

На правах рукописи

Пронина Галина Иозеповна

**ФИЗИОЛОГО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА
КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ГИДРОБИОНТОВ: КАРПА, СОМА
ОБЫКНОВЕННОГО, РЕЧНЫХ РАКОВ**

Специальность: 03.03.01 - физиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
доктора биологических наук

5 АПР 2012

Москва - 2012



005020048

Работа выполнена в лабораториях воспроизводства и селекции рыб и разведения речных раков ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт ирригационного рыбоводства» РАСХН

Научный консультант: доктор биологических наук, профессор
Иванов Алексей Алексеевич

Официальные оппоненты: доктор сельскохозяйственных наук, профессор
Власов Валентин Алексеевич, профессор
кафедры пчеловодства и рыбоводства РГАУ-
МСХА имени К.А.Тимирязева

доктор биологических наук, профессор
Микодина Екатерина Викторовна, главный
научный сотрудник ФГУП ВНИРО

доктор биологических наук
Киселев Александр Юрьевич, заместитель
директора ФГУП ВНИИПРХ

Ведущая организация: ФГБОУ ВПО «Московская государственная
академия ветеринарной медицины и
биотехнологии им. К.И. Скрябина»

Защита диссертации состоится «23» 04 2012 г. в 14.30 часов на
заседании диссертационного совета Д 220.043.09 при Российском
государственном аграрном университете — МСХА имени К.А. Тимирязева
по адресу: 127550, Москва, ул. Тимирязевская, 49.
Тел./факс (499) 976-24-92

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНБ имени Н.И.Железнова РГАУ-
МСХА имени К.А. Тимирязева

Автореферат разослан «21» 03 2012 г. и размещен на сайте
Министерства образования и науки РФ referat_vak@mon.gov.ru
«18» 02 2012 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



А.А.Ксенофонтова

I. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследований. Аквакультура в настоящее время является перспективным направлением получения рыбной продукции. Однако развитие данной отрасли сельского хозяйства, во многом, сдерживается недостаточной изученностью физиолого-иммунологического статуса гидробионтов: карпа, сома обыкновенного, речных раков. Следует признать, что в целом физиология водных животных на фоне других видов, разводимых человеком, изучена весьма поверхностно. Что касается иммунитета, то этот раздел физиологии культивируемых гидробионтов экспериментаторами долгое время просто игнорировался. Иммунологических исследований на рыбах проводилось крайне мало, а на речных раках такие работы практически не проводились. В то же время, иммунологические подходы могут быть полезными для аквакультуры по ряду обстоятельств:

1. В процессе выращивания гидробионты подвергаются воздействию различных технологических факторов: плотная посадка, хендлинговые операции, инкубация икры и т.п. Поэтому для сохранения их здоровья и продуктивности требуется контроль физиологического состояния.
2. Такая оценка является необходимым звеном селекционного процесса. Особенно при селекции на иммунную устойчивость.
3. Физиолого-иммунологический мониторинг важен для выявления адаптивной способности гидробионтов при их акклиматизации и районировании и совершенствования технологий аквакультуры.

На различных этапах рыборазведения возникает риск заболевания рыб, связанный с развитием вторичных иммунодефицитных состояний и ослаблением общего физиологического статуса под влиянием факторов среды. Стремительный рост антропогенных нагрузок и загрязнение водоемов отрицательно сказывается на физиологическом состоянии гидробионтов, степени их устойчивости, а также оказывает иммуносупрессивное действие, приводящее к появлению в популяции рыб с уродствами и иммунодефицитом (Ю.С. Решетников и др., 1999; Т.Н. Моисеенко, А.А. Лукин, 1999; Н.А. Кашулин и др., 1999; О.М. Валедская, 2005).

Поэтому изучение иммунологических особенностей и разработка системы оценки физиолого-иммунологического статуса гидробионтов является актуальной проблемой.

Цель исследований:

Разработка системы оценки физиолого-иммунологического статуса гидробионтов для контроля и совершенствования технологии их разведения и селекции.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Изучить особенности системы иммунитета гидробионтов разных видов.

2. Выделить наиболее информативные и значимые показатели для оценки физиолого-иммунологического статуса гидробионтов.
3. Сравнить физиологические показатели разных селекционных групп рыб.
4. Оценить диапазон адаптационных возможностей неспецифического иммунитета гидробионтов под влиянием абиотических и биотических факторов.
5. Разработать систему оценки физиолого-иммунологического статуса гидробионтов разного систематического положения, доступную для практического использования в аквакультуре.

Научная новизна работы заключается в том, что впервые разработана и проведена физиологическая и иммунологическая оценка гидробионтов разных видов и селекционных групп в различных условиях культивирования и разработан комплекс физиолого-иммунологических констант гомеостаза при прижизненном исследовании для применения в селекционном процессе в аквакультуре.

Практическая значимость работы

Использование результатов диссертации при оценке физиолого-иммунологического статуса гидробионтов с учетом их видовых особенностей и адаптационных свойств позволило на практике контролировать селекционный процесс рыб (карпа – *Cyprinus carpio* L., сома обыкновенного - *Silurus glanis* L.) и провести целенаправленный отбор на иммунную устойчивость. Кроме того, полученные результаты явились биологической основой для разработки технологии выращивания речных раков (*Astacus astacus*, *Pontastacus leptodactylus*) в условиях рыбоводных хозяйств. Определены референтные значения ряда показателей гомеостаза важных для практической работы с гидробионтами.

Результаты исследований автора внедрены в технологический процесс разведения карпа и сома обыкновенного и выращивания речных раков, а также в селекционную работу с гидробионтами в СХПРК «Киря» и ООО «Флора».

Материалы диссертации послужили основой для подготовки и издания пособия «Методы оценки селекционных групп обыкновенного сома с использованием физиолого-биохимических и иммунологических показателей», которое используется в учебном процессе РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева.

Апробация работы

Основные материалы доложены, обсуждены и одобрены на научных конференциях: Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины и вет-сан контроль сельскохозяйственной продукции»/ Ветеринарно-санитарный факультет. МГУПБ.- Москва, 2002; Международной научно-практической конференции

23-27 августа 2004 г., Минск; Международной научно-практической конференции «Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов», Борок, 2007; Международной научно-практической конференции «Рациональное использование пресноводных экосистем – перспективное направление реализации национального проекта «Развитие АПК»».- Москва, 2007; 1-й Всероссийской научно-практической конференции «Физиология адаптации», Волгоград, 7-10 октября 2008; Международной научно-практической конференции «Водные биоресурсы и аквакультура», Киев, 2010; III-й Международной конференции «Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб», Борок, 2011; IV-й Всероссийской научно-практической конференции «Цитоморфометрия в медицине и биологии: фундаментальные и прикладные аспекты», 2011; 4-й Международной научно-практической конференции «Сохранение разнообразия животных и охотничье хозяйство России», Москва, 2011; научно-практической конференции «Развитие аквакультуры в регионах: проблемы и возможности», Москва, 2011; II-м съезде НАСЕЕ (Сети Центров по аквакультуре в Центральной и Восточной Европе) и семинаре о роли аквакультуры в развитии села, Кишинев, Pontos, 2011; на объединенном заседании научно-консультативных Советов по товарному рыбоводству, генетике и селекции рыб ФГУ «Межведомственная ихтиологическая комиссия» Федерального агентства по рыболовству (ФАР), Секции аквакультуры РАСХН по рассмотрению проблем создания и использования новых биотехнологий аквакультуры 19-20 мая, 2009г и 28 марта 2011 г.

Публикация результатов исследований

По материалам диссертации опубликована 51 печатная работа, в том числе 21 статья в рецензируемых научных журналах, отнесенных к перечню ВАК.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 246 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, материала и методов исследований, результатов собственных исследований, заключения, выводов и приложения, содержит 82 таблицы и 18 рисунков. Список используемой литературы включает 370 наименований, в том числе 98 иностранных авторов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Система оценки физиолого-иммунологического статуса гидробионтов разного систематического положения.
2. Цитохимические показатели как индикаторы иммунной устойчивости гидробионтов.
3. Биологические механизмы сезонной и климатической адаптации рыб.
4. Изменчивость физиологических показателей речных раков.
5. Межвидовые и межпородные различия показателей клеточного иммунитета рыб.

II. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Фактической основой для настоящей работы послужили материалы исследований, выполненных лично автором, в плане тематики ВНИИР по заданию 06 «Зоотехния» в период 2001-2011 гг.

Объектами исследований являлись:

- карп (*Cyprinus carpio L.*) – 8 неродственных групп (780 экземпляров)
- сом обыкновенный (*Silurus glanis L.*) – сурская и волжская популяции (318 экземпляров)
- речные раки: широкопалый - *Astacus astacus*, и длиннопалый - *Pontastacus leptodactylus*, из водоемов Псковской и Московской областей соответственно (127 экземпляров).

Исследования проводились:

- в племенном хозяйстве СХПРК «Киря» (Чувашская Республика),
- рыбоводных хозяйствах Волгоградской области:

СПК «Ергенинский»

ООО «Флора»

- в аквакультурных условиях в лабораториях ГНУ ВНИИР

Схема экспериментальной части работы представлена на рисунке 1.

У речных раков изучали реакцию констант гомеостаза и фагоцитарной активности гемоцитов речных раков на неблагоприятные условия среды: биотические (плотная посадка) и абиотические (понижение температуры, концентрации растворенного в воде кислорода, содержание нитратов и нитритов в воде).

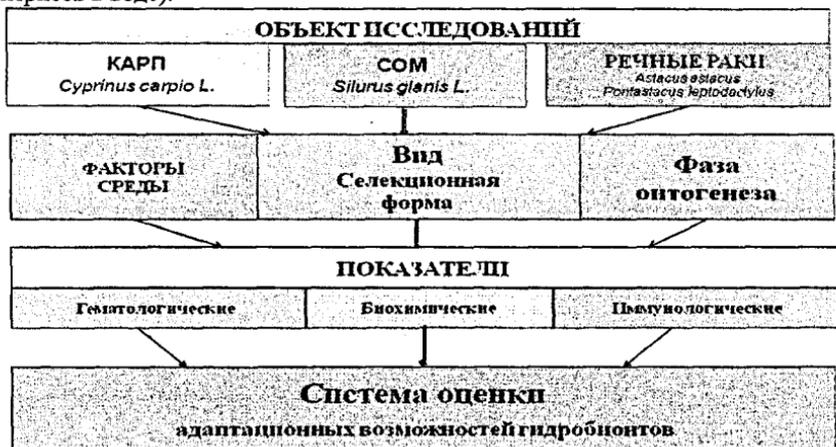


Рисунок 1. Схема эксперимента

Раки содержались в 160 литровых аквариумах с принудительной аэрацией и водоочисткой. При этом показатель рН воды в аквариумах колебался в пределах: 6,9 до 7,3 (табл.1). В эксперименте по изучению плотности посадки контролем служила средняя плотность посадки - 10 экз/м², в опытах использовалась повышенная плотность посадки - 20-30 экз/м². Охлаждение воды производилось с помощью холодильной установки «RESUN CL 300». Кормление раков осуществлялось личинками хирономид (*Chironomus plumosus*) и харовыми водорослями (*Chara fragilis*) по поедаемости.

Таблица 1. Параметры водной среды и плотности посадки

Варианты опыта	Плотность посадки, экз/м ² (экз/м ³)			Температура воды, °С			Содержание кислорода, мг/л (% насыщения)		рН, ед
	10 (40)	20 (80)	30 (140)	+16	+8	+21	Оптимум	Дефицит	
Контроль	+			+			8,5 (87)		6,7
Опыт 1			+	+			9,1 (93)		6,6
Опыт 2			+	+				8,2 (84)	6,0
Опыт 3		+		+				8,3 (85)	6,2
Опыт 4	+					+		8,3 (94)	6,4
Опыт 5		+			+			9,9 (84)	7,3
Опыт 6	+				+		11,2 (95)		7,4
Опыт 7	+				+			9,3 (79)	6,9

Воздействие на раков стресс-факторов включало обсушивание в течение 4-х часов при температуре 17°С и при 27°С.

Снижение содержания кислорода в воде достигалось путем прекращения доступа кислорода в аквариум в течение 3 часов. Содержание растворенного в воде кислорода определялось по Винклеру. рН измеряли с помощью иономера универсального ЭВ-74. Количество раков колебалось от 5 до 14 экземпляров в каждой группе и определялось задачами того или иного опыта.

В эксперименте по изучению влияния повышенного содержания нитратов и нитритов в водной среде использовались широкопалые речные раки (*Astacus astacus*) по 9 экземпляров в каждой группе. При этом, раки содержались в аквариумных условиях (54-литровых аквариумах, площадь дна 0,18 м²), при плотности посадки 17 экз/м². Гидрохимические параметры представлены в таблице 2. Рыбу для лабораторных анализов отбирали весной после разгрузки зимовальных прудов и осенью после облова прудов. Кровь получали из хвостовой вены рыб. Гемолимфу раков получали *in vivo* методом пункции вентрального синуса с соблюдением правил асептики.

Сыворотку крови замораживали при температуре минус 15-20°С и транспортировали в замороженном виде в специальных термоконтейнерах.

Общее число гемоцитов (ОЧГ) у раков определяли микрофотографированием гемолимфы в камере Горяева с последующим расчетом гемоцитарной формулы.

Таблица 2. Гидрохимические показатели воды в аквариумах

Показатели	Контроль	Опыт
NO ₃ (мг/л)	Менее 5	25
NO ₂ (мг/л)	Менее 0,02	4
PO ₄ (мг/л)	0,1	0,1
Ca (мг/л)	110	120
Mg (мг/л)	32	40
Fe (мг/л)	0,01	0,01
pH (ед)	8,0	8,0
NH ₃ /NH ₄ (мг/л)	0	5

Показатели эритропоза и дифференциальный подсчет лейкоцитов рыб (лейкоформула) проводили в окрашенных по Паппенгейму мазках периферической крови микроскопически. Уровень гемопоза рыб оценивался по доле незрелых форм эритроцитов. Для исследования кроветворных органов готовились отпечатки селезенки и почек.

Биохимические показатели определяли на анализаторе Chem Well Awarenes Technology. Гемолимфу перед исследованием центрифугировали при 3000 об/мин и температуре +6°С в течение 5 мин.

Катионный лизосомальный белок определяли по М.Г. Шубичу (1974). Цитохимическую реакцию оценивали методом специфической окраски (Astaldi, Verga, 1957). Активные формы кислорода определяли с помощью НСТ-теста с нитросиним тетразолием. Средний цитохимический коэффициент (СЦК) рассчитывали по L. Karlow (1955).

Оценка фагоцитарной активности нейтрофилов проводилась по результатам спонтанного НСТ-теста (ИАН спонтанный) и при стимуляции нейтрофилов зимозаном в концентрации 2мг/мл (ИАН индуцированный). Показатели динамики активации нейтрофилов (ДАН) и функциональный резерв нейтрофилов (ФРН) определяли расчетным методом.

Микологические исследования речных раков с подозрением на жвавопятнистое заболевание (далее РПЗ) по наличию затемнений на панцире проводилось по оригинальной методике.

Математическую обработку цифровых материалов проводили с использованием программы Excel пакета Microsoft Office.

III. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Физиология разных селекционных групп культивируемого карпа (*Cyprinus carpio* L.)

Изучались следующие селекционные группы карпа разных возрастных категорий. В СХПРК «Киря»: карп чувашской чешуйчатой и анишской зеркальной пород; кросс «Петровский», полученный путём реципрокного скрещивания рыб этих пород; Ангелинский кросс – реципрокный гибрид чешуйчатой и зеркальной групп ангелинской породы краснухоустойчивого карпа. В СПК «Ергенинский»: чешуйчатый карп, зеркальный, их реципрокный кросс «Ергенинский». В ООО «Флора»: чешуйчатый карп, волжский рамчатый, их реципрокный гибрид кросс «Волжский»; кросс «Зеркальный», полученный путем скрещивания самок волжского рамчатого карпа и самцов зеркального из СПК «Ергенинский».

3.1.1. Особенности крови карпа разных селекционных групп

При сравнении гематологических показателей годовиков карпа кроссов разного происхождения (табл. 3) выявлено, что у карпа Зеркального кросса интенсивнее идёт эритропоз, чем у других рыб. Содержание бластных форм эритроидного ряда в периферической крови у них достоверно выше, чем у кросса «Петровский» и Ангелинского кросса. Данный факт объясняется инбредностью исходных линий, значительно отдаленным их родством, а также влиянием температурного фактора: Зеркальный кросс выращивался в условиях пятой рыбоводной зоны. Уровень лейкопоза оказался выше у кросса «Петровский» и у зеркальной группы Ангелинского кросса. У этих рыб присутствуют промиелоциты, а у кросса «Петровский» большой процент миелоцитов.

В крови рыб определялся СЦК, который оценивался по интенсивности выпадения гранул катионного белка в нейтрофилах крови рыб в реакции с бромфеноловым синим. Микроскопическая картина представлена на рисунках 2 и 3. Содержание катионного белка в лизосомах нейтрофилов крови Ангелинских карпов (особенно у чешуйчатой линии) ниже, чем у других групп.

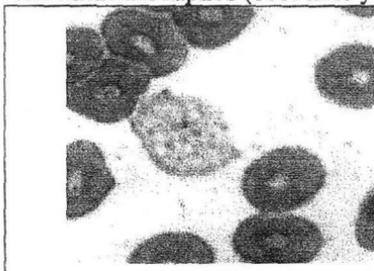


Рис. 2. Катионный белок в нейтрофилах крови сеголетки карпа. Увеличение 10×40

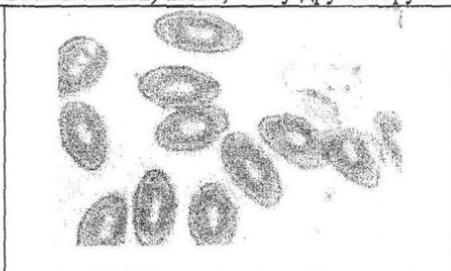


Рис. 3. Катионный белок в нейтрофилах крови двухлетков сома. Увеличение 10×40

У Англинского краснухостойчивого кросса отмечается более высокое содержание нейтрофилов (за счет увеличения сегментоядерных форм), чем у других кроссов. Статистически достоверное различие зарегистрировано только с кроссом «Петровский» ($P < 0,05$). С высокой степенью достоверности (> 4 ; $P < 0,05$) можно говорить о большем содержании моноцитов у рыб чешуйчатой группы и аналогичной тенденции у зеркальной группы Англинского кросса.

Таблица 3. Морфометрические и гематологические показатели годовиков кроссов карпа разного происхождения

Показатели	Кросс «Петровский» чешуйчатые	Кросс Англинский		Кросс зеркальный
		чешуйчатые	зеркальные	
Масса тела, г	215±57	106±7	107±6	152±18
Эритропоз, %				
Гемоцитобласты, эритробласты	0,8±0,3*	1,2±0,2	1,0±0,4*	2,1±0,3*
Нормобласты	3,6±0,4	2,6±0,3	2,6±0,3	4,5±0,3
Базофильные эритроциты	11,9±1,7	6,8±1,2	7,2±1,0	9,6±0,8
Лейкоцитарная формула, %				
Промиелоциты	0,1±0,2	-	0,2±0,2	-
Миелоциты	1,3±0,3	0,4±0,5	0,4±0,4	0,2±0,1
Метамиелоциты	2,0±0,6	2,2±1,9	3,2±1,3	2,0±0,4
Палочкоядерные нейтрофилы	0,3±0,2	2,0±1,4	0,6±0,5	1,7±0,3
Сегментоядерные	1,0±0,5*	4,0±2,0*	5,2±1,4*	1,3±0,4*
Всего нейтрофилов	1,3±0,6*	6,0±2,1*	5,8±1,4*	3,0±0,5*
Эозинофилы	0,14±0,15	-	-	0,1±0,1
Базофилы	0,43±0,2	-	0,2±0,2	-
Моноциты	2,1±0,7*	5,8±0,4*	3,2±0,7*	2,1±0,3*
Лимфоциты	92±1,2	84±1,6	85±2,9	93±0,7
Фагоцитарная активность				
СЦК	1,85±0,06*	1,44±0,08*	1,73±0,16	1,98±0,07*
ИАН спонтанный	0,16±0,02*	0,27±0,04*	0,22±0,05	0,28±0,03*
% активности	8,5±0,9*	13,6±2,8	11,5±1,1	13,5±1,3*
ИАН индуцированный	0,40±0,05	0,48±0,07	0,28±0,06	0,38±0,03
% активности	18,9±2,4	22,2±2,2	15,5±3,1	17,3±1,1
ДАН	2,4±0,3*	1,9±0,3	1,3±0,1*	1,4±0,1*
ФРН, %	23,1±4,6*	21,0±5,3	6,3±2,7*	10,3±1,9*

Примечание. Здесь и далее: * разница достоверна

Исходные породы Англинского краснухостойчивого карпа прошли длительную селекцию на устойчивость к краснухе. Усиление специфической устойчивости повлекло за собой снижение потенциального резерва неспецифического клеточного иммунитета, в частности, накопление цитотоксичного катионного белка. Показатели НСТ-теста, свидетельствующие

о способности нейтрофилов к респираторному взрыву и образованию активных форм кислорода, у годовиков кроссов различались между собой. Спонтанный ИАН ниже всего оказался у кросса «Петровский». Однако, при стимуляции *in vitro*, ИАН кросса «Петровский» резко возрастает. Соответственно, увеличивается ДАН. Функциональный резерв нейтрофилов был достоверно выше у кросса «Петровский», чем у Зеркального кросса и зеркальной группы ангелинских карпов.

Метаболизм кроссов имел выраженные особенности (табл. 4).

Таблица 4. Биохимическая характеристика крови годовиков

Показатели	Кросс «Петровский», чешуйчатые	Ангелинский кросс	
		чешуйчатые	зеркальные
АЛТ, ед/л	39±8	52±3	47±8
АСТ, ед/л	361±71	414±56	380±31
ГГТ, ед/л	12,7±6,5	13,9±3,6	16,4±4,9
Глюкоза, ммоль/л	3,6±0,5	6,7±2,3	8,5±1,3
КК, ед/л	3509±1493	505±262	1940±1214
Креатинин, мкмоль/л	-	14,3±1,6	13,0±2,6
Лактат, мг/дл	52,2±1,6	82,9±5,2	65,6±6,3
Мочевая кислота, мкмоль/л	345±71*	107±42*	274±66
ЩФ, ед/л	37±18	12±4	15±4
Альбумин, г/дл	7,4±0,8	10,8±1,6	10,2±0,5
Амилаза, ед/л	1,8±1,3*	8,2±2,0*	11,5±7,5
Мочевина, мг/дл	9,8±1,2*	18,7±2,3*	15,9±3,0
Общий белок, г/л	16±2,4*	25±3,0	24±0,1*
Триглицериды, мг/дл	90±9*	216±67	127±11*
Холестерин, мг/дл	96±12*	169±24*	144±1*

Так, субстратная обеспеченность анаболических процессов была выше у Ангелинского кросса. Концентрация общего белка в сыворотке крови кроссов составляла 24-25 г/л против 16 г/л у кросса «Петровский».

При этом у Ангелинского кросса в крови было достоверно больше триглицеридов (в 1,5-2,0 раза), холестерина (в 2 раза). Содержание мочевой кислоты в крови карпов кросса «Петровский» было значительно выше, а мочевины в 2 раза ниже, чем у ангелинского кросса. Креатинин в сыворотке крови кросса «Петровский» не обнаруживался, тогда как активность КК у него значительно выше, чем у рыб Ангелинского кросса.

Эритропоэз у двухлетков кросса «Петровский» протекал активнее, чем у Ангелинского кросса. В отношении лейкопоэза наблюдалась обратная картина (табл. 5). У кросса «Петровский» в крови больше нейтрофилов и моноцитов, чем у ангелинского кросса. Средний цитохимический коэффициент содержания лизосомального катионного белка у Ангелинского кросса был ниже, чем у «Петровского» кросса (рис. 4).



Рисунок 4. СЦК катионного лизосомального белка у двухлетков кроссов

Таблица 5. Гематологическая характеристика двухлетков кроссов

Показатели	Кросс «Петровский»		Англинский кросс	
	чешуйчатые	зеркальные	чешуйчатые	зеркальные
Масса тела, кг	1,1±0,07	1,2±0,10	0,6±0,03	0,7±0,03
Эритропоз, %				
Гемоцитобласты, эритробласты	1,0±0,9	-	0,4±0,2	0,3±0,2
Нормобласты	5,0±2,0	3,2±0,3	3,1±0,6	4,3±0,7
Базофильные эритроциты	8,0±1,0	8,0±1,2	8,0±1,1	8,5±1,4
Лейкоцитарная формула, %				
Промиелоциты	-	-	-	-
Миелоциты	-	-	0,2±0,2	0,4±0,2
Метамиелоциты	2,0±0,9	-	2,6±0,2	2,5±0,5
Палочкоядерные нейтрофилы	3,0±1,0	2,0±0,3	1,7±0,7	2,2±0,6
Сегментоядерные	3,5±0,5	2,1±0,4	2,7±0,6	2,4±0,7
Всего нейтрофилов	6,5±1,4	4,1±0,7	3,2±0,7	4,6±0,6
Эозинофилы	-	-	-	-
Базофилы	-	-	0,4±0,20	0,1±0,10
Моноциты	3,5±0,5*	5,1±0,3*	2,2±0,4*	3,0±0,4*
Лимфоциты	88±0,8	91±0,9	90±0,8	89±0,9
Фагоцитарная активность				
СЦК	2,02±0,12	2,26±0,09*	1,83±0,06*	1,83±0,07*

По массе тела рыба кросса «Петровский» более чем в 2 раза превзошла Англинский кросс. Активность ферментов трансаминирования в крови рыб кросса «Петровский» была ниже, а ЩФ, напротив, выше. Однако статистически эта разница не во всех случаях оказалась достоверной (табл. 6).

У чешуйчатой линии Англинского кросса наблюдается усиление активности амилазы. Уровень холестерина у кросса «Петровский» ниже, чем у Англинских карпов.

Таблица 6. Биохимическая характеристика крови двухлеток волка карпа

Показатели	Кресс «Петровский чешуйчатые»	Ангелинский кресс	
		чешуйчатые	зеркальные
АЛТ, ед/л	18±6	22±2	46±13
АСТ, ед/л	120±21*	195±20	250±46*
ГГТ, ед/л	5,8±1,6	9,7±1,1	7,4±2,3
Глюкоза, ммоль/л	2,8±0,4	5,8±1,3	4,9±0,6
КК, ед/л	4830±372	4945±116	2471±820
Креатинин, мкмоль/л	8,0±1,0*	3,9±1,4*	1,0±0,6*
Лактатат, мг/дл	37±10	52±21	49±20
Мочевая кислота, мкмоль/л	121±24	345±127	280±97
ЩФ, ед/л	49±23	17±6	22±4
Альбумин, г/дл	7,3±0,7	9,4±0,4	10,5±0,6
Амилаза, ед/л	17,4±1,8	34,9±9,3	12,6±2,6
Мочевина, мг/дл	9,3±1,5	7,1±1,9	7,1±1,1
Общий белок, г/л	17±0,4	20±0,6	21±0,4
Триглицериды, мг/дл	83±12	62±7	79±5
Холестерин, мг/дл	83±3*	142±7*	166±9*

При сравнении двухгодовиков Волжского кресса с одновозрастными исходными формами ООО «Флора» (табл. 7), прослеживается следующая закономерность.

Таблица 7. Показатели крови двухгодовиков крессов и исходных групп

Показатели	Кресс Волжский чешуйчатый	Исходные группы	
		Чувашский чешуйчатый	Волжский рамчатый
Масса тела, кг	2,8±0,1*	1,6±0,1*	1,5±0,1*
Эритропоз, %			
Гемоцитобласты, эритробласты	0,7±0,4	0,9±0,4	0,8±0,2
Нормобласты	2,7±0,4	2,6±0,5	3,2±0,4
Базофильные эритроциты	8,3±3,3	8,1±1,8	11,3±2,8
Лейкоцитарная формула, %			
Миелоциты	2,7±1,6	0,9±0,3	1,5±0,3
Метамиелоциты	4,0±1,4	3,7±0,4	2,5±0,3
Палочкоядерные нейтрофилы	-	3,0±0,6	1,1±0,4
Сегментоядерные	2,3±1,8	3,6±0,7	2,3±0,7
Всего нейтрофилов	2,3±1,8	6,6±1,0	3,4±0,9
Эозинофилы	-	-	0,3±0,2
Базофилы	-	-	0,6±0,2
Моноциты	4,3±0,8	3,7±0,6	3,3±0,5
Лимфоциты	87±3	85±1	89±1
Фагоцитарная активность			
СЦК	2,19±0,02*	1,79±0,09*	2,02±0,06
ИАН спонтанный	0,16±0,06	0,20±0,01	0,21±0,03
% активности	8,0±1,87	9,0±0,58	10,8±1,25
ИАН индуцированный	0,27±0,04	0,36±0,04	0,32±0,02
% активности	12±1,8	16±1,8	15±0,7
ДАН	2,0±0,59	1,9±0,35	1,6±0,24
ФРН, %	11±6,8	16±5,5	12±2,8

Доля нейтрофилов в лейкоформуле периферической крови кросса значительно ниже, чем у исходных групп. Потенциальная фагоцитарная активность (по содержанию катионного белка в лизосомах нейтрофилов периферической крови кросса) выше, чем исходных групп. По сравнению с чешуйчатой группой различия достоверны ($t=4,3$; $P<0,05$).

У Волжского кросса отмечается высокий уровень АЛТ, свидетельствующий об интенсивном белковом росте (табл. 8). Уровень триглицеридов и холестерина у кросса выше, что вероятно связано с накоплением жира (энергетическое депо). Содержание глюкозы в крови кроссов было более чем в три раза выше, чем у исходных форм.

Показатели метаболизма отражают динамику роста рыб: кросс опережает по массе исходные группы. Активность КК крови кросса более чем в два раза снижена, по сравнению с исходными линиями. Такое снижение активности фермента вероятно связано с меньшей подвижностью особей кросса, получающих достаточное количество корма.

Таблица 8. Биохимическая характеристика двухгодовиков Волжского кросса и исходных групп карпа, ООО «Флора»

Показатели	Кросс Волжский чешуйчатый	Исходные группы	
		Чувашский чешуйчатый	Волжский рамчатый
АЛТ, ед/л	52±7*	34±3*	27±1*
АСТ, ед/л	78±26	221±17	163±9
Глюкоза, ммоль/л	6,4±1,5*	1,9±0,3*	1,8±0,5*
КК, ед/л	922±476*	1723±306	2453±140*
Лактатат, мг/дл	18±6,1*	38±5,6*	18±5,7*
Мочевая кислота, мкмоль/л	36±5,9*	93±33,5	153±18,1*
ЩФ, ед/л	31±12,0	26±7,1	45±5,2
Альбумин, г/дл	18±0,4	10±0,5	13±1,1
Мочевина, мг/дл	11±1,4	10±0,8	11±1,3
Общий белок, г/л	27±1,3	24±0,7	29±2,5
Триглицериды, мг/дл	162±15	125±8	120±6
Холестерин, мг/дл	160±7*	116±3*	105±10*

Очевидно, у кроссов карпа, полученных в результате скрещивания генетически разнородных линий или пород, наблюдается эффект гетерозиса, проявляющийся в интенсивном росте и усиленных процессах метаболизма. Масса тела кроссов была различной и обусловлена сочетанием многих факторов: зоной рыбоводства, плотностью посадки, уровнем кормления. Ангелинский кросс характеризуется относительно невысоким потенциалом фагоцитарной активности. Особенностью зеркального кросса является интенсивный эритропоэз, а кросса «Петровский» лейкопоэз на первом году жизни. Установлены и некоторые особенности межуточного обмена кроссов

разного происхождения. У кросса «Петровский» более высокая активность ЩФ, у ангелинского кросса – АЛТ.

По цитохимическим показателям двухлетки исходных форм значительно различались между собой. Как следует из таблицы 9, содержание катионного лизосомального белка у карпов с разбросанной чешуей - зеркальной и рамчатой групп - достоверно выше, чем у чешуйчатой. Аналогичные результаты получены у карпов других возрастных категорий. По-видимому, эта особенность является характерной для карпов с тем или иным чешуйчатым покровом и закреплена генетически.

Показатели НСТ-теста более вариабельны. У Волжских рамчатых карпов ИАН спонтанный, ФРН значительно ниже, чем у чешуйчатых и зеркальных карпов СПК «Ергенинский».

Таблица 9. Цитохимические показатели крови двухлетков исходных форм

Показатели	Чешуйчатые местные	Зеркальные ергенинские	Волжские рамчатые
Масса тела, г	994±45	909±51	1553±24
Относительная скорость роста, %	2342	1514	817
Фагоцитарная активность			
СЦК, ед.	1,62±0,15*	2,29±0,05*	2,12±0,06*
ИАН спонтанный	0,23±0,01	0,29±0,01	0,15±0,01
% активности	11,9±0,6*	16,1±0,9*	6,6±0,40
ИАН индуцированный	0,46±0,03*	0,69±0,03*	0,25±0,03*
% активности	21,6±1,5*	32,0±1,4*	11,6±1,4
ДАН	2,03±0,19	2,43±0,16	1,63±0,14
ФРН, %	22,4±3,6*	40,1±3,5*	10,0±2,5*

Зеркальные карпы кросса «Ергенинский» незначительно опережали, а чешуйчатые отставали по массе от рыб обеих исходных форм. Относительная скорость роста кросса оказалась намного выше исходных линий, что является подтверждением гетерозисного эффекта. Кросс «Петровский» из СХПРК «Киря», несмотря на выращивание во второй рыбоводной зоне, при относительной скорости роста в 10 раз меньшей, превзошел по массе кросс «Ергенинский».

Эритропоз кроссов и их исходных форм был примерно на одинаковом уровне. Однако лейкопоз кроссов весной идет интенсивнее, чем у исходных линий. Так, у чешуйчатых и зеркальных карпов кросса «Ергенинский» присутствуют промиелоциты и значительная доля миелоцитов. У одновозрастных рыб СЦК кроссов ниже, чем исходных форм. Вероятно, из-за высокого уровня метаболизма кроссов происходит перерасход белка в клетках. Тем не менее, показатель был довольно высоким у всех рыб: как кроссов, так и исходных форм.

По биохимическим параметрам имелись различия между группами. Активность КК волжских рамчатых карпов оказалась в два раза ниже, чем у других исходных форм. У кроссов обнаружена противоположная тенденция. Рамчатые карпы имели высокую активность фермента по сравнению с другими волгоградскими кроссами карпа. У кросса «Петровский» отмечается наибольшая среди изучаемых групп активность КК, цитозольного митохондриального фермента функционирующего в клетках многих тканей и катализирующего реакцию, поставляющую энергию для мышечного сокращения. По-видимому, различия объясняются разной подвижностью рыб.

Таким образом, исследуемые комбинации скрещивания дали гегерозисный эффект, который проявился по-разному в зависимости от зоны рыбоводства, плотности посадки и уровня кормления. Показатели роста и обмена веществ кроссов и их исходных форм свидетельствуют о значительном потенциале роста, метаболизма и клеточного иммунитета рыб.

Биохимические показатели кросса «Петровский» в онтогенезе отличались стабильностью. Все рыбы находились в фазе подготовки к зимовке. Тем не менее, отмечены некоторые изменения метаболизма кросса. Уровень креатинина в крови трехлетков значительно ниже, чем двухлетков. У зеркальных карпов данный показатель выше, чем у чешуйчатых.

Для зеркальных карпов характерным является повышение индексов печени, почек и селезенки. Наиболее значительное присутствие клеток миелоидного ряда отмечалось у чешуйчатых карпов в почках по сравнению с селезенкой и периферической кровью. У зеркальных карпов в почках и селезенке уровень лимфопоэза был примерно одинаковым и значительно превышал таковой в крови. В изучаемых кроветворных органах относительное содержание метамиелоцитов и нейтрофилов (в основном палочкоядерных) было высоким, особенно в почках чешуйчатых карпов. Данный факт объясняется усилением фагоцитоза погибших клеток и продуктов обмена, накопившихся в период подготовки к зимовке. Кроме того, при созревании гонад наблюдается дополнительный выброс токсинов, которые также подвергаются фагоцитозу в выделительных органах. При этом происходит не только усиленное образование, но и разрушение фагоцитов: моноцитов и нейтрофилов. У двухлетков карпа происходило интенсивное созревание гонад, более выраженное у зеркальных карпов, по сравнению с чешуйчатыми.

3.1.2. Влияние сезонно-климатических условий на изменчивость гематологических показателей карпа разных селекционных групп

Результаты исследований оценки иммунофизиологического состояния карпа чувашской чешуйчатой и анишской зеркальной пород пятого поколения селекции (F5), выращенных в условиях прудового рыбоводного хозяйства Чувашской Республики – СХПРК «Кирия», показали, что темп роста рыб разных

пород был неодинаков. Весной карпы чувашской чешуйчатой породы немного превышали по массе анишских зеркальных карпов. Осенью ситуация изменилась: зеркальные карпы значительно обогнали в росте чешуйчатых аналогов (табл. 10).

В период интенсивного роста рыбы идет повышенный расход энергии, основным источником которой является глюкоза. В весенний период наблюдается некоторое снижение, осенью – резкий скачок концентрации глюкозы в крови у чешуйчатых карпов по сравнению с зеркальными ($P < 0,05$).

Таблица 10. Характеристика чувашской чешуйчатой и анишской зеркальной пород (F5)

Показатели	Трехгодовики		Четырехлетки	
	Чешуйчатые	Зеркальные	Чешуйчатые	Зеркальные
Масса, кг	1,9±0,2*	1,8±0,1*	2,7±0,1*	3,2±0,1*
Биохимические показатели				
АЛТ, ед/л	42,7±2,76	45,2±3,73*	30,3±1,96	26,4±1,69*
ЩФ, ед/л	30,2±2,8*	32,0±11,6	15,0±2,9*	16,5±5,5
Глюкоза, ммоль/л	4,1±1,09	4,7±1,45	13,5±0,48*	3,8±2,01*
Лейкоцитарная формула, %				
Промиелоциты	-	-	-	0,3±0,3
Миелоциты	-	0,2±0,2*	0,2±0,2	0,6±0,5*
Метамиелоциты	5,0±0,8*	7,4±1,6*	2,0±0,8*	2,0±0,9*
Палочкоядерные нейтрофилы	4,4±1,3	5,2±1,7	1,4±0,6	3,0±1,5
Сегментоядерные	3,6±1,4	1,8±1,0	3,4±1,2	1,7±1,7
Всего нейтрофилов	8,0±1,1	7,0±1,5	5,2±1,1	4,7±0,33
Эозинофилы	0,4±0,3	0,2±0,2	0,2±0,2	0,3±0,3
Базофилы	-	0,2±0,22	0,8±0,37	0,7±0,33
Моноциты	1,4±1,4*	3,4±0,8	5,2±0,7*	5,0±1,2
Лимфоциты	83,0±1,9	81,6±3,1	86,2±0,8	87,0±1,2
Фагоцитарная активность				
СПК, ед.	1,65±0,13	1,69±0,07	1,70±0,11	1,87±0,09
ИАН спонтанный, ед.	0,15±0,03	0,17±0,01*	0,17±0,02	0,24±0,02*
% активности	8,8±1,4	9,0±0,4	8,6±1,1	11,8±0,9
ИАН индуцирован., ед.	0,30±0,04	0,32±0,05	0,40±0,03	0,43±0,02
% активности	15,6±1,0	15,6±2,0	18,4±1,7	19,2±0,9
ДАН, ед.	2,3±0,5	1,9±0,3	2,6±0,5	1,8±0,2
ФРН, %	15,4±3,3	15,0±4,4	22,8±5,3	18,8±2,9

Осенью в связи с замедлением синтетических процессов снижается уровень АЛТ у карпов обеих групп. Понижается активность ЩФ, так как уменьшается выработка этого фермента гепатоцитами; замедляется фосфорно-кальциевый обмен. У обеих пород карпа до и после зимовки наблюдается активное протекание гемопоэза. При этом в картине белой крови зеркальных карпов преобладают бластные формы гранулоцитов. Осенью у карпов обеих групп увеличилось относительное количество моноцитов (рис. 5).

Эти макрофаги участвуют в фагоцитозе отмерших клеток и антигенных структур при подготовке организма рыбы к зимовке и восстановлении после нереста. Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов крови рыб, до и после нереста различались между собой. Осенью имело место увеличение содержания лизосомального катионного белка, функционального резерва нейтрофилов и индекса активации нейтрофилов как при спонтанном, так и при индуцированном НСТ-тесте.

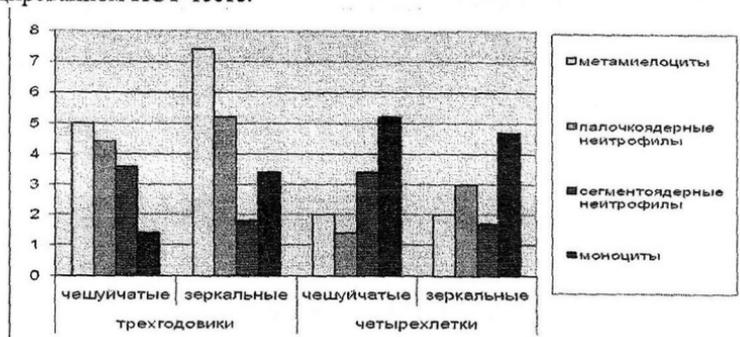


Рисунок 5. Процентное соотношение форменных элементов в лейкоформуле периферической крови двух пород карпа СХПРК «Киря»

Данная закономерность отмечалась нами ранее и у карпа других возрастов. Вероятно, это вызвано необходимостью поддержания гомеостаза организма (иммунитета) во время зимовки, когда замедляются процессы метаболизма.

Наряду с сезонной изменчивостью показателей наблюдались породные различия цитохимических показателей. Средний цитохимический коэффициент содержания катионного белка в лизосомах нейтрофилов чешуйчатых карпов был несколько ниже, чем у зеркальных.

3.1.3. Зависимость гематологических, биохимических и иммунологических показателей от условий кормления карпа

Объектами исследований были двухлетки чешуйчатого и зеркального карпа. Недостаточное питание произошло вследствие увеличения плотности посадки. В данном эксперименте было получено 680 кг/га рыбы без кормления и удобрения прудов.

Оценка морфофизиологических показателей выявила разную реакцию карпов двух генотипов на условия недостатка питания, сложившиеся в течение вегетационного периода (табл. 11). Двухлетки чешуйчатой группы опережали в росте зеркальных карпов на 9,4%. Это является следствием того, что чешуйчатые карпы обладают более высокой поисковой способностью

(нагульный тип), чем зеркальные (откормочный тип). Контрольные экземпляры, как и следовало ожидать, значительно превышали по массе голодающих карпов.

При голодании у карпов ускорилось созревание гонад. У зеркальных карпов процесс этот протекал интенсивнее, чем у чешуйчатых. Возможно, это обусловило относительно большее торможение их роста.

Таблица 11. Морфофизиологическая характеристика карпов двух генотипов при разной обеспеченности кормом

Показатели	Чешуйчатые карпы		Зеркальные карпы	
	Достаток корма	Дефицит корма	Достаток корма	Дефицит корма
Масса, кг	1,8±0,09	1,0±0,05	1,7±0,03	0,9±0,05
Морфологические индексы, % (n=30)				
Селезенка	0,22±0,01	0,22±0,02	0,20±0,01	0,23±0,01
Почки	0,54±0,03	0,53±0,03	0,54±0,03	0,58±0,03
Печень	4,6±0,3*	2,6±0,1*	4,5±0,2	3,1±0,2
Сердце	0,15±0,03	0,16±0,01	0,18±0,01	0,16±0,01
Кишечник	1,61±0,03*	1,60±0,10	1,94±0,11*	1,74±0,13
Толщина кишечника, г/см	0,38±0,02*	0,20±0,01*	0,38±0,02*	0,22±0,01*
Гонады	1,27±0,45*	1,72±0,30*	2,61±0,73	3,49±0,21
Гематологические показатели				
Гемоцитобласты, эритробласты	1,1±0,18*	0,3±0,21*	0,6±0,18	0,4±0,30
Нормобласты	3,7±0,5	2,6±1,1	3,9±0,5	2,6±0,1
Базофильные эритроциты	10,6±1,2	9,2±2,0	8,9±1,2	11,5±1,34
Лейкоцитарная формула, %				
Метамиелоциты	1,7±0,4	2,6±1,3	2,0±0,4	1,8±1,3
Палочкоядерные нейтрофилы	3,0±0,7	3,7±2,6	1,6±0,3	4,5±2,6
Сегментоядерные нейтрофилы	2,5±0,7	6,7±2,5	3,0±0,6	5,8±1,8
Моноциты	3,4±0,5	6,2±3,0	3,9±0,5	2,6±1,8
Лимфоциты	88,7±0,8	80,5±3,5	88,9±1,2	84,7±2,2
Фагоцитарная активность				
СЦК, ед.	1,89±0,08	1,49±0,18*	2,12±0,06	2,17±0,11*

При дефиците корма уменьшилась толщина кишечника. А также снизились индексы печени вследствие прекращения поступления белка с пищей, произошло замедление эритропоэза. В лейкоцитарной формуле голодающих карпов увеличилось относительное количество нейтрофилов: палочкоядерных и, особенно, сегментоядерных. Очевидно, это связано с тем, что клетки нейтрализуют накопившиеся в условиях недостатка питания продукты межтучного обмена. Кроме того, у 10% голодающих карпов (чешуйчатых и зеркальных) наблюдалось достаточно редкое явление: переход на хищничество.

У карпов в условиях неполного голодания снижается эритропоэз: уменьшается доля бластных форм эритроидного ряда. У чешуйчатых карпов отличия достоверны при доверительном коэффициенте 2,89. При дефиците корма у чешуйчатых карпов СЦК достоверно ниже, чем у зеркальных ($P < 0,05$).

Результаты биохимических исследований показали, что активность АСТ и КК в сыворотке крови опытных рыб были несколько выше (табл. 12).

Были выявлены межгрупповые различия показателей энергетического обмена. Так у карпов, находившихся в условиях хронического голодания, отмечено повышение глюкозы в крови более чем на 60% при одновременном трехкратном уменьшении триглицеридов, что соответствует 2 фазе ферментной адаптации по А.А. Покровскому, характеризующейся повышением активности жиromобилизующих ферментов.

Таблица 12. Биохимическая характеристика крови двухлеток карпа при разном уровне питания

Показатели	Чешуйчатые карпы		Зеркальные карпы	
	Достаток корма	Дефицит корма	Достаток корма	Дефицит корма
Общий белок, г/дл	20,3±0,84	17,2±1,03	20,7±0,30	17,4±1,18
Альбумины, г/дл	9,3±0,39	8,2±0,50	9,9±0,33	8,2±0,70
% общего	46,1±1,17	47,5±1,84	47,7±1,16	47,1±1,30
Триглицериды, мг/дл	145±13*	50±7*	131±11*	40±6*
Глюкоза, ммоль/л	5,8±0,83*	9,1±1,12*	4,1±0,41	7,6±1,24
АЛТ, Ед/л	33,2±5,34	37,8±4,46	25,9±2,19	32,0±3,14
АСТ, Ед/л	98,3±16,7	139,0±7,29	132,4±2,89	139,1±9,07
КК, Ед/л	2398±591	4026±426	2822±456*	4586±376*
ЩФ, Ед/л	55,4±7,3	27,9±4,9*	89,6±9,5	14,6±2,8*
Лактат, мг/дл	42,0±12,9	37,3±6,8	51,1±9,9	32,2±6,3
Холестерин, мг/дл	94,3±6,9	92,4±5,6	68,1±2,6	85,4±6,1
Мочевая кислота, мкмоль/л	244±17	333±17	226±19	280±11
Мочевина, мг/дл	4,8±1,2*	17,4±1,6*	6,9±0,9*	13,7±1,9*

Увеличение концентрации мочевины в крови объясняется, по всей видимости, не избыточным ее образованием (т.к. наблюдается дефицит корма), а недостаточным выведением из организма. У карпов чешуйчатой группы содержание в сыворотке крови триглицеридов, глюкозы, лактата и холестерина были выше, чем у зеркальных. Более высокими были у них показатели содержания мочевой кислоты и мочевины. Это можно объяснить тем, что в критической ситуации доступность кормовых объектов в силу высокой поисковой способности чешуйчатых карпов, была выше, чем у зеркальных. И энергетический баланс сохранился у них на уровне летнего периода.

Таким образом, при недостаточном питании у рыб с высоким потенциалом роста, обусловленным отбором по АЛТ, наблюдаются изменения белкового и пуринового обмена. Показатели содержания холестерина дают основание полагать, что процессы образования стероидных гормонов более заторможены у чешуйчатых карпов. При большей массе тела гонады у них мельче. При недостаточном питании у рыб с высоким потенциалом роста, во 2-й фазе ферментной адаптации наблюдаются изменения энергетического обмена: значительно снижается уровень триглицеридов в сыворотке крови и возрастает активность КК.

У 15% чешуйчатых карпов наблюдалась обтурация желчного пузыря камнями. Камней в желчном пузыре рыб зеркальной линии не обнаружено.

Активность щелочной фосфатазы в сыворотке карпов чешуйчатой группы была достоверно выше, чем у рыб зеркальной группы. Это закономерно, так как наиболее значительное повышение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови наблюдается при застое желчи и обтурации желчевыводящих путей, в частности при холелитиазе.

3.2. Физиологическая и иммунологическая оценка сома обыкновенного в условиях рыбоводных хозяйств

Сом обыкновенный относится к теплолюбивым рыбам, хорошо растет в условиях 5-й зоны рыбоводства. В рыбоводных хозяйствах Волгоградской области «Флора» и «Ергенинский» его разводят как дополнительную культуру (Волжская популяция). Тем не менее, нами получен положительный опыт культивирования сома обыкновенного в СХПРК «Киря» в условиях второй рыбоводной зоны (Сурская популяция).

При сравнении молоди сома из разных зон рыбоводства выявлено, что для рыб осеннего периода (сеголетки и двухлетки) второй зоны рыбоводства характерен менее высокий уровень эритропоза, чем для годовиков весной.

Доля нормобластов в общем содержании эритроцитов у годовиков сома из СХПРК «Киря» в два с лишним раза выше, чем у двухлетков (табл. 13).

Таблица 13. Гематологическая и иммунологическая характеристика молоди сома обыкновенного

Показатели	Сеголетки	Годовики	Двухлетки
Масса тела, г	8,1±0,5	7,1±0,3	589,5±37,1
Эритропоз, %			
Гемоцитобласты, эритробласты	0,2±0,2	1,0±0,0	0,9±0,2
Нормобласты	2,0±0,3*	5,3±0,6*	2,4±0,2*
Базофильные эритроциты	10,5±1,5*	16,8±1,2*	9,0±1,9*
Лейкоцитарная формула %			
Миелобласты	-	-	-
Промиелоциты	0,3±0,2	-	0,6±0,2
Миелоциты	1,7±0,3	0,3±0,3	1,3±0,3
Метамиелоциты	2,2±0,4	0,5±0,3	1,7±0,4
Палочкоядерные нейтрофилы	3,5±0,3	1,5±0,7	2,6±0,6
Сегментоядерные	1,2±0,7	1,5±0,3	0,4±0,2
Всего нейтрофилов	4,7±0,9	3,0±0,7	3,0±0,7
Эозинофилы	0,2±0,2	-	0,5±0,2
Базофилы	-	-	0,3±0,2
Моноциты	5,2±1,4	3,8±0,5	3,0±0,6
Лимфоциты	85,8±2,7	92,5±0,5	89,6±1,2
Фагоцитарная активность			
СЦК, ед.	1,71±0,09*	2,10±0,03*	1,74±0,05*

Различия между годовиками, сеголетками и двухлетками достоверны ($P < 0,05$). Та же закономерность прослеживается и для относительного содержания базофильных эритроцитов – у годовиков выше, чем у сеголеток и двухлеток. Различия по сумме зрелых и полихроматофильных эритроцитов у рыб разных возрастных групп также достоверны.

В отношении лейкопоза наблюдается противоположная тенденция: усиление осенью. Вероятно, данное явление происходит вследствие необходимости усиления иммунной защиты, которую выполняют лейкоциты, в период торможения обменных процессов при подготовке к зимовке.

В весенний период происходит усиление потенциальной фагоцитарной активности годовиков (по СЦК). Неферментного катионного белка в лизосомах нейтрофилов периферической крови больше у годовиков сома. Тогда как осенью у сеголетков и двухлетков его не так много.

У годовиков сома из второй рыбоводной зоны в крови отсутствуют эозинофилы и базофилы, в отличие от двухлетков. В пятой рыбоводной зоне (ООО «Флора») в отношении эозинофилов и базофилов наблюдается обратное явление (табл. 14).

Таблица 14. Характеристика крови молоди сома обыкновенного, выращенного в Волгоградской области

Показатели	«Ергенинский»	
	Сеголетки	Двухлетки
Масса тела, г	100±6*	1356±109*
Эритропоз, %		
Гемоцитобласты, эритробласты	0,5±0,03	0,3±0,15
Нормобласты	2,0±0,3	2,8±0,3
Базофильные эритроциты	7,3±0,8	6,0±0,8
Лейкоцитарная формула, %		
Миелоциты	0,3±0,2	0,4±0,3
Метамиелоциты	2,2±0,6	0,9±0,5
Палочкоядерные нейтрофилы	1,8±0,5	4,1±0,9
Сегментоядерные	6,5±1,6*	2,1±0,8*
Всего нейтрофилов	8,1±1,7	6,2±0,3
Эозинофилы	0,3±0,2	-
Базофилы	0,2±0,1	-
Моноциты	2,4±0,7	2,6±0,4
Лимфоциты	86,0±1,5	89,9±0,6
Фагоцитарная активность		
СЦК, ед.	1,81±0,06	1,74±0,05

Условия выращивания рыб в хозяйствах пятой рыбоводной зоны (Волгоградская область) неодинаковы. В ООО «Флора» сомы находились при плотной посадке (300 кг/га). В СПК «Ергенинский» посадка была разреженной (около 100 кг/га).

Общей тенденцией для молоди сомов хозяйств обеих рыбоводных зон является несколько больший процент миелоцитов, а в ООО «Флора» и других

бластных форм лейкоцитов у двухлетков. Наблюдается достоверное увеличение содержания лизосомального катионного белка в нейтрофилах крови молодых сомов ООО «Флора» весной.

В лейкоцитарной формуле сеголетков, выращиваемых в условиях плотной посадки, отмечена значительная доля ювенильных форм лейкоцитов (миелоцитов, метамиелоцитов) и незрелых эритроцитов. Относительное количество нейтрофилов сеголетков сома, выращенных при разных плотностях посадки, было примерно на одном уровне. Однако фагоцитарная активность этих микрофагов у рыб, находящихся при повышенной плотности посадки (табл. 15), значительно ниже, чем у сеголетков при разреженной плотности посадки (по показателям лизосомального катионного белка и НСТ-теста).

Таблица 15. Фагоцитарная активность нейтрофилов крови молоди сома обыкновенного из рыбоводных хозяйств Волгоградской области

Показатели	«Ергенинский»		«Флора»	
	Сеголетки	Двухлетки	Сеголетки	Двухгодовики
Фагоцитарная активность				
СЦК, ед.	1,81±0,06	1,74±0,05	1,75±0,12*	2,09±0,23*
ИАН спонтанный, ед.	0,28±0,02	0,17±0,01	0,16±0,02	0,13±0,02
% активности	13,6±0,9	7,8±0,4	6,8±0,6	6,0±1,4
ИАН индуцированный, ед.	0,69±0,04	0,29±0,01	0,26±0,02	0,27±0,06
% активности	33,4±1,8	12,6±0,4	11,4±1,0	10,5±0,7
ДАН	2,6±0,17	1,8±0,07	1,8±0,3	2,1±0,2
ФРН, %	41,5±3,2*	12,6±0,87	10,2±3,8*	14,0±4,2

Функциональный резерв нейтрофилов у сеголетков при плотной посадке был достоверно ниже, чем у одновозрастных рыб, находящихся в условиях разреженной посадки ($t=6,31$). Данный факт свидетельствует о том, что при повышенных плотностях посадки усиливается интенсивность клеточного дыхания (усиление эритропоза) и снижается функциональный резерв фагоцитирующих клеток крови при активации лейкопоза.

При сравнении годовиков сома обыкновенного из разных зон рыбоводства по фагоцитарной активности нейтрофилов их периферической крови выявлены сходства и различия (табл. 16).

Таблица 16. Фагоцитарная активность нейтрофилов годовиков сома

Показатели	СХПРК «Киря»	Р/х «Флора»
СЦК, ед	2,10±0,03*	1,80±0,10*
ИАН спонтанный, ед	0,17±0,03*	0,30±0,03*
% активности	9,0±2,08	12,7±1,76
ИАН индуцированный, ед	0,36±0,01*	0,52±0,01*
% активности	17,3±0,9	21,7±1,7
ДАН	2,2±0,4*	1,8±0,2*
ФРН, %	18,3±4,06	22,0±2,9

Весной содержание неферментного катионного белка в лизосомах нейтрофилов годовиков СХПРК «Киря» оказалось достоверно выше, чем у

сомов того же возраста из более теплой пятой рыбоводной зоны в ООО «Флора». Это свидетельствует о большем потенциальном резерве фагоцитарной активности молоди сома во второй рыбоводной зоне. Возможно, что это связано с разными условиями зимовки. В СХПРК «Киря» зимовка молоди происходит в зимовальных прудах, которые спускают только при весеннем облове. В ООО «Флора» зимовка сома проходит при неблагоприятных условиях: в бассейне при многократных спусках воды. В результате рыбы там находится в условиях постоянного стресса и накопившейся катионный белок, ферменты и другие важные белки организма тратятся на нейтрализацию действия стресс-факторов. Вероятно, данное воздействие стимулировало усиление способности нейтрофилов этих рыб реагировать на чужеродный белок.

ИАН при спонтанном фагоцитозе у годовиков сома ООО «Флора» был достоверно выше, чем в СХПРК «Киря» как при спонтанном, так и индуцированном НСТ-тесте. Тем не менее, ДАН оказалась достоверно выше у годовиков СХПРК «Киря».

Таблица 17. Морфометрические, гематологические и иммунологические показатели производителей сома обыкновенного

Показатели	СХПРК «Киря»		Р/х «Флора»	
	самцы	самки	самцы	самки
Масса, кг	2,6±0,2*	2,5±0,1*	3,3±0,1*	3,5±0,4*
Эритропоз, %				
Гемоцитобласты, эритробласты	0,7±0,4	-	1,0±0,7	1,0±0,7
Нормобласты	2,7±0,4	3,0±1,4	2,3±0,4	4,7±0,4
Базофильные эритроциты	11,7±4,0	7,5±0,7	12,3±1,8	14,0±4,6
Лейкоцитарная формула, %				
Миелоциты	0,5±0,4	1,0±0,4	-	-
Метамислоциты	3,0±1,4	3,5±0,7	-	-
Палочкоядерные нейтрофилы	0,7±0,8	1,5±2,1	1,0±0,7	3,3±1,6
Сегментоядерные	4,3±0,8	4,5±2,1	3,7±1,1	4,0±1,2
Всего нейтрофилов	5,0±1,4	6,0±4,2	4,7±0,4	7,3±0,4
Базофилы	0,3±0,4	-	-	-
Моноциты	3,3±2,0	2,5±0,7	2,0±0,7	2,7±1,1
Лимфоциты	88,3±2,3	87,0±2,8	93,0±1,2	90,0±0,7
Фагоцитарная активность				
СЦК, ед.	1,30±0,15*	1,72±0,51	1,81±0,20	1,90±0,19*
ИАН спонтанный, ед.	0,14±0,02	0,21±0,09	0,14±0,04	0,20±0,02
ИАН индуцированный	0,25±0,03*	0,33±0,19	0,41±0,08*	0,38±0,03
ДАН	1,8±0,4	1,6±0,3	3,1±0,8	1,9±0,3
ФРН, %	10,7±4,8*	12,5±2,6	26,3±4,9*	17,7±3,9

Интересен тот факт, что в Волгоградском хозяйстве у сома в лейкоцитарной формуле отсутствуют бластные формы гранулоцитов, тогда как

в «Кире» у самцов и самок присутствует определенный процент метамиелоцитов, и даже миелоцитов (табл. 17). Такая активация лейкопоза у сома весной, вероятно, связана с влиянием резких температурных перепадов, характерных для климата Чувашии. Кроме того, производители сома из СХПРК «Киря» впервые созрели для нереста.

Уровень эритропоза был примерно одинаков у рыб, как второй, так и пятой зоны рыбоводства и находился в пределах, свойственных здоровым особям с хорошей жизнеспособностью и стабильной кроветворной системой. У производителей, особенно у самок, наблюдалось увеличение незрелых эритроцитов.

По-видимому, повышенное их образование в весенний период компенсирует затраты на усиленный кислородный обмен при выработке половых продуктов. Количество неферментного катионного белка в лизосомах нейтрофилов периферической крови сома обыкновенного в пятой зоне рыбоводства было несколько больше, чем во второй, климатические условия которой вызывают повышенный расход лизосомального протеина при адаптации к влиянию абиотических факторов среды.

У самцов сома обыкновенного пятой рыбоводной зоны значительно выше индекс активации нейтрофилов при индуцированном НСТ-тесте и функциональный резерв нейтрофилов ($P < 0,05$).

3.3. Физиологическая характеристика речных раков и индикаторы их резистентности при разведении в условиях аквакультуры

При культивировании речных раков на каждом этапе технологического процесса необходимо учитывать факторы, воздействующие на организм. Особенно важно для беспозвоночных содержание растворенного кислорода, температурный режим. От этого напрямую зависит выход личинок, а также плодовитость и сохранность производителей.

Кроме того, необходим контроль физиологического состояния речных раков, отражением которого являются свойства их циркулирующей жидкости (гемолимфы). У данных гидробионтов определены три типа клеток гемолимфы (гемоцитов): агранулоциты, полугранулоциты и гранулоциты. Нами у изучаемых видов речных раков найден еще один вид гемоцитов, получивших название «прозрачных» клеток. Соотношение ядро-цитоплазма и способность к фагоцитозу (по наличию псевдоподий и выявлению катионного лизосомального белка) дают основание предположить, что эти клетки являются ювенильными формами.

При воздействии стресс-факторов на речных раков: недостаток растворенного кислорода, пониженное и повышенное содержание кальция в

водной среде не вызывало достоверных отличий СЦК лизосомального катионного белка у речных раков внутри каждого из видов и между видами.

Встала задача оценить фагоцитарную активность клеток гемолимфы при заболевании раков. Известно, что основным источником заболеваний речных раков служат патогенные грибы. В этой связи было проведено исследование широкопалых речных раков (*Astacus astacus*), пораженных ржавопятнистым заболеванием (РПЗ). РПЗ (*Mycosis astacorum*) является инфекционным заболеванием грибковой этиологии и характеризуется появлением на теле рака ржавых, оранжевых, темно-коричневых или черных пятен, а также язв на панцире. Микроскопирование проб из пораженных участков показал наличие гифов и цист *S. parasitica*. Последние сохраняли жизнеспособность, что было определено при высеве их на среду Чапека.

У раков, пораженных РПЗ, показатель СЦК был достоверно выше, чем у здоровых особей при совместном содержании (табл. 18). Общее число гемоцитов, гемоцитарная формула, рН гемолимфы у пораженных и здоровых особей достоверно не различались. Более информативным в данном случае оказался цитохимический показатель, характеризующий фагоцитарную активность клеток.

Таблица 18. Морфометрические, гематологические и цитохимические показатели речных раков *Astacus astacus*

Показатели	Здоровые особи	Пораженные РПЗ
Масса тела, г	21,2±0,2	20,3±1,1
Длина тела, мм	87,5±0,71	88,0±1,41
рН гемолимфы	4,8±0,35	5,5±0,1
ОЧГ, клеток/мкл	363±302	453±238
СЦК, ед.	0,87±0,12*	1,62±0,12*
Гемоцитарная формула, %		
Агранулоциты	31±1	27±9
Полугранулоциты	31±19	34±8
Гранулоциты	30±11	37±6
Прозрачная клетка	9±8,5	3±1,4

Повышенное содержание в водной среде соединений азота (в течение месяца) оказало отрицательное воздействие на речных раков *Astacus astacus*. Происходило уменьшение доли гранулоцитов, снижение фагоцитарной активности гемоцитов и торможение ее активации *in vitro*. Однако при этом активизируется механизм восстановления: увеличивается относительное количество клеток предшественников (прозрачных клеток).

Летальность в опытной группе составила 60%. В контроле гибели речных раков не наблюдалось. Показатели гемолимфы после месяца эксперимента представлены в таблице 19. рН гемолимфы у раков, содержащихся в среде с повышенным уровнем нитратов и нитритов, смещается в щелочную сторону.

При этом уменьшается доля гранулоцитов и снижается функциональный резерв фагоцитов. В опытной группе он оказался достоверно ниже, чем в контроле.

Отмечены резкие различия между индуцированным и спонтанным фагоцитозом по сравнению с опытной группой.

Таблица 19. Гематологические показатели и фагоцитарная активность гемоцитов речных раков *Astacus astacus* под влиянием нитратов и нитритов

Показатели	Контроль	Опыт	Доверительный коэффициент t
РН гемолимфы	5,0±0,00*	5,9±0,28*	3,21
ОЧГ, клеток/мкл	1043±161	581±292	1,38
СЦК, ед.	1,78±0,12	1,64±0,29	0,45
ИАГ спонтанный, ед.	1,9±0,20	2,1±0,18	0,84
ИАГ индуцированный, ед.	2,3±0,13	2,2±0,18	0,53
ДАГ	1,25±0,27	1,03±0,07	0,11
ФРГ, %	38±7,2*	6±3,1*	4,08
Гемоцитарная формула, %			
Агранулоциты	25,8±2,4	39,8±8,8	1,54
Полугранулоциты	23,0±6,1	24,0±10,0	0,09
Гранулоциты	43,8±5,5*	22,3±5,2*	2,87
Прозрачные клетки	7,5±1,20	14,0±5,63	1,13

Таким образом, повышенное содержание азотсодержащих веществ в водной среде приводит к активации гемоцитов, выходу ферментов профенолоксидазной системы, находящейся в большей степени в гранулоцитах, в гемолимфу и разрушению гранулоцитов. Вероятно, происходит также снижение связывания кислорода гемоцианином и ухудшается газообмен аналогично данным по креветкам (Chei, Chen, 1999). Как следствие – активация гемопоэза для восстановления гемоцитов: увеличение количества прозрачных клеток, предположительно исполняющих роль предшественников гемоцитов.

При плотной посадке широкопалых речных раков достоверно уменьшается процентное содержание полугранулоцитов в гемолимфе. Гемоциты данного типа являются основными фагоцитами и усиленное их расходование может быть результатом увеличения активности и разрушения. Подтверждением данного предположения служит увеличение СЦК лизосомального белка и показателей спонтанного и индуцированного НСТ-теста.

3.4. Сравнительная физиолого-иммунологическая характеристика гидробионтов разных видов

Оценка молодежи рыб СПК «Ергенинский» показала, что двухлетки сома обыкновенного достигли большей массы по сравнению с карпами чистых линий. Гемопоэз протекает сходно у рыб разных видов и больше зависит от

условий выращивания (в частности, от сезона года). Фагоцитарная активность нейтрофилов двухлетков чешуйчатых карпов ниже, чем у зеркальных карпов и достоверно ниже, чем у сома (табл. 20). Зеркальный карп оказался ближе по этим параметрам к сому, чем к чешуйчатому карпу.

Таблица 20. Цитохимические показатели двухлетков карпа и сома

Показатели	Чешуйчатый карп	Зеркальный карп	Сом
СЦК, ед.	1,29±0,15*	1,72±0,51	1,74±0,05*
ИАН спонтанный, ед.	0,14±0,02	0,21±0,09	0,17±0,01
% активности	9,7±1,1	10,0±4,2	7,8±0,4
ИАН индуцированный	0,25±0,03	0,33±0,20	0,29±0,01
% активности	13,7±1,5	15,0±7,1	12,6±0,4
ДАН	1,8±0,4	1,6±0,3	1,8±0,1
ФРН, %	10,7±4,8	12,5±10,6	12,6±0,9

В таблице 21 представлены результаты биохимического исследования сыворотки крови двухлетков карпа и сома обыкновенного. Содержание белка и альбуминовой фракции в сыворотке крови двухлетков сома было несколько выше, чем у карпа. Что связано с более быстрым ростом сома по сравнению с карпом. Однако соотношение альбуминов к общему белку практически одинаково у рыб всех изучаемых групп. Уровень глюкозы в крови карпа почти в два раза, активность КК в три раза больше, чем у сома обыкновенного. По-видимому, различия активности фермента КК связаны с разной мышечной активностью этих видов рыб или с видовыми особенностями мышечного сокращения.

Таблица 21. Биохимические показатели сыворотки крови двухлетков рыб

Показатели	чешуйчатый карп	зеркальный карп	сом
Общий белок г/дл	17±1,0	17±1,2	24±0,7
Альбумин г/дл	8,2±0,50	8,2±0,70	11,5±0,19
Глюкоза, ммоль/л	9,1±1,1	7,6±1,2	4,3±0,5
АЛТ, ед/л	37,8±4,5	32,0±3,1	29,2±2,2
КК, ед/л	4026±426*	4586±376*	1648±421*
ЩФ, ед/л	27,9±4,85	14,6±2,81	13,3±2,20

При сравнении производителей карпа (чувашской чешуйчатой и анишской зеркальной пород) и производителей сома обыкновенного выявлены различия их метаболизма и фагоцитарной активности нейтрофилов крови (табл. 22).

У самок карпа присутствуют бластные формы лейкоцитов: миелобласты у чешуйчатых, промиелоциты у зеркальных. Доля миелоцитов больше у сома, чем у карпа. Несмотря на явные видовые особенности, полученные данные согласуются с общебиологической закономерностью: усиление гемопоэза весной и затухание осенью. Относительное количество нейтрофилов несколько выше у самок всех групп рыб по сравнению с самцами; количество моноцитов – ниже. Созревание гонад самцов сопровождается выбросом половых

продуктов и отмиранием клеток, в фагоцитозе которых участвуют макрофаги (моноциты и тканевые макрофаги). У самок накапливаются токсичные продукты межучточного обмена, в нейтрализации которых участвуют микрофаги (нейтрофилы). У сомов отсутствуют эозинофилы, базофилы есть только у самцов.

Таблица 22. Сравнительная оценка гематологических показателей производителей двух видов рыб СХПР «Кирия»

Показатели	Карп				Сом обыкновенный	
	чешуйчатый		зеркальный		самцы	самки
	самцы	самки	самцы	самки		
Эритропоз, %						
Гемоцитобласты, эритробласты	0,5±0,3	1,3±0,3	1,2±0,2	0,8±0,2	0,7±0,4	-
Нормобласты	2,3±0,5	3,3±0,6	2,4±0,3	2,4±0,3	2,7±0,4	3,0±1,4
Базофильные эритроциты	6,7±1,25	6,9±1,78	5,4±1,69	5,2±1,24	11,7±4,0	7,5±0,7
Лейкоцитарная формула, %						
Миелобласты	-	0,5±0,3	-	-	-	-
Промиелоциты	-	-	-	0,6±0,4	-	-
Миелоциты	-	-	0,2±0,2	-	0,5±0,35	1,0±0,4
Метамиелоциты	2,5±0,3	2,5±0,7	2,8±1,2	1,8±0,6	3,0±1,4	3,5±0,7
Палочкоядерные нейтрофилы	2,8±1,1	4,0±0,4	2,8±0,7	1,2±0,6	0,7±0,8	1,5±2,1
Сегментоядерные	3,0±1,4	2,3±1,0	3,2±1,2	4,4±1,9	4,3±0,8	4,5±2,1
Всего нейтрофилов	5,8±1,4	6,3±1,0	3,2±1,2	4,4±1,9	5,0±1,4	6,0±4,2
Эозинофилы	0,3±0,25	0,3±0,25	6,0±1,14	5,6±1,63	-	-
Базофилы	0,3±0,3	0,3±0,3	0,8±0,2	0,4±0,3	0,3±0,4	-
Моноциты	4,5±0,5	2,8±0,8	5,0±0,9	4,6±1,0	3,3±2,0	2,5±0,7
Лимфоциты	86,8±1,7	88,0±1,5	85,2±1,7	86,8±1,9	88,3±2,3	87,0±2,8
Фагоцитарная активность						
СЦК, ед	1,77±0,18	2,06±0,98	1,90±0,08*	1,98±0,13	1,29±0,15*	1,72±0,51

Фагоцитарная активность нейтрофилов по СЦК у производителей сома обыкновенного ниже, чем у карпа. У самцов различия достоверны ($p < 0,05$). Вероятно это связано с большими энергетическими затратами сома обыкновенного, ведущего хищный образ жизни. В данном случае изменения СЦК коррелируют с повышенной активностью КК у сома и пулом глюкозы. Биологические особенности производителей карпа и сома обыкновенного нашли отражение в целом ряде биохимических показателей их сыворотки крови. Отмечено значительное снижение активности КК у самцов по сравнению с самками сома обыкновенного (табл. 23).

Продукты белкового обмена (мочевая кислота) более чем в два раза выше у самцов карпа, чем у сома обыкновенного и у самцов выше, чем у самок. Очевидно, что у самцов интенсивнее идёт белковый обмен.

Активность АСТ у сомов в 3 раза выше, чем у карпов.

Таблица 23. Биохимическая характеристика производителей

Показатели	Карп				Сом	
	чешуйчатый		зеркальный		Самцы	Самки
	Самцы	Самки	Самцы	Самки		
Масса тела, г	2383±98	2750±208	2643±178	2460±140	2630±178	2500±141
Длина тела, см	48±0,5	50±1,3	50±0,8	46±1,8	77±1,2	75±2,1
АЛТ, ед/л	40±10	41±12	38±4	36±2	45±4	66
АСТ, ед/л	164±13*	133±39	156±6	146±3	402±12*	415
ГГТ, ед/л	13,5±0,3	20,9±10,5	31,6±7,9	14,2±3,4	23,5±9,0	12,0±9,2
Глюкоза, ммоль/л	3,6±1,3	4,5±1,1	5,8±0,6	1,9±1,0	4,4±0,7	4,0±1,1
КК, ед/л	3896±63	3877±161	3975±106	3852±200	760±387*	3117±327*
Креатинин, мкмоль/л	-	22,3±6,5	6,5±3,2	5,7±5,7	7,6±4,7	17,1
ЛДП, ед/л	862±194	816±329	951±96	986±331	Не опред.	Не опред.
Лактатат, мг/дл	67±8*	69±6*	74±9	34±6	17±7*	28±7*
Мочевая кислота, мкмоль/л	283±16	176±13	283±41	195±80	137±57	101
ЩФ, ед/л	25,5±1,5	17,5±0,5	66,0±4,6	12,0±6,4	29,0±20,8	12,5±13,4
Альбумин, г/дл	11,45±3,4	9,1±1,7	10,2±0,2	10,6±0,35	16,6±0,8	22,7±3,3
Амилаза, ед/л	8,7±3,4	18,0±10,9	9,0±2,4	14,1±6,7	39,3±23,8	12,7±14,1
Мочевина, мг/дл	8,2±2,7	9,6±3,2	9,7±1,4	11,5±2,2	3,2±0	2,2±0
Общий белок, г/л	27±6,4	22±1,7	26±0,8	22±1,9	39±4,3	38±4,4
Триглицериды, мг/дл	124±41	105±32	86±14	107±20	49±6	158±15
Холестерин, мг/дл	109±12*	118±21	123±8*	96±2*	175±6*	187

При сравнении двух видов речных раков: широкопалого и длиннопалого был выявлен ряд различий и сходства их физиологии. По линейным размерам и массе тела *Pontastacus leptodactylus* значительно превосходил *Astacus astacus* (табл. 24). У раков обнаружены различия и на уровне констант гомеостаза. Так, у *Pontastacus leptodactylus* показатели рН, ЩФ выше, чем у *Astacus astacus*.

Табл. 24. Размерно-весовые и гематологические показатели раков

Показатели	<i>Astacus astacus</i>	<i>Pontastacus leptodactylus</i>
Масса тела, г	34,2±7,43*	64,5±6,95*
Длина тела, мм	95,0±1,9*	133,0±5,3*
Длина карапакса, мм	49,6±0,76*	65,5±2,32*
Гемоцитарная формула, %		
Агранулоциты	30,43±4,94	34,86±4,88
Полугранулоциты	25,14±6,69	29,57±3,43
Гранулоциты	35,43±2,9	32,14±2,35
Прозрачные клетки	8,71±3,72	3,43±1,58
Гематологические и биохимические показатели		
рН гемолимфы	5,8±0,2*	6,9±0,2*
ОЧГ, клеток/мкл	1107±384	1126±296
Глюкоза, ммоль/л	3,46±1,77*	0,68±0,56*
АЛТ, ед/л	81±42	55±18
АСТ, ед/л	57,8±7,3	55,3±33,5
ЩФ, ед/л	17,1±2,1*	78,0±20,2*
Фагоцитарная активность		
СЧК, ед.	1,69±0,13	1,96±0,12

Более щелочная реакция гемолимфы *Pontastacus leptodactylus* может предопределять и большую емкость щелочного резерва. А более высокая

активность ЩФ может способствовать созданию более емкого фосфорнокислого буфера гемолимфы раков этого вида.

СЦК неферментного катионного белка не имел достоверных отличий между изучаемыми видами речных раков. По-видимому, этот показатель не зависит от видовой принадлежности раков.

Проведенные исследования позволили выявить видовые особенности и половые различия физиологии производителей двух видов рыб: карпа и сома обыкновенного. Они основаны на различии в питании, образе жизни, наличии или отсутствию чешуйного покрова. В весенний период при созревании гонад у всех изучаемых рыб интенсивно протекает эритропоз. У самок карпа по сравнению с самцами карпа и производителями сома обыкновенного более активен лейкопоз. Потенциальная фагоцитарная активность нейтрофилов карпа выше, чем сома. Активность ферментов трансаминирования у сомов выше, чем у карпов. Установлено более низкое значение КК у самцов сома по сравнению с самками.

3.5. Система физиолого-иммунологической оценки гидробионтов

В результате проведенных исследований выделены следующие оценочные показатели для рыб:

1. Гематологические.
 - 1.1. Показатели гемопоэза
 - 1.2. Лейкоцитарная формула
2. Биохимические показатели
 - 1.1. АЛТ
 - 1.2. АСТ
 - 1.3. Общий белок
 - 1.4. Альбуминовая фракция
 - 1.5. Глюкоза
 - 1.6. ЩФ
 - 1.7. Креатинин
 - 1.8. КК
 - 1.9. Холестерин
3. Цитохимические показатели.

СЦК лизосомального катионного белка в нейтрофилах крови рыб можно использовать в качестве оценочного показателя клеточного иммунитета и маркера при селекционном отборе.

Учитывая быструю агглютинацию, сложность хранения и транспортировки гемолимфы речных раков, биохимические исследования для отбора производителей в племенное ядро можно опустить и при лабораторных

исследованиях ограничиться гемоцитарной формулой и СЦК лизосомального катионного белка в гемоцитах.

ВЫВОДЫ

1. Карпы зеркальной и чешуйчатой групп отличаются по морфометрическим, гематологическим, цитохимическим показателям, что обусловлено их генетической и физиологической разнокачественностью. Фагоцитарная активность (по СЦК) у зеркальных карпов превосходит таковую чешуйчатых карпов на 7-25% в зависимости от фазы онтогенеза, сезона года, условий среды.
2. Кроссы карпа разного происхождения обладают свойствами, отличающими их от исходных форм и связаны с явлением гетерозиса. Кроссы имеют более высокий темп роста, что является результатом комплекса факторов, позволяющих сохранять константность гомеостаза при меняющихся условиях среды.
3. Комплексный метод оценки гомеостаза рыб, включающий гематологические, цитохимические и биохимические константы, выявил, что карпы, прошедшие селекцию по активности АЛТ, обладают повышенной резистентностью. Коэффициент динамики активации их нейтрофилов в 2-2,5 раза выше контроля.
4. Содержание катионного белка в лизосомах нейтрофилов периферической крови ангелинского краснухуостойчивого кросса (прежде всего, чешуйчатой линии) ниже, чем у других групп в среднем на 10-20%. Усиление специфической резистентности повлекло за собой снижение потенциального резерва неспецифического клеточного иммунитета.
5. Выявлена сезонная динамика гематологических, биохимических, иммунологических показателей карпа, связанная с подготовкой и выходом из зимовки. Гемопоз в кроветворных органах протекает интенсивнее, чем в периферической крови у всех исследованных групп рыб (в 1,5-2,5 раза).
6. При ухудшении качества среды в пределах допустимых значений у гидробионтов всех исследуемых видов значительных изменений среднего цитохимического коэффициента содержания лизосомального катионного белка не отмечено. Вероятно, данный показатель является наследуемым признаком.
7. Реакция карпов на условия голодания выражается в потере живой массы, снижении индекса печени, интенсивности эритропоза, ускорении созревания гонад и увеличении относительного количества нейтрофилов.
8. - Реакция карпов разного генотипа на голодание не одинакова. Индекс кишечника, гонад и цитохимический коэффициент лизосомального катионного белка у зеркальных карпов при голодании выше, чем у чешуйчатых. Литогенность желчи чешуйчатых карпов значительно выше, чем зеркальных. У

двухлетков чешуйчатых карпов в 15% случаев при голодании развивается желчнокаменная болезнь. У 10% рыб из обеих групп наблюдалось явление перехода на хищничество.

9. Сом обыкновенный обладает высоким физиологическим резервом, позволяющим ему адаптироваться к воздействию неблагоприятных факторов среды, демонстрируя при этом различия гематологических и цитохимических показателей в разных зонах рыбоводства, а также в зависимости от возраста.

10. Показатели крови сома обыкновенного и карпа имеют ряд отличий. В крови сома выше уровень общего белка, альбуминов, мочевой кислоты, выше активность АЛТ и АСТ. Фагоцитарная активность нейтрофилов (по СЦК) у производителей сома обыкновенного на 18-37% ниже, чем у производителей карпа.

11. Широкопалый и длиннопалый раки отличаются рядом констант гомеостаза. Так, у длиннопалых раков рН и активность ЩФ гемолимфы выше, а содержание глюкозы ниже, чем у широкопалых раков.

12. При плотной посадке речных раков *Astacus astacus* (26 экз/м²) достоверно уменьшается содержание полугранулоцитов в гемолимфе на 48%. Гемоциты данного типа являются основными фагоцитами раков.

13. При наличии в воде токсических веществ (например, нитритов) свыше допустимых значений (NO₂ 4 мг/л) более чем в 6 раз снижается функциональный резерв гемоцитов по НСТ-тесту. При вторжении патогенных грибов *Saprolegnia parasitica* в организм речного рака *Astacus astacus* и развитии РПЗ происходит достоверное увеличение СЦК на 46% по сравнению с находящимися в тесном контакте с ними и не заболевшими раками. У раков, устойчивых к РПЗ, показатель СЦК меньше единицы.

14. Образование активных форм кислорода при спонтанном и индуцированном НСТ-тесте у речных раков значительно выше, чем у рыб (в среднем в 5-10 раз). Вероятно, фагоцитоз, как филогенетически более древний фактор иммунитета более активен у беспозвоночных.

15. Разработанный метод физиолого-иммунологической оценки гидробионтов является низкозатратным и неинвазивным. Метод позволяет контролировать процесс выращивания и селекции гидробионтов при сохранении поголовья и экономии времени.

Практические рекомендации

1. В рыбоводных хозяйствах второй рыбоводной зоны с целью улучшения иммунных качеств карпа в селекции рекомендуется использовать ангелинские краснухустойчивые кроссы.
2. При выращивании сома обыкновенного в рыбоводных хозяйствах использовать иммунологические методы контроля их состояния согласно методике «Методы оценки селекционных групп сома обыкновенного с использованием физиолого-биохимических и иммунологических показателей».
3. При культивировании речных раков контролировать их физиологическое состояние и иммунный статус по комплексу разработанных иммунофизиологических показателей.
4. Отбор производителей гидробионтов в племенное ядро рекомендуется проводить по ряду традиционных физиологических показателей и СЦК лизосомального катионного белка (оптимум 1,5-2,0).

Список научных работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Пронина Г.И. Естественная резистентность кроликов при включении в их рацион кормов, выращенных при орошении сточными водами Астраханского целлюлозно-картонного комбината // Сб. науч. Тр. ВНИИГим: Технология и эффективность применения сточных вод и животноводческих стоков в с/х. - М.: 1988. - С. 155-168.
2. Пронина Г.И. Тарарин Ю. И. Косарева Т.Л. Сложеникина В.И. Влияние внесения в почву микроэлементов на качество кормовой продукции при орошении животноводческими стоками // Сб. науч. Тр. ВНИИССВ «Сельскохозяйственное использование животноводческих стоков – эффективный способ охраны водных источников от загрязнения». - Москва, 1991. - С. 48-53.
3. Субботина Ю.М., Пронина Г.И., Корягина Н.Ю. Смирнова И.Р. Сельскохозяйственные водоемы как резерв производства товарной рыбы // Mat.IV-й Международной науч.-практической конференции: «Актуальные проблемы ветеринарной медицины и вет-сан контроль с.-х. продукции» // М.: МГУПБ.- 2002. - С. 108-110.
4. Субботина Ю.М., Пронина Г.И., Корягина Н.Ю. Экологическое загрязнение ВКН // Сборник научных трудов. - Уфа, 2002. – С.37-41.
5. Александрова Е.Н., Пронина Г.И., Корягина Н.Ю. Микологическое исследование поражений внешних покровов речных раков // Материалы международной научно-практической конференции 23-27 августа 2004 г., Минск.-2004. - С. 266-269.
6. Александрова Е.Н., Пронина Г.И., Корягина Н.Ю. О числе гемцитов и некоторых других свойствах гемолимфы речных раков // Аквакультура и интегрированные технологии: проблемы и возможности. - М.: РАСХН, 2005. - Т.1. - С. 362-372.
7. Александрова Е.Н., Белякова В.И., Борисов Р.Р., Комарова Е.А., Корягина Н.Ю., Пронина Г.И., Суханов В.В. Технология культивирования речных раков в неспускных водоемах по пастбищному типу // М.: ГНУ ВНИИР, 2005.-23с.
8. Александрова Е.Н., Белякова В.И., Борисов Р.Р., Комарова Е.А., Корягина Н.Ю., Пронина Г.И. Культивирование речных раков в неспускных водоемах по пастбищному типу // Аквакультура и интегрированные технологии: проблемы и возможности.- М.: РАСХН, 2005, -Т.3 -С. 86-96.
9. Пронина Г.И. Некоторые генетические и эволюционные аспекты иммунологии // Расширенные материалы Международной научно-практической конференции: Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб и др. гидробионтов. - Борок, 2007. - С. 73-76.

10. Пронина Г.И., Корягина Н.Ю. Повышение иммунофизиологического статуса ракообразных – основа эффективности раководства // Международная научно-практическая конференция: Рациональное использование пресноводных экосистем – перспективное направление реализации национального проекта «Развитие АПК». - М.: 2007. - С. 418-421.
11. Пронина Г.И., Корягина Н.Ю. Некоторые видовые особенности состава форменных элементов крови гидробионтов // Стратегия развития аквакультуры в современных условиях // Вопросы рыбного хозяйства Беларуси: сборник научных трудов / РУП "Институт рыбного хозяйства", РУП "НПЦ Национальной академии наук Беларуси по животноводству", БГУ. - Минск, 2008. - Вып. 24. - С. 465-470.
12. Александрова Е.Н., Пронина Г.И., Корягина Н.Ю. О типах гемоцитов автохтонных речных раков (Decapoda, Astacinae) // Стратегия развития аквакультуры в современных условиях // Вопросы рыбного хозяйства Беларуси: сборник научных трудов, РУП "Институт рыбного хозяйства", РУП "НПЦ Национальной академии наук Беларуси по животноводству", БГУ. - Минск, 2008. - Вып. 24.-С. 237-240.
13. Пронина Г.И., Корягина Н.Ю., Ревякин А.О. Биохимические показатели гемолимфы речных раков как отражение их обмена веществ // Физиология адаптации: Мат. 1-й Всероссийской науч.-практической конференции, Волгоград, 2008 г. - С. 97-99.
14. Пронина Г.И., Корягина Н.Ю. Некоторые видовые особенности физиологической и иммунной системы речных раков // Физиология адаптации: Материалы 1-й Всероссийской научно-практической конференции, Волгоград, 2008.-С. 99-103.
15. 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.
16. Пронина Г.И., Корягина Н.Ю. Влияние жесткости среды на состояние клеточного иммунитета речных раков // Бюллетень московского общества испытателей природы. Отдел биологический, Т. 114, Вып. 3, Приложение 1, ч. 2. – М., 2009. - С. 283-284.
17. Пронина Г.И., Корягина Н.Ю., Ревякин А.О. Сравнительная оценка речных раков разных видов по биохимическим и гематологическим показателям // Известия ОГАУ, Оренбург, 2009, №4 (24). – С. 186-189.
18. Пронина Г.И., Петрушин А.Б. Биологические подходы к селекции сома обыкновенного // Материалы Международной научно-практической конференции «Современные достижения биотехнологии воспроизводства – основа повышения продуктивности сельскохозяйственных животных», Ставрополь, 2009. – Т.2. – С. 72-75.
19. Пронина Г.И., Корягина Н.Ю., Смолин В.В. Опыт выращивания речных раков в Вологодской области (ошибка редакции, следует вместо «Вологодской» читать «Волгоградской») // Зоотехния, 2010, №6. – С. 25-27.
20. Пронина Г.И., Петрушин А.Б. Адаптация двухлетков карпа к неполному голоданию // Материалы 2-й Всероссийской научно-практической конференции «Физиология адаптации», Волгоград: Волгоградское научное издательство, 2010. – С. 134-138.
21. Пронина Г.И., Корягина Н.Ю., Меньшиков И.Ю. О некоторых адаптационных особенностях речных раков // Материалы 2-й Всероссийской научно-практической конференции «Физиология адаптации», Волгоград: Волгоградское научное издательство, 2010. – С. 138-141.
22. Маслова Н.И., Пронина Г.И., Петрушин А.Б. Случай желчнокаменной болезни у двухлетков карпа чешуйчатой линии // Вестник РАСХН, 2010, № 4. – С. 68-70.
23. Маслова Н.И. Петрушин А.Б., Пронина Г.И. Перспективы использования цитогенетики в селекции рыб на примере сома обыкновенного (*Silurus glanis* L.) // Теоретические и прикладные проблемы АПК. М.: 2010, №2. – С. 37-41.
24. Корягина Н.Ю., Пронина Г.И., Ревякин А.О. Сравнительная характеристика альтернативных биомоделей по гематологическим и биохимическим показателям // Биомедицина, 2010, №2. – С. 68-70.

25. Пронина Г.И. Сравнительная оценка двухлетков карпа (*Cyprinus Carpio L.*) разного происхождения по морфологическим, гематологическим и иммунологическим показателям // Известия ОГАУ, Оренбург, 2010, №3 (27). – С. 247-251.
26. Пронина Г.И., Корягина Н.Ю. Влияние неблагоприятных факторов водной среды на состояние клеточного иммунитета речных раков по фагоцитарной активности их гемоцитов // Известия ОГАУ, Оренбург, 2010, №3 (27). – С. 251-253.
27. Маслова Н.И., Пронина Г.И., Ревякин А.О Роль биохимических исследований в селекции рыб // Известия ОГАУ, Оренбург, 2010, №4 (28). – С. 221-224.
28. Пронина Г.И., Маслова Н.И., Петрушин А.Б. Методы оценки селекционных групп обыкновенного сома с использованием физиолого-биохимических и иммунологических показателей: Методические указания, М.: 2010. – 31с.
29. Пронина Г.И. Антибактериальные свойства циркулирующей жидкости гидробионтов (кровь, гемолимфа) // Материалы Международной научно-практической конференции «Водные биоресурсы и аквакультура», Киев, 2010. – С.328-330.
30. Пронина Г.И. Фагоцитарная активность нейтрофилов крови карпов разных селекционных групп // Материалы Международной научно-практической конференции «Водные биоресурсы и аквакультура», Киев, 2010. – С.331-332.
31. Маслова Н.И., Петрушин А.Б., Пронина Г.И., Ревякин А.О. Биологическая оценка двухлетков карпа разного происхождения // Сборник научных трудов ГНУ ВНИИ ирригационного рыбоводства: Научные основы сельскохозяйственного рыбоводства. – М.: МСХА, 2010. – С. 258-275.
32. Маслова Н.И., Пронина Г.И. Роль физиологических исследований в селекции рыб // Сборник научных трудов ГНУ ВНИИ ирригационного рыбоводства: Научные основы сельскохозяйственного рыбоводства. – М.: МСХА, 2010. – С. 276-292.
33. Пронина Г.И., Петрушин А.Б. Физиологическая оценка сома обыкновенного (*Silurus glanis L.*) как составная часть селекционного процесса // Сб. научных трудов ГНУ ВНИИР: Научные основы сельскохозяйственного рыбоводства. – М.: МСХА, 2010. – С. 351-362.
34. Пронина Г.И., Корягина Н.Ю. Иммунологические подходы к определению иммунофизиологического статуса гидробионтов как основа их эффективного разведения и выращивания // Сборник научных трудов ГНУ ВНИИ ирригационного рыбоводства: Научные основы сельскохозяйственного рыбоводства. – М.: МСХА, 2010. – С. 363-382.
35. Пронина Г.И. Иммунофизиологическая оценка селекционных групп карпа в прудовых хозяйствах // Расширенные материалы III Международной конференции «Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб», Борок, – М.: МСХА, 2011. – С. 146-149.
36. Пронина Г.И., Корягина Н.Ю. Влияние транспортного стресса на гематологические показатели речных раков // Зоотехния, 2011, №4. – С. 27-30.
37. Маслова Н.И., Петрушин А.Б., Пронина Г.И. Изучение адаптационных систем сома обыкновенного // Вестник РАСХН, 2011, № 3. – С. 51-53.
38. Иванов А.А., Корягина Н.Ю., Пронина Г.И., Ревякин А.О. Физиолого-биохимические адаптации речных раков (*Astacus astacus*) при изменении минерализации водной среды // Известия ТСХА, 2011, Вып.3. – С. 120-128.
39. Пронина Г.И., Петрушин А.Б. Морфометрическая и физиолого-биохимическая оценка молоди обыкновенного сома, выращенного в прудовых условиях // Зоотехния, 2011, №7. – С. 25-26.
40. Пронина Г.И., Корягина Н.Ю. Влияние повышенного содержания азотсодержащих соединений в водной среде на физиологическое состояние речных раков // Бюллетень Московского общества испытателей природы (МОИП) отдел биологический, 2011, Т. 116. №3. – С. 32-37.
41. Пронина Г.И. Оценка фагоцитарной активности клеток циркулирующей жидкости гидробионтов цитохимическим методом // IV Всероссийская научно-практическая конференция «Цитоморфометрия в медицине и биологии: фундаментальные и прикладные аспекты». М.: 2011. – С. 75-77.

42. Пронина Г.И., Петрушин А.Б. Разведение и физиолого-иммунологический мониторинг сома обыкновенного в управляемых прудовых хозяйствах // *Материалы 4-й Международной научно-практической конференции «Сохранение разнообразия животных и охотничье хозяйство России»*. М.: 2011. – С. 79-81.
43. Иванов А.А., Пронина Г.И., Петрушин А.Б. Физиолого-биохимическая оценка неспецифической резистентности рыбы как селекционный критерий при работе с карпом // *Известия ТСХА*, 2011, Вып.5. – С. 93-100.
44. Маслова Н.И., Пронина Г.И. Гематологическая оценка пород карпа // *Доклады научно-практической конференции: «Развитие аквакультуры в регионах: проблемы и возможности»*. М.: МСХА, 2011. – С. 125-132.
45. Пронина Г.И., Микряков Д.В., Силкина Н.И. Сравнительная оценка показателей неспецифического гуморального иммунитета разных селекционных групп карпа // *Доклады научно-практической конференции: «Развитие аквакультуры в регионах: проблемы и возможности»*, М.: ГНУ ВНИИР, 2011. – С. 153-156.
46. Пронина Г.И. Сравнительная физиологическая оценка кроссов карпа разного происхождения // «Аквакультура центральной и восточной Европы: настоящее и будущее» // II съезд НАСЭЕ (Сети Центров по аквакультуре в Центральной и Восточной Европе) и семинар о роли аквакультуры в развитии села Кишинев: Pontos, 2011. - С. 211-218.
47. Пронина Г.И., Маслова Н.И., Петрушин А.Б. Физиолого-биохимические индикаторы в селекции карпа // *Вестник РАСХН*, 2011, №6. – С. 67-69.
48. Пронина Г.И., Петрушин А.Б. Характеристика защитной и дыхательной функции крови сома обыкновенного при его выращивании в прудовых условиях // *Известия Оренбургского ГАУ*, 2011. – С. 293-296.
49. Пронина Г.И., Корягина Н.Ю. Влияние биотических и абиотических факторов на фагоцитарную активность речных раков // *Зоотехния*, 2011, №12. – С. 26-27.
50. Пронина Г.И., Петрушин А.Б. Сравнительная оценка иммунофизиологического статуса мирных и хищных рыб на примере карпа и сома обыкновенного // *Теоретические и прикладные проблемы агропромышленного комплекса*. - М.: 2011. - №4. – С. 10-15.
51. Маслова Н.И., Петрушин А.Б., Пронина Г.И., Ревякин А.О. Биохимическая оценка карпов (*Cyprinus carpio* L.) разного генотипа при недостаточном питании // *Биомедицина*, ноябрь, 2011. М.: – С. 37-39.

Примечание: жирным шрифтом выделены работы, опубликованные в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

АЛТ - аланинаминотрансфераза	НСТ-тест – тест с нитросиним тетразолием
АСТ - аспаратаминотрансфераза	ОЧГ – общее число гемцитов
ГГТ – гаммаглутамилтрансфераза	РПЗ – ржавопятнистое заболевание
ДАН – динамика активации нейтрофилов	СЦК – средний цитохимический коэффициент
ДАГ – динамика активации гемцитов	ФРН – функциональный резерв нейтрофилов
ИАН – индекс активации нейтрофилов	ФРГ – функциональный резерв гемцитов
ИАГ – индекс активации гемцитов	ЩФ – щелочная фосфатаза
КК – креатинкиназа	

Благодарности

Автор выражает благодарность сотрудникам ГНУ ВНИИР: директору, д.с.-х.н. Г.Е. Серветнику за предоставленную базу для экспериментов; зам. директора по науке, к.б.н. Н.П. Новоженину, зав. лабораторией, д.б.н. Н.И. Масловой, зав. лабораторией, к.б.н. Е.Н. Александровой за содействие в научной работе; зам. зав. лаб., к.с.-х.н. А.Б. Петрушину, с.н.с., к.б.н. Н.Ю. Корягиной за помощь в проведении экспериментов; зав. лабораторией фармакомоделирования НЦ БМТ РАМН, к.б.н. А.О. Ревякину за помощь в проведении биохимических анализов; д.б.н., профессору РГАУ-МСХА имени Тимирязева А.А. Иванову за научное консультирование и методическую помощь.

Отпечатано с готового оригинал-макета

Формат 60x84¹/₁₆. Усл. печ. л 2,33. Тираж 100 экз. Заказ 95.

Издательство РГАУ – МСХА
127550, Москва, ул. Тимирязевская, 44