

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 597.553.2 : 577.125 + 612.017

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУНО-БИОХИМИЧЕСКОГО СТАТУСА РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ *PARASALMO MIKYSS IRIDEUS* ИЗ РЫБОВОДНЫХ ХОЗЯЙСТВ КАВКАЗСКОГО РЕГИОНА

© 2014 г. Н. И. Силкина, Т. А. Суворова

Институт биологии внутренних вод им И.Д. Папанина РАН

E-mail: sni@ibiw.yaroslavl.ru

Поступила в редакцию 10.06.2013 г.

Проведено исследование гуморальных факторов иммунитета и интенсивности окислительных процессов у радужной форели *Parasalmo mykiss irideus* из рыбхозов Кавказского региона. Установленное снижение показателей иммунитета и изменение окислительно-восстановительного гомеостаза в организме рыб, выращенных в Чернореченском форелевом хозяйстве, может привести к ослаблению их адаптационного потенциала, развитию окислительного стресса, снижению выживаемости.

Ключевые слова: рыба, гуморальный иммунитет, липидный обмен.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальной проблемой форелеводства, которое в последние годы активно развивается во всем мире, является получение товарной рыбы, адаптированной к искусственным условиям содержания. Интенсивные методы выращивания позволяют значительно повысить выход товарной продукции с единицы площади. Однако кормление искусственным кормом, высокие плотности посадки и другие негативные факторы промышленного рыбоводства неизбежно ведут к увеличению стрессовых нагрузок и, как следствие, отражаются на физиологическом состоянии рыб.

Следует отметить, что изучению характера физиолого-биохимических механизмов культивируемой форели уделяется недостаточное внимание и чаще работы посвящены клеточным и гуморальным факторам иммунитета (Золотова и др., 2007; Ганжа и др., 2010; Ганжа, 2011), а данные о характере изменения направления липидного обмена, интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и механизмах иммунитета рыб, разводимых в различных

условиях рыбхозов, в доступной литературе отсутствуют вовсе. Между тем это важно для успешного выращивания товарной рыбы хорошего качества, выведения новых пород, контроля за состоянием здоровья, условиями содержания и кормления и т.д.

Цель работы — исследование некоторых показателей иммуно-биохимического статуса радужной форели *Parasalmo mykiss irideus* из различных рыбоводных хозяйств Кавказского региона.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объект исследования — радужная форель породы Адлер, исходными формами для создания которой послужили стальноголовый лосось и радужная форель (Голод, 2006), относящиеся к виду *Parasalmo mykiss* Walbaum, 1792 (Атлас пресноводных рыб, 2002), в возрасте 2+ средней массой 750–820 г. Сбор материала проводили в конце сентября — начале октября 2010 г. в двух районах г. Сочи Краснодарского края: в форелевом хозяйстве «Адлер» (I группа) было отобрано 8 особей, на рыбоводном пункте

«Джегош» (филиал «Адлера») в ауле Большой Кичмай (II группа) — 9 и в форелевом хозяйстве «Черная речка» (III группа), расположенном на берегу р. Мчышта (Черная), западнее с. Отхары Гудаутского района Абхазии — 11 особей товарной форели.

Анализ иммунологических и биохимических показателей осуществляли в сыворотке крови по данным бактериостатической активности (БАСК), доле иммунодефицитных особей (ИМД), содержанию неспецифических иммунных комплексов (ИК), уровню общих липидов (ОЛ), интенсивности процессов ПОЛ и состоянию антиоксидательной защиты (АЗ).

БАСК определяли методом фото-нефелометрического колориметрирования в модификации Микрякова (1991). В качестве тест-микробов использовали суточную культуру *Aeromonas hydrophila*. В зависимости от уровня БАСК у рыб выявляли ИМД-особей, сыворотка крови которых не угнетала развитие тест-микробов. Содержание ИК в сыворотке крови устанавливали спектрофотометрически при длине волны 280 нм методом селективной преципитации с 7%-ным полиэтиленгликолем (Гриневиц, Алферов, 1981), адаптированным для водных гидробионтов (Микряков и др., 2001). Липиды экстрагировали и определяли стандартным гравиметрическим методом по Фолчу (Folch et al., 1957; Кейтс, 1972). Интенсивность ПОЛ оценивали по накоплению малонового диальдегида (МДА) — одного из конечных продуктов перекисления липидов. Концентрацию МДА определяли на основе учета количества продуктов ПОЛ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой и дающих с ней окрашенный комплекс (Андреева и др., 1988). Состояние АЗ оценивали по интегральному показателю КОС (константе ингибирования окисленного субстрата 2,6-дихлорфенолиндофенола кислородом воздуха), характеризующему содержание антиоксидантов в тканях, общепринятым методом (Семенов, Ярош, 1985), сущность которого заключается в том, что чем выше скорость окисления субстрата в присутствии биологи-

ческого материала, тем ниже содержание в тканях антиоксидантов.

Результаты исследований подвергали статистической обработке при помощи стандартного пакета программ (приложение Statistica) с использованием *t*-теста, $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных результатов показал, что посадочная форель, выращенная в условиях разных хозяйств, по исследованным показателям различалась (таблица).

Рыбы, выращенные в хозяйстве «Джегош», отличались от особей из «Адлера» только величиной БАСК — интегрированного показателя противомикробных свойств гуморального звена неспецифического иммунитета: лизоцима, комплемента, пропердина, протеаз, С-реактивного белка, агглютининов, преципитинов и т.д. (Лукьяненко, 1989; Микряков, 1991).

Низкий уровень БАСК и более высокая доля ИМД-особей, отмеченные у форели из «Черной речки», свидетельствуют об иммуносупрессивном состоянии механизмов врожденного гуморального иммунитета. Это подтверждается также и активацией образования ИК, состоящих из комплекса антиген—антитело и связанных с ними компонентов системы комплемента. ИК играют важную роль в процессах регуляции иммунных реакций, элиминации ксенобиотиков из организма и поддержании иммунологического гомеостаза. Избыточное образование ИК, как правило, происходит при насыщении организма чужеродными телами, в том числе аутоантигенами, поллютантами и инфекционными агентами, вследствие снижения клиринговой функции клеток фагоцитарной системы (Логинов и др., 1990; Вольский, 1991; Микряков, 1991; Абелев, 1996; Van Muiswinkel, Vervoorn-Van Der Wal, 2006). По-видимому, интенсификация накопления ИК у особей III группы — одна из причин снижения БАСК.

Кроме супрессии факторов гуморального иммунитета у форели группы III

Иммунобиохимические показатели трех групп рыб

Показатель	Группа рыб		
	I	II	III
Число рыб, экз.	8	11	9
Бактериостатическая активность сыворотки крови, %	21,5±4,1 ^б	16,7±3,9	11,4±5,7 ^а
Иммунодефицитные особи, %	37,5	36,3	44,4 ^а
Иммунные комплексы, у.е.	11,87±0,57	11,55±0,84	14,37±0,62 ^а
Общие липиды, мг%	1265±45	1280±50	1370±55 ^а
Малоновый диальдегид, нМоль/ г	3,86±0,38	3,71±0,52	5,08±0,25 ^а
Константа ингибирования окисленного субстрата, л/мл х мин	2,15±0,27	2,26±0,19	2,93±0,24 ^а

Примечание. Значение достоверно для рыб: ^а группы III относительно групп I и II; ^б группы I относительно группы II.

наблюдалось изменение липидного обмена. Повышенный уровень липидов в крови сопровождался нарастанием показателей процессов ПОЛ и снижением факторов АЗ, о чем свидетельствует накопление одного из конечных продуктов перекисления липидов МДА и увеличение показателя КОС. Указанные изменения приводят к нарушению оптимального окислительно-восстановительного гомеостаза в организме рыб и сдвигают баланс системы ПОЛ — АЗ в сторону процессов ПОЛ. Аналогичные нарушения встречаются у гидробионтов в районах с повышенной антропогенной нагрузкой (Winston, 1991; Микряков и др., 2001, 2011; Moseley et al., 2004; Руднева и др., 2005; Силкина и др., 2010, 2012). Выявленные отличия исследуемых показателей могут свидетельствовать о том, что условия содержания и кормления рыб в указанном хозяйстве требуют корректировки и оптимизации в соответствии с биологией вида.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенные иммунобиохимические исследования показали, что рыбы, выращенные в хозяйстве «Черная речка», отличались от таковых из других хозяйств

по функциональному состоянию гуморальных факторов иммунитета, доле ИМД-особей, характеру липидного обмена и окислительно-восстановительному балансу. Снижение показателей иммунитета и изменение окислительно-восстановительного гомеостаза у форели может привести к ослаблению адаптационного потенциала организма, развитию окислительного стресса и, как следствие, возникновению инфекционных и инвазионных заболеваний. Полученные данные можно использовать для мониторинга состояния здоровья рыб и разработки профилактических и лечебно-оздоровительных мероприятий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Абелев Г.И. Основы иммунитета // Соросов. образоват. журн. 1996. № 5. С. 4–10.
- Андреева Л.И., Кожемякин Н.А., Кишкун А.А. Модификация методов определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. 1988. №11. С. 41–43.
- Атлас пресноводных рыб России. Т. 1 / Под ред. Ю.С. Решетникова. М.: Наука, 2002. 379 с.

- Вольский Н.Н. Иммунная система как орган адаптогенеза // Методологические аспекты современной иммунологии. Новосибирск: Наука, 1991. С. 39–46.
- Ганжа Е.В. Некоторые показатели иммунитета триплоидной радужной форели *Oncorhynchus mykiss* при её культивировании в условиях южного Вьетнама // Расширен. матер. III Междунар. науч.-практ. конф. «Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб». М.: Изд-во РГАУ – МСХА им. К.А. Тимирязева, 2011. С. 90–95.
- Ганжа Е.В., Микодина Е.В., Во Тхи Ха. Некоторые показатели иммунитета радужной форели *Oncorhynchus mykiss*, выращенной при воздействии постоянно высоких температур // Тез. докл. Всерос. молодеж. конф. «Вклад молодых ученых в рыбохозяйственную науку России». СПб., 2010. С. 35–38.
- Голод В.М. Породы радужной форели. М.: Росинформагротех, 2006. 316 с.
- Гриневиц Ю.А., Алферов А.Н. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных // Лаб. дело. 1981. № 8. С. 493–496.
- Золотова А.В., Панов В.П., Есавкин Ю.И. Сравнительная физиолого-биохимическая характеристика двух форм форели // Расшир. матер. Междунар. науч.-практ. конф. «Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов–2». М.: Россельхозакадемия, 2007. С. 173–177.
- Кейтс М. Техника липидологии. М.: Наука, 1972. 300 с.
- Логинов С.И., Смирнов П.Н., Трунов А.Н. Иммунные комплексы у животных и человека: норма и патология. Новосибирск: СО РАСХН; Ин-т эксперим. ветеринарии Сибири и Дальнего Востока, 1999. 144 с.
- Лукьяненко В.И. Иммунобиология рыб: врожденный иммунитет. М.: Агропромиздат, 1989. 272 с.
- Микряков В.Р. Закономерности формирования приобретенного иммунитета у рыб. Рыбинск: ИБВВ РАН, 1991. 154 с.
- Микряков В.Р., Балабанова Л.В., Заботкина Е.А. и др. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление среды. М.: Наука, 2001. 126 с.
- Микряков В.Р., Силкина Н.И., Микряков Д.В. Влияние антропогенного загрязнения на иммунологические и биохимические механизмы поддержания гомеостаза у рыб Черного моря // Биология моря. 2011. Т. 37. № 2. С. 142–148.
- Руднева И.И., Шевченко Н.Ф., Залевская И.Н., Жерко Н.В. Биомониторинг прибрежных вод Черного моря // Вод. ресурсы. 2005. Т. 32. № 2. С. 238–246.
- Семенов В.Л., Ярош А.М. Метод определения антиокислительной активности биологического материала // Укр. биохим. журн. 1985. Т. 57. № 3. С. 50–52.
- Силкина Н.И., Микряков В.Р., Микряков Д.В. Особенности липидного обмена леща *Abramis brama*, обитающего в реках Южного Урала // Экология. 2010. № 6. С. 472–474.
- Силкина Н.И., Микряков Д.В., Микряков В.Р. Влияние антропогенного загрязнения на окислительные процессы в печени рыб Рыбинского водохранилища // Экология. 2012. № 4. С. 1–5.
- Folch J., Lees M., Stanley G.N. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animals tissues // J. Biol. Chem. 1957. V. 226. № 3. P. 497–509.
- Moseley R., Hilton J.R., Waddington R.J. et al. Comparison of oxidative stress biomarker profiles between acute and chronic wound environments // Wound Repair Regen. 2004. V. 12. № 4. P. 419–429.
- Van Muiswinkel W., Vervoorn-Van Der Wal B. The immune system of fish // Fish Diseases Disorders. 2006. V. 1. P. 678–701.
- Winston G.W. Oxidants and antioxidants in aquatic animals // Compar. Biochem. Physiol. 1991. V. 100. № 1–2. P. 173–176.

THE COMPARATIVE ANALYSIS OF SOME INDICATORS OF THE IMMUNO-BIOCHEMICAL STATUS OF IRIDESCENT TROUT *PARASALMO MIKYSS* IRIDEUS FROM FISH-BREEDING ECONOMY OF THE CAUCASIAN REGION

© 2014 y. N. I. Silkina, T. A. Suvorova

Research humoral factors of immunity and intensity of oxidising processes at iridescent trout *Parasalmo mykiss irideus* from fish farms the Caucasian region is carried out. The established decrease in indicators of immunity and change of an oxidation-reduction homeostasis in an organism of the fishes who have been grown up in the Chernorechensky trout economy, can lead to easing of their adaptable potential, development of oxidising stress, survival rate decrease.

Keywords: fish, humoral immunity, lipid metabolism.