

УДК [597.553.2:612.017](26)

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГОРБУШИ *ONCORHYNCHUS GORBUSCHA* И КЕТЫ *O. KETA* (SALMONIDAE) В МОРСКОЙ ПЕРИОД ЖИЗНИ

© 2023 г. И. И. Гордеев^{1,2}, Д. В. Микряков³, *, Т. А. Суворова³, С. В. Кузьмичева³, А. В. Герман³

¹Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва 105187, Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва 119234, Россия

³Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, пос. Борок, Ярославской области 152742, Россия

*e-mail: daniil@ibiw.ru

Поступила в редакцию 15.03.2022 г.

После доработки 02.08.2022 г.

Принята к публикации 06.10.2022 г.

Проведено сравнительное исследование некоторых параметров неспецифического иммунитета у половозрелых особей горбуши и кеты, отловленных в июне–июле 2018 г. эпипелагическим тралом в открытых водах северо-западной части Тихого океана. Изучен уровень антимикробных свойств сыворотки крови и неспецифических иммунных комплексов в тканях почки, селезенки и печени, определена доля иммунодефицитных особей. Исследование показало значимые различия антимикробных свойств сыворотки крови у кеты и горбуши, а также различные доли иммунодефицитных особей. Выявленные различия, вероятно, обусловлены видовыми особенностями, а также преднерестовым периодом годового цикла у горбуши.

Ключевые слова: Тихий океан, горбуша *Oncorhynchus gorbuscha*, кета *Oncorhynchus keta*, гуморальный иммунитет, антимикробные свойства сыворотки крови, неспецифические иммунные комплексы

DOI: 10.31857/S0134347523010035, **EDN:** LRVVGL

Горбуша *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum, 1792) и кета *Oncorhynchus keta* Walbaum, 1792 – наиболее распространенные представители семейства Salmonidae (Salmoniformes) и одни из основных объектов промысла на Дальнем Востоке России, а также у западного побережья Канады и США. У этих рыб сложный жизненный цикл, сопряженный со сменой среды обитания. В морской период жизни лосося, нерестящиеся в реках российского побережья, нагуливаются в океанических водах северо-западной части Тихого океана, в основном в Беринговом море и прилегающих акваториях (Гриценко, 2002). При этом кета и горбуша значительно различаются по продолжительности жизненного цикла и времени, проведенном в океане: кета проводит в море от двух до пяти лет, а горбуша относится к короткоцикловым видам и совершает преднерестовую миграцию к устьям рек на следующий год после ската молоди (Атлас пресноводных рыб, 2002; Промысловые рыбы России, 2006).

Во время речного периода жизни и в искусственных условиях обитания у лососевых видов рыб были ранее определены различные морфофизиологические показатели (Сергеенко, 2007; Изергина и др., 2014; Ronald et al., 2019). Некото-

рые морфометрические, гематологические и биохимические исследования проведены на лососях, выращенных в сетчатых загонах в морских условиях (Sandnes et al., 1988; Dessen et al., 2020). С конца прошлого века изучение иммунологических показателей рыб – актуальное направление исследований в аквакультуре, пастбищном рыбоводстве и при оценке естественной среды обитания. С помощью данных показателей можно оценить состояние здоровья рыб и их способность к адаптации к различным условиям обитания. В работах, посвященных иммунологии лососевых, показаны возрастные, межпородные и сезонные отличия уровня бактерицидной активности, лизоцима, комплемента, бета-лизинов, неспецифических иммунных комплексов в сыворотке крови и иммунокомпетентных тканях, а также изменение активности гуморальных факторов иммунитета в зависимости от трофического статуса водоема и условий обитания (Ивановский, 1995; Киташева, 2002; Кондратьева и др., 2002; Силкина и др., 2014; Силкина, Суворова, 2014а, 2014б). Однако в доступной литературе отсутствуют аналогичные данные о состоянии иммунной системы лососевых во время морского периода жизни. В настоящее время такая информация приобретает боль-

шое значение для определения источника заражения рыб возбудителями разных болезней. В частности, в последнее время проводятся комплексные исследования для определения возможных причин распространения язвенного некроза кожи лососевых (другие названия — ulcerативный дермальный некроз, УДН, Ulcerativedermalnecrosis, UDN) в популяциях атлантического лосося, заходящего на нерест в водоемы на Севере Российской Федерации. По уровню неспецифического иммунитета и количеству иммунодефицитных особей в популяции также можно косвенно судить о выживаемости лососевых рыб в данный период жизни.

В настоящей статье приведены результаты сравнительного исследования некоторых иммунологических показателей горбуши и кеты в морской период их жизни.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Половозрелые особи горбуши и кеты были отловлены 06.06–01.07.2018 г. эпипелагическим тралом в открытых водах северо-западной части Тихого океана (к востоку от Курильской гряды) с борта научно-исследовательского судна “Профессор Кагановский” в ходе траловой съемки тихоокеанских лососей в морской период жизни (Гордеев и др., 2018). Всего из улова было исследовано по 12 экз. кеты и горбуши средней массой 844.91 ± 27.60 и 1592.00 ± 105.50 г и длиной (TL) 441.25 ± 5.44 и 547.66 ± 9.46 мм соответственно. У рыб для исследования отбирали периферическую кровь из хвостовой вены, а также кусочки почки, селезенки и печени, которые после вскрытия рыб помещали в сухие стерильные пробирки. Кровь центрифугировали для получения сыворотки (Сборник инструкций..., 1999). Пробы сыворотки крови и органов замораживали в морозильной камере при температуре -18 – -20°C и транспортировали в специальных термоконтейнерах. В лабораторных условиях непосредственно перед анализом пробы размораживали при комнатной температуре. Для дальнейших исследований из почки, селезенки и печени готовили гомогенат с физиологическим раствором в соотношении 1 : 6.

В сыворотке крови изучали бактериостатическую активность (БАСК), в гомогенатах тканей почки, селезенки и печени — содержание неспецифических иммунных комплексов (ИК).

БАСК оценивали нефелометрическим методом в модификации Микрякова (1991). Данный показатель определяли по влиянию разведенной в 5 раз рыбо-пептонным бульоном сыворотки крови на рост и развитие 50 млн тест-микробов вида *Aeromonas hydrophila*. Выбор *A. hydrophila* обусловлен тем, что этот вид относится к условно-

патогенным и широко распространенным в природе микроорганизмам, а также является одним из этиологических факторов краснухи — аэромонадной инфекции пресноводных и морских костистых рыб (Schäperclaus, 1979). Тест-культура была получена из лаборатории ихтиопатологии Филиала по пресноводному рыбному хозяйству Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии (ВНИИПРХ). Скорость роста бактерий в рыбопептонном бульоне в присутствии сыворотки (опыт) и без нее (контроль) определяли после 5–6-часовой инкубации при температуре 26°C . Скорость роста тест-микробов оценивали по изменению оптической плотности бульона до и после инкубации бактерий в опыте по сравнению с таковой в контроле. При нулевом уровне БАСК особи считали иммунодефицитными (ИМД).

Содержание ИК определяли спектрофотометрически при длине волны 450 нм методом селективной преципитации с 4% полиэтиленгликолем молекулярной массой 6000 (Гриневиц, Алферов, 1981).

Статистическая обработка результатов исследования выполнена с помощью пакета программ Statistica v. 6.0 с использованием *t*-теста Стьюдента. Различия считали значимыми при $p \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные данные показали, что наибольшие межвидовые различия наблюдались по уровню БАСК (см. табл. 1). У горбуши этот показатель составлял 6.66 ± 5.12 , а у кеты он был достоверно выше — 30.00 ± 10.00 . Доля ИМД особей у горбуши достигала 80%, а у кеты — 50%. У самок горбуши по сравнению с самцами выявлены более высокий уровень БАСК и меньшее содержание ИМД особей, а у кеты — наоборот. Наибольшие различия наблюдались между самцами кеты и горбуши.

Значимых межвидовых и межполовых различий по содержанию ИК в исследуемых тканях печени, почки и селезенки не выявлено. Более высокий уровень этого параметра отмечен в тканях печени горбуши (5.60 ± 0.68) и кеты (4.80 ± 0.83), а далее в порядке убывания в почке — 3.83 ± 0.58 и 3.91 ± 0.82 и селезенке — 2.67 ± 0.43 и 3.11 ± 0.88 соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ

БАСК — интегральный показатель функционального состояния гуморального иммунитета. Он объединяет большинство врожденных факторов иммунной системы сыворотки крови: систему комплемента, лизоцим, пропердин, иммуноглобулины, противомикробные пептиды, лектины, преципитины, В-лизин и др. (Микряков, 1991;

Таблица 1. Иммунологические показатели

Показатель	Горбуша			Кета		
	самки	самцы	среднее	самки	самцы	среднее
БАСК, %	10 ± 7.56	0	6.66 ± 5.12	20 ± 11.34	50 ± 17.32*	30.00 ± 10.00*
ИМД особи, %	75	100	80	62.5	25	50
ИК, у. е.						
Печень	5.61 ± 0.84	5.60 ± 1.34	5.60 ± 0.68	5.84 ± 1.10	2.97 ± 0.68	4.80 ± 0.83
Почка	3.56 ± 0.61	4.37 ± 1.34	3.83 ± 0.58	3.18 ± 0.70	6.45 ± 2.35	3.91 ± 0.82
Селезенка	2.61 ± 0.44	2.90 ± 1.60	2.67 ± 0.43	3.64 ± 1.18	1.80 ± 0.20	3.11 ± 0.88

*Значимое различие между особями горбуши и кеты при $p \leq 0.05$.

Ройт и др., 2000; Койко и др., 2008; Van Muiswinkel, Vervoorn-Van der Wal, 2006; Van der Marel, 2012, и др.). Более высокий уровень БАСК у кеты, скорее всего, обусловлен видовыми различиями активности иммунной системы. Полученные данные, относящиеся к обоим видам, отличаются от аналогичных показателей, полученных для черноморской кумжи и радужной форели из рыбодомовых хозяйств Краснодарского края (Силкина, Суворова, 2014а, 2014б; Силкина и др., 2014). Возможно, это связано в том числе с тем, что в организме горбуши происходили изменения, обусловленные предстоящим нерестом. Известно, что у рыб в преднерестовый, нерестовый и посленерестовый периоды понижается иммунореактивность, а также устойчивость к возбудителям заболеваний. В это время у разных по экологии видов рыб – налима *Lota lota*, синца *Abramis ballerus*, плотвы *Rutilus rutilus*, леща *Abramis brama*, речного окуна *Perca fluviatilis*, карпа *Cyprinus carpio* и синца *Abramis ballerus* – наблюдалось изменение уровня БАСК и снижение устойчивости к бактериальной инфекции (Микряков, Силкин, 1978; Микряков, 1984; Лысанов, Микряков, 1990; Микряков и др., 2021; Schäperclaus, 1979). Выявленные межполовые различия, возможно, связаны с различным уровнем половых гормонов, которые оказывают влияние на активность гуморального звена иммунитета рыб (Slater, Schreck, 1993; Wang, Belosevic, 1994, 1995; Slater et al., 1995; Wendelaar Bonga, 1997).

Различия в уровне БАСК у обоих видов рыб не повлияли на количественное содержание ИК в исследованных тканях печени, почки и селезенки. ИК состоят из антигена, антител и связанных с ними компонентов системы комплемента. Они играют важную роль в процессах регуляции иммунных реакций, элиминации антигенов из организма и поддержания иммунофизиологического гомеостаза. На макрофагах, нейтрофилах и эритроцитах экспрессирован рецептор CR1, который через компоненты комплемента C4b и C3b связывает растворимые ИК и доставляет их к макрофагам селезенки и печени. Это обеспечивает кли-

ренс крови, однако при нарушении данного механизма происходит избыточное образование ИК. В результате комплексы выпадают в осадок, прежде всего в почках, что может приводить к развитию патологии и супрессии клиринговой функции клеток фагоцитарной системы (Ройт и др., 2000; Койко и др., 2008). Содержание ИК у горбуши и кеты было значительно ниже по сравнению с таковым в печени молоди черноморской кумжи из р. Шахе и рыбодомового пункта “Джегош” Краснодарского края (Силкина, Суворова, 2014а). У речной молоди уровень ИК составлял 54.45 ± 2.11 , а у заводской – 60.66 ± 2.43 . Вероятно, это связано с разной активностью механизмов иммунной защиты рыб.

Анализ полученных результатов показал значительные различия уровня БАСК и ИМД и незначительные различия содержания ИК в тканях и органах горбуши и кеты. Выявленные различия, вероятно, обусловлены видовыми особенностями и разными периодами годового цикла у исследованных видов рыб.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания № 121050500046-8.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность научной группе НИС “Профессор Кагановский” за помощь в сборе материала.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Атлас пресноводных рыб России / Под ред. Ю.С. Решетникова. М.: Наука. 2002. Т. 1. 379 с.
- Гордеев И.И., Старовойтов А.Н., Пономарев С.С. и др. Траловая учетная съемка тихоокеанских лососей на НИС “Профессор Кагановский” в северо-западной части Тихого океана (май–июль 2018 г.) // Тр. ВНИРО. 2018. № 171. С. 198–203.
- Гриневич Ю.А., Алферов А.Н. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных // Лаб. дело. 1981. № 8. С. 493–496.
- Гриценко О.Ф. Атлас распределения в море различных стад тихоокеанских лососей в период весенне-летнего нагула и преднерестовых миграций. М.: Изд-во ВНИРО. 2002. 190 с.
- Ивановский В.С. Характеристика иммунобиохимических показателей радужной форели: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Санкт-Петербург. 1995. 20 с.
- Изергина Е.Е., Изергин И.Л., Изергин Л.И. Атлас клеток крови лососевых рыб материкового побережья северной части Охотского моря. Магадан: Кордис. 2014. 127 с.
- Киташова А.А. Реакции врожденного и приобретенного иммунитета у рыб в естественных и экспериментальных условиях: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Москва. 2002. 23 с.
- Койко Р., Саншайн Д., Бенджамини Э. Иммунология. М.: Академия. 2008. 368 с.
- Кондратьева И.А., Киташова А.А., Наумова Л.Ю. Действие лекарственных препаратов на молодь радужной форели // Вопр. рыболовства. 2002. Т. 3. № 1 (9). С. 125–136.
- Лысанов А.В., Микряков В.Р. Особенности сезонной динамики общего белка и бактериоагглютининов у карпа (*Cyprinus carpio* L.) в условиях тепловодного хозяйства // Биология внутренних вод: Информ. бюл. 1990. № 86. С. 49–51.
- Микряков В.Р. Закономерности функционирования иммунной системы пресноводных рыб: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М.: ИЭМЭЖ АН СССР. 1984. 37 с.
- Микряков В.Р. Закономерности формирования приобретенного иммунитета у рыб. Рыбинск: Изд-во ИБВВ РАН. 1991. 153 с.
- Микряков В.Р., Силкин Н.Ф. Сезонная динамика антимикробных свойств сыворотки крови у различных по экологии видов рыб // Биология внутренних вод: Информ. бюл. 1978. № 39. С. 63–68.
- Микряков Д.В., Пронина Г.И., Суворова Т.А. и др. Некоторые показатели неспецифического иммунитета различных селекционных групп карпа в разные периоды годового цикла // Изв. РАН. Сер. биол. 2021. № 5. С. 556–560.
- Промысловые рыбы России. В 2 т. / Под ред. О.Ф. Гриценко, А.Н. Котляра, Б.Н. Котенева. М.: ВНИРО. 2006. Т. 1. 656 с.
- Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. М.: Мир. 2000. 592 с.
- Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб. 1999. М.: Отдел маркетинга АМБ-агро. Ч. 2. 234 с.
- Сергеевко Т.М. Морфофизиологическая характеристика молоди кеты (*Oncorhynchus keta* Walbaum) при ее воспроизводстве на лососевых рыбоводных заводах Сахалина: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Южно-Сахалинск. 2007. 25 с.
- Силкина Н.И., Микряков Д.В., Суворова Т.А. Морфофизиологические и иммунологические показатели радужной форели *Parasalmo* (*Oncorhynchus*) *mykiss* разных селекционных групп // Пробл. биол. продуктивных животных. 2014. № 2. С. 65–69.
- Силкина Н.И., Суворова Т.А. Сравнительные характеристики некоторых иммунобиохимических показателей молоди черноморской кумжи *Salmo trutta labrax* из естественных и заводских условий // Вопр. рыболовства. 2014а. Т. 15. № 3. С. 329–332.
- Силкина Н.И., Суворова Т.А. Сравнительный анализ некоторых показателей иммуно-биохимического статуса радужной форели *Parasalmo mykiss irideus* из рыбоводных хозяйств Кавказского региона // Вопр. рыболовства. 2014б. Т. 15. № 2. С. 344–348.
- Dessen J.-E., Østbye T.K., Ruyter B. et al. Sudden increased mortality in large seemingly healthy farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) was associated with environmental and dietary changes // J. Appl. Aqua. 2020. P. 1–18.
- Ronald L., Alfaro A.C., Merien F. et al. Characterisation of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) blood and validation of flow cytometry cell count and viability assay kit // Fish & Shellfish Immunol. 2019. V. 88. P. 179–188.
- Sandnes K., Lie Ø., Waagbø R. Normal ranges of some blood chemistry parameters in adult farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* // J. fish biol. 1988. V. 32. № 1. P. 129–136.
- Schäperclaus W. Fischkrankheiten. Berlin: Academic-Verlag, 1979. V. 1. 510 p.
- Slater C.H., Schreck C.B. Testosterone alters the immune response of chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha* // Gen. Comp. Endocrinol. 1993. V. 89. № 2. P. 291–298.
- Slater C.H., Fitzpatrick M.S., Schreck C.B. Characterization of an androgen receptor in salmonid lymphocytes: possible link to androgen-induced immunosuppression // Gen. Comp. Endocrinol. 1995. V. 100. № 2. P. 218–225.
- Van der Marel M.C. Carp mucus and its role in mucosal defense // Cand. Sci. Dissertation, The Netherlands: Wageningen University. 2012. 189 p.
- Van Muiswinkel W., Vervoorn-Van Der Wal B. The immune system of fish // Fish Diseases and Disorders. 2006. V. 1. P. 678–701.
- Wang R., Belosevic M. Estradiol increases susceptibility of goldfish to *Trypanosoma danilewskyi* // Dev. Comp. Immunol. 1994. V. 18. № 5. P. 377–387.
- Wang R., Belosevic M. The in vitro effects of estradiol and cortisol on the function of a long-term goldfish macrophage cell line // Dev. Comp. Immunol. 1995. V. 19. № 4. P. 327–336.
- Wendelaar Bonga S.E. The stress response in fish // Physiol. Rev. 1997. V. 77. № 3. P. 591–625.

Immunological Indicators of Pink Salmon *Oncorhynchus* during the Marine Phase of their Life Cycles

I. I. Gordeev^{a, b}, D. V. Mikryakov^c, T. A. Suvorova^c, S. V. Kuzmicheva^c, and A. V. German^c

^a*Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, Moscow 105187, Russia*

^b*Lomonosov Moscow State University, Moscow 119234, Russia*

^c*Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, Borok 152742, Russia*

We have conducted a comparative study of some parameters of nonspecific immunity in sexually mature individuals of pink salmon and chum salmon caught on June 6–July 1, 2018 by an epipelagic trawl in the open waters of the northwestern part of the Pacific Ocean. The levels of the antimicrobial properties of blood serum and nonspecific immune complexes in the tissues of the kidney, spleen and liver and the ratio of immunodeficient individuals were studied. Significant differences in the antimicrobial properties of blood serum among immunodeficient individuals were found. These differences are probably due to species features, as well as the pre-spawning period of the annual cycle in pink salmon.

Keywords: Pacific Ocean, pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha*, chum salmon *Oncorhynchus keta*, humoral immunity, antimicrobial properties of blood serum, nonspecific immune complexes