

УДК: 639.3: 57.577: 616.21

ФИЗИОЛОГО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АДАПТАЦИИ КАРПА К КРАСНУХЕ

Г.И. ПРОНИНА², Н.Ю. КОРЯГИНА², А.А. ИВАНОВ¹

(¹ РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева;
² ВНИИ ирригационного рыбоводства РАН)

Селекция на иммунную устойчивость — одна из возможностей повышения эффективности производства продуктов животного происхождения, включая выращивание рыбы. Из имеющихся пород карпа только одна — ангелинская — прошла длительную селекцию на устойчивость к опасному заболеванию рыб краснухе. Цель настоящей работы заключалась в выявлении физиологических особенностей молоди этой породы, селекционируемой по продуктивному росту, гематологическим, цитохимическим и биохимическим показателям гомеостаза.

Установлено, что краснухоустойчивые карпы характеризуются высоким уровнем белкового и энергетического обмена, невысоким содержанием катионного лизосомального белка нейтрофилов и высоким обеспечением кислородзависимыми факторами иммунитета, выявляемыми в спонтанном НСТ-тесте.

Ключевые слова: селекция, карп, иммунная устойчивость, краснуха, гематологические, цитохимические, биохимические показатели.

Известно, что интенсивное выращивание и селекция животных по продуктивным признакам приводят к ослаблению иммунитета. Особенно остро встает вопрос повышения иммунитета рыб в условиях рыбоводных хозяйств в связи с технологическими нагрузками (в частности, увеличением плотности посадки, применением техники), загрязнением водоемов разного рода токсикантами [2]. Метаболизм рыб как пойкилотермных животных находится в зависимости от температуры среды обитания. Кроме того, гидробионты по сравнению с наземными животными демонстрируют большую чувствительность к возбудителям инфекционных и инвазионных болезней. Поэтому повышение общей и специфической резистентности объектов аквакультуры является актуальной задачей.

Одним из доступных методов повышения общей и специфической резистентности является селекция объектов разведения на иммунную устойчивость. Краснуха карпа является опасным заболеванием, наносящим большой ущерб рыбоводным хозяйствам (рис. 1). К сожалению, среди пород карпа только Ангелинская получена путем длительной селекции на иммунную устойчивость к краснухе на провокационном фоне [4].

Этиология краснуха остается невыясненной. Возбудитель болезни до настоящего времени не идентифицирован. Одни исследователи считают, что краснуху вызывает *Aeromonas punctata* — банальная водная бактерия, встречающаяся в грунте

и воде прудов и других водоемов. Ее выделяют с поверхности кожи, из крови, кишечника, печени здоровых и больных краснухой рыб. Однако у больных рыб бактерию находят непостоянно, что ставит под сомнение бактериальную природу краснухи.

В то же время многие исследования отечественных и зарубежных ученых свидетельствуют о вирусной этиологии заболевания. В клетках головного мозга больных краснухой рыб обнаруживали эозинофильные включения, в тканевой жидкости — элементарные вирусные тельца размером 100–200 мкм. В последние годы был получен цитопатогенный эффект при действии фильтрата из тканей больных рыб на культуру тканей почки, сердца и плавников здоровых рыб. При введении этого фильтрата в организм здоровых рыб у последних развивались типичные признаки краснухи. При этом ученые не отрицают и возможную роль бактерий как секундарной инфекции в этиологии краснухи. Лечение заболевания малоэффективно, поэтому большое практическое значение имеет селекционная работа по созданию популяций рыб, обладающих иммунной резистентностью к краснухе.



Рис. 1. Клинические признаки краснухи карпа

Цель настоящей работы: сравнительный анализ физиологических, биохимических и иммунологических показателей различных пород карпа, отличающихся разным уровнем устойчивости к инфекционным заболеваниям, включая краснуху.

Материал и методы исследований

Работа проводилась в лабораториях кафедры физиологии, этологии и биохимии животных РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, ВНИИ ирригационного рыбоводства РАН, рыбоводных хозяйствах Волгоградской области (рыбхоз «Флора») и Чувашии (рыбхоз «Кирия») в период с 2011 по 2014 гг. В рыбхозе «Кирия» в настоящее время имеется ремонтное стадо ангелинского краснухоустойчивого чешуйчатого и зеркального карпа. Эти рыбы были завезены в хозяйство из рыбхоза «Ангелинский» Краснодарского края на стадии личинки. Таким образом, у авторов в условиях рыбоводного хозяйства появилась возможность вести работу по повышению специфического иммунитета с данной категорией рыб.

Оба рыбхоза благополучны по инфекционным заболеваниям, о чем свидетельствуют ежегодные акты ветеринарно-санитарной проверки, а также исследования Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору.

Объектами исследования были годовики и двухлетки карпа южного зонального типа чувашской чешуйчатой породы, волжской рамчатой породы и ангелинской

породы (чешуйчатая и зеркальная группы). В соответствии с породной принадлежностью были сформированы 4 опытные группы молоди карпа.

Кровь для анализа получали *in vivo* методом пункции хвостовой вены с соблюдением правил асептики и антисептики.

Уровень иммунной защиты рыб определяли с помощью общепринятых методов: оценки клинического состояния, анализа клеточного состава крови, включая иммунокомпетентные клетки. Физиолого-иммунологическая оценка рыб формировалась на основе результатов гематологических, цитологических, иммунологических и биохимических анализов. Лейкоцитарная формула формировалась методом дифференциального подсчета лейкоцитов в окрашенных по Паппенгейму мазках периферической крови. Биохимический анализ сыворотки крови проводили на автоматическом биохимическом анализаторе Chem Well Awareness Technology с использованием реактивов VITAL.

Дополнительно к традиционным методам авторами использовались специфические (цитохимические) методы оценки иммунологической защиты по состоянию кислороднезависимых (КНЗ) и кислородзависимых (КЗ) факторов бактерицидности [3].

К КНЗ-системе биоцидности нейтрофилов в первую очередь относят группу специфических катионных белков лизосом фагоцитов под общим названием *дефенсины*. Защитный эффект дефенсинов проявляется в нескольких направлениях. Они могут повреждать мембраны патогенных микробов (например, таким эффектом обладает катепсин G) или расщеплять гликопротеиды клеточной стенки бактерий (как в случае с лизоцимом). Белок лактоферрин обладает особым свойством: он лишает бактерии железа, которое необходимо для их пролиферации. Кроме того, дефенсины способны лизировать нежизнеспособные микробные тела, чем предупреждают последствия возможной интоксикации [1].

Роль катионных белков в противомикробной защите подтверждается тем, что даже в анаэробных условиях, т.е. когда в клетках нет возможности образовать активные формы кислорода, нейтрофилы элиминируют эпидермальный стафилококк, синегнойную палочку, зеленающий стрептококк и другие патогены. Показано, что дефенсины обладают универсальной антимикробной активностью, свойствами медиаторов воспаления. Они повышают проницаемость стенки кровеносного сосуда, выступают в роли стимулятора фагоцитоза, модификатора дыхательных и ферментативных процессов в клетке. Высказано предположение о трех взаимосвязанных механизмах внеклеточного антимикробного действия лизосомных катионных белков нейтрофильных гранулоцитов в очагах воспаления:

- 1) *прямое антимикробное действие;*
- 2) *подготовка бактерий к фагоцитозу;*
- 3) *стимуляция фагоцитарной и антимикробной активности макрофагов при их контакте с катионными белками.*

В патогенезе ряда болезней отмечают изменение (как правило, увеличение) активности лизосомальных катионных белков микрофагов, особенно в разгар инфекционных заболеваний бактериальной и вирусной этиологии [11, 12].

Неферментные катионные белки в лизосомах нейтрофилов идентифицировали методом М.Г. Шубича с бромфеноловым синим после авторской модификации [10].

По степени фагоцитарной активности исследуемые клетки делились на 4 группы (рис. 2):

- 0 степень — гранулы катионного белка отсутствуют,
- 1 степень — в поле зрения единичные гранулы,
- 2 степень — гранулы занимают примерно 1/3 цитоплазмы фагоцита,
- 3 степень — гранулы занимают 1/2 цитоплазмы фагоцита и более.

Средний цитохимический коэффициент (L. Karlow, 1955) рассчитывали по формуле:

$$\text{СЦК} = (0 \times N_0 + 1 \times N_1 + 2 \times N_2 + 3 \times N_3)/100,$$

где N_0, N_1, N_2, N_3 — количество нейтрофилов с 0, 1, 2 и 3 степенью активности соответственно.

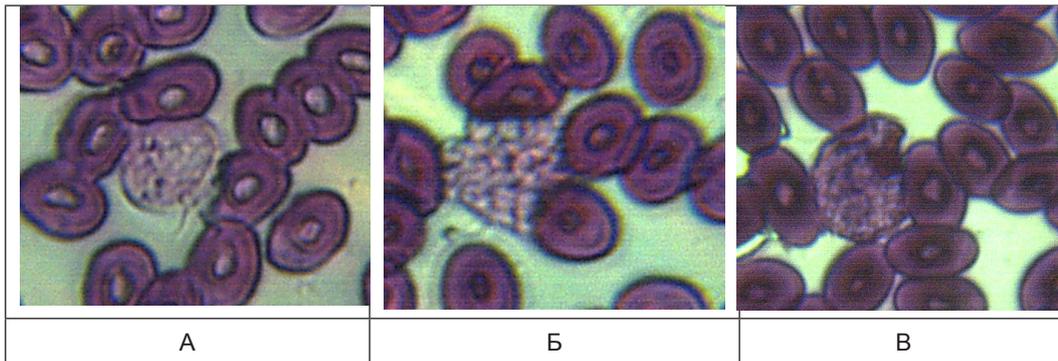


Рис. 2. Нейтрофилы крови карпа с гранулами лизосомального катионного белка в окружении ядерных эритроцитов: А — первая степень; Б — вторая степень; В — третья степень активности нейтрофила (увеличение 10 × 40)

Процесс фагоцитоза сопровождается образованием активных форм кислорода и инициацией перекисного окисления липидов (КЗ механизм), поэтому идентификация активных радикалов кислорода является важным звеном в оценке функциональной активности фагоцитов. Ключевым считается супероксидный анион кислорода, с которого берет начало каскад реактивных производных кислорода [9]. Процесс сопровождается резким усилением энергетического обмена и скачком потребления кислорода. Внезапную и быструю метаболическую активизацию нейтрофила принято называть респираторным взрывом.

Радикальное изменение метаболического профиля нейтрофила обуславливается резким увеличением расхода глюкозы в реакциях гексозомонофосфатного шунтирования. При активации нейтрофил способен окислить до 30% глюкозы. Скачок в потреблении кислорода сопровождается образованием радикалов с мощным энергетическим потенциалом. Генерация активных форм кислорода и взаимодействие специализированных клеток с субстратом — взаимосвязанные звенья цепи фагоцитоза [14].

Существуют доступные лабораторные методы оценки респираторного взрыва. В частности, интенсивность одного из звеньев фагоцитоза — продукцию активных форм кислорода — можно оценить в НСТ-тесте по способности фагоцитов *in vitro* восстанавливать нитросиний тетразолий [8, 13]. НСТ-тест позволяет оценить лизи-

рующую способность нейтрофилов и определить долю клеток, способных формировать внутри себя фагосому. По техническому исполнению НСТ-тест — типичный гистохимический прием, но в отличие от большинства цитохимических реакций здесь исследуют живые клетки, которые фиксируют лишь после инкубации с гистохимическим индикатором респираторного взрыва — нитросиним тетразолием. Это может быть сделано без дополнительной стимуляции (спонтанный НСТ-тест) или при стимуляции нейтрофилов *in vitro* (индуцированный НСТ-тест) [6].

По количеству отложившегося в клетках диформаза оценивали их активность в условных единицах и рассчитывали ИАН — индекс активации нейтрофилов по формуле среднего цитохимического коэффициента. Оценка фагоцитарной активности нейтрофилов проводилась по результатам спонтанного НСТ-теста. При этом выделяли индекс активации нейтрофилов спонтанный (ИАН) и ИАН индуцированный (при стимуляции нейтрофилов зимозаном).

Активные формы кислорода в спонтанном и индуцированном НСТ-тесте с нитросиним тетразолием оценивали в соответствии со следующим алгоритмом.

Определялись показатели динамики активации нейтрофилов (ДАН) и функциональный резерв нейтрофилов (ФРН):

ДАН=ИАН индуцированный : ИАН спонтанный.

ФРН=(ИАН индуцированный – ИАН спонтанный) × 100%.

Статистическая обработка результатов осуществлялась методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение

В таблице 1 представлены результаты измерения рыбы, клеточный состав и значения цитохимических показателей первого года жизни.

Для всех групп характерен лимфоцитарный профиль: преобладающим классом лейкоцитов в крови рыб являются лимфоциты, доля которых составляет 79–89% от общего количества белых клеток крови. Как следует из таблицы, у годовиков ангелинских карпов в лейкоцитарной формуле меньше нормобластов и базофильных эритроцитов от общего количества эритроцитов в составе крови. При этом сумма зрелых и полихроматофильных эритроцитов у ангелинских карпов выше и составила 89%. Это позволяет считать, что у годовиков ангелинской породы дифференциация красных клеток в процессе гемопоэза протекает активнее, чем у рыб из южных регионов. Доля бластных форм эритроцитов у них достаточно высока. Очевидно, весенняя активация эритропоэза молоди ангелинских карпов происходит несколько позже, чем у рыб других пород. Осенью (у двухлетков) эритропоэз тормозится, что прослеживается по снижению эритробластов в крови (табл. 2). Содержание нормобластов у двухлетков всех групп было примерно на одном уровне.

Нейтрофилов в крови годовиков ангелинских карпов было несколько меньше, чем у карпа волгоградских пород; у зеркальной группы различия достоверны. У двухлетков по данному показателю достоверные различия между группами не отмечены.

В крови годовиков зеркальной группы ангелинских карпов присутствует небольшое количество базофилов — вероятно, в качестве защитного механизма. Интересно, что осенью (у двухлетков) базофилы появляются в лейкограмме всех изучаемых групп рыб, а у двухлетков южного зонального типа в крови имеются эозинофилы.

Таблица 1

**Размерно-весовые, гематологические
и цитохимические показатели годовиков карпа**

Показатели	Южный зональный тип (чешуйчатый)	Ангелинская чешуйчатая	Волжская рамчатая	Ангелинская зеркальная
	а	б	в	г
Масса, г	13,4 ± 9	10,6 ± 7 ^а	16,9 ± 9 ^{аб}	10,7 ± 6 ^а
Длина тела, см	17,0 ± 0,3	16,1 ± 0,2 ^а	18,0 ± 0,3 ^{аб}	17,0 ± 0,4
<i>Активность эритропоэза, %</i>				
Гемоцитобласты, эритробласты	0,8 ± 0,5	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,6	1,0 ± 0,4
Нормобласты	3,6 ± 0,9	2,6 ± 0,3	4,4 ± 0,7 ^б	2,6 ± 0,3 ^в
Базофильные эритроциты	7,8 ± 2,6	6,8 ± 1,2	16,6 ± 4,0 ^б	7,2 ± 0,9 ^в
Сумма зрелых и полихроматофильных эритроцитов	87,8 ± 3,9	89,4 ± 1,6	77,8 ± 4,8 ^б	89,2 ± 1,1 ^в
<i>Лейкоцитарная формула, %</i>				
Промиелоциты	—	—	—	0,2 ± 0,2
Миелоциты	0,8 ± 0,6	0,4 ± 0,5	—	0,4 ± 0,4
Метамиелоциты	2,2 ± 0,7	2,2 ± 2,0	1,4 ± 0,7	3,2 ± 1,3
Палочкоядерные нейтрофилы	2,4 ± 1,7	2,0 ± 1,4	3,8 ± 1,8	0,6 ± 0,5
Сегментоядерные	4,8 ± 1,1	4,0 ± 2,0	7,4 ± 0,9	5,2 ± 1,4
Всего нейтрофилов	7,2 ± 1,0	6,0 ± 2,1	11,2 ± 1,6	5,8 ± 1,4 ^в
Эозинофилы	—	—	—	—
Базофилы	—	—	—	0,2 ± 0,2
Моноциты	2,6 ± 0,8	5,8 ± 0,4 ^а	1,8 ± 1,2 ^б	3,2 ± 0,7 ^б
Лимфоциты	87,2 ± 2,7	85,6 ± 1,6	85,6 ± 2,6	87,0 ± 2,9
<i>Фагоцитарная активность</i>				
СЦК, ед.	1,77 ± 0,09	1,44 ± 0,08 ^а	1,85 ± 0,03 ^б	1,73 ± 0,16
ИАН спонтанный, ед.	0,15 ± 0,03	0,27 ± 0,04 ^а	0,12 ± 0,02 ^б	0,22 ± 0,05
% активности при спонтанном НСТ	8,6 ± 1,0	13,6 ± 2,8	7,2 ± 0,8 ^б	11,5 ± 1,1 ^в
ИАН индуцированный, ед.	0,26 ± 0,04	0,48 ± 0,07 ^а	0,29 ± 0,02 ^б	0,28 ± 0,06
% активности при индуцированном НСТ	13,0 ± 1,3	22,2 ± 2,2 ^а	14,6 ± 1,4 ^б	15,5 ± 3,1
ДАН, ед.	1,8 ± 0,2	1,9 ± 0,3	2,4 ± 0,3	1,3 ± 0,1 ^{ав}
ФРН, %	11,0 ± 2,9	21,0 ± 5,3	16,8 ± 2,0	6,3 ± 2,7 ^{бв}

Примечание. Здесь и далее а, б, в, г — различия достоверны между соответствующими группами (n = 10).

Относительное количество моноцитов в крови молоди ангелинских карпов весной увеличивается, а осенью снижается (в сравнении с волгоградскими породами). Моноциты крови являются предшественниками тканевых макрофагов. Они обладают фагоцитозом по отношению к патогенам и поврежденным клеткам собственного организма. Поэтому их присутствие в крови можно рассматривать как адаптацию, направленную на элиминацию поврежденных в процессе зимнего голодания адипоцитов, гепатоцитов, миоцитов и других клеток, участвующих в обеспечении субстратами биохимических реакций энергетического и пластического обмена.

Результаты цитохимических исследований показали, что СЦК цитотоксичного лизосомального катионного белка нейтрофилов крови ангелинских карпов несколько меньше, чем СЦК у других рыб. Подтвердилась и отмеченная нами ранее закономерность: у зеркальных карпов показатель СЦК выше, чем СЦК нейтрофилов чешуйчатых карпов.

Однозначную оценку этому явлению пока дать нельзя. В научной литературе этот вопрос отражен недостаточно глубоко, публикации единичны. Катионные неферментные белки представляют собой вещества, задающие бактерицидную активность неферментного свойства микрофагоцитам крови. Поэтому межпородные различия в содержании неферментных катионных белков в лизосомах нейтрофилов могут быть отражением генетических различий, а могут отражать и иммунологическую напряженность. Во всяком случае исследования катионных белков нейтрофилов рыб следует продолжить для прояснения ситуации.

Исследования показали, что активность нейтрофилов при спонтанном НСТ-тесте у ангелинских карпов выше, чем у других одновозрастных рыб. ИАН индуцированный и процент активности нейтрофилов при этом у годовиков ангелинских чешуйчатых карпов были выше, чем у остальных опытных рыб той же возрастной категории. У годовиков зеркальной группы ангелинских карпов были самые низкие показатели ДАН и ФРН.

Для молоди ангелинских карпов характерна высокая активность АСТ (табл. 3, 4). У годовиков чешуйчатой группы ангелинской породы отмечена низкая активность креатинкиназы, возможно, связана с постоянной высокой физической нагрузкой при поиске пищи, т.е. более высокой «тренированностью» и толерантностью к физическим нагрузкам. Креатинкиназа катализирует обратимую реакцию фосфорилирования креатина с образованием креатинфосфата, который является резервным макроэргическим соединением [5]. Содержание креатинина в крови двухлеток ангелинских карпов было ниже по сравнению с рыбами других опытных групп.

Чешуйчатые и зеркальные карпы отличаются по двигательной активности: чешуйчатый карп относится к «нагульному» типу, а зеркальный — к «откормочному» [7]. После нагула при подготовке к зимовке активность карпа снижается. Весной высокое содержание лактата при относительно большом уровне глюкозы в сыворотке крови ангелинских свидетельствует о том, что в конце зимовки в метаболизме этой группы рыб велика доля анаэробных процессов, либо складывается ситуация, в которой развивается дефицит лактатдегидрогеназы.

Представители ангелинской породы выделялись рядом интерьерных показателей включая активность клеточных ферментов. Так, после зимовки у карпа ангелинской породы активность щелочной фосфатазы была достоверно ниже и составляла 12–15 ед/л против 43–82 ед/л у рыб из пятой рыбоводной зоны. В то же время активность АСТ у годовиков и двухлеток была существенно выше, чем у рыб других групп: 200–400 ед/л против 70–130 ед/л. Различия между группами достоверны при

Таблица 2

**Размерно-весовые, гематологические и цитохимические показатели
двухлетков карпа**

Показатели	Южный зональный тип (чешуйчатый)	Ангелинская чешуйчатая	Волжская рамчатая	Ангелинская зеркальная
	а	б	в	г
Масса, кг	1,67 ± 0,03	0,65 ± 0,03 ^а	1,55 ± 0,02 ^{аб}	0,68 ± 0,03 ^{аб}
Длина тела, см	40,3 ± 0,2	30,6 ± 0,5 ^а	39,0 ± 0,3 ^{аб}	31,3 ± 0,4 ^{аб}
<i>Активность эритропоэза, %</i>				
Гемоцитобласты, эритробла- сты	1,1 ± 0,2	0,4 ± 0,2 ^а	0,6 ± 0,2	0,3 ± 0,2 ^а
Нормобласты	3,7 ± 0,5	3,1 ± 0,6	3,9 ± 0,5	4,3 ± 0,7
Базофильные эритроциты	10,6 ± 1,2	8,0 ± 1,1	8,9 ± 1,2	8,5 ± 1,4
Сумма зрелых и полихромато- фильных эритроцитов	84,6 ± 1,6	88,5 ± 1,7	86,6 ± 1,3	86,9 ± 2,1
<i>Лейкоцитарная формула, %</i>				
Промиелоциты	—	—	—	—
Миелоциты	0,3 ± 0,2	0,2 ± 0,2	0,3 ± 0,2	0,4 ± 0,2
Метамиелоциты	1,7 ± 0,4	2,6 ± 0,2	2,0 ± 0,4	2,5 ± 0,5
Палочкоядерные нейтрофилы	3,0 ± 0,7	1,7 ± 0,7	1,6 ± 0,3	2,2 ± 0,6
Сегментоядерные	2,5 ± 0,7	2,7 ± 0,6	3,0 ± 0,6	2,4 ± 0,7
Всего нейтрофилов	5,5 ± 0,7	4,4 ± 0,7	4,6 ± 0,6	4,6 ± 0,6
Эозинофилы	0,1 ± 0,1	—	—	—
Базофилы	0,3 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,1 ± 0,1
Моноциты	3,4 ± 0,5	2,2 ± 0,4	3,9 ± 0,4 ^б	3,0 ± 0,4
Лимфоциты	88,7 ± 0,8	90,2 ± 0,8	88,8 ± 1,1	89,4 ± 0,9
<i>Фагоцитарная активность</i>				
СЦК, ед.	1,89 ± 0,08	1,83 ± 0,06	2,12 ± 0,06 ^{аб}	1,83 ± 0,07 ^а
ИАН спонтанный, ед.	0,20 ± 0,03	0,19 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,23 ± 0,03 ^а
% активности	8,6 ± 1,3	9,0 ± 0,8	6,6 ± 0,4 ^б	11,0 ± 0,7 ^а
ИАН индуцированный, ед.	0,37 ± 0,02	0,30 ± 0,02 ^а	0,25 ± 0,03 ^а	0,33 ± 0,06
% активности	16,4 ± 0,6	13,0 ± 0,7 ^а	11,6 ± 1,4 ^а	15,0 ± 2,5
ДАН, ед.	2,08 ± 0,40	1,50 ± 0,08	1,63 ± 0,14	1,40 ± 0,13
Функциональный резерв ней- трофилов, %	17,4 ± 4,1	10,4 ± 1,4	10,0 ± 2,5	10,5 ± 3,6

Биохимические показатели годовиков карпа

Показатели	Южный зональный тип (чешуйчатый)	Ангелинские чешуйчатые	Волжская рамчатая	Ангелинская зеркальная
	а	б	в	г
АЛТ, ед/л	46,9 ± 8,0	51,9 ± 2,6	39,6 ± 7,1	46,9 ± 8,0
АСТ, ед/л	77 ± 48	414 ± 56 ^а	97 ± 19 ^б	380 ± 31 ^{аб}
Глюкоза, ммоль/л	7,1 ± 0,8	6,7 ± 2,3	3,8 ± 0,3 ^а	8,5 ± 1,3 ^а
КК, ед/л	1529 ± 289	505,0 ± 262 ^а	1391 ± 181 ^б	1940 ± 121 ^б
Лактатат, мг/дл	53,6 ± 24,3	82,9 ± 5,2	42,9 ± 0,5 ^б	65,6 ± 6,3 ^{бв}
Мочевая кислота, мкмоль/л	208 ± 77	107 ± 42	232 ± 89	274 ± 66
ЩФ, ед/л	82,0 ± 3,2	12,0 ± 3,8 ^а	43,0 ± 2,6 ^{аб}	15,3 ± 3,8 ^{аб}
Альбумин, г/дл	10,2 ± 1,7	10,8 ± 1,6	14,0 ± 0,8	10,2 ± 0,5 ^в
Мочевина, мг/дл	11,1 ± 3,8	18,7 ± 2,3	15,1 ± 8,5	15,9 ± 3,0
Общий белок, г/л	23,3 ± 3,8	25,0 ± 3,0	25,5 ± 1,8	23,9 ± 0,1
Триглицериды, мг/дл	235 ± 78	216 ± 66	170 ± 19	127 ± 11
Холестерин, мг/дл	129 ± 25	168 ± 23	129 ± 5	144 ± 1 ^а

высоком доверительном коэффициенте от 3,1 до 21,6. Данное свойство метаболизма ангелинских карпов, характеризующее интенсивный белковый обмен, было отмечено нами и ранее для других возрастных категорий рыб. Кроме того, замечено, что рыба, отловленная в осенний период, имела более низкие показатели активности АЛТ и АСТ. Уровень активности гаммаглутамилтрансферазы (ГГТ) у двухлеток был невысоким, что характерно для молодых особей в целом. Более высокий уровень ферментов переаминирования у рыб после зимовки закономерен и связан с интенсивными деструктивными процессами в печени в конце зимовки.

Активность щелочной фосфатазы отражает активность процессов оксификации, и пониженная активность этого фермента у представителей ангелинской породы коррелирует с фактом менее интенсивного развития скелета рыб. Ферменты переаминирования — АСТ и АЛТ — отражают функциональное состояние гепатоцитов. Поэтому разный уровень активности АСТ свидетельствует о действительно большом удалении генотипов представителей разных групп и обоснованности выделения карпа ангелинской субпопуляции в самостоятельную породу.

Обнаружено, что при высоком доверительном коэффициенте ($t = 3,5-10,8$) в крови двухлеток ангелинских карпов концентрация триглицеридов была достоверно ниже, а холестерина — выше по сравнению с годовиками той же породы.

Поскольку энергетический обмен зимующих (следовательно, голодающих) рыб реализуется за счет жировых запасов, образование макроэргических соедине-

Таблица 4

Биохимические показатели двухлеток карпа

Показатели	Южный зональный тип (чешуйчатый)	Ангелинские чешуйчатые	Волжская рамчатая	Ангелинская зеркальная
	а	б	в	г
ГГТ, ед/л	10,3 ± 1,3	9,7 ± 1,1	11,3 ± 1,6	7,4 ± 2,3
АЛТ, ед/л	33,2 ± 5,3	21,9 ± 2,3	25,9 ± 2,2	45,7 ± 12,7
АСТ, ед/л	98 ± 17	195 ± 20 ^а	132 ± 2,9 ^б	250 ± 4,6 ^{абв}
Глюкоза, ммоль/л	5,8 ± 0,8	5,8 ± 1,3	4,1 ± 0,4	4,9 ± 0,6
КК, ед/л	2398 ± 391	4945 ± 116 ^а	2822 ± 456 ^б	2471 ± 320 ^б
Креатинин, мкмоль/л	6,1 ± 3,0	3,9 ± 1,4	9,0 ± 1,5 ^б	1,0 ± 0,6 ^в
Лактатат, мг/дл	42,0 ± 12,9	51,8 ± 21,4	51,1 ± 9,8	49,1 ± 19,5
Мочевая кислота, мкмоль/л	244 ± 17	345 ± 77	227 ± 19	280 ± 57
ЩФ, ед/л	55,4 ± 7,2	16,6 ± 5,6 ^а	89,6 ± 9,5 ^{аб}	21,5 ± 4,1 ^{ав}
Альбумин, г/дл	9,3 ± 0,4	9,4 ± 0,4	9,8 ± 0,3	10,5 ± 0,6
Амилаза, ед/л	25,3 ± 4,2	34,9 ± 9,3	13,4 ± 3,5	12,6 ± 2,6 ^{аб}
Мочевина, мг/дл	4,8 ± 1,2	7,1 ± 1,9	6,9 ± 0,9	7,1 ± 1,1
Общий белок, г/л	20,3 ± 0,8	20,4 ± 0,6	20,7 ± 0,3	21,0 ± 0,4
Панкреатическая амилаза, ед/л	25,1 ± 3,9	31,5 ± 7,2	15,4 ± 3,8	10,1 ± 2,2 ^а
Триглицериды, мг/дл	145 ± 13	62 ± 7,2 ^а	131 ± 11 ^б	79 ± 4,5 ^{аб}
Холестерин, мг/дл	94 ± 7	142 ± 7 ^а	68 ± 2 ^{аб}	166 ± 8 ^{абв}

ний идет за счет жирных кислот, то сложившаяся ситуация может свидетельствовать о более напряженном энергетическом обмена рыб во второй рыбоводной зоне с более продолжительным зимним периодом.

Заключение

Молодь ангелинских карпов, устойчивых к краснухе, выделяется рядом метаболических и иммунологических особенностей. Наибольшие межпородные различия отмечены у годовиков в сравнении с двухлетками: у них позже происходит весенняя активация эритропоэза, в лейкоцитарной формуле у годовиков меньше ней-

трофилов и больше моноцитов. У ангелинских карпов выявлен более высокий уровень белкового обмена, активность АСТ. Для молоди ангелинских карпов характерны невысокие значения СЦК катионного лизосомального белка нейтрофилов и высокий уровень кислородзависимых факторов, выявляемых в спонтанном НСТ-тесте. Ангелинских карпов отличает более высокий уровень холестерина и более низкий уровень триглицеридов в крови как в конце зимовки, так и в конце вегетационного периода.

Метаболические и иммунологические особенности ангелинских краснухоустойчивых карпов могут быть использованы в качестве маркеров в селекционно-племенной работе для создания популяций карпа с повышенной специфической иммунологической устойчивостью.

Библиографический список

1. Белоцкий С.М., Авталион Р.Р. Воспаление. Мобилизация клеток и клинические эффекты. М.: БИНОМ, 2008. 240 с.
2. Иванов А.А. Физиология рыб. СПб.: Лань, 2011. 288 с.
3. Иванов А.А., Пронина Г.И., Корягина Н.Ю. Клиническая лабораторная диагностика в аквакультуре. М.: Издательство РГАУ-МСХА, 2013. 50 с.
4. Илясов Ю.И. Селекция рыб на повышение устойчивости к заболеваниям // Сб. науч. тр. «Актуальные вопросы пресноводной аквакультуры». Вып. 78. М.: Изд-во ВНИРО, 2002. С. 125–134.
5. Камышников В.С. Норма в лабораторной медицине. М.: «МЕДпресс-информ», 2014. 336 с.
6. Кондратьева И.А., Самуилов В.Д. Практикум по иммунологии: Учеб. пособие. М.: Изд-во МГУ, 2001. 224 с.
7. Маслова Н.И., Серветник Г.Е. Биологические основы товарного рыбоводства. М.: Издательство РАСХН, 2003. 199 с.
8. Маянский А.Н., Маянский Н.А., Заславская М.И., Позднеев Н.М., Плескова С.Н. Апоптоз нейтрофилов // Иммунология. 1999. № 6. С. 11–20.
9. Мейер Д., Харви Д. Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпретация и диагностика. М.: «Софион», 2007. 456 с.
10. Пронина Г.И. Использование цитохимических методов для определения фагоцитарной активности клеток крови или гемолимфы разных видов гидробионтов для оценки состояния их здоровья // Известия ОГАУ. № 4. Оренбург, 2008. С. 160–163.
11. Сааева Н.М. Состояние миелопероксидазы и содержания катионного белка у больных острым и хроническим бруцеллезом // В кн.: Актуальные вопросы инфекционной патологии. Нальчик, 2000. С. 49–51.
12. Юанов А.А. Содержание катионного белка лейкоцитов у больных острым и с обострением хронического панкреатита // Успехи современного естествознания. 2003. № 10. С. 109.
13. Cuzytek A., Hrycek A., Stasiura H., Stadnicki A. Peripheral blood neutrophils in patients with internal endometriosis in light of enzymatic tests // Wiad. Lek. 1997. № 50 (4–6). P. 75–80.
14. Kuriyama T., Oishi K., Kakazu H., Machida K. Changes of physiological functions in rats induced by immobilization stress // Nippon Eiseigaku Zasshi. 1998. №52 (4). P. 647–653.

PHYSIOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL ADAPTATIONS OF CARP TO RED SPOT DISEASE

G.I. PRONINA², N.YU. KORYAGINA², A.A. IVANOV¹

(¹ Russian Timiryazev State Agrarian University;
² State Research Institute of Irrigation Fish Breeding)

Selection of immune resistant species is one of the means to increase the effectiveness of animal production including the aquaculture objects. Among the available carp breeds the only one – Angelinskaya (scaly and mirror group) — had passed long selection on resistance to such a dangerous disease of fish as red spot on a provocative background. The purpose of this work was to find out physiological and immune peculiarities in red spot resistant carp yearlings on the basis of growth rate, blood composition, biochemical and immunological qualities. Blood samples were obtained through in vivo tail vein puncture. The general assessment of fish was carried out with the help of hematological, cytochemical and biochemical analyses. The leukocyte blood formula was calculated on the grounds of differential visualization on the blood dabs painted with Pappengeym procedure. Phagocyte activity was evaluated by cytochemical methods. Oxygen independent factor activity was calculated through nonenzymatic cation protein in lysosome of neutrophils. Oxygen dependent factor activity was measured in the spontaneous and induced NST-test with nitroblue tetrazolium. Biochemical analyses were run on the Chem Well Awareness Technology analyzer with VITAL kits. It was established that yearling resistance to red spot disease in spring time was followed by high level of protein and energy metabolism. Angelinskay breed carp showed low content of cation lysosome protein in neutrophils (oxygen independent mechanisms of a phagocytosis) and high level of oxygen dependent factors was revealed in the spontaneous NST-test.

Key words: selection, carp, immune resistance, red spot disease of carp, hematology, cytochemical and biochemical indicators.

Пронина Галина Иозеповна — д. б. н., вед. науч. сотр. ФГБНУ ВНИИ ирригационного рыбоводства РАН (142460, Московская обл., пос. Воровского, ул. Сергеева, 24; e-mail: gidrobiont4@yandex.ru).

Корягина Наталья Юрьевна — к. б. н., ст. науч. сотр. ФГБНУ ВНИИ ирригационного рыбоводства РАН (142460, Московская область, пос. Воровского, ул. Сергеева, 24; e-mail: natalykoryagin@yandex.ru).

Иванов Алексей Алексеевич — д. б. н., проф., зав. кафедрой физиологии, этологии и биохимии животных РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: ayvanov@timacad.ru).

Pronina Galina Iozepovna — Doctor of Biological Sciences, leading researcher, State Research Institute of Irrigation Fish Breeding of the Russian Academy of Sciences (142460, Moscow region, Vorovskogo settlement, Sregeeva str., 24; e-mail: gidrobiont4@yandex.ru).

Koryagina Nataliya Yurievna — PhD in Biology, senior researcher State Research Institute of Irrigation Fish Breeding of the Russian Academy of Sciences (142460, Moscow region, Vorovskogo settlement, Sregeeva str., 24; e-mail: natalykoryagin@yandex.ru).

Ivanov Aleksey Alekseevich — Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Animal Physiology, Ethology and Biochemistry, Russian Timiryazev State Agrarian University (127550, Moscow, Timiryazevskaya str., 49; e-mail: ayvanov@timacad. ru).