

Возможность повышения иммунной устойчивости гидробионтов в аквакультуре

Г.И. Пронина, д.б.н., ВНИИР РАСХН

К культивируемым гидробионтам (обитателям водной среды) относятся рыбы, речные раки.

Одной из основных проблем интенсивного разведения является снижение иммунитета культивируемых объектов. В особенности это касается гидробионтов – обитателей водной среды, т.к. в ней наблюдается увеличение уровня органического загрязнения и число условно-патогенных бактерий. При определённой концентрации микроорганизмов в воде происходит их резкое увеличение в органах и тканях гидробионтов и возникновение различных заболеваний. В связи с этим возникает необходимость разработки мероприятий по устранению и профилактике заболеваний.

В настоящее время в качестве средства, направленного на поддержание и восстановление нормального физиологического состояния человека и животных используют различные иммуностимуляторы, например пробиотики. Использование и изучение их действия на рыб находится в начальной стадии [1, 2]. Сведения о подобных исследованиях на ракообразных в доступной литературе отсутствуют.

Известно, что иммунный ответ ракообразных формируется клетками гемолимфы (гемоцитами) и гуморальными факторами, многие из которых являются компонентами гемоцитов. Иммунная система ракообразных не обладает высокой степенью специфичности, которая характерна для позвоночных, тем не менее успешно поддерживает гомеостаз организма. Показатели иммунитета ракообразных выступают важными характеристиками их адаптивного состояния и меняются при контакте с генетически чужеродными объектами, что выражается в количественном изменении гемоцитов и ферментов фенолоксидазной системы [6, 7]. Иммуностимуляторы (например, антиген *Vibrio*, бета-глюкан, зимозан), усиливающие активность фенолоксидазы и выработку супероксиданиона, повышают защитные функции у ракообразных (креветок) и могут применяться для профилактики и лечения заболеваний [8].

Наиболее известное профилактическое средство против болезней – это вакцинация. Вакцинация рыб – дело довольно новое, и многие вопросы здесь ещё остаются открытыми. Считается, что у молоди рыб иммунная система развита слабо, поэтому,

например, вакцинацию радужной форели проводят для рыб массой тела не менее 2–4 г. Наилучшие результаты получаются при индивидуальном инъецировании вакцины, что довольно сложно при работе с рыбой малых размеров. Массовую вакцинацию рыб можно проводить также путём их погружения в воду с вакциной. Введение рыбам вакцин оральным путём пока не увенчалось успехом. В Европе наиболее известны вакцины, разработанные для лососевых рыб, против таких заболеваний, как йерсиниоз, или болезнь «красный рот» (ERM), фурункулезы и вибриозы. Существуют схемы как однократных, так и многократных вакцинаций [3]. На рыбных фермах Чили проводится массовая вакцинация рыбы против инфекционной анемии лосося (ISA) вакциной, выпускаемой фармацевтической компанией Recalcine.

Более радикальной мерой повышения иммунной устойчивости является селекция на иммунную устойчивость. Однако, как известно, селекция – длительный процесс. К отрицательной стороне такой селекции можно отнести и тот факт, что при селекции на иммунную устойчивость к одной определённой болезни возможны потери и снижение резистентности к другим факторам. Именно поэтому мероприятия по повышению иммунитета объектов аквакультуры должны носить комплексный системный характер.

В настоящее время в рыбоводном хозяйстве Чувашии ООО «Кирия» имеется ремонтное стадо ангелинской краснухостойчивой чешуйчатой и зеркальной пород карпа. Порода интересна тем, что это единственная на сегодняшний день порода карпа, прошедшая длительную селекцию на иммунную устойчивость к краснухе на провокационном фоне [4]. Таким образом, у нас появилась возможность вести работу по повышению иммунитета с данной категорией рыб. Эти рыбы были завезены в хозяйство из рыбхоза ООО «Ангелинский» Краснодарского края на стадии личинки.

Под краснухой понимается симптомокомплекс, вызванный разными возбудителями: аэромонадами, псевдомонадами или вирусом весенней виремии карпа.

Цель настоящей работы – сравнительный анализ некоторых биохимических и иммунологических показателей различных пород карпа, отличающихся уровнем устойчивости к инфекционным заболеваниям.

Материалы и методы. ООО «Ангелинский» благополучно по инфекционным заболеваниям, ООО «Кирия» также является благополучным, о чём свидетельствуют ежегодные акты ветеринарно-санитарной проверки, в том числе на аэромонад и псевдомонад, а также отрицательный результат профилактического диагностического исследования на весеннюю виремию карпа, проведённого Федеральной службой по ветеринарному и фитосанитарному надзору, Федеральным центром охраны здоровья животных в 2011 г., ФГУ ВНИИЗЖ (документ № 01-12/2634 от 04.07.2011, акт отбора проб от 19.05.2011).

Физиолого-иммунологическую оценку рыб проводили по гематологическим, биохимическим и иммунологическим показателям.

Лейкоцитарную формулу определяли методом дифференциального подсчёта в окрашенных по Паппенгейму мазках периферической крови. Биохимический анализ сыворотки крови проводили на приборе: Chem Well Awareness Technology, с использованием реактивов VITAL.

Фагоцитарную активность нейтрофилов рыб по среднему цитохимическому коэффициенту (СЦК) определяли цитохимическим методом по М.Г. Шубичу, адаптированным для гидробионтов Г.И. Прониной [5].

Результаты исследований. Масса тела рыб местных пород была в пределах 1,8–2,0 кг, ангелинских – 2,2–2,5 кг. Однако достоверных отличий между группами не отмечено.

1. Лейкограмма и цитохимический индекс трёхгодовиков карпа ($X \pm Sx$)

Показатель	Порода			
	чувашская чешуйчатая	ангелинская чешуйчатая	анишская зеркальная	ангелинская зеркальная
Лейкоцитарная формула, %				
Промиелоциты	–	0,4±0,3	–	0,4±0,3
Миелоциты	–	0,6±0,4	0,2±0,2	0,6±0,3
Метамиелоциты	5,0±0,8	3,6±1,0	7,4±1,6	3,6±0,6
Палочкоядерные нейтрофилы	4,4±1,3*	0,8±0,4*	5,2±1,7**	0,4±0,3**
Сегментоядерные	3,6±1,4	3,0±0,6	1,8±0,9	2,6±1,0
Всего нейтрофилов	8,0±1,1*	3,8±0,7*	7,0±1,4**	3,0±1,0**
Эозинофилы	0,4±0,3	–	0,2±0,2	–
Базофилы	–	0,2±0,2	0,2±0,2	0,4±0,3
Моноциты	1,6±1,4	5,0±0,6	3,4±0,8	4,2±0,7
Лимфоциты	85,0±1,9	86,4±1,6	81,6±3,1	87,8±1,6
Фагоцитарная активность				
СЦК, ед.	1,65±0,13	1,93±0,07	1,69±0,07	1,88±0,08

Примечание: здесь и далее * – различия достоверны ($P < 0,05$)

2. Биохимические показатели трёхгодовиков карпа ($X \pm Sx$)

Показатель	Порода			
	чувашская чешуйчатая	ангелинская чешуйчатая	анишская зеркальная	ангелинская зеркальная
АЛТ, ед/л	43,0±2,7*	63,6±4,3*	45,2±3,7	60,5±10,1
АСТ, ед/л	287±55	230±15	248±20	243±36
Глюкоза, ммоль/л	4,1±1,1	5,4±0,4	4,7±1,5	4,8±1,3
КК, ед/л	4543±237*	2874±339*	4868±495**	2807±493**
Креатинин, мкмоль/л	14,3±2,6	8,9±2,9	17,4±7,5	5,6±4,6
Лактатат, мг/дл	47,9±4,3	56,8±8,2	40,0±10,2	77,5±12,4
Мочевая кислота, мкмоль/л	149±48*	634±166*	113±36**	441±126**
ЩФ, ед/л	30±3*	185±41*	32±12	145±67
Альбумин, г/дл	11,7±1,5	11,2±0,3	14,1±2,1	16,1±3,1
Амилаза, ед/л	24,7±10,8	26,7±7,4	13,4±8,1	42,5±17,2
Мочевина, мг/дл	5,6±1,8	13,6±0,5	10,3±1,5	17,8±3,1
Общий белок, г/л	23,5±2,0	30,8±3,6	27,4±3,1	34,8±6,4
Триглицериды, мг/дл	134±23	134±19	162±34	145±42
Холестерин, мг/дл	148±6	70±3	163±17	85±12

Результаты исследований показали, более активный лейкопоэз у ангелинских карпов по сравнению с местными породами (табл. 1).

Доля нейтрофилов у рыб ангелинской породы была небольшая по сравнению с другими изучаемыми породами за счёт палочкоядерных форм ($P < 0,05$). Вероятно, у краснухостойчивых карпов в меньшей степени происходило образование данных микрофагов. Тем не менее потенциальная фагоцитарная активность этих клеток (по СЦК содержания неферментного катионного белка в лизосомах) у рыб всех изучаемых групп находилась примерно на одном уровне.

По массе тела рыбы всех изучаемых групп достоверно не различались между собой. Однако у ангелинских карпов отмечался высокий уровень аланинаминотрансферазы, что отражает значительный потенциал белкового роста (табл. 2). Отличие достоверно было только у чешуйчатых групп. Относительно большие показатели мочевой кислоты, щелочной фосфатазы и амилазы сыворотки крови этих рыб свидетельствуют об их интенсивном межклеточном обмене. Активность креатинкиназы чувашской чешуйчатой и анишской зеркальной пород примерно в два раза выше по сравнению с одновозрастными ангелинскими карпами. Фермент отражает энергетический обмен в мышцах, и такое увеличение его уровня может быть связано с активацией роста и иммунитета, в связи с этим возможным повреждением клеток после зимовки. Значения показателя были высокими у всех карпов и, вероятно, обусловлены особенностями метаболизма рыб (в сравнении с гомойотермными организмами – млекопитающими).

Вывод. Таким образом, оценка показала, что, судя по показателям мочевой кислоты, актив-

ности ферментов ЩФ, КК, ангелинские краснухостойчивые карпы обладают высоким уровнем метаболизма по сравнению с другими изучаемыми породами.

Учитывая результаты физиолого-иммунологической оценки, значительную инбредность ангелинской породы рыб, а также длительное разведение «в себе» чувашской чешуйчатой и анишской зеркальной пород карпа в СХПРК «Киря», целесообразно использовать ангелинских карпов в селекции для совершенствования этих пород.

Литература

1. Артеменков Д.В., Макашова Т.А. Анализ морфологических и биохимических показателей клариевого сома *Clarias gariepinus* при выращивании в УЗВ с использованием пробиотика субтилис // Развитие аквакультуры в регионах: проблемы и возможности: докл. науч.-практич. конф. М.: МСХА, 2011. С. 67–70.
2. Шульга Е.А. Пробиотики в кормлении осетровых рыб при товарном выращивании: дисс... канд. биол. наук. Астрахань, 2009. 120 с.
3. Хорлик В. Можно ли сократить применение антибиотиков при выращивании рыбы // Рыбоводство и рыболовство. 2000. № 4. С. 31–32.
4. Илясов Ю.И. Селекция рыб на повышение устойчивости к заболеваниям // Актуальные вопросы пресноводной аквакультуры: сб. науч. тр. Вып. 78. М.: Изд-во ВНИРО, 2002. С. 125–134.
5. Пронина Г.И. Использование цитохимических методов для определения фагоцитарной активности клеток крови или гемолимфы разных видов гидробионтов для оценки состояния их здоровья // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2008. № 4 (20). С. 160–163.
6. Ratcliffe N.A., White K.N., Rowley A.F., Walters J.B. Cellular defense systems of the Arthropoda // The reticuloendothelial system: comprehensive treatise / Eds. Cohen N. And Sigel M.M., New York: Plenum Press, 1982. V. 3. P. 167–255.
7. Soderhall, K., Smith, V.J., Johansson, M.W. Exocytosis and uptake of bacteria by isolated haemocyte populations of two crustaceans: evidence for cellular cooperation in the defence reactions of arthropods // Cell Tissue, 1986. Res. 245. P. 43–49.
8. Wang Lei; Li Guangyou; Mao Yuanxing. Studies on the activities and characteristics of the antibacteria, bacteriolysis and phenoloxidase in the haemolymph of *Penaeus chinensis* // Oceanol. Et limnol. Sin., 1995. 26. № 2. P. 179–185.