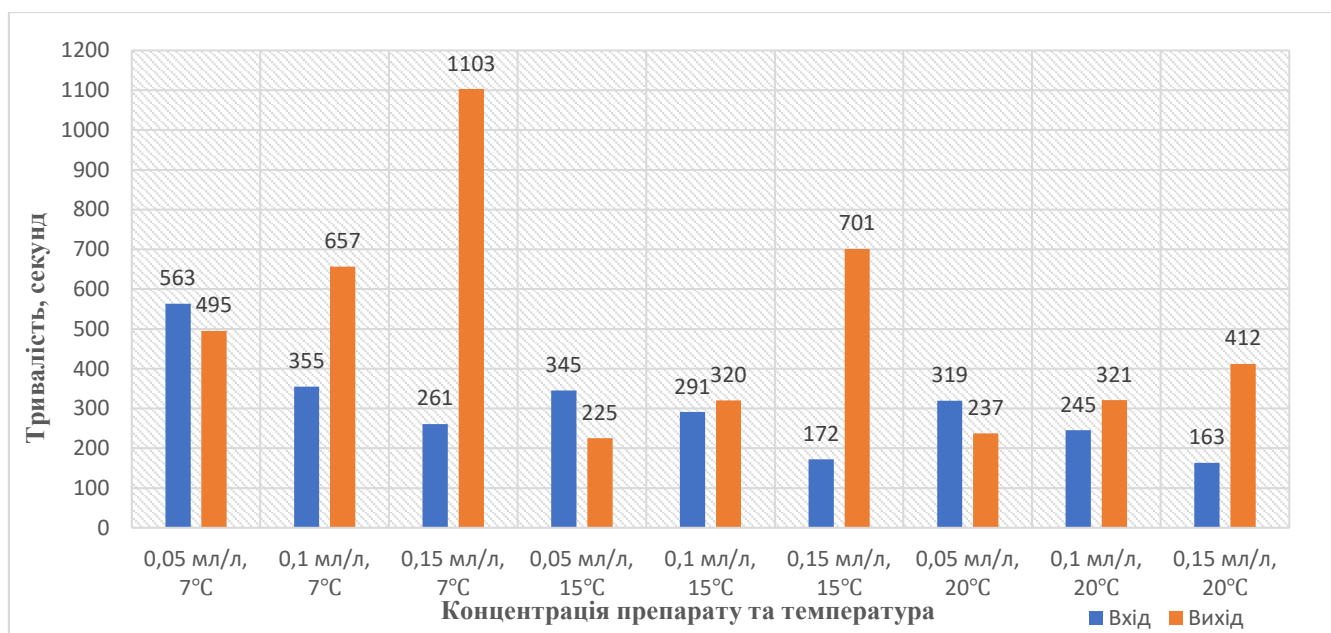


Рис. 3.1. Зміни стану риби в залежності від температури води і концентрації гвоздичної олії у водній емульсії (середні величини за варіантами експериментів)

Як видно з діаграми, ступінь анестезуючого впливу гвоздичної олії на стерлядь залежав як від температури води, так і від концентрації водної емульсії препарату. За найнижчої в умовах експерименту температури 7 °C і найменшої концентрації гвоздичної олії у водній емульсії препарату (0,05 мл/л) риба досягала 4 стадії анестезії (Zahl et al., 2012) довше, ніж у варіантах з іншими умовами. При цьому час входження риб у стан наркозу майже удвічі перевищував рекомендовані в якості максимуму для дії анестетика 5 хвилин (Brown, 2011).

В інших варіантах експерименту, при збільшенні концентрації гвоздичної олії у водній емульсії анестетика до 0,1 мл/л та 0,15 мл/л, спостерігали суттєве зменшення часу на досягнення рибами 4 стадії анестезії.

На тривалість входження стерляді у стан анестезії, крім концентрації препарату, впливала також температура води, за якої проводили дослідження.

При збільшенні температури час досягнення рибами стану наркозу зменшувався.

Час на відновлення риб після анестезії залежав як від температури води (зворотна залежність), так і від концентрації препарату (пряма залежність).

У варіантах 3-7, 3-15 і 3-20, за найвищої концентрації препарату анестетика (0,15 мл/л), відмічали значне збільшення різниці в часі входження стерляді у стан наркозу та відновлення риби після цього стану.

3.1.2. Вплив гвоздичної олії на однорічок стерляді. Дослідження на рибопосадковому матеріалі (однорічках) стерляді було проведено за варіантами, представленими у таблиці (див. табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Варіанти експерименту, проведеного на однорічках стерляді

Умови експерименту							
Температура води, °C	17					22	
Концентрація препарату, мл/л	0,05	0,07	0,1	0,15	0,2	0,05	0,07
Кількість риб, екз. (n)	16	16	16	16	16	16	16

Результати спостереження за однорічками стерляді, яких піддівали анестезії з використанням гвоздичної олії із різною концентрацією препарату у водній емульсії, але за однакової температури води 17 °C, представлено на діаграмі (див. рис. 3.2):

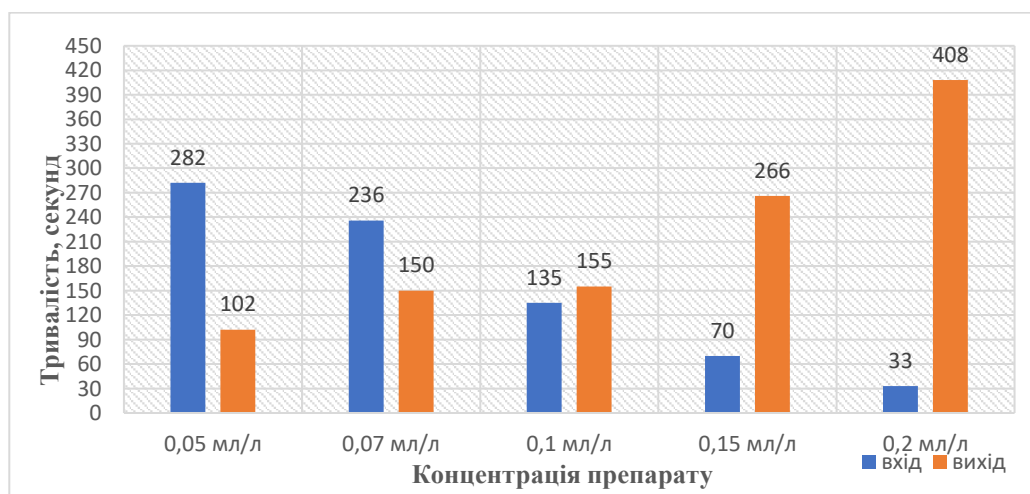


Рис. 3.2. Зміни стану однорічок стерляді в залежності від концентрації водної емульсії гвоздичної олії з температурою 17 °C (середні значення)

Згідно даних діаграми, інтенсивність анестезуючого впливу гвоздичної олії на однорічок стерляді залежала від концентрації гвоздичної олії у водній емульсії: із збільшенням концентрації тривалість входження риби у стан наркозу (4 стадія анестезії) зменшувалася, натомість час на відновлення риби після цього стану збільшувався. За концентрації препарату 0,05 і 0,07 мл/л води стерлядь входила в стан наркозу та виходила із цього стану у часових межах, рекомендованих вимогами до вибору ідеального анестетика (Park, *et al.*, 2017; Bolasina, *et al.*, 2017).

Результати спостереження за однорічками стерляді, яких піддівали анестезії у водній емульсії гвоздичної олії з концентрацією препарату 0,05 та 0,07 мл/л за змінних температурних умов – 17 °C і 22 °C, представлено на діаграмі (див. рис. 3.3):

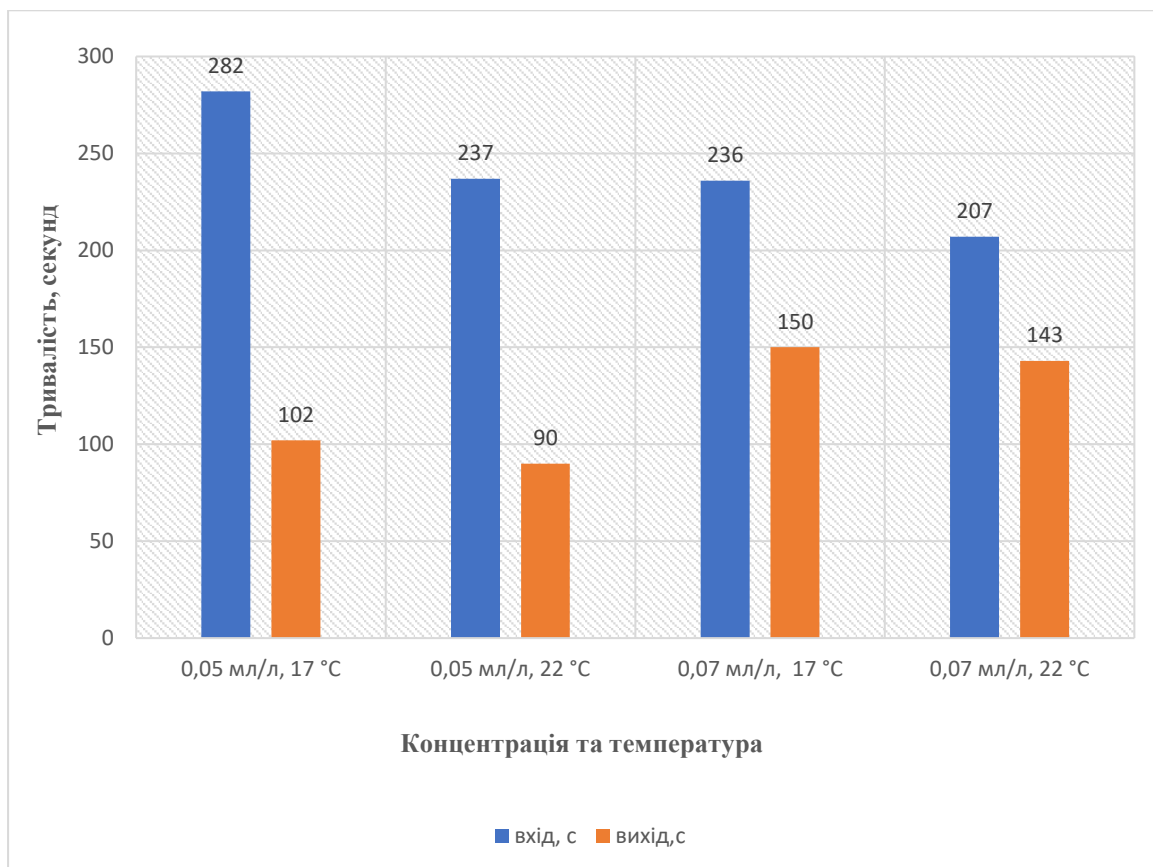


Рис. 3.3. Тривалість стадій анестезії у однорічок стерляді за двох варіантів концентрації гвоздичної олії, в залежності від температури водної емульсії препарату (середні величини за варіантами експериментів)

Згідно даних діаграми, вплив на стерлядь гвоздичної олії із однаковою концентрацією препарату, але за різної температури води, має різні часові характеристики. Так, при температурі 17 °С тривалість входу однорічок стерляді у стан наркозу за концентрації 0,05 мл/л становила, у середньому, 282 с, а при температурі 22 °С - зменшилася до 237 с. Аналогічний характер змін спостерігався у варіанті із концентрацією препарату 0,07 мл/л: за температури води 17 °С тривалість входу у стан наркозу становила 236 с, а за температури 22 °С - знизилася до 207 с.

На тривалість періоду відновлення однорічків стерляді після припинення дії анестетика вплинули як концентрація препарату (пряма залежність), так і температура води (зворотна залежність).

3.1.3. Вплив анестезії плідників стерляді за допомогою гвоздичної олії на вміст кортизолу у крові риб. Результат кількісної оцінки анестезуючого впливу гвоздичної олії на 6-11-річних плідників стерляді за показником вмісту у крові риб гормону кортизолу представлено в таблиці (див. табл. 3.3):

Таблиця 3.3

Вміст кортизолу в плазмі крові стерляді при застосуванні гвоздичної олії в якості анестетика (Дослід) і без застосування анестезії (Контроль)

Показник	Варіант	
	Дослід (n=6)	Контроль (n=4)
Вміст кортизолу у плазмі крові, нмоль/л	43,47±4,791*	134,33±18,920

* $p \leq 0,05$

Як видно з таблиці, вміст кортизолу в крові риб із дослідного варіанту у три рази менший, ніж у риб у групі контролі, що є об'єктивним свідченням наявності вираженого анестезуючого впливу гвоздичної олії на риб та зниження рівня стрес-реакції.

Висновок до підрозділу 3.1

Встановлено, що гвоздична олія від холодного способу приготування водної емульсії має анестезуючий вплив на стерлядь у концентраціях препарату від 0,05 до 0,15 мл/л. Оптимальними концентраціями в інтервалі температур води 7-20 °С для роботи із старшовіковим матеріалом (чотирирічки і старші) слід вважати 0,1 мл/л, а в роботі із молоддю цієї риби (однорічки-трирічки) – 0,05 і 0,07 мл/л; при цьому більшу концентрацію препарату (0,07 мл/л) рекомендовано застосовувати при нижчих значеннях температури води (до 17 °С), а меншу (0,05 мл/л) – при температурі, вищій за 17 °С.

Встановлено достовірно менший вміст кортизолу в крові плідників стерляді, яких піддавали анестезії у водній емульсії гвоздичної олії, у порівнянні з рибами контрольної групи (43,47 нмоль/л проти 134,33 нмоль/л), що є доказом антистресового впливу препарату на цей вид риб.

3.2 Анестезуючий вплив гвоздичної олії на кларієвого сома

Кларієвий сом відносно нещодавно увійшов до числа об'єктів інтенсивної тепловодної аквакультури України, але одразу набув неабиякої популярності у рибоводів завдяки високому темпу росту та невибагливості до вмісту розчиненого у воді кисню (Оліфіренко та ін., 2020; Трофимчук та ін., 2021). Часті пересадки і необхідність періодичного сортування рибопосадкового матеріалу в процесі товарного вирощування, задля запобігання канібалізму і забезпечення рівномірного росту, та тривалі маніпуляції з плідниками цієї сильної риби при штучному відтворенні обумовлюють потребу у використанні методів анестезії для запобігання стресу і загибелі цінного біологічного матеріалу та полегшенню роботи технологів підприємств аквакультури.

3.2.1. Вплив гвоздичної олії на двомісячних мальків кларієвого сома.

Дослідження анестезуючого гвоздичної олії у вигляді водної емульсії від холодного способу приготування на двомісячну молодь кларієвого сома проведено у два етапи за варіантами, представленими у таблиці (див. табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Варіанти експерименту на двомісячних мальках кларієвого сома

Умови експерименту									
Маса риби, г	60-70								
Етапи	1							2	
Температура води, °C	24							24	28
Концентрація, мл/л	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,08	0,1	0,05	0,05
Кількість риб, екз. (n)	20	20	20	20	20	20	20	20	20

Результати першого етапу експерименту, що включав спостереження за поведінкою молоді кларієвого сома під впливом різних концентрацій гвоздичної олії за однакової температури водної емульсії препарату (24 °C), представлено на рисунку (див. рис. 3.4).

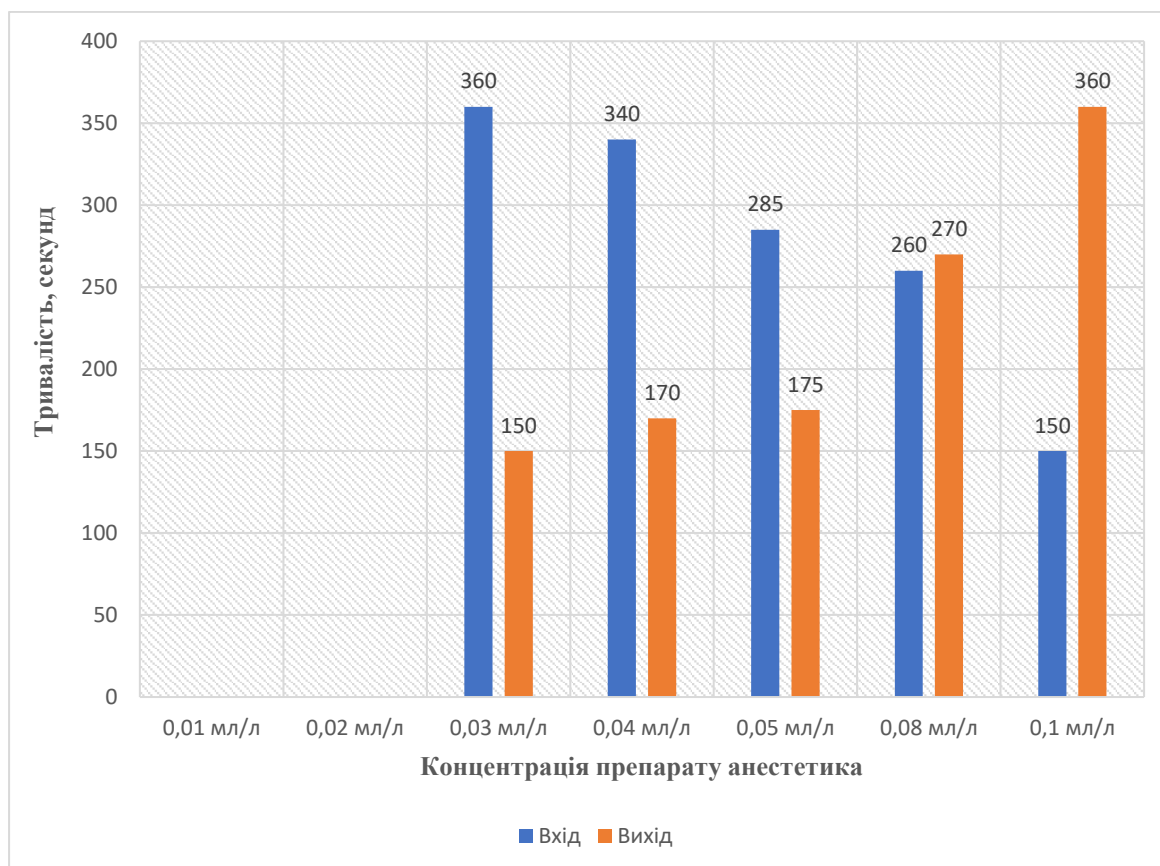


Рис. 3.4. Тривалість стадій анестезії у мальків кларієвого сома за різної концентрації гвоздичної олії при однаковій температурі водної емульсії препарату 24 °C (середні величини за варіантами експериментів)

Як видно з діаграми, не було встановлено анестезуючого впливу гвоздичної олії на мальків кларієвого сома у варіантах експерименту із концентрацією препарату 0,01 і 0,02 мл/л. В інших варіантах експерименту спостерігали виражений анестезуючий вплив гвоздичної олії на цих риб. При цьому, із зростанням концентрації препарату від 0,03 до 0,1 мл/л, тривалість входу кларієвого сома у стан наркозу зменшувалася від 360 до 150 секунд.

Тривалість відновлення мальків кларієвого сома після наркозу також залежала від концентрації препарату у водній емульсії анестетика: із зростанням концентрації від 0,03 до 0,1 мл/л час на повне відновлення риби до активного стану зростає із 150 до 360 секунд.

Результати другого етапу експерименту, проведеного в умовах двох температурних режимів, 24 °C і 30 °C, та за однакової концентрації анестетика (0,05 мл/л), представлено на діаграмі (див. рис. 3.5):

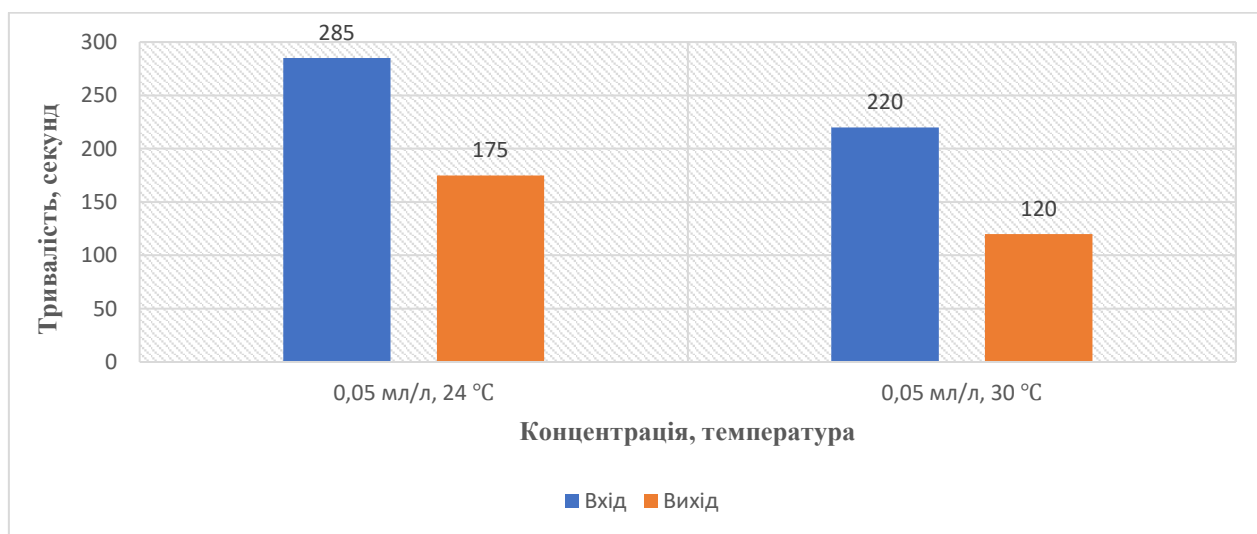


Рис. 3.5. Тривалість стадій анестезії у мальків кларієвого сома за двох режимів температури (24 °C і 30 °C) із концентрацією гвоздичної олії у водній емульсії 0,05 мл/л (середні величини за варіантами експериментів)

Як видно з діаграми, тривалість входу і виходу малька кларієвого сома із стану анестезії залежала від температури водної емульсії препарату анестетика: у варіанті з високою температурою риба швидше входила у стан

наркозу і швидше відновлювалася до нормального стану, ніж у варіанті з низькою температурою.

3.2.2. Вплив гвоздичної олії на кларієвого сома шестимісячного віку.

Дослідження впливу водної емульсії гвоздичної олії на швидкість проходження стадій анестезії у 6-місячних особин кларієвого сома із масою тіла у межах 400-1800 г проведено за варіантами, представленими у таблиці (див. табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Варіанти експерименту, проведеного на 6-місячній молоді кларієвого сома

Умови експерименту			
Маса риби, г	400-1800		
Температура води, °C	24	26	28
Концентрація препарату, мл/л	0,1	0,1	0,1
Кількість риб, екз. (n)	20	20	20

Результати спостережень за поведінкою шестимісячних особин кларієвого сома, яких піддівали анестезії за трьох режимів температури анестетика (24 °C, 26 °C і 28 °C), з використанням водної емульсії гвоздичної олії, приготовленої холодним способом, із однаковою концентрацією препарату (0,1 мл/л), представлено на діаграмі (див. рис. 3.6):

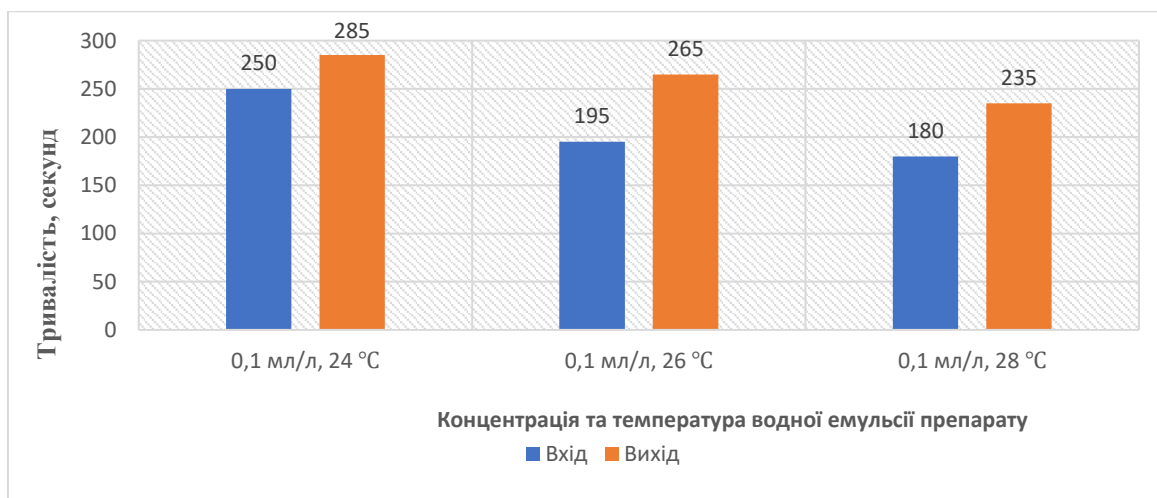


Рис. 3.6. Тривалість стадій анестезії у шестимісячного кларієвого сома за різної температури водної емульсії гвоздичної олії (середні значення)

Як видно з діаграми, при підвищенні температури водної емульсії анестетика тривалість входу риби в стан наркозу і час на відновлення нормального стану риб скорочуються. Так, максимальна тривалість входу риби у стан наркозу становила 250 с за температури 24 °С, мінімальна – 180 с за температури 28 °С. Аналогічно, час на відновлення риб після анестезії був найдовшим за температури водної емульсії анестетика 24 °С і становив 285 с, а найменшим – за температури 28 °С (235 с).

3.2.3. Вплив маси тіла риб на тривалість стадій анестезії у кларієвого сома. Для оцінки впливу вказаного фактору на поведінку риб при анестезії з використанням водної емульсії гвоздичної олії у двох температурних режимах (24 °С і 28 °С) було використано дані експериментів, описаних вище (див. пп. 3.2.1 і 3.2.2). Крім того, додатково проведено дослідження на двомісячних мальках кларієвого сома із масою тіла 60-70 г в умовах температури 28 °С і концентрації водної емульсії гвоздичної олії 0,1 мл/л. Результати спостережень представлено на рисунку (див. рис. 3.7).

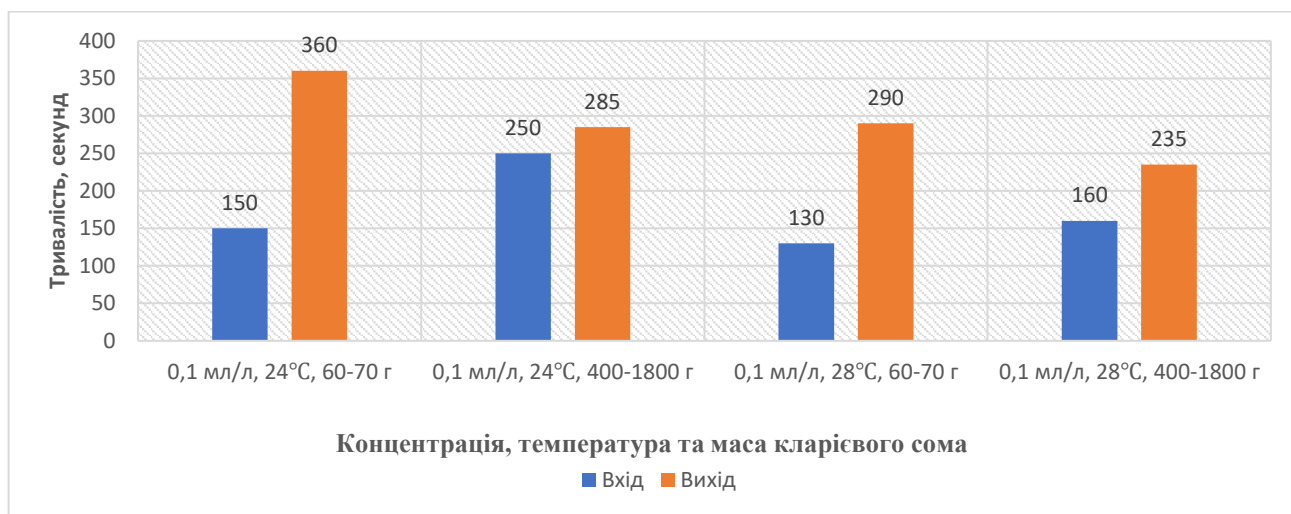


Рис. 3.7. Тривалість стадій анестезії у кларієвого сома в залежності від маси тіла риб (середні величини за варіантами експериментів)

Згідно даних спостережень, старші за віком і крупніші за розміром особини при обох температурних режимах повільніше за менших риб входили у стан наркозу під впливом водної емульсії анестетика і швидше виходили із цього стану. За більш високої температури водної емульсії препарату риби

обох розмірно-вікових груп швидше проходили стадії наркозу та відновлення, ніж за нижчої температури.

Висновок до підрозділу 3.2

Гвоздична олія від холодного способу приготування водної емульсії препарату продемонструвала анестезуючий вплив на різновіковий матеріал кларієвого сома у концентраціях від 0,05 до 0,15 мл/л. Оптимальними концентраціями препарату для роботи в інтервалі температур води 24-30 °С із старшовіковим матеріалом товарного розміру (6-місячні особини і старші) слід вважати 0,1 мл/л, а в роботі із двомісячною молоддю цієї риби – 0,05 мл/л.

Встановлено вплив маси тіла риб на інтенсивність процесів входу риб у стан наркозу і відновлення до нормального стану після закінчення дії анестетика. Так, крупніші за розміром риби повільніше за меншорозмірних особин входять у стан наркозу і швидше відновлюються до нормального стану.

На дію анестетика чинить вплив і температура водної емульсії, у якій проводять анестезію риб: процес входу в стан наркозу та відновлення риб відбуваються швидше за умов із більш високою температурою води.

3.3 Вплив гвоздичної олії на звичайного коропа та нильську тиляпію

Короп є основним об'єктом прісноводного рибицтва України. Незважаючи на значну стійкість риби до технологічних маніпуляцій (вилову, сортувань, тощо), очевидною є потреба впровадження методів гуманного поводження із тваринами і по відношенню до цієї риби. Крім того, цінний племінний матеріал коропа протягом періоду використання риби набагато частіше за рибу товарного призначення піддається сортуванню, вимірюванню розмірів і маси тіла та іншим процедурам, за яких доводиться вилучати рибу із її природного середовища та піддавати впливу стрес-факторів. Використання методів анестезії риб дозволить не лише полегшити умови

роботи персоналу племінних господарств під час проведення інвентаризації та бонітування племінних риб, а й зменшить ризик прояву негативних наслідків стресу.

Тиляпії увійшли до переліку об'єктів інтенсивної аквакультури України відносно нещодавно. Враховуючи, загалом, несприятливі природно-кліматичні умови нашої країни для культивування цих теплолюбних мешканців тропічних і субтропічних водойм у відкритих системах аквакультури, тиляпій вирощують в Україні у замкнутих рециркуляційних аквасистемах з керованими параметрами водного середовища. Не природно щільна посадка риб та високий рівень конкуренції за корми і простір збільшують розбіжність у масі риб одного віку, що вимагає проведення періодичних сортувань, які є значним -фактором для риб. Застосування анестезії сприятиме збереженню біологічного матеріалу тиляпій і полегшить умови праці персоналу рибоводних господарств.

Недостатність інформації щодо застосування природного анестетика гвоздичної олії у роботі з коропом та тіляпіями спонукала до проведення відповідних досліджень.

Експеримент проведено на дволітках коропа та двомісячних мальках нільської тиляпії за варіантами, представленими у таблиці (див. табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Варіанти експерименту

Умови експерименту			
Короп			
Температура води, °С	22		
Концентрація препарату, мл/л	0,05	0,1	
Кількість риб, екз. (n)	15	15	
Тиляпія			
Температура води, °С	28		
Концентрація препарату, мл/л	0,03	0,05	0,1
Кількість риб, екз. (n)	20	20	20

3.3.1. Вплив гвоздичної олії на дволітків коропа за різних концентрацій водної емульсії препарату. Результат спостережень за реакцією дволітньої молоді коропа на водну емульсію гвоздичної олії від холодного способу приготування препарату представлено на рисунку (див. рис. 3.8).

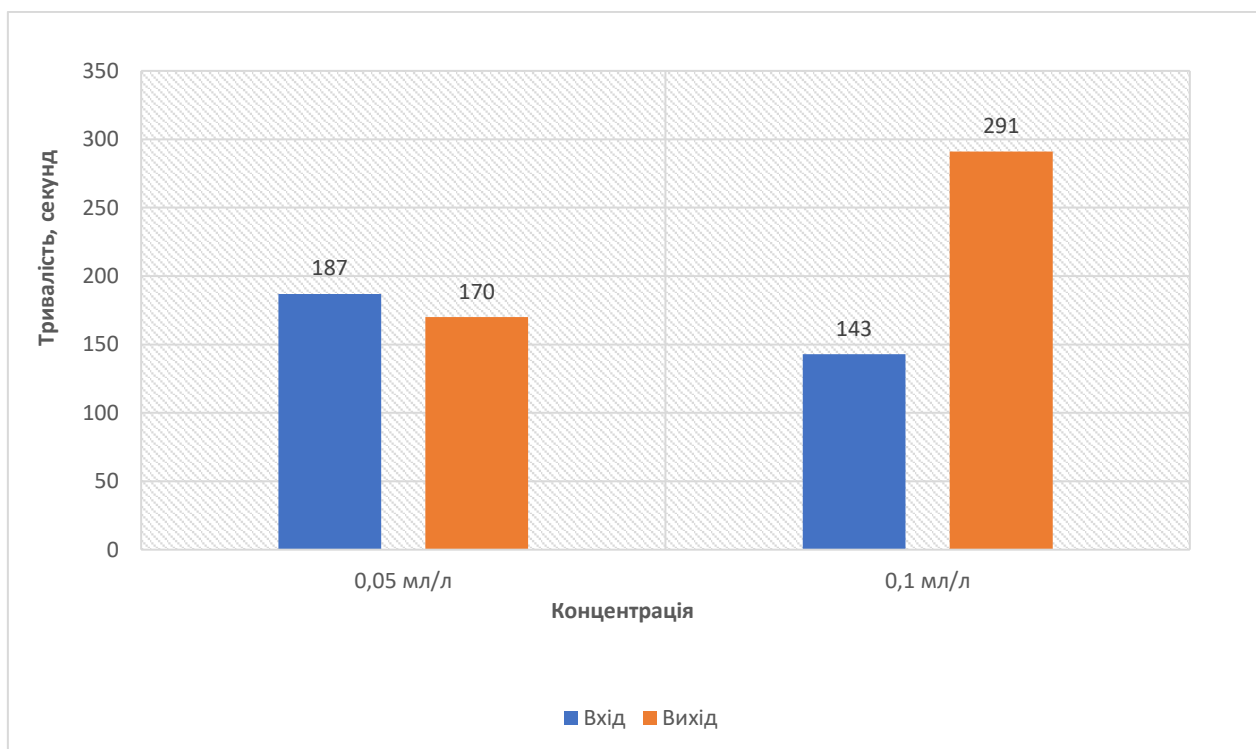


Рис. 3.8. Тривалість процесів входу дволітків коропа у стан наркозу в залежності від концентрації гвоздичної олії та відновлення до нормального стану після вилучення риб із водній емульсії анестетика (середні величини за варіантами експериментів)

Як видно з діаграми, збільшення удвічі концентрації водної емульсії гвоздичної олії у другому варіанті експерименту (0,1 мл/л) скоротило час входу риб в стан наркозу із 187 с до 143 с. Натомість, відновлення риб до нормального стану після припинення впливу анестетика у варіанті із більшою дозою препарату (0,1 мл/л) було значно тривалішим і становило 291 с проти 170 с у варіанті із меншою концентрацією водної емульсії анестетика (0,05 мл/л). При цьому, у обох варіантах експерименту час входу риб у стан наркозу

і тривалість відновлення риб знаходилися у межах, рекомендованих для вибору ефективного анестетика.

3.3.2. Вплив гвоздичної олії на двомісячних мальків тилapia за різних концентрацій препарату анестетика. Результат експерименту продемонстровано на рисунку (див. рис. 3.9).

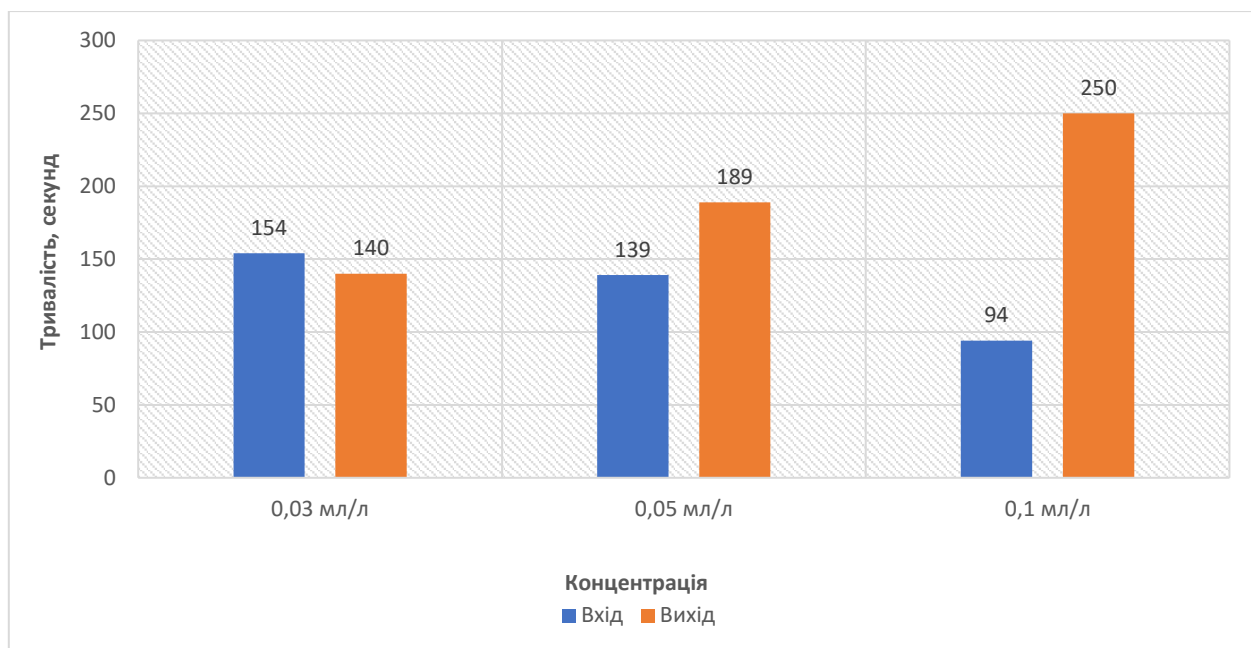


Рис. 3.9. Тривалість входу мальків тилapia у стан наркозу в залежності від концентрації гвоздичної олії у водній емульсії препарату та відновлення активності риб (середні величини за варіантами експериментів)

Як видно з діаграми, із збільшенням концентрації гвоздичної олії у препараті анестетика спостерігалось скорочення часу на досягнення 4 стадії анестезії мальками тилapia: від 154 с при концентрації 0,03 мл/л до 139 с при 0,05 мл/л та до 94 с при концентрації 0,1 мл/л. Тривалість відновлення риб до нормального стану, після припинення впливу водної емульсії анестетика, навпаки, збільшилася із зростанням концентрації препарату і становила: при 0,03 мл/л – 140 с, при 0,05 мл/л – 189 с, а при 0,1 мл/л час – 250 с.

За матеріалами перевірки впливу гвоздичної олії на дволітків коропа і двомісячних мальків тилapia за різних концентрацій водної емульсії

препарату було проведено однофакторний дисперсійний аналіз, результати якого представлено у таблиці (див. табл. 3.7):

Таблиця 3.7

**Однофакторний дисперсійний аналіз впливу різних концентрацій
препарату гвоздичної олії на коропа і тиляпію**

Показник	Концентрація гвоздичної олії		
	0,05 мл/л води	0,1 мл/л води	
Короп			
Кількість риб, екз.	10	10	
Середня маса риб, г	545,0±24,10	525,0±20,07	
Тривалість входу у стан наркозу, с	187,5±14,38*	143,0±11,24	
Тривалість виходу з наркозу, с	170,5±10,92**	291,0±10,16	
Тиляпія			
Показник	Концентрація гвоздичної олії		
	0,03 мл/л води	0,05 мл/л води	1 мл/л води
Кількість риб, екз.	20	20	20
Середня маса риб, г	22,3±1,25	22,3±1,05	21,2±1,72
Тривалість входу у стан наркозу, с	154±4,36**	139,2±4,64**	94,7±9,66
Тривалість виходу з наркозу, с	140±4,39**	189,4±6,67**	250,2±16,77

Примітки: * - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,001$

Як видно з таблиці, всі варіанти концентрації гвоздичної олії продемонстрували анестезуючий вплив на риб. Оптимальну тривалість процесів входу риб в стан наркозу і виходу із цього стану, як для коропа, так і для тиляпії, спостерігали у варіанті з концентрацією гвоздичної олії 0,1 мл/л водної емульсії препарату.

Оцінка результатів експерименту за однофакторним дисперсійним аналізом показала значущий вплив концентрації гвоздичної олії на тривалість введення риб у стан наркозу ($p \leq 0,05$ для коропа і $p \leq 0,05$ – для тиляпії) та відновлення риби обох видів після перебування у цьому стані ($p \leq 0,001$). Так, у експерименті з тиляпією ступінь впливу концентрації препарату на тривалість входу риби у стан наркозу і виходу з цього стану становив 64,5 % і 54,4 %, відповідно.

Висновок до підрозділу 3.3

Дволітки звичайного коропа і двомісячні мальки нільської тиліпії продемонстрували чутливість до анестезуючого впливу водної емульсії гвоздичної олії від холодного способу приготування препарату. При цьому ефективною для обох видів риб, за оптимальної для кожного виду температури води, виявилася однакова концентрація гвоздичної олії у водній емульсії препарату – 0,1 мл/л.

3.4. Анестезуючий вплив гвоздичної олії на білого амура і білого товстолобика

Білий амур і білий товстолобик – цінні об'єкти промислового рибальства внутрішніх водойм та ставової аквакультури України (Чепіль та ін., 2021). Дорослі особини обох видів – це великі за розміром та сильні риби, в роботі з якими доводиться застосовувати значних фізичних зусиль при сортуванні риби, проведенні бонітувальних заходів та при отриманні потомства методами аквакультури, що при необережному поводженні з рибою призводить до її травмувань і є сильним стрес-фактором (Jeney & Bekh, 2020). При цьому білий товстолобик дуже чутливий до «хендлінгу», що призводить до значних втрат плідників при штучному відтворенні риби, знижує ефективність селекційно-племінної роботи та створює дефіцит якісного племінного матеріалу. Застосування методів анестезії в роботі з обома видами риб стримується відсутністю відповідних рекомендацій і норм.

Експерименти з анестезії старшовікових особин білого амура і білого товстолобика у водній емульсії гвоздичної олії від холодного способу приготування, за різних варіантів концентрацій препарату анестетика, було проведено на племінному поголів'ї 3-7-річок білого амура і 6-8-річок білого товстолобика за варіантами, вказаними у таблиці (див. табл. 3.8).

Варіанти експерименту з оцінки анестезуючого впливу гвоздичної олії на білого амура і білого товстолобика

Умови експерименту					
Білий амур					
Температура води, °C	22				
Концентрація препарату, мл/л	0,03	0,04	0,05	0,07	0,1
Кількість риб, екз. (n)	11	11	11	11	4
Білий товстолобик					
Температура води, °C	22				
Концентрація препарату, мл/л	0,05	0,07	0,1		
Кількість риб, екз. (n)	18	18	18		

3.4.1. Вплив гвоздичної олії на білого амура за різних концентрацій водної емульсії препарату анестетика. Результати представлено на рисунку (див. рис. 3.10).

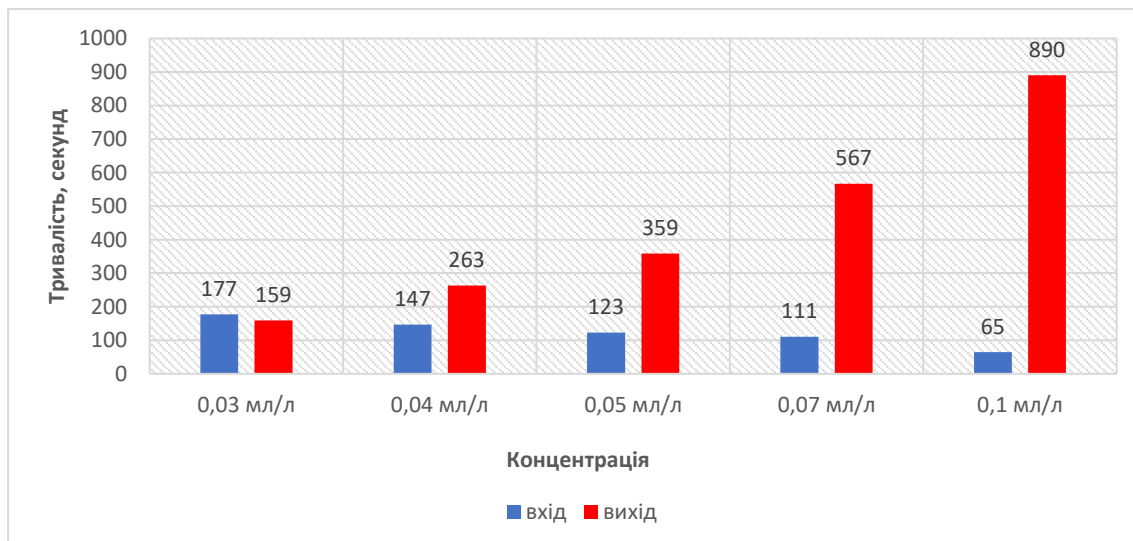


Рис. 3.10. Зміни стану білого амура в залежності від концентрації гвоздичної олії у водній емульсії з температурою 22 °C (середні величини за варіантами експериментів)

Як видно з діаграми, тривалість входу білого амура у стан наркозу із збільшенням концентрації гвоздичної олії у водній емульсії зменшується.

Так, за концентрації 0,03 мл/л час входу в стан наркозу становив 177 с, а при збільшенні концентрації зменшився і досяг мінімального значення 65 с при максимальній концентрації 0,1 мл/л. Тривалість відновлення риб після завершення дії анестетика також залежала від концентрації препарату, але при цьому, мала інший характер залежності: чим більшою була концентрація препарату при проведенні анестезії, тим довше риба відновлювалася до нормального стану після вилучення із водної емульсії анестетика. Так, у варіанті з мінімальною концентрацією гвоздичної олії у водній емульсії (0,03 мл/л) тривалість відновлення риб після анестезії становила, в середньому, 159 с, а у варіанті з максимальною концентрацією (0,1 мл/л) – 890 с.

3.4.2. Вплив гвоздичної олії на білого товстолиба за різних концентрацій препарату анестетика. Результати експерименту з анестезії старшовікового матеріалу білого товстолиба у водній емульсії гвоздичної олії наведено на рисунку (див. рис. 3.11).

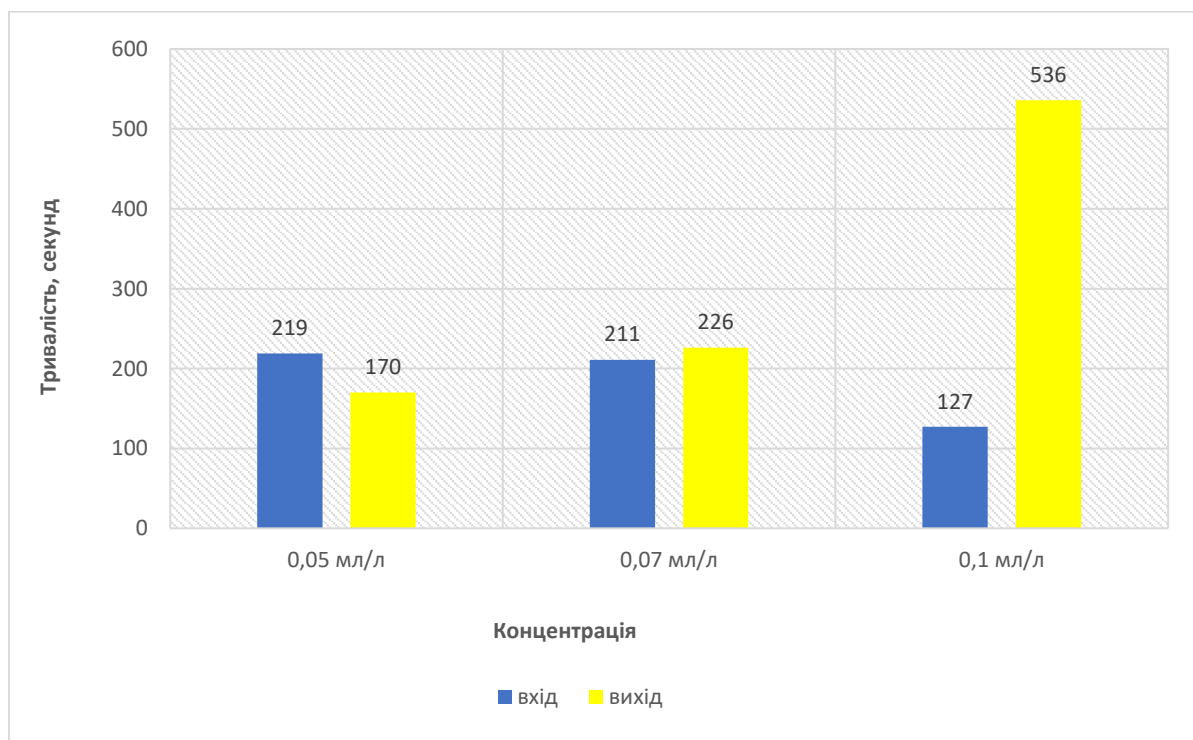


Рис. 3.11. Зміни стану білого товстолиба в залежності від концентрації гвоздичної олії у водній емульсії з температурою 22 °С (середні величини за варіантами експериментів)

Як видно з діаграми, збільшення концентрації гвоздичної олії у водній емульсії призводить до зменшення часу входу риб у стан наркозу: від 219 с за концентрації 0,05 мл/л до 0,07 мл/л час входу зменшується до 127 с за концентрації 0,1 мл/л.

Тривалість виходу старшовікового матеріалу білого товстолобика із стану наркозу залежала від концентрації гвоздичної олії у водній емульсії, в якій перебувала риба до початку етапу відновлення: із зростанням концентрації препарату анестетика час на повне відновлення риб збільшився з 170 с за концентрації 0,05 мл/л до 536 с за концентрації 0,1 мл/л.

Висновок до підрозділу 3.4

Гвоздична олія від холодного способу приготування водної емульсії препарату чинила виражений анестезуючий вплив на старшовіковий матеріал білого амура і білого товстолобика. Ефективною для білого амура слід вважати концентрацію препарату у межах 0,03-0,04 мл/л, для білого товстолобика – 0,05-0,07 мл/л.

3.5 Порівняння трьох способів приготування маточного препарату гвоздичної олії за ефектом анестезуючого впливу на риб

Проведено дослідження порівняльної ефективності препарату гвоздичної олії, підготовленого за трьома способами, гарячим, холодним і спиртовим, за ступенем анестезуючого впливу на риб, на прикладі кларієвого сома, коропа і нільської тиляпії.

3.5.1. Експеримент на кларієвому сомі. Результативні показники експерименту з порівняльної оцінки трьох способів приготування маточного препарату гвоздичної олії за ефективністю анестезуючого впливу на мальків кларієвого сома представлено у таблиці 3.9.

Вплив способу приготування препарату гвоздичної олії на настання стадії наркозу у мальків кларієвого сома та на тривалість відновлення риб після припинення впливу анестетика

Спосіб приготування маточного препарату анестетика	Кількість риб, екз. (n)	Тривалість змін у стані риби, с	
		Вхід в стан наркозу	Вихід із стану наркозу
Холодний	20	120,2±8,09*	136,1±8,83*
Гарячий	20	94,1±7,49	111,7±3,86
Спиртовий	20	116,5±8,81*	196,5±21,10***

Примітка: *– $p \leq 0,05$, ***– $p \leq 0,001$ (в порівнянні із гарячим способом)

Як видно з таблиці 3.9, у всіх варіантах експерименту спостерігали анестезуючий вплив гвоздичної олії на стан піддослідних риб. При цьому час, протягом якого мальки кларієвого сома входили у стан наркозу, а потім, після припинення дії препарату і проведення процедури зважування риб, відновлювалися до нормального стану, у значній мірі залежав від варіанту експерименту. Так, найшвидше у стан наркозу риби входили у водній емульсії гвоздичної олії, підготовленій гарячим способом – протягом 94,1±7,49 с. Значно повільніше досягали стану наркозу риби у варіанті із спиртовим способом розведення гвоздичної олії – за 116,5±8,81 с, а найдовше – при холодному способі підготовки водної емульсії препарату – за 120,2±8,09 с. Найменшу тривалість відновлення риб до нормального стану спостерігали у варіанті з гарячим способом підготовки препарату анестетика – 111,7±3,86 с, найбільшу – у варіанті зі спиртовим способом – 196,5±21,10 с.

Різниця між крайніми значеннями тривалості входу у стан наркозу і виходу риб із цього стану становила 27,7 % і 75,9 %, відповідно, що є свідченням впливу способу підготовки маточного препарату гвоздичної олії на рівень анестезуючого впливу на риб.

Однофакторний дисперсійний аналіз отриманих результатів показав, що сила впливу фактору «спосіб приготування препарату гвоздичної олії»

на час входження мальків кларієвого сома у стан наркозу становила 6,4% ($p \leq 0,05$), а на тривалість стадії відновлення риб – 19,6 % ($p \leq 0,001$).

Оцінка результатів експерименту за відповідністю існуючим рекомендаціям до вибору ідеального анестетика для риб (Park, et al., 2017; Bolasina, et al., 2017) щодо тривалості процесів входження об'єкта впливу у стан наркозу (<3 хв) і відновлення після цього стану (<5 хв) показала, що за всіма трьома варіантами приготування препарат гвоздичної олії відповідав встановленим критеріям ефективності. При цьому, найкращий результат було отримано у варіанті з гарячим способом приготування препарату гвоздичної олії, як за часом введення молоді сома у стан наркозу ($94,1 \pm 7,49$ с), так і тривалістю процесу відновлення риб після цього стану ($111,7 \pm 3,86$ с). Порівняння результатів, отриманих у інших двох варіантах експерименту із кращим результатом показало, що час входу риб в стан наркозу за обох способів достовірно збільшився ($p \leq 0,05$): за спиртового способу – на 22,4 с (12,3 %), за холодного – на 26,1 с (22 %). Тривалість відновлення риб після анестезії, у порівнянні з кращим результатом, також збільшилася: за спиртового способу приготування препарату анестетика – на 84,8 с (43,2 %) ($p \leq 0,001$), за холодного способу – на 24,4 с (18 %) ($p \leq 0,05$).

Результати пошуків кореляційного зв'язку між живою масою мальків кларієвого сома і тривалістю входу риб у стан наркозу та розрахунків коефіцієнту регресії наведено у таблиці 3.10.

Таблиця 3.10

Коефіцієнти кореляції між живою масою та тривалістю входу мальків кларієвого сома у стан наркозу і регресії за різних способів приготування препарату гвоздичної олії для анестезії

Спосіб приготування препарату гвоздичної олії	Коефіцієнт кореляції (r)	Коефіцієнт регресії, с/10 грам
Гарячий	0,606***	3,91***
Спиртовий розчин	0,529***	5,01**
Холодний	0,385*	2,96*

Примітка: * – $p \leq 0,05$, ** – $p \leq 0,01$, *** – $p \leq 0,001$

Як видно з таблиці 3.10, встановлено позитивну кореляцію між живою масою мальків кларієвого сома та тривалістю входу цих риб у стан наркозу. При цьому ступінь кореляції значно різнився за варіантами способу приготування маточного препарату для анестезії: від середнього за гарячого ($r = 0,606$) та спиртового способів ($r = 0,529$) до помірного – за холодного способу приготування препарату анестетика ($r = 0,385$).

Слід відзначити наявність значущості кореляційних зав'язків між живою масою кларієвого сома і тривалістю індукції стану наркозу у риб для всіх варіантів експерименту: цей рівень був високим значущим ($p \leq 0,001$) для гарячого і спиртового способів приготування препарату анестетика та значущим ($p \leq 0,05$) – для холодного способу.

Аналіз міри залежності між живою масою кларієвого сома та тривалістю процесу індукції стану наркозу у риб показав, що збільшення маси кларієвого сома на 10 г призводило до зростання тривалості входження риби в стан анестезії на 3,91 с за гарячого, 5,01 с за спиртового та 2,96 с – за холодного способів приготування препарату гвоздичної олії.

Значущість достовірності коефіцієнтів регресії за варіантами експерименту становила: для гарячого способу приготування препарату анестетика для риб – $p \leq 0,001$ (дуже висока значуща), для спиртового способу – $p \leq 0,01$ (висока значуща), для холодного способу – $p \leq 0,05$ (значуща).

Результати пошуків кореляції між живою масою мальків кларієвого сома і часом виходу цих риб із стану наркозу та визначення міри регресійних змін у цих показниках, окремо для кожного способу приготування маточного препарату гвоздичної олії для анестезії риб, наведені у таблиці наведеній вище (див. табл. 3.11).

Як видно з таблиці 3.11, відмічається кореляційний зв'язок між живою масою риб і тривалістю їх виведення із стану наркозу: слабкий позитивний ($r = 0,306$) при холодному способі, слабкий негативний ($r = -0,368$) у варіанті із спиртовим способом та дуже слабкий позитивний ($r = 0,111$) у варіанті з гарячим способом приготування водної емульсії гвоздичної олії. Значущість

кореляційних зав'язків встановлено лише для спиртового способу приготування препарату анестетика ($p \leq 0,05$).

Таблиця 3.11

Коефіцієнти кореляції і регресії між живою масою мальків кларієвого сома та часом виходу риб із стану наркозу за різних способів приготування препарату анестетика

Спосіб приготування препарату анестетика	Коефіцієнт кореляції (r)	Коефіцієнт регресії, с/10 грам
Гарячий	0,111	0,37
Спиртовий	-0,368*	-8,36*
Холодний	0,306	2,57

Примітка: * – $p \leq 0,05$

Для аналізу міри залежності між масою риби та часом виходу її зі стану анестезії до уваги взяли лише один значущий показник – із варіанту «Спиртовий спосіб приготування маточного розчину гвоздичної олії для анестезії риб», з коефіцієнтом регресії -8,36 за рівня значущості $p \leq 0,05$. Цей показник демонструє, що із збільшенням маси тіла кларієвого сома на 10 грамів час виходу риби зі стану наркозу зменшується на 8,36 секунд.

За отриманими результатами можна зробити висновок про наявність помірної тенденції до збільшення часу виходу кларієвого сома зі стану наркозу із зменшенням живої маси об'єкта анестезуючого впливу лише при застосуванні спиртового способу підготовки маточного розчину препарату гвоздичної олії для анестезії цього виду риб.

Встановлення позитивної кореляції між індивідуальною масою мальків кларієвого сома та тривалістю введення риб у стан наркозу стало підтвердженням результатів першого дослідження авторів, проведеного на цьому виді риб раніше (Коваленко *та ін.*, 2022). Так, у попередньому експерименті, проведеному на рибі із середньою масою тіла 928 г, проти 575 г у другому експерименті, за аналогічних умов (холодний спосіб приготування препарату гвоздичної олії для анестезії, варіант із температурою води + 26 °C), було зафіксовано час входження риб у стан наркозу, майже на півтори

хвилини довший, ніж у обговорюваному дослідженні, що можна вважати підтвердженням встановленої залежності. Натомість, зроблений у попередньому дослідженні висновок щодо наявності зворотної залежності між індивідуальною масою риби та часом виходу її зі стану наркозу, отримав підтвердження тільки у варіанті зі спиртовим способом приготування препарату гвоздичної олії.

У варіанті з холодним способом приготування препарату для анестезії ефект впливу маси тіла на тривалість виведення риби зі стану анестезії виявився протилежним – було встановлено прямий слабо виражений зв'язок між цими показниками.

Різні результати оцінки ступеня кореляційних зв'язків між живою масою риб і тривалістю виведення їх із стану наркозу, залежно від способу приготування препарату гвоздичної олії для анестезії риб, що дисонують із показниками, отриманими при пошуку зв'язків між масою риб і тривалістю індукції у них стану анестезії, вказують на доцільність проведення повторного експерименту.

3.5.2 Перевірка ефективності різних способів підготовки маточного препарату для анестезії коропа і тиляпії. Результати другого експерименту з перевірки ефективності використання різних способів приготування маточного препарату гвоздичної олії з концентрацією діючої речовини 0,1 мл/л, представлено у таблиці (див. табл. 3.12):

Таблиця 3.12

Оцінка ефекту анестезії для коропа і нільської тиляпії за різних способів приготування гвоздичної олії з концентрацією препарату 0,1 мл/л

Показник	Спосіб приготування препарату		
	холодний*	гарячий	Спиртовий
Короп			
Кількість риб, екз.	10	10	10
Середня маса риб, г	525,0±20,07	530,0±22,61	545,0±24,10
Тривалість входу у стан наркозу, с	143,0±11,24	123,0±9,89	72,5±5,34
Тривалість виходу з наркозу, с	291,0±10,16	279,0±10,90	308,0±8,00

Тиляпія			
Кількість риб, екз.	20	20	20
Середня маса риб, г	21,2±1,72	20,9±1,84	23,7±1,79
Тривалість входу у стан наркозу, с	94,7±9,66	68,2±4,98	59,3±4,19
Тривалість виходу з наркозу, с	250,2±16,77	234,3±18,15	273,2±15,19

Примітка: * - використано результати досліджень, отримані у попередніх експериментах

За даними таблиці, найбільш інтенсивний анестезуючий вплив на коропа і тиляпію встановлено у варіанті зі спиртовим способом приготування маточного розчину гвоздичної олії. Так, тривалість входу дволітків коропа у стан наркозу була меншою у порівнянні з гарячим способом на 41,1 %, у порівнянні з холодним способом - на 49,3 %, а мальків тиляпії – на 14,1 % і 37,4 %, відповідно. Тривалість виходу коропа із стану наркозу за спиртового способу приготування препарату виявилася довшою у порівнянні з гарячим способом на 10,4 %, у порівнянні з холодним способом – на 6,8 %, а тиляпії – на 16,6 % і 9,2 %, відповідно.

Другим за силою анестезуючого впливу на риб виявився препарат від гарячого способу приготування водної емульсії анестетика. Найменшу інтенсивність анестезуючого впливу на риб демонстрував препарат гвоздичної олії, приготовлений холодним способом. При цьому різниця між тривалістю входу риб у стан наркозу та виходу із цього стану між холодним та гарячим способами приготування препарату гвоздичної олії для анестезії риб була меншою, ніж між гарячим та спиртовим способами.

Встановлено високо значущий ($p \leq 0,001$) вплив способу приготування препарату для анестезії на тривалість введення коропа у стан наркозу, із ступенем впливу 53,7 %, та не значущий вплив цього фактору на швидкість виходу риби із наркозу (ступінь впливу – 14,2 %). Подібний результат було отримано і в експерименті, проведеному з нільською тиляпією: високо значущий ($p \leq 0,001$) вплив способу приготування на швидкість досягнення цією

рибою стану наркозу (ступінь впливу – 20,8 %), та не значущий вплив цього фактору на швидкість виведення риби із стану наркозу (ступінь впливу – 4,6 %).

Результати пошуків кореляційного зв'язку між показниками експерименту зведено до таблиці (див. табл. 3.13):

Таблиця 3.13

Коефіцієнти кореляції між масою риб та тривалістю етапів наркозу

Пари показників	Спосіб приготування препарату		
	холодний	гарячий	спиртовий
Короп (n=10)			
Маса тіла – Тривалість входу в стан наркозу	- 0,172	0,278	- 0,097
Маса тіла – Тривалість виходу з наркозу	0,150	- 0,009	- 0,179
Тривалість входу в стан наркозу – Тривалість виходу з наркозу	- 0,514	- 0,244	0,130
Тиляпія (n=20)			
Маса тіла – Тривалість входу в стан наркозу	0,415	0,199	0,223
Маса тіла – Тривалість виходу з наркозу	- 0,501*	- 0,725*	- 0,260
Тривалість входу в стан наркозу – Тривалість виходу з наркозу	- 0,276	- 0,235	- 0,097

Примітки: * - $p \leq 0,001$

Як видно з таблиці, встановлено вірогідний ($p \leq 0,001$) високий негативний зв'язок між середньою масою тіла мальків тиляпії та тривалістю виходу риб зі стану наркозу у варіантах з холодним і гарячим способами приготування препарату для анестезії. Решта показників кореляції не є вірогідними.

Висновок до підрозділу 3.5

Встановлено, що за всіма трьома варіантами приготування препарату для анестезії, гарячим, холодним і спиртовим, гвоздична олія чинила анестезуючий вплив на кларієвого сома, коропа і нільську тиляпію

із результатами, які відповідали встановленим критеріям ефективності для вибору анестетика. При цьому, найкращий результат для кларієвого сома було отримано у варіанті з гарячим способом приготування препарату гвоздичної олії, як за часом введення молоді сома у стан наркозу, так і за тривалістю процесу відновлення риб після цього стану. Для коропа і тиляпії кращий показник за тривалістю входу риб у стан наркозу демонстрував спиртовий спосіб підготовки розчину гвоздичної олії.

3.6 Забій кларієвого сома з використанням гвоздичної олії

Досліджено спосіб передзабійної підготовки риби, на прикладі кларієвого сома товарної маси, з використанням гвоздичної олії в якості анестетика. Використано холодний спосіб підготовки водної емульсії гвоздичної олії та два дослідні варіанти концентрації препарату: 0,05 і 0,1 мл/л. У контролі рибу забивали традиційним способом: ударом молотка по черепній коробці з наступним перерізанням зябер у оглушених особин. Кількість риб із масою тіла у межах 400-900 г, використаних в експерименті, становила у контролі 20 екз., у дослідних варіантах – по 10 екз.

Дані спостережень за входом риб у стан наркозу представлено на рисунку (див. рис. 3.12).

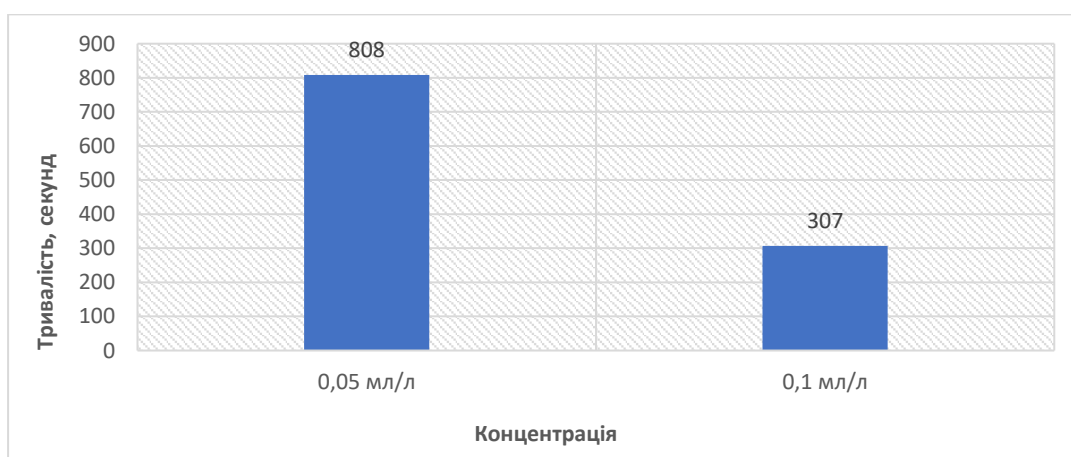


Рис. 3.12 Тривалість входу кларієвого сома у стан наркозу в залежності від концентрації препарату анестетика (середні величини за варіантами експерименту)

Як видно з рисунку, тривалість досягнення рибами 4 стадії анестезії була значно вищою у варіанті з концентрацією препарату 0,1 мл/л: 307 с проти 808 с у варіанті з концентрацією 0,05 мл/л.

За спостереженнями кожна з риб, яких ввели у стан наркозу, після перерізання зябер загинула без будь-яких проявів рухової активності. Навпаки, більша частина риб з контрольної групи, після отриманого удару по голові виходили зі стану оціпеніння та після перерізання зябер рухались у конвульсіях, тим самим страждаючи. В експерименті таких риб із загальної кількості 20 екз. виявилася більшість – 15 екз. При цьому, це були особини, крупніші за розміром від тих 5 екз., які не вийшли зі стану оціпеніння після удару по голові і загинули без прояву зовнішніх ознак активності одразу після перерізання зябер. Це можна пояснити тим, що у менших за розмірами риб череп не такий міцний, як у крупніших, тому за однакової сили удару травмування мозку було сильнішим. Отже, застосування способу забою кларієвого сома з попереднім оглушенням риби ударом по голові вимагає різної сили удару в залежності від розміру риби.

Висновок до підрозділу 3.6

Встановлено, що використання гвоздичної олії для глибокої анестезії кларієвого сома товарного розміру в процесі передзабійної підготовки позбавляє рибу від страждань і полегшує умови роботи працівників.

Рекомендована концентрація гвоздичної олії у водній емульсії – 0,1 мл/л, яка забезпечує швидке, близько 5 хвилин, досягнення рибами стадії глибокої анестезії.

3.7. Економічна ефективність використання гвоздичної олії для анестезії риб

Оцінку економічного ефекту від використання анестезії риб за допомогою гвоздичної олії зроблено на підставі зростання рівня виживаності риб,

щодо яких використовується анестезія, для запобігання проявам стресу та травмуванню особин під час проведення різних технологічних маніпуляцій: сортування, зважування і промірів, відбору статевих продуктів при штучному відтворенні, взяття проб біологічного матеріалу, тощо.

Розрахунок очікуваного ефекту проведено на прикладі маточного поголів'я білого товстолобика, як одного із найбільш поширених і цінних об'єктів прісноводної аквакультури України, із використанням наступних вихідних даних:

1. Середній фактичний рівень виживаності плідників білого товстолобика протягом року у рибних господарствах України – 50 % (Зиньковский и др., 2000), що обмежує строк репродуктивного використання риб до 2-х років.
2. Нормативна середня тривалість використання плідників рослиноїдних риб (в т. ч. і білого товстолобика) – 5 років (Балтаджі, 1996).
3. Співвідношення самиць і самців білого товстолобика при штучному відтворенні риби – 2 : 1 (Балтаджі, 1996).
4. Індивідуальна маса 1 плідника білого товстолобика середнього репродуктивного віку (6-7 років): самиця – 8 кг, самець – 7 кг.
5. Вартість 1 кг плідників рослиноїдних риб (за даними аналізу ринку аквакультури в Україні у сезон 2023 р.) – 150 грн.
6. Рекомендована концентрація водної емульсії препарату анестетика – 0,05 мл/л, співвідношення маси тіла риби (кг) і об'єму водної емульсії (л) – 1 : 5, повторність використання препарату до заміни на свіжоприготовлену водну емульсію – не менше 5 раз.
7. Вартість гвоздичної олії у аптеках України – 76 грн. за флакон ємністю 5 мл. Отже, 1 мл препарату коштуватиме 15,2 грн.

Результати розрахунку економічного ефекту від використання анестезії для плідників білого товстолобика за допомогою гвоздичної олії представлено у таблиці (див. табл. 3.14).

**Економічний ефект від використання гвоздичної олії анестезії
в роботі з плідниками білого товстолобика (з розрахунку на 100 екз. риб)**

№ п\п	Показник	Варіант	
		Без анестезії	З анестезією
1	Кількість плідників, екз.	100	100
	з них самиць, екз.	66	66
	самців, екз.	34	34
2	Строк репродуктивного використання, років	2	5
3	Щорічне поповнення стада плідників, екз.	50	20
	з них самиць/самців, екз.	33 / 17	13 / 7
4	Витрати на щорічне поповнення стада риб, грн. (Кільк. риб * Інд. маса * Ціна)	54900,00	21900,00
5	Потреба у гвоздичній олії, мл (Маса 100 екз. риб * 5 л/кг * Конц. преп. / 5 раз)	-	36,6
6	Витрати на гвоздичну олію, грн. (потреба у преп. * Ціна преп.)	-	55,63 ≈ 56,00
7	Економічний ефект від застосування анестезії риб, грн. (Різниця у вартості придбання риб – Витрати на препарат)	-	32924,00

Отже, згідно розрахунків, прямий ефект від застосування анестезії в роботі з маточним поголів'ям білого товстолобика, завдяки подовженню у 2,5 раз терміну репродуктивного використання риб, становить 32924 грн. з розрахунку на кожні 100 екз. плідників цієї риби.

Висновок до підрозділу 3.7

Використання гвоздичної олії у якості анестетика для об'єктів рибництва, на прикладі маточного матеріалу білого товстолобика, є економічно ефективним завдяки подовженню більше, ніж у 2 рази, строків репродуктивного використання плідників цієї риби і зменшенню на 32924 грн. витрат на поповнення маточного поголів'я, з розрахунку на 100 екз. плідників.

РОЗДІЛ 4

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Інтенсифікація технологій рибництва супроводжується зростанням впливу стрес-факторів на риб, що викликає загальний адаптаційний синдром та призводить до уповільнення росту і набору маси тіла, нерідко – до наднормативних втрат біологічного матеріалу (Wedemeyer & McLeay, 1981; Schreck & Tort, 2016). Одним із ключових факторів стресу у рибництві вважаються різноманітні технологічні маніпуляції з рибами, що викликають «handling stress», і потреба у яких об'єктивно зростає із ростом рівня інтенсивності процесів риборозведення (Barton, 1998). У цих умовах нагальною стає потреба у використанні методів анестезії в роботі з рибами, що зменшує прояви болю та стресу.

Найбільш поширеним у світовій практиці риборозведення є хімічний метод анестезії, з використанням обмеженого переліку дозволених для аквакультури препаратів, переважно, синтетичного походження (Brown, 2011; Zahl et al., 2012). Останнім часом відбуваються пошуки природних речовин із вираженим анестезуючим впливом, що є нешкідливими для природного середовища, швидко виводяться з організму і не мають негативних побічних ефектів. До їх числа відноситься і гвоздична ефірна олія. Перші дослідження цієї речовини в якості анестетика, проведені на низці об'єктів товарної та декоративної аквакультури, продемонстрували перспективність застосування даного анестетика в роботі з рибами і безхребетними водними тваринами (Namackova et al., 2006; Javahery et al., 2012).

Поява і закріплення у міжнародному законодавстві таких понять, як добробут тварин і захист їх від жорстокого поводження, поширюються і на аквакультуру та її складову – рибництво. В Україні, яка імплементувала Угоду про асоціацію з Європейським Союзом, відбуваються процеси приведення нормативно-правової бази у відповідність з нормами законодавства

ЄС, у тому числі тих актів, що стосуються благополуччя тварин (Лихач та ін., 2022). Разом із тим, у сфері практичного рибництва України сьогодні існує низка невирішених проблем щодо гуманного поводження з об'єктами культивування. Ці проблеми викликані не стільки недосконалістю вітчизняного законодавства у сфері забезпечення добробуту тварин, скільки відсутністю відповідної нормативно-технологічної бази для анестезії поширених у вітчизняній аквакультури цінних видів риб, зокрема, стерляді, кларієвого сома, звичайного коропа, тиляпії, білого амура і білого товстолобика. Наявні у доступній науковій та технологічній літературі дані мають фрагментарний характер і, здебільшого, не містять чітких рекомендацій щодо застосування гвоздичної олії в анестезії вказаних видів риб, що стримує впровадження цього природного анестетика у практику вітчизняного рибництва. Не вирішено також завдання щодо використання анестезії в процесі підготовки риб до гуманного вимушеного забою.

Використання різних хімічних анестетиків, зокрема, і гвоздичної олії, вимагає дотримання певних дозувань препаратів для кожного виду риб. Якщо брати до уваги суттєву різницю у філогенетичному розвитку вище означених видів риб, взятих для дослідження, слід було би очікувати, що ступінь реакції кожного виду на анестезуючий вплив цього препарату буде різним та залежатиме від концентрації анестетика та температурних умов при процедурі анестезії, що і було доведено за результатами проведених досліджень.

Стерлядь є одним із найбільш поширених об'єктів товарного осетрівництва та штучного відтворення з метою поповнення природних популяцій цієї риби у водоймах України. Через відносно невеликі розміри і певну стійкість до технологічних маніпуляцій, традиційно не вважалося обов'язковим застосування до цієї риби процедури анестезії під час проведення робіт, пов'язаних із вилученням риби з води, взяттям біологічних проб, відбором статевих продуктів, тощо. Таку практику ряд дослідників (Поплавська та ін., 2016) небезпідставно піддавали критиці, як помилкову,

що призводить до втрат біологічного матеріалу та скорочення термінів репродуктивного використання маточного поголів'я риби.

Обмеженість доступної науково-технічної інформації щодо використання синтетичних анестетиків в роботі із стерляддю і майже повна відсутність досліджень із застосування гвоздичної олії для анестезії цієї риби спонукали до постановки відповідних експериментів. Отримані результати дали змогу констатувати, що гвоздична олія у формі водної емульсії чинить виражений анестезуючий вплив на різновіковий матеріал стерляді у концентраціях препарату від 0,05 мл/л. Зокрема, встановлено, що оптимальною концентрацією для роботи з старшовіковим племінним матеріалом риби (від трирічків і старші) в інтервалі температур води 7-20 °С слід вважати 0,1 мл/л, що частково підтверджує результати досліджень Поплавської О. С. із співавторами (Поплавська та ін., 2016), які рекомендували дещо ширший інтервал концентрації препарату за тих же температурних умов для анестезії плідників стерляді – від 0,1 до 0,15 мл/л.

Вперше встановлено ефективні концентрації гвоздичної олії від холодного способу приготування водної емульсії препарату для молодших розмірно-вікових груп стерляді (мальки, однорічки, дворічки) – 0,05 і 0,07 мл/л. Більшу концентрацію (0,07 мл/л) рекомендовано для використання за низьких значень температури води (до 17 °С), а меншу (0,05 мл/л) – від 17 °С і вище.

За даними біохімічного дослідження встановлено достовірне зниження вмісту кортизолу в крові риб з дослідної групи, яких піддавали анестезії у водній емульсії гвоздичної олії, у порівнянні з рибами контрольної групи (43,47 нмоль/л проти 134,33 нмоль/л). Це є доказом антистресового впливу препарату на рибу і підтверджує результат, отриманий раніше у дослідженні науковців (Поплавська та ін., 2016), проведеному на плідниках стерляді під час прижиттєвого взяття проб тканини гонад: 55,90 нмоль/л у риб із дослідного варіанту, яких вводили у стан наркозу перед біопсією гонад, проти 123,74 нмоль/л у риб контрольної групи.

Африканського кларієвого сома в Україні розпочали вирощувати в рециркуляційних аквасистемах з початку 2000-х років. Ця швидкоростуча, невибаглива до кисневих умов водного середовища риба набула популярності серед рибоводів України. Часте сортування молоді в процесі вирощування, для запобігання конкуренції та канібалізму серед особин із різницею в масі тіла, та потреба у прикладанні значних фізичних зусиль при роботі з плідниками цієї сильної риби при отриманні потомства в умовах аквакультури об'єктивно потребували застосування методів анестезії для запобігання стресу і загибелі біологічного матеріалу (Оліфіренко та ін., 2020).

У доступній літературі відсутня інформація щодо використання хімічних анестетиків у роботі з кларієвим сомом, як для запобігання проявам стресу у риб, так і для полегшення умов роботи технологів. Проведені дослідження дали змогу встановити, що гвоздична олія є ефективним анестетиком для кларієвого сома. Вперше визначено оптимальні концентрації препарату у формі водної емульсії для анестезії різновікового матеріалу цієї риби в інтервалі температур 24-30 °C – від 0,05 до 0,15 мл/л. Для старшовікового матеріалу риб масою від 400 г і вище (5-місячні особини і старші) рекомендовано використовувати препарат у концентрації 0,1 мл/л, а для молоді віком до 4-х місяців – 0,05 мл/л.

Встановлено, що на швидкість досягнення рибами 4 стадії анестезії (стан наркозу) та на тривалість процесу відновлення риб після анестезії впливає індивідуальна маса тіла: крупніші особини повільніше входять у стан наркозу і швидше за менших особин відновлюються до нормального стану. Також відмічено, що інтенсивність цих процесів залежить від температури водної емульсії анестетика: вхід в стан наркозу та відновлення риб проходять швидше у воді з більш високою температурою. Цьому є об'єктивне пояснення: зябра у риб є основним шляхом надходження та виведення анестетиків, тому збільшення вентиляції зябер і зростання частоти серцевих скорочень за високої температури водного середовища збільшать проникність анестетика в організм,

а після припинення впливу препарату – прискорять процес відновлення риб до нормального стану.

Дослідження впливу гвоздичної олії на коропа і нільську тиліпію обґрунтовані недостатністю даних щодо можливості використання цього природного анестетика в роботі з рибами, які є поширеними об'єктами вітчизняної аквакультури. Отримані на дволітках коропа і двомісячних мальках тиліпії результати досліджень свідчать про їхню чутливість до анестезуючого впливу водної емульсії гвоздичної олії. Рекомендована концентрація гвоздичної олії у водній емульсії препарату – 0,1 мл/л, однакова для використання як на дволітках коропа, так і на мальках тиліпії. Перспективним вважається продовження досліджень анестезуючого впливу гвоздичної олії на різновіковий матеріал цих риб за різних температурних умов задля масштабного використання препарату на рибницьких підприємствах.

У рибництві України існує проблема низької ефективності селекційно-племінної роботи із білим товстолобиком та білим амуром, які є цінними об'єктами ставової аквакультури і промислу на внутрішніх водоймах (Коваленко, 2005). Дорослі особини цих видів досягають великого розміру і маси та є сильними рибами, в роботі з якими, при проведенні бонітувальних заходів, сортувань та в процесі отримання потомства заводським методом, застосовують значних фізичних зусиль, що є потужним стрес-фактором і супроводжується загибеллю частини риб, яка може досягати 50-70 % від загальної чисельності племінного поголів'я (Зиньковский и др., 2000). Використання анестезії для цих видів риб стримується відсутністю відповідних рекомендацій.

За результатами досліджень, проведених на старшовіковому племінному матеріалі білого амура і білого товстолобика, було встановлено виражений анестезуючий вплив гвоздичної олії у формі ванн із водною емульсією препарату. Вперше встановлено ефективні концентрації препарату анестетика, які рекомендовано до використання на підприємствах рибництва: 0,03-0,04 мл/л – для білого амура та 0,05-0,07 мл/л – для білого товстолобика.

Перспективними, на нашу думку, напрямками подальших досліджень мають стати вивчення анестезуючого впливу гвоздичної олії на рибопосадковий матеріал білого амура і товстолобика при проведенні сортувань риби та під час перевезень, пошуки оптимальних концентрацій препарату для досягнення рибами потрібних рівнів седації або наркозу.

Вважається, що для впровадження методу анестезії риб за допомогою гвоздичної олії потрібно запропонувати технологам аквакультури нескладний, придатний до використання у виробничих умовах, спосіб підготовки робочого препарату анестетика, адже ця речовина не розчиняється у воді. Дослідники запропонували три способи приготування гвоздичної олії для анестезії риб: гарячий (Микодина и др., 2011), спиртовий (Anderson, 1997) і холодний (Поплавська та ін. 2016). Однак, відсутність оцінки цих способів у різних умовах виробничого використання створює для технологів аквакультури проблему вибору найбільш ефективного способу. У зв'язку із цим було проведено дослідження порівняльної ефективності різних способів підготовки препарату анестетика на кларієвому сомі, коропі і нільській тиляпії.

На підставі отриманих результатів було встановлено, що гвоздична олія від всіх трьох способів приготування препарату чинила анестезуючий вплив на дослідний матеріал риб. При цьому тривалість процесів входу риби у стан наркозу і відновлення до нормального стану після завершення процедури анестезії відповідали критеріям ефективності для ідеального анестетика. Разом із тим, кращий результат для молоді кларієвого сома отримано у варіанті з гарячим способом приготування водної емульсії препарату, в той час, як для дволітків коропа і мальків тиляпії більш ефективним виявився спиртовий спосіб підготовки розчину гвоздичної олії. Отримані результати, загалом, узгоджуються з висновками інших дослідників (Ross, 2008; Aydın, 2020) щодо доцільності приготування маточного препарату дрібнодисперсної емульсії гвоздичної олії у воді з високою температурою (близько 50 °C), завдяки чому препарат достатньо легко диспергується при інтенсивному збовтуванні. Разом із тим, такий спосіб втрачає свою перевагу, коли доводиться працювати

з рибою в умовах низьких температур води (нижче 10 °C), наприклад, при маніпуляціях з холодолюбними видами риб (лососевими, сиговими) або із теплолюбними об'єктами, але за низької температури води (наприклад, при проведенні весняного бонітування племінного поголів'я коропових видів риб). За таких умов роботи можна рекомендувати спиртовий спосіб приготування маточного розчину гвоздичної олії з наступним доведенням концентрації препарату у воді до робочих значень (Javaheery, 2012; Öğretmen, 2013; Aydın, 2015).

Потреба гуманного забою риби в дослідницьких лабораторіях та на виробничих підприємствах, під час переробки рибної продукції набула актуальності у зв'язку із появою у міжнародному законодавстві таких понять, як «добробут тварин» та «захист тварин від жорстокого поводження» (Conte, 2004). Ще одною вагомою підставою для використання анестезії у підготовці риб до забою для харчових цілей є науково підтверджений факт (Bosworth, 2007), що попередньо анестезована препаратом на основі еугенолу риба була позбавлена відчуття передсмертного болю; при цьому покращилися якість рибної продукції і збільшилася тривалість її зберігання.

При виборі препаратів для хімічної анестезії риб перед забоєм слід враховувати нешкідливість препарату і харчову безпечність його залишків у рибній продукції. Більшість дозволених в аквакультурі синтетичних анестетиків не відповідають цим вимогам (Priborsky & Velisek, 2018). На відміну від синтетичних препаратів гвоздична олія отримала репутацію безпечного для людей препарату: протягом тривалого часу її використовували для місцевого знеболювання у стоматології та як харчову добавку і консервант – при приготуванні їжі.

За результатом вперше проведеного дослідження з використання гвоздичної олії при передзабійній підготовці кларієвого сома товарних розмірів було встановлено, що знаходження риби у водній емульсії препарату із концентрацією гвоздичної олії 0,05 і 0,1 мл/л для глибокої анестезії кларієвого сома товарного розміру в процесі передзабійної підготовки позбавляє рибу

від страждань і полегшує умови роботи працівників. Вважається доцільним рекомендувати до використання концентрацію 0,1 мл/л, за якої риба вдвічі швидше досягає стану наркозу, що сприятиме скороченню тривалості передзабійної підготовки риби.

ВИСНОВКИ

Досліджено анестезуючий вплив природного анестетика гвоздичної олії на шістьох видів риб: стерляді, білого товстолобика, білого амура, кларієвого сома, коропа і нільську тиляпію. Встановлено оптимальні концентрації препарату для анестезії риб різного віку і маси тіла за різних температурних умов. Вперше надано порівняльну оцінку трьом способам приготування препарату анестетика та вивчено можливість використання гвоздичної олії при підготовці кларієвого сома до гуманного вимушеного забою, визначено економічну ефективність її застосування при технологічних маніпуляціях із маточним поголів'ям білого товстолобика. Отримані нові наукові дозволили удосконалити технологію використання гвоздичної олії в якості природного анестетика для цінних об'єктів прісноводного рибництва.

1. Експериментально доведено анестезуючий вплив гвоздичної олії на різновіковий матеріал стерляді, білого товстолобика, білого амура, кларієвого сома, коропа і нільську тиляпію.

2. Встановлено вплив індивідуальної маси тіла риби на тривалість процесів анестезії і відновлення до нормального стану: крупніші за розміром риби повільніше за менших особин входять у стан наркозу і швидше відновлюються до нормального стану.

3. Визначено, що швидкість анестезуючої дії гвоздичної олії на рибу і тривалість відновлення риби після анестезії залежать від температури водної емульсії: ці процеси проходять швидше за більш високої температури.

4. Визначено оптимальні концентрації гвоздичної олії у вигляді водної емульсії холодного способу приготування препарату анестетика для різних риб, які становлять:

- для стерляді одно-трирічного віку – 0,05-0,07 мл/л, для риби від 4-річків і старших – 0,1 мл/л;
- для кларієвого сома 2-місячного віку – 0,05 мл/л, для старшовікового матеріалу (6-місячні особини і старші) товарного розміру – 0,1 мл/л;

- для дволітків коропа і двомісячних мальків нільської тиляпії – 0,1 мл/л;
- для 3-7-річок білого амура – 0,03-0,04 мл/л;
- для білого товстолобика 6-8-річного віку – 0,05-0,07 мл/л.

5. Доведено антистресовий вплив гвоздичної олії на плідників стерляді: встановлено значне достовірне зниження вмісту кортизолу в крові риб, яких піддавали анестезії у водній емульсії препарату, у порівнянні з рибами контрольної групи (43,47 нмоль/л проти 134,33 нмоль/л).

6. Встановлено, що всі три відомі способи приготування робочого препарату гвоздичної олії – гарячий, холодний і спиртовий – забезпечують ефект анестезуючого впливу на кларієвого сома, коропа і нільську тиляпії, який відповідає критеріям вибору ефективного анестетика для риб. При цьому, порівняно кращий результат для кларієвого сома отримано у варіанті з гарячим способом приготування водної емульсії препарату, для коропа і нільської тиляпії – при спиртовому способі підготовки розчину гвоздичної олії.

7. Встановлено доцільність використання гвоздичної олії для глибокої анестезії кларієвого сома при підготовці риби до вимушеного забою, що відповідає вимогам гуманного поводження з тваринами: позбавляє риб від передсмертних страждань. Крім того, попередня анестезія риб полегшує умови роботи працівників. Рекомендована концентрація гвоздичної олії у водній емульсії, яка забезпечує швидке, близько 5 хвилин, досягнення рибами стадії глибокої анестезії – 0,1 мл/л.

8. Економічний розрахунок ефекту від застосування гвоздичної олії в роботі з маточним матеріалом білого товстолобика показав, що величина прибутку на кожні 100 екз. плідників становить 32924 грн., завдяки подовженню у 2,5 раз терміну репродуктивного використання маточного поголів'я цієї риби.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

За результатами досліджень підготовлено пропозиції виробництву щодо використання гвоздичної олії в якості природного анестетика для цінних об'єктів товарного рибництва України.

1. Використовувати гвоздичну олію холодного способу приготування водної емульсії при проведенні технологічних робіт зі стерляддю, африканським кларієвим сомом, коропом, нільською тиліпією, білим амуром і білим товстолобиком, пов'язаних із тривалим вилученням риби з води для сортування, взяття біологічних проб, відбору статевих продуктів, тощо.

2. Рекомендовані для різних видів риб концентрації гвоздичної олії у водній емульсії препарату:

2.1. Стерлядь:

- одно-трирічки – 0,05 мл/л за температури водного середовища від 17 °С до 22 °С та 0,07 мл/л – за температури 7-17 °С;
- риби у віці від 4-річків і старші – 0,1 мл/л за температури водного середовища у межах 7-20 °С.

2.2. Кларієвий сом:

- мальки двомісячного віку – 0,05 мг/л за температури водного середовища у межах 24-30 °С;
- риби товарного розміру (вік від 6 місяців і старші) – 0,1 мг/л за температури води 24-28 °С.

2.3. Короп (дволітки-дворічки) і нільська тиліпія (мальки у віці 2 місяців) – 0,1 мл/л.

2.4. Білий амур (риби у віці від 3-х років і старші) – 0,03-0,04 мл/л. Більшу концентрацію препарату застосовувати за температури води до 22 °С.

2.5. Білий товстолобик (племінний матеріал у віці 6-річок і старші) – 0,05-0,07 мл/л. Концентрацію 0,07 мл/л використовувати у роботі з рибою за умови температури водного середовища до 22 °С.

3. Застосовувати гвоздичну олію перед вимушеним забоєм кларієвого сома, задля дотримання вимог гуманного поводження з тваринами. Рекомендована концентрація препарату для досягнення рибами стадії глибокої анестезії – 0,1 мл/л.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абросимова А. М. (1976). Роль органов чувств в ориентации леща, синца, плотвы и густеры Киевского водохранилища. *Вестник зоологии*, (3), 40.
2. Андриющенко А. І. Аквакультура штучних водойм. Індустріальна аквакультура. Київ, 2014, 586.
3. Балтаджи Р. А. (1996). Технологія відтворення рослиноїдних риб у внутрішніх водоймах України. Київ: ІПГ УААН. 85 с.
4. Благополуччя тварин під час транспортування приведуть до норм Європейського Союзу (2023). Міністерство аграрної політики та продовольства України: URL: <https://minagro.gov.ua/news/blagopoluchchya-tvarin-pid-chas-transportuvannya-privedut-do-norm-yeuropejskogo-soyuzu> (дата звернення 10.12.2023).
5. Всесвітня організація охорони здоров'я тварин. URL: <https://www.woah.in.ua/index.php> (дата звернення 10.11.2023).
6. Гриб Й. В. (2011). Деякі аспекти взаємозв'язку стресових чинників та адаптації гідробіонтів у порушених водних екосистемах. *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Сер. Біологія*. 2 (47), 15-22.
7. Давыдов О., Пьянов В. (1987). Эффективный анестезирующий препарат. *Рыбоводство*, (5), 25.
8. Европейская Конвенция о защите домашних животных (1987) URL: <http://conventions.coe.int/Treaty/Commun/ChercheSig.asp?NT=125&CM=&DF=&CL=RUS> (дата звернення 10.11.2023).
9. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (1986). URL: <http://conventions.coe.int/Treaty/Commun/ChercheSig.asp?NT=123&CM=1&DF=09/09/2012&CL=ENG> (дата звернення 10.11.2023).
10. Жуйков А. Ю. (1989). Способ анестезии рыб. *Рыбное хозяйство*, (5), 57.

11. Завьялова Е. А., Дрошнев А. Е., Гулюкин М. И. Калинина, Н. Р. (2012). Анестезия радужной форели. *Российский ветеринарный журнал*, (4), 22-24.
12. Зиньковский О.Г., Зиньковский В.Г., Потрохов А.С. Способ анестезии рыб // А. с. 1824123 А 1. № 4916134; заяв. 04.03.91; опубл. 30.06.93. Б.И. № 24.
13. Зиньковский О. Г., Потрохов А. С., & Евтушенко Н. Ю. (2000). Применение антистрессовых и обездвиживающих веществ в промышленном рыбоводстве и при экспериментальной работе с рыбами. *Киев: Ин-т гидробиологии НАН Украины*.
14. Зубченко Н. І. Міжнародно-правове співробітництво держав у сфері забезпечення добробуту тварин та їх захисту від жорстокого поводження : монографія. Одеса: Фенікс, 2016, 284.
15. Иванов А.А. (2003) Физиология рыб: учебное издание. «Мир». 284.
16. Климонов В. О. (1989). Влияние нейротропных веществ на физиологические показатели некоторых видов промысловых рыб. 12.
17. Кобзева Т. А., Шеін Д. С. (2021). Порівняльний аспект організаційно-правових засад захисту тварин в Україні та державах ЄС. *Аналітично-порівняльне правознавство*, (3), 260-264. <https://doi.org/10.24144/2788-6018.2021.03.48>.
18. Коваленко Б. Ю., Вдовенко Н. М., Плічко В. Ф., Коваленко В. О., Шарило Ю. Є., Тишечко А. В., Дмитришин Р. А., Коваль В. В., Павленко Н. Г. (2023). Методичні рекомендації з використання гвоздичної олії для анестезії риб через призму впливу формування пропозиції на агропродовольчу продукцію на ринку. Київ: НУБіП України. 30 с.
19. Коваленко Б. Ю., Коваленко В. О. (2023) Вплив способу приготування емульсії гвоздичної олії на ефект анестезії у коропа і тиляпії. 129. 285-292. <https://doi.org/10.32851/2226-0099.2023.129.37>.
20. Коваленко В. О. (2005). Проблеми та перспективи розвитку племінної справи у рибництві України. *Рибне господарство*. 64, 25-30.

21. Коваленко В.О. (2017). Підготовка спеціалістів для аквакультури: сучасні вимоги і шляхи реалізації. *Зб. тез доповідей 71 наук.-практ. конф. "Актуальні проблеми розвитку галузей тваринництва та рибництва"*. URL: https://www.researchgate.net/publication/321905334_zbirnik_tez_dopovidej_71-i_naukovo-prakticnoi_konferencii_naukovo-pedagogicnih_pracivnikov_naukovih_spivrobitnikov_ta_aspirantiv_fakultetu_tvarinnictva_ta_vodnih_bioresursiv_aktualni_problemi_rozvitku (дата звернення 10.11.2023).
22. Кучерук А. И., Грициняк И. И., Мрук А. И., Великопольский И. Й. (2015). Особенности выращивания сеголеток европейского хариуса (*Thymallus thymallus* L.). *Рыбогосподарська наука України*, (2), 31-40.
23. Лихач А. В., Ярошук Д. А., Баркарь Є. В. (2022). Благополуччя тварин (Огляд). *Міжнародна науково-практична конференція науково-педагогічних працівників та молодих науковців. Сучасні підходи гарантування безпеки та якості продуктів тваринництва*, 148.
24. Матвієнко Т. І. (2017). Розведення і селекція риб: методичні вказівки для проходження літньої практики. Одеса. ОДЕКУ, 95.
25. Микодина и др. (2011). Руководство по применению анестетика "гвоздичное масло" в аквакультуре. Изд-во ВНИРО. 58 с.
26. Мрук А. И., Тертерян Л. Л., Хандоживская А. И., Тертерян Л. А. (2013). Мониторинг роста ручьевой форели в промышленных условиях хозяйства "Ишхан". *Рыбогосподарська наука України*, (1), 31-37.
27. Никоноров С. И., Климонов В.О. (1984). Перспективы применения нейротропных веществ в рыбководстве. *Рыбное хозяйство*. 4. 72-73.
28. Оліфіренко В. В., Корнієнко В. О., Козичар М. В. (2020). Спосіб анестезії африканського сома. *Водні біоресурси та аквакультура*. 1. 61-72. <https://doi.org/10.32851/wba.2020.1.6>.
29. Основы анестезиологии (общие вопросы анестезиологии): учеб.-метод. Пособие. БГМУ, 2010. 40 с.
30. Персов Г.М. (1963) Стерлядь как объект рыбководства и товарного выращивания. *Осетровое хозяйство в водоёмах России*. АН СССР, 40-43.

31. Поплавська О. С., Коваленко В. О., Шумова В. М. (2016). Дослідження анестезуючого впливу препарату «Гвоздична олія» на стерлядь (*Acipenser ruthenus* L.). *Науковий журнал «Тваринництво та технології харчових продуктів»*, (250), 186-195.
32. Попов А.С., Экстрем А.В., Шлахтер С.М., Тириченко Д.С. (2013). История анестезиологии и реаниматологии как клиническая и научная дисциплины. *Волгоградский научно-медицинский журнал*, 4 (40), 10-13.
33. Про затвердження переліку наркотичних засобів, психотропних речовин і прекурсорів (2000). Постанова Кабінету Міністрів України від 06.05.2000 № 770 URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/770-2000-п#Text> (дата звернення 10.11.2023).
34. Резников О. Г. (2003). Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. Перший національний конгрес з біоетики. Ендокринологія. 1. С. 42–145.
35. Рубан С. Ю., Даншин В. О., Литвиненко Т. В., Борщ О. О. Мітіогло М. Дмитрович І. Матвєєв М. А. (2020). Сучасні методи селекції у тваринництві. Київ, 2020, 212.
36. Сказкина Е. П. (1975). Энергетический обмен хамсы при групповом и одиночном содержании и наркотизировании хинальдином. In Докл. АН СССР (Vol. 225, No. 1, p. 238).
37. Слюсаренко, Д. В. (2018). Клініко-експериментальне обґрунтування диференціальних блокад місцевими анестетиками у тварин [Дис. д-ра вет. наук]. Білоцерківський національний аграрний університет, 365.
38. Солдатов А. А. (2021). Функциональные эффекты применения анестезирующих препаратов на костистых рыбах (обзор). *Биология внутренних вод*, (1), 55-66. <https://doi.org/10.31857/S0320965220060169>.
39. Стребкова Т. П. (1970). Применение анестезирующих средств с целью увеличения плотности посадки рыб при их транспортировке.
40. Трофимчук А.М., Гриневич Н.Є, Романчук Б. А., Світельський М.М. (2021) Рибоводно-технологічне обґрунтування рециркуляційної аквасистеми

для африканського кларієвого сома *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького. Серія: Сільськогосподарські науки*. 95, 15–24. <https://doi.org/10.32718/nvlvet-a9502>.

41. Закон України (2006). Про захист тварин від жорстокого поводження. URL: <http://zakon1.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>. (дата звернення 10.12.2023).

42. Хандожівська, А. І. (2013). Розмірно–вагові показники харіуса європейського (*Thymallus thymallus*) в річках Закарпаття. *Рибогосподарська наука України*, (3), 89-96.

43. Чебанов М. С. Руководство по искусственному воспроизводству осетровых рыб. Анкара: Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН, 2013. 558 с.

44. Чепіль Л.В., Курбатова І.М., Видрик А.В., Макаренко А. А. (2021). Стан та перспективи розвитку аквакультури рослиноїдних риб в світі та Україні. *Водні біоресурси та аквакультура*, (2), 77–88. <https://doi.org/10.32851/wba.2021.2.7>.

45. Червона книга України. Стерлядь URL: <http://redbook-ua.org/item/acipenser-ruthenus-linnaeus/> (дата звернення 10.12.2023).

46. Ak K., Minaz M., Er A., Aslankoç R. (2022). The using potential of a new natural anesthetic agent on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Chamomile oil (*Matricaria chamomilla*). *Aquaculture*, 561, 738742. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738742>.

47. Akbari S, Khoshnod M J, Rajaian H, Afsharnasab M. (2010) The use of eugenol as an anesthetic in transportation of with Indian Shrimp (*Fenneropenaeus indicus*) Post Larvae, *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 10. 423-429. <https://doi.org/10.4194/trjfas.2010.0317>.

48. Allen J. L., Hunn J. B. (1986) Fate and distribution of some drugs used in aquaculture. *Vet Human Toxicol* 28, 21–24.

49. Anderson W. G., McKinley R. S., Colavecchia M. (1997). The Use of Clove Oil as an Anesthetic for Rainbow Trout and Its Effects on Swimming

Performance. *North American Journal of Fisheries Management*, 17(2), 301–307. doi:10.1577/1548-8675(1997)017<0301:tuocoa>2.3.co;2.

50. Aydın, B., Barbas, L. A. L. (2020). *Sedative and anesthetic properties of essential oils and their active compounds in fish: A review. Aquaculture*, 520, 734999. doi:10.1016/j.aquaculture.2020.734999.

51. Bahrekazemi, M., Yousefi, N. (2017). Plasma enzymatic, biochemical and hormonal responses to clove oil, 2-phenoxy ethanol, and MS-222 exposed to Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius* Kessleri). *Iran. J. Aquac. Anim. Health*, 3 (1): 47- 60. . <https://doi.org/10.18869/acadpub.ijaah.3.1.47>.

52. Barton B.A., Rahn A.B., Feist G. (1998). Physiological stress responses of the freshwater chondrosteian paddlefish (*Polyodon spathula*) to acute physical disturbances. *Comp. Biochem. Physiol.* V. 120A. P. 355. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(98\)10036-3](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(98)10036-3).

53. Batiha G.E.; Alkazmi L.M.; Wasef L.G.; Beshbishy T A.M., Nadwa E.H.; Rashwan E.K. *Syzygium aromaticum* L. (Myrtaceae) (2020). *Traditional Uses, Bioactive Chemical Constituents, Pharmacological and Toxicological Activities. Biomolecules*, 10, 202.

54. Becker A G, Parodi T V, Heldwein C G, Zeppenfeld C C, Heinzmann B M Baldisserotto B. (2012). Transportation of silver catfish, *Rhamdia quelen*, in water with eugenol and the essential oil of *Lippia alba* , *Fish Physiol Biochem*, 38, 789–796.

55. Bodur T., Afonso J. M., Montero D., Navarro A. (2018). Assessment of effective dose of new herbal anesthetics in two marine aquaculture species: *Dicentrarchus labrax* and *Argyrosomus regius*. *Aquaculture*, 482, 78-82. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.09.029>.

56. Boijink C. L., Maciel P. O., Tavares-Dias M., Iwashita M. K. P., Morais M. S., Hide D. M. V., Fujimoto R. Y. (2016). Anesthesia by sprinkling method in the gills of tambaqui *Colossoma macropomum* does not influence intensity and morphology of monogeneans. *Brazilian Journal of Biology*, 77, 367-371. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.15915>.

57. Bosworth B.G., Small B.C., Gregory D., Kim J., Black S., Jerrett A. (2007) Effects of rested-harvest using the anesthetic AQUI-S™ on channel catfish, *Ictalurus punctatus*, physiology and fillet quality. *Aquaculture*. 262. P. 302–318. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.10.035>.
58. Braithwaite V. A., Boulcott P. (2007). Pain perception, aversion and fear in fish. *Diseases of aquatic organisms*, 75(2), 131-138. <https://doi.org/10.3354/dao075131>.
59. Brijs J., Sundell E., Hjelmstedt P., Berg C., Senčić I., Sandblom E., Gräns A. (2021). Humane slaughter of African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*): Effects of various stunning methods on brain function. *Aquaculture*, 531, 735887. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735887>.
60. Briozzo, J., Nunez, L., Chirife, J., Herszage, L., D'Aquino, M., (1989). Antimicrobial activity of clove oil dispersed in a concentrated sugar solution. *J. Appl. Bacteriol.* 66, 69–75.
61. Brown L A (2011) Anaesthesia for fish. *Viet Fish*, 8 68-70.
62. Brown T. B., Lovato L. M., Parker D. (2005). Procedural sedation in the acute care setting. *American family physician*, 71(1), 85-90.
63. Bruce FYE, W. (2001). John Collins Warren. *Clinical Cardiology*, 24(1), 93–94.
64. Burka J. F, Hammel K. L, Horsberg T. E, Johnson G. R, Rainnie D. J, Spears D. J (1997). Drugs in salmonid aquaculture: a review. *J Vet Pharm Therap* 20:333–349. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2885.1997.00094.x>.
65. Campoy L., Read M. R. (Eds.). (2013). Small animal regional anesthesia and analgesia. John Wiley & Sons.
66. Carey F. G., & Teal J. M. (1969). Regulation of body temperature by the bluefin tuna. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 28(1), 205-213. [https://doi.org/10.1016/0010-406X\(69\)91336-X](https://doi.org/10.1016/0010-406X(69)91336-X).
67. Carter K.M, Woodley C.M, Brown R.S (2011) A review of tricaine methanesulfonate for anaesthesia of fish. *Rev Fish Fish* 21:51–59. <https://doi.org/10.1007/s11160-010-9188-0>.

68. Catalog number: ARG81162. Human Cortisol ELISA Kit. Competitive Enzyme Immunoassay for the quantification of human Cortisol in serum and plasma (EDTA).
69. Cho, G & Heath D. (2000). Comparison of tricaine methanesulphonate (MS222) and clove oil anaesthesia effects on the physiology of juvenile Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum), *Aquac. Res.*, 31 537–546. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2000.00478.x>.
70. Clutton, R. E. (2020). An Anglocentric History of Anaesthetics and Analgesics in the Refinement of Animal Experiments. *Animals*, 10 (10), 1933. <https://doi.org/10.3390/ani10101933>.
71. Coelho, M. E. G., Pedrazzani, A. S., Quintiliano, M. H., Bolfe, F., & Molento, C. F. M. (2022). Fish slaughter practices in Brazilian aquaculture and their consequences for animal welfare. *Animal Welfare*. № 31(2). P.187-192. <https://doi.org/10.7120/09627286.31.2.00>.
72. Conte, F. S. (2004). Stress and the welfare of cultured fish. *Applied Animal Behaviour Science*, 86(3-4), 205-223. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2004.02.003>.
73. Cooke S J, Suski C D, Ostrand KG, Tufts B T & Wahl DH (2004). Behavioral and physiological assessment of low concentrations of clove oil anaesthetic for handling and transporting largemouth bass (*Micropterus salmoides*), *Aquaculture*, 239 509-529. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.06.028>
74. Coyle, S. D., Durborow, R. M., Tidwell, J. H. (2004). *Anesthetics in aquaculture* (Vol. 3900). Texas: Southern Regional Aquaculture Center.
75. Daniel, A.N.; Sartoretto, S.M.; Schmidt, G.; Caparroz-Assef, S.M (2009) Bersani-Amado, C.A.; Cuman, R.K.N. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of eugenol essential oil in experimental animal models. *Rev. Bras. Farmacogn.* 19, 212–217. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000200006>
76. de l'Europe, C. (1986). *European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes/Convention européenne sur la protection des animaux vertébrés utilisés à des fins expérimentales*

ou à d'autres fins scientifiques:[Strasbourg, 18. III. 1986]. Conseil de l'Europe
Section des publications.

77. Deriggi G. F., Inoue L. A. K. A. & Moraes G. (2006). Stress responses to handling in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus): assessment of eugenol as an alternative anesthetic, *Acta Sci. Biol. Sci.* Maringá, 28, 269-274.

78. Detar, J. E., & Mattingly, H. T. (2004). Response of southern redbelly dace to clove oil and MS-222: Effects of anesthetic concentration and water temperature. *Proc Ann Con Southeastern Assoc Fish Wildl Agen*, 58, 219-227.

79. Devi, K.P.; Nisha, S.A.; Sakthivel, R.; Pandian, S.K. (2010). Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane. *J. Ethnopharmacol*, 130, 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.04.025>

80. Directive, E. (2010). 63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Off. J. Eur. Union*, 276, 33-79.

81. Dorrington, K. L., Poole, W. (2013). The first intravenous anaesthetic: How well was it managed and its potential realized? *British Journal of Anaesthesia* 110 (1): 7–12. <https://doi.org/10.1093/bja/aes388>

82. European Commission EU Commission regulation No 363/ 2011 of 13 April 2011. Amending the Annex to Regulation (EU) No 37/2010 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin, as regards the substance isoeugenol.

83. Fan, X., Zhao, M. M., Guan, W. L., Liu, T. T., & Chen, D. W. (2022). Carbon dioxide anesthesia: A potential application to improve the air exposure duration of tilapia. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 21(1), 82-92. <https://doi.org/10.22092/ijfs.2022.125847>

84. FAWC (2014a). https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/319323/Opinion_on_the_welfare_of_farmed_fish.pdf (дата звернення 10.11.2023).

85. FAWC (2014b). <https://www.gov.uk/government/uploads/system/>

uploads/attachment_data/file/319331/Opinion_on_the_welfare_of_farmed_fish_at_the_time_of_killing.pdf (дата звернення 10.11.2023)

86. FDA (U.S. Food and Drug Administration) (2007). Guidance for industry concerns related to the use of clove oil as anesthetic for fish. Food and Drug Administration Center for Veterinary Medicine. Rockville.

87. Ferreira J. T, Schoonbee H. G, Smit G. L (1984) The uptake of the anaesthetic benzocaine hydrochloride by the gills and skin of three freshwater fish species. *J Fish Biol* 25:35–41.

88. Ferreira, C. I. A. (2017). Production and Application of Biowaste-based Adsorbents for the Removal of Fish Anaesthetics in Recirculating Aquaculture Systems (Doctoral dissertation, Universidade de Aveiro (Portugal)).

89. Fischer I. U, Unruh G. E, Dengler H. J (1990). The metabolism of eugenol in man. *Xenobiotica* 20(2), 209–222.

90. Gilbert, P.W. and Wood, F.G. (1957). Method of anaesthetising sharks and rays safely and rapidly, *Science*, 126, 212. <https://doi.org/10.1126/science.126.3266.212>

91. Gill A.O.; Holley R.A (2006). Inhibition of membrane bound ATPases of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* by plant oil aromatics. *Int. J. Food Microbiol*, 111, 170–174. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.04.046>

92. Gomulka P, Wlasow T, Velisek J, Svobodova Z, Chmielinska E (2008) Effects of eugenol and MS-222 anaesthesia on siberian sturgeon (*Acipenser baerii brandt*). *Acta Vet Brno* 77:447–453. <https://doi.org/10.2754/avb200877030447>

93. Góra J., Lis A., Najcenniejsze olejki eteryczne, Wydawnictwo Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, Toruń 2005

94. Green, C.J. (1979) Animal anaesthesia, Laboratory animal handbooks, No 8. Laboratory Animals Ltd., London, 300 p.

95. Griffiths, S. P. (2000). The use of clove oil as an anaesthetic and method for sampling intertidal rockpool fishes. *Journal of Fish Biology*, 57(6), 1453-1464. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2000.tb02224.x>

96. Grynevych, N., Khomiak, O., Sliusarenko, A., Trofymchuk, A., Zharchynska, V., Osadcha, Y., & Tkachenko, O. (2022). Adaptive response of koi carp (*Cyprinus carpio koi*) to low and high temperatures in experimental conditions. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Agricultural Sciences*, 24(97), 137-145. <https://doi.org/10.32718/nvlvet-a9724>
97. Hajek G, Kłyszejko B, Dziaman R (2006). The anaesthetic effect of clove oil on common carp, *Cyprinus carpio* L., *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 36, 93–97.
98. Hale, W. (1915). Variations in the toxicity of chloroform for anesthesia. *Archives of Internal Medicine*, 15(6), 945-954. <https://doi.org/doi:10.1001/archinte.1915.00070250002001>
99. Hamackova J., Kouril J., Kozak P. & Stupka Z. (2006). Clove oil as an anaesthetic for different freshwater fish species, *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 12, 185-194.
100. Hikasa Y, Takase K, Ogasawara T, Ogasawara S, Ogasawara T, Ogasawara S (1986) Anaesthesia and recovery with tricain methansulfonate, eugenol and thiopental sodium in carp, *Cyprinus carpio*. *Jpn J Sci* 48(2):341–351. <https://doi.org/10.1292/jvms1939.48.341>
101. Holloway AH, Keene JL, Noakes DG, Moccia RD (2004) Effects of clove oil and MS-222 on blood hormone profiles in rainbow trout *Oncorhynchus Mykiss*, Walbaum. *Aquacult Res* 35:1025–1030. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01108.x>
102. Hoskonen P, Pirhonen J (2004) Temperature effects on anaesthesia with clove oil in sex temperate-zone fishes. *J Fish Biol* 64:1136–1142. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2004.00359.x>
103. Humphry D. (1800). *Researches, Chemical and Philosophical; Chiefly Concerning Nitrous Oxide, or Dephlogisticated Nitrous Air, and Its Respiration*. London: J. Johnson
104. Hyldgaard, M.; Mygind, T.; Meyer, R.L. (2012). Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Front. Microbiol.* 3, 1–24. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00012>

105. Iversen M, Finstad B, McKinley RS & Eliassen R (2003). The efficacy of metomidate, clove oil, Aqui-STM and BenzoakR as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts, and their potential stress-reducing capacity, *Aquaculture*, 221 549-566. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00111-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00111-X)
106. Iwama, G. K., J. C. McGeer, and M. P. Pawluk (1989). The effects of five fish anaesthetics on acid-base balance, hematocrit, blood gases, cortisol, and adrenaline in rainbow trout. *Can. J. Zool.*, 67: 2065–2073. doi:10.1139/z89-294.
107. Javahery, S., Nekoubin, H., & Moradlu, A. H. (2012). *Effect of anaesthesia with clove oil in fish (review)*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(6), 1545–1552. doi:10.1007/s10695-012-9682-5
108. Jeney, Z. & Bekh, V. (2020). Technical Manual on Broodstock Management of Common Carp and Chinese Herbivorous Fish. Fisheries and Aquaculture Circular No.1188. Ankara. FAO
109. Jones R.S. (2002). A history of veterinary anaesthesia. *Anales de Veterinaria de Murcia*, 18, 7–16. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-8441-7_23
110. Keene, J. L., D. L. G. Noakes, R. D. Moccia, and C. G. Soto. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) (1998). *Aquacult. Res.*, 29: 89–101. <https://doi.org/doi:10.1111/j.1365-2109.1998.tb01113.x>.
111. Keys, A. B., & Wells, N. A. (1930). Amytal anesthesia in fishes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 40(1), 115-128.
112. Kildea MA, Allan GL, Kearney RE (2004) Accumulation and clearance of the anesthetics clove oil and AQUIS from the edible tissue of silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture* 232:265–277. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00483-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00483-6)
113. King, W., B. Hooper, S. Hillsgrrove, C. Benton, and D. L. Berlinsky (2005). The use of clove oil, metomidate, tricaine ethanesulphonate and 2-phenoxyethanol for inducing anaesthesia and their effect on the cortisol stress response in black sea bass (*Centropristis striata* L.). *Aquacult. Res.*, 36: 1442–1449. <https://doi.org/doi:10.1111/j.1365-109.2005.01365.x>.

114. Kovalenko B., Kovalenko V., Kononenko R., Klymkovetskyi A., Matvieiev M. (2022). Influence of the method of preparation of clove oil emulsion on the anaesthetic effect in fish (on the example of *Clarias gariepinus*. *Animal Science and Food Technology*. № 4. P. 30-38. [https://doi.org/10.31548/animal.13\(4\).2022.30-38](https://doi.org/10.31548/animal.13(4).2022.30-38)
115. Kreiberg, H. (2000). *Stress and Anesthesia. The Laboratory Fish*, 503–511. <https://doi.org/10.1016/b978-012529650-2/50038-x>
116. Krejszeff, S., Żarski, D., Palińska-Żarska, K., Trąbska, I., Kupren, K., Targońska, K., & Kucharczyk, D. (2013). Procedure for harmless estimation of fish larvae weight. *Italian Journal of Animal Science*, 12(2), e44. <https://doi.org/10.4081/ijas.2013.e44>
117. Kristiansen, T. S., Fernö, A., Pavlidis, M. A., & Van de Vis, H. (Eds.). (2020). *The welfare of fish* (Vol. 20). Cham, Switzerland: Springer International Publishing.
118. Ladwig, B. (2023). Do Animals Have Rights. *Animals*, 13, 1220. <https://doi.org/10.3390/ani13071220>
119. Libanori, M. C. M., de Paula Casado, R., Sola, M. C., & Marcusso, P. F. (2020). Contradictions and challenges of fish slaughter in Brazil. *Vet. Not.*, 154-166. <https://doi.org/10.14393/VTN-v26n2-2020-46732>
120. Mak, K.K.; Kamal, M.B.; Ayuba, S.B.; Sakirolla, R.; Kang, Y.B.; Mohandas, K.; Balijepalli, M.K.; Ahmad, S.H.; Pichika, M.R. (2019). A comprehensive review on eugenol's antimicrobial properties and industry applications: A transformation from ethnomedicine to industry. *Phcog. Rev.*, 13, 1–9. https://doi.org/10.4103/phrev.phrev_46_18
121. Marchese, A.; Barbieri, R.; Coppo, E.; Orhan, I.E.; Daglia, M.; Nabavi, S.F.; Izadi, M.; Abdollahi, M.; Nabavi, S.M.; Ajami, M. (2017) Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint. *Crit. Rev. Microbiol.*, 43, 668–689. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2017.1295225>
122. Maricchiolo, G., & Genovese, L. (2011). Some contributions to knowledge of stress response in innovative species with particular focus on the use of

the anaesthetics. *The Open Marine Biology Journal*, 5(1).
<https://doi.org/10.2174/1874450801105010024>.

123. Marking, L. L., & Meyer, F. P. (1985). Are Better Anesthetics Needed in Fisheries? *Fisheries*, 10(6), 2–5. [https://doi.org/10.1577/1548-8446\(1985\)010<0002:abanif>2.0.co;2](https://doi.org/10.1577/1548-8446(1985)010<0002:abanif>2.0.co;2)

124. Matthews, M., & Varga, Z. M. (2012). Anesthesia and euthanasia in zebrafish. *ILAR journal*, 53(2), 192-204. <https://doi.org/10.1093/ilar.53.2.192>

125. McFarland, W. N. (1959). A study of the effects of anaesthetics on the behaviour and physiology of fishes. *Public. Inst. Mar. Sci.*, 6: 22–55

126. Mohammadi Nejad, S.; Özgüneş, H.; Başaran, N. (2017). Pharmacological and Toxicological Properties of Eugenol. *Turk. J. Pharm. Sci*, 14, 201–206. <https://doi.org/10.4274/tjps.62207>

127. Mommsen TP, Vijayan MM, Moon TW (1999) Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Rev Fish Biol Fish* 9:211–268. <https://doi.org/10.1023/A:1008924418720>

128. Moroz, V. V., Vasilyev, V. Y., & Kuzovlev, A. N. (2006). Anesthesiology—Reanimatology: Historical Aspects. *General Reanimatology*, 2(2), 59-67.

129. Muench, B. (1958). Quinaldine, a new anesthetic for fish. *The Progressive Fish-Culturist*, 20(1), 42-44. <https://doi.org/10.2307/2913>

130. Murai, T., Andrews, J.W. and Muller, J.W. (1979). Fingerling American shad: effect of valium, MS-222, and sodium chloride on handling mortality, *Prog. Fish Culturist.*, 41, 27–29. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1979\)41\[27:FAS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1979)41[27:FAS]2.0.CO;2)

131. Mylonas CC, Cardinaletti G, Sigelaki I & Polzonetti-Magni A (2005). Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anaesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperatures, *Aquaculture*, 246, 467-481. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.02.046>

132. Nadeem, M., Imran, M., Din, A., & Khan, A. (2023). Clove oil. In *Essential Oils* (pp. 325-344). Academic Press.
133. Neiffer, D. L., & Stamper, M. A. (2009). Fish sedation, anesthesia, analgesia, and euthanasia: considerations, methods, and types of drugs. *ILAR journal*, 50(4), 343-360. <https://doi.org/10.1093/ilar.50.4.343>
134. Nowak, K., Ogonowski, J., Jaworska, M., & Grzesik, K. (2012). Clove oil—Properties and applications. *Chemik*, 66(2), 145–152.
135. OIE - Aquatic Animal Health Code Twenty-second Edition, 2019
136. Park MO, Hur WJ, Im SY, Seol DW, Lee J & Park IS (2008). Anaesthetic efficacy and physiological responses to clove oil anaesthetized kelp grouper *Epinephelus bruneus*, *Aquaculture Research*, 39. 877–884. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.01941.x>
137. Park, I. S. (2019). The anesthetic effects of clove oil and MS-222 on Far Eastern catfish, *Silurus asotus*. *Development & Reproduction*, 23(2), 183. <https://doi.org/10.12717/DR.2019.23.2.183>
138. Pavithra, B. (2014). Eugenol—A Review. *J. Pharm. Sci. Res*, 6, 153–154
139. Pawar H B, Sanaye S V, Sreepada RA, Harish V, Suryavanshi U & Ansari T Z A. (2011). Comparative efficacy of four anaesthetic agents in the yellow seahorse, *Hippocampus kuda* (Bleeker, 1852), *Aquaculture*, 311. 155–161. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.12.007>
140. Poberezhny, V. I., Logvinov, A. S., & Dmytriiev, D. V. (2018). To the issues of history and formalization of the concept of anesthesia. *Perioperaciina Medicina*, 1(1), 4-9. <https://doi.org/10.31636/prmd.v1i1.1>
141. Poli, B. M., Parisi, G., Scappini, F., & Zampacavallo, G. (2005). Fish welfare and quality as affected by pre-slaughter and slaughter management. *Aquaculture International* 13(1). P. 29-49. <https://doi.org/10.1007/s10499-004-9035-1>
142. Posner, L. P., Harms, C. A., & Smith, S. A. (2019). Sedation, anesthesia, analgesia and euthanasia. In *Fish diseases and medicine* (pp. 283-304). CRC Press.

143. Priborsky, J., Velisek, J. (2018). A review of three commonly used fish anesthetics. *Reviews in fisheries science & aquaculture*, 26 (4), 417-442. <https://doi.org/10.1080/23308249.2018.1442812>
144. Purbosari, N., Warsiki, E., Syamsu, K., & Santoso, J. (2019). Natural versus synthetic anesthetic for transport of live fish: A review. *Aquaculture and Fisheries*, 4(4), 129–133. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2019.03.002>
145. Pytko-Polończyk, J.; Muszyńska, B. (2016). Surowce naturalne w stomatologii. *Med. Int. Rev.* 27, 68–75.
146. Raj, P. P. (2010). The 2009 John J. Bonica award lecture: the impact of managing pain in the practice of medicine through the ages. *Regional Anesthesia and Pain Medicine*, 35(4), 378-385. <https://doi.org/10.1097/aap.0b013e3181e8a373>
147. Rey, S., Little, D., & Ellis, M. (2019). Farmed fish welfare practices: salmon farming as a case study, 56
148. Robb, D. H. F., Kestin, S. C. (2002). Methods used to kill fish: field observations and literature reviewed. *Animal welfare*. 2002. № 11(3). P. 269-282. <https://doi.org/10.1017/S0962728600024854>
149. Robb, D. H. F., Wotton, S. B., McKinsty, J. L., Sørensen, N. K., Kestin, S. C., & Sørensen, N. K. Commercial slaughter methods used on Atlantic salmon: determination of the onset of brain failure by electroencephalography. *Veterinary Record*. 2000. № 147(11). P. 298-303. <https://doi.org/10.1136/vr.147.11.298>
150. Ron, T. B., & Bressler, K. (2004). Effect Of Anesthetics On Stress And The Innate Immune System Of Gilthead Seabream (*Sparus Surata*). *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 56. <https://doi.org/10.46989/001c.20367>
151. Rose J.D. (2002) The neurobehavioral nature of fishes and the question of awareness and pain. *Rev Fish Sci* 10:1–38. <https://doi.org/10.1080/20026491051668>
152. Ross, L. G. and Geddes, J. A. (1979). Sedation of warm-water fish species in aquaculture research, *Aquaculture*, 16, 183–186. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(79\)90150-9](https://doi.org/10.1016/0044-8486(79)90150-9)

153. Ross, L. G., Ross, B. R. (2008) Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. *Blackwell Science*, Oxford, United Kingdom
154. Roubach R., Carvalho G. L., Leão Fonseca F. A. & Luiz Val A. (2005). Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier), *Aquaculture Research.*, 36, 1056–1061. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01319.x>
155. Ruiz, P., Vidal, J. M., Sepúlveda, D., Torres, C., Villouta, G., Carrasco, C., Urrutia, H. (2019). Overview and future perspectives of nitrifying bacteria on biofilters for recirculating aquaculture systems. *Reviews in Aquaculture*. <https://doi.org/10.1111/raq.12392>
156. Sadoul, B., & Geffroy, B. (2019). Measuring cortisol, the major stress hormone in fishes. *Journal of Fish Biology*. <https://doi.org/10.1111/jfb.13904>
157. Sayd Mohammed M & Pal A K (2009). Anesthetic effect of eugenol and menthol on handling stress in *Macrobrachium rosenbergii*, *Aquaculture*, 298, 162–167. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.10.020>
158. Schoettger, R. A., & Steucke Jr, E. W. (1970). Quinaldine and MS-222 as spawning aids for northern pike, muskellunge, and walleyes. *The Progressive Fish-Culturist*, 32(4), 199-201.
159. Schreck, C. B., & Tort, L. (2016). The Concept of Stress in Fish. *Biology of Stress in Fish. Fish Physiology*, 1–34. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802728-8.00001-1>
160. Sehdev, H. S., McBride, J. R., & Fagerlund, U. H. M. (1963). 2-Phenoxyethanol as a general anaesthetic for sockeye salmon. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 20(6), 1435-1440. <https://doi.org/10.1139/f63-097>
161. Selye, H. (1950). Stress and the General Adaptation Syndrome. *BMJ*, 1(4667), 1383–1392. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.4667.1383>
162. Seol D W, Lee J, Im S Y & Park I S, Clove oil as an anaesthetic for common octopus (*Octopus minor*, Sasaki), *Aquaculture Research*, 38 (2007) 45-49. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2006.01622.x>

163. Sharp NJ, Diggles BK, Poortenaar CW, Willis TJ (2004) Efficacy of AQUI-s, formalin and praziquantel against the monogeneans, *Benedenia seriolae* and *Zeuxapta seriolae*, infecting yellow kingfish *Seriola lalandi lalandi* in New Zealand. *Aquaculture* 236:67–83. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.02.005>
164. Sladky, K. K., Swanson, C. R., Stoskopf, M. K., Loomis, M. R., & Lewbart, G. A. (2001). Comparative efficacy of tricaine methanesulfonate and clove oil for use as anesthetics in red pacu (*Piaractus brachypomus*). *American journal of veterinary research*, 62(3), 337–342. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2001.62.337>
165. Small B C (2003). Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulfonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *Ictalurus punctatus*, *Aquaculture*, 218 (2003) 177–185. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00302-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00302-2)
166. Sneddon L.U. (2020). Can Fish Experience Pain? The welfare of fish. P 229-249
167. Sneddon LU, Halsey LG, Bury NR (2017) Considering aspects of the 3Rs principles within experimental animal biology. *J Exp Biol* 220:3007–3016
168. Sneddon, L. U. (2015). Pain in aquatic animals. *The Journal of experimental biology*, 218(7), 967–976. <https://doi.org/10.1242/jeb.147058>
169. Soto CG, Burhanuddin S (1995) Clove oil as a fish anaesthetic for measuring length and weight of rabbitfish (*Siganus lineatus*). *Aquaculture* 136:149–152. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(95\)01051-3](https://doi.org/10.1016/0044-8486(95)01051-3)
170. Stehly G. R., Gingerich W.H. (1999) Evaluation of AQUI-Sk (efficacy and minimum toxic concentration) as a fish anaesthetic/sedative for public aquaculture in the United States. *Aquac Res* 30:365–372. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1999.00339.x>
171. Stevenson, D. E. (1963). The Evolution of Veterinary Anaesthesia. *British Veterinary Journal*, 119 (10), 477–483. [https://doi.org/10.1016/S0007-1935\(17\)42156-7](https://doi.org/10.1016/S0007-1935(17)42156-7)
172. Stone D, Tostin N (1999) Clove bud oil a big yawn for silver perch. *Fish NSW Mag Spring* 19, pp 30–34.

173. Summerfelt R. C, Smith L. S (1990) Methods for fish biology. In: Schreck CB, Moyle PB (eds) Anaesthesia, surgery and related techniques. *American Fisheries Society*, Bethesda, pp 213–272.
174. Tammannavar P.; Pushpalatha C.; Jain S.; Sowmya S.V. (2013). An unexpected positive hypersensitive reaction to eugenol. *Case Rep.* <https://doi.org/10.1136/bcr-2013-009464>
175. Tan N., Gao Y., Wang Y., Deng S., Yuan P., Jiang T., Zheng W. (2022). The Influence of Hypothermia Hibernation Combined with CO₂ Anesthesia on Life and Storage Quality of Large Yellow Croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Foods*, 11(4), 514. <https://doi.org/10.3390/foods11040514>
176. Ulanowska M., Olas B. (2021). Biological properties and prospects for the application of eugenol—a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3671. <https://doi.org/10.3390/ijms22073671>
177. Van De Vis, H., Kestin, S., Robb, D., Oehlenschläger, J., Lambooij, B., Münkner, W., Nesvadba, P. (2003). Is humane slaughter of fish possible for industry?. *Aquaculture research*, 34(3), 211-220. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2003.00804.x>
178. Vartak V & Singh R K (2006). Anesthetic effects of clove oil during handling and transportation of the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man), *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh*, 58. 46-54.
179. Velíšek J, Svobodova Z & Piackova V. (2005). Effects of clove oil anaesthesia on common carp (*Cyprinus carpio* L.), *Veterinarni Medicina-Czech*, 50, 269-275. <https://doi.org/10.17221/5623-VETMED>
180. Velíšek J, Svobodova Z (2004) Anaesthesia of common carp (*Cyprinus carpio* L.) with 2-phenoxyethanol: acute toxicity and effects on biochemical blood profile. *Acta Vet Brno* 73:247–252. <https://doi.org/10.2754/avb200473020247>
181. Velíšek J, Wlasow T, Gomulka P, Svobodová Z, Novotn L & Ziomek E, (2006). Effects of Clove Oil Anaesthesia on European Catfish (*Silurus glanis* L.), *Acta Vet. Brno*, 75, 99–106. <https://doi.org/10.2754/avb200675010099>

182. Verheijen, F. J., Flight, W. F. G. (1997). Decapitation and brining: experimental tests show that after these commercial methods for slaughtering eel *Anguilla anguilla* (L.), death is not instantaneous. *Aquaculture Research*, 28(5), 361–366. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1997.t01-1-00866.x>
183. Wagner G. N., Singer T. D., McKinley R. S. (2003). The ability of clove oil and MS-222 to minimize handling stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.). *Aquaculture Research*, 34:1139–1146. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2003.00916.x>
184. Walsh C. T., Pease B. C. (2002). The use of clove oil as an anaesthetic for the longfinned eel, *Anguilla reinhardtii* (Steindachner). *Aquaculture Research*, 3, 627–635. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2002.00701.x>
185. Waterstrat P. R. (1999). Induction and recovery from anaesthesia in channel catfish *Ictalurus punctatus* fingerlings exposed to clove oil. *J World Aquacult Soc* 30, 250–255. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1999.tb00872.x>
186. Wedemeyer G. A., Barton B. A., McLeay D. (1990) Stress and acclimation.
In: Schreck C. B., Moyle P. B. (eds) *Methods for fish biology*. American Fisheries Society, Bethesda 451–489.
187. Wedemeyer G., McLeay D. G. (1981). Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. In: *Stress and Fish. L. N.-Y.: Acad. Press*, 247-275.
188. Weyl O., Kaiser H., Hecht T. (1996) On the efficacy and mode of action of 2-phenoxyethanol as an anaesthetic for goldfish, *Carassius auratus* (L.), at different temperatures and concentrations. *Aquaculture Research*, 27, 757–764.
189. Weyrich L. S., Duchene S., Soubrier J., Arriola L., Llamas B., Breen J., Cooper A. (2017). Neanderthal behaviour, diet, and disease inferred from ancient DNA in dental calculus. *Nature*, 544(7650), 357–361 <https://doi.org/10.1038/nature21674>

190. Woody C.A, Nellson J, Ramstad K. (2002) Clove oil as an anaesthetic for adult sockeye salmon: field trials. *J Fish Biol*, 60, 340–347. <https://doi.org/10.1006/jfbi.2001.1842>
191. World Organisation for Animal Health. URL: <https://www.woah.org/en/home/> (дата звернення 05.10.2023)
192. Yostawonkul J., Kitiyodom S., Kaewmalun S., Suktham K., Nittayasut N., Khongkow M., Yata T. (2019). Bifunctional clove oil nanoparticles for anesthesia and anti-bacterial activity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 503, 589-595. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.058>
193. Zahl I. H., Samuelsen O., Kiessling A. (2012). Anaesthesia of farmed fish: Implications for welfare. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38, 201–218. <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9565-1>

ДОДАТКИ

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України:

8. Коваленко Б. Ю., Коваленко В. О., Кононенко Р. В., Шевченко П. Г., Макаренко А. А. Дослідження анестезуючого впливу препарату гвоздична олія на кларієвого сома (*Clarias gariepinus*). Водні біоресурси та аквакультура. 2022. № 1. С. 63-72. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та дослідження впливу різних концентрацій гвоздичної олії на кларієвого сома).*

9. Коваленко Б. Ю., Коваленко В. О. Забій риби з використанням гвоздичної олії. Таврійський науковий вісник. 2022. № 126. С. 270-275. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, проведено дослідження щодо впливу різних концентрацій гвоздичної олії на кларієвого сома та можливостей використання гвоздичної олії для забою риби).*

10. Kovalenko B., Kovalenko V., Kononenko R., Klymkovetskyi A., Matvieiev M. Influence of the method of preparation of clove oil emulsion on the anaesthetic effect in fish (on the example of *Clarias gariepinus*). Animal Science and Food Technology. 2023. № 4. P. 30-38. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та дослідження щодо впливу різних способів приготування робочого розчину гвоздичної олії на анестезуючий ефект для кларієвого сома).*

11. Коваленко Б. Ю., Коваленко В. О. Вплив способу приготування емульсії гвоздичної олії на ефект анестезії у коропа і тиляпії. Таврійський науковий вісник. 2023. № 129. С. 285-292. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та дослідження щодо впливу різних концентрацій гвоздичної олії на коропа та тиляпію, оцінено анестезуючий ефект від трьох способів приготування робочого розчину гвоздичної олії на цих риб).*

Тези доповідей:

12. Коваленко Б. Ю., Шарило Д. Ю., Коваленко В. О. Анестезія для риби та її значення для боротьби зі стресом. 75-та Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасні технології у тваринництві та рибництві: навколишнє середовище – виробництво продукції – екологічні проблеми», м. Київ, 25-26 березня 2021 р. С. 24-26. *(Здобувачем проведено аналіз літературних даних).*

13. Коваленко Б. Ю., Кисельова О. М., Рудаков Д. А. Транспортування риби в стані анестезії. Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту» Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування: освіта – наука – виробництво, м. Біла Церква, 20 жовтня 2022 р. С. 18-20. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, проведено дослідження щодо можливості використання гвоздичної олії для транспортування риби в стані анестезії).*

14. Kovalenko B., Kovalenko V. Humane slaughter of fish as an element of animal welfare. Animal science: «Sustainable livestock production and animal welfare». Kyiv - Stockholm, 17-18 January 2023. P. 57. *(Здобувачем проведено аналіз літературних даних та перевірено можливість використання гвоздичної олії для полегшення забою риби).*

Патенти на корисну модель:

8. Коваленко Б. Ю., Вдовенко Н. М., Коваленко В. О., Шарило Д. Ю. Спосіб використання препарату "гвоздична олія" для анестезії кларієвого сома. Патент України № 147549. МПК А01К61/10 Патентовласник Національний університет біоресурсів і природокористування України; u202007891; заявлено 09.12.2020; опубліковано 19.05.2021. *(Здобувачем виконані дослідження, здійснено обробку даних та підготовлено матеріали до патентування).*

9. Коваленко Б. Ю., Шарило Д. Ю., Вдовенко Н. М., Коваленко В. О., Поплавська О. С., Шумова В. М. Спосіб анестезії рослиноїдних риб білого амура та товстолобика за допомогою гвоздичної олії. Патент України № 149136. МПК А01К61/00 Патентовласник Національний університет

біоресурсів і природокористування України; u202102798; заявлено 27.05.2021; опубліковано 20.10.2021. *(Здобувачем взято участь у проведенні досліджень та підготовці матеріалів до патентування).*

10. Коваленко Б. Ю., Шарило Д. Ю., Вдовенко Н. М., Коваленко В. О., Поплавська О. С., Шумова В. М. Спосіб анестезії стерляді за допомогою гвоздичної олії. Патент України № 149068. МПК А01К61/10 Патентовласник Національний університет біоресурсів і природокористування України; u202102799; заявлено 27.05.2021; опубліковано 13.10.2021. *(Здобувачем взято участь у проведенні досліджень та підготовці матеріалів до патентування).*

11. Коваленко Б. Ю., Вдовенко Н. М., Шарило Д. Ю., Боярчук С. В., Дмитришин Р. А., Климковецький А.А., Коваленко В. О. Спосіб забою риби. Патент України № 153007. МПК А22В3/00. Патентовласник Національний університет біоресурсів і природокористування України; u202203298; заявлено 08.09.2022; опубліковано 10.05.2023. *(Здобувачем взято участь у проведенні досліджень та підготовці матеріалів до патентування).*

12. Коваленко Б. Ю., Дмитришин Р. А., Вдовенко Н. М., Коваленко В. О., Шарило Д. Ю. Спосіб приготування робочого розчину для анестезії риб. Патент України № 154494. МПК А01К61/10. Патентовласник Національний університет біоресурсів і природокористування України. u202303166; заявлено 29.06.2023; опубліковано 15.11.2023. *(Здобувачем взято участь у проведенні досліджень та підготовці матеріалів до патентування)*

Методичні рекомендації:

13. Коваленко Б. Ю., Вдовенко Н. М., Плічко В. Ф., Коваленко В. О., Шарило Ю. Є., Тищенко А. В., Дмитришин Р. А., Коваль В. В., Павленко Н. Г. Методичні рекомендації з використання гвоздичної олії для анестезії риб через призму впливу формування пропозиції на агропродовольчу продукцію на ринку. Київ: НУБіП України. 2023. 30 с.









НАЦІОНАЛЬНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ
УКРАЇНИ



ДЕРЖАВНА УСТАНОВА
«МЕТОДИЧНО-
ТЕХНОЛОГІЧНИЙ
ЦЕНТР З АКВАКУЛЬТУРИ»



*Присвячується 125-річчю Національного університету
біоресурсів і природокористування України та
10-річчю створення Державної установи
«Методично-технологічний центр з аквакультури»*

Методичні рекомендації

з використання гвоздичної олії

**для анестезії риб через призму впливу формування
пропозиції на агропродовольчу продукцію на ринку**