

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 597.553.2 – 1.05 + 612.017

**СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НЕКОТОРЫХ
ИММУНОБИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
МОЛОДИ ЧЕРНОМОРСКОЙ КУМЖИ *SALMO TRUTTA LABRAX*
ИЗ ЕСТЕСТВЕННЫХ И ЗАВОДСКИХ УСЛОВИЙ**

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

Институт биологии внутренних вод им И.Д. Папанина РАН,
пос. Борок, Ярославская обл., 152742
E-mail: sni@ibiw.yaroslavl.ru

Поступила в редакцию 10.04.2013 г.
Окончательный вариант получен 25.04.2014 г.

Приведены результаты сравнительного анализа иммунобиохимического статуса молоди черноморской кумжи, выращенной в заводских условиях и отловленной в природе. Показано, что показатели гуморального иммунитета, соотношение липидных компонентов и баланс процессов прооксиданты : антиоксиданты в печени речных рыб свидетельствуют о хорошей жизнеспособности выпущенной заводской молоди, способной пополнить естественную популяцию черноморской кумжи.

Ключевые слова: черноморская кумжа, гуморальный иммунитет, липидный обмен.

ВВЕДЕНИЕ

В рамках национального проекта по восстановлению естественных популяций ценных видов рыб предусмотрены меры по искусственному разведению и дальнейшему выпуску в реки молоди черноморской кумжи *Salmo trutta labrax*. В настоящее время в водах России вид обитает только в бассейне Черного моря (Краснодарский край). Для него характерно наличие двух форм — проходной и жилой. Особи проходной формы (черноморский лосось) нагуливаются в море, а на нерест заходят в наиболее крупные реки — Мзымта, Шахе, Псеуапсе, Псоу и их притоки (Атлас ..., 2002). Жилая форма, называемая обычно ручьевой форелью, всю жизнь проводит в реке. Питается кумжа рыбой, беспозвоночными и летающими насекомыми. Нерестится обычно осенью. Численность черноморского лосося всегда была небольшой, а в настоящее время его запасы сократились, вылов запрещен, и этот вид занесен в Красную книгу России

(2001), Красную книгу Краснодарского края (2007) и в Международный Красный список угрожаемых видов (IUCN Red List, 2013).

Для оценки эффективности указанного проекта необходимы исследования иммунобиохимического статуса особей, выпущенных в природу, так как общеизвестно, что на колебание экологических факторов, таких как условия содержания, состояние кормовой базы и другие, организм рыб реагирует изменениями (Лав, 1976; Микряков, 1991; Галактионов, 1995). Изучение этого вопроса важно при мониторинге условий среды обитания, анализе темпов роста и развития, разработке профилактических и оздоровительных мероприятий.

Цель настоящей работы — сравнительная оценка физиолого-биохимического статуса молоди черноморской кумжи, культивируемой на рыболовном заводе и отловленной в естественных условиях.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объектом исследования служили 40 экз. молоди кумжи в возрасте 1+ средней длиной 7,6–8,1 см и массой тела 65,8–66,5 г, отловленные в равных количествах осенью на рыбобоводном пункте «Джегош» (филиал ФГУП «Азчеррыбвод»), где в бетонных садках мальков подращивают до стадии смолтификации, и в реке Шахе, куда годом ранее были выпущены трехмесячные мальки. Речная молодь питалась макрозообентосом и частично планктоном (Атлас ..., 2002), заводская — стандартными искусственными кормами.

Анализ иммунологических и биохимических показателей осуществляли по образцам печени и сыворотки крови: по данным бактериостатической активности сыворотки крови (БАСК), доле иммунодефицитных особей (ИМД), содержанию неспецифических иммунных комплексов (ИК), общих липидов, доли липидных фракций, продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и уровню антиокислительной защиты (АЗ).

БАСК определяли нефелометрическим методом в модификации Микрякова (1991). В качестве тест-микробов использовали точную культуру *Aeromonas hydrophila*. В зависимости от уровня БАСК выявляли ИМД особей, сыворотка крови которых не угнетала развитие тест-микробов. Уровень ИК, отражающий состояние иммунной системы, изучали методом селективной преципитации с полиэтиленгликолем по Гриневич и Алферову (1981), адаптированному для рыб (Микряков и др., 2001). Липиды из тканей экстрагировали и определяли по Фолчу (Folch et al., 1957). Фракционный состав липидов выявляли общепринятыми методами тонкослойной хроматографии на пластинках «Silufol» (Кейтс, 1972). Об интенсивности процессов ПОЛ в тканях судили по накоплению одного из конечных продуктов этого процесса — малонового диальдегида (МДА) — на основе учета количества продуктов ПОЛ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой и дающих с ней окрашенный комплекс. Показатель интенсивности окрашивания оценивали спектрофотометрически

по изменению максимума поглощения спектра при 532 нм (Андреева и др., 1988). Содержание МДА вычисляли с учетом коэффициента молярной экстинкции МДА ($1,56 \times 10^5$) и выражали в наномолях на 1 г ткани (моль \times см⁻¹). Состояние АЗ оценивали по интегральному показателю — константе ингибирования окисленного субстрата 2,6-дихлорфенолиндофенола кислородом воздуха (КОС), характеризующему содержание антиоксидантов в тканях, с помощью метода Семенова и Ярош (1985), сущность которого заключается в том, что чем выше скорость окисления субстрата в присутствии биологического материала, тем ниже содержание в тканях антиоксидантов. КОС определяли относительно контроля по формуле: $K_i = K_{\text{кон.}} - K_{\text{оп.}}/C$, где: $K_{\text{кон.}}$ и $K_{\text{оп.}}$ — константы скоростей окисления субстрата соответственно в контроле и в опыте, C — концентрация биологического материала в кювете. Результаты исследований подвергали статистической обработке при помощи стандартного пакета программ (приложение Statistica) с использованием t -теста, $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный анализ иммунобиохимических параметров у двух групп особей, различающихся условиями жизни и кормовой базой, выявил существенные отличия по многим показателям (таблица).

Речная молодь отличалась от заводских смолтов низким процентом ИМД-особей, низким уровнем ИК, содержанием общих липидов, свободного холестерина и неэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК), уровнем МДА, КОС и высоким содержанием триацилглицеринов и эфиров стероидов. Между заводскими и речными рыбами отсутствовали достоверные различия только по уровню БАСК, содержанию фосфолипидов и углеводов.

Полученные данные свидетельствуют, что у заводских и речных смолтов наблюдаются отличия как на уровне иммунной системы, так и по состоянию липидного обмена и процессов ПОЛ и АЗ (таблица). По величине БАСК, являющейся интегрированным

Иммунологические и биохимические показатели речной и заводской молоди черноморского лосося

Показатель	Молодь	
	речная	заводская
Индекс печени, относит. ед.	0,35±0,02	0,43±0,04*
Бактериостатическая активность сыворотки крови, %, в том числе иммунодефицитные особи	4,6±0,5 28	5,1±0,8 35*
Иммунные комплексы печени, %	54,45±2,11	60,66±2,43*
Общие липиды печени, мг %	1855±25	1990±40*
Фракции липидов, % от суммы:		
— фосфолипиды	33,72±0,82	32,80±0,59
— холестерин	14,90±0,64	20,42±0,43*
— неэстерифицированные жирные кислоты	3,95±0,57	5,76±0,34*
— триацилглицерины	14,61±0,66	10,25±0,64*
— эфиры стерина	30,27±0,48	28,57±0,96*
— углеводороды	2,55±0,54	2,20±0,31
Малоновый диальдегид, моль×см ⁻¹	12,068±0,095	14,325±1,077*
Константа ингибирования окисленного субстрата, л×мл/мин	6,321±0,59	7,593±0,72*

Примечание:* значение достоверно относительно речной формы при $p \leq 0,05$.

выражением противомикробных свойств гуморального звена неспецифического иммунитета — лизоцима, комплемента, пропердина, протеаз, С-реактивного белка, агглютининов, преципитинов и т.д. (Лукьяненко, 1989; Микряков, 1991), молодь не отличалась, но у заводских особей был выше как процент иммунодефицитных по БАСК особей, так и уровень ИК печени (на 11,4%). Это может свидетельствовать о том, что у речной молоди более высокий иммунный статус и общая устойчивость организма. Отмечены некоторые различия исследуемых групп рыб по состоянию липидного обмена. У заводских особей по сравнению с речными в печени наблюдали повышенное содержание общих липидов и перераспределение отдельных липидных фракций. Высокая концентрация липидов в печени и более высокий индекс печени у заводских мальков связаны, по-видимому, с выращиванием этих рыб на искусственных кормах, приводящим к липоидной дегенерации указанного органа. Повышенное со-

держание холестерина и НЭЖК отражает стрессированность организма (Силкина, Микряков, 2000). Отмеченные отличия в липидном обмене коррелировали с интенсификацией процессов ПОЛ (повышенное накопление МДА) и снижением процессов АЗ, поскольку нарастание показателя КОС на 20,1% характеризует снижение активности ферментов защиты, предупреждающих образование перекисей или разрушающих их, т. е. о дефиците антиоксидантов. Содержание МДА в печени заводских смолтов превышало таковое у речных на 18,7%, характеризую повышенное накопление промежуточных и конечных метаболитов и физиологически активных интермедиаторов. Значительная интенсификация процессов ПОЛ и снижение функции АЗ свидетельствуют о том, что у заводских смолтов сдвинут баланс регуляции процессов ПОЛ и АЗ в сторону процессов перекисления липидов.

Таким образом, показатели гуморального иммунитета, обеспечивающего рост,

развитие и выживаемость особей, а также соотношение липидных компонентов и баланс процессов ПОЛ и АЗ у речных рыб свидетельствуют о большей жизнеспособности молоди, обитающей в природных условиях р. Шахе по сравнению с заводскими особями, однако последние способны пополнить естественную популяцию черноморской кумжи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Андреева А.И., Кожемякин Н.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. 1988. № 11. С. 41–43.

Атлас пресноводных рыб России. Т. 1 / Под ред. Решетникова Ю.С. М.: Наука, 2002. 379 с.

Галактионов В.Г. Очерки эволюционной иммунологии. М.: Наука, 1995. 256 с.

Гриневиц Ю.А., Алферов А.Н. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных // Лаб. дело. 1981. № 8. С. 493–496.

Кейтс М. Техника липидологии. М.: Наука, 1972. 300 с.

Красная книга Краснодарского края (животные) / Под ред. Замотайлова А.С. Краснодар: Центр развития ПТР Краснодар. кр., 2007. 504 с.

Красная книга России (животные) / Под ред. Данилова-Данильяна В.И. и др. М.: АСТ; Астрель, 2001. 862 с.

Лав Р.М. Химическая биология рыб. М.: Пищ. пром-сть, 1976. 350 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.

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. Сравнительное исследование липидов сыворотки крови рыб при изменяющихся факторах среды обитания // Тез. докл. IX Всерос. конф. «Экологическая физиология и биохимия рыб». Т. 2. М.: Наука, 2000. С. 140–141.

Folch J., Lees M., Stanley G.N. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem. 1957. V. 226. № 3. P. 497–509.

IUCN Red List of Threatened Species. 2013 (<http://www.iucnredlist.org>).

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF SOME IMMUNOBIOCHEMICAL INDICATORS OF THE BLACK SEA SALMON *SALMO TRUTTA LABRAX* JUVENILES FROM NATURAL AND INDUSTRIAL CONDITIONS

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

I. D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences, Russia, Borok, Yaroslavl range, 152742

The results of a comparative analysis of immunobiochemical status of juvenile Black Sea salmon, grown in factory conditions and caught in nature, is done. It is shown that the parameters of humoral immunity, the ratio of the lipid components and the balance of the processes prooxidants: antioxidants in the liver river fish, give evidence for good viability of let out the factory juveniles, which able to replenish the natural population of the Black Sea salmon.

Keywords: Black Sea salmon, humoral immunity, lipid metabolism.