

Полоз С.В., кандидат ветеринарных наук, доцент<sup>1</sup>  
Дегтярик С.М., кандидат биологических наук, доцент<sup>1</sup>  
Слободницкая Г.В., кандидат сельскохозяйственных наук<sup>1</sup>  
Стрельчяня И.И., кандидат ветеринарных наук, доцент<sup>2</sup>

<sup>1</sup>РУП «Институт рыбного хозяйства» РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству», г. Минск, Республика Беларусь

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

## ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ РЫБ К ЗАРАЖЕНИЮ ПАРАЗИТАМИ ПРИ СТРЕССОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

### Резюме

Результаты исследований показали, что повышение температуры водной среды на 10 °С можно отнести к повреждающим стресс-факторам, которые также влияют на резистентность стерляди *Acipenser ruthenus*. Исследования показали наличие изменений в поведении и резистентности рыб при заражении *Trichodina* sp. Отмечается избыточное выделение слизи на поверхности тела рыб и помутнение воды в аквариуме. В результате исследований установлено, что в крови рыб уровень кортизола в опытной группе с предварительным воздействием повышения температуры водной среды был выше в 3,55 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой. Уровень белка сыворотки крови снижается на 28,36 % ( $p < 0,05$ ). Установлено повышение активности лизоцима в 2 раза ( $p < 0,05$ ). Уровень фагоцитарной активности лейкоцитов крови снижается на 19 % ( $p < 0,05$ ). При оценке устойчивости *Acipenser ruthenus* к заражению паразитами необходимо учитывать наличие факторов стрессового воздействия, которые определяют степень повреждающего фактора и играют важную роль в формировании адаптационных процессов.

**Ключевые слова:** стерлядь, триходины, заражение, стресс, резистентность.

### Summary

The research results showed that an increase in the temperature of the aquatic environment by 10 °C can be attributed to damaging stress factors, which also affect the resistance of sterlet *Acipenser ruthenus*. Studies have shown changes in the behavior and resistance of fish when infected with *Trichodina* sp. There is excessive secretion of mucus on the surface of the fish's body and cloudiness of the water in the aquarium. As a result of the research, it was found that the level of cortisol in the blood of fish in the experimental group with preliminary exposure to an increase in the temperature of the aquatic environment by 10 °C was 3,55 times higher ( $p < 0,05$ ) compared to the control group. Serum protein levels decrease by 28,36 % ( $p < 0,05$ ). A 2-fold increase in lysozyme activity was established ( $p < 0,05$ ). The level of phagocytic activity of blood leukocytes decreases by 19 % ( $p < 0,05$ ). When assessing the resistance of *Acipenser ruthenus* to infection by parasites, it is necessary to take into account the presence of stress factors that determine the degree of the damaging factor and play an important role in the formation of adaptation processes.

**Keywords:** sterlet, trichodins, infection, stress, resistance.

Поступила в редакцию 02.05.2024 г.

### ВВЕДЕНИЕ

В процессе эволюционного развития паразиты, в отличие от вирусов и бактерий, выработали ряд механизмов уклонения от контроля иммунной системы хозяина. Так, простейшие характеризуются высокой изменчивостью поверхностных антигенов в процессе паразитирования у одного хозяина. Кровепаразиты могут размножаться в присутствии антител [4]. Иммунитет при паразитозах «нестерильный» и обеспечивается латентным персистированием паразитов. При инвазировании простейшими основными эффекторами противопаразитар-

ного иммунитета являются эозинофилы, которые с помощью низкоафинных рецепторов прикрепляются к антителу, связанному с паразитом. Они изменяются и выделяют интерлейкины, CRB, пероксидазу, анионы супероксида, которые лизируют кутикулу паразита. В результате формируются клеточные инфильтраты по типу поздней фазы аллергии немедленного типа с накоплением тучных клеток, эозинофилов и псевдоэозинофилов, Т-хелперов, вновь выделяющих цитокины и ферменты, что обеспечивает разрушение паразитов.

В условиях аквакультуры особенное значение приобрела проблема стресса. Это связано с современной интенсификацией рыбоводства, т.е. с максимальным использованием площадей прудов, применением концентрированных кормов, поддержанием оптимального гидрохимического состава водной среды, а также автоматизацией и механизацией производственных процессов. Однако иногда используемая технология не отвечает условиям обеспечения жизнедеятельности организма, и рыба вынуждена адаптироваться к ним, активируя все основные физиологические системы. При этом в большинстве случаев развитие состояние стресса сопровождается снижением продуктивности и ухудшением качества продукции.

Приспособление организма к постоянно действующим факторам окружающей среды проходит в процессе всего онтогенеза и осуществляется с помощью различных нейрогуморальных механизмов. В ответ на воздействие наиболее сильных неблагоприятных факторов среды в организме развиваются особые адаптационные процессы, характеризующиеся как стресс. Установлено, что в условиях интенсивного ведения животноводства, в том числе рыбоводства, явления стресса стали регистрироваться чаще, чем болезни. Состояние стресса приводит к определенным изменениям клеточных и гуморальных факторов иммунной защиты, устойчивости организма к различным факторам внешней среды.

Факторы внешней среды, способные вызывать у рыб стресс, могут быть объединены в несколько групп: физические – повышение или понижение температуры водной среды (резкое или постепенное, особенно более чем на 10 °С), что приводит к снижению продуктивности, резкому ослаблению иммунной защиты, снижению устойчивости; химические – снижение содержания кислорода в водной среде, повышение разнообразных химических соединений также неблагоприятно отражается на развитии молоди рыб и продуктивности взрослых, восприимчивости и инфекциям; неграмотное применение антибактериальных препаратов, которые подавляют развитие полезной микрофлоры кишечника, нарушают функции печени; биологические – возбудители инфекционных и инвазионных заболеваний. Важными являются

также подбор видов рыб для выращивания в поликультуре с учетом их трофической и территориальной конкуренции, особенностей биологии и экологии; кормовые факторы – недокорм и перекорм, использование несбалансированных рационов. Комбикорма, дефицитные по набору аминокислот, витаминов, микро- и макроэлементов, энергии, вызывают у рыб стресс, проявляющийся в замедлении размерных показателей, снижении всех звеньев иммунной защиты и восприимчивости к инфекциям и инвазиям; технологические, транспортные, травматические – манипуляции при бонитировке (взвешивание, маркирование), а также ссадины и раны. Транспортировка и перемещение приводят к сильному потрясению, вызванному обловом, новыми условиями окружающей среды.

В условиях интенсивного выращивания рыб в больших сообществах на ограниченной площади действие стресс-факторов является кумулятивным.

Снижение факторов неспецифического клеточного и гуморального иммунитета приводит к уменьшению устойчивости и может вызвать инфицирование и инвазирование.

Анализ видового разнообразия паразитов осетровых рыб позволил выделить возбудителей, относящихся к группе наиболее высокого риска, как в естественных водоемах, так и в условиях аквакультуры. Отмечено, что при искусственном разведении в условиях аквакультуры в составе паразитофауны преобладают паразиты с прямым циклом развития, в т.ч. *Trichodina* sp. [8]. Ряд исследователей [3, 5, 7, 9, 10, 11, 12] подчеркивает, что осетров при искусственном выращивании поражают, как правило, широко специфичные паразиты, представленные в основном простейшими, моногенными и ракообразными.

Наибольший риск для осетровых имеют инфузории из сем. *Trichodinidae* (класс *Oligohymenophora*, подкласс *Peritricha*). Паразиты, относящиеся к этому семейству и паразитирующие у рыб, представлены *pp.* *Trichodina*, *Tripartiella*, *Trichodinella*, *Paratrichodina*, *Dipartiella*. При благоприятных условиях среды обитания инфузории массово поселяются на коже, жабрах и в обонятельных ямках рыб, быстро размножаются и вызывают патоло-

гические состояния, нередко с массовым отходом [6].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучение устойчивости рыб к заражению патогенными инфузориями *Trichodina sp.* проводили на модельном виде *Acipenser ruthenus* (стерлядь) в трехкратной повторяемости. В качестве стресс-фактора выбрали резкое (на 12 °С) повышение температуры. Культуру *Trichodina sp.* получали от больных рыб. Заражение рыб групп № 1 и 2 проводили в дозе 500 экз. *Trichodina sp.* на аквариум. По принципу рандомных аналогов подобрали три группы молоди рыб (n=7 в каждой группе) и поместили их в аквариумы. Уровень кислорода в трех аквариумах поддерживали путем искусственной аэрации. До заражения рыбу группы № 1 трижды подвергали резкому воздействию повышения температуры водной среды. Рыба группы № 3 служила интактным контролем и заражению не подвергалась. После заражения наблюдение вели в течение 4 суток. Паразитологический анализ (компрессионная микроскопия соскобов) проводили с поверхности тела и жабр рыбы. На 5-е сутки осуществляли отбор проб крови. Исследования проводили в трех повторностях.

Сыворотку крови получали из сердца с последующим центрифугированием. Уровень общего белка определяли с помощью рефрактометра согласно инструкции по применению. Показатели кортизола устанавливали методом иммуоферментного анализа, используя диагностические наборы.

Моделирование процессов в организме в быстро меняющихся условиях среды – сложная задача [1]. Однако можно использовать реакцию организма в качестве оценки устойчивости к влиянию среды и ее компонентов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования показали наличие изменений в поведении рыб после заражения. Регистрировали снижение двигательной активности, отсутствие реакции на внешние раздражители. Отмечали избыточное выделение слизи на поверхности тела рыб и помутнение воды в аквариуме. В группе рыб, подвергшихся предварительному воздействию резкого повышения температуры, данные изменения носили более выраженный характер. Динамика заражения рыб модельного вида *Acipenser ruthenus* патогенными инфузориями *Trichodina sp.* отражена в таблице 1.

Таблица 1 – Динамика заражения модельного вида рыб *Acipenser ruthenus* патогенными инфузориями *Trichodina sp.*

Группа	Показатели		
	локализация паразитов	экстенсивность инвазии, %	интенсивность инвазии, экземпляров (min-max)
1-й день после заражения			
1	поверхность тела	71,43	9–27
2	поверхность тела	28,57	5–13
3	-	-	-
2-й день после заражения			
1	поверхность тела	95,23	12–23
2	поверхность тела	85,71	22–73
3	-	-	-
3-й день после заражения			
1	поверхность тела/жабры	100/33,33	47–152/9–17
2	поверхность тела	90,48	27–86
3	-	-	-
4-й день после заражения			
1	поверхность тела/жабры	100/76,19	32–172/11–28
2	поверхность тела/жабры	95,23/23,81	32–89/2–14
3	-	-	-

Результаты собственных исследований показали, что резкое повышение температуры водной среды является стрессовым фактором. При этом у инвазированных рыб регистрировали изменение уровня кортизола (таблица 2) и уровня белка сыворотки крови (таблица 3).

В результате исследований установлено, что на 5-й день экспериментального инвазирования в крови рыб уровень корти-

зола в опытной группе № 2 был выше, чем в контрольной (№ 3), и составил  $74,33 \pm 14,65$  и  $61,19 \pm 14,71$  нмоль/л соответственно. Повышение данного показателя в опытной группе № 1 с предварительным воздействием повышения температуры водной среды на  $10^\circ\text{C}$  перед инвазированием было гораздо значительнее и составило 3,55 раз ( $p < 0,05$ ).

Таблица 2 – Уровень кортизола в сыворотке крови *Acipenser ruthenus* (экспериментальное исследование)

Показатель	Кортизол, нмоль/л		
	группа		
	№ 1	№ 2	№ 3
M	217,45	74,33	61,19
m	5,69	14,65	14,71
Статистическая значимость	*		

Примечание – M – среднее; m – стандартное отклонение; \* $p < 0,05$

Полученные данные согласуются с выводом С.В. Schreck (2010) о важной роли стрессовых факторов для аквакультуры [2]. Также мы регистрировали изменение показателей белка сыворотки крови (таблица 3). Результаты исследований показали, что на 5-й день экспериментального инвазирования в крови рыб уровень белка сыворотки крови в опытной группе № 2 ниже на 11,1 %

( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной (№ 3), в которой этот показатель составил  $25,32 \pm 3,61$  г/л. Однако предварительное воздействие повышения температуры водной среды на  $10^\circ\text{C}$  перед инвазированием приводит к более глубоким нарушениям, при этом уровень белка сыворотки группе № 1 снижается на 28,36 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой.

Таблица 3 – Уровень белка сыворотки крови *Acipenser ruthenus* (экспериментальное исследование)

Показатель	Белок сыворотки крови, г/л		
	группа		
	№ 1	№ 2	№ 3
M	18,14	22,52	25,32
m	2,51	3,3	3,61
Статистическая значимость	*	*	

Примечание – M – среднее; m – стандартное отклонение; \* $p < 0,05$

В результате исследований наблюдали реакцию организма на инвазию со стороны лизоцимной активности сыворотки крови. Так, на 5-й день экспериментального инвазирования *Trichodina sp.* в сыворотке крови рыб активность лизоцима в опытной

группе № 2 была выше, чем в контрольной (№ 3), и составила  $24,38 \pm 5,15$  и  $17,52 \pm 4,91$  % соответственно. Также установлено повышение активности лизоцима в опытной группе № 1 в 2 раза по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ) (таблица 4).

Таблица 4 – Уровень лизоцимной активности сыворотки крови *Acipenser ruthenus* (экспериментальное исследование)

Показатель	Лизоцимная активность сыворотки крови, %		
	группа		
	№ 1	№ 2	№ 3
М	35,43	24,38	17,52
m	10,36	5,15	4,91
Статистическая значимость	*	*	

Примечание – М – среднее; m – стандартное отклонение; \*  $p < 0,05$

Клеточная резистентность включает фагоцитарную активность лейкоцитов крови рыб. Установлено, что на 5-й день экспериментального инвазирования в крови рыб уровень фагоцитарной активности лейкоцитов крови в опытной группе № 2 ниже на 14,7 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной (№ 3), в которой этот показатель соста-

вил  $25,0 \pm 5,45$  %. В группе с предварительным воздействием повышения температуры водной среды на  $10^\circ\text{C}$  перед инвазированием наблюдаются более глубокие нарушения, при этом уровень фагоцитарной активности лейкоцитов крови рыб группы № 1 снижается на 19 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой.

Таблица 5 – Уровень фагоцитарной активности лейкоцитов крови *Acipenser ruthenus* (экспериментальное исследование)

Показатель	Фагоцитарная активность лейкоцитов крови, %		
	группа		
	№ 1	№ 2	№ 3
М	20,24	21,33	25,0
m	6,04	4,72	5,45
Статистическая значимость	*	*	

Примечание – М – среднее; m – стандартное отклонение; \*  $p < 0,05$

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследований показали, что повышение температуры водной среды можно отнести к повреждающим стресс-факторам, которые влияют на резистентность стерляди *Acipenser ruthenus*. Исследования установили наличие изменений в поведении и резистентности рыб при заражении *Trichodina sp.* Отмечается избыточное выделение слизи на поверхности тела рыб и помутнение воды в аквариуме. В результате исследований выявлено, что в крови рыб уровень кортизола в опытной группе с предварительным воздействием повышения температуры водной среды на  $10^\circ\text{C}$  был

выше в 3,55 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой. Уровень белка сыворотки крови снижается на 28,36 % ( $p < 0,05$ ). Установлено повышение активности лизоцима в 2 раза ( $p < 0,05$ ). Уровень фагоцитарной активности лейкоцитов крови снижается на 19 % ( $p < 0,05$ ). Поэтому при оценке устойчивости *Acipenser ruthenus* к заражению паразитами необходимо учитывать наличие факторов стрессового воздействия, которые определяют степень повреждающего фактора и играют важную роль в формировании адаптационных процессов.

## СПИСОК ЦИТИРОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Deep learning habitat modeling for moving organisms in rapidly changing estuarine environments: A case of two fishes / G. Guénard [et al.] // *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2020. – Vol. 238. – P. 106713.
2. Schreck, C. B. Stress and fish reproduction: The roles of allostasis and hormesis / C. B. Schreck // *General and Comparative Endocrinology*, 2010. – Vol. 165, № 3. – P. 549–556.
3. Астахова, Т. В. Паразиты и болезни молоди русского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii Brandt*) Каспийского моря на первом году жизни : сб. науч. тр. ВНИИПРХ / Т. В. Астахова. – 1979. – Вып. 23. – С. 172–188.
4. Бирман, Б. Я. Иммунодефицит у птиц: практ. пособие / Б. Я. Бирман, И. Н. Громов. – Минск : УП «Бизнесосет», 2001. – С. 62–78.
5. Богданова, Е. А. Паразиты и инвазионные болезни лососевых и сиговых в рыбоводных хозяйствах / Е. А. Богданова ; под ред. д-ра биол. наук Н. А. Изюмовой. – Л. : Известия ГосНИОРХ, 1977. – Т. 120. – 161 с.
6. Болезни рыб: справочник / Г. В. Васильков [и др.]; под ред. В. С. Осетрова. – М. : Агропромиздат, 1989. – С. 116–122.
7. Иванов, В. П. Паразитофауна осетровых рыб при естественном и искусственном их воспроизводстве в измененной Волге : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.10 / В. П. Иванов. – Волгоград, 1968. – 20 с.
8. Казарникова, А. В. Основные заболевания осетровых рыб в аквакультуре / А. В. Казарникова, Е. В. Шестаковская. – М. : ВНИРО, 2005. – 104 с.
9. Нечаева, Н. Л. Паразитофауна и паразитарные болезни молоди осетра и севрюги, выращиваемой в бассейнах и прудах : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.19 / Н. Л. Нечаева : Моск. техн. ин-т рыбной пром-сти и хозяйства им. А. И. Микояна. – М., 1953. – 18 с.
10. Сыроватка, Н. И. Эпизоотология основных заболеваний осетровых рыб Азовского бассейна / Н. И. Сыроватка, Е. В. Шестаковская / Роль молодых ученых и специалистов, членов НТО, в реализации Продовольственной программы: тез. докл. II обл. науч.-практ. конф. молодых ученых и специалистов в г. Черногоне, 13–14 августа 1982 г. / Всерос. науч.-исслед. проект.-технол. ин-т механизации и электрификации сел. хоз-ва (ВНИПТИМЭСХ) ; [сост. В. Ф. Бирман и др.]. – Черногоне, 1982. – С. 44–26.
11. Чугалинская, Л. О. Паразиты и болезни рыб, выращиваемых в садках на теплых водах Краснодарской ТЭЦ / Л. О. Чугалинская, В. С. Сулейманян // *Материалы Всес. науч. конф. по интенсификации рыбоводства во внутренних водоемах Северного Кавказа, Ростов-на-Дону, 1979 г.* – М., 1979. – С. 266–268.
12. Шестаковская, Е. В. Паразиты и заболевания осетровых рыб на рыбоводных хозяйствах Азовского бассейна / Е. В. Шестаковская, Т. В. Стрижакова, А. В. Казарникова // *Рыбное хозяйство. Сер. Болезни гидробионтов в аквакультуре / Аналит. и реф. информ.* – М. : ВНИЭРХ, 2000. – С. 25–32.

# ПРАЗИФЕН

ПРЕПАРАТ ВЕТЕРИНАРНЫЙ

применяется для дегельминтизации прудовых карповых рыб при диплостоматидозе, постодиплостомозе, сангвиникозе, тетракодилезе, лигулезе, кавиозе, кариофиллезе, ботриоцефалезе, филометраидозе и скрябиллонозе



WWW.BIEVM.BY