



Különböző genetikai háttérű pontyváltozatok nem-specifikus immunválaszának és antitestszintjének változása *Aeromonas hydrophila* fertőzést követően

Ardó László¹, Bercsényi Miklós², Ingrid Olesen³, Alexandra Adams⁴, Jeney Galina¹ és Jeney Zsigmond¹

1: Halászati és Öntözési Kutatóintézet, Szarvas

2: Pannon Egyetem, Georgikon Mezőgazdaság-tudományi Kar, Keszthely

3: AKVAFORSK, Institute of Aquaculture, Ås, Norvégia

4: Institute of Aquaculture, University of Stirling, Stirling, Nagy-Britannia

Az *A. hydrophila* baktérium által okozott betegség (szeptikémia) jellemzői

- Magas mortalitás, gyors terjedés
- Hideg- és melegvízi halfajokat egyaránt veszélyeztet (pl. ponty, angolna, tilápia, lazacfélék)
- A baktérium a halak normális bélflórájának része, csak a halat ért stressz hatására képes betegséget okozni
- Az egész világon egyre nagyobb problémát jelent a haltenyésztők számára



Hogyan védekezhetünk a bakteriális eredetű fertőző halbetegségek ellen?

1. Antibiotikumok:

- Felhalmozódhatnak a halhúsban és a vízi környezetben
- Alkalmazásuk magában hordozza a rezisztens baktériumok kialakulásának lehetőségét

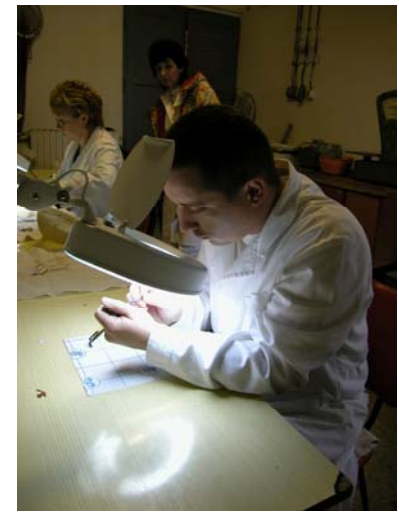
2. Oltóanyagok (vakcinák):

- Egy vakcina általában csak egy adott kórokozó ellen hatásos
- Több olyan patogén baktérium is van, amelynek sok különböző törzse létezik, és nincs olyan vakcina, amely mindegyik ellen hatásos lenne.

3. A betegségekkel szemben ellenálló genetikai változatok kitenyésztése

Előzmények (EUROCARP projekt, Jeney és mtsai., 2006. és 2007.)

- A HAKI génbankban rendelkezésre álló fajták keresztezésével sokféle genetikai háttérű pontyváltozatot (családot) állítottunk elő
- A létrehozott családokat felneveltük kb. 10 grammos egyedi tömeg eléréséig
- Családonként 100 halat jelöltünk egyedi elektronikus azonosítóval (PIT-tag)



Előzmények: A keresztezésekhez kiválasztott pontyfajták

A kiválasztás szempontjai:

- Törekedtünk a lehető legnagyobb genetikai változatosság biztosítására
- Mind a négy kiválasztott fajtából 5 tejest és 10 ikrást használtunk a szaporításhoz
- Minden keresztezésből 6 különböző családot állítottunk elő
- Ez összesen $4 \times 4 \times 6 = 96$ családot jelentett



**Amuri pikkelyes
(vadponty)**



**Tatai pikkelyes
(tenyésztett tájfajta)**



**Dunai pikkelyes
(vadponty)**



**Szarvasi 15-ös tükrös
(beltenyésztett vonal)**

Előzmények: 1. fertőzési kísérlet

- Családonként 20 hal fertőzése *A. hydrophila* baktériummal
- Az elhullás idejének regisztrálása egy héten keresztül, óránként
- A mortalitási adatok alapján a fertőzéssel szemben 10 legellenállóbb és 10 legérzékenyebb család kiválasztása (AKVAFORSK, Ås, Norvégia)



Az *A. hydrophila* fertőzéssel szemben legellenállóbb és legérzékenyebb pontycsaládok

Ellenállók:

A3xT10

T4xT7

15-2xT10

T4xT8

A3xT9

D5x15-2

T1x15-7

15-3xT1

15-1x15-2

T2xT3



A: amuri pikkelyes



D: dunai pikkelyes



T: tatai pikkelyes



15: szarvasi 15-ös tükrös

Érzékenyek:

A1xD8

D2xD3

A2xD9

A2xD10

A4xA7

D1xA5

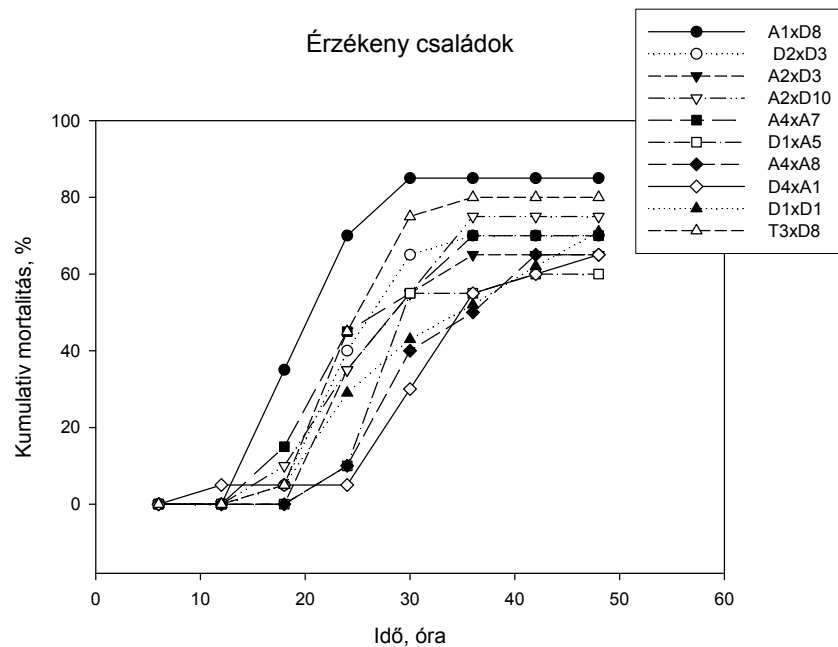
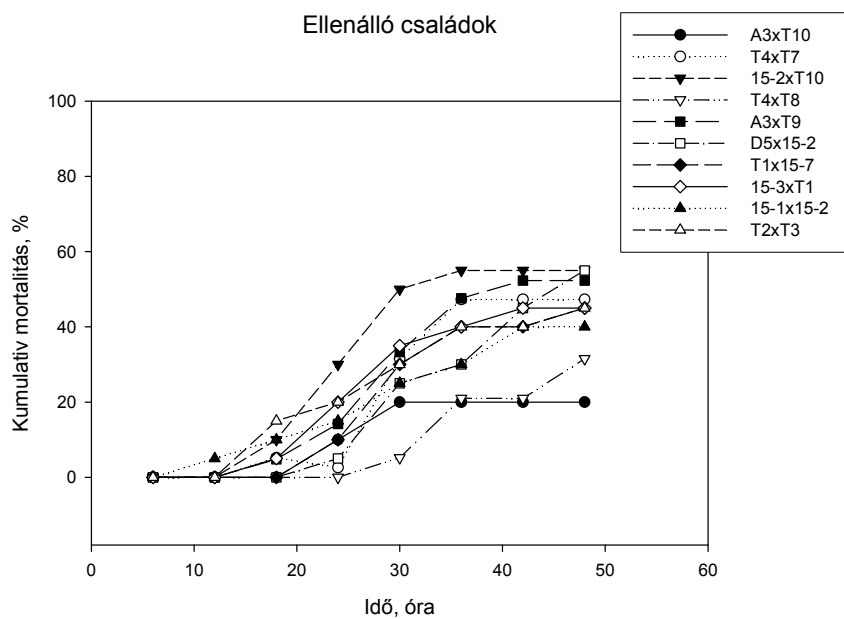
A4xA8

D4xA1

D1xD1

T3xD8

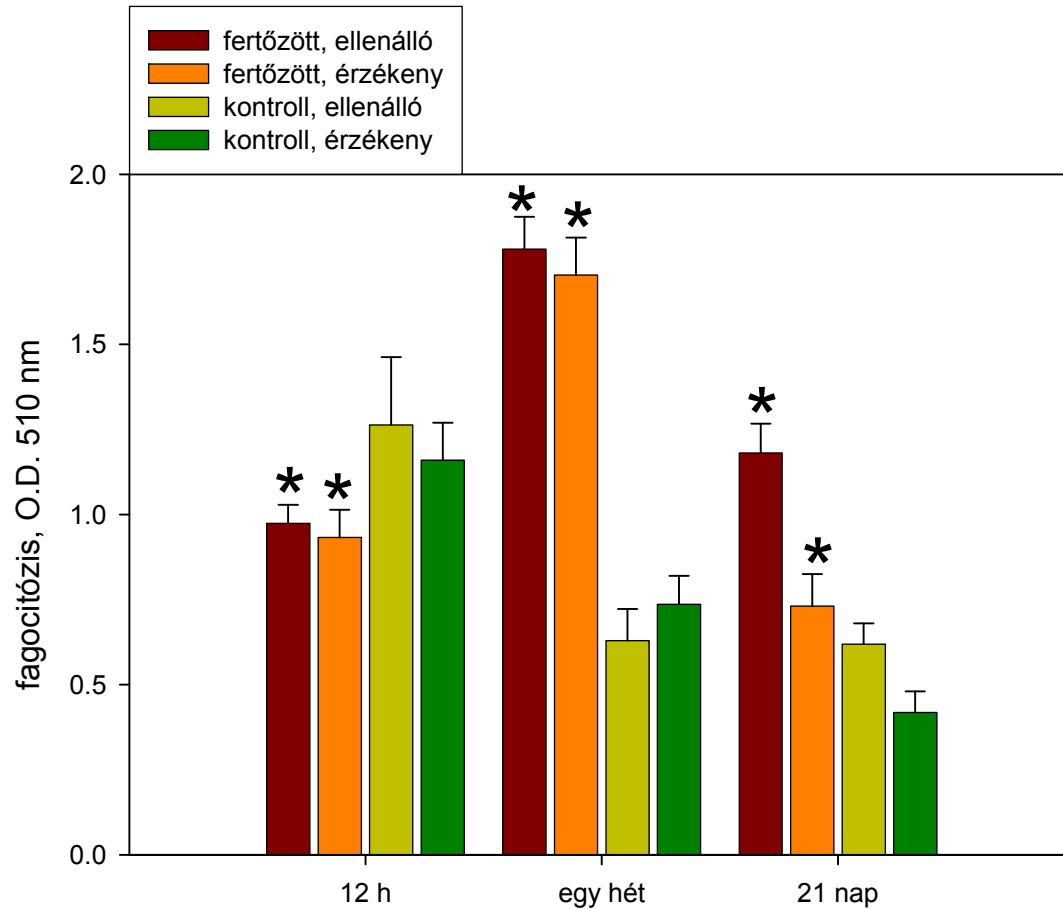
Kumulatív mortalitás az ellenálló és érzékeny családokban



2. fertőzési kísérlet

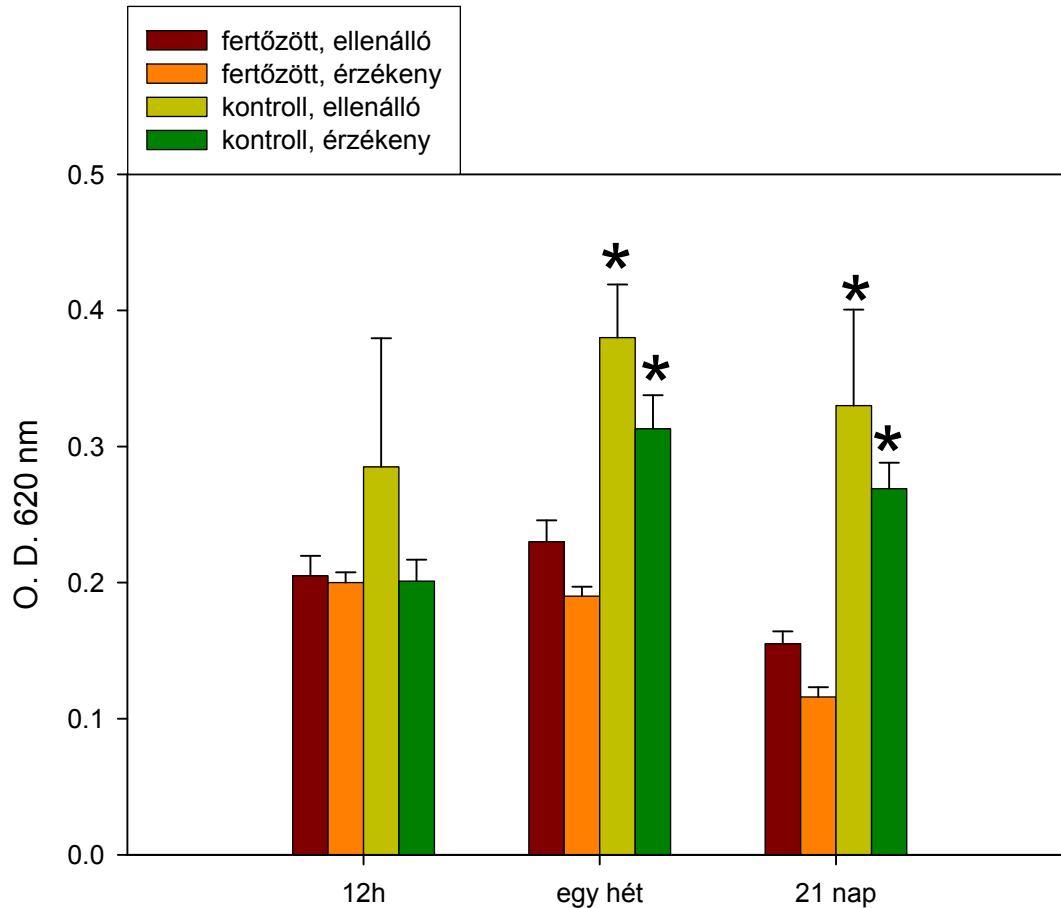
- A 20 kiválasztott családhoz tartozó intakt halakat kikerestük az EUROCARP tartalék állományából
- A halakat fertőztük *A. hydrophilával*
- A fertőzés után 12 órával, 1 héttel és 21 nappal vérmintát vettünk
- A mintákból meghatároztuk a nem-specifikus immunválasz paramétereit (fagocitózis, respirációs aktivitás, lizozimaktivitás)
- A 21 napos mintákból meghatároztuk az *A. hydrophila* elleni antitestek szintjét (titerét) ELISA módszerrel
- Az immunológiai paraméterek és antitestszintek összehasonlítása az ellenálló és érzékeny családokban, ill. a fertőzött és kontroll halakban

A fehérvérsejtek fagocitáló aktivitásának változása



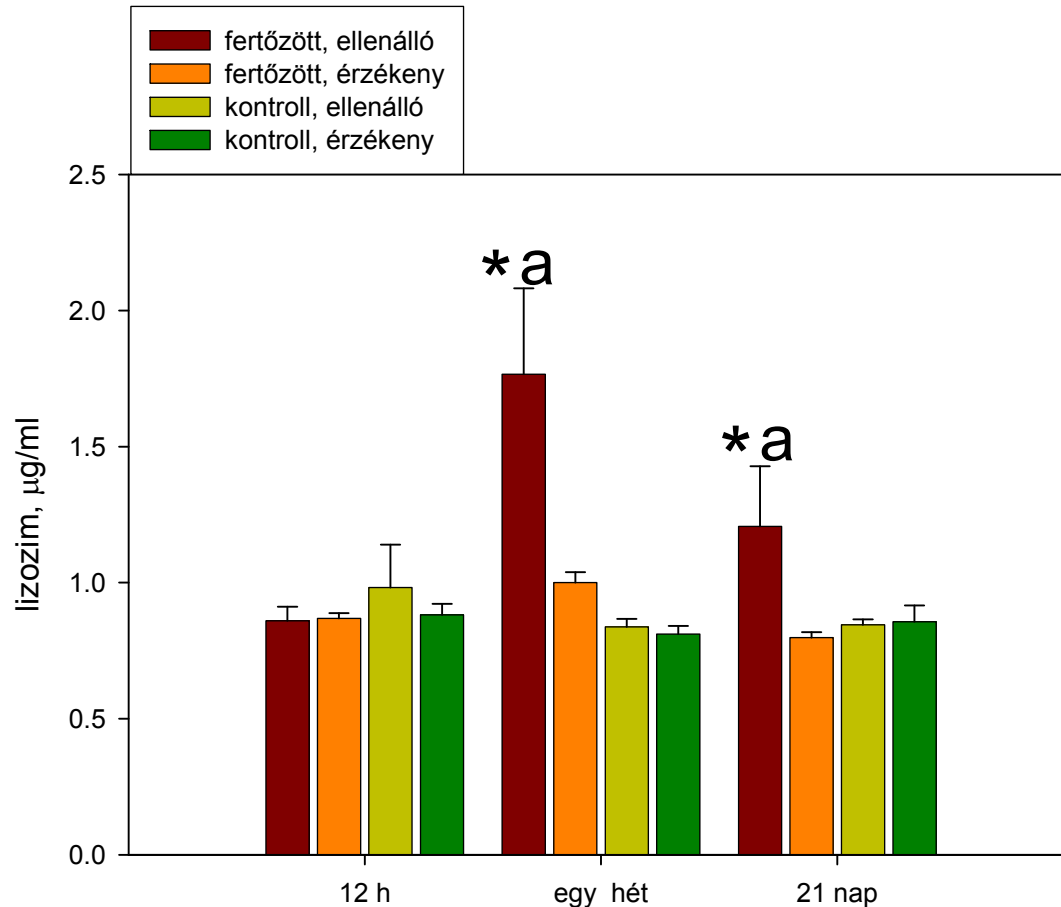
*: szignifikáns különbség a megfelelő kontrollhoz képest

A fehérvérsejtek respirációs aktivitásának változása



*: szignifikáns különbség a megfelelő kontrollhoz képest

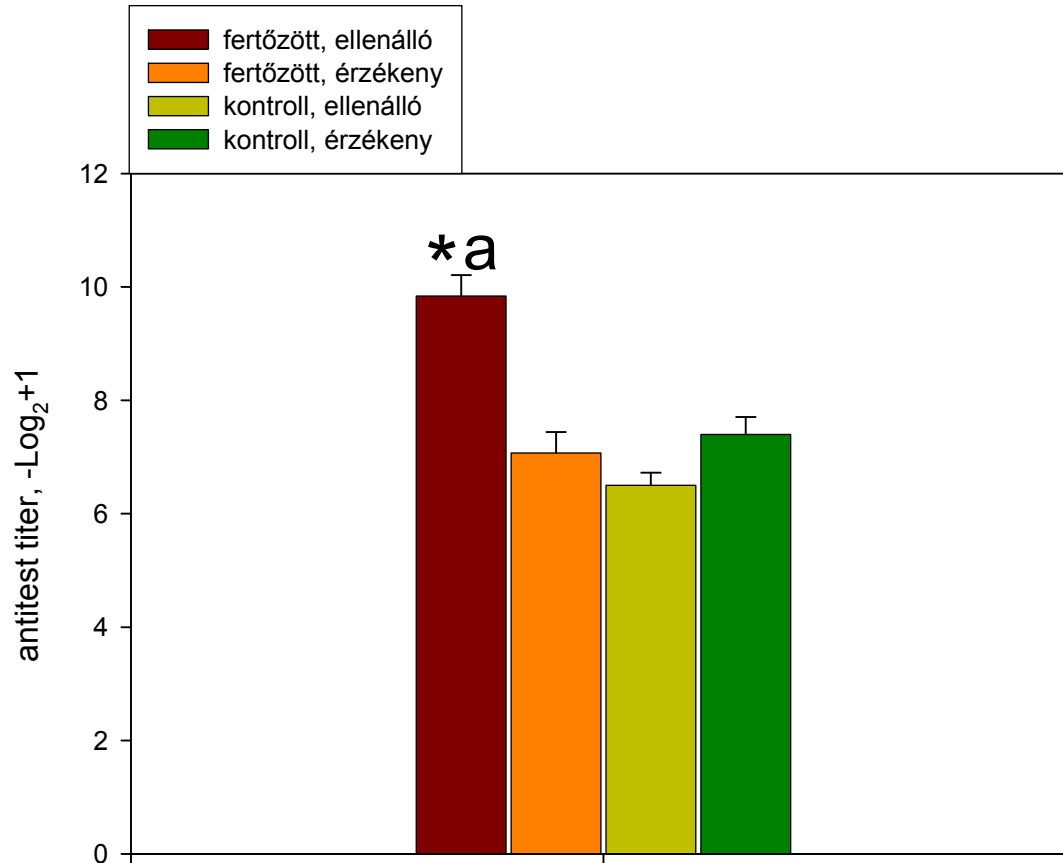
A vérplazma lizozimaktivitásának változása



*: szignifikáns különbség a megfelelő kontrollhoz képest

a: szignifikáns különbség az ellenálló és érzékeny családok között

Az *A. hydrophila* elleni antitestek szintje a 21 napos mintákban (pozitív antitestválaszt adó minták)



*: szignifikáns különbség a megfelelő kontrollhoz képest

a: szignifikáns különbség az ellenálló és érzékeny családok között

A négy legmagasabb antitest-titer az ellenálló családokban

Család	Antitest-titer ($-\log_2+1$)
A3xT9	11,500±1,517
T4xT8	11,250±1,282
15-2xT10	11,000±1,732
T4xT7	10,200±1,789

A negatív antitestválaszt adó minták aránya az ellenálló és érzékeny családokban

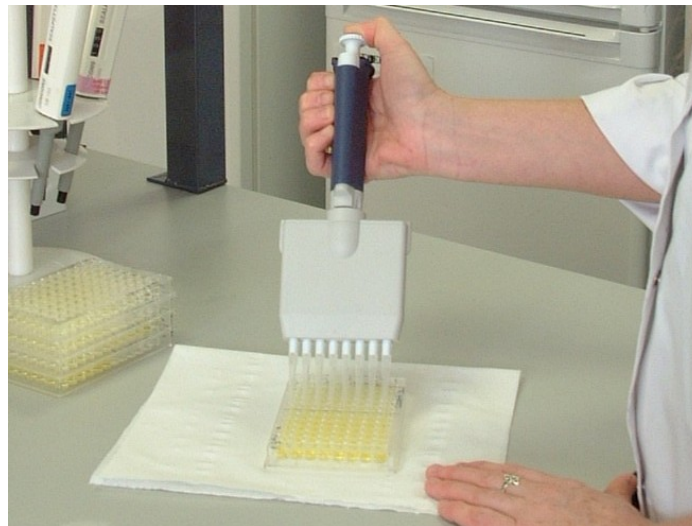
	Pozitív minták	Negatív minták	Negatívok aránya
Ellenálló családok	38	7	18,42 %
Érzékeny családok	14	19	57,58%

Összefoglalás 1

- Családonként 20 halat fertőztünk *A. hydrophilával*, hogy kiválasszuk a fertőzéssel szemben legellenállóbb és legérzékenyebb családokat
- Az ellenálló családok jellemzően a két tenyésztett fajta, míg az érzékeny családok szinte kizárólag a két vad fajta keresztezéseiből származtak
- A kiválasztott családok halait újfertőztük, majd meghatároztuk a nem-specifikus immunválasz paramétereit és az *A. hydrophila* elleni antitestek szintjét
- A fagocitáló aktivitás a fertőzött, a respirációs aktivitás pedig a kontroll halakban volt magasabb, az ellenálló és érzékeny családok között nem volt jelentős különbség

Összefoglalás 2

- A vérplazma lizozimaktivitása az ellenálló családokban szignifikáns mértékben magasabb volt, mint az érzékenyekben
- Az *A. hydrophila* elleni antitestek szintje is az ellenálló családokban volt magasabb
- A negatív antitestválaszt adó minták aránya lényegesen magasabb volt az érzékeny családokban



KÖSZÖJÜK MEGTISZTELŐ FIGYELMÜKET!

