

УДК 597-12:576.85

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСТЕНСИВНОСТИ ПОРАЖЕНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ VEN-ПОДОБНЫМИ ВКЛЮЧЕНИЯМИ У ЗАВОДСКИХ СЕГОЛЕТОК КЕТЫ *ONCORYNCHUS KETA* В ПРОЦЕССЕ РОСТА

С. Л. Рудакова



В 1998–2001 гг. на пяти ЛРЗ Камчатки при обследовании сеголеток тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus* кеты (*O. keta*), нерки (*O. nerka*), чавычи (*O. tshawytscha*) и кижуча (*O. kisutch*) только у кеты в цитоплазме эритроцитов обнаружены VEN-подобные включения округлой формы \varnothing 1,5–3,0 мкм. Выявлена зависимость изменения экстенсивности поражения эритроцитов включениями по мере роста молоди.

Вирусный некроз эритроцитов (VEN) — это болезнь, поражающая более 20 видов морских и анадромных рыб, относящихся к разным семействам (Walker, Sherburne, 1977; Evelyn, Traxler, 1978). Заболевание отмечено в районах Тихого и Атлантического океанов вдоль побережий Северной Америки, Гренландии, Великобритании, Португалии и Норвегии, в Средиземном море и прибрежных водах северной части Японии (Wolf, 1988; Rodger, Richards, 1998).

Из лососевых рыб заболевание наблюдали в период нагула в море у кеты и горбуши (*O. gorbuscha*), а также у атлантического лосося (*Salmo salar*) при выращивании в морской воде (Evelyn, Traxler, 1978; Wolf, 1988). В 1981 г. опубликовано сообщение об обнаружении VEN-включений у производителей кеты, чавычи, кижуча и радужной форели (*Salmo gairdneri*) в питомниках штата Орегон. Более того, включения выявлены также в эритроцитах личинок кеты и молоди кижуча, полученных из икры инфицированных производителей. Это показывает, что заражение рыб может происходить на ранних стадиях развития, протекающих в пресной воде, и, вероятно, вертикальным путем (Rohovec, Amandi, 1981). При экспериментальном заражении в пресной воде к заболеванию восприимчивы мальки кеты, горбуши, нерки, чавычи, кижуча, атлантического лосося, а также американского гольца (*Salvelinus fontinalis*), кумжи (*Salmo trutta trutta*), радужной форели (Wolf, 1988). На рыбозаводских заводах Магаданской области при обследовании производителей кеты, пойманных в реке, отмечали VEN-подобные включения у 40% рыб. При содержании этих производителей в течение месяца количество пораженных особей увеличилось до 62%, а степень поражения эритроцитов перешла от легкой в тяжелую (Головин, Головина, 2000).

Цель проводимых нами исследований — обследовать сеголеток тихоокеанских лососей, выращиваемых на рыбозаводских заводах, на наличие VEN-подобных включений, определить интенсивность и экстенсивность поражения, а также проследить, как изменяется картина пораже-

ния эритроцитов включениями по мере роста молоди.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В 1998–2001 гг. на лососевых рыбозаводских заводах Камчатки Паратунский — ПЛРЗ, Кеткино — КЛРЗ, Озерки — ОЛРЗ, Виллойский — ВЛРЗ, Малкинский — МЛРЗ проводили обследования 1525 экз. сеголеток лососей, из них нерки — 330, чавычи — 315, кижуча — 90 и кеты — 690 экз.

Для приготовления мазков кровь у рыб брали путем отсечения хвостового стебля. Окрашивали раствором Май-Грюнвальда 5 мин., промывали в дистиллированной воде с pH 6,8 и докрашивали рабочим раствором Гимза 25–30 мин. С помощью световой микроскопии мазков крови выявляли VEN-подобные включения (виropлазма) в цитоплазме эритроцитов и характерные изменения в клетках красной крови (Smail, 1982). Мазки просматривали в 30 полях зрения под микроскопом «Olympus BX50» при увеличении $\times 400$ и $\times 1000$. Результат рассматривали как отрицательный, если на мазке было найдено меньше двух эритроцитов с включениями. Процент незрелых эритроцитов определяли, просматривая мазок в четырех различных участках по 250 клеток эритроидного ряда в каждом. Дифференциально считали и выводили процент стадий созревания эритроцитов по формуле (Лабораторный практикум ..., 1983):

$$X = (A \times 100) / 1000 = A \times 0,1\%,$$

где X — искомый процент незрелых эритроцитов, A — число незрелых эритроцитов, встретившихся при подсчете 1000 эритроцитов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

За период с 1998 по 2001 гг. при обследовании заводских сеголеток тихоокеанских лососей внутрицитоплазматические включения в эритроцитах обнаружены только у сеголеток кеты. Экстенсивность поражения у заводской кеты ежегодно изменялась от 6,6% до 100% (таблица).

Как видно из таблицы, самая высокая экстенсивность поражения эритроцитов VEN-подоб-

Таблица. Экстенсивность поражения включениями эритроцитов у заводских сеголеток кеты, %

Год	Паратунский		Кеткино		Озерки		Виллойский	
	I	II	I	II	I	II	I	II
1998	6,66	30	0	36,6	0	0	—	—
1999	30	100	0	50	10	—	20	—
2000	30	73,3	70	93,3	13,3	80	93,3	100
2001	43,3	60	23,3	80	—	—	43,3	56,6

Примечание: I — первый отбор проб; II — второй отбор проб

ными включениями у сеголеток кеты была в 2000 г. Кроме того, в 1998–1999 и 2001 гг. в 30 полях зрения находили, в основном, единичные поражения эритроцитов включениями, тогда как в 2000 г., особенно при повторном отборе проб, от 10 до 56 эритроцитов.

В 2000 г. в эритроцитарной картине крови у сеголеток кеты наблюдали явные изменения кле-

ток характерные для VEN. Ситуация ухудшалась по мере роста молоди. Так, при повторном отборе проб обнаруживали массовые изменения формы (круглые или каплеобразные), вакуолизацию цитоплазмы, смещение ядра к периферии, сегментацию ядер эритроцитов и анизоцитоз (эритроциты различной величины) (рис. 1). Подобные отклонения отмечали как в эритроцитах с включениями, так и без них, особенно в тех случаях, когда интенсивность поражения была тяжелой.

Наиболее показательные изменения, характерные для VEN, получены при исследовании мазков крови сеголеток кеты в 2000 г. Сопоставив эти данные по всем заводам по месяцам (февраль–июнь), обнаружили увеличение встречаемости включений по мере роста молоди (рис. 2). Таким образом, складывается вполне очевидная картина развития инфекции у заводских сеголе-

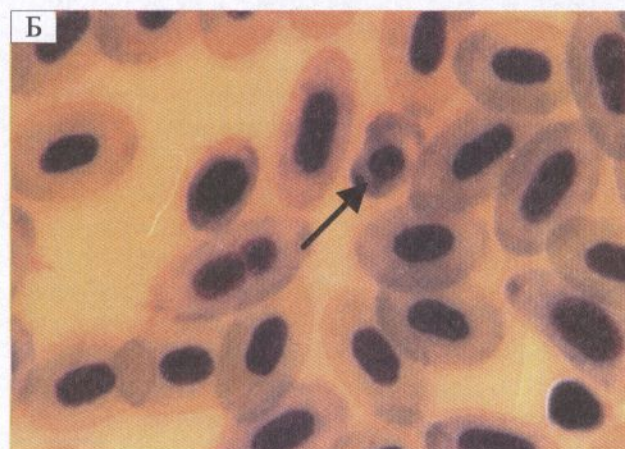
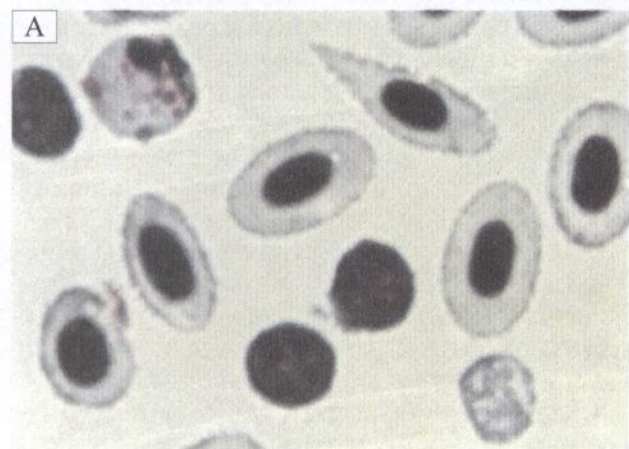


Рис. 1. Изменения в эритроцитарной картине крови при поражении эритроцитов сеголеток кеты VEN-подобными включениями (стрелка). А — изменение формы эритроцита, карioreкسيس; Б — анизоцитоз. Окрашивание по Май-Грюнвальда-Гимза, увеличение $\times 1000$.

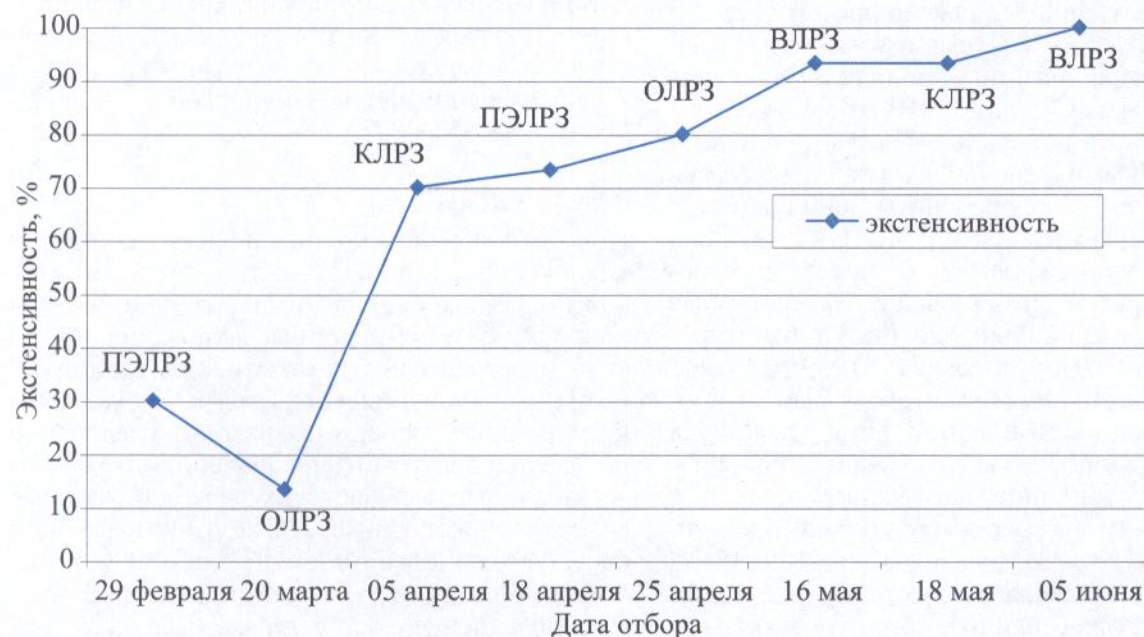


Рис. 2. Изменение экстенсивности поражения VEN-подобными включениями эритроцитов сеголеток кеты в процессе роста молоди (2000 г.)

ток кеты. Начальный этап поражения отмечен в период рассасывания желточного мешка и перехода молоди на самостоятельное питание. В это время типичных для VEN изменений в эритроцитах пока еще не было. При исследовании мазков крови под световым микроскопом отмечено много первичных и от 10 до 50% незрелых эритроцитов. Постепенное нарастание экстенсивности и интенсивности поражения эритроцитов происходило в течение апреля–мая. У молоди к этому времени уже полностью рассосался желточный мешок и исчезли первичные эритроциты. К моменту выпуска молоди экстенсивность поражения включениями эритроцитов достигла 100%, интенсивность изменилась от 10 до 56 пораженных эритроцитов на 30 полей зрения микроскопа (ПЭЛРЗ, КЛРЗ, ВЛРЗ). Как известно (Ведемейер и др., 1981), после выпуска в естественные водоемы заводская молодь некоторое время находится в состоянии стресса. В это время происходит ослабление иммунной системы. Таким образом, рыба живет под двойным прессингом: снижением резистентности в результате смены среды обитания и воздействием VEN-подобных включений. В итоге может возрасти отрицательное воздействие на рыбу ранее приобретенных на заводе инфекционных агентов. Кроме того рыба становится мишенью для новых патогенов, присутствующих в водоеме и у других гидробионтов, обитающих в нем (Ведемейер и др., 1981). Поэтому вполне вероятен повышенный отход сеголеток в этот период, что в результате может привести к снижению численности возвращающихся производителей.

Вирусный некроз эритроцитов наблюдается в разные сезоны года при температуре воды от 5 до 19 °С, но наиболее тяжело протекает летом (Evelyn, Traxler, 1978). Температура воды на заводах при выращивании молоди кеты колеблется от 2,5 до 4,5 °С, а на ПЭЛРЗ от 3,5 до 6,0 °С. Интенсивность поражения эритроцитов кеты VEN-подобными включениями не поднималась выше средней, за исключением 2000 г., когда у этого вида рыб на ПЭЛРЗ, КЛРЗ и ВЛРЗ в 30 полях зрения микроскопа наблюдали до 56 пораженных эритроцитов. Обычно температурные пороги в репликации вирусов имеют лимитирующее значение (Вирусология..., 1989), следовательно, инфекция на обследуемых заводах протекает в хронической форме. Но в реках, куда рыба попадает после выпуска (май–июнь), происходит постепенное нагревание воды и к июню–августу она составляет для реки Паратунки 6–7 °С (ПЭЛРЗ), для р. Авачи — 7–12 °С (КЭЛРЗ), а для р. Большой-Быстрой — 6,6–9,3 °С (ОЛРЗ) (Государственный водный кадастр..., 1987). Таким образом, существует вероятность того, что повышение температуры окружающей

среды может стать еще одним фактором для дальнейшего развития поражения эритроцитов.

Последнее время не всегда оправдываются научные прогнозы по возврату производителей в нерестовые реки, и в связи с этим выдвигается множество версий и причин. Нельзя с абсолютной уверенностью дать объяснение этому процессу. Однако вполне вероятно, что одной из его причин может быть ослабление осморегуляции, препятствующее выживанию сеголеток в море, или, наоборот, лимитирующее возврат производителей из моря в реки на нерест. МакМиллан и Мулкахи (MacMillan, Mulcahy et al., 1980) провели исследование сыворотки крови у покатников кеты с VEN инфекцией. Они обнаружили у них большой разброс значений ионов Na^+ и K^+ , в то время как у контрольных рыб вариация этих показателей была незначительной. Значения ионов Na^+ и K^+ в сыворотке крови, определенные авторами в период перестройки организма рыб к жизни в морской воде, наводили на мысль, что у VEN-инфицированных сеголеток могли возникнуть осложнения с осморегуляцией. Однако это единственные исследования подобного рода и воздействие данного факта на выживание рыб неизвестно (MacMillan, Mulcahy et al., 1980).

По мнению ряда исследователей (Evelyn, Traxler, 1978; Wolf, 1988) вирусный некроз эритроцитов наиболее характерен для морского периода жизни лососей. Считается, что резервуар инфекции находится в океане и, помимо больных лососевых, формировать его могут также и другие рыбы, в частности тихоокеанская сельдь, вирус которой патогенен для лососевых при экспериментальном заражении (MacMillan, Mulcahy, 1979; Wolf, 1988). Нет таких данных для тихоокеанских лососей, заходящих на нерест в реки Камчатки. Для выяснения этого вопроса необходимо провести комплексное исследование крови кеты и сельди, например, в Авачинской бухте или в Охотском море.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При исследовании крови заводских сеголеток тихоокеанских лососей (кеты, нерки, чавычи, кижуча) только у кеты в цитоплазме эритроцитов обнаружены VEN-подобные включения.

Сопоставив результаты исследований по всем заводам за четыре года, мы установили, что по мере роста молоди происходит увеличение поражения эритроцитов включениями.

После выпуска заводских рыб в естественные водоемы у них возникает ослабление иммунной системы под воздействием стресса от изменения среды обитания и от воздействия VEN. Кроме того, повышение температуры воды в реках выше 6 °С (оптимальная для вируса 5–19 °С), также может привести к обострению поражения.

Поэтому возможно увеличение отхода выпущенной молоди кеты, и, как следствие, уменьшение числа возвращающихся производителей.

Для того чтобы выяснить механизм действия вируса VEN (паразита на клеточном уровне) необходимы дальнейшие исследования самого вируса и его воздействия на хозяина.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Ведемейер Г.А., Мейер Ф.П., Смит Л. 1981. Стресс и болезни рыб. М.: Лег. и пищ. пром-сть. 128 с.

Вирусология. 1989. Под ред. Б. Филдса, Д. Найпа. Т. 2. М.: Мир. С. 343–365.

Головин П.П., Головина Н.А. 2000. К проблеме внутриэритроцитарных включений у дальневосточных лососей // Проблемы охраны здоровья рыб в аквакультуре. Тез. науч.-практ. конф. М.: Россельхозакадемия. С. 50–51.

Государственный водный кадастр. 1987. Многолетние данные о режиме и ресурсах поверхностных вод суши / Бассейны рек Камчатской области. Т. 1. Вып. 18. Л.: Гидрометиздат. 385 с.

Лабораторный практикум по болезням рыб. 1983. Под ред. В.А. Мусселиус. М.: Лег. и пищ. пром-сть. С. 28–36.

Evelyn, T.P.T., and G.S. Traxler. 1978. Viral erythrocytic necrosis: Natural occurrence in Pacific

salmon and experimental transmission // J. Fish. Res. Board Can., 35. P. 903–907.

MacMillan, J.R., and D. Mulcahy. 1979. Artificial transmission to and susceptibility of Puget Sound fish to viral erythrocytic necrosis (VEN) // J. Fish. Res. Board Can. 36. P. 1097–1101.

MacMillan, J.R., D. Mulcah, and M. Landolt. 1980. Viral erythrocytic necrosis: some physiological consequences of infection in Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*) // J. Fish. and Aquat. Sci. Can. V. 37, No 5. P. 799–804.

Rodger, H.D., and R.N. Richards. 1998. Observational study of erythrocytic inclusion bodies in farmed Atlantic salmon, *Salmo salar L.*, in the British Isles // J. Fish Diseases. No 21. P. 101–111.

Rohovec J.S., and A. Amandi. 1981. Incidence of viral erythrocytic necrosis among hatchery reared salmonids of Oregon // J. Fish Patol. 15 (3/4). P. 135–141.

Smail, D.A. 1982. Viral erythrocytic necrosis in fish: a review // Proc. R. Soc. Edinburgh (B) 81. P. 169–175.

Walker, R., and S.W. Sherburne. 1977. Piscine erythrocytic necrosis virus in Atlantic cod (*Gadus morhua*), and other fish: ultrastructure and distribution // J. Fish. Res. Board Can., 34. P. 1188–1195.

Wolf, K. 1988. Fish viruses and fish viral diseases // U.S. Fish and wildlife service. 478 pp.