

Zaključci:

Biotopi voda, u koje smo dosada rakove nasadivali, odgovaraju posve za njihovu egzistenciju po hemijskoj, biološkoj i bakteriološkoj slici. Izvorne vode, iz kojih rakovi potiču, su isto tako besprekorne. Uz

goj mladih račića za naseljavanje je moguć, moramo samo upotpuniti njegovu metodiku. Odgoj račića u ribogojnim objektima je vrlo značajan — zbog toga, da dobijemo što više materijala za nasadivanje, pošto je broj nezagađenih voda sve manji.

Rezume — Auszug:

Vorliegende Arbeit stellt dar unsere Untersuchungen von 14 Flüsse aus Dolenjska im Zusammenhang mit Repopulation des Edelkrebse in J. 1960. — 1973.

Bearbeitet 3 Gebiete aus welchen die Edelkrebse stammen, sowie Flüsse in welche wir diese angezie-

delt haben; ebenso den Erfolg der Ansiedlung und Gesundheitszustand. Weiter bearbeitet den Erfolg der Aufzucht in Zuger-Glässern, welcher uns als Unterlage für weitere Züchtung dienen soll.

LITERATURA:

- Dr. Jos. Hoffmann: Die Flusskrebse, nov. 1971;
De la Bretone, Lary Jr., James W. Avault Jr. and R. Oneal Smitherman 1969: Effects of soil and water hardness on survival and growth of red swamp crayfish, *Procambarus Clardi* in plastic pools;
J. Hensen: Der Neubesatz Österreichischer Gewässer mit Krebsen, Österreichische Fischerei 71—2;
Jaspers, Edmonde and James W. Avault Jr. 1969: Environmental conditions in burrows and ponds of the red swamp crayfish (*Procambarus Clardi* — Girard — near Baton Rouge, Louisiana;

- Avault James W. Jr. 1970: Crayfish studies at Louisiana State University;
Sture Abrahamsson: Erneuerung der Krebsbestände mit Signalkrebsen aus der Zucht Slimontorp, Sweden, 1972;
Poole, Wiley D. and James W. Avault Jr. 1971: Luisianas crustacean King; agricultural Engineering 1952 (10): 510—511;
P. Laurent, France: Astacus and Cambarus in France, 1972;
J. Kosakovsky: The freshwater crayfish in Poland, 1972.

Mr Gordana Karović

Prof. dr Nikola Fijan

Zavod za biologiju i patologiju riba i pčela
Veterinarski fakultet sveučilišta u Zagrebu

Imunitet i imunizacija riba*

UVOD

Organizmi se brane od stranih tvari koje uđu u njih na više načina. Jedan od najvažnijih načina obrane protiv bjelančevina i nekih organskih tvari, tzv. antigena, je stvaranje obrambenih tijela ili antitijela. Ovaj način obrane koriste mnogi organizmi kada u njih uđu bakterije, virusi i neki paraziti. Stvorena antitijela onesposobljuju djelomično ili potpuno te stranice. No, da bi se antitijela stvorila, potrebno je da prođe izvjesno vrijeme i da za sintezu tih tvari postoje povoljni uvjeti u organizmu. Na taj način stečenu otpornost prema nekom uzročniku bolesti nazivamo aktivnim imunitetom.

S biološkog gledišta imunitet je od prvenstvene važnosti za prilagođavanje i preživljavanje vrste i populacije.

Sposobnost ljudi i životinja da stvore imunitet koristi se već dugo u svrhu zaštite njihovog zdravlja. Postupak unošenja ubijenih ili živih uzročnika bolesti u organizam na umjetan način a u svrhu stvaranja antitijela i zaštite od nekih bolesti, nazivamo vakcinacijom ili aktivnom imunizacijom. Vakcinacije su jedno od najjačih oružja humane i veterinarske medicine, u borbi protiv zaraznih bolesti.

Pitanje da li su ribe sposobne stvoriti imunitet i kakve su njegove karakteristike, od teoretskog su i praktičkog značenja, pa su potakle na opširna istraživanja posljednjih godina. U inozemnoj literaturi izašlo je nekoliko pregleda poznavanja tog područja. (28). Sve intenzivnija i veća proizvodnja riba traži da se u borbu protiv bolesti uključe sva sredstva i metode pa i vakcinacija. Obradit ćemo pitanja imunog odgovora kao i dosadašnja iskustva o vakcinaciji riba koštunjača (Teleostea).

* Ovaj članak je objavljen i u časopisu »Praxis Veterinaria«.

1. Karakteristike imunog odgovora u riba

Sposobnost stjecanja imuniteta prema uzročnicima bolesti u životinja ovisi o vrsti, spolu, starosti, genetskoj osnovi, klimi, ishrani, općem stanju organizma kao i o prirodi uzročnika. Do sada je malo poznato o specifičnostima imunog odgovora pojedinih vrsta riba. Podaci iz prakse ukazuju da razlike sposobnosti stjecanja specifične otpornosti vezanih uz spol nema. Isto tako ne postoje podaci o genetski uzrokovanim razlikama u imunom odgovoru ribe. Međutim, postoje razlike vezane uz uzrast. Također i promjene u hormonalnom sustavu mogu utjecati na imuni aparat, pa je moguće da je veća primirljivost za virusne i bakterijske infekcije kod riba u proljeće, vezana uz fiziološke promjene u radu tog sustava.

U pogledu vanjskih faktora, klimatski uvjeti i hrana znatno utječu na opću, nespecifičnu otpornost životinja i na stjecanje specifične otpornosti. Nespecifična otpornost dobro ishranjene ribe prema infekcijama, naročito bakterijskim, bit će veća, dok je kod nekih virusnih infekcija (na pr. zarazna nekroza gušterače pastrve) manja. Slabije i kahetične ribe su u nekim slučajevima manje primirljive za neke virusne bolesti stoga, što samo intenzivan metabolizam stanica pogoduje razmnažanju virusa. Razvoju specifične otpornosti, te imunitetu prema pojedinim bolestima pogoduje dobro držana i pravilno hranjena riba. Drugi vanjski faktor koji utječe na stvaranje imuniteta u riba je temperatura okoline. Naime, već prema prvim radovima o imunitetu riba može se utvrditi da ribe mogu stvarati antitijela pod uvjetima da je temperatura vode između 15 i 25° C, dok ispod navedenih temperatura većinom nema imunog odgovora ili je on slab (5, 6, 23, 24). Postoji niz radova (1, 4, 8, 9) u kojima je eksperimentalno potvrđen utjecaj temperature na produkciju antitijela u šarana prema različitim antigenima (inaktivirani svinjski serum teleći serum, brucela, BSA i dr). Pokusi su bili izvršeni na šaranima, koji su bili držani na 6 — 7° C i 15 — 25° C. Nakon unošenja antigena, utvrđena su antitijela samo kod šarana držanih na temperaturi između 15 i 25° C. Iz pregleda narednih radova može se zaključiti da šarani na temperaturi nižoj od 11° C ne stvaraju antitijela. Pri tome treba dodati da produkcija antitijela ovisi također i o načinu davanja antigena. Naime, dodatak Freundovog adjuvansa uz antigen, može izazvati pojačanu produkciju antitijela u šarana i na nižoj temperaturi (2).

Isto tako nije svejedno kojim putem antigen ulazi u organizam. Dosadašnji podaci pokazuju da se jača i dugotrajnija otpornost postiže intraperitonealnim davanjem antigena za razliku od davanja preko probavnog sustava, premda je drugo praktičnije za izvođenje masovne vakcinacije pri uzgoju riba.

2. IMUNOLOŠKA REAKCIJA PROTIV PATOGENIH BAKTERIJA

2. 1 Imunizacija protiv furunkuloze

U cilju da se zaštite pastrvske ribe protiv bakterijskih bolesti poduzeti su pokušaji prvo parenteralne a onda oralne imunizacije. Do sada je najviše proučen imunitet protiv furunkuloze i na tome je postignuto dosta pozitivnih rezultata. Duff (7) je postigao pozitivne rezultate oralnim davanjem uzročnika furunkuloze (**Aeromonas salmonicidae**) inaktiviranim kloroformom dajući u repetiranim dozama kalifornijskim pastrvama držanim na temperaturi između 2 i 4° C. Ispitivanja koja su trebala da razjasne tu imunu zaštitu vršio je Duff na 19° C a ribe su bile izložene infekciji na tri načina: 1) držane zajedno s oboljelim pastrvama, 2) dodavanjem suspenzije virulentnih bakterija u vodu i 3) injekcijom iste suspenzije (ova metoda uzrokuje najviše mortalitetnu stopu). Mortalitet u kontrolama bio je 75%. Kod cijepljenih pastrva mortalitet je bio 25%, a u serumu su imali visoke titre specifičnih aglutinina.

Krantz i suradnici (17, 18) pratili su produkciju aglutinina kod pastrva nakon aplikacije formolom umrtvljenih bakterija **A. salmonicida** uz adjuvans. Dobiiveni titri bili su slični titrima dobivenim u kunića pod istim uvjetima. Kod pastrva se primjetilo da je nastanak antitijela kasnio ali su ta antitijela bila prisutna 24 mjeseca. Samo pastrve koje su primile cjepivo dodatnim sredstvom (adjuvansom) bile su efikasno zaštićene od eksperimentalne zaraze. Primjena oralnog cijepljenja u ribogojstvu je praktičnija i ekonomičnija od parenteralnog.

Krantz i suradnici nastavili su istraživanja radeći na oralnom cijepljenju. Međutim nisu postigli značajniji titar aglutinina i zaključili su da je oralno cijepljenje nedjelotvorno. Isti autori tvrde da je najuspješnije cijepljenje parenteralno. Isto su tako neuspjeli bili pokušaji oralnog cijepljenja lososa Spence-a i Fryer-a (29). Isti autori postigli su zaštitu mladih lososa protiv furunkuloze pomoću seruma pastrva ranije cijepljenih intraperitonealnim putem (pasivna imunizacija).

Konačno u SAD-u su poduzeti pokušaji velikih razmjera za oralno i parenteralno cijepljenje pastrve i lososa protiv furunkuloze pomoću komercijalnog preparata FSA. Cjepivo FSA priređeno je dezintegracijom jako patogenih bakterija pomoću ultrazvuka i zatim precipitacijom pomoću alaina (stipse) dijela bakterija koji je topiv u vodi. Pokušaji su trajali tri godine. Testirali su više sojeva **A. salmonicida** u raznim ribogojilištima.

Dosada je najviše proučavan imunitet protiv furunkuloze i na tome je postignuto dosta pozitivnih rezultata. (7).

Izveden je jedan pokušaj sa lososima koji su dobili 60 ng FSA dnevno kroz 25 dana. Dokazano je prisustvo antitijela 34 dana nakon početka vakcinacije pomoću imunofluorescence, a djelotvornost zaštite potvrđena je 90-tog dana na 15°C putem prirodnog izla-

ganja zarazi. Niti jedna cijepljena riba nije uginula, dok je 58% lososa koji nisu bili vakcinirani oboljelo i uginulo.

2. 2 Vakcinacija protiv vibrioza

Vrlo uspješna imunizacija u svrhu zaštite od vibrioze uzrokovane bakterijom *Vibrio anguillarum* postignuta je u plosnatica (11). Utvrđena su antitijela nakon aplikacije mrtvih bakterija uz kompletni Freundov adjuvans oralnim i parenteralnim putem. Antitijela protiv *Vibrio* antigena su nađena u visokom titru u sluzi crijeva u oralno imuniziranih plosnatica i to u više u titru nego u serumu. Parenteralna imunizacija s adjuvansom davala je visoki i perzistentni titar antitijela u serumu, dok je samo mala količina antitijela bila prisutna u sluzi crijeva i kože. Necirkulirajuća antitijela bila su otkrivena godinu dana poslije injekcije s bakterijama u fiziološkoj otopini. Gel filtracijom seruma i mukusa (sluzi) utvrđena su aktivna antitijela velike molekularne težine. Autori tvrde da postoji mogućnost efikasne oralne imunizacije kao profilakse protiv vibrioza. Ovu tvrdnju su Freyer i suradnici (13) dokazali dobivenim pozitivnim rezultatima oralnom imunizacijom dajući lososima bakterije umrtvljene sonizacijom.

3. IMUNOLOŠKA REAKCIJA PROTIV PATOGENIH VIRUSA

3. 1 Stečeni imunitet protiv zarazne nekroze gušterače u pastrva

Postoji malen broj podataka o imunološkoj reakciji protiv patogenih virusa u riba posebno se odnosi na šarane i pastrve. Wolf i Quimby (31) uspjeli su dobiti antitijela, koja neutraliziraju virus zarazne nekroze gušterače (ZNG). Ovaj virus izaziva ozbiljan mortalitet pastrva. Kod preživjelih mogu se pojaviti dvije vrste ponašanja. Prvo, stanovit broj njih ostaju nosioci virusa, izlučuju ga preko fecesa kroz par godina, pa stoga postoji opasnost prenošenja virusa od roditelja na jaja i potomstvo. U ovom slučaju ribe ne proizvode anti-virusna antitijela. Ovo rijetko stanje javlja se i kod raznih virusa sisavaca. To je tzv. fenomen tolerancije. Druge preživjele pastrve izlučuju tek malu količinu virusa ili ga uopće ne izlučuju, te proizvode antitijela, koja se mogu otkriti serumneutralizacijom virusa.

Isti autori aplicirali su virus ZNG odraslim pastrvama i lososima koji su već prije eksperimentalne imunizacije posjedovali antitijela reagirajući sa snažnom produkcijom antitijela.

3. 2 Stečeni imunitet protiv virusne hemoragične septikemije pastrva (VHS)

U pokusima je uspjelo podražiti pastrve na stvaranje antitijela koja neutraliziraju uzročnika VHS (Egtved virus) ali je njihov titar u krvi bio nizak (30). Upotrebljen je soj virusa koji je izgubio svoju patogenost za mlade i odrasle pastrve. Međutim, nisu se

mogla otkriti neutralizirajuća antitijela u serumu pastrva koje su bile izložene prirodnoj zarazi u ribogojilištu. Može se postaviti pitanje kao što je slučaj kod nekih virusnih bolesti da li su inducirana antitijela jedina koja ne neutraliziraju ali koja se mogu otkriti fiksacijom komplementa ili s imunofluorescencom. Poznato je da se VHS ne javlja u ribogojilištima na temperaturi višoj od 15° C, iako se Egtved virus umnaža na toj temperaturi u staničnoj kulturi. Sličan slučaj je i kod zarazne hematopoetske nekroze (ZHN) pastrva. Utvrđeno je eksperimentalno da se razvoj te bolesti može zaustaviti povišenjem temperature vode (3). U pokusu gdje su pastrve bile izložene virusu na + 10° C, ugibanje je dostiglo 80%. Nikakav mortalitet se nije javio kod riba držanih na 20° C kroz 7 dana nakon injekcije, koje su zatim stavljene na 12° C. Međutim ribe ostaju osjetljivije na novu dozu virusa nakon povratka na 12° C (77% mortaliteta). Međutim, jedna vrsta zaštite postoji ako dobiju drugu dozu virusa nakon obradivanja od 6 dana na 20° C (mortalitet je samo 18%). Zastoj zaštitne pojave i njen nestanak odmah nakon povratka na 12° C nisu u skladu s imunološkom reakcijom ali ukazuju na interferonsku zaštitu.

3. 3 Zarazna vodena bolest šarana

Pod tim nazivom opisana bolest šarana (Schäperclaus, (26)) razdvojena je na osnovu razlika u etiologiji i kliničkim znacima na dvije zasebne bolesti i to eritrodermatitis šarana i proljetnu viremiju šarana (Fijan 1972.). Iako je podatke o imunitetu i imunizaciji kod zarazne vodene bolesti šarana (zvbš) teško vriednovati s obzirom na novo stanje znanosti tog područja, rezultati istraživanja o imunom odgovoru šarana na prisutnost ili aplikaciju *Aeromonas punctata* (kojeg su mnogi smatrali primarnim uzročnikom zvbš), može doprinjeti općenitom poznavanju imuniteta u šarana.

Morek (20) je pokušao šarane vakcinirati s vakcinom pripremljenom od kulture *Aeromonas punctata*, kako bi spriječio pojavu zarazne vodene bolesti šarana. Cijepljenje nije dalo rezultate, što objašnjava da se vjerojatno radi o virusnoj etiologiji bolesti. Opisan je (22) još jedan neuspjeli pokušaj imunizacije šarana pomoću kulture *A. punctata*, gdje su šarani u pokusu bili imunizirani na dva načina i to intraperitonealnim putem i skarificiranjem kože. U obje grupe imuniziranih šarana došlo je do ugibanja kao i u kontrolnoj grupi s izrazitim znacima bolesti.

Međutim, Schäperclaus (27) ponovo raspravlja o pitanju etiologije zvbš smatrajući da zvbš nije prava virusna bolest, i zato dalje istražuje mogućnost imunizacije protiv *Aeromonas punctata*. U tu svrhu uspio je proizvesti mrtvu vakcinu nazvanu NI. U akvarijskim uvjetima, kada su šarani imunizirani a zatim 3 tjedna kasnije inficirani čistom kulturom *A. punctata*, postignut je pun uspjeh. Imunizirani šarani su ostali zdravi a kontrolni su svi oboljeli nakon 6 dana. Praćenjem dužine zaštitnog djelovanja antitijela ustanovljeno je da ono ostaje sačuvano i nakon 12 tjedana. Međutim, primjenom vaccine u ribnjaku nisu posti-

gnuti željeni rezultati što autor pokušava objasniti postojanjem različitih sojeva **A. punctata**.

Ovi podaci naveli su istraživače da se vjerojatno radi o virusnoj etiologiji zvbš pa se i pristupilo istraživanju u tom smjeru.

Nakon uspjele izolacije virusa iz riba oboljelih od akutnog oblika zvbš na Zavodu za biologiju i patologiju riba i pčela Veterinarskog fakulteta u Zagrebu (10), smatra se virus primarnim uzročnikom jednog dijela slučajeva bolesti koja je nazvana proljetna viremija (pvš). U toku su radovi na istom Zavodu za proučavanje mogućnosti imunizacije šarana protiv virusa pvš, nazvanog **Rhabdovirus carpio**.

4. STEČENI IMUNITET KOD ŠARANA PROTIV PARAZITA ICHTHYOPHTHIRIUS MULTIFILIS

Da ribe mogu steći imunitet i protiv parazita dokazali su Hines i Spira (15). U pokusu su postavljene 4 skupine po 12 riba u akvarij s temperaturom vode od 18—20° C. Svaka skupina bila je izložena određenoj količini inaktiviranih parazita **Ichthyophthirius multifilis**, uzročnika ihtioftirijaze. Inaktivacija parazita vršila se tako da su sakupljeni živi paraziti s površine ribe stavljani u serum šarana, koji je prethodno prebolio ihtioftirijazu. Držanje parazita u serumu je trajalo 2 sata na 26° C. Nakon 8 mjeseci bili su šarani izloženi infekciji sa živim parazitima. U kontrolnoj skupini šarani su oboljeli od ihtioftirijaze, dok su svi šarani koji su bili imunizirani ostali zdravi. Autori smatraju da su serumski faktori odgovorni za imobilizaciju parazita tj. da su antitijela koja onemogućuju

pokretljivost parazita prisutna u samoj sluzi koji prekriva tijelo ribe. U sluzi na površini tijela i škrgamma kod nekih riba, Fletcher (12) je ustanovio serumske imunoglobuline. Lom (19) proučavajući ektoparazite u riba, utvrdio je da se povišenjem temperature u vode na oko 30° C može spriječiti invazija parazitom **Ichthyophthirius multifilis**. Također ukazuje na zaštitnu moć sluzi riba.

ZAKLJUČNO RAZMATRANJE

Uspješna upotreba kemoterapeutika (antibiotika sulfonamida i nitrofuranskih preparata) u ribogojstvu usporila je zanimanje i istraživanja mogućnosti sprečavanja bolesti riba s pomoću vakcinacije. No, pojava patogenih sojeva otpornih na antibiotike potakla je novo zanimanje za imunizaciju početkom šezdesetih godina. Tako su poduzeti pokušaji vakcinacije velikih razmjera protiv furunkuloze, u pastrve i lososa u SAD-u pri kojima je testirano više sojeva *Aeromonas salmonicida* u raznim ribogojstvima u trajanju od 3 godine. Međutim, rezultati sa cijepivom FSA nisu uvijek bili uspješni. Dvije hipoteze pokušavaju objasniti slab uspjeh vakcinacije. Prva je da postoje velike antigenske razlike između sojeva uzročnika furunkuloze, a da komercijalna FSA vakcina daje slabu zaštitu pri subkutanom davanju.

S obzirom da se virusne bolesti ne mogu spriječiti i suzbiti s antibioticima a upravljanje sredinom, (podizanjem i snižavanjem temperature vode) većinom nije u praksi provedivo, to je vakcinacija jedino sredstvo medicinske profilakse virusnih bolesti riba, iako još nema primjera kako to u praksi uspješno provesti.

LITERATURA:

- Ambrosius, H., Schäker, W.: Contribution to the Immunobiology of Poikilothermic Vertebrates. I. Immunologie Investigations on Carp. Zool. Jb. Physiol. 71, 73-88, 1964.
- Ambrosius, H., Lehmann, L.: Contribution to the Immunobiology of Poikilothermic Vertebrates. III. Effect of Adjuvants on Production of Antibodies in Teleost Fishes. Acta biol. med. german. 14, 830—844, 1965.
- Amend, D. F.: Control of infections hemtopoietic necrosis virus disease by elevating the water temperature. J. Fish Res. Bd., Canada, 27, 265—270, 1970.
- Avtalion, R. R., Malik, Z., Leffer E, Katz, E.: Temperature Effect on immune Resistance of Fish to Pathogens. Bamidgeh, 22 (3), 33—38, 1970.
- Bisset, K. A.: Natural and acquired immunity in frogs and fish. J. Path. Bact. 59, 679, 1974.
- Bisset, K. A.: The effect of temperature upon antibody productions in cold blooded vertebrates. J. Path. Bact. 60, 87, 1948.
- Duff, D. C. B.: The oral immunization of trout against *Bacterium salmonicida*. J. Immunol., 44, 87—94, 1942.
- Fijan, N., Cvetnić, S.: Imunitetna reaktivnost šarana. I. Reaktivnost jednogodišnjih šarana kod 13—15° C u akvarijskim uvjetima. Vet. arhiv 34 (1—2), 17 — 20, 1964.
- Fijan, N., Cvetnić, S.: Imunitetna reaktivnost šarana. II. Reaktivnost tokom godine kod držanja u ribnjacima. Vet. arhiv 36 (3—4), 100—105, 1966.
- Fijan, N., Petrinc, Z., Sulimanović, D.: Zwillenberg L. O.: Isolation of the Viral Causative Agent from the Acute form of Infectious Dropsy of Carp. Vet. arhiv 41 (5—6), 125—138, 1971.
- Fletcher, T. C., White, A.: Antibody production in the plaice (*Pleuronectes platessa* L.) after oral and parenteral immunization. Acquaculture 1, 417—428, 1973.
- Fletcher, T. C., Grant, P. T.: Biochem. J. 115, 65, 1969.
- Fryer, J. L., Nelson, J. S., Garrison, R. L.: Vibriosis in fish. Progress in fishery and food science, 5, 129—133, 1972.
- Gončarov, G. D.: Bjul. In-ta biol. vodohranilišč an SSSR, 12, 53, 1962.
- Hines, R. S., Spira, D. T.: Acquired Immunity of the Mirror Carpa (*Cyprinus carpio* L.) to *Ichthyophthiriasis*. Refuah Veterinarith 30 (1), 17—19, 1973.
- Klontz, G. W., Anderson, D. P.: Oral immunization of salmonids: a review In: A symposium on diseases of fishes and shell fishes. Special Publication N° 5, American Fisheries Society Washington D. C., 526, 1970.
- Krantz, G. E., Reddecliff, J. M., Heist, C. E.: Immune response of trout to *Aeromonas salmonicida*. Part. I. Development of agglutinating antibodies and protective immunity. Prog. Fish. Cult., 26 (1), 3—10, 1964.
- Krantz, G. E., Reddecliff, J. M., Heist, C. E.: Development of antibodies against *Aeromonas salmonicida* in trout. J. Immunol (91), 751—760, 1963.
- Lom, J.: Ectoparasitic trichodinids from freshwater fish in Czechoslovakia. Acta soc. zool. Bohemsslov, 25, 215—228, 1961.
- Marek, K.: Sollen Karpfen gegen septikämie schutzgeimft werden. Med. Weterynaryjna, 6, 15, 1950.

- O'Rourke, J. F.: Nature, 189, 943, 1961.
- Osadčaja, E. F.: Prosjanaja, V. V., i dr: K voprosy immunizacii ryb pri eksperimentalnoj krasnuhe karpov. Rybnoe hozjajstvo, 14, 123—126, 1972.
- Pliszka, F.: Weitere Untersuchungen über Immunitätsreaktionen und über Phagozytose bei Karpfen. Zbl. Bakt. I. Orig. 143, 451—460, 1939.
- Pliszka, F.: Untersuchungen über die Agglutinine bei Karpfen. Zbl. Bakt. J. Orig. 143, 262, 264, 1939.
- Ross, A. J., Klontz, G. W.: Oral immunization of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) against an etiologic agent of »redmouth disease«. J. Fish. Res. Bd., Canada, 22 (3), 713, 1965.
- Schäperclaus, W.: *Pseudomonas punctata* als Krankheitserreger bei Fischen. Z. Fischerei 28, 289—370, 1930.
- Schäperclaus, W.: Probleme der Karpfenimmunität gegenüber *Aeromonas punctata* und Fragen der antigenen struktur des Bakteriums. Z. Fischerei, N. F. 15, 129, 1967.
- Snieszko, S. F.: Immunization of Fishes: a Review. Journal of Wildlife Diseases 6, 24, 1970.
- Spence, K. D., Fryer, J. L., Pilcher, K. S.: Active and passive immunization of certain salmonid fishes against *Aeromonas salmonicida*. Canade J. Microbiol. 11 (3), 397—405, 1965.
- Vestergaard-Jorgensen, P. E.: Egtved virus: demonstration of neutralizing antibodies in serum from artificially infected rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Fish. Res. Bd. Canada, 28 (6), 675—877, 1971.
- Wolf, K., Quimby, M. C.: Infections pancreatic necrosis: clinical and immune response of adult trouts to inoculation with live virus. J. Fish. Res. Bg. Canada 26, 2511—2516, 1969.

Čeperković Đokica

stud. medicine — Zagreb

Utjecaj kvalitete krmiva na krvnu sliku pastrva

U V O D

Krvna slika riba još je nedovoljno istražena, a naročito riba u intenzivnom uzgoju gdje su prirodni uvjeti života znatno izmjenjeni. U našoj zemlji ima više pastrvskih ribogojilišta, u kojima se intenzivno uzgajaju i »tove« pastrve za ljudsku ishranu. Za razliku od prirodnih uvjeta, u kojima žive pastrve u otvorenim potocima i brdskim rijekama i nalaze same sebi hranu, u ribogojilištima se na malom prostoru uzgaja veliki broj pastrva i hrani klaoničnim otpacima i koncentratima animalnog i biljnog porijekla.

U jednom pastrvskom ribogojilištu pretražio sam krvnu sliku 25 pastrva u vremenskom intervalu od 2 mjeseca. Kako je utom periodu došlo do izmjene u ishrani istražio sam kako sastav hrane utječe na krvnu sliku pastrva.

METODA RADA I MATERIJALI

Za određivanje broja eritrocita i leukocita, kao i sadržaj hemoglobina, krv sam pastrvama vadio iz repne arterije. Hemoglobin sam određivao direktno pomoću filter papira i hemoglobin-skale u podobi od 10 do 100%.

Za određivanje broja eritrocita i leukocita krv sam razrađivao otopinama A i B, prema receptu prof. dr. N. Fijana.

Krv sam uvukao u melanžer za određivanje enitrocita i leukocita do oznake 1, a zatim do pola zadebljanja otopinu A, te do oznake 101 otopinu B. Budući da eritrociti i trombociti riba imaju jezgru to se otopinama

A i B omogućuje njihovo međusobno raspoznavanje. U komorici za brojanje mogu se odjednom izbrojati i leukociti i enitrociti i trombociti.

Krvnu sliku istražio sam u 25 pastrva u ribogojilištu nedaleko Zagreba. Osim pastrva su bile tzv. matične ribe od kojih se uzimaju spolni produkti za uzgoj potomstva. Četini ribe bile su starije od 3 godine, a 4 ispod 1 godine. Ostalih 17 pastrva bile su u dobi od 1,5 do 2 godine, a uzgajane su kao tovnna riba za ljudsku ishranu.

Krvne slike pastrva pretraživao sam u pet navrata u mjesecima veljači, ožujku i travnju 1972. godine. Sredinom ožujka došlo je do izmjene u ishrani. Ribama u nekim bazenima davana je kvalitetnija koncentrirana hrana, koja je sadržavala visoki postotak animalnih bjelančevina, čak 45%, dok je ona od ranije sadržavala oko 30%.

REZULTATI I DISKUSIJA

Rezultati pretraga krvnih slika matičnih pastrva prikazani su kronološki i individualno za svaku ribu u tablici 2, a za tovnne ribe u tablici 3.

Vrijednosti za hemoglobin i broj eritrocita i leukocita odgovaraju podacima, koje sam našao u stručnoj literaturi. U tablici 2. vidi se znatna razlika u krvnoj slici između mladih (M-1) i starih (M-2) riba. U mladim riba vrijednosti su znatno niže.

Kod tovnih riba vrijednosti za hemoglobin i korpuskularne elemente nisu znatno varirale tokom mjesec dana u pastrva smještenih u bazene T-1 i T-2 (tablica