

# **ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРЛЕЙКИНА-2 (РОНКОЛЕЙКИНА®) ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ВЫЖИВАЕМОСТИ ИКРЫ, УЛУЧШЕНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ МОЛОДИ И ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ**

**Нечаева Т. А., Островский М.В.**

*Федеральное государственное унитарное предприятие Федеральный селекционно-генетический центр рыбоводства, п. Ропша, Стрельнинское шоссе, 4, 188514, Ломоносовский район Ленинградской области, тел (факс) 8-813-76-72-260, e-mail: [ropshatrout@mail.ru](mailto:ropshatrout@mail.ru)*

*ООО «Биотех», г. Санкт-Петербург, Большой пр. П. С., 29-а, 197198, тел 8-812-346-60-16*

Современная аквакультура предполагает высокий уровень интенсификации производства, что, в свою очередь, способствует возникновению различных заболеваний у рыб разных возрастов. Экономические потери рыбоводных предприятий могут быть связаны непосредственно с гибелью икры, рыбопосадочного материала, производителей, а также с ухудшением качества получаемой рыбоводной продукции вследствие снижения темпа поста и упитанности рыб. Использование антибиотиков при вспышках бактериальных болезней не всегда оправдано, так как способствует появлению штаммов микроорганизмов, устойчивых к их воздействию.

Следовательно, возникает необходимость поиска новых методов борьбы с заболеваниями и путей улучшения физиологического состояния рыб в условиях индустриального рыбоводства. Одним из таких методов является иммунокоррекция, для реализации которой необходимы препараты, имеющие иммунокорректирующую способность. Таким препаратом является рекомбинантный интерлейкин-2 (далее - Ронколейкин®).

Ронколейкин® представляет собой полный структурный и функциональный аналог эндогенного ИЛ-2, обладающий тем же спектром функциональной активности. Он способен восполнять дефицит ИЛ-2 и воспроизводит его эффекты как одного из ключевых компонентов цитокиновой сети. Основная функция ИЛ-2 состоит в обеспечении клеточной составляющей адаптивного иммунитета.

Целью нашей работы являлось изучение эффективности применения Ронколейкина® для повышения выживаемости икры, улучшения физиологического состояния молоди и производителей радужной форели, а также разработка схем применения Ронколейкина® при разведении и выращивании форели. Исследования проводили на базе ФГУП Федеральный селекционно-генетический центр с марта по июнь 2008 года.

## **1. Икра радужной форели**

Для проведения опыта была взята икра кросса Рофор (Ропшинская радужная форель) х Росталь (Ропшинский стальноголовый лосось). Инкубируемая икра была помещена в рамки инкубационных аппаратов лоткового типа производства «Альфа-Лаваль» (Швеция) в количестве 1 кг икры на каждую рамку. Инкубация икры происходила при температуре воды 5 – 6,5 °С и длилась с 7.03.08 по 6.05.08.

Обработка икры радужной форели Ронколейкином® была проведена на 20-й день инкубации в дозировке 250 тыс. ед./100 л воды с экспозицией 15 минут. Предварительно был произведен отбор неоплодотворенной икры и определен процент оплодотворения, – 83 % в контроле, 86 – 93 % в опыте. В течение всего процесса инкубации производили отбор неоплодотворенной икры и икры, пораженной сапролегниозом (возбудители заболевания – водные грибы группы сапролегниевых).

Активное вылупление личинок происходило в период с 28.04 по 6.05.08. Был произведен отбор погибшей икры и личинок, в том числе пораженных сапролегнией.

В опыте нами была отмечена гибель 5.8 % икры и молоди вследствие поражения грибковой инфекцией, а в контроле – 10.8 %. Развитию сапролегниоза способствует наличие значительного количества мертвой и травмированной икры. Можно предположить, что проведение обработки с иммунокорректором способствует повышению устойчивости грибковой инфекции и повышению выживаемости эмбрионов.

## **2. Молодь радужной форели.**

Экспериментальные работы были проведены в период с 15.04.2008 по 18.06.2008. Нами осуществлялось введение Ронколейкина® в корм молоди форели для улучшения ее физиологического состояния и профилактики бактериального холодноводного заболевания.

Холодноводное бактериальное заболевание (возбудитель *Flavobacterium psychrophilum*) проявляется у молоди и сеголеток форели весной и вначале лета. Осенью может наблюдаться вторая вспышка заболевания. Холодноводное бактериальное заболевание обнаружено в большинстве форелевых хозяйств Северо-Западного региона (Евсеева, 2002; Карасева, 2003; Кузнецова с соавт., 2005). Проявление болезни чаще всего связано с нарушениями технологии выращивания рыб – переуплотнением посадки, недостаточным водообменом и т.д. В то же время отмечено усиление патогенности штаммов *Fl. psychrophilum* и возрастание их резистентности к антибиотикам.

Клинические признаки и характер течения заболевания зависят от возраста рыб, температуры воды и условий выращивания. Наиболее опасным проявлением заболевания является «синдром ранней смертности» молоди форели (RTFS). У больной молоди развивается анемия жабр и внутренних органов, наблюдается потемнение окраски, реже – экзлфтальмия, асцит, поражение нервной системы. Заболевание поражает молодь массой от 0.3 до 0.5 г. В последние годы бактериологические исследования, проведенные Ленинградской области, позволили выявить до шести высоковирулентных культур возбудителя из почек, жабр и кишечника больных рыб. Культуры значительно различались по чувствительности к антибиотикам (Рыжков, Нечаева, Евсеева, 2007).

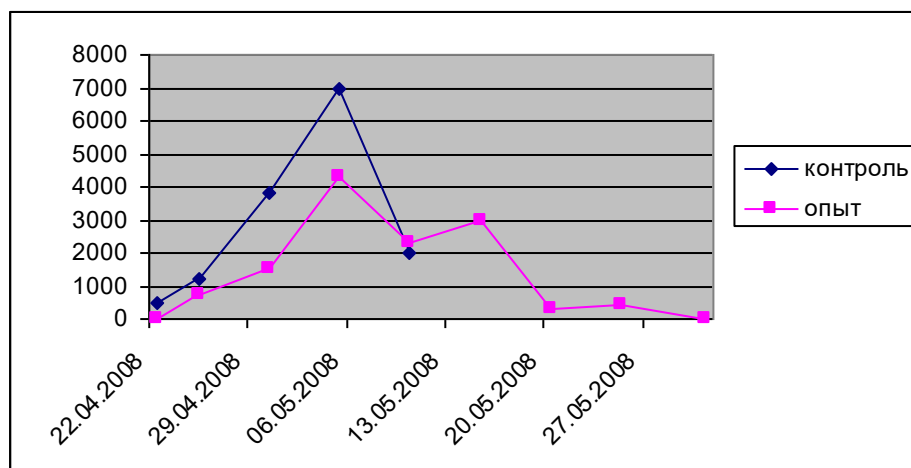
Ронколейкин® вводили в корм методом орошения в дозировке 4 тыс. ед. на 1 кг иктомассы трехкратно. Введение препарата в корм проводили в течение трех дней подряд в одно кормление. Промежуток времени между курсами лечебно-профилактического введения препарата составлял 10 – 14 дней. Молодь форели содержали сначала в пластиковых лотках, а затем в бассейнах объемом 0.4 – 0.5 м<sup>3</sup>. Антибиотики как для подопытных, так и для контрольных рыб не применяли.

Для постановки опыта были отобраны четыре группы рыб. Каждая группа в свою очередь включала в себя опытную и контрольную группу.

Подопытным рыбам первой группы Ронколейкин® первый раз ввели в корм уже при появлении у них первых признаков бактериального холодноводного заболевания – анемии жабр и внутренних органов и повышении гибели. Выживаемость рыб в опыте составила около 15 %, в контроле - менее 5 %.

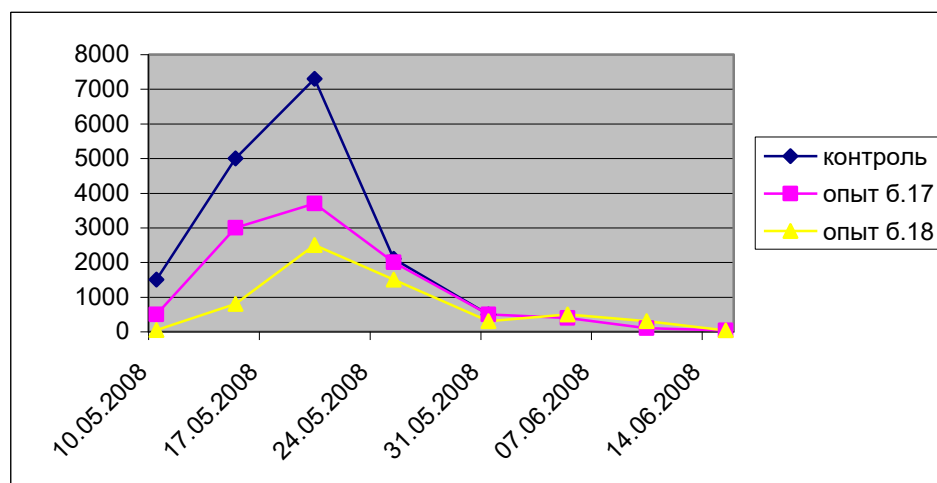
Во второй группе введение Ронколейкина® в корм подопытным рыбам было начато 25.04.2008 по достижении ими массы тела 0.286 г. Гибель рыб в контроле началась 22.04.2008 по достижении ими массы тела 0.320 г. Клинические признаки – общая анемия и наличие экссудата в ЖКТ. В то же время масса тела рыб в опыте составляла 0.4 г, признаки заболевания не наблюдались. Значительная гибель рыб в опыте отмечена 29.04.2008 по достижении массы тела 0.450 г. В дальнейшем отход продолжался в обоих бассейнах, в контрольном – с большей интенсивностью. К 08.05.2008 более 80 % рыб в контроле погибли. На данный момент масса тела рыбы в контроле составляла 0.430 г., а в опыте 0.510 г. Снижение гибели рыб отмечено 18.05.2008 – 20.05.2008 по достижении ими массы 1.2 г. Отход прекратился 23.05.2008 (масса тела молоди – 1.5 г), но гибель отдельных рыб с признаками заболевания наблюдали в течение июня 2008 г. К концу этого месяца выживаемость молоди форели была на 30 % выше, чем в контроле.

**График №1**



В третьей группе в свою очередь были выделены две подопытные группы и одна контрольная. Рыбы в подопытных группах 1 и 2 получили препарат сразу после перехода на активное питание. Введение препарата было начато с 22.04.08. В группе 2 кроме того была проведена обработка молоди Ронколейкином® в дозировке 250 тыс. ед./100 л воды с экспозицией 15 мин. при подъеме на плав (16.04.06).

**График №2**



Гибель рыб в контрольной группе началась 27.04.2008 по достижении ее массы 0.286 г. К 13.05.2008 погибало до 1500 рыб в сутки. Клинические признаки – общая анемия и наличие экссудата в ЖКТ. К июню практически вся рыба в контроле погибла. Гибель подопытных рыб в группе 1 зафиксирована 9.05.2008 при массе тела 0.4 г. Гибель рыб подопытных рыб в группе 2 началась 15.05.08 при массе тела 0.450 г. Снижение гибели подопытных рыб началось 31.05.2008 – 5.06.2008. Отход прекратился к 15.06.2008. Выживаемость к концу июня в группе 1 составила 30 %, в группе № 2 – 35 %.

В четвертой группе подопытные рыбы получили препарат при подъеме на плав. Введение Ронколейкина® в корм началось 12.05.2008. Гибель рыб в контрольной группе началась 21.05.2008 при массе тела 0.270 г. Клинические признаки – общая анемия и наличие экссудата в ЖКТ. Отход в опыте наблюдали с 11.06.2008 при массе тела 0.4 г. Снижение гибели молоди началось в конце июня при массе тела 0.6 г. Гибель отдельных рыб с признаками заболевания наблюдали в течение июля 2008 г. К началу августа выживаемость рыб в контроле была около 10 %, в опыте – около 40 %.

Таким образом, можно отметить, что гибель рыб в опыте наблюдалась в среднем на неделю позже, чем в контроле и при массе тела 0.400 – 0.450 г. Выживаемость молоди форели была на 30 % выше, чем в контроле.

### 3. Производители радужной форели.

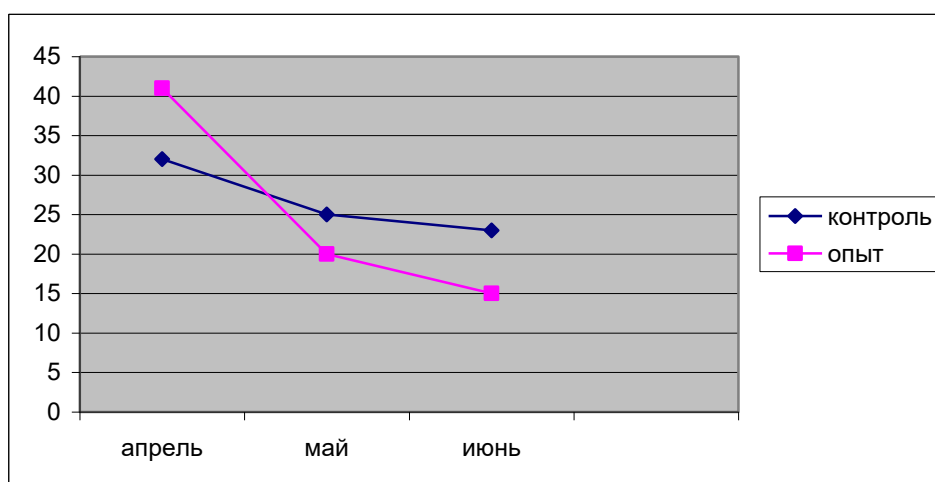
После нереста наблюдали повышенный отход производителей радужной форели. У значительного числа рыб отмечали некротические поражения на поверхности тела и сильное ослизнение кожных покровов и разволокнение плавников, что связано с ухудшением физиологического состояния рыб в посленерестовый период, а также с травматизацией рыб в ходе рыбоводных мероприятий. Экспериментальные работы были проведены в период с 18.05.2008 по 28.05.2008. Для постановки опыта были отобраны две группы производителей радужной форели в возрасте трех лет – контрольная и подопытная.

У подопытных и контрольных рыб после нереста в марте 2008 г выявлено повышенное ослизнение и некротические поражения на поверхности тела, разволокнение и некроз плавников, поражение сапролегнией. Такие признаки наблюдали визуально у 80 % рыб. При вскрытии отмечено увеличение селезенки, печень светло-коричневого цвета, иногда с желтым оттенком или глинистая. В апреле было зафиксировано значительное повышение гибели рыб.

Ронколейкин® вводили в корм методом орошения в дозировке 2 000 МЕ на кг иктиомассы трехкратно. Введение препарата в корм проводили в течение одного дня в одно кормление. Промежуток времени между курсами лечебно-профилактического введения препарата составлял 5 дней. Производителей форели содержали в бетонных бассейнах объемом 25 – 30 м<sup>3</sup>.

В результате к концу эксперимента наблюдали значительное снижение гибели (почти в три раза) и улучшение физиологического состояния у производителей в опыте. Некротические поражения на поверхности тела исчезли, отмечена регенерация кожных покровов и плавников. Полное икhtiопатологическое вскрытие показало удовлетворительное состояние внутренних органов. В контроле ослизнение поверхности тела, некротические поражения кожных покровов и плавников продолжали наблюдаться у значительного количества рыб, гибель снизилась, но незначительно. При проведении полного икhtiопатологического вскрытия отмечали наличие хронического воспалительного процесса в полости тела и дистрофические процессы в желудочно-кишечном тракте.

График №3



Таким образом, результаты наших экспериментов позволяют сделать следующие выводы по воздействию Ронколейкина<sup>®</sup> на выживаемость икры и иммуно-физиологическое и эпизоотическое состояние радужной форели разных возрастных групп:

1. Обработка икры форели Ронколейкином<sup>®</sup> в дозировке 250 тыс. ед./100 л воды с экспозицией 15 мин. способствует повышению иммунитета икры и личинок при поражении грибковой инфекцией;
2. Для молоди форели введение препарата должно быть проведено до появления первых признаков бактериальной инфекции;
3. Наиболее эффективно введение Ронколейкина<sup>®</sup> в корм при переходе молоди на активное питание;
4. Воздействие препарата усиливается при однократной обработке молоди при подъеме на плав Ронколейкином<sup>®</sup> в дозировке 250 тыс. ед./100 л воды с экспозицией 15 мин.;
5. При введении Ронколейкина<sup>®</sup> в корм терапевтический эффект имеет предложенная нами схема внесения препарата: методом орошения, в дозировке 4 тыс. ед. на 1 кг ихтиомассы тремя курсами, длительность каждого курса 3 дня, перерывы между курсами 10 – 14 дней, введение препарата в одно кормление
6. При ярко выраженной патогенности возбудителя возможно комплексное лечение с применением антибиотиков, подобранных в результате исследований штаммов микроорганизмов на чувствительность к этим препаратам
7. Введение Ронколейкина в корм способствует увеличению массы тела молоди форели в среднем на 80 мг.
8. При введении Ронколейкина<sup>®</sup> в корм производителям форели в посленерестовый период отмечены активизация регенерационных процессов и повышение устойчивости к вторичным инфекциям. Для проведения лечебно-профилактических мероприятий может быть предложена следующая схема внесения препарата: методом орошения, в дозировке 2 тыс. ед. на 1 кг ихтиомассы тремя курсами; длительность каждого курса 1 день, перерыв между курсами 5 дней, введение препарата в одно кормление.

В дальнейшем экспериментальные работы по применению Ронколейкина<sup>®</sup> для профилактики и лечения заболеваний рыб в условиях индустриального хозяйства должны быть продолжены. Возможна разработка новых комбинированных схем использования Ронколейкина<sup>®</sup> на различных этапах рыбоводного процесса.