КРИОКОНСЕРВАЦИЯ МОЛОК ЩУКИ И ПЛОТВЫ

В.Ю. Филипов, Л.П. Бучацкий О.В. Ногарев

Исследована возможность криоконсервации молок щуки и плотвы при помощи разработанного дегидратационно-ветрификационного метода. Определены условия криоконсервации биообъекта: подобрана среда, криоконсерванты и режимы замораживания — оттаивания. Максимальная сохранность деконсервированной спермы при начальной активности нативных спермиев щуки 65, плотвы 50% составила 35 и 20% соответственно.

CRYOPRESERVATION OF PIKE AND ROACH SPERM

V. Filipov, L. Buchatsky O. Nogarev,

The facility of pike (Esox lucius) and roach (*Rutilus rutilus*) sperm cryopreservation by previous developed method was shown. The condition of fish species cryopreservation such as medium, cryopreservatives and freezing — thawing rates were determined. If initial activity of native sperm was 65% and 50% for pike and roach respectively the maximum remain of thawing sperm reached up to 35% and 20% respectively.

УДК 597-12 [639.3.043.13: 636.087.8]

ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ РОНКОЛЕЙКІН НА ОРГАНІЗМ КОРОПА

Г.О. Сич[1], І.П. Гаврилова[2], К.О. Сахарова[3], М.В. Островський[3], М.І. Майстренко[1], Л.П. Бучацький[1]

[1]Інститут рибного господарства УААН
[2]ТОВ "Бальд", [3]ТОВ "Біотех"

Показано позитивний вплив введення до складу комбікорму препарату Ронколейкін (2500 МЕ/кг маси риби) на організм дволіток нивківського внутрішньопорідного типу українського лускатого коропа.

Особливості інтенсифікації розвитку рибного господарства в Україні на сучасному етапі зумовлюють і свої підходи до організації профілактики хвороб риб. Передусім це стосується розширення спектра медикаментозних ветеринарних засобів, що діють на збудники захворювань, та нових безпечних імуномодулюючих препаратів, без яких важко уявити ефективне функціонування рибогосподарської галузі. За своїм походженням імуностимулюючі та імуномоделюючі препарати охоплюють сполуки природного, синтетичного та генно-інженерного походження. Розроблені композиції, що містять рекомбінантні конструкції, котрі індукують у риб трансгенну експресію антипатогенних поліпептидів, цекропінів або їх біологічно активних варіантів [1].

Як показав аналіз літератури, імуномоделюючі та імуностимулюючі препарати застосовуються для підвищення вродженої резистентності риб в аквакультурі для попередження інфекційних та інвазійних захворювань, як у нашій країні, так і за кордоном. Коло їх досить обмежене, практично не має імуномодулюючих препаратів з одночасною противірусною дією.

Підвищують загальну опірність організму риб, корегують клітинний імунітет, підсилюють фагоцитоз та регуляторну функцію Т-лімфоцитів такі препарати, як Nukleoforce(R) (2), Левамізол [3], різноманітні ліпополісахариди (4), Кротонолактон (5), Зімозан (6). Співробітниками кафедри іхтіології МДУ було досліджено препарат Пісцин. Було відмічено позитивний ефект його дії на резистентність риб

до збудників захворювань, пов'язаних зі стресом, таких, як флавобактеріоз і сапролегніоз [7].

Отже, в світовій аквакультурі, особливо в останні 15–20 років, спостерігається тенденція до обмеження використання хімічних лікарських препаратів, особливо антибіотиків, заміни їх на екологічно більш безпечні біопрепарати, імуностимулятори та інші, які підвищують загальну резистентність організму риб [8].

Останнім часом з'явились повідомлення, що при лікуванні інфекційних захворювань у кішок, собак, великої рогатої худоби, свиней, коней та інших свійських тварин та птахів позитивний ефект досягається завдяки імунотерапії препаратом Ронколейкін, структурному та функціональному аналогу ендогенного Інтерлейкіну-2 (ІЛ-2). Синтезований ІЛ-2 діє на Т-лімфоцити, підсилює їх проліферацію та наступний синтез ІЛ-2, який зв'язується зі специфічними рецепторами на різних клітинних мішенях. Саме тому метою нашої роботи було дослідити дію препарату Ронколейкін на організм коропів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для досліджень використовували препарат Ронколейкін (2500 МЕ/кг маси риби), виробництва ТОВ "Біотех", Росія.

Вивчали його вплив на організм дволіток нивківського внутрішньопорідного типу українського лускатого коропа. Оптимальне дозування підібрали попередньо експериментальним шляхом. Препарат Ронколейкін згодовували коропам разом із комбікормом, який обприскували препаратом перед згодовуванням трьома курсами з перервою по 2 дні.

У крові загальноприйнятим методом визначали концентрацію гемоглобіну [9] та лейкоцитарну формулу [10]. Фагоцитарну активність нейтрофілів вивчали цитохімічним методом у тесті відновлення тетразолія нітросинього — НСТ-тесті [11].

Для вивчення антивірусної дії препарату Ронколейкін було використано експериментальну модель весняної віремії коропа [9]. Зараження дослідних риб здійснювали шляхом введення в черевну порожнину вірусу *Rhabdovirus carpio*. Результати біопроб враховували за виявленням характерних клінічних ознак захворювання [12] і загибелі коропів. Зараження проводили у дозі, що спричиняла стовідсоткову загибель дослідних риб. Перед початком кожної біопроби проводили відпрацювання дози вірусу на 10–15 рибах з тієї самої дослідної групи.

Профілактичну та лікувальну дію препарату вивчали в системі *in vivo* в таких варіантах досліду:

- коропи, яким вводили препарат Ронколейкін + вірус ВВК;
- коропи, яким вводили вірус ВВК + препарат Ронколейкін;
- коропи, яким вводили фізіологічний розчин + вірус ВВК.

До інфікування здійснювали профілактичну схему введення Ронколейкіну (2500 МЕ/кг маси риби); через 24 год після зараження вірусом ВВК — лікувальну схему (внутрішньочеревно 1000 МЕ/кг маси риби одноразово). За рибами спостерігали і відмічали клінічні ознаки інфекційного процесу

Оцінку противірусної активності препарату проводили шляхом порівняння показників стану і летальності риб у дослідних та контрольній групах. Результати досліджень були оброблені статистично [13].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За результатами проведених досліджень маса риб, які приймали препарат Ронколейкін, збільшилась на 17,25%, збільшення маси контрольних риб становило 10,19%. У табл. 1 наведено дані про те, якою була маса, вміст гемоглобіну у крові риб та показники фагоцитарної активності нейтрофілів протягом дослідного періоду.

Вміст гемоглобіну дослідних риб був вищим на 11,94%, ніж контрольних. Фагоцитарна активність нейтрофілів теж зросла під впливом препарату Ронколейкін і була по завершенні експерименту більш як у 5 разів вищою, ніж у риб, які отримували комбікорм без додавання препарату.

Результати підрахунку лейкоцитарної формули дослідних та контрольних риб подано у табл. 2. Ці дані свідчать, що кількісні співвідношення розподілу клітин білої крові перебували у межах

Таблиця 1. **Фізіологічні показники риб протягом дослідного періоду**

Група (n = 10)	Середня маса, г	Гемоглобін, г%	Фагоцитарна активність нейтрофілів, %
Перед початком досліду	25,5±1,8 p<0,0015	6,7±0,9 p<0,1	10,4±2,01 p<0,1
Ронколейкін	29,9±1,1 p<0,1	7,5±0,4 p<0,05	61,4±1,02 p<0,05
Контроль	28,1± 0,5 p<0,1	6,7±1,3 p<0,05	11,9±1,72 p<0,1

Таблиця 2. **Лейкоцитарна формула контрольних та дослідних риб, %, ($M \pm m$, $n=5$)**

Форма лейкоцитів	Перед початком досліду	Ронколейкін	Контроль
Нейтрофільні мієлоцити	2,6±0,3	2,3±0,4	3±0,7
Нейтрофільні мета-мієлоцити	3±0,3	2,3±0,4	2,8±0,3
Паличко-ядерні нейтрофіли	2,5±0,2	2,5±0,4	2,4±0,4
Сегменто-ядерні нейтрофіли	3,1±0,3	3±0,2	2,8±0,4
Еозинофіли та псевдо-еозинофіли	2,6±0,4	2,5±0,6	3±0,3
Моноцити	2,8±0,4	1,8±0,4	3,2±0,9
Базофіли та псевдобазофіли	3,1±0,3	2,3±0,5	4±0,5
Лімфоцити	80,3±0,4	83±0,7	78,8±2,6

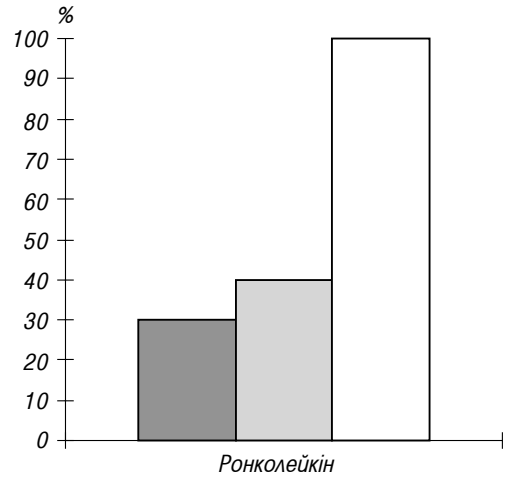
Примітка: p<0,1.

норми [10], хоча найвищий відсоток лімфоцитів спостерігався у лейкоцитарній формулі дослідних риб після завершення прийому препарату, а, як відомо, лімфоцити у крові риб виконують функцію адаптивного імунітету.

Попереднє згодовування препарату Ронколейкін (2500 МЕ/кг маси риби) знижувало відхід інфікованих риб до 40% (p<0,005). Введення препарату рибам за терапевтичною схемою (на наступну добу після інфікування) ще більше підвищувало їхню стійкість до інфекції (відхід 30%, p<0,005). Результати досліду, подані на рисунку, свідчать, що препарат Ронколейкін має лікувальний ефект при введенні його через 24 год після зараження ВВК.

Інфекційні хвороби риб — нагальна проблема багатьох рибних господарств Європи. Особливо тривожними є повідомлення про спалахи захворювань, зумовлених тими чи іншими збудниками у сусідніх з Україною державах. Необхідність посилення боротьби з інфекційними хворобами постійно зростає, що ставить завдання розширення арсеналу противірусних і протибактеріальних засобів та вивчення механізмів їхньої дії. Останнім часом спалахи багатьох вірусних хвороб набувають загрозливого характеру і виходять на одне з чільних місць з-поміж захворювань тварин, птахів, риб. Великою проблемою, наприклад для рибників залишається рабдовірусна інфекція ВВК. Наявні літературні дані за сезонною динамікою ВВК — однієї з найбільш досліджених і водночас поширених інфекційних хвороб риб — вказує на важливу роль рівня напруженості вродженого імунітету у виникненні та формі прояву інфекційного процесу.

У рибництві бракує ефективних і безпечних противірусних препаратів, а для успішної боротьби з інфекційними хворобами риб необхідні такі противірусні



Вплив препарату Ронколейкін на летальність коропів, експериментально інфікованих ВВК, %: ■ — терапевтична схема введення препарату; □ — профілактична схема введення препарату; ☐ — контрольні інфіковані риби

препарати, які б не зашкоджували життєдіяльності самої клітини і мали, крім того, імуномодулюючу дію. Попри те, що існуючі противірусні препарати мають низку позитивних властивостей, пошук ефективних хіміотерапевтичних засобів для лікування та профілактики вірусних інфекцій триває у зв'язку з тим, що віруси набувають стійкості до використовуваних на практиці препаратів. Це актуалізує подальші дослідження різноманітних речовин на наявність противірусної, а також імуномодулюючої дії.

Відомо, що *Rhabdovirus carpio* — це рабдовірус роду *Veiculovirus*. РНК — геномний вірус кулеподібної форми, розміром 105–125×85 нм [12]. Антивірусна програма лікування повинна бути спрямована на пригнічення реплікації вірусу та активацію противірусного імунітету. Основним критерієм ефективності лікування є зменшення важкості клінічних проявів хвороби.

Отже, за результатами проведених досліджень можна стверджувати, що препарат Ронколейкін — перспективний противірусний препарат з унікальним механізмом біологічної дії, який може з успіхом використовуватися у лікуванні ВВК та подальших наукових досліджень.

ВИСНОВКИ

Застосування препарату Ронколейкін (2500 МЕ/кг маси риби) за умов додавання у комбікорм триразово з інтервалом у 2 доби підвищує вміст гемоглобіну, фагоцитарну активність нейтрофілів у крові дволіток коропів, поліпшує картину крові, а також сприяє прискореному росту коропів.

Препарат Ронколейкін може бути рекомендований для підвищення імунного статусу корпа.

ЛІТЕРАТУРА

1. Compositions and methods for enhancing disease resistance in fish. Пат. 7183079 США, МПК[7] C12№ 5/10, C12№ 15/85. Auburn Univ., MUSK Foundation for Risearcch Development, Dunham Rex A., Liu Zhanjiang, Warr Gregory W. № 10/702395; Заявл. 05.11.2003; опубл. 27.02.2007; НПК 435/69.1.
2. *Borda E., Esterez A., Tort L.* Effect of the free nucleotides on theimmune response during first stage of fattening in gilthead bream (*Sparus aurata*) // International Conference "Lessons from the Past to Optimise the Future", Trondheim, 5–9 Aug., 2005, Eur. Aquacult. Soc. Spec. Publ. 2005, № 35. — С. 149–150.
3. *Кольман Р.В., Кольман Г.С., Дуда А.* Стимулирование выживаемости и темпа роста личинок и мальков сибирского осётра *Acipenser baerii Br.* при помощи иммуномодуляторов // Изв. КГТУ. — 2007, № 11. — С. 37–40. Рус.
4. *Magnadottir B., Gudmundsdottir S.* Immunostimulation of larvae and juveniles of cod, *Gadus morhua* // J. Fish Diseases. — 2006. — 29, № 3. — С. 147–155. Англ.
5. *Афанасьев В.И., Афанасьев Г.В., Катичева Л.Ю., Латашко В.М.* Получить больше рыбы помогает кротоналактон // Рыбоводство и рыболовство. — 1998. — № 3–4. — С. 39–40.
6. *Ездакова И.Ю., Борисова М.Н.* Влияние зимозана на клетки крови серебряного карася (*Carassius auratus gibelio*) // Ветеринарная патология. — 2007. — № 2. — С. 205–207.
7. *Головин П.П., Головина Н.А., Романова Н.Н.* Испытание писцина с целью коррекции стресса и повышения резистентности у рыб // Сборник научных трудов: Актуальные воросы пресноводной аквакультуры. — М.: Компания спутник+, 2006. — Вып. 81. — С. 119–128.
8. *Мирзоева Л.М.* Иммуномодулирующие пищевые добавки для аквакультуры // Рыбное хозяйство. Сер. Болезни гидробионтов в аквакультуре. Аналит. и реферат. информация. — М.: ВНИЭРХ, 2000. — Вып. 2. — С. 21–25.

9. *Мусселиус В.О., Ванятинский В.Ф., Лихмар А.А.* и др. Лабораторный практикум по болезням рыб. — М.: Лёгкая и пищевая пром-сть, 1983. — 296 с.
10. *Иванова Н.Т.* Атлас клеток крови рыб. — М.: Лёгкая и пищевая про-сть, 1982. — 184 с.
11. *Siwicki A.K., Anderson D.P.* Antychowicz — Nonspecific defence mechanisms assay in fish I Phagocytic ability of neutrophils NBT test and myeloperoxidase activity test // International workshop and training course in Poland. August 23 — September 3, 1993.
12. *Головина Н.А., Стрелков Ю.А., Воронин В.Н., Головин П.П., Евдокимова Е.Б., Юхименко Л.Н.* Ихтиопатология / Под ред. Н.А. Головиной, О.Н. Бауера. — М.: Мир, 2007. — 448 с.
13. *Плохинский Н.А.* Биометрия. — Новосибирск: Изд-во СОАН СССР, 1961. — 364 с.

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА РОНКОЛЕЙКИН НА ОРГАНИЗМ КАРПА

Г.О. Сыч, И.П. Гаврилова, К.О. Сахарова, М.В. Островский, Л.П. Бучацкий

Показано благоприятное воздействие введения в состав комбикорма препарата Ронколейкин (2500 МЕ/кг массы рыбы) на организм двухлеток нивковского внутрипородного типа украинского чешуйчатого карпа.

INFLUENCE OF THE RONKOLEYKIN ON ORGANISM OF CARP

G. Sych, I. Gavrilova, K. Saharova, M. Ostrovsky, L. Buchatsky

There have been presented the influence of introduction to the mixed fodder of the Ronkoleykin (2500 ME/kg the weight of fish) on an organism of two-years old of nyvkivsky intrapedigree type of the Ukrainian scaly carp.

УДК 597.0/5–14

ОСОБЛИВОСТІ ГІСТОЛОГІЧНОЇ БУДОВИ КРАЙОВОЇ ЗОНИ ПЕЧІНКИ РІЗНИХ ВИДІВ РИБ

М.С. Козій, І.М. Шерман

Херсонський державний аграрний університет

Наведені дані мікроскопічних досліджень крайової зони печінки різних видів риб. Показано, що у риб гістологічна будова органа має видову специфічність. Порушено питання подальшого дослідження гістологічної будови печінки культивованих видів риб.

Відомо, що печінка у птахів та ссавців — частковий орган. На сьогодні можна стверджувати, що гістологічна будова печінки гомойотермних тварин вивчена досить повно [5], але, на жаль, роботи, присвячені вивченню гістологічної будови залоз травного тракту риб, дуже нечисленні. Дослідженнями російських учених встановлено: гістологічна структура часточок у печінці виражена лише ходом судин і тому помітна нечітко — це певною мірою ускладнює виявлення гістоморфологічних особливостей окремих ділянок (зон) органа [4]. З огляду на факт істотного зниження обсягів мікроскопічних досліджень, певний інтерес становлять гістоморфологічні дослідження, які були проведені у гістологічній лабораторії Херсонського ДАУ [1].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В основу роботи лягли результати експериментальних досліджень, проведених протягом 2007–2009 рр. на базі кафедри рибництва ХДАУ. Як експериментальний матеріал для постановки досліджень слугували дворічки стерляді (*Acipenser ruthenus*), білуги (*Huso huso*), катрана (*Squalus acanthias*) і білого амура (*Ctenopharyngodon idella*). Риби були отримані у природних умовах, а також рибних господарствах Херсонщини. За