

# Stres i zależne od stresu bakteryjne choroby ryb

Jerzy Antychowicz, Agnieszka Pękala<sup>1</sup>

z Zakładu Chorób Ryb Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach<sup>1</sup>

Śnieszko (1) jako jeden z pierwszych zwrócił uwagę na istotną rolę stresu w patogenezie chorób ryb. Uważał on mianowicie, że reakcja organizmu ryby określana jako stres powoduje w końcowym efekcie osłabienie układu odpornościowego tych zwierząt. Wówczas nawet nieszkodliwe mikroorganizmy, które normalnie występują w środowisku wodnym i w przewodzie pokarmowym, mogą wywoływać objawy chorobowe. W ostatnim czasie znacznie wzrosła wiedza na temat szkodliwości dla organizmu ryby nadmiernej reakcji stresowej powstającej w wyniku działania czynników zewnętrznych. Wiedza ta jest niezbędną do zrozumienia patogenezę przede wszystkim bakteryjnych chorób ryb, ale również innego typu chorób tych zwierząt, szczególnie wywołanych

przez różnego rodzaju słabo patogenne mikroorganizmy. Zrozumienie mechanizmów działania czynników stresotwórczych jest bardzo istotne również do prowadzenia skutecznej profilaktyki chorób ryb.

## Czynniki stresotwórcze

Można rozróżnić następujące grupy czynników stresotwórczych dla ryb:

1. Manipulacje rybami podczas odłowu, sortowania, ważenia i transportu oraz obsadzanie ryb w stawie, szczególnie jeżeli jest on zasilany wodą o innych właściwościach biochemicznych niż te, do których ryby były zaadaptowane.
2. Fizykochemiczne zmiany w wodzie o dużej amplitudzie wahań, np. w zakresie dobowych i sezonowych zmian

pH oraz koncentracji tlenu i związków azotowych, które normalnie zachodzą w umiarkowanym zakresie w każdym zbiorniku wodnym.

3. Napływ do zbiornika wodnego substancji toksycznych zawartych w ściekach komunalnych, przemysłowych, rolniczych oraz pojawiających się w środowisku wodnym po przeprowadzeniu oprysków lub w czasie awarii zbiorników, w których gromadzone są toksyczne odpady. Nie jest to ścisły podział, bowiem podczas odłowu w trudnych warunkach, np. w zamulonym stawie, oprócz nadmiernej pobudzenia nerwowego występującego u ryb wskutek ekstremalnego wysiłku czy też podczas prób ucieczki, może dojść również do okresowego deficytu tlenu w łowisku oraz wzrostu koncentracji amoniaku, azotynów i siarkowodoru, będących produktami beztlenowego rozkładu substancji organicznych nagromadzonych na dnie stawu. Należy również pamiętać, że podczas odłowów oprócz reakcji stresowej dochodzi również do mechanicznego uszkodzenia skóry po kontakcie ryb z twardymi przedmiotami oraz podrażnienia, a nawet uszkodzenia skrzelii ziarnkami piasku lub torfu. Ubytki skrzelii i powłok zewnętrznych przy niskiej temperaturze goją się długo, co sprzyja

wtórному miejscowemu zakażeniu przez bakterie, które może stać się początkiem uogólnionego zakażenia. Natomiast podczas zanieczyszczenia wody toksycznymi związkami chemicznymi, oprócz reakcji stresowej, jaką one wywołują, ma miejsce bezpośrednie niszczące działanie tych związków na śluz, naskórek i nabłonek skrzelowy oraz na śluzówkę przewodu pokarmowego, do którego dostają się razem z karmą. Bezpośrednie działanie substancji toksycznych uszkadza obronne bariery zewnętrzne, a towarzysząca temu nadmierna reakcja stresowa osłabia odporność ryby, ułatwiając bakteriom przenikanie w głąb organizmu.

### Odpowiedź organizmu ryby na czynniki stresotwórcze

Przeprowadzając szeroką analizę piśmiennictwa światowego w latach 80. i późniejszych ubiegłego wieku, Antychowicz (2, 3) zwrócił uwagę na to, że reakcja stresowa zachodząca u ryb pod wpływem czynników fizycznych i chemicznych może, w zależności od natężenia i czasu działania tych czynników, pozytywnie lub negatywnie oddziaływać na organizm ryby i szanse przeżycia w ekstremalnych warunkach. Podobny pogląd w zeszłym roku wyraził Barton (4). U ludzi rozróżnia się obecnie dwa rodzaje stresu: stres pozytywny – eustres i stres negatywny – dystres (5). Oczywiście czynniki sprawcze stresu i reakcje organizmu na stres w przypadku ludzi i ryb różnią się w wielu aspektach.

Schulte (6) uważa, że można oddzielić fizjologiczną – w granicach normy i patologiczną reakcję organizmu ryby na stresotwórcze czynniki zewnętrzne. Czynniki te wywołują w organizmie ryby szereg złożonych reakcji adaptacyjnych, które mają umożliwić rybie przeżycie w okresie utrzymywania się niesprzyjających dla niej warunków środowiskowych. Jeżeli czynniki stresotwórcze nie są zbyt silne, a ich działanie nie trwa zbyt długo, wówczas powstające w organizmie ryby reakcje kompensacyjne utrzymują nadal prawidłową przemianę materii w jej organizmie, przy czym sprawny, a niekiedy nawet dodatkowo pobudzony do bardziej efektywnego działania układ odpornościowy nie dopuszcza do wystąpienia chorób. Natomiast gdy stres jest zbyt silny albo działa zbyt długo, wówczas dalsze pogłębione zmiany zachodzące w organizmie mogą doprowadzić do utraty zdrowia, a nawet do śmierci ryby.

### Charakterystyka poszczególnych etapów odpowiedzi na czynniki stresotwórcze

W przebiegu reakcji organizmu ryby na działanie czynników stresotwórczych różnią się obecnie, w zależności od długości działania tych czynników na ryby, cztery

etapy (2, 3, 7, 8), które w uproszczeniu można przedstawić w następujący sposób:

1. W ciągu kilku, kilkunastu lub kilkudziesięciu sekund następuje pobudzenie wegetatywnego układu nerwowego i wzrost koncentracji katecholamin (epinefryny i norepinefryny), które powodują wzrost częstotliwości skurczów serca, zwiększenie jego pojemności wyrzutowej, podwyższenie ciśnienia krwi i mobilizację węglowodanowych zasobów energetycznych. Przyspieszenie krążenia krwi przyczynia się do przyspieszenia transportu substancji energetycznych do mięśni, a w przypadku zakażenia lub inwazji – do zwiększenia obronności organizmu ryby, np. przez szybsze dotarcie makrofagów i innych komórkowych i humoralnych elementów układu obronnego do ogniska zapalnego. W tym okresie następuje ponadto rozszerzenie naczyń krwionośnych skrzeli i zwiększenie przepuszczalności nabłonka skrzelowego umożliwiające szybszy pobór tlenu z wody oraz przyspieszenie transportu tlenu, za pośrednictwem erytrocytów, do mięśni.
2. W ciągu kilku minut lub godzin obserwuje się wzrost koncentracji kortyzolu wydzielanego przez komórki śródnerkowe (będące u ryb odpowiednikiem kory nadnerczy) do krwi. Począwszy od kilku minut do godziny po zadziałaniu czynników stresotwórczych poziom kortyzolu zwykle stopniowo opada; niekiedy jednak – jeżeli stres był silny lub długotrwały – wysoki jego poziom utrzymuje się jeszcze przez kilka godzin.
3. W ciągu kilku, kilkunastu lub kilkadziesiąt godzin pod wpływem działania katecholamin i kortyzolu następuje wzrost koncentracji glukozy we krwi, jako następstwo stymulacji wątrobowej glikogenolizy (rozkładu glikogenu) i zwiększonej glikoneogenezy (powstawanie glikogenu z substancji niewęglowodanowych takich jak aminokwasy). Glukoza jest wysokoenergetyczną substancją, łatwo dostępną dla mięśni umożliwiającą rybie szybkie opuszczenie rejonu, gdzie występują niekorzystne albo niebezpieczne dla niej warunki. Gdy stres jest niewielki lub krótkotrwały, koncentracja tlenu w wodzie optymalna, a ryby będą miały dostęp do pełnowartościowego pokarmu i zaczną go pobierać natychmiast po ustąpieniu czynników stresotwórczych, wówczas zasoby glikogenu w wątrobie zostają wkrótce odtworzone. Rekonwalescencję postresową przyspiesza umieszczenie ryb w płucze (w odpowiednio przygotowanym rowie z przepływającą wodą) o optymalnym przepływie dobrze natlenionej wody, a następnie transport w natlenianym zbiorniku w słabym roztworze NaCl

### Stress and stress-related bacterial fish diseases

Antychowicz J., Pękala A.<sup>1</sup>, Department of Fish Diseases, National Veterinary Research Institute, Pulawy<sup>1</sup>

The aim of this paper was to present the mechanisms of stress response and to discuss stress induced changes, related to the occurrence of bacterial diseases in fish. Fish handling (fishing, sorting, transporting), environmental changes (water temperature and nitrogen compounds fluctuations, oxygen deficit) and the presence of different toxic chemicals in polluted water reservoirs are considered as major stressors. Stress response is often seen in farm fish. Intricate stress response helps adaptation and survival in the extreme environment. If however, fish response to stressors is intense, frequent and/or prolonged, its consequences may be harmful. The sustained high cortisol level decreases fish immunity against different infectious agents. There is a direct association between pollutant toxicity and frequency of certain bacterial diseases in fish. With deficient defense mechanisms, even relatively harmless bacteria present in water, on fish integument, gills, within the internal organs and also in macrophages, start multiplying and may induce clinical symptoms and pathological lesions. The outcome of pathological process depends on the environmental factors such as water temperature and food availability to fishes. Some, still poorly recognized, changes in water environment and in fish rearing technology are associated with the emergence/outbreak of new bacterial diseases. It was found that stress response and cortisol level in fish is genetically determined. Therefore selection of stress resistant fish lines/strains may be applied as a prophylactic measure in fish farms. Nevertheless, minimizing the handling stress factors, maintaining good water quality in fish ponds, sustaining availability of food and preventing water pollutions are crucial measurements for fish infectious diseases control.

**Keywords:** fish farming, bacterial diseases, defense mechanisms, stressors.

odpowiednio przygotowanym (najlepiej przez ichtiopatologa).

4. W ciągu kilku dni lub miesięcy występowania czynników stresotwórczych i na skutek przewlekłego utrzymywania się kortyzolu we krwi ryb mogą wystąpić objawy immunosupresji objawiającej się upośledzeniem obronnych właściwości komórek i tkanek na czynniki patogenne, równocześnie brak substancji energetycznych może doprowadzić do zahamowania wzrostu i wystąpienia zaburzeń w rozrodcie. W następstwie hamowania pod wpływem kortyzolu proliferacji limfocytów zmniejsza się liczba komórek biorących udział w immunologicznej odpowiedzi na zakażenie lub inwazję. W związku z ograniczeniem liczby limfocytów B zmniejszone

zostaje wytwarzanie przeciwciał. Oprócz tego kortyzol hamuje fagocytozę i nasila zjawisko apoptozy, czyli spontanicznej śmierci komórek (9, 10). Ograniczenie wytwarzania cytokin przez kortyzol podczas przewlekłej odpowiedzi stresowej doprowadza do hamowania procesu zapalnego będącego obronną reakcją na zakażenia. Engelsman i wsp. (11), Metz i wsp. (12), Armario i wsp. (13), Campbell i Ehlert (14) oraz wielu innych badaczy uważają, że podwyższony poziom glikokortykosteroidów (między innymi kortyzolu) nie tylko hamuje czynniki humoralne związane z procesem zapalnym, ale również ogranicza wędrówkę leukocytów do ogniska zapalnego oraz zmniejsza całkowitą liczbę krążących we krwi leukocytów. Długotrwałe utrzymywanie się podwyższonego poziomu kortyzolu we krwi usposabia przede wszystkim do występowania chorób grzybiczych i bakteryjnych (15, 16, 17, 18, 19). Ostre czynniki stresogenne podwyższają co prawda w pierwszym etapie poziom prozapalnych cytokin (12), to jednak przedłużający się okres, w którym występuje podwyższony poziom kortyzolu, staje się przyczyną upośledzonej odporności komórkowej. W okresie nadmiernej odpowiedzi stresowej może dojść do zahamowania transkrypcji w procesie wytwarzania interleukiny – IL-1 $\beta$  w makrofagach i leukocytach pstrąga oraz fagocytach nerkowych karpia, co sprzyja wystąpieniu różnych chorób (19, 20, 21, 22). Najnowsze badania wykazały, że IL- $\beta$  to w rzeczywistości dwa białka, a mianowicie interleukina-1 alfa i interleukina-1 beta. Są one składnikami czynnika aktywującego leukocyty-LAF (leucocyte activation factor) i równocześnie mediatorami reakcji zapalnej. Na podstawie danych z piśmiennictwa oraz własnych obserwacji terenowych Antychowicz (7) uważa, że można dopisać jeszcze jeden, piąty, etap stresu.

5. Długotrwałe działanie czynników stresotwórczych lub częste nawroty nadmiernej reakcji stresowej, przy krótkich przerwach nie pozwalających na całkowitą regenerację organizmu po kolejnym stresie, powoduje wystąpienie wielu ubocznych zjawisk, takich jak wyczerpanie się zasobów glikogenu (które są niezbędnymi do przeżycia ryby źródłami energii) oraz kwasicy krwi spowodowanej gromadzeniem się kwasu mlekowego, powstającego z intensywnego rozpadu glukozy w mięśniach. Zakwaszenie krwi doprowadza, przez obniżenie powinowactwa hemoglobiny do tlenu do deficytu tlenu w tkankach i narządach. Oprócz tego w rezultacie długotrwałej odpowiedzi na czynniki stresotwórcze dochodzi do upośledzenia krążenia jonów, takich jak

Na<sup>+</sup>, H<sup>+</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, K<sup>+</sup>, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, między wodą a krwią przepływającą przez skrzela, powodując zaburzenie równowagi jonowej w organizmie ryby oraz zwiększone przenikanie (w przypadku ryb śródlądowych) wody do krwi i tkanek. Dzieje się to z powodu wystąpienia zwiększonej przepuszczalności nabłonka skrzelowego dla gazów i jonów. Zmiany w organizmie ryby występujące w piątym etapie stresu mogą być nieodwracalne i wówczas następuje śmierć.

Typowym przykładem śmierci ryby wskutek stresu manipulacyjnego jest śnięcie karpia po długotrwałym i ciężkim ich odłowieniu ze stawu i po transporcie ich do innego stawu. W zależności od temperatury śmierć ryb następuje po 1–2 tygodniach, a niekiedy nawet po dłuższym czasie po odłowieniu. Szczególnie niebezpieczne dla ryb jest wyczerpanie się, w okresie odpowiedzi stresowej, zasobów energetycznych późną jesienią, ponieważ prowadzi to do niechybnej śmierci w okresie zimy i wczesnej wiosny. Poszczególne osobniki w określonej populacji wykazują znaczne różnice w odporności na działanie czynników stresotwórczych oraz różną zdolność do regeneracji poststresowej. Biorąc pod uwagę, że zjawisko to w znacznej mierze jest uwarunkowane genetycznie, wydaje się, że jest to dobry kierunek, w którym może być prowadzona selekcja ryb hodowlanych.

### Działanie substancji chemicznych i wywołanej przez nie odpowiedzi stresowej na organizm ryby

Ciągle przybywa dowodów na to, że toksyczne substancje (ksenobiotyki) zatruwające zbiorniki wodne przyczyniają się do osłabienia mechanizmów odpornościowych ryb (23), a więc przyczyniają się do występowania chorób. Ksenobiotyki wpływają niekorzystnie na reakcje między podwzgórzem i przysadką oraz komórkami śródnarkowymi, czyli upośledzają funkcjonowanie osi podwzgórze-przysadka-komórki śródnarkowe (hypothalamus-pituitary-interrenal gland axis). W wyniku tego dochodzi do osłabienia odpowiedzi immunologicznej. Norris (24) opisał to zjawisko u pstrągów potokowych (*Salmo trutta*) żyjących w zbiorniku wodnym zanieczyszczonym dużymi ilościami metali ciężkich. Wyniki licznych badań wskazują, że długotrwałe przebywanie w strefie ścieków zwiększa śmiertelność ryb, ale nie zawsze wiąże się to z występowaniem określonych chorób. Według Dethlefsen (25) więcej chorych ryb występuje jednak zawsze w wodach zatruwanych niż tych, w których nie stwierdza się obecności ścieków. Należy przy tym pamiętać, że choroby mogą rozwijać się nawet po pewnym okresie od

zneutralizowania się toksycznego działania substancji chemicznych. Zatrucie wód jest szczególnie istotnym czynnikiem usposabiającym do występowania chorób zakaźnych w środowiskach naturalnych, takich jak jeziora i rzeki, w których żyją ryby dzikie. Uwidacznia się to przy długotrwałych ekspozycjach ryb na niewielkie nawet koncentracje związków toksycznych. U ryb żyjących w rzekach i jeziorach, ale również w stawach, po zatruciu ich ściekami stwierdzano następujące zmiany patologiczne: martwica płetw (26, 27), hiperplazja skrzeli (28) i owrządzenie skóry (26, 29). Według Vethaak (26) procent ryb, u których stwierdzano owrządzenia skóry oraz martwicę płetw, był większy w rejonie znajdującym się w pobliżu wypływu ścieków niż w jakimkolwiek innym rejonie zatrutego zbiornika wodnego. Niektóre objawy chorobowe przypisuje się odpowiedzi stresowej wywołanej przez zjedanie przez ryby karmy zanieczyszczonej przez różne substancje chemiczne (30). Bakteryjne choroby ryb powstają zwykle wskutek przebywania ryb w wodzie zawierającej substancje, takie jak: chrom i inne metale ciężkie (31, 32), węglowodory (33, 34), amoniak i inne substancje azotowe (28), azotyny (35), pestycydy (36), chlorowane bifenyly (37), różne występujące równocześnie składniki ścieków (29, 38), ścieki organiczne (39). W rejonie przeciekających zbiorników, w których zbierano ścieki z gospodarstw domowych, stwierdzano u pstrągów tęczyowych nie tylko znaną dobrze chorobę bakteryjną – jersiniozę, ale również nowe, nieopisane dotąd choroby objawiające się rozległymi patologicznymi zmianami w skórze oraz ogniskami martwicy rozplywnej występującymi w mięśniach (26).

### Wskaźniki odpowiedzi stresowej

W przypadku zakażeń bakteryjnych u ryb hodowlanych lub dzikich można podejrzewać, że jakieś wcześniej występujące czynniki stresogenne przyczyniły się do immunosupresji. Skutki działania czynników zewnętrznych mogą wystąpić po wielu dniach, a nawet miesiącach. Należy również brać dodatkowo pod uwagę okres inkubacji choroby bakteryjnej, który może się wydłużać w niskich temperaturach. Diagnostyka czynników stresowych leżących u podstawy genezy różnych chorób ryb i innego typu zaburzeń w hodowli ryb wymaga bliskich kontaktów ichtiopatologa i hodowcy oraz jego częstej bytności w gospodarstwach rybackich.

Diagnostykę laboratoryjną odpowiedzi stresowej występującej w populacjach ryb hodowlanych przeprowadzano na szeroką skalę kiedyś w Niemieckiej Republice Demokratycznej. Obecnie poza badaniami naukowymi w praktyce nie określa się

odpowiedzi stresowej u ryb i nie rozróżnienia fizjologicznej i patologicznej odpowiedzi organizmu ryby na działanie czynników stresotwórczych. Brak jest również norm pozwalających na właściwą interpretację wyników tego rodzaju badań. Najnowsze badania dotyczące stresu u ryb wykazały, że w diagnostyce tego zjawiska istotne jest między innymi określenie, które geny regulują odpowiedź stresową, jak również jakiego rodzaju sekwencje uruchamiane są pod wpływem czynników stresowych. Najlepiej poznanym komponentem odpowiedzi organizmu ryby na stres jest wzrost poziomu kortyzolu we krwi. Barton i wsp. (40), Iwama i wsp. (41) i wielu innych badaczy uważają, że kortyzol jest przede wszystkim wskaźnikiem ostrej reakcji stresowej. Kortyzol jest związany z bardzo różnymi procesami zachodzącymi w organizmie ryby, o czym świadczy obecność receptorów kortykosteroidowych w niemal wszystkich tkankach oraz narządach tych zwierząt (42). U ryb dobrze udokumentowano między innymi działanie podwyższonego pod wpływem stresu poziomu kortyzolu we krwi na układ odpornościowy (11, 12, 15). Hamowanie czynników transkrypcyjnych, które są niezbędne do syntezy RNA na matrycy DNA, a w końcowym efekcie warunkują powstawanie różnych białek, przez kortyzol działa przeciwzapalnie i doprowadza do immunosupresji (43, 44). Podwyższony poziom kortyzolu nie zawsze towarzyszy odpowiedzi stresowej, np. stresotwórczy deficyt tlenu w wodzie stawowej nie zawsze wywołuje zwiększone wydzielanie kortyzolu w organizmie ryby (45). Jako wskaźniki stresu można również brać pod uwagę osłabienie odporności, badając różne jej wskaźniki, ponieważ ryby żyjące stale w warunkach stresogennych cechuje zwiększona podatność na zapadanie na choroby.

Jednym z najbardziej znanych markerów stresu jest podwyższony poziom glukozy we krwi, ulega on jednak wahaniom w przebiegu odpowiedzi na czynniki stresotwórcze i zależy prawdopodobnie od

odżywiania się ryby w okresie poprzedzającym reakcją na czynniki stresotwórcze. Poza tym nie zawsze czynniki stresotwórcze wywołują reakcję organizmu objawiającą się wzrostem poziomu glukozy w krwi.

Uważa się, że w przyszłości określanie zmian, które pojawiają się w genotypach ryb pod wpływem danych czynników stresotwórczych, znajdzie zastosowanie w diagnostyce odpowiedzi stresowej w populacjach ryb żyjących w różnych warunkach środowiska. Współczesne badania coraz częściej zwracają do określenia związku między technologią hodowli ryb, zmianami w genotypie ryb oraz wrażliwością ryb na choroby. Badania tego typu mogą stać się niezbędne do wprowadzania korekt w technologii hodowli ryb w określonych obiektach rybackich oraz do zmniejszenia lub całkowitej redukcji czynników stresogennych.

### Genetyczne podstawy stresu

Wyniki badań przeprowadzonych przez Vallejo i wsp. (46) sugerują, że jeden lub większa liczba genów głównych (będących nośnikami dominującej cechy) przy współudziale szeregu innych, niezależnych genów, determinują utrzymywanie się w organizmie ryby niskiego poziomu kortyzolu. Zróżnicowanie się poziomu kortyzolu u pstrągów tęczowych należących do różnych szczepów jest więc uwarunkowane genetycznie. Cecha ta jest częściowo dziedziczona, co pozwala na prowadzenie selekcji ryb w tym kierunku. U ryb należących do poszczególnych podgatunków mogą występować różne geny, które ulegają aktywacji przez te same czynniki stresotwórcze. Prawdopodobnie z tym zjawiskiem wiąże się różna długość rekonwalescencji poststresowych występująca w różnych populacjach ryb – mierzona czasem, w którym poziom kortyzolu we krwi wraca do normy (47). Na przykład badania przeprowadzane u ryby *Fundulus heteroclitus* wykazały wyraźne różnice we wrażliwości na stres u ryb należących do dwu podgatunków wyrażane różnym poziomem kortyzolu

we krwi występującym po zadziałaniu identycznych czynników stresowych (47). Wyniki tych badań potwierdzają, że poziom oporności na stres jest warunkowany genetycznie. Nie wyklucza to jednak wpływu na tego typu odporność również innych czynników środowiskowych oraz fizjologicznych cechujących danego osobnika (6). Selekcja ryb o zwiększonej odporności na czynniki stresotwórcze jest równocześnie czynnikiem przyspieszającym proces udomowiania ryb, szczególnie istotny u ryb należących do gatunków, które hoduje się od niedawna i które bardzo gwałtownie reagują na każdy stres manipulacyjny (48). Pottinger (49) oraz Pottinger, Carrick (50) udowodnili, że odpowiedź na stres przynajmniej w pewnym stopniu jest regulowana przez geny i w związku z tym możliwe jest wyselekcjonowanie szczepów, np. bassów i pstrągów tęczowych, które reagują na działanie czynników stresotwórczych jedynie niewielkim wzrostem poziomu kortyzolu we krwi. Selekcja, np. karpia, w kierunku szczepów minimalnie reagujących na stres jest zdaniem Maillot i wsp. (48) istotnym krokiem w kierunku uzyskania odporniejszej populacji ryb, ale jest czynnikiem zwiększającym ich dobrostan. Okazało się również, że pstrągi należące do szczepu o słabszej reakcji w zakresie wydzielania kortyzolu przystępują szybciej do tarła po obsadzeniu ich w nowym dla nich środowisku, niż pstrągi o intensywnej reakcji kortyzolowej (51).

### Bakteryjne choroby ryb występujące w Polsce – rola czynników stresotwórczych w ich patogenezie

W Polsce stwierdza się obecnie najczęściej choroby bakteryjne, takie jak:

- 1) Bakteryjna choroba nerek wywołwana przez *Renibacterium salmoninarum* – BKD (bacterial kidney disease; **ryc. 1**).
- 2) Zakażenie wywołane przez *Aeromonas* spp. – MAS (motile *Aeromonas* septicemia) lub – MAI (motile *Aeromonas* infection; **ryc. 2**).



**Ryc. 1.** Bakteryjna choroba nerek (BKD) u lososia atlantyckiego – drobne, białawe ogniska martwicze w nerkach



**Ryc. 2.** Zakażenie ruchliwymi *Aeromonas* u karpia (MAI/MAS) – rozległe ognisko martwicy rozplywającej dochodzące do kręgosłupa ryby

- 3) Wrzodzenia wywołana przez *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* (ryc. 3, 4).
  - 4) Choroba wrzodowa albo erythrodermatitis wywołana przez różne atypowe formy *Aeromonas salmonicida* (ryc. 5).
  - 5) Zakażenie wywołane przez *Pseudomonas* spp. i *Pseudomonas fluorescens* (ryc. 6, 7).
  - 6) Jersinioza wywołana przez *Yersinia ruckeri* inaczej zapalenie jamy gębowej – ERM (enteric redmouth disease; ryc. 8, 9, 10).
  - 7) Choroba kolumnowa wywołana przez *Flavobacterium/Fexibacter/Cytophaga columnaris* (ryc. 11, 12, 13, 14).
  - 8) Choroba zimnej wody wywołana przez *Flavobacterium psychrophilum* syn. *Cytophaga psychrophila* – CWD (cold water disease) i choroba wylęgu pstrąga tęczowego wywołana przez tę samą bakterię – RTFS (rainbow trout fry syndrome; ryc. 15, 16).
  - 9) Choroba skrzeli wywołana przez *Flavobacterium branchiophilum* – BGD (bacterial gill diseases; ryc. 17).
  - 10) Szewaneloza wywołana przez *Shewanella putrefaciens* (ryc. 18, 19, 20).
- Bakteryjne choroby ryb występujące w Polsce do 2007 r. opisał Antychowicz (2, 3, 7, 52); natomiast aktualne

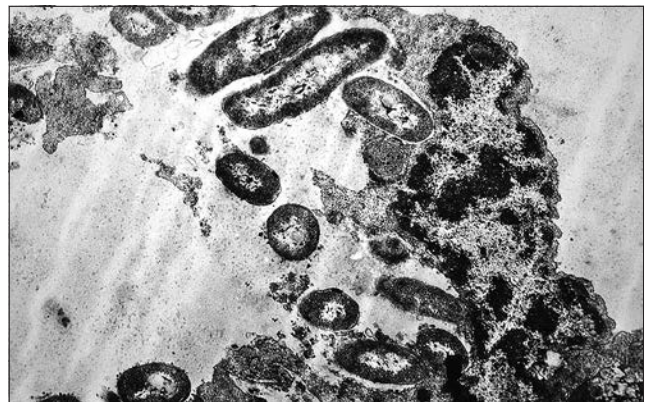
dane z tego zakresu oraz opis nowych bakteryjnych chorób ryb znaleźć można w publikacjach Kozińskiej i Pękali (53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61).

### Bakteryjna choroba nerek (BKD)

Chorobę wywołuje Gram-dodatnia pałeczka *R. salmoninarum*, jest ona szczególnie groźna dla pstrągów tęczowych, potokowych i źródłanych. Bakteria ta w okresie bezobjawowego nosicielstwa często występuje wewnątrz makrofagów nerkowych lub w przewodzie pokarmowych (62). W okresie odpowiedzi stresowej wywołanej



Ryc. 3. Choroba wrzodowa u karsia ozdobnego – ogniskowy ubytek skóry i mięśni



Ryc. 4. *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, fotografia elektronmikroskopowa, TEM



Ryc. 5. Erythrodermatitis u karpia – płytkie owrzodzenia powłok zewnętrznych otoczone strefą przekrwienia



Ryc. 6. Zakażenie *Pseudomonas fluorescens* u karsia pospolitego – miejscowe przekrwienie skóry oraz nastroszenie łusek



Ryc. 7. Zakażenie *Pseudomonas fluorescens* u karpia – proces martwicy wokół oczu



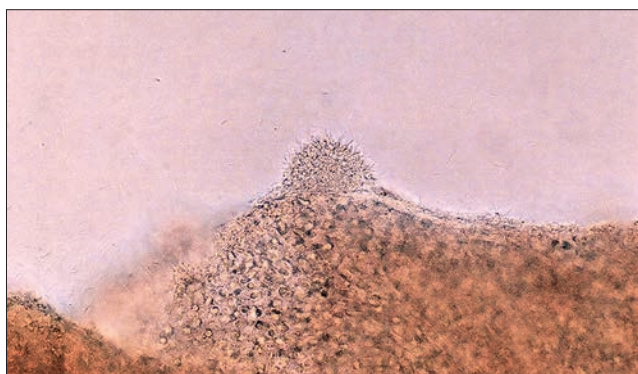
Ryc. 8. Jersinioza (ERM) u pstrąga – drobne wybroczyny w jamie gębowej, na języku i krawędzi żuchwy



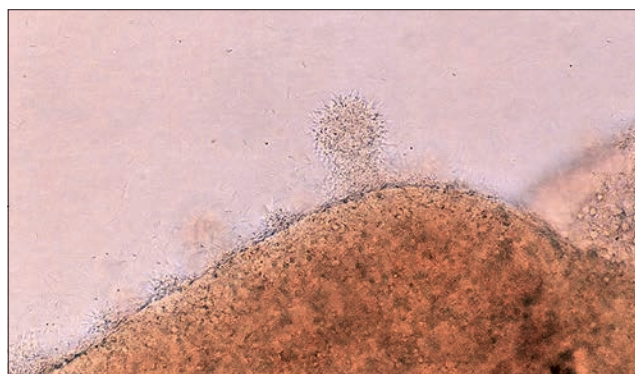
Ryc. 9. Jersinioza (ERM) u pstrąga – rozcięcie pęcherza pławnego, wybroczyny w ścianie pęcherza pławnego



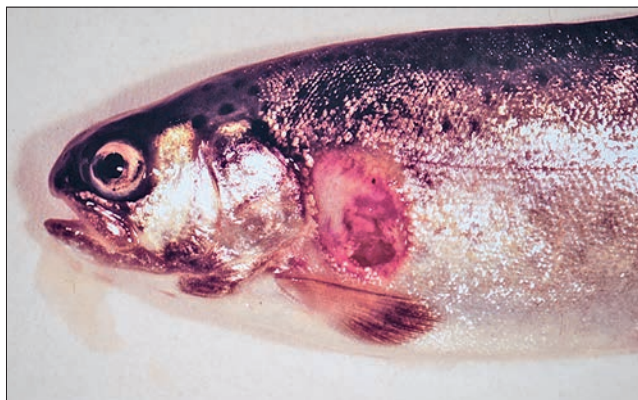
Ryc. 10. Jersinioza (ERM) u pstrąga – wybroczyny w otrzewnej ścianie i mięśniach



Ryc. 11. *Flavobacterium columnare* – skupisko bakterii w kształcie kopki siana (haystack)



Ryc. 12. *Flavobacterium columnare* – skupisko bakterii w kształcie kolumny



Ryc. 13. Choroba kolumnowa u pstrąga – płytki ubytek skóry i mięśni bez strefy przekrwienia



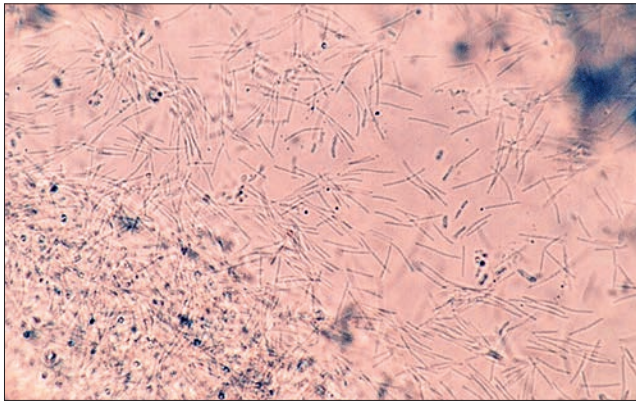
Ryc. 14. Choroba kolumnowa u karpia – płytki ubytek skóry i mięśni otoczony obumierającym, białym naskórkiem

czynnikami, takimi jak: inne zakażenie, uszkodzenie przewodu pokarmowego lub skóry, głodowanie, uszkodzenie nerek lub szok termiczny, *R. salmoninarum* zaczyna namnażać się głównie w nerkach, wywołując tam zmiany patologiczne (ryc. 1). Uważa się również, że wystąpienie bakteryjnej choroby nerek związane jest ze stresem powstającym w okresie tarła oraz podczas gwałtownych wahań temperatury (63). Badania Antychowicza i Kozińskiej (nieopublikowane) wykazały, że choroba ta może występować równocześnie z przerostową chorobą nerek – PKD (proliferative kidney necrosis) wywołwaną przez pasożyta *Tetracapsula bryosalmonae*.

### Zakażenia *Aeromonas* spp.

Zakażenia te niemal każdego roku są przyczyną zaburzeń zdrowotnych różnych gatunków ryb, głównie karpia, w wielu gospodarstwach w Polsce. Czynniki etiologicznymi tych zakażeń są różne gatunki wykazujących ruch bakterii z rodzaju *Aeromonas*, z których najistotniejsze znaczenie mają: *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*. Bakterie te powszechnie występują w środowiskach wodnych, w zawiesinach organicznych unoszących się w toni wodnej i organicznych osadach dennych, biorąc udział w ich rozkładzie i mineralizacji. Stanowią one również element normalnej

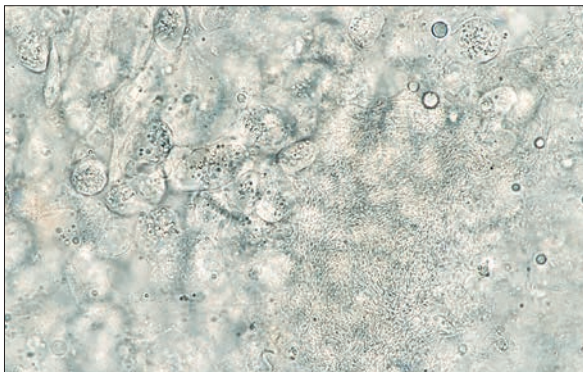
flory bakteryjnej przewodu pokarmowego ryb, uczestnicząc w procesie trawienia. Według Antychowicza (64) występują również w okresie zimy w pustych przewodach pokarmowych nieżerujących karpia. Wobec tak powszechnego ich występowania, ryby są stale narażone na zakażenie, szczególnie w warunkach działania różnych czynników stresogennych. Obecność bakterii rodzaju *Aeromonas* na skórze, w skrzelach i w narządach wewnętrznych nie wywołuje w normalnych warunkach środowiskowych u odpornych ryb żadnych objawów chorobowych. W wielu przypadkach jednak, gdy w okresie niesprzyjających warunków termicznych i żywieniowych



**Ryc. 15.** *Flavobacterium psychrophilum* – rozmaz ze zmian skórnych od narybku chorującego na chorobę zimnej wody (CWD)



**Ryc. 16.** Choroba wylęgu pstrąga tęczowego (RTFS) u wylęgu pstrąga – ogniska martwicy rozplywnej mięśni grzbietowych



**Ryc. 17.** *Flavobacterium branchiophilum* oraz ameby w skrzelach pstrąga tęczowego



**Ryc. 18.** Szewaneloza u karpia – rozległy wrzód wypełniony materiałem powstałym w wyniku martwicy skóry i tkanki podskórnej

nastąpi mechaniczne uszkodzenie naskórka lub skóry, wówczas mogą one wywołać miejscową infekcję. Obserwuje się na skórze niewielkie płaskie wrzody oraz ubytki płetw. W optymalnych warunkach termicznych i żywieniowych dochodzi zwykle do samowyleczenia nawet bez stosowania terapii. W przypadku ponownego pogorszenia się warunków bytowania bakterie mogą doprowadzić do powstania rozległych ubytków skóry i mięśni (ryc. 2), a następnie do zmian wewnętrznych i do śmierci ryby.

Zakażenia *Aeromonas* objawiają się najczęściej zmianami na skórze i na płetwach – w takim przypadku choroba określana jest jako MAI (motile *Aeromonas* infection), natomiast uogólniona postać choroby określana jest jako MAS (motile *Aeromonas* septicemia).

Występowanie MAS jest zawsze związane z wystąpieniem reakcji stresowej u ryb (65), np. w związku z napływem ścieków zawierających różne toksyczne substancje, między innymi azotyny przy koncentracji powyżej 6 mg/l (66), przy temperaturze wody powyżej 9,5°C (35). Ryby hodowlane są stale narażone na zakażenie ruchliwymi *Aeromonas*, ponieważ podczas manipulacji hodowlanych poddawane są one często działaniu silnych czynników stresotwórczych (60). Według Koziańskiej i Pękali (60) w latach 2010–2012 bakterie

te były najczęstszą przyczyną chorób występujących u ryb karpiowatych i łososiowatych w Polsce.

Nazwą wrzodzenia określa się groźną chorobę ryb łososiowatych, wywołaną przez szczepy należące do podgatunku niewykazujących ruchu *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* (ryc. 3, 4). Inne podgatunki tej bakterii są czynnikami etiologicznymi chorób wrzodowych u ryb należących do rodzin innych niż łososiowate. W przypadku karpia, chorobę tę określa się jako *erythrodermatitis* – CE (carp erythrodermatitis; ryc. 5).

Wrzodzenia powstaje często w wyniku uaktywnienia się bezobjawowego nosicielstwa tej bakterii. W przypadku braku naturalnych czynników stresotwórczych wrzodzenia można wywołać u ryb nosicieli, stosując kortykosteroidy, najlepiej syntetyczny octan prednizolonu w samodawkującym implancie (67). Test uaktywnienia wrzodzenia polegający na domięśniowej iniekcji 20 mg/kg octanu prednizolonu, a następnie na podwyższeniu temperatury wody z 12 do 18–20°C wskazuje jednoznacznie na ogromną rolę stresu w występowaniu klinicznych objawów tej choroby.

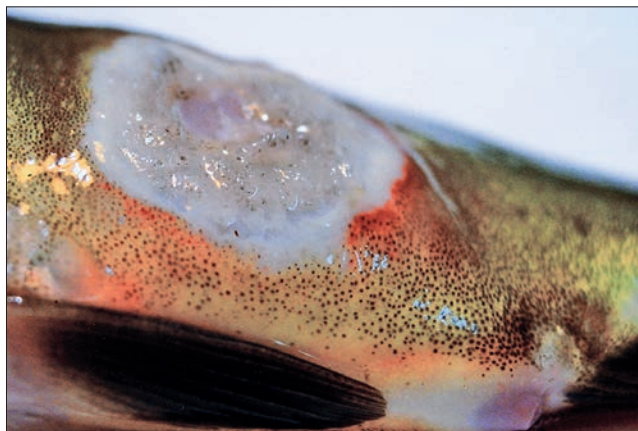
W warunkach naturalnych większość przypadków wrzodzenia notuje się późną wiosną i wczesnym latem, co jest związane między innymi z występującymi w tym

okresie wahaniami temperatury wody. Po wzroście temperatury wody z 5 do 18°C, przy towarzyszącej temu niskiej zawartości tlenu i dużym zagęszczeniu ryb czynniki te powodują, że *A. salmonicida* zaczyna namnażać się w organizmie ryby. Dowodem na to są wyniki posiewów bakteriologicznych sporządzonych po 3–6 dniach od zadziałania wymienionych czynników stresogennych (65). McCarthy (67), analizując mechanizm powstawania wrzodzenia, wykazał, że przy braku reakcji stresowej nie dochodzi ani do wystąpienia objawów chorobowych u ryb nosicieli *A. salmonicida*, ani do zarażenia innych ryb od nosicieli.

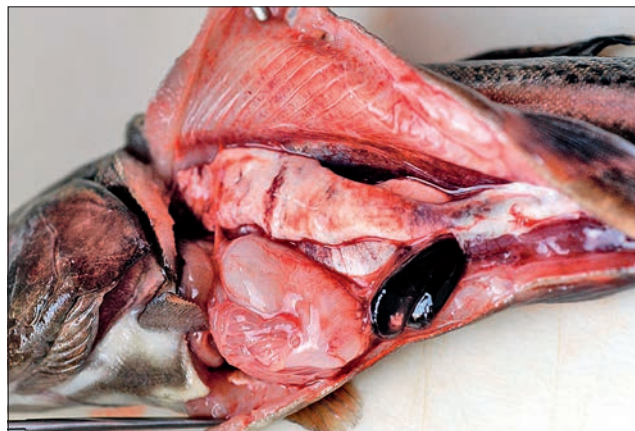
### Zakażenia *Pseudomonas*

Podobnie jak bakterie z rodzaju *Aeromonas* również bakterie z rodzaju *Pseudomonas* są mikroorganizmami bardzo szeroko rozpowszechnionymi w środowisku wodnym. Zasiadają one wody śródlądowe, morza, a nawet ścieki (68). W patologii ryb istotną rolę odgrywa *P. fluorescens*, który od dawna był znany jako mikroorganizm chorobotwórczy dla ryb.

Zakażenia wywoływane przez *P. fluorescens* występują u wielu gatunków ryb, między innymi u topygi białej i pstrej, amura, lina, karpia, karasia złocistego, a także u ryb łososiowatych. Niekiedy oprócz



Ryc. 19. Szewaneloza u karpia – rozległy wrzód wypełniony materiałem powstałym w wyniku martwicy skóry i tkanki podskórnej



Ryc. 20. Szewaneloza u karpia – przekrwienie narządów wewnętrznych: jelit, gonad i pęcherza pławnego oraz nastrykanie naczyń krwionośnych otrzewnej ściennej

*P. fluorescens* izoluje się z tych samych ryb również *P. putida* lub *P. luteola*, które stanowią florę towarzyszącą. Objawy kliniczne związane z zakażeniem występują zazwyczaj w warunkach stresu spowodowanego zbyt dużym zagęszczeniem ryb i niekorzystnymi pod względem sanitarnym warunkami środowiskowymi. Według Kozińskiej (69) zakażenia bakteriami z rodzaju *Pseudomonas* po długim czasie nieobecności pojawiły się w Polsce jako konsekwencja zmian zachodzących w środowisku wodnym. Ważnym czynnikiem mającym wpływ na wystąpienie choroby jest temperatura wody. Zakażenia *P. fluorescens* stwierdza się zwykle przy temperaturze wody poniżej 10°C i są one wówczas powodem dużej śmiertelności ryb. U amura, tołpygi, karpia i karasia rozwój zakażeń stwierdzano w zimie, przy temperaturze bliskiej zera. Powodowały one śnięcie 30–100% ryb.

U karasi i karpia zakażenie *P. fluorescens* wywołuje objawy rumienicy manifestującej się zapalnym zaczerwienieniem powłok ciała, której towarzyszy niekiedy martwica skóry i płetw (ryc. 6, 7). U karasi, linów, tołpyg białych i pstrych bakteria ta może być przyczyną posocznicy. W latach 2010–2012 Kozińska i Pękała (60) izolowały *P. fluorescens* z licznych przypadków chorób występujących nie tylko u ryb karpiowatych, ale również u pstrągów, szczupaków, sandaczy, okoni i sumów.

### Jersinioza

Jersinioza występuje u ryb łososiowatych, najczęściej u pstrąga tęczowego, i wywoływana jest przez Gram-ujemną bakterię *Yersinia ruckeri*. Przypuszcza się, że *Y. ruckeri* wchodzi w skład flory bakteryjnej środowiska wodnego i przewodu pokarmowego zdrowych ryb (70, 71). Romalde i wsp. (72) uważają, że bakteria ta ma zdolność przeżycia w ciągu długiego czasu w wodzie i osadach dennych zbiornika wodnego, natomiast Rintamäki i wsp.

(73) twierdzą, że może ona przez dłuższy czas przebywać w narządach wewnętrznych ryb w postaci bezobjawowego nosicielstwa. *Y. ruckeri* może wywołać u ryb chorobę, gdy w okresie jej masowego występowania w środowisku wodnym dojdzie równocześnie do osłabienia odporności ryb pod wpływem czynników stresotwórczych (74, 75), np. nastąpi wzrost temperatury wody do 18–25°C (76). Innymi czynnikami usposabiającymi do infekcji tej bakterii są: manipulacje rybami, duże zagęszczenie ryb w zbiorniku hodowlanym lub w czasie transportu, podwyższona koncentracja związków azotowych takich jak amoniak i innych metabolitów ryb przy obniżonej koncentracji tlenu (77). Podczas nadmiernej odpowiedzi stresowej u nosicieli następuje uaktywnienie występujących w przewodzie pokarmowym bakterii *Y. ruckeri* i wystąpienie objawów chorobowych (77). W przypadku silnych czynników stresotwórczych choroba może przybrać nawet charakter epizootii (78).

W przebiegu jersiniozy u ryb obserwuje się zaczerwienienia i wybroczyny wokół otworu gębowego lub w gardle (ryc. 8) i skrzelach, a ponadto wybroczyny u podstawy płetw, wysadzenie i zaczerwienienie odbytu, jak również wytrzeszcz gałek ocznych, osłabienie kondycji oraz pociemnienie powłok zewnętrznych. Przy uogólnieniu się infekcji wybroczyny występują w otrzewnej ściennej i w narządach wewnętrznych, np. w ścianie pęcherza pławnego. Dodatkowo często obserwowanym objawem klinicznym jest wydobywająca się z odbytu śluzowata wydzielina (79, 80, 81, 82). Śnięcia ryb rozpoczynają się zwykle 5–19 dni po zakażeniu, a ich wielkość może dochodzić nawet do 70% obsady. Bezobjawowe nosicielstwo *Y. ruckeri* może utrzymywać się u pstrągów do 100 dni (78, 83).

### Zakażenia *Flavobacterium*

Spośród wielu gatunków należących do rodzaju *Flavobacterium* największe znaczenie

w patologii ryb przypisuje się gatunkom *F. columnare*, *F. psychrophilum* i *F. branchiophilum* (ryc. 11, 12, 17). Każdy z wymienionych gatunków bakterii wywołuje inną jednostkę chorobową, która może mieć przebieg przewlekły lub ostry. Przy braku leczenia zachorowalność u ryb dochodzi czasem do 100%, a śmiertelność do 50 lub nawet 80%.

Choroba kolumnowa (ryc. 13, 14) wywoływana jest przez *F. columnare*. Bakteria ta może występować na powłokach zewnętrznych zdrowych ryb oraz wchodzić w skład normalnej flory bakteryjnej osadów dennych stawów, zachowując przy tym długą żywotność, nawet w okresie, gdy w wodzie występują znaczne wahania pH i jej twardości. *F. columnare* łatwo rozwijają się na cząstkach zalegającej na dnie stawu karmy. Rozkładająca się w wodzie karma ryb może być rezerwuarem tych bakterii oraz źródłem zakażenia ryb. Oprócz tego złożony zespół czynników środowiskowych odpowiada za wystąpienie choroby kolumnowej (84). Wymienia się tu czynniki, takie jak: niskie stężenie tlenu (84), zanieczyszczenie wody substancjami organicznymi oraz zwiększona koncentracja amoniaku (85), przy równoczesnym wzroście temperatury wody do 15–18°C. Pierwszymi oznakami zakażenia są białoszare naloty na skórze, skrzelach i płetwach. Naskórek ulega martwicy i złuszcza się, szczególnie u ryb przebywających w wodzie dobrze widoczne są strzępki naskórka i skóry luźno związane z ciałem ryby. Skrzela mogą być pokryte żółtą śluzowatą wydzieliną zawierającą liczne bakterie (86).

Choroba zimnej wody (CWD) albo też choroba wylęgu pstrąga tęczowego (RTFS; ryc. 16) wywoływana jest przez bakterie *F. psychrophilum*. Nazwa RTFS używana jest w odniesieniu do zakażenia *F. psychrophilum* występującego w wczesnych stadiach narybku ryb łososiowatych (87).

Zakażenia *F. psychrophilum* występują głównie u ryb łososiowatych, ale stwierdzano je również u karpia, węgorzy i okoni,



głównie wczesną wiosną, kiedy temperatura wody wynosi 4–10°C. Choroba atakuje wszystkie grupy wiekowe ryb, poczynając od wylęgu, przez narybek, a skończywszy na rybie handlowej. *F. psychrophilum* namnaża się często na skórze podtrutych ściekami ryb, przy temperaturze 4–12°C. W stawach o dużym zagęszczeniu ryb oraz dużej koncentracji zawiesin organicznych śmiertelność ryb zakażonych tą bakterią jest znaczna. Typowymi objawami choroby są najczęściej siodełkowate zmiany w grzbietowej części ciała. Choroba często przybiera formę posocznicy. W przypadkach uogólnionych zakażeń u pstrągów straty mogą wynosić do 90%.

Bakteryjna choroba skrzelii (BGD) występuje u wielu gatunków ryb i wywołwana jest przez *F. branchiophilum*. Choroba występuje najczęściej u młodych ryb łososiowatych osłabionych przez czynniki stresowe, takie jak np. transport w trudnych warunkach, przy równoczesnym uszkodzeniu skrzelii. Znane są również przypadki zachorowań karpia i węgorzy. Występowanie choroby nie jest zależne w szczególności od temperatury wody. Chorobę notowano np. u karpia przy 5°C, u ryb łososiowatych przy temperaturze powyżej 19°C, a u węgorzy powyżej 20°C. Czynniki predysponującymi do wystąpienia choroby są bez wątpienia niekorzystne warunki środowiskowe oraz błędy hodowlane doprowadzające do wystąpienia czynników stresotwórczych. Wymienić tu należy: stosowanie zbyt gęstych obsad, niskie stężenie tlenu, dużą mętność wody spowodowaną dużą koncentracją zawiesin i podwyższoną koncentracją związków azotowych. Według Antychowicza (nieopublikowane obserwacje) BGD może występować równocześnie z amebową chorobą skrzelii (amoebic gill diseases – AGD; **ryc. 17**). Objawy chorobowe stwierdza się w skrzelach, obserwuje się nasilone wydzielanie śluzu i obrzęk. Końce listków skrzelowych są blade i zgrubiałe. W przebiegu choroby następuje szybki rozrost nabłonka skrzelowego; w skrzelach można zaobserwować również zmiany martwicze.

### Szewaneloza

Czynnikiem etiologicznym szewanelozy jest *Shewanella putrefaciens*, bakteria do niedawna uważana za mikroorganizm halofilny, izolowany ze środowisk morskich i przyujściowych, a mianowicie z osadów dna morskiego, a także od ryb morskich. Bakteria ta wchodzi w skład normalnej flory przewodu pokarmowego ryb morskich, stanowiąc jeden z podstawowych czynników biorących udział w procesach gnilnych żywności, szczególnie ryb przechowywanych w warunkach chłodniczych. Według Kozińskiej i Pękali (60) oraz Pękali

(89) *S. putrefaciens* coraz częściej izolowana jest z wód śródlądowych, jak również od żyjących tam ryb, głównie od karpia i pstrągów. Zakażenia tymi bakteriami obserwuje się głównie wczesną wiosną, przy niskiej temperaturze wody. U karpia wystąpienie szewanelozy związane jest ze stresogennymi odłowami wiosennymi. W przebiegu zakażenia obserwuje się osłabienie kondycji ryb, letarg, pociemnienie skóry, wytrzeszcz gałek ocznych i wychudzenie. Typowymi objawami zakażenia są wrzody na skórze, które niekiedy penetrują w głąb mięśni (**ryc. 18, 19**). Wrzody przybierają postać ognisk martwiczych wypełnionych rozkładającą się tkanką, bez widocznej strefy przekrwienia. Obserwuje się również postrzępienie oraz ubytki płetw. W przypadku uogólnienia się zakażenia proces chorobowy obejmuje narządy wewnętrzne karpia. Straty spowodowane śnięciami ryb wywołanymi *S. putrefaciens* mogą dochodzić do 20% obsady (88, 89). Zakażeniom *S. putrefaciens* bardzo często towarzyszą inne mikroorganizmy potencjalnie chorobotwórcze dla ryb, np. *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp. i *Acinetobacter* spp. (58).

### Inne zakażenia bakteryjne

Oprócz wymienionych bakterii w ostatnim okresie opisano m.in. w Polsce wiele nieznanych jako patogeny ryb bakterii, takich jak: *Brevundimonas vesicularis*, *Klebsiella oxytoca*, *Microbacterium* spp., *Micrococcus* spp., *Ochrobactrum anthropi*, *Pantoea* spp., *Plesiomonas shigelloides*, *Rhizobium radiobacter*, *Rhodococcus* spp., *Sphingomonas paucimobilis*, *Stenotrophomonas maltophilia*. Zjawisko to znajduje potwierdzenie w badaniach Głowackiej (90). Pojawienie się tych bakterii związane jest z bliżej niesprecyzowanymi zmianami fizykochemicznymi zachodzącymi w środowisku wodnym, być może również z intensywnym stosowaniem antybiotyków u ryb hodowlanych. Rola tych, niedających się zidentyfikować na wymaganym poziomie, bakterii w patologii ryb jest wciąż mało znana. Autorzy tej pracy stwierdzili, że coraz częściej izoluje się je od ryb wykazujących objawy chorobowe dotąd niespotykane w hodowli śródlądowej. Większość spośród tych bakterii wywołuje podobne objawy chorobowe, które można określić jako „posocznica krwotoczna”. U poszczególnych ryb występują zwykle różne zespoły objawów klinicznych, takie jak: zapalne zaczerwienienie powłok zewnętrznych, wybroczyny w otrzewnej i w mięśniach, niekiedy wybroczyny występują również w narządach wewnętrznych.

Najnowsze badania udokumentowały obecność u ryb jeszcze innej grupy

mikroorganizmów, a mianowicie bakterii, które nie rosną w ogóle na podłożach bakteriologicznych, ale mogą wywoływać groźne choroby ryb. Przed nazwą gatunkową tych bakterii umieszcza się słowo *Candidatus*. Przykładem tego typu bakterii jest bakteria *Candidatus Arthromitus*. Obecność u ryb bakterii nierosnących na podłożach stwierdza się między innymi za pomocą metod mikroskopowych, serologicznych oraz molekularnych, takich jak: western blot, dot blot i nested PCR (91, 92). Antychowicz zwrócił uwagę na tego typu bakterie już w latach 60. podczas badania patologicznych zmian skórnych u karpia, a później podczas badań bakteryjnej flory ikry ryb (dane nieopublikowane). W okolicy wrzodów skórnych i na powierzchni ikry obserwowano on wielokrotnie występowanie licznych, często bardzo ruchliwych bakterii o różnych kształtach, podczas gdy posiewy materiału zawierającego te bakterie, pomimo użycia bardzo różnicowanych podłoży namnażających i izolacyjnych, były jałowe lub występowały na nich wzrost bakterii nieodpowiadających zupełnie wyglądem do stwierdzanych w rozmazach bezpośrednich czy też w tak zwanej kropli wiszącej.

### Podsumowanie

W patogenezie bakteryjnych chorób ryb pozostaje nadal wiele nierozwiązanych kwestii, sprzecznych teorii i nowych niewyjaśnionych do końca zjawisk, np. takich jak stan „uśpienia” występujący u bakterii należących do wielu gatunków, podczas którego tracą one zdolność wzrostu na podłożach bakteriologicznych. Różne są między innymi poglądy badaczy na to, jakie cechy bakterii warunkują ich patogenność dla ryb, czyli dotyczących tak zwanych markerów patogenności. Powstawanie chorób ryb wiąże się nie tylko ze stresogennymi warunkami występującymi w środowisku, ale również z różnymi właściwościami bakterii niezbędnymi do kolonizacji powłok zewnętrznych, skrzelii i przewodu pokarmowego, a następnie umożliwiającymi im przetrwanie w organizmie ryby i unikanie przy tym niszczącego działania różnych elementów układu odpornościowego gospodarzy. Właściwości te pozwalają im ewentualnie na masowe namnażanie się w tkankach i narządach wewnętrznych ryb, a nawet wewnątrz makrofaagów tych zwierząt.

Z analizy piśmiennictwa wynika, że osłabienie układu odpornościowego ryb występujące w określonym etapie odpowiedzi organizmu ryby na czynniki stresotwórcze ma podstawowe znaczenie w powstawaniu bakteryjnych chorób tych zwierząt. Działanie czynników stresotwórczych odgrywa istotną rolę w patogenezie

wszystkich chorób ryb – aczkolwiek ich znaczenie w patogenezie zakażeń wywołanych przez bardzo patogenne mikroorganizmy, takie jak np. wirusy CyHV3 czy VHSV, powodujące występowanie groźnych chorób ryb, nie jest tak widoczne jak w przypadku słabo patogennych mikroorganizmów, jakimi są zwykle różne bakterie wodne również będące czynnikami etiologicznymi chorób tych zwierząt. Uwidacznia się to między innymi w próbach eksperymentalnego, za pośrednictwem wody, zarażania ryb wirusami i bakteriami. Do wywołania objawów VHS u młodych pstrągów tęczowych czy też KHVD u karpia wystarczy niewielka manipulacja rybami i przetrzymywanie ich przez kilka-kilkanaście minut w niewielkiej ilości wody zawierającej odpowiednią zawiesinę wirusa. Natomiast próby zakażenia ryb np. bakteriami rodzaju *Aeromonas* czy też *Flavobacterium* przez umieszczenie ryb nawet w dużych koncentracjach tych bakterii kończą się zwykle niepowodzeniem. W warunkach intensywnej hodowli ryb w stawach lub sadzach bakteryjne choroby ryb są natomiast dosyć częstym zjawiskiem i powodować mogą duże straty.

Poza niemal ciągłą obecnością potencjalnie chorobotwórczych bakterii w wodzie lub osadach dennych w stawach i innych typach zbiornikach hodowlanych, w obiektach hodowli ryb występują równocześnie różne czynniki stresogenne, które w określonych warunkach przyczyniają się do występowania chorób. Czynniki te, działając przez odpowiednio długi okres lub powtarzając się tak często, że za każdym razem nie może dojść do pełnej regeneracji organizmu, doprowadzają do znacznego osłabienia odporności ryb. Na pewnym etapie odpowiedzi na działanie niesprzyjających dla ryby czynników stresotwórczych dochodzi do obniżenia odporności w takim stopniu, że organizm ryby nie może się już przeciwstawić kolonizacji, a następnie namnażaniu się bakterii w jej organizmie. Czynniki stresotwórcze mogą się nieco różnić u ryb różnych gatunków. Na przykład różne temperatury i niejednokrotnie niedobory tlenu w wodzie są stresogenne dla ryb należących do poszczególnych gatunków, stąd śnięcia z powodu chorób bakteryjnych dotyczą zwykle tylko ryb niektórych gatunków spośród tych, które zasiedlają określony zbiornik wodny.

Odtworzenie do celów eksperymentalnych czynników stresotwórczych, które występują spontanicznie w warunkach naturalnych, nie jest proste. Brak stosowania w ichtiopatologicznych laboratoriach naukowych znormalizowanych warunków wywołania immunosupresji u ryb poprzez stosowanie ściśle określonych czynników stresogennych powoduje, że dane podawane przez różne ośrodki

badawcze na świecie, a dotyczące patogenności określonych bakterii oraz patogenyzy bakteryjnych chorób ryb są trudne do porównania, natomiast wyniki eksperymentalnych zakażeń ryb bakteriami podawane przez różnych badaczy są często sprzeczne. Szczególnie mechanizm wywoływania chorób przez słabo patogenne lub saprofityczne bakterie masowo występujące w środowisku wodnym jest wciąż jeszcze mało poznany i wzbudza kontrowersje. Jedynie tylko niektóre szczepy bakterii rodzaju *Vibrio* oraz *Aeromonas salmonicida* i *Renibacterium salmoninarum* mogą być brane pod uwagę jako typowe czynniki patogenne, ponieważ nie udaje się ich wyizolować z normalnego środowiska wodnego, w którym występują tylko zdrowe ryby, natomiast po wygaśnięciu epizootii ich okres przeżycia w środowisku wodnym jest ograniczony. To kryterium patogenności bakterii jest jednak kwestionowane, ponieważ w większości przypadków czynnikami etiologicznymi chorób ryb są głównie warunkowo chorobotwórcze bakterie, takie jak *A. bestiarum*, *A. caviae*, a szczególnie *A. hydrophila*, które wchodzą często w skład normalnej flory wodnej oraz występują u zdrowych ryb.

Intensywna odpowiedź organizmu ryby na czynniki stresotwórcze wywiera negatywny wpływ na szybkość wzrostu ryb, współczynnik wykorzystania karmy, reprodukcję, a przede wszystkim upośledza odporność na choroby między innymi o etiologii bakteryjnej (4, 93, 94, 95, 96). Wyniki badań prowadzonych w ostatnim okresie wskazują, że realne jest w przyszłości wyselekcjonowanie szczepów ryb, które cechować będzie duża tolerancja na stres, a równocześnie wykazujących znaczną odporność na choroby oraz posiadających szereg cech przydatnych w ich hodowli, takich jak szybki wzrost.

## Piśmiennictwo

- Śnieszko S.: The effects of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes. *J. Fish. Biol.* 1974, **6**, 197–208.
- Antychowicz J., Nogajewski R.: *Choroby karpia i pstrągów*. Wydawnictwo ART, Olsztyn, 1986.
- Antychowicz J.: *Choroby i zatrucia ryb*. Wydawnictwo SGGW, Warszawa, 1996.
- Barton B.A.: Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative Comparative Biology* 2014, **42**, 517–525.
- Mills H., Reiss N., Dombeck M.: Types of stressors (Eustress vs. Distress). *Mental. Help. Net.* 2008.
- Schulte P.M.: What is environment stress? Insight from fish living in variable environment. *J. Exp. Biol.* 2014, **1**, 23–34.
- Antychowicz J.: *Choroby ryb śródlądowych*. PWRL, Warszawa, 2007.
- Leatherland J.E.: Introduction: Diagnostic assessment of non-infectious disorders. W: Leatherland J.E., Woo T.K. (edit.): *Fish Diseases and Disorders*, Volume 2 Non-infectious Disorders, 2nd Edition. CAB International, 2010.
- Harris J., Bird D.J.: Modulation of fish immune system by hormones. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2000, **77**, 163–176.
- Cuesta A., Laiz-Carrión R., Ariona F., Martín del Río M.P., Mesteguer J., Mancera J.M., Esteban M.A.: Effect of PRL, GH and cortisol on the serum complement and IgM levels

- in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) *Fish Shellfish Immunol.* 2006, **20**, 427–435.
- Engelsman M.Y., Hougee S., Nap D., Hofenk M., Rombout J.H.W.M., Muiswinkel W.B.: Multiple acute temperature stress affects leucocyte populations and antibody responses in common carp, *Cyprinus carpio* L. *Fish Shellfish Immunol.* 2003, **15**, 397–410.
- Metz J.R., Huising M.O., Leon K., Verbung-van Kemenadale B.M., Flik G.: Central and peripheral interleukin-1beta and interleukin-1 receptor I expression and their role in the acute stress response of common carp, *Cyprinus carpio* L. *J. Endocrinol.* 2006, **191**, 25–35.
- Armario A., Daviu N., Munoz-Abellan C., Rabasa C., Fuentes S., Belda X., Galiano H., Nadal R.: What can we know from pituitary-adrenal hormones about the nature consequence of exposure to emotional stressors. *Cell. Moll. Microbiol.* 2012, **32**, 749–758.
- Campbell J., Ehler U.: Acute psychosocial stress: does emotional stress response correspond with physiological response? *Psychoneuroendocrinology* 2012, **37**, 1111–1134.
- Pickering A.D., Pottinger T.G.: Stress responses and disease resistance in salmonid fish: effect of chronic elevation of plasma cortisol. *Fish Physiol. Biochem.* 1989, **58**, 253–258.
- Maule A.G., Schreck C.B., Kaattari S.L.: Changes in immune system of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) Turing parr-to-smolt transformation and after cortisol implantation. *Can. J. Fish. Aquatic Science* 1987, **44**, 161–166.
- Woo P.T.K., Leerlan J.F., Lee M.S.: *Cryptobia salmonica*: cortisol increases susceptibility of *Salmo gairdneri* Richardson to experimental cryptobiosis. *J. Fish Dis.* 1987, **10**, 75–83.
- Johnson S.C., Albright L.J.: Effects of cortisol implants on the susceptibility and histopathology of the responses of naive coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, to experimental infection with *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae). *Dis. Aquat. Organ.* 1992, **14**, 195–205.
- Saeij J.P.J., Verbung-van Kemenade B.M.L., van Muiswinkel W.L., Wiegertjes G.F.: Daily handling stress reduces resistance of carp to *Trypanosoma borrelli*: in vitro modulatory effects of cortisol on leucocyte functions and apoptosis. *Dev. Comp. Immunol.* 2003, **27**, 233–245.
- MacKenzie S., Iliw D., Liarte C.: Transcriptional analysis of LPS-stimulated activation of trout (*Oncorhynchus mykiss*) monocyte/macrophage cells in primary culture treated with cortisol. *Mol. Immunol.* 2006, **43**, 1340–1348.
- Holland J.W.G.C.R., Jones C.R., Noble L.R., Secombes C.J.: The expression of immune-regulatory genes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, Turing natural outbreaks of proliferative kidney disease (PKD). *Parasitology* 2003, **126**, 95–102.
- Vijan M.M., Neelakanteswar A., Leatherland J.E.: Stress response and the role of cortisol. W: Leatherland J.E., Woo P.T.K. (edit.): *Fish Diseases and Disorders*. Volume 2 Non-infectious Disorders, 2nd ed., CAB International, 2010, 182–201.
- Klesius P.H., Shoemaker C.A.: The disease continuum model: Bi-directional response between stress and infection linked by neuroimmune change. W: Lee C.S., O'Brien P.J. (edit.): *Biosecurity in Aquaculture Production Systems: Exclusion Pathogens and Other Undesirables*, 13–14. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA, 2003.
- Norris D.O.: Endocrine disruptors of the stress axis in natural populations: how can we tell? *Amer. Zool.* 2000, **40**, 393–401.
- Dethlefsen V., Lang T., Koves P.: Regional patterns in prevalence of principal external diseases of dab *Limanda limanda* in the North Sea and adjacent areas 1992–1997. *Dis. Aquat. Organ.* 2000, **42**, 119–132.
- Vethaak A.D.: Diseases of flounder (*Platichthys flesus* L.) in the Dutch Wadden Sea, and their relation to stress factors. *Neth. J. Sea Res.* 1992, **29**, 257–272.
- Vethaak A.D., Jol J.G., Meijboom A., Eggen M.L.: Skin and liver diseases induced in flounder (*Platichthys flesus*) after long-term exposure to contaminated sediments in large-scale mesocosms. *Environ. Health Perspect.* 1996, **104**, 1218–1229.
- Kirk R.S., Lewis J.W.: An evaluation of pollutant induced changes in the gills of rainbow trout using scanning electron microscopy. *Environmental Technology* 1993, **14**, 577–585.
- Vethaak J.D., Jol J.G.: Diseases of flounder (*Platichthys flesus*) in Dutch coastal and estuarine waters, with particular reference to environmental stress factors. I. Epizootiology of Gross lesions. *Dis. Aquat. Organ.* 1996, **26**, 81–91.
- Landsberg J.H.: Tropical reef-fish disease outbreak and mass mortalities in Florida, USA: what is the role of dietary biological toxins. *Dis. Aquat. Organ.* 1995, **22**, 83–100.
- Rodsæther M.C., Olafsen J., Raa J., Myhre K., Steen J.B.: Copper as initiating factor of vibriosis (*Vibrio anguillarum*) in eel (*Anguilla anguilla*). *J. Fish Biol.* 1977, **10**, 17–21.

32. Prabhakar M., Binuramesh C., Steinhagen D., Michael R.D.: Immune response and disease resistance of *Oreochromis mosambicus* to *Aeromonas hydrophila* after exposure to hexavalent chromium. *Dis. Aquat. Organ.* 2006, **68**, 189–196.
33. Khan R.A.: Crude oil and parasites of fish. *Parasitology Today* 1987, **3**, 99–100.
34. Song J.Y., Nakyama K., Murakami Y., Jung S.J., Oh M.J., Matsuoka S., Kawakami H., Kitamura S.J.: Does heavy oil pollution induce bacterial diseases in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Mar. Pollut. Bull.* 2008, **57**, 6–12.
35. Hanson L.A., Grizzle J.M.: Nitrate-induced predisposition of channel catfish to bacterial diseases. *Progressive Fish-Culturist* 1985, **47**, 98–101.
36. Voigt H.R.: Fish surveys in the Vaikse Vain Strait between the Island of Saaremaa and Mohu, western Estonia. *Proceedings of the Estonian Academy of Science and Ecology* 1994, **4**, 128–135.
37. Ekman E., Akerman G., Balk L., Norrgren L.: Impact of PCB on resistance to *Flavobacterium psychrophilum* after experimental infection of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* eggs by nano-injection. *Dis. Aquat. Organ.* 2004, **60**, 31–39.
38. Austin B., Stobie M.: Recovery of *Serratia plymuthica* and presumptive *Pseudomonas pseudoalcaligenes* from skin lesions in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), otherwise infected with enteric redmouth. *J. Fish Dis.* 1992, **15**, 541–543.
39. Grawiński E., Antychowicz J.: The pathogenicity of *Serratia plymuthica* for salmonid fish. *Med. Weter.* 2001, **57**, 187–189.
40. Barton B.A., Morgan J.D., Vijan M.M.: Physiological and condition-related indicators of environmental stress in Fish. W: Adams S.N. (edit.): *Biological Indicators of Stress in Fish*, 2<sup>nd</sup> ed., American Fisheries Society, Bethesda, Maryland 2002, 111–148.
41. Iwama G.K., Alfonso L.O.B., Vijan M.M.: Stress in Fish. W: Evans D.H., Clairborne J.B. (edit.): *The Physiology of Fishes* 3rd ed. CRC Press, Boca Raton, Florida, 2006, 319–342.
42. Mommmsen T.P., Vijan M.M., Moon T.W.: Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Biology and Fisheries* 1999, **9**, 211–269.
43. Cato A.C., Wade E.: Molecular mechanisms of anti-inflammatory action of glucocorticoids. *Bio Essays* 1996, **18**, 371–378.
44. De Bosscher K., Vanden Bherge W., Haegeman G.: Mechanisms of anti-inflammatory action and of immunosuppression by glucocorticoids: negative interference of activated glucocorticoid receptor with transcription factors. *J. Neuroimmunol.* 2000, **109**, 16–22.
45. O'Connor E.A., Pottinger T.G., Sneddon L.U.: The effect of acute and chronic hypoxia on cortisol, glucose and lactate concentrations in different populations of three-spined stickleback. *Fish. Physiol. Biochem.* 2011, **37**, 461–469.
46. Vallejo R.L., Rexroad C.E., Silverstein J.T., Janss L.L.G., Weber G.M.: Evidence of major genes affecting stress response in rainbow trout using Bayesian methods of complex segregation analysis. *J. Anim. Sci.* 2009, **111**, 3490–3505.
47. Pickard D.J., Schulte P.M.: Variation in gene expression in response to stress in two populations of *Fundulus heteroclitus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 2004, **137A**, 205–216.
48. Maillot S., Pean S., Leguay D., Vergnet A., Chatain B., Begout M.L.: Evaluation of behavioral changes induced by a first step of domestication or selection for growth in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): A self-feeding approach under repeated acute stress. *Aquaculture* 2010, **14**, 211–217.
49. Pottinger T.G.: The selection of trout for high and low responsiveness to stress: progress and prospects. *Trout news*. CEFAS 2003, **36**, 14–16.
50. Pottinger Y.G., Carrick T.R.: Modification of the plasma cortisol response to stress in rainbow trout by selective breeding. *Gen. Com. Endocrinol.* 1999, **116**, 122–132.
51. Orvelli O., Winberg S., Pottinger T.G.: Behavioural and endocrine correlates of selection for stress responsiveness in rainbow trout – a review. *Comp. Biol.* 2005, **45**, 463–474.
52. Antychowicz J.: *Wirusowa krwotoczna posocznica – VHS i zakaźna martwica układu krwiotwórczego – IHN najgroźniejsze choroby pstrągów*. PIWet.-PIB, Puławy, 2004.
53. Kozińska A.: Najważniejsze zakażenia bakteryjne u karpia – aktualny stan wiedzy o etiologii i epizootologii oraz problemy diagnostyczne i terapeutyczne. *Ochrona Zdrowia w Gospodarce Rybackiej*. PIWet., Puławy, 2007, 47–57.
54. Pękala A.: Nowe zagrożenia infekcji bakteryjnych u karpia. *Ochrona Zdrowia w Gospodarce Rybackiej*. PIWet., Puławy, 2007 59–64.
55. Kozińska A.: Czynniki sprzyjające oraz możliwości zapobiegania bakteryjnym chorobom ryb. *Perspektywy i Możliwości Zwalczenia Chorób Ryb*. PIWet., Puławy, 2010, 113–127.
56. Kozińska A., Pękala A.: Zaburzenia w hodowli ryb śródlądowych powodowane przez bakterie. *Perspektywy i Możliwości Zwalczenia Chorób Ryb*. PIWet., Puławy, 2010, 95–111.
57. Pękala A.: Zastosowanie chemioterapeutyków w leczeniu bakteryjnych chorób ryb. *Możliwości Zwalczenia Chorób Ryb*. PIWet., Puławy, 2010, 129–143.
58. Kozińska A., Pękala A.: *Występowanie infekcyjnych i inwazyjnych chorób ryb w Polsce w świetle najnowszych badań*. Monografia pod redakcją naukową dr hab. Alicji Kozińskiej i dr Agnieszki Pękali, PIWet.-PIB, Puławy, 2013.
59. Kozińska A.: Bakteryjne choroby ryb diagnozowane w Polsce i możliwości ich zwalczania. *Zagrożenia i ochrona zdrowia ryb*, PIWet. Puławy, 2014, 157–176.
60. Kozińska A., Pękala A.: Bakteryjne choroby ryb hodowlanych, diagnozowane w Polsce w ostatnich kilku latach. *Szkolenie Producentów Ryb*. Polskie Towarzystwo Rybackie. Licheń Stary, 2014, 27–41.
61. Pękala A.: Zagrożenia wynikające z niewłaściwego stosowania chemioterapeutyków u ryb. *Zagrożenia i ochrona zdrowia ryb*. PIWet. Puławy, 2014, 201–217.
62. Austin B.: Ecology of *Renibacterium salmoninarum*, the casual agent of bacterial kidney disease in salmonids. *Proceedings of the 4th International Symposium on Microbial Ecology*, Ljubljana, 1986, 650–654.
63. Fryer J.L., Sanders J.E.: Bacterial Sidney disease of salmonid fish. *Ann. Rev. Microbiol.* 1981, **35**, 237–298.
64. Antychowicz J.: Badania nad florą bakteryjną przewodów pokarmowych karpia w okresie ich zimowania. *Med. Weter.* 1967, **23**, 403–405.
65. Bullock G.L., Conroy D.A., Snieszko S.F.: Bacterial diseases of fishes. W: Snieszko S.F., Axelrod H.R. (edit.), *Diseases of Fishes*, Book 2A. T.F.H. Publications, Neptune, New Jersey, 1971.
66. Groberg W.J., McCoy R.H., Pilcher K.S., Fryer J.L.: Relation of water temperature to infection of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), chinook salmon (*O. tshawytscha*), and steelhead trout (*Salmo gairdneri*) with *Aeromonas salmonicida* and *Aeromonas hydrophila*. *J. Fish. Res. Board Can.* 1978, **35**, 1–7.
67. McCarthy D. H.: Some ecological aspects of the bacterial fish pathogen – *Aeromonas salmonicida*. W: *Aquatic microbiology*. Symposium of the Society of Applied Bacteriology No 6, 1980, 299–324.
68. Bullock G.L., Cipriano R.C., Schill W.B.: Culture and serodiagnostic detection of *Aeromonas salmonicida* from covertly-infected rainbow trout Niven the stress-induced furunculosis test. *Biomed. Lett.* 1997, **55**, 169–177.
69. Kozińska A.: Infekcje bakterii *Pseudomonas* u ryb jako konsekwencja zmieniających się warunków środowiska. W: *Środowisko a stan zdrowotny karpia*. PIWet., Puławy, 2002, 55–62.
70. Klontz G.W., Huddleston T.R.: *Control of Enteric redmouth disease*. University of Idaho, Moscow, 1976.
71. Busch R.A., Lingg A.J.: Establishment of an asymptomatic carrier state infection of enteric redmouth disease in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Res. Board Can.* 1975, **32**, 2429–2432.
72. Romalde J.L., Barja J.L., Toranzo A.E.: Incidence of *Yersinia ruckeri* in two farms in Galicia (Spain) during one-year period. *J. Fish. Dis.* 1994, **17**, 533–539.
73. Rintamäki P., Valtonen E.T., Frierihs G.N.: Occurrence of *Yersinia ruckeri* infection in farmed whitefish *Coregonus peled* Gmelin and *Coregonus muksun* Pallas, and Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in northern Finland. *J. Fish. Dis.* 1986, **9**, 137–140.
74. Ross A.J., Rucker R.R., Ewing W.H.: Description of bacterium associated with redmouth disease of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Can. J. Microbiol.* 1966, **12**, 763–770.
75. Stevenson R., Flett D., Raymond B.T.: Enteric redmouth (ERM) and Rother enterobacterial infection of Fish. W: Inglis V., Roberts R.J., Bromage N.R., (edit.): *Bacterial Diseases of Fish*. New York. Halsted Press, 1993, 80–106.
76. Hunter V.A., Knittel M.P., Fryer J.L.: Stress-induced transmission of *Yersinia ruckeri* infection from carriers to recipient steelhead trout *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish. Dis.* 1980, **3**, 467–472.
77. Bullock G.L., Snieszko S.F.: Hagerman redmouth a disease of salmonids caused by member of *Enterobacteriaceae*. U.S. Dpt. Int. Fish. and Wildl. *Service Fish Disease Leaflet*, 1975, **42**, 1–5.
78. Rucker R.R.: Redmouth disease of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Bull. Off. Int. Epiz.* 1966, **65**, 825–830.
79. Dalsgaard L., From J., Holyck V.: First observation of *Yersinia ruckeri* in Denmark. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 1984, **4**, 10.
80. Roberts M.S.: A report of an epizootic in hatchery rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, at an English trout farm, caused by *Yersinia ruckeri*. *J. Fish Dis.* 1983, **6**, 551–552.
81. Grawiński E.: Występowanie w Polsce choroby “redmouth” u pstrąga tęczowego (*Salmo gairdneri* Richardson). *Med. Weter.* 1990, **46**, 183–185.
82. Pękala A.: *Charakterystyka fenotypowa i genotypowa krajowych izolatów Yersinia ruckeri w aspekcie ich patogenności dla ryb*. Rozprawa doktorska. PIWet.-PIB, Puławy, 2008.
83. Busch R.A.: *The serological surveillance of salmonid population for presumptive evidence of specific disease association*. Ph.D. Dissertation, University of Idaho. 1973.
84. Chen C.R.L., Chung Y.Y., Kuo G.H.: Studies on the pathogenicity of *Flexibacter columnaris*, 1. Effect of dissolved oxygen and ammonia on the pathogenicity *Flexibacter columnaris* to eel (*Anquilla japonica*). *Fish. Dis. Res.* 1982, **4**, 57–61.
85. Fijan N.: The survival of *Chondrocyclus columnaris* in Walters of different quality. *Bull. Off. Int. Epizoot.* 1968, **69**, 1159–1166.
86. Prost M.: *Choroby ryb*. PTNW, Lublin 1994, 95–119.
87. Woo P. T. K., Gregory D. W. B.: *Diseases and Disorders of Finfish in Cage Culture*, 2<sup>nd</sup> ed., CABI, 2014, 77–80.
88. Kozińska A., Pękala A.: First isolation of *Shewanella putrefaciens* from freshwater fish – a potential new pathogen of fish. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 2004, **24**, 189–193.
89. Pękala A., Kozińska A., Paździor E., Glowacka H.: Phenotypical and genotypical characterization of *Shewanella putrefaciens* strains isolated from diseased freshwater fish. *J. Fish Dis.*, doi: 10.1111/jfd.12231 (w druku).
90. Glowacka H.: Choroby infekcyjne i inwazyjne diagnozowane przez ZHW w Bydgoszczy w latach 2010–2012. W: *Występowanie infekcyjnych i inwazyjnych chorób ryb w Polsce w świetle najnowszych badań* (pod red. A. Kozińskiej i A. Pękali), PIWet.-PIB, Puławy 2013, 39–61.
91. Cecchini F., Lacumin L., Fonanot M., Comi G., Manzano M.: Identification of unculturable bacteria *Candidatus Arthromitus* in the intestinal content of trout Rusing Dot blot and Southern blot techniques. *Vet. Microbiol.* 2012, **156**, 389–394.
92. Del-Pozo J., Turnbull J., Ferguson H., Crumlish M.: A comparative molecular study of the presence of “*Candidatus Arthromitus*” in the digestive system of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), health and affected with trout gastroenteritis. *J. Fish Dis.* 2010, **33**, 241–250.
93. Pickering A.D., Pottinger T.G., Carragher J., Sumpter J.P.: The effects of acute and chronic stress on the levels of reproductive hormones in the plasma of mature male brown trout, *Salmo trutta* L. *General and comparative Endocrinology* 1987, **68**, 249–259.
94. Wendlar B.S.E.: The stress response in Fish. *Physiol. Rev.* 1997, **77**, 592–616.
95. Portz D.E., Woodley C.M., Cech J.Jr.: Stress-associated impact of short-term holding on fishes. *Rev. Fish. Biol. Fish.* 2006, **16**, 125–170.
96. Barton B.A., Morgan J.D., Vijan M.M.: Physiological and condition related indicators of environmental stress in Fish. W: Adams S.N. (edit.): *Biological Indicators of Stress in Fish*, 2<sup>nd</sup> ed., American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, 2002, 111–148.

Prof. dr hab. Jerzy Antychowicz,  
e-mail: jerzy.antychowicz@gmail.com