

Аквакультура

УДК 639.3.09

Модификация метода профилактической обработки икры нерки йодином от вируса инфекционного некроза гемопоэтической ткани на ЛРЗ Камчатки*С.Л. Рудакова¹, Е.В. Бочкова¹, Т.В. Волкова², Л.В. Сахаровская²*¹ Камчатский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («КамчатНИРО»), г. Петропавловск-Камчатский² Северо-Восточный филиал ФГБУ «Главрыбвод» (СВФ «Главрыбвод»), г. Петропавловск-Камчатский

E-mail: rudakova@kamniro.ru

В мировой практике, на лососёвых рыбоводных заводах применяют дезинфекцию икры йодоформом после оплодотворения, т. к. веществом — носителем йода является пирролидон, который обладает токсическими свойствами для эмбрионов и способен разрушать биологические мембраны. В России дезинфекцию икры также проводят после оплодотворения, но используют йодиол. В этом дезинфектанте активный йод в форме йодокрахмального комплекса, который безопасен для биологических мембран и может быть использован (концентрации активного йода 100 мг/л, рН в пределах 7) вместо воды при оплодотворении икры. На примере многолетних данных МЛРЗ показано, что смертность икры и молоди в процессе выращивания сокращается при дезинфекции икры йодином непосредственно во время оплодотворения. Экспериментальные исследования 2017 г. показали отсутствие существенных различий в смертности икры и молоди на МЛРЗ после оплодотворения икры в воде и в йодиоле при прочих аналогичных условиях выращивания. Дезинфектант может быть рекомендован для дезинфекции икры лососёвых непосредственно в процессе оплодотворения для профилактики вирусных и бактериальных заболеваний рыб. Йодиол является перспективным препаратом для борьбы с заболеваниями с вертикальной передачей возбудителя внутри икринки. Предложенная модификация метода профилактической обработки икры позволяет существенно сократить расход дезинфектанта и манипуляции с икрой.

Ключевые слова: вирус инфекционного некроза гемопоэтической ткани, IHNV, профилактика болезни, дезинфекция икры, лососёвый рыбоводный завод.

DOI: 10.36038/2307-3497-2020-182-128-138

ВВЕДЕНИЕ

Для предотвращения передачи патогенов, контаминирующих поверхность икринки, овариальную и семенную жидкости, в мировой практике с 1970-х гг. XX века на рыбоводных заводах начали применять де-

зинфекцию икры. Ванны в рабочем растворе с 50–100 мг/л активного йода стали стандартной процедурой, применяемой сразу после оплодотворения икры и на стадии глазка [Amend, 1974; Wood, 1979; Piper et al., 1986]. МЭБ (Всемирная организация здраво-

охранения животных) не рекомендует проводить дезинфекцию до и во время оплодотворения икры [Aquatic Animal ..., 2020].

В России для профилактики болезней на лососёвых рыбоводных заводах рекомендовано перед размещением в инкубационные аппараты обрабатывать икру несколькими препаратами, в том числе и йодинолом [Сборник инструкций ..., 1998]. Это универсальная процедура для профилактики многих болезней, которая не учитывает риски, связанные с работой на тех лососёвых рыбоводных заводах (ЛРЗ), где производителей берут из водоёмов — естественных очагов вируса инфекционного некроза гемопоэтической ткани (Infectious hematopoietic necrosis virus — IHNV).

IHNV является одним из трёх рабдовирусов рыб, перечисленных в Перечне особо опасных патогенов МЭБ. Одноименное заболевание широко распространено среди лососей во всем мире как на ЛРЗ, так и при морском выращивании [Bootland, Leong, 1999; Shchelkunov et al., 2001; Рудакова, 2004; Dixon et al., 2016].

В 1978–1979 гг. примерно 40 % нерки (*Oncorhynchus nerka* (Walbaum, 1792)), выращиваемой на заводах Аляски, погибало из-за IHNV. Было разработано и внедрено в 90-х гг. «Руководство по искусственному воспроизводству нерки на Аляске» [McDaniel, 1994] (далее — Руководство), в котором описаны три принципа борьбы с болезнью — это специальная дезинфекция, использование воды, свободной от вируса, и компартиментализация. После этого потери, связанные с IHNV, были значительно снижены, примерно до 4 % ежегодно [Roppel, 1982].

Учитывая неблагоприятную эпизоотическую обстановку по IHNV на Камчатке, возникла необходимость пересмотреть эффективность существующей в России инструкции по профилактике и контролю IHNV [Рудакова, 2003; 2004]. Для этого был использован опыт борьбы с заболеванием в США, в том числе в штате Аляска, где воспроизводством нерки занимаются более 100 лет [McDaniel, 1994; Bootland, Leong, 1999].

Для совершенствования профилактических мер борьбы с болезнями проведе-

но много исследований, направленных на определение оптимальной концентрации дезинфектанта и времени дезинфекции икры после её оплодотворения [Alderman, 1984; Evelyn et al., 1984; Schreier et al., 1996; Atemnkeng, 2006; Khodabadeh, Abtahi, 2006; Overton et al., 2010]. Некоторые авторы изучали влияние йодсодержащих препаратов на икру при дезинфекции непосредственно в процессе оплодотворения [Jensen et al., 2009]. Однако в доступной нам литературе нет статистически достоверных данных по выживанию эмбрионов и молоди при таком методе обработки.

Цель работы — продемонстрировать выживаемость эмбрионов и молоди нерки при профилактической обработке икры йодинолом непосредственно во время оплодотворения. Для выполнения цели поставили задачи:

1. Проанализировать массив производственных показателей работы Малкинского лососёвого рыбоводного завода (МЛРЗ) за период 1997–2017 гг. при разных методах дезинфекции.
2. Провести эксперимент по сравнению выживаемости нерки на МЛРЗ при дезинфекции икры в йодиноле во время и после оплодотворения при прочих аналогичных условиях воспроизводства.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Основные показатели работы МЛРЗ с 1997 по 2017 гг. получены из рыбоводных журналов (Северо-восточный филиал ФГБУ «Главрыбвод»).

Вирусологическое тестирование молоди и половозрелой нерки проводили общепринятыми методами на перевиваемых линиях клеток [Сборник инструкций ..., 1998] и с помощью полимеразной цепной реакции [Kurath et al., 2003].

Биотехнология воспроизводства нерки на МЛРЗ. Водоснабжение на заводе из подруслового водозабора р. Ключёвка, самотёчное. Температура воды при инкубации 6–9 °С, регулируется за счёт подогрева поступающей речной воды термальной (без смешивания).

Половозрелую нерку отлавливают сетями в р. Ключёвка и содержат в садках на рыбо-

водном стане, расположенном в нескольких километрах от МЛРЗ, там же проводят оплодотворение икры. Ежегодно в одну партию отбирают икру от 5–10 самок и оплодотворяют молоками от 10–20 самцов.

Инкубация икры проходит в японских аппаратах Аткинса. На выклев икру размещают на трубчатый субстрат в прямоугольные бассейны лоткового типа размером 10×1,6×0,75 м с нижней водоподачей. В них же происходит выдерживание свободных эмбрионов до поднятия на плав. После чего личинок рассаживают в закругленные бассейны исландского типа с центральным нижним сливом и верхней водоподачей (всего 22 бассейна).

Кормление молоди осуществляют с помощью автоматических кормораздатчиков. После завершения выращивания сеголеток выпускают в канал, в который сбрасывают воду из бассейнов. Канал выходит непосредственно в р. Ключёвка, в которой проводят отлов половозрелых рыб.

Методы дезинфекции икры, используемые на МЛРЗ. «Общепринятый метод» (далее — ОМ) — икру смешивают с молоками, добавляют воду и оставляют для оплодотворения на 2 мин. Затем икру промывают водой до полного удаления органики и помещают в контейнеры для набухания. *Дезинфекцию оплодотворенной икры в рабочем растворе йодиола в течение 10 минут проводят на заводе, непосредственно перед размещением в инкубаторы* [Сборник инструкций ..., 1998].

«Американский метод» (далее — АМ) — икру оплодотворяют в воде как описано выше. После этого икру трижды промывают рабочим раствором йодиола до полного удаления органики и помещают в контейнеры со свежим раствором йодиола для набухания. Через 60 минут йодиол сливают, икру промывают и оставляют в воде для дальнейшего набухания. Отличие от оригинальной американской методики из Руководства — использование йодиола вместо йодофора.

«Модифицированный метод» (далее — ММ) — икру смешивают с молоками, добавляют рабочий раствор йодиола вместо

обычной воды и оставляют для оплодотворения на 2 мин. После этого икру трижды промывают водой до полного удаления органики и помещают в контейнеры со свежим раствором йодиола для набухания. Через 60 минут йодиол сливают, икру промывают и оставляют в воде для дальнейшего набухания [Рудакова, 2009]. Отличие от оригинальной американской методики из Руководства — использование йодиола вместо йодофора и оплодотворение икры непосредственно в йодиоле.

Для дезинфекции икры применяли коммерческий йодиол с концентрацией активного йода 1 г/л (производитель ООО «БиоХимФарм», Россия). Для приготовления рабочего раствора препарат разводили в 10 частях воды (конечная концентрация 100 мг/л активного йода). При обработке икры йодиолом показатель pH поддерживали на уровне 6,5–7,5, добавляя при необходимости крепкий раствор пищевой соды.

Порядок проведения эксперимента. В 2017 г. на МЛРЗ одновременно отобрали готовых к размножению производителей нерки и разделили на две партии:

Партия № 1 «ММ», дезинфекцию икры в йодиоле проводили во время оплодотворения.

Партия № 2 «АМ», дезинфекцию икры в йодиоле проводили после оплодотворения.

После набухания первой и второй партий икры её перевозили на завод в изотермических контейнерах и помещали в отдельные инкубаторы, соблюдая все правила профилактики и контроля ИHNV [McDaniel, 1994]. Инкубацию икры и выращивание молоди разных партий проводили в одинаковых условиях, описанных выше для МЛРЗ. Всю остальную икру, отобранную для искусственного воспроизводства на МЛРЗ в 2017 г., дезинфицировали аналогично партии № 1. Всего на заводе в 2017 г. было заложено на инкубацию 714718 шт. икры нерки, в том числе и экспериментальных партий (партия № 1–173911 шт., партия № 2–173949 шт.).

Статистический анализ результатов был выполнен в программе Statistica 6.0. Т-кри-

терий Стьюдента, $p = 0,05$, был применён для проверки различий между исследованными группами, в которых рассматривалось влияние методов дезинфекции на выживание эмбрионов и молоди. Тест Фишера и Левена был использован для проверки однородности данных дисперсии, нормальность проверяли по таблицам частот (тест Колмагорова-Смирнова и Манна-Уитни). При распределении, отличном от нормального, использовали непараметрические тесты.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ производственных данных работы МЛРЗ. Собрали и систематизировали информацию по работе МЛРЗ с 1997 по 2017 гг., за исключением 2002 г., когда у молоди нерки произошла вспышка ИHN и смертность личинок и молоди от болезни составила 76% [Рудакова, 2004]. Весь массив данных разделили на три группы в зависимости от применяемого метода дезинфекции икры (табл. 1):

- 1 группа ОМ (1997–2003 гг.);
- 2 группа АМ (2004 г.);

3 группа ММ (2005–2017 гг.).

Используя критерии непараметрической статистики подтвердили гипотезу о существовании различий между группами 1 и 3 по средним значениям смертности эмбрионов и молоди на МЛРЗ при дезинфекции икры ОМ и ММ (тест Колмагорова-Смирнова $p > 0,1$, тест Манна-Уитни $p = 0,01$, тест Вальда-Вольфовица $p = 0,009$, определение нормальности — тест Колмагорова-Смирнова $p > 0,2$ для групп 1 и 3).

Эксперимент по сравнению выживаемости нерки при дезинфекции ММ и АМ. Объем заложенной на инкубацию икры, температурный режим инкубации и подращивания, а также смертность и итоговая навеска молоди перед выпуском при ММ и АМ представлены в табл. 2.

Стадию «глазка» в опытных партиях отмечали на 39 сутки после оплодотворения при средней температуре воды в инкубаторе 7,3 °С.

На 80-й день после оплодотворения икру первой и второй партий обработали рабочим раствором йодиола в течение 10 мин. и поместили на выклев в лотковые бассейны.

Таблица 1. Основные показатели работы МЛРЗ с 1997 по 2017 гг.

Показатели	1997–2003 гг. (группа 1, «ОМ»)	2004 г. (группа 2, «АМ»)	2005–2017 гг., (группа 3, «ММ»)
	$M_1 \pm SD_1$	Данные за год	$M_3 \pm SD_3$
Заложено икры на инкубацию, экз.	748170±115235	797000	632146±35707
Отход за период инкубации, %	9,6±4,3	9,2	6,9±1,6
Средняя температура воды при инкубации, °С	7,2±1,1	6,1	7,2±0,4
Плотность посадки при подращивании, тыс. экз/м ²	1,5±0,5	1,8	1,5±0,1
Средняя температура воды при подращивании, °С	7,3±1,1	8,4	7,5±0,5
Отход за период подращивания, %	4,0±2,4	1	1,4±0,6
Средняя масса молоди перед выпуском, г	4,2±1,1	4,8	5,3±0,3
Выпущено молоди, тыс. экз.	618333±82812	710000	577338±35621

Примечание: $M_1 \pm SD_1$ среднее значение и стандартное отклонение показателей работы МЛРЗ во время применения «базового российского метода» обработки икры йодиолом (1997–2003 гг.); $M_3 \pm SD_3$ среднее значение и стандартное отклонение показателей работы МЛРЗ за период применения модифицированной обработки икры йодиолом «модифицированный метод» (2005–2017 гг.)

Таблица 2. Условия инкубации икры и выращивания молоди нерки на МЛРЗ в 2017 г.

Показатели	Партия № 1 «ММ»	Партия № 2 «АМ»	Данные по всему заводу
Заложено икры на инкубацию, шт.	173911	173949	714718
Смертность икры за период инкубации, %	5,7	6	6,8
Средняя температура воды при инкубации, °С	7,3		
Средняя температура воды при подращивании, °С	7,7		
Плотность посадки при подращивании, тыс. шт/м ²	1,7		
Смертность молоди за период подращивания, %	1,5	1,6	1,6
Средняя масса молоди перед выпуском в естественный водоем, г	4,7		
Выпущено молоди, шт.	161538	160896	655459

Начало выклева в обеих партиях отмечали на 90-е сутки, а окончание на 100-е сутки после оплодотворения. Поднятие мальков на плав наблюдали в период с 44 по 51 день после выклева. Отход за время инкубации и выдерживания личинок существенно не отличался и составил в партии № 1–5,7, в партии № 2–6, а в целом по заводу составил 6,8%.

Мальки в опытных партиях и остальная молодь на МЛРЗ одинаково развивались, активно двигались, питались и реагировали на внешние раздражители в соответствии с возрастом. Все физиологические показатели рыб (кожный покров, серебрение, жабры, внутренние органы, наполненность желудка, упитанность) были в пределах нормы.

В конце мая 2018 г. мальков нерки выпустили в р. Ключёвка через пять месяцев после выклева со средним весом 4,7 г (при нормативе 4,0). Смертность мальков нерки за период подращивания при дезинфекции икры по ММ и АМ методам была практически одинаковой и составила 1,5 и 1,6%, соответственно. Гипотезу об отсутствии различий между средними значениями смертности эмбрионов и молоди в партиях 1 и 2 подтвердили с помощью Т-критерия Стьюдента (вероятностью $p=0,93$; критерий Левина показал равенство дисперсий $p=0,92$, определение нормальности — тест Колмагорова–Смирнова $p>0,1$, тест Манна-Уитни $p=0,56$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ многолетнего (1997–2017 гг.) опыта МЛРЗ показывает, что смертность эмбрионов и мальков значительно снизилась в группе 3 и составила 8,4%, по сравнению с группой 1–13,6% (табл. 1, рис. 1).

Температура воды во время инкубации и выращивания, а также плотности посадки молоди на МЛРЗ существенно не изменялись с 1997 по 2017 гг. (табл. 1). Таким образом, одной из причин снижения смертности

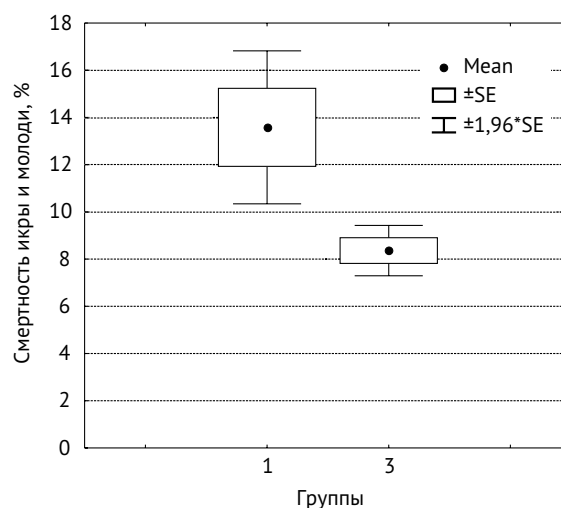


Рис. 1. Смертность икры и молоди на МЛРЗ при использовании двух методов обработки икры йодинолом: ОМ с 1997 по 2003 гг. (группа 1), ММ 2005–2017 гг. (группа 3) Mean — среднее значение; ±SE — стандартная ошибка; ±1,96*SE — доверительный интервал

может быть введение новых общих принципов профилактики и контроля ИHNV на ЛРЗ и дезинфекция икры йодиномом во время оплодотворения, в том числе [Рудакова, 2009].

Кроме того, среднее значение и стандартное отклонение массы молоди нерки, выпущенной из МЛРЗ, в 1997–2003 гг. составляло $4,2 \pm 1,1$, а в 2004–2017 было $5,3 \pm 0,3$. Однако, на увеличение массы молоди могли оказывать влияние и другие факторы, не учтённые в нашей работе, например, изменение рецептуры корма.

После внедрения принципов профилактики и контроля ИHNV, изложенных в Руководстве [McDaniel, 1994], на МЛРЗ не было эпизоотий ИHN. Для воспроизводства использовали производителей, выловленных в р. Ключёвка, где есть естественный очаг ИHNV. Среднее значение превалентности вируса в выборке производителей для МЛРЗ в 2001–2017 гг. составило 9% (табл. 3).

Таблица 3. Превалентность ИHNV у производителей и эпизоотии ИHN у молоди нерки на МЛРЗ в 2001–2018 гг.

Год отбора проб	МЛРЗ	
	Производители нерки, превалентность ИHNV, %	Молодь нерки, идентификация ИHNV
2001	26,7	–
2002	33,3	+
2003	43,3	–
2004	10	–
2005	6,9	–
2006	3,3	–
2007	0	–
2008	0	–
2009	0	–
2010	0	–
2011	0	–
2012	0	–
2013	6,7	–
2014	0	–
2015	30	–
2016	0	–
2017	0	–
2018	20	–

При применении АМ возникли технические сложности, связанные с особенностями технологического процесса на МЛРЗ. Оплодотворение икры проводят на рыбоводном стане, расположенном примерно в 10 км от завода. После набухания икры, в течение 2 часов, её перевозят на завод и помещают в инкубаторы. На стане нет доступной свободной от вируса воды: в речной воде плавают рыбы-вирусоносители и она не может быть использована для воспроизводства. Поэтому для выполнения процедуры, в соответствии с Руководством, с 2004 г. воду завозили с завода, что требовало дополнительных затрат времени, средств и сил, а также повышал расход йодиномла по сравнению с ОМ.

С целью повышения эффективности и минимизации затрат, в 2005 г. была введена модификация метода АМ. За счёт внедрения ММ удалось сократить расход дезинфектанта в процессе оплодотворения икры. Это обусловлено тем, что трёхкратную промывку икры после оплодотворения в рабочем растворе йодиномла проводили в воде, свободной от вируса, а не в дезинфицирующем растворе, как это предусмотрено АМ. Для оплодотворения каждой партии икры ММ требуется не больше 300 мл рабочего раствора йодиномла, а для промывки икры после оплодотворения в воде от остатков органики в трёх сменах йодиномла — 60 л (по 20 л в каждой ёмкости).

Статистический анализ значений общей смертности икры и молоди от момента закладки в инкубаторы до момента выпуска в естественный водоем, по результатам эксперимента, не выявил различий при применении АМ и ММ.

Прежде чем перейти к вопросу влияния йодиномла на смертность икры и молоди нерки на ЛРЗ при разных методах дезинфекции, остановимся на анализе литературных данных о химическом составе йодиномла и йодофора, а также на механизме их биоцидной активности.

Лекарственная форма йода — йодиномл (йодокрахмальный комплекс) была получена в 1962 г. советским учёным В.О. Мохнач [1974]. Коммерческий йодиномл представляет собой тёмно-синий водный раствор, состо-

ящий из активного йода (йодкрахмальный комплекс), йодида калия (стабилизирующего буфера) и поливинилового спирта. Крахмал является веществом — носителем молекул йода, после взаимодействия йода со слизистой эта связь разрушается, и вещество-носитель остаётся в водном растворе. Крахмал не обладает токсическим действием на биологические мембраны и поэтому йодинол не токсичен для икры. Поливиниловый спирт представляет собой высокомолекулярное соединение, присутствие которого замедляет высвобождение йода и продлевает его взаимодействие с живыми тканями (икрой), а также уменьшает раздражающее действие йода на ткани.

Йодинол с концентрацией молекулярного йода 1:1000 является не токсичным, не антигенным и не вызывает пирогенных реакций при введении животным и может применяться орально и парентерально. Исследования показали, что при нанесении на слизистые оболочки йодинол медленно расщепляет молекулярный йод и является сильным антисептическим и противовоспалительным веществом, а после разложения улучшает обмен веществ [Мохнач, 1968; 1974].

На предприятиях аквакультуры в США и других странах икру лососей дезинфицируют с помощью тёмно-коричневого раствора йодофора — комплекса йода с поливинилпирролидоном [McDaniel, 1994]. Йодистый комплекс повидона дополнительно стабилизируется йодидами или йодатами, содержащими 1% активного йода (то есть 10 г/л), и этиловым спиртом. Поливинилпирролидон обеспечивает постепенное выделение йода, удлинняя его взаимодействие с тканями организма и уменьшая его раздражающее действие [Zawada et al., 2014]. В йодофоре веществом — носителем йода является пирролидон, который обладает токсическими свойствами для эмбрионов и способен разрушать органические соединения, в частности, биологические мембраны. Именно поэтому в инструкциях по дезинфекции икры лососей йодофором всегда даётся предупреждение, что обеззараживание надо проводить после оплодотворения, не допускать

попадания раствора на неоплодотворенную икру [Manual of diagnostic tests ..., 2009; Aquatic animal ..., 2019].

Таким образом, основным отличием растворов, используемых для дезинфекции икры в России и мировой практике, являются степень токсичности и содержание активного йода в коммерческом продукте. Конечная же концентрация активного йода перед использованием его для дезинфекции икры в йодиноле и йодофоре одинаковая — 100 мг/л и рН ≈ 7.

Рассмотрим, что происходит с икринкой в процессе оплодотворения. При ММ рабочий раствор йодиола в процессе обводнения икры поступает вместе с семенной и овариальной жидкостью в перивителлиновое пространство. По литературным данным большое количество вируса содержится именно в жидкостях, которые омывают половые продукты рыб [Batts, 1987; Mulcahy, Pascho, 1984; 1985; Yoshimizu et al., 1989]. Являясь органическими веществами, семенная и овариальная жидкости будут связывать активный йод в процессе оплодотворения, снижая эффективность дезинфекции. Однако, по литературным данным, уровень йода в смеси икры и спермы при оплодотворении снижается до 52 мг/л через 10 минут (потеря 44%) после контакта, авторы связывают это с избытком спермы, так как йод поглощается органикой [Jensen et al., 2009].

По данным Батс с соавторами [Batts et al., 1991] 99,9% IHNV инактивируется после 7,5 секундного контакта с активным йодом в концентрации 0,1 мг/л. Таким образом, использование йодиола вместо воды при оплодотворении икры будет способствовать инактивации патогенов на поверхности сперматозоидов и попаданию йода в перивителлиновое пространство икринки, что увеличивает вероятность успешной дезинфекции. Все те патогены, которые остались на поверхности оплодотворённой икры будут уничтожены в процессе набухания икры в йодиноле в течение 60 минут. После оплодотворения икринки через поры впитывают некоторое количество воды, затем оболочка набухает и становится более прочной, защищая образовавшийся зародыш. Дезин-

фекция икры после отвердевания оболочки затрагивает только поверхность икринки, не проникая внутрь.

Согласно нашим экспериментальным данным и практике выращивания нерки на МЛРЗ в течение 14 лет дезинфекция йодинолом непосредственно во время оплодотворения не снижает выживаемости эмбрионов и мальков. Это подтверждает, что йодинол не токсичен для икры. Кроме того, открывается перспектива его применения для профилактики и борьбы с заболеваниями с доказанной вертикальной передачей патогена от родителей потомству внутри икринки.

ВЫВОДЫ

Статистический анализ сгруппированных данных показал, что после внедрения мер профилактики и контроля ИHN, описанных в Руководстве, и метода дезинфекции икры нерки непосредственно в йодиноле, смертность икры и молоди на МЛРЗ значительно уменьшилась, а средняя масса выпускаемой молоди значительно увеличилась.

Экспериментальные исследования 2017 г. не показали каких-либо существенных различий в смертности икры и молоди на МЛРЗ после оплодотворения икры в воде и в йодиноле при прочих одинаковых условиях воспроизводства.

Йодинол, в отличие от йодофора, не оказывает токсического действия на биологические мембраны и может использоваться при дезинфекции икры в процессе оплодотворения вместо воды для профилактики вирусных и бактериальных заболеваний рыб.

Проникновение йодиола в перивителлиновое пространство икры не приводит к увеличению смертности в процессе воспроизводства нерки, а может способствовать более тщательной дезинфекции.

Йодинол является перспективным препаратом для борьбы с заболеваниями с вертикальной передачей возбудителя внутри икринки.

За счёт внедрения модифицированного метода удалось сократить расход йодиола в процессе оплодотворения икры, а это существенная экономия средств с учётом большого объёма закладки икры на инкубацию.

ЛИТЕРАТУРА

- Мохнач В.О. 1968. Теоретические основы биологического действия галоидных соединений. Л: Изд-во «Наука». 279 с.
- Мохнач В.О. 1974. Йод и проблемы жизни. Л: Изд-во «Наука». 254 с.
- Рудакова С.Л. 2003. Некроз гемопоэтической ткани у производителей нерки и предполагаемые источники инфекции // Вопросы рыболовства. Т. 4. № 1(13). С. 93–102.
- Рудакова С.Л. 2004. Анализ развития эпизоотий, вызванной вирусом инфекционного некроза гемопоэтической ткани (IHNV) у мальков нерки *Oncorhynchus nerka* при искусственном выращивании (Камчатка) // Вопросы рыболовства. Т. 5. № 2 (18). С. 362–374.
- Рудакова С.Л. 2009. Профилактика и контроль инфекционного некроза гемопоэтической ткани (IHN) на лососевых рыболовных заводах // Ветеринарная практика. № 1(44). С. 30–37.
- Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб. 1998. Ч. 1. М.: Отдел маркетинга АМБагро. 310 с.
- Alderman D. 1984. The toxicity of iodophors to salmonid eggs // Aquaculture. 40. P. 7–16.
- Amend D.F. 1974. Comparative toxicity of two iodophors to rainbow trout eggs // Transaction of the American Fisheries Society. 103(1). P. 73–78.
- Aquatic Animal code. Accessible via: https://www.oie.int/index.php?id=171&L=0&htmfile=chapitre_disinfection_eggs.htm. 03.06.2020.
- Atemnkeng M.A., Plaizer-Vercammen J., Schuermans A. 2006. Comparison of free and bound iodine species as a function of three commercial povidone-iodine formulations and their microbiocidal activity // Int. J. Pharm. 317. P. 161–166.
- Batts W.N. 1987. Factors affecting the binding of IHN virus to salmonid sperm cells // Fish Health Section, American Fisheries Society Newsletter 15. P. 3.
- Batts W.N., Landolt M.L., Winton J.R. 1991. Inactivation of Infectious Hematopoietic Necrosis Virus by low levels of iodine // Applied and Environmental Microbiology. 57(5). P. 1379–1385.
- Bootland L.M., Leong J.C. 1999. Infectious hematopoietic necrosis virus // Woo PTK & Bruno DW (eds.). Fish diseases and disorders. Vol. 3: Viral, bacterial and fungal infectious. CAB International. P. 57–112.
- Dixon P., Paley R., Alegria-Moran R., Oidtmann B. 2016. Epidemiological characteristics of infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) // Vet Res. 47. P. 1–63.
- Evelyn T.P., Ketcherson J.E., Prosperi-Porta L. 1984. Further evidence for presence of *Renibacterium salmoninarum* in salmonid eggs and for the failure of povidone-iodine to reduce the intra-ovum infection rate in water-hardened eggs // Fish Dis. 7. P. 173–182.
- Jensen O.T., Sweeten T., Damon W., McLean W.E. 2009. Salmonid egg research at the Pacific Biological Station (2002 to 2004), with special interest in Atlantic

- salmon (*Salmo salar*) // Canadian technical report of fisheries and aquatic sciences 2838. Canada. P. 54.
- Khodabandeh S., Abtahi B. 2006. Effects of sodium chloride, formalin and iodine on the hatching success of common carp, *Cyprinus carpio*, eggs // Appl. Ichthyol. 22. P. 54–56
- Kurath G., Garver K.A., Troyer R.M., Emmenegger E.J., Einer-Jensen K., Anderson E.D. 2003 Phylogeography of infectious hematopoietic necrosis virus in North America // J Gen Virol 84. P. 803–814.
- Manual of diagnostic tests for aquatic animals. 2019. The World Organisation for Animal Health (OIE). Eighth ed. Paris: OIE. 483 p.
- McDaniel T.R., Pratt K.M., Meyers T.R., Ellison T.D., Follett J.E., Burke J.A. 1994. Alaska sockeye salmon culture manual // Special fisheries report number Alaska Department of Fish and Game. Div. Commer. Fish., Manag. Develop. Alaska. 40 p.
- Mulcahy D., Pascho R.J. 1984. Adsorption to fish sperm of vertically transmitted fish viruses // Science. 225. P. 333–335.
- Mulcahy D., Pascho R.J. 1985. Vertical transmission of infectious hematopoietic necrosis virus in sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) — isolation of virus from dead eggs and fry // Fish Diseases. 8. P. 393–396.
- Overton J.L., Bruun M.S., Dalsgaard I. 2010. Chemical surface disinfection of eggs of Baltic cod, *Gadus morhua* L. // Fish Diseases. 33. P. 707–716.
- Piper R.G., McElwain I.B., Orme L.E., McCraren J.P., Fowler L.G., Leonard J.R. 1986. Fish hatchery management, Washington D.C. US Fish and Wildlife Service. 45 p.
- Roppel P. 1982. Alaska's salmon hatcheries, 1891–1959. National Marine Fisheries Service. 36 p.
- Schreier T.M., Rach J.J., Howe G.E. 1996. Efficacy of formalin, hydrogen peroxide, and sodium chloride on fungal-infected rainbow trout eggs // Aquaculture. 140. P. 323–331.
- Shchelkunov I.S., Shchelkunova T.I., Kupinskaya O.A., Didenko L.V., Bykovsky A.F., Olesen N.J. 2001. Infectious hematopoietic necrosis (IHN): the first confirmed finding in Russia // Diseases of fish and shellfish. 10th Intern. Conf. EAAP. Book of abstracts. Dublin, p. 44.
- Wood J.W. 1979. Diseases of Pacific salmon, their prevention and treatment. St. Washington, Department of Fisheries, Hatchery Division. 39 p.
- Yoshimizu M., Sami M., Kimura T. 1989. Survivability of infectious hematopoietic necrosis virus in fertilized eggs of masu and chum salmon // Aquatic Animal Health. 1. P. 13–20.
- Zawada A., Polechonski R., Bronowska A. 2014. Iodine disinfection of sea trout, *Salmo trutta* (L.), eggs and the affect on egg surfaces // Arch. Pol. Fish. 22. P. 121–126.

Поступила в редакцию 19.06.2020 г.

Принята после рецензии 24.08.2020 г.

Aquaculture

Modification of the method of sockeye salmon egg treatment with iodinol from infectious hematopoietic necrosis virus in Kamchatka Hatchery

S.L. Rudakova¹, E.V. Bochkova¹, T.V. Volkova², L.V. Saharovskaja²

¹ Kamchatka Branch of FSBSI «VNIRO» («KamchatNIRO»), Petropavlovsk-Kamchatsky, Russia

² North-Eastern branch of FSBI «Glavrybvod» (NE «Glavrybvod» branch), Petropavlovsk-Kamchatsky, Russia

In world practice, at salmon hatcheries, eggs are disinfected with iodophor after fertilization, because the substance — the carrier of iodine is pyrrolidone, which has toxic properties for embryos and is capable of destroying biological membranes. In Russia, eggs are also disinfected after fertilization, but using iodinol. In this disinfectant, active iodine is in the form of an iodine-starch complex, which is safe for biological membranes, and can be used (concentration of active iodine 100 mg/l, pH within 7) instead of water during fertilization of eggs. On the example of long-term data of Malkinskii Hatchery (MH), it was shown that the mortality of egg and juveniles does not increase from the egg disinfection directly with iodinol during fertilization. The experimental studies of 2017 did not show any significant differences in the mortality of egg and juveniles at the MH after egg fertilization in water and in iodinol under other similar conditions of rearing. The disinfectant has no toxic effect on biological membranes and can be recommended for the disinfection of salmon egg directly in the process of fertilization for the prevention of fish viral and bacterial diseases. Iodinol is a promising drug for the fight against diseases with vertical transmission of the pathogen inside the egg. The proposed modification of the method of egg treatment can significantly reduce the consumption of the disinfectant and manipulations with eggs.

Keywords: Infectious hematopoietic necrosis virus, IHNV, disease prevention, egg disinfection, salmon hatchery.

DOI: 10.36038/2307-3497-2020-182-128-138

REFERENCES

- Mokhnach V.O. 1968. Teoreticheskie osnovy biologicheskogo dejstviya galoidnykh soedinenij [Theoretical foundations of the biological action of halide compounds]. L: Izd-vo «Nauka». 279 s.
- Mokhnach V.O. 1974. Jod i problemy zhizni [Iodine in life problems]. L: Izd-vo «Nauka». 254 s.
- Rudakova S.L. 2003. Nekroz gemopoehticheskoy tkani u proizvoditelej nerki i predpolagaemye istochniki infektsii [Infectious hematopoietic necrosis among adult sockeye salmon and suspected sources of infection] // Voprosy rybolovstva. T.4. № 1(13). S. 93–102.
- Rudakova S.L. 2004. Analiz razvitiya ehvizootij, vyzvannoj virusom infektsionnogo nekroza gemopoehticheskoy tkani (IHNV) u mal'kov nerki *Oncorhynchus nerka* pri iskusstvennom vyrashchivanii (Kamchatka) [Analysis of the development of epizootic caused by the infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) in young salmon *Oncorhynchus nerka* during hatchery rearing (Kamchatka)] // Voprosy rybolovstva. T. 5. № 2 (18). S. 362–374.
- Rudakova S.L. 2009. Profilaktika i kontrol' infektsionnogo nekroza gemopoehticheskoy tkani (IHN) na lososevykh rybovodnykh zavodakh [Prophylactic and control of infectious hematopoietic necrosis

- virus (IHNV) at salmon hatcheries] // *Veterinarnaya praktika*. № 1(44). S. 30–37.
- Sbornik instruktsij po bor'be s boleznyami ryb* [Manual for fish diseases control]. 1998. CH. 1. M.: Otdel marketinga AMBagro. 310 s.
- Alderman D. 1984. The toxicity of iodophors to salmonid eggs // *Aquaculture*. 40. P. 7–16.
- Amend D.F. 1974. Comparative toxicity of two iodophors to rainbow trout eggs // *Transaction of the American Fisheries Society*. 103(1). P. 73–78.
- Aquatic Animal code. Accessible via: https://www.oie.int/index.php?id=171&L=0&htmfild=chapitre_disinfection_eggs.htm. 03.06.2020.
- Atemnkeng M.A., Plaizer-Vercammen J., Schuermans A. 2006. Comparison of free and bound iodine species as a function of three commercial povidone-iodine formulations and their microbiocidal activity // *Int. J. Pharm.* 317. P. 161–166.
- Batts W.N. 1987. Factors affecting the binding of IHN virus to salmonid sperm cells // *Fish Health Section, American Fisheries Society Newsletter* 15. P. 3.
- Batts W.N., Landolt M.L., Winton J.R. 1991. Inactivation of Infectious Hematopoietic Necrosis Virus by low levels of iodine // *Applied and Environmental Microbiology*. 57(5). P. 1379–1385.
- Bootland L.M., Leong J.C. 1999 Infectious hematopoietic necrosis virus // Woo PTK & Bruno DW (eds.). *Fish diseases and disorders*. Vol. 3: Viral, bacterial and fungal infectious. CAB International. P. 57–112
- Dixon P., Paley R., Alegria-Moran R., Oidtmann B. 2016 Epidemiological characteristics of infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) // *Vet Res.* 47. P. 1–63.
- Evelyn T.P., Ketcherson J.E., Prosperi-Porta L. 1984. Further evidence for presence of *Renibacterium salmoninarum* in salmonid eggs and for the failure of povidone-iodine to reduce the intra-ovum infection rate in water-hardened eggs // *Fish Dis.* 7. P. 173–182/
- Jensen O.T., Sweeten T., Damon W., McLean W.E. 2009. Salmonid egg research at the Pacific Biological Station (2002 to 2004), with special interest in Atlantic salmon (*Salmo salar*) // *Canadian technical report of fisheries and aquatic sciences* 2838. Canada. P. 54
- Khodabandeh S., Abtahi B. 2006. Effects of sodium chloride, formalin and iodine on the hatching success of common carp, *Cyprinus carpio*, eggs // *Appl. Ichthyol.* 22. P. 54–56/
- Kurath G., Garver K.A., Troyer R.M., Emmenegger E.J., Einer-Jensen K., Anderson E.D. 2003 Phylogeography of infectious hematopoietic necrosis virus in North America // *J Gen Virol* 84. P. 803–814/
- Manual of diagnostic tests for aquatic animals*. 2019. The World Organisation for Animal Health (OIE). Eighth ed. Paris: OIE. 483 p.
- McDaniel T.R., Pratt K.M., Meyers T.R., Ellison T.D., Follett J.E., Burke J.A. 1994. Alaska sockeye salmon culture manual // *Special fisheries report number Alaska Department of Fish and Game. Div. Commer. Fish., Manag. Develop. Alaska*. 40 p.
- Mulcahy D., Pascho R.J. 1984. Adsorption to fish sperm of vertically transmitted fish viruses // *Science*. 225. P. 333–335.
- Mulcahy D., Pascho R.J. 1985. Vertical transmission of infectious hematopoietic necrosis virus in sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) — isolation of virus from dead eggs and fry // *Fish Diseases*. 8. P. 393–396.
- Overton J.L., Bruun M.S., Dalsgaard I. 2010. Chemical surface disinfection of eggs of Baltic cod, *Gadus morhua* L. // *Fish Diseases*. 33. P. 707–716.
- Piper R.G., McElwain I.B., Orme L.E., McCraren J.P., Fowler L.G., Leonard J.R. 1986. *Fish hatchery management*, Washington D.C. US Fish and Wildlife Service. 45 p.
- Roppel P. 1982. Alaska's salmon hatcheries, 1891–1959. National Marine Fisheries Service. 36 p.
- Schreier T.M., Rach J.J., Howe G.E. 1996. Efficacy of formalin, hydrogen peroxide, and sodium chloride on fungal-infected rainbow trout eggs // *Aquaculture*. 140. P. 323–331.
- Shchelkunov I.S., Shchelkunova T.I., Kupinskaya O.A., Didenko L.V., Bykovsky A.F., Olesen N.J. 2001. Infectious hematopoietic necrosis (IHN): the first confirmed finding in Russia // *Diseases of fish and shellfish*. 10th Intern. Conf. EAAP. Book of abstracts. Dublin, p. 44.
- Wood J.W. 1979. *Diseases of Pacific salmon, their prevention and treatment*. St. Washington, Department of Fisheries, Hatchery Division. 39 p.
- Yoshimizu M., Sami M., Kimura T. 1989. Survivability of infectious hematopoietic necrosis virus in fertilized eggs of masu and chum salmon // *Aquatic Animal Health*. 1. P. 13–20.
- Zawada A., Polechonski R., Bronowska A. 2014. Iodine disinfection of sea trout, *Salmo trutta* (L.), eggs and the effect on egg surfaces // *Arch. Pol. Fish.* 22. P. 121–126.

TABLE CAPTIONS

Table 1. Indicators of sockeye salmon production at MH from 1997 to 2017

Table 2. Conditions for eggs incubation and rearing of juvenile of sockeye salmon at MH in 2017

Table 3. Prevalence of IHNV among sockeye adult and epizootics of IHN among sockeye fingerlings at MH in 2001–2018

FIGURE CAPTIONS

Fig. 1. Mortality rates for eggs and fry at MH during the use of 2 methods for eggs disinfection on iodinol: OM method (1997–2003, group 1) and MM method (2005–2017, group 3)