

DOI CrossRef:10.30917/ATT-VK-1814-9588-2023-7-22

Публикуется на принципах открытого доступа

Published under an open access license

Creative Commons Attribution 4.0 International License.

УДК 597.552.512:591.1

Сезонная динамика иммуно-физиологических показателей организма *Oncorhynchus mykiss* при выращивании в садках



Флёрва Е.А.

Флёрва Е.А., кандидат биологических наук, доцент, проректор по научной работе, katarinum@mail.ru

Зайцева Ю.В., кандидат биологических наук, доцент, zjv9@mail.ru

Евдокимов Е.Г., стажер-исследователь, skrad200052@yandex.ru

Доколин Д.А., стажер-исследователь, DimonDokolin@yandex.ru

Злобин И.В., младший научный сотрудник, Iy.zlobin21@yandex.ru

Тютин В.А., студент 4-го курса, victor.t.2002@mail.ru
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова" г. Ярославль

Ключевые слова: форель, *Oncorhynchus mykiss*, гемоглобин, эритроциты, иммуноглобулины, микробиоценоз, кожа

Резюме. Проведено исследование по влиянию бактериальной нагрузки на иммуно-физиологический статус радужной форели. В работе использована товарная рыба, которая была выращена в садковом рыбноводном хозяйстве "Ярославская форель", Россия. Особей отбирали в весенний, летний и осенний период их жизненного цикла. Бактериальное заражение определяли в сердце, почках, селезенке, печени, пристеночной слизи кишечника и фекалиях. Определяли уровень гемоглобина, гематокрит, общее количество эритроцитов и лейкоцитов, лейкоцитарную формулу, количественный анализ антител классов G и M периферической крови. Проводили морфометрический анализ эритроцитов. Показано, что климатические изменения, происходящие в летний период, вызывают

Для цитирования / For citation

Сезонная динамика иммуно-физиологических показателей организма *Oncorhynchus mykiss* при выращивании в садках / Флёрва Е.А. [и др.] // Ветеринария и кормление. – 2023. – №7. – С. – Seasonal dynamics of immunophysiological parameters of *Oncorhynchus mykiss* organism when grown in cages / Flerova E.A. [et al.] // Veterinaria i kormlenie. – 2023. – #7. – P.

Seasonal dynamics of immunophysiological parameters of *Oncorhynchus mykiss* organism when grown in cages

Flerova E.A., Zaitseva Yu.V., Evdokimov E.G., Dokolin D.A., Zlobin I.V., Tutin V.A.
P.G. Demidov Yaroslavl State University

Keywords: trout, *Oncorhynchus mykiss*, hemoglobin, erythrocytes, immunoglobulins, microbiocenosis, skin

Abstract. A study was conducted on the effect of bacterial load on the immuno-physiological status of rainbow trout. The work used marketable fish, which was grown in the cage fish farm "Yaroslavskaya Trout", Russia. Individuals were selected in the spring, summer and autumn periods of their life cycle. Bacterial contamination was determined in the heart, kidneys, spleen, liver, parietal intestinal mucus, and feces. The level of hemoglobin, hematocrit, total number of erythrocytes and leukocytes, leukocyte formula, quantitative analysis of antibodies of classes G and M of peripheral blood were determined. Morphometric analysis of erythrocytes was carried out. It is shown that climatic changes occurring in summer period cause a shift in the physical properties of water, which leads to an increase in the total number of microorganisms in the studied reservoir. This, in turn, increases the contamination of the skin, intestines and feces and causes contamination of parenchymal organs (liver, spleen, kidneys), which indicates the occurrence of inflammatory processes in the body that induce significant changes in the functioning of the immune system and the blood system of rainbow trout. The probable cause of this process is the development of bacterial infections in the population of rainbow trout against the background of a high density of stocking of marketable fish in cages. The seasonal pattern of changes in the activity of the immune system is also influenced by the annual sexual cycle. As a result, the most pronounced responses can be observed in the autumn period, when the accumulated stress from the high summer contamination of parenchymal organs and the beginning of the spawning period are combined. It is difficult to separate the atomic act of the immunological response, and therefore it is difficult to isolate the critical elements that cause the greatest adaptive response in the body of the rainbow trout. Therefore, in order to predict the likely state in each season, an integrated approach should be used, which includes tracking both changes associated with seasonal fluctuations and changes associated with the characteristics of the rainbow trout life cycle.

ют смещение физических свойств воды, что приводит к росту общей численности микроорганизмов в исследованном водоеме. Это в свою очередь способствует увеличению обсемененности кожи, кишечника и фекалий и вызывает обсемененность паренхиматозных органов (печень, селезенка, почки), что свидетельствует о протекании в организме воспалительных процессов, которые индуцируют значительные изменения в работе иммунной системы и системы крови радужной форели. Вероятной причиной данного процесса является развитие бактериальных инфекций в популяции радужной форели на фоне высокой плотности посадки товарной рыбы в садки. На сезонный паттерн изменения активности иммунной системы также оказывает влияние годовой половой цикл. В результате чего наиболее выраженные ответные реакции можно наблюдать в осенний период, когда сочетаются накопленный стресс от высокой летней обсемененности

паренхиматозных органов и начало нерестового периода. Отделить атомарный акт иммунологического ответа сложно, в связи с чем сложно выделить и критические элементы, вызывающие наибольший адаптационный ответ в организме радужной форели. Поэтому для прогнозирования вероятного состояния в каждый сезон нужно использовать комплексный подход, который включает в себя отслеживание как изменений, связанных с сезонными колебаниями, так и изменений, связанных с особенностями жизненного цикла радужной форели.

Введение

В настоящее время рыбные продукты играют большую роль в продовольственной корзине населения, так как обеспечивают не менее 30% потребления белков животного происхождения [31]. С увеличением численности населения развитие отрасли рыболовства привело к истощению рыбных ресурсов, в том числе и сокращению поголовья промысловых рыб, многие из которых находятся на грани вымирания [21]. Поэтому аквакультура, как альтернативный источник рыбной продукции, является самым быстрорастущим сектором производства продуктов питания в мире [21, 24, 36]. Интенсификация технологии разведения, как правило, направлена на увеличение производства товарной рыбы за счет более высокой плотности особей и применения искусственного вскармливания [26]. В этих условиях велика вероятность взрывного роста численности бактерий, что может иметь негативные последствия, в том числе увеличение бактериальной обсемененности органов рыб и продуктов выделения [26, 27, 28]. Возникающие вспышки инфекций препятствуют высокотехнологичному производству товарной рыбы и устойчивому экономическому развитию предприятий, а также могут оказывать потенциально негативное влияние на здоровье населения [22, 23].

Важную роль в ведении аквакультуры играет контроль иммуно-физиологического состояния рыб, так как это позволяет поддерживать поголовье в лучшем состоянии для разведения и не допускать деградации водных экосистем и вспышек массовых заболеваний среди культивируемых объектов при сезонных изменениях физических условий в водоемах [1, 11, 32, 34].

На сегодняшний день радужная форель *Oncorhynchus mykiss* представляет значительную долю рыбной продукции на мировом рынке, поэтому является удобным модельным объектом для изучения влияния бактериальной нагрузки на иммуно-физиологические показатели организма рыб [33]. Наиболее референтными и удобными показателями иммуно-физиологического состояния рыб являются показатели периферической крови и показатели микробной нагрузки организма [11, 33, 35, 36]. Проведение контрольных мероприятий за статусом невозможно без четкой и проработанной системы на основе референтных маркеров, отражающих состояние физиологических процессов рыб [34]. Полученные данные могут быть использованы для контроля и корректировки условий содержания и разведения радужной форели. В теоретическом аспекте полученные данные могут расширить представления о взаимосвязи микробиоценозов водоемов и органов рыб с их физиологическим состоянием.

Материалы и методы

Отбор материала. В работе использовали особи радужной форели *Oncorhynchus mykiss*, возраст 2+. Особей отбирали 12.04.2022 года (10 экз.), 27.08.2022 года (10 экз.), 21.10.2022 года (10 экз.) в садковом рыбноводном хозяйстве "Ярославская форель", Россия, г. Ярославль. Одновременно в садках и на открытом участке водоема на глубине 5 м были отобраны пробы воды. Хозяйство садкового типа, садки расположены на озере Глубокое (57.620448, 39.996725). Средняя температура воды на в апреле составила 2.5°C, в июле – 24°C, в октябрь – 10°C. Диапазон значений водородного показателя в течение 2022 года был смещен в сторону слабощелочного состояния (от 7,7 до 8,3 ед. рН). Концентрация растворенного в воде кислорода варьировала в течение года от 4 мг/дм³ до 5,3 мг/дм³. В момент изъятия особей из водоема применяли анестетик бензокаин (Merck Life Science LLC). Кровь получали пункцией хвостовой артерии, собирали в пробирки с ЭДТА и пробирки с активатором свертывания.

Оценка численности бактериального комплекса. Затем рыба была доставлена в лабораторию, где проводилось вскрытие в стерильных условиях. Иссекали сердце, почки, селезенку, печень и кишечник, а также брали кал

Таблица 1. Количество жизнеспособных микроорганизмов в водоеме и субстрате форели в различные сезоны года
Table 1. The number of viable microorganisms in the reservoir and substrate of trout in different seasons of the year

Субстрат, КОЕ/г	Период отбора проб		
	12.04.2022	27.08.2022	21.10.2022
Вода (садковая часть водоема)	$1,9 \times 10^2$	4×10^2	$4,5 \times 10^2$
Вода (открытая часть водоема)	$5,2 \times 10^2$	1×10^3	5×10^2
Кожная слизь	$2,9 \times 10^5$	$2,2 \times 10^7$	$7,4 \times 10^6$
Сердце	-	$2,2 \times 10^3$	9×10^1
Почки	$3,9 \times 10^1$	$2,9 \times 10^3$	4×10^4
Селезенка	$3,6 \times 10^2$	4×10^3	$1,2 \times 10^2$
Печень	$2,3 \times 10^2$	8×10^3	6×10^1
Пристеночная слизь кишечника	$8,1 \times 10^3$	$4,3 \times 10^4$	$3,4 \times 10^3$
Фекалии	$5,5 \times 10^2$	$5,7 \times 10^5$	$2,4 \times 10^5$

Таблица 2. Показатели периферической крови форели в различные сезоны года
Table 2. Parameters of peripheral blood of trout in different seasons of the year

Показатели	Период отбора проб			норма (Селиверстов, 1999)
	12.04.2022	27.08.2022	21.10.2022	
Количество эритроцитов млн в 1 мкл	$1,42 \pm 0,24^a$	$1,03 \pm 0,09^b$	$1,72 \pm 0,31^c$	$1,15 \pm 0,08$
Количество лейкоцитов в 1 мкл	61850 ± 13017^a	66600 ± 9550^a	76800 ± 14595^b	58700 ± 6400
Гематокрит, %	$67,7 \pm 7,11^a$	$65,7 \pm 11,7^a$	$29,0 \pm 14,8^b$	$35,0 \pm 1,0$

Примечание: здесь и далее в таблицах различными буквами в строках отмечены статистически значимые различия.

для определения бактериального заражения. Все отобранные субстраты были гомогенизированы в соотношении 1:10 в стерильном фосфатно-буферном физиологическом растворе (PBS).

Численность бактериального комплекса исследовали методом посевов, которые проводили в десятикратной повторности из разведений гомогенатов на обеднённую среду МПА. Культивирование проводили в аэробных условиях при температуре 28 °С. Через 48 часов проводили подсчет общего числа колоний, численность бактерий выражали в колониеобразующих единицах на г субстрата (КОЕ/г).

Исследование периферической крови. Гемоглобин определяли на гематологическом анализаторе Sysmex XS-1000 i. Гематокрит рассчитывали стандартным методом [3]. Подсчёт общего количества эритроцитов проводили с помощью камеры Горяева и светооптического микроскопа "Микмед-6" по стандартной методике [19]. На зафиксированных и окрашенных по методу Романовского - Гимза мазках крови и отпечатках почки идентифицировали стадии зрелости эритроцитов, используя микроскоп "Микмед-6" [19]. На каждом стекле отпечатка мезонефроса и мазка периферической крови измеряли по 250 эритроцитов. Линейные размеры эритроцитов определяли по фотографиям с помощью программы JMicroVision. Рассчитывали показатель формы клетки, объем клетки, площадь поверхности клетки, ядерно-цитоплазматическое отношение, удельную поверхность эритроцитов, используя формулы, указанные в работе Т.А. Кухаревой и А.А. Соддатова [10]. Определение количества иммуноглобулинов проводили с помощью автоматического анализатора Cobas 8000.

Анализ и статистическая обработка данных. Данные в работе представлены в виде средних значений и их стандартных отклонений ($m \pm s_{sd}$). Для определения статистической значимости различий двух выборок применяли двусторонний ANOVA. Для оценки коллинеарности изменений в различные сезоны использовали корреляционный анализ. Для визуализации данных применялось снижение размерности с помощью двухкомпонентного метода главных компонент (PCA).

Таблица 3. Лейкоцитарная формула периферической крови форели в различные сезоны года
Table 3. Leukocyte formula of peripheral blood of trout in different seasons of the year

Период отбора проб		
12.04.2022	27.08.2022	21.10.2022
85±4,0 ^a	81±6,6 ^a	74±5,0 ^b
12±2,0 ^a	11,3±2,9 ^a	21,4±4,6 ^b
0,4±0,5 ^a	2,6±2,6 ^b	0,7±0,7 ^a
1,0±0,7 ^a	1,6±1,7 ^a	1,5±1,7 ^a
2,0±1,3 ^a	3,3±1,5 ^a	2,6±1,6 ^a

Примечание: ПЯН – палочкоядерные нейтрофилы, СЯН- сегментоядерные нейтрофилы

Таблица 4. Концентрация иммуноглобулинов периферической крови форели в различные сезоны года
Table 4. The concentration of immunoglobulins in the peripheral blood of trout in different seasons of the year

Иммуноглобулины	Период отбора проб		
	21.10.2022	27.08.2022	21.10.2022
М, мг/л	90±22 ^a	33±26 ^b	13±3,0 ^b
Г, мг/л	202±10 ^a	66±10 ^b	34±8,0 ^c

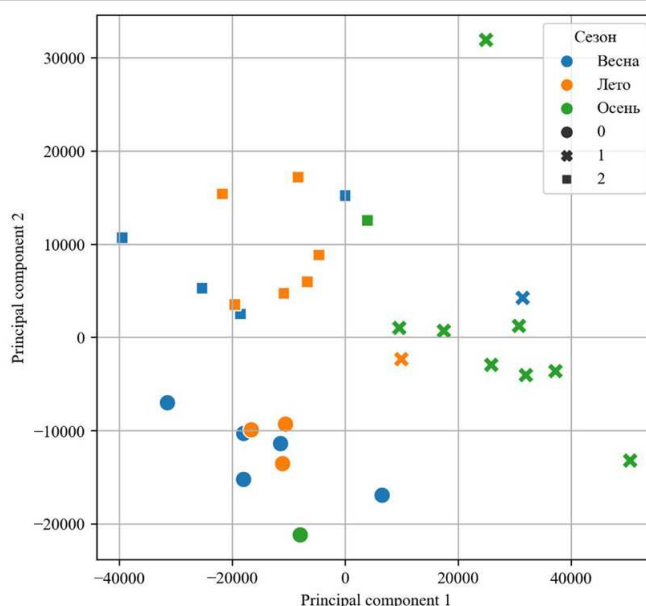


Рис. 1. Распределение исследуемых особей на двухмерной плоскости после снижения размерности.

Примечание: Principal component 1 несет 74% процента общей дисперсии, Principal component 2 несет 21%. 0,1,2 - физиологический паттерн.

Fig. 1. Distribution of the studied individuals on a two-dimensional plane after dimension reduction.

Note: Principal component 1 carries 74% of the total variance, Principal component 2 carries 21%. 0,1,2 - physiological pattern.

Для разделения исследуемых особей на группы по гематологическим признакам применяли кластерный анализ методом K-means. Критический уровень значимости для всех видов сравнений принимали равным 0.05 (p>0.05). В таблицах различными буквами указаны статистически значимые различия между различными клетками. Анализ данных проводили с помощью программного обеспечения: MS Office, Statistica 10, IPython 7.29.0.

Результаты

Показатели бактериальной обсемененности водоема и рыб. Микробиологический анализ показал, что количество микроорганизмов в водной среде, органах и продуктах выделения рыб варьировало в пределах от 101 до 107 КОЕ/г. Исключение составили субстраты сердца, отобранные у особей в весенний сезон их жизненного цикла, данный орган был стерилен (табл. 1). Наибольшее количество жизнеспособных микроорганизмов как в открытой части водоема, так и в садках обнаружено в летний период, при этом значение данного показателя на порядок выше в открытой части водоема по сравнению с садковой. Аналогичная тенденция наблюдалась и для кожной слизи исследованных особей. В целом, количество микроорганизмов в кожной слизи более чем в 2 раза превышало значения для внутренних паренхиматозных органов вне зависимости от сезона года. Среди органов брюшной полости (печень, селезенка, пристеночная слизь кишечника) количество микроорганизмов наибольшее в летний период отбора проб, тогда как количество микроорганизмов в почках (органах, находящихся вне брюшной полости) количество микроорганизмов возрастало с каждым отбором проб и было максимальным в осенний период. В фекалиях в летний период, по сравнению с весенним, произошло резкое увеличение количества микроорганизмов и данный показатель в осенний период оставался на том же уровне (табл. 1).

Показатели периферической крови. Общее количество эритроцитов крови форели в весенний период был в

Таблица 5. Морфометрические параметры эритроцитов периферической крови форели в различные сезоны года
Table 5. Morphometric parameters of trout peripheral blood erythrocytes in different seasons of the year

Параметры	Периоды измерения		
	21.10.2022	27.08.2022	21.10.2022
Объём клетки, мкм ³	105267±506 ^a	105456±392 ^a	86129±376 ^b
Объём ядра, мкм ³	20385±243 ^a	21381±222 ^b	17940±180 ^c
Ядерно-цитоплазматическое отношение	6,44±0,07 ^a	5,83±0,06 ^b	5,55±0,05 ^c
Площадь поверхности клетки, мкм ²	127545±597 ^a	126337±460 ^b	102489±456 ^c
Индекс формы клетки	1,39±0,003 ^a	1,36±0,004 ^b	1,42±0,004 ^c
Удельная площадь поверхности	1,22±0,003 ^a	1,2±0,002 ^b	1,19±0,002 ^c

диапазоне нормальных значений для данного показателя. В летний период произошло достоверное снижение данного показателя, общее количество эритроцитов было ниже физиологической нормы. В осенний период произошел резкий скачок в крови общего количества эритроцитов, значения для данного показателя были наибольшими по отношению к остальным периодам отбора проб и превысили показатели физиологической нормы (табл. 2).

Значения общего количества лейкоцитов периферической крови форели в весенний и летний период были аналогичны и находились в пределах физиологической нормы. Увеличение данного показателя произошло в осенний период отбора проб. Несмотря на скачок общего количества лейкоцитов в крови отобранных особей в осенний период, данный показатель находился в пределах физиологической нормы (табл. 2). Гематокрит в весенний период соответствовал значениям физиологической нормы. В летний период изменений в значениях данного показателя не обнаружено. В осенний период произошло снижение данного показателя в 2,3 раза по отношению к весенне-летнему периоду (табл. 2).

В периферической крови форели вне зависимости от сезона обнаружены пять типов зрелых форм лейкоцитов: лимфоциты, моноциты, эозинофилы, палочкоядерные и сегментоядерные нейтрофилы. Доля лимфоцитов в пуле обнаруженных лейкоцитов во всех сезонах была наибольшей и превышала физиологическую норму для данного показателя. Отмечено, что относительное количество лимфоцитов в осенний период достоверно снизилось по отношению к весенне-летнему периоду (табл. 3). Количество моноцитов также изменилось в осенний период по отношению к весеннему и летнему сезонам. Их доля увеличивалась в 1,8 раза. Следует отметить, что вне зависимости от сезона года относительное количество моноцитов в крови форели превышало физиологическую норму более, чем в 2 раза. В летний период отмечено двукратное увеличение доли палочкоядерных нейтрофилов по сравнению с весенним и осенним периодами. Доля палочкоядерных нейтрофилов в летний период в крови форели превышала физиологическую норму более, чем в два раза. Статистически значимых изменений в относительных количествах зрелых форм лейкоцитов (сегментоядерные нейтрофилы, эозинофилы) в зависимости от сезона не обнаружено. Доля сегментоядерных лейкоцитов находилась ниже значений физиологической нормы во все рассматриваемые сезоны (табл. 3).

Концентрация иммуноглобулинов периферической крови форели классов М и G снижалась в процессе смены сезонов года. Так наибольшая концентрация обоих классов антител была обнаружена в весенний период исследования. В летний период она снизилась примерно в 3 раза по сравнению с весенним периодом. В осенний период было отмечено снижение концентрации иммуноглобулинов в периферической крови примерно в два раза по отношению к летнему периоду (табл. 4).

Морфометрические параметры эритроцитов периферической крови форели изменялись разнонаправленно в различные сезоны года. Так объём эритроцитов при смене весеннего сезона на летний оставался неизменным, но значительно снижался в осенний период (табл. 5).

В весенний период для эритроцитов крови наблюдались наибольшее ядерно-цитоплазматическое отношение, площадь поверхности и удельная площадь поверхности клетки. При смене сезона на летний данные показатели снижались. При наступлении осени указанные параметры клеток продолжали снижаться и достигали своих минимальных значений за весь период исследования (табл. 5).

Показано, что объём ядра увеличился при смене сезона с весеннего на летний и резко уменьшился в осенний период. Индекс формы клетки, напротив, снизился в летний период по отношению к весеннему и достиг максимума в осенний период (табл. 5).

Показаны достоверная положительная корреляция между возрастанием обсеменённости печени, сердца и селезенки, между возрастанием обсеменённости кишечника и обсеменённости селезенки, между возрастанием обсеменённости и возрастанием процентной доли эозинофилов в периферической крови исследованных особей. При этом важно отметить, что наблюдались антипараллельные закономерности изменения изученных показателей. Так на фоне повышения общего количества лимфоцитов произошло достоверное снижение их доли в периферической крови.

Для уточнения данных по различиям в физиологических показателях были проведены кластерный анализ и анализ главных компонент. На рисунке 1 представлена визуализация кластеризованных данных после снижения размерности посредством метода главных компонент.

В ходе исследования обнаружено, что по всем представленным в работе показателям крови исследованные особи распределились на три различающихся кластера, имеющие свой уникальный физиологический паттерн. Каждому кластеру присвоена метка 0, 1, 2 (рис. 1).

Показано, что наибольшей обособленностью обладает кластер под меткой 1, так главная компонента 1 объясняет большую долю дисперсии вариации признаков. Преимущественно данный кластер сформирован животными, отобранными в осенний период. При этом кластеры под метками 0 и 2 имеют смешанный состав животных, отобранных в летний и весенний периоды (рис. 1).

Обсуждение

Благополучие рыб в садковом хозяйстве во многом зависит от качества воды в рыбоводном водоеме, в том числе и по микробиологическим показателям [12]. В работах ряда авторов указывается, что при превышении показателя бактериальной обсеменённости воды до значения 10⁴ КОЕ/мл резко возрастает обсеменённость внутренних органов рыб [8]. В исследованном водоеме на протяжении всего времени мониторинга общая числен-

ность микроорганизмов не превышала значения 2×10^3 КОЕ/мл, что, на первый взгляд, указывает на благоприятную микробиологическую обстановку для разведения радужной форели в данном водоеме.

Несмотря на низкие показатели количества жизнеспособных микроорганизмов в воде нами была отмечена значительная обсемененность кожи и кишечника радужной форели. Также было выявлено обсеменение внутренних паренхиматозных органов (печени, селезенки, почки) рыбы. Согласно данным исследований, обсемененность кожи, кишечника и фекалий радужной форели наблюдается даже у здоровых особей [8], в то время как обсемененность паренхиматозных органов обычно свидетельствует о протекании в организме воспалительных процессов [5, 7, 30]. Вероятной причиной данного процесса является развитие бактериальных инфекций в популяции радужной форели на фоне высокой плотности посадки товарной рыбы в садки.

Наибольшее количество микроорганизмов на коже и во внутренних органах наблюдалось в летний период наблюдений. В весенний и осенний периоды соответствующие показатели были меньше примерно в 10–100 раз. Данное явление объясняется совокупностью двух процессов: интенсификацией микробиологических процессов в воде, связанной с сезонным повышением температуры воды и угнетением иммунной системы рыб, связанной с повышением температуры воды до уровня верхнего пессимума для радужной форели. Полученные результаты согласуются с данными других авторов [15, 16, 34].

Ранее было показано, что общее количество лейкоцитов варьирует в зависимости от сезона года, так было отмечено, что наибольшее количество лейкоцитов обнаружено в крови в летний период, а наименьшее в зимний период исследования [36]. В нашем исследовании количество лейкоцитов также имеет сезонную динамику, при этом обнаружен сдвиг в сторону увеличения общего количества лейкоцитов к более позднему-осеннему периоду. Вероятно, значительное повышение количества лейкоцитов в периферической крови, наблюдаемое в осенний период, является ответом на высокую обсемененность внутренних органов в летний период и как следствие увеличением нагрузки на иммунитет рыб [26, 29]. Несмотря на то, что в осенний период наблюдается снижение количества микроорганизмов в окружающей среде и органах форели, вероятно, высокое количество лейкоцитов в данный период наблюдается из-за накопления стрессового воздействия высокой обсемененности окружающей среды, которая остается высокой в садковой части и в осенний период. Известно, что эффект от стрессового воздействия на иммунную систему рыб может сохраняться до 18 недель [2, 25]. Кроме того, получены данные, демонстрирующие, что у радужной форели в осенне-зимний период наблюдается возрастание иммунной активности, по сравнению с весенне-летним [20].

В нашем исследовании показано, что суммарная концентрация IgM и IgG – показателей как врожденного, так и адаптивного иммунитета находилась на низком уровне, по сравнению с данными, полученными для клинически здоровых костистых рыб, что косвенно указывает на подавление гуморальных факторов иммунитета форели в условиях садкового хозяйства "Ярославская форель" [2]. При этом отмечено, что количество антител класса M и G уменьшается в ряду весна-лето-осень.

В тоже время показатели общего количества эритроцитов находились в норме. Ранее было описано, что изменение количества эритроцитов может изменяться из-

за изменения численности поголовья рыб, температуры воды и стадии годового цикла развития [4, 36, 37]. Согласно полученным данным, наименьшее количество эритроцитов в периферической крови наблюдалось в летний период, а в осенний период происходило резкое возрастание данного показателя, что противоречит представлениям о зависимости количества красных клеток крови от температуры среды обитания. Данное явление объясняется значительными изменениями в системе крови, связанными с половым циклом форели, т.к. известно, что в преднерестовый период происходит снижение общего количества эритроцитов с последующим резким повышением этого показателя с наступлением нереста [9, 2, 36].

Следует отметить, что у форели в условиях садкового хозяйства "Ярославская форель" в осенний период происходит значительное снижение гематокрита, что вызвано значительным изменением объема клеточных структур и объема общей циркулирующей крови. Известно, что гематокрит варьирует в пределах 23,8% – 32,9%. Наибольший показатель гематокрита наблюдается в летний период исследований, а наименьший в зимний [36]. Вероятно, причина такого несоответствия кроется в наличии нерестового периода у радужной форели в осенний период, перед которым происходит значительное снижение количества циркулирующих эритроцитов [2, 9].

В тоже время можно отметить, что в летний и осенний период в пуле эритроцитов нарастает доля молодых эритроцитов, т.к. в среднем форма клеток и удельная поверхность клеток приближаются к показателям более молодых форм – полихроматофильных эритроцитов. Что также подтверждается уменьшением объемных параметров клеток крови в осенний период исследований. Данные изменения также объясняются изменением активности пролиферации эритроидного ростка кроветворения в нерест и постнерестовый период [9, 17].

Корреляционный анализ показал, что при повышении показателей иммунной системы уменьшаются показатели транспортной системы крови. А при увеличении обсемененности возрастает количество эозинофилов, что также указывает на функционирование клеточного звена иммунитета в условиях повышенной бактериальной нагрузки.

Мы предполагаем, что по данным кластерного анализа наибольшие отличия в показателях иммуно-физиологического статуса осенней группы животных по сравнению с особями весенне-летнего сезона в первую очередь связаны с уменьшением уровня резистентности на стресс, вызванный началом нереста. Тогда как изменение обсеменности организма и плавные изменения температуры с апреля по август приводят к меньшим колебаниям гематологических и иммуно-физиологических показателей, и как следствие большому уровню резистентности к стрессу, связанному с данной категорией факторов.

Заключение

Показана большая степень влияния сезонных изменений среды обитания на иммуно-физиологический статус радужной форели. Климатические изменения, происходящие в летний период, вызывают смещение физических свойств воды, что приводит к повышению обсеменности исследованного водоема. Это в свою очередь индуцирует значительные изменения в работе иммунной системы и системы крови радужной форели.

На сезонный паттерн изменения активности иммунной системы оказывает влияние годовой половой цикл. В результате чего наиболее выраженные ответные реакции можно наблюдать в осенний период, когда сочетаются накопленный стресс от высокой летней обсеменности

паренхиматозных органов и начало нерестового периода.

Отделить атомарный акт иммунного ответа и соответственно, выделить и критические элементы, вызывающие наибольший адаптационный ответ в организме радужной форели сложно. Поэтому для прогнозирования вероятного состояния в каждый сезон нужно использовать комплексный подход, который включает в себя отслеживание как изменений, связанных с сезонными колебаниями, так и изменений, связанных с особенностями жизненного цикла радужной форели.

Исследование проведено при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-26-20123, <https://rscf.ru/project/22-26-20123/>.

Литература

1. Абдуллаева Н.М., Рамазанова М.Г., Габибов М. Изучение физиологического состояния осетровых рыб среднего Каспия // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. - 2016. - Т. 18. - № 2-1. - С. 7-9.
2. Аглеев И.Н., Бушов А.В. Косвенный отбор самок форели как селекционный прием повышения их продуктивности и резистентности // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2020. - Т. 50. - № 2. - С. 180-186.
3. Акулов С.А., Чистякова И.Б., Федотов А.А. Методы измерения уровня гематокрита крови // Приволжский научный вестник. - 2014. - Т. 39. - № 11-1. - С. 29-32.
4. Андреева А.Ю., Кухарева Т.А., Кладченко Е.С., Солдатов А.А. Сравнительная характеристика клеточного состава кроветворных органов морского ерша (*Scorpaena roscus* L.) в период нереста и функционального покоя // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. - 2021. - Т. 14. - № 2. - С. 195-207.
5. Бубенко Т.Ю., Авдеева Т.В. Динамика микрофлоры форели форелевого рыбоводного хозяйства "Прибрежное" за длительный период // Балтийский морской форум: Материалы VII Международного Балтийского морского форума. В 6-ти томах, Калининград, 07-12 октября 2019 года. Том 3. - Калининград: Балтийская государственная академия рыбопромыслового флота федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования "Калининградский государственный технический университет". - 2019. - С. 198-202.
6. Васильков Г.В., Грищенко Л.И., Енгашев В.Г. Болезни рыб. Справочник - Москва: Агропромиздат, 1989. - 288 с.
7. Казимирченко О.В. Бактерии семейства Enterobacteriaceae (Rahn, 1937) в микрофлоре некоторых видов промысловых рыб из водоемов калининградской области // Балтийский морской форум. - 2019. - С. 259-265.
8. Конев Н.В. Нормальная микрофлора рыб и ее роль в возникновении бактериальных заболеваний, вызванных стрессом // Науч. тр. ГосНИОРХ. - СПб., 1997. - № 4. - 44 с.
9. Кухарева Т.А. Клеточный состав крови и гемопоэтических органов у некоторых видов донных рыб (севастопольская бухта, черное море): специальность 03.02.10 "Гидробиология": диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Кухарева Татьяна Александровна; - ФИЦ Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, 2019. - 150 с. - Библиогр.: 150 с. - Текст: непосредственный
10. Кухарева Т.А., Солдатов А.А. Функциональная морфология эритроидных элементов крови *Neogobius melanostomus* P. в процессе клеточной дифференцировки // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. - 2016. - Т. 52. - № 3. - С. 233-238.
11. Маклакова М.Е. Иммuno-физиологический статус у рыб из природных популяций и аквакультуры в норме и при патологии: 0.3.03.03. "Иммунология": автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Маклакова Мария Евгеньевна; - МГУ, 2012. - 22 с. - Библиогр.: 22 с. - Текст: непосредственный
12. Морозова М.А., Дьяченко М.А., Абросимова Н.А., Чемисова О.С., Степанова Ю.В., Пархоменко Ю.О. Микрофлора паренхиматозных органов у молоди карповых рыб в товарных рыбоводных хозяйствах // Комплексные исследования в рыбохозяйственной отрасли. - 2018. - С. 80-85.
13. Мадеев С.А., Савельева И.С. Богданова Ю.З. Разведение форели // Актуальные вопросы науки и хозяйства: новые вызовы и решения Сборник материалов LI Международной студенческой научно-практической конференции, Тюмень, 16 марта 2017 года. Том Часть 1. - Тюмень: Государственный аграрный университет Северного Зауралья, 2017. - С. 198-200.
14. Определитель бактерий Берджи [Текст]: в 2-х томах / [Р. Беркли и др.]; под ред. Дж. Холта [и др.]; пер. с англ. под ред. акад. РАН Г. А. Заварзина. - 9-е изд. - Москва: Мир, 1997. - 26 см.
15. Паршуков А.Н., Сидорова Н.А. Микробиоценоз радужной форели в садковых хозяйствах северной Карелии // Ученые записки

- Петрозаводского государственного университета. - 2014. - Т. 145. - № 8-1. - С. 28-33.
16. Семушин А.В. Экология гетеротрофного бактериопланктонного сообщества прибрежных поверхностных вод Соловецкого архипелага: специальность 03.00.16: диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Семушин Андрей Владимирович. - Сыктывкар, 2003. - 138 с.
17. Солдатов А.А. Особенности организации и функционирования системы красной крови рыб (обзор) // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. - 2005. - Т. 41. - № 3. - С. 217-223.
18. Солдатов А.А., Кухарева Т.А. Эритропоэз и содержание аномальных эритроидных форм в крови бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* (Pallas), 1811 (Osteichthyes: Gobiidae) // Биология моря. - 2015. - Т. 41. - № 2. - С. 138-142
19. Тимакова Т.К., Флёрова Е.А., Заботкина Е.А. Методы световой и электронной микроскопии в биологии и ветеринарии: учебно-методическое пособие. Ярославль: ФГБОУ ВПО "Ярославская ГСХА". - 2014. - 72 с.
20. Хмунина М.В., Карпенко Л.Ю., Бахта А.А. Сезонность фагоцитоза радужной форели // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2015. - № 3. - С. 276-278.
21. Шайхив И.Г., Свергузова С.В., Сапронова Ж.А., Святченко А.В., Ушакова Н.А. Использование биомассы насекомых для выращивания радужной форели в аквакультуре (краткий обзор зарубежной литературы) // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. - 2021. - № 1. - С. 69-81.
22. Austin B., Austin D.A., Munn C.B. Bacterial fish pathogens: disease of farmed and wild fish // Chichester: Springer. - 2007. - Т. 26. - P. 552.
23. Avdeeva E.V. Conditionally pathogenic bacteria of fish in natural and artificial reservoirs of the Kaliningrad region // Proceedings of VNIRO. - 2017. - Т. 167. - P. 104-109.
24. da Silva Santos P. J. Seasonal dynamics in cellular and humoral immune parameters in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). - 2019.
25. Eggset G., Mikkelsen H., Killie J. A. N. E. A. Immunocompetence and duration of immunity against *Vibrio salmonicida* and *Aeromonas salmonicida* after vaccination of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) at low and high temperatures // Fish & Shellfish Immunology. - 1997. - V. 7. - № 4. - С. 247-260.
26. Elsaidy N., Abouelenien F., Kirrella G. A. K. Impact of using raw or fermented manure as fish feed on microbial quality of water and fish // The Egyptian Journal of Aquatic Research. - 2015. - V. 41. - № 1. - С. 93-100.
27. Fryer J.L., Sanders J.E. Bacterial kidney disease of salmonid fish // Annual Reviews in Microbiology. - 1981. - V. 35. - № 1. - P. 273-298
28. Horsley R.W. A review of the bacterial flora of teleosts and elasmobranchs, including methods for its analysis // Journal of Fish biology. - 1977. - V. 10. - № 6. - P. 529-553.
29. La?i D., Bizhga B. The antibiotic resistance of bacterial pathogens isolated from poultry manure used for fish ponds // ANGLISTICUM. Journal of the Association-Institute for English Language and American Studies. - 2016. - V. 2. - № 4. - С. 182-189.
30. Llewellyn M.S., Boutin S., Hoseinifar S.H., Derome N. Teleost microbiomes: the state of the art in their characterization, manipulation and importance in aquaculture and fisheries // Frontiers in Microbiology. - 2014. - V. 2. - № 5. - P. 207.
31. Omojowo F.S., Omojasola P. F. Microbiological quality of fresh catfish raised in ponds fertilized with raw sterilized poultry manures // FISON - 2013. - P. 42-45
32. Pastorino P., Bergagna S., Dezzutto D., Barbero R., Righetti M., Pagliasso G., Gasco L., Gennero M.S., Pizzul E., Dondo A., Prearo M. Long-Term Assessment of Baseline Blood Biochemistry Parameters in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) // Maintained under Controlled Conditions. Animals. - 2020. - V. 10. - № 9. - 1466.
33. Pastorino P., Bergagna S., Vercelli C., Pagliasso G., Dellepiane L., Renzi M., Barbero R., Re G., Elia A.C., Dondo A., Barcel? D., Prearo M. Changes in Serum Blood Parameters in Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fed with Diets Supplemented with Waste Derived from Supercritical Fluid Extraction of Sweet Basil (*Ocimum basilicum*) // Fishes. - 2022. - V. 7. - № 2. - 89.
34. Roh H.J., Kim A., Kim N., Lee Y., Kim D.H. Multi-omics analysis provides novel insight into immuno-physiological pathways and development of thermal resistance in rainbow trout exposed to acute thermal stress // International journal of molecular sciences. - 2020. - V. 21. - № 23. - С. 9198.
35. Roh H., Kim B.S., Kim A., Kim N., Lee M.K., Park C. I., Kim D.H. Changes in hematoserological profiles and leukocyte redistribution in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under progressive hypoxia // Journal of fish pathology. - 2020. - V. 33. - №1. - P. 23-34.
36. Sheikh Z. A., Ahmed I. Seasonal changes in hematological parameters of snow trout *Schizothorax plagiostomus* (Heckel 1838) // International Journal of Fauna and Biological Studies. - 2016. - V. 3. - № 6. - P. 33-38.
37. Yarahmadi P., Miandare, H. K., Hoseinifar, S. H., Gheysvandi, N., Akbarzadeh, A. The effects of stocking density on hemato-immunological and serum biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // Aquaculture International. - 2015. - V. 23. - P. 55-63.