

Полоз С.В., кандидат ветеринарных наук<sup>1</sup>

Дегтярик С.М., кандидат биологических наук, доцент<sup>1</sup>

Слободницкая Г.В., кандидат сельскохозяйственных наук<sup>1</sup>

Стрельченя И.И., кандидат ветеринарных наук, доцент<sup>2</sup>

Максимьюк Е.В., научный сотрудник<sup>1</sup>

Беспалый А.В.<sup>1</sup>

Говор Т.А., научный сотрудник<sup>1</sup>

<sup>1</sup>РУП «Институт рыбного хозяйства» РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству», г. Минск

<sup>2</sup>РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск

## МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭКСТРЕМАЛЬНОГО ВЛИЯНИЯ ФАКТОРОВ СРЕДЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ ПОЙКИЛОТЕРМНЫХ ЖИВОТНЫХ И ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ ЕЕ ПОВЫШЕНИЯ

### Резюме

Сформулированные принципы повышения устойчивости пойкилотермных животных являются обоснованными и позволяют разрабатывать планы мероприятий по устойчивому управлению видами рыб с включением способов оздоровления и контроля над распространением патогенов. Результаты исследований являются научной основой для создания стабильных сообществ и популяций, позволяющих оценить влияние негативных факторов в природоохранных мероприятиях и увеличить продуктивность в аквакультуре.

**Ключевые слова:** принципы повышения устойчивости, антигенная нагрузка, неспецифическая резистентность, специфическая резистентность.

### Summary

The formulated principles of increasing the resistance of poikilothermic animals are justified. They allow the development of action plans for the sustainable management of fish species, including ways to rehabilitate and control the spread of pathogens. The results of the research are the scientific basis for creating stable communities and populations that allow assessing the impact of negative factors in environmental protection activities and increasing productivity in aquaculture.

**Keywords:** principles of resistance improvement, antigen pressure, non-specific resistance, specific resistance.

Поступила в редакцию 30.05.2022 г.

### ВВЕДЕНИЕ

Устойчивость и сопротивляемость – отличительные особенности экологической реакции на нарушения. Выявление движущих сил сопротивления и устойчивости дает уникальное представление об экологических изменениях. Приняв концепцию «сопротивление-устойчивость», можно получить важные положения: ключевая роль сопротивления в ответ на постоянное нарушение, внутренние атрибуты экологической единицы, связанные с сопротивлением и сопротивляемостью, внешние факторы

окружающей среды, которые влияют на сопротивление и сопротивляемость, механизмы, придающие устойчивость и сопротивляемость, статус экологической единицы после нарушения, характер долгосрочных экологических изменений и актуальные способы информирования об экологических последствиях нарушающихся процессов [3].

Устойчивость – это процесс, который позволяет животным адаптироваться к неблагоприятным условиям и восстанавливаться после них. У животных иммунные

процессы влияют на сопротивляемость [2].

Способность животного быстро восстанавливаться от воздействия физических и социальных стрессоров и болезней, вероятно, улучшит эволюционную приспособленность диких видов, а также состояние и продуктивность сельскохозяйственных животных. Важность и значимость стимулов, принимающих нейросенсорами, хемосенсорами и иммуносенсорами, воспринимаются и интегрируются централизованно для генерации эмоций и задействования физиологических, поведенческих, иммунных, когнитивных и морфологических реакций, защищающих от вредных воздействий. Напротив, толерантность – это способность поддерживать продуктивность в широком диапазоне условий без ущерба для воспроизводства, здоровья и благополучия. Толерантность проявляется в ответ на циклические изменения окружающей среды и достигается через активность врожденных регуляторных путей. В этих условиях толерантность, вероятно, будет легче определить по скорости возврата переменных к состоянию, предшествующему изменению, или нормальному состоянию, а не по измерению активности различных механизмов стрессовой реакции и адаптации [10].

**Цель работы** – смоделировать влияние факторов среды на устойчивость пойкилотермных животных и сформулировать основные принципы ее повышения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнялась в лабораторных, боксовых и аквариальных помещениях РУП «Институт рыбного хозяйства» РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству», а также в рыбоводных хозяйствах Республики Беларусь.

Экспериментальные исследования проводили в условиях лаборатории болезней рыб. В качестве критерия устойчивости была выбрана жизнестойкость. Изучали экстремальное влияние трех абиотических факторов – температуры, кислорода и повышенной плотности – на жизнестойкость групп модельного вида к заражению микроорганизмами рода *Pseudomonas*. В каче-

стве модельного вида был выбран *Cyprinus carpio* (молодь). Рыбы содержались в аквариумах. По принципу случайных аналогов было сформировано пять групп. Группа № 1 (n=10) подвергалась резкому воздействию повышения температуры водной среды на 10 °С при уровне кислорода 8,5 мг/л, группа № 2 (n=10) – резкому воздействию повышения температуры водной среды на 10 °С при уровне кислорода 4,0 мг/л. Группа № 3 (n=30) подвергалась краудингу. Группы № 4 и № 5 являлись контрольными (температура водной среды 15 °С, концентрация кислорода 8,4–8,5 мг/л). Животным групп №№ 1–4 вводили эпизоотический штамм *Pseudomonas* в дозе 0,2–0,3 см<sup>3</sup> внутривентрально. Животные группы № 5 служили интактным контролем. Наблюдение вели в течение 40 часов.

Исследования по установлению негативного воздействия проводили в экспериментальных условиях. В качестве модельного вида был выбран *Cyprinus carpio*. Животные опытной группы подвергались влиянию ультрафиолетовых лучей в диапазоне 254 нм (высота водной поверхности составляла 40–60 мм) ежедневно в течение 20 минут на протяжении 5 дней. Животные контрольной группы (n=10) находились в аналогичных условиях, но без воздействия ультрафиолетовых лучей.

Для реализации сформулированных принципов повышения устойчивости пойкилотермных животных и их оценки использовали следующие препараты:

- противопаразитарный и противогрибковый препарат «Дисоль-Na»;
- антибактериальный препарат «Леволекс»;
- пробиотический препарат «Эмили» (в основе клетки, споры, продукты метаболизма бактерий *Bacillus subtilis* БИМ В-844 Д, *B. subtilis* БИМ В-845 Д);
- инактивированная вакцина для профилактики аэромоноза прудовых рыб (в основе бактериальные культуры *Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*).

Определение физиологических показателей осуществляли по общепринятым в ихтиопатологии методикам [9, 2, 4, 6].

Микробиологические исследования проводили согласно методическим указаниям [4], а также используя методы общей бактериологии [7]. Паразитологические исследования проводили по общепринятым методикам [1, 8]. Показатели естественной резистентности определяли согласно методическим указаниям [5].

Уровень общего белка определяли с помощью рефрактометра согласно инструкции по применению. Показатели кортизола устанавливали методом иммуноферментного анализа, используя диагностические наборы. Калибровочную кривую строили, нанеся данные среднего значения коэффициента поглощения, полученного из каждого референсного стандарта. Используя среднее значение коэффициента поглощения для каждого образца, по калибровочной кривой определяли соответствующую концентрацию кортизола в нмоль/л.

Полученные результаты обрабатывали методами параметрической статистики с помощью пакета Excel 2007. Достоверность различий полученных результатов оценивали с помощью *t* критерия Стьюдента и ТТЕСТ. Достоверными считали различия при  $\alpha=0,05$  (\* $p>0,95$ ). Цифровые данные представлены средней арифметической (*M*) и стандартным отклонением ( $\pm m$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При изучении экстремального влияния абиотических факторов на жизнестойкость групп модельного вида к заражению микроорганизмами рода *Pseudomonas* установлено, что жизнестойкость группы № 1 составила 10 %, группы № 2 – 0 %, группы № 3 – 10 %, группы № 4 – 30 %, группы № 5 – 100 %.

При этом за первые 14 часов после введения штамма *Pseudomonas* регистрировали гибель 9 особей группы № 1, 10 особей группы № 2, 8 особей группы № 3, 3 особи группы № 4. Через 15 часов у 19 животных группы № 3 проявился экзофтальм и точечные геморрагии в области основания грудных плавников. Через 16 и 17,5 часов в этой группе регистрировали гибель по 1 особи, через 18–19 часов – ги-

бель 5 особей, через 20 и 21,5 часа – гибель по 2 особи, через 23,5 часа – гибель 1 особи, через 26–40 часов – гибель 10 особей.

Через 15 часов в группе № 4 у 5 особей появился экзофтальм. У всех погибших особей регистрировали наличие точечных геморрагий на слизистой оболочке ротовой полости, в области жаберных крышек, у основания грудных плавников либо в нескольких местах.

При изучении влияния ультрафиолетовых лучей установлены изменения в поведении рыб опытной группы: снижение двигательной активности, отсутствие реакции на внешние раздражители. Отмечали избыточное выделение слизи на поверхности тела рыб и помутнение воды в аквариуме.

Также у животных опытной группы уровень общего белка сыворотки крови был на 5,9 % выше, чем у животных контрольной группы:  $22,78 \pm 2,14$  г/л и  $21,5 \pm 1,85$  г/л соответственно. Однако это отличие не носило достоверного характера. Таким образом, воздействие не оказывает влияния на показатели общего белка сыворотки крови рыб.

Результаты исследований показали, что у животных опытной группы уровень кортизола в сыворотке крови составляет  $958,56 \pm 85,0$  нмоль/л, у животных контрольной группы –  $637,5 \pm 89,0$  нмоль/л. Установлено, что под воздействием ультрафиолетовых лучей в диапазоне 254 нм уровень кортизола в сыворотке крови рыб опытной группы был выше на 33,5 % ( $P \leq 0,05$ ).

На основании многолетнего опыта проведения научно-практических исследований канд. ветеринар. наук Полоз Светланой Васильевной были сформулированы основные принципы повышения устойчивости пойкилотермных животных:

- 1) принцип снижения антигенной нагрузки;
- 2) принцип повышения неспецифической резистентности и толерантности;
- 3) принцип повышения специфической резистентности.

Для реализации принципа снижения антигенной нагрузки изучали эффективность применения противопаразитарного и противогрибкового препарата «Дисоль-На», содержащего меди сульфат и натрия хлорид, и антибактериального препарата «Леволокс», содержащего левофлоксацин.

Результаты исследований показали, что препарат «Дисоль-На» эффективен для профилактической обработки рыбы при перевозках, пересадках, разведении в бассейнах и др. Он обеззараживает воду, в которой содержится рыба, и дезинфицирует поврежденные участки, предотвращая тем самым развитие болезни. Препарат также эффективен при обработке зараженной рыбы на ранних стадиях болезни. Однако в случае, когда гифы гриба проникли глубоко в мышцы, органы и ткани, большая поверхность тела и жабр покрыта мицелием, образовались язвы, затрагивающие мышечную ткань, препарат может только несколько отсрочить гибель. Таким образом, в дозах 5 и 10 г/л препарат эффективен для обработки рыбы против сапролегниоза с профилактической целью и с лечебно-профилактической – на начальных стадиях заболевания.

В процессе изучения эффективности применения антибактериального препарата «Леволокс» установлено, что он обладает высокой антимикробной активностью по отношению к условно-патогенным для рыб бактериям, представителям рр. *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Shewanella*, как при скармливании, так и при применении методом лечебных ванн. При пероральном введении для профилактики бактериальных инфекций у рыб оптимальной является доза 50 мг/кг, для лечения – 75 мг/кг. При применении методом лечебных ванн оптимальна концентрация препарата 10 г/м<sup>3</sup> с экспозицией 10 минут. Таким образом, для снижения антигенной нагрузки бактерий на организм пойкилотермных животных (рыб) применение леволокса является эффективным. В качестве превентивной меры следует использовать препарат внутрь в дозе 50 г/кг или 1 кг/т корма, оздоровительной меры – внутрь 75 г/кг или 1,5 кг/т корма.

При обработке в виде ванн рекомендуется применять леволокс в концентрации 10 г/м<sup>3</sup> в течение 10 минут, обработки и кормление проводить 5 дней подряд.

Для реализации принципа повышения неспецифической резистентности изучали применение пробиотического препарата «Эмилин». Оценка профилактического и терапевтического действия при аэромонозе карпа показала его высокую эффективность при введении с кормом в дозе  $1,4 \times 10^8$  КОЕ/кг. При этом характерные признаки бактериальных инфекций не развивались, навеска карпа была на 15–18 % выше, чем у рыб контрольных групп. Эффект достаточно выражен при введении в дозе  $1,4 \times 10^7$  КОЕ/кг веса рыбы (20 мг препарата на 1 кг корма, или 20 г/т), однако наиболее эффективен препарат при введении в дозе  $1,4 \times 10^8$  КОЕ/кг (200 мг препарата на 1 кг корма, или 200 г/т).

Реализация принципа повышения специфической резистентности осуществлялась применением инактивированной вакцины для профилактики аэромоноза прудовых рыб.

В настоящее время актуальной является разработка биопрепаратов для профилактики бактериальных инфекций, применение которых позволит снизить затраты на проведение противоэпизоотических мероприятий, повысить качество товарной рыбы, исключить формирование антибиотикорезистентных штаммов.

При анализе полученных данных установлено, что через 14 дней после вакцинации титр антител в реакции агглютинации у рыб опытных групп составил 1:40, в контрольных группах не превышал 1:10. Гематологические показатели у карпа и растительноядных рыб (белый амур, пестрый толстолобик) опытных и контрольных групп не имели достоверных отличий. Общий белок сыворотки крови составил: у карпа –  $17,5 \pm 0,41$ – $19,60,41$  г/л, белого амура –  $17,60,37$ – $18,6 \pm 0,52$  г/л, пестрого толстолобика –  $1,69 \pm 0,42$ – $19,2 \pm 0,64$  г/л в опытных группах и  $19,1 \pm 0,43$  г/л,  $18,1 \pm 0,39$  г/л и  $17,0 \pm 0,4$  г/л в контрольных группах соответственно.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Экстремальные факторы среды оказывают негативное влияние на жизнестойкость рыб.

2. Совокупность факторов среды усиливают негативное влияние на жизнестойкость рыб.

3. Совокупное влияние резкого повышения температуры водной среды на 10 °С и концентрации кислорода 4 мг/л приводит к 100%-ной гибели рыб.

4. При резком повышении температуры водной среды на 10 °С и концентрации кислорода 8,5 мг/л жизнестойкость рыбы составляет 10 %.

5. Содержание повышенной плотности (30 особей в 36,5 м<sup>3</sup>) снижает жизнестойкость рыбы на 70 %.

6. Воздействие ультрафиолетовых лучей длиной волны 254 нм в толще водного столба 40–60 мм вызывает повышение уровня кортизола в сыворотке крови рыб на 33,5 %.

Принципы повышения устойчивости пойкилотермных животных обоснованы для включения в мероприятия по оздоровлению и превентивным мерам контроля возникновения и распространения патогенов, что обеспечит высокую эффективность и экономическую целесообразность данных мероприятий в условиях аквакультуры и устойчивого управления видами рыб.

Формирование устойчивости пойкилотермных животных находится в непосредственной зависимости от ряда факторов (абиотических и биотических). Понимание механизмов развития ответной реакции организма на их воздействие является важным при формулировании принципов повышения устойчивости пойкилотермных животных и их практической реализации при планировании мероприятий по управлению сообществами гидробионтов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Быховская-Павловская, И. Е. *Паразиты рыб: руководство по изучению* / И. Е. Быховская-Павловская. – Л. : Наука, 1985. – 121 с.
2. Головина, Н. А. *Гематология прудовых рыб* / Н. А. Головина, И. Д. Тромбицкий. – Кишинев : Штиинца, 1989. – 157 с.
3. Иванова, Н. Т. *Атлас клеток крови рыб (сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб)* / Н. Т. Иванова. – М. : Легкая и пищевая промышленность, 1982. – 184 с.
4. *Методические указания по диагностике, профилактике и лечению бактериальных инфекций (аэромоназ, псевдомоназ) у растительноядных рыб* : утв. ГУВ МСХиП Республики Беларусь 16.02.2005 г. / В. В. Кончиц [и др.]. – Минск, 2005. – 8 с.
5. *Методические указания по определению уровня естественной резистентности и оценке иммунного статуса рыб*. – М., 1999. – 20 с.
6. *Методические указания по проведению гематологического обследования рыб // Методические указания и рекомендации по лабораторным диагностическим исследованиям*. – М., 1999. – С. 69–85.
7. *Методы общей бактериологии* : учеб.-метод. пособие / Д. А. Васильев [и др.]. – Ульяновск, 2003. – 129 с.
8. Мусселиус, В. А. *Лабораторный практикум по болезням рыб: учеб. пособие для вузов по спец. «Ихтиология и рыбоводство»* / В. А. Мусселиус. – М. : Легкая и пищевая промышленность, 1983. – С. 174–185.
9. *Практикум по ихтиопатологии* : учеб. пособие / Н. А. Головина [и др. ] ; под ред. Н. А. Головиной. – М. : МОРКНИГА, 2016. – С. 50–70.
10. Colditz, I. G. *Resilience in farm animals: biology, management, breeding and implications for animal welfare* / I. G. Colditz, B. C. Hine // *Animal Production Science*. – 2015. – № 56(12). – P. 1961–1983.
11. Dantzer, R. *Resilience and immunity* / R. Dantzer // *Brain Behavior and Immunity*. – 2018. – № 74. – P. 28–42.
12. *Vive la résistance: reviving resistance for 21st century conservation* / D. G. Nimmo [at al.] // *Trends in Ecology & Evolution*. – 2015. – № 30, iss.9. – P. 516–523.