

ВЛИЯНИЕ ЗАРАЖЕНИЯ И ИНЪЕКЦИЙ СУБСТАНЦИЙ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ НА ЛИЗОЦИМ КАРПОВЫХ РЫБ (*Cyprinidae*) (ОБЗОР)

© 2020 г. М. Ф. Субботкин^а, *, Т. А. Субботкина^а

^аИнститут биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук,
пос. Борок, Некоузский р-н, Ярославская обл., Россия

*e-mail: smif@ibiw.ru

Поступила в редакцию 18.07.2019 г.

После доработки 18.07.2019 г.

Принята к публикации 23.09.2019 г.

Дан обзор литературы за период 2000–2016 гг. по реакциям лизоцима карповых рыб (сем. *Cyprinidae*), полученным в экспериментальных условиях под воздействием субстанций различной природы. Исследованы 10 видов – объектов аквакультуры. Рассмотрено влияние инфекционного и паразитарного заражения, вакцинации и иммунизации, а также иммуностимуляторов, включая эндотоксины, вторичные метаболиты, компоненты растительной природы и гормоны, вводимые путем инъекций. Инфекционное заражение карпа *Cyprinus carpio* L. возбудителем *Aeromonas hydrophila* (Chester) показало разнонаправленные изменения активности лизоцима и их отсутствие. Паразитарное заражение разных видов рыб, как правило, оказывало иммуносупрессивное действие. Вакцинация и иммунизация вызывали подъем активности сывороточного лизоцима, в 7–8 раз превышающий таковую у контрольных рыб. Однако наблюдаемый эффект отличался по времени и зависел от ряда факторов, в том числе структуры активной субстанции и состава инъекций. Большинство иммуностимуляторов в разной степени способствуют повышению активности и содержания лизоцима в сыворотке крови и органах карповых рыб. В зависимости от дозы активной субстанции ответные реакции могут меняться на противоположные. Многообразие используемых единиц активности лизоцима затрудняет систематизацию иммунных ответов даже в рамках одного вида рыб. Диапазон варьирования активности лизоцима в сыворотке *Cyprinus carpio* и *Labeo rohita* (Hamilton) в исследованиях разных авторов очень широкий, что, вероятно, не может соответствовать адекватным физиологическим значениям. Имеются данные, о самой высокой смертности экспериментальных рыб при наиболее высокой активности сывороточного лизоцима.

Ключевые слова: лизоцим, активность, содержание, сыворотка, органы, карповые рыбы *Cyprinidae*, заражение, инъекция

DOI: 10.31857/S0320965220020151

Аквакультура относится к бурно развивающейся индустрии, чья продукция направлена на удовлетворение постоянно растущего спроса населения на животный белок. Интенсификация процесса выращивания рыб в целях увеличения выхода продукции часто вызывает развитие неблагоприятных ситуаций, которые приводят к большим экономическим потерям. Разработка подходов для повышения устойчивости рыб к разного рода заболеваниям и неблагоприятным факторам среды – одно из актуальных направлений современных исследований в области аквакультуры. Среди таких направлений важная роль отводится иммунитету рыб, функции которого заключаются в поддержании гомеостаза и сохранении индивидуальной целостности организма. Параметры иммунитета, как особо чувствительной физиолого-биохимической системы, рассматриваются в качестве перспективных биоин-

дикаторов для оценки состояния рыб и их среды обитания (Betoulle et al., 2002; Bols et al., 2001; Skouras et al., 2003; Thilagam et al., 2009). Лизоцим – фермент группы гликозидаз (НФ 3.2.1.17) – компонент врожденного иммунитета. Он способен разрушать стенки бактерий, проявляя таким образом бактерицидные свойства, которые рассматриваются как основная функция лизоцима. Лизоцим считается одним из наиболее изученных факторов врожденного иммунитета рыб (Tort et al., 2003). Его свойства и функции детально отражены в обзоре Саурабха, Саху (Saurabh, Sahoo, 2008).

Карповым рыбам принадлежит большая доля в мировой аквакультуре. Поэтому закономерно, что именно на этой группе рыб проводят значительную часть исследований влияния неблаго-

приятных воздействий и мероприятий по повышению устойчивости к ним.

Работа посвящена обобщению данных, опубликованных, в основном, в текущем столетии, и оценке ответных реакций лизоцима на действие различных видов заражения и инъекций субстанций различной природы у группы рыб сем. Cyprinidae.

ИНФЕКЦИОННОЕ ЗАРАЖЕНИЕ

Aeromonas hydrophila (Chester) относится к одному из распространенных возбудителей инфекционных заболеваний у рыб в аквакультуре. Экспериментальное воздействие патогена широко изучено на карповых рыбах. Показано, что заражение разных видов карповых — *Cyprinus carpio* L., *Carassius auratus* L., *Labeo rohita* (Hamilton), *Megalobrama amblycephala* Yih — вызывало снижение активности лизоцима сыворотки или плазмы в конце эксперимента до 37% (Das et al., 2009, 2013; Harikrishnan et al., 2010; Liu et al., 2012; Maqsood et al., 2009; Sahu et al., 2007, 2008), а в некоторых случаях в 2 и более раз (Chen et al., 2014; Fatima et al., 2007; Nayak et al., 2004). Предварительное воздействие биологически активными веществами приводило к повышению активности фермента у *Cyprinus carpio*, *Labeo rohita* и *Barbus grypus* Heckel. Однако при последующем заражении рыб *Aeromonas hydrophila* наблюдалось снижение активности, зарегистрированной после первичного воздействия (Abasali, Mohamad, 2010; Das et al., 2013; Das et al., 2015; Mohammadian et al., 2016; Sahu et al., 2007, 2008). В ряде опытов отмечено отсутствие влияния патогена на активность лизоцима в сыворотке у карпа *Cyprinus carpio* (Abasali, Mohamad, 2010; Ardo et al., 2010), тропических видов *Labeo rohita* и *Barbus grypus* (Fawole et al., 2016; Mohammadian et al., 2016) и в плазме белого амура *Stenopharingodon idella* (Valenciennes) (Jin et al., 2013). Токсикант α -перметрин, вероятно, блокировал снижение активности фермента у *Labeo rohita* при заражении рыб *Aeromonas hydrophila* (Nayak et al., 2004) (табл. 1).

В некоторых других экспериментах *A. hydrophila* вызывала рост активности лизоцима. При заражении молоди катлы *Catla catla* (Hamilton) наблюдалось повышение активности фермента в сыворотке рыб почти на 62% (Kumar et al., 2015). Семья карпа *Cyprinus carpio*, предварительно дифференцированные по устойчивости к *Aeromonas hydrophila*, заражали этим патогеном. Активность лизоцима в плазме устойчивых рыб через неделю была вдвое выше, чем у неустойчивых рыб и в контроле ($p < 0.05$), сохраняя высокий уровень до 3 нед. ($p < 0.05$) (Ardo et al., 2010) (табл. 1).

У золотой рыбки *Carassius auratus*, обработанной смесью гербицидов, в воде с живыми клетка-

ми *Aeromonas hydrophila* наблюдали более чем двукратный рост активности сывороточного лизоцима в зависимости от содержания патогена (Fatima et al., 2007). В другом эксперименте заражение сопровождалось повышением активности лизоцима плазмы до 20% в течение 3 нед. У рыб, предварительно инъецированных смесью биологически активных экстрактов трав, это повышение было еще более значимым — до 40% ($p < 0.05$) (Harikrishnan et al., 2009a). Заражение серебряного карася *Carassius auratus gibelio* (Bloch), которого кормили с добавлением высокой дозы экзогенного лизоцима, также вызывало рост активности сывороточного лизоцима. Это происходило на фоне резкого падения активности фермента у рыб из контроля, которым до заражения не давали лизоцим (Chen et al., 2014). Индийский карп *Labeo rohita* после некоторых экспериментальных диет реагировал на заражение *Aeromonas hydrophila* повышением активности сывороточного лизоцима на 13–50% (Alexander et al., 2011; Fawole et al., 2016; Kumar et al., 2007; Misra et al., 2006b; Sharma et al., 2010). Подъем активности фермента еще на 43–56% у зараженных экземпляров зарегистрирован у другой индийской карповой рыбы *Catla catla* при добавлении в корм пробиотика *Bacillus subtilis* Cohn (Kumar et al., 2015) (табл. 1).

Действие других патогенов, таких как *Pseudomonas alcaligenes* Monias и *Aeromonas punctata* Snieszko, сопровождалось повышением активности лизоцима в сыворотке карпа *Cyprinus carpio* от 35 до 110% ($p < 0.05$) в течение первых двух недель, но через 3 нед активность упала ниже исходных значений ($p < 0.05$) (Siwicki, Studnicka, 1987; Siwicki et al., 1990). Рыбы, отравленные трихлорфоном, демонстрировали иммуносупрессию и более низкие уровни фермента при заражении этими микроорганизмами (Siwicki et al., 1990) (табл. 1).

Возбудитель эпизоотического язвенного синдрома *Aphanomyces invadans* Willoughby, Roberts, Chinabut снижал активность сывороточного лизоцима у мригалы *Cirrhhina mrigala* (Hamilton), но рыбы, получившие внутримышечные иммуностимулирующие инъекции из трех лекарственных трав, в большинстве случаев реагировали на него повышенной активностью фермента (Harikrishnan et al., 2009b). Заражение другого тропического вида карповых *Catla catla* этим патогеном путем внутривентриальной инъекции сопровождалось повышением активности лизоцима в сыворотке на 45% ($p < 0.05$). При заражении рыб через контакт с больными особями родственного вида *Labeo bata* (Hamilton) активность фермента возросла только на 20% ($p < 0.05$) (Bavuah et al., 2012) (табл. 1).

Возбудитель *Edwardsiella tarda* Ewing et al. вызывал рост активности сывороточного лизоцима у *Labeo rohita* более чем в 3 раза (Mohanty, Sahoo,

Таблица 1. Активность лизоцима у карповых рыб

Локализация	Активность лизоцима у карповых рыб		Действующая субстанция (заражение, интоксикация, вакцинация, иммунизация)	Литературный источник
	незараженные особи (контроль)	зараженные рыбы (опыт)		
Плазма	0.22–0.40 мкг/мл	0.28–1.5 мкг/мл	Cyprinus carpio <i>Astragalus radix</i> , <i>Ganoderma lucidum</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i> / <i>A. salmonicida</i> <i>Aeromonas bestiarum</i>	Yin et al., 2009 Kozimska, Guz, 2004
Сыворотка	0.26–0.64 мкг/мл	0.12–2.23 мкг/мл	То же	Liu et al., 2011
Слизь кожная	20.90–25.33 мкг/мл	14.67–58.75 мкг/мл	Вторичные метаболиты <i>Anoxybacillus flavithermus</i>	Siwicki et al., 1990
Сыворотка	0.528–0.548 мкг/мл	0.484–1.451 мкг/мл	Трихлорфон,	Siwicki, Studnicka, 1987
	0.55–0.73 мкг/мл	0.32–0.41 мкг/мл	<i>Pseudomonas alcaligenes</i> , <i>Aeromonas punctata</i>	Ardo et al., 2010
	0.55–0.73 мкг/мл	0.14–1.13 мкг/мл	<i>Pseudomonas alcaligenes</i> , <i>Aeromonas punctata</i>	Tassakka, Sakai, 2002
Плазма	0.71 мкг/мл	0.51–1.12 мкг/мл	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Jiang et al., 2016
Сыворотка	0.81–0.98 мкг/мл	0.80–1.76 мкг/мл	Олиго-дезоксирибонуклеотиды	Wang et al., 2011a
	0.003–0.012 ед.	0.012–0.03 ед.	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Wang et al., 2010
	30–71.7 ед./мл	27.1–78.3 ед./мл	Вторичные метаболиты <i>Anoxybacillus kamchatkensis</i>	Abasali, Mohamad, 2010
	88.8–102.4 ед./мл	84.0–178.4 ед./мл	Вторичные метаболиты <i>Vacillus simplex</i>	Dautremepuits et al., 2004
	99.274–123.21 ед./мл	81.190–274.772 ед./мл	Вторичные метаболиты <i>Vacillus simplex</i>	
	922–975 ед./мл	1708–4148 ед./мл	<i>Oscinum basilicum</i> , <i>Cinnamomum zeylanicum</i> , <i>Juglans regia</i> , <i>Mentha piperita</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i>	
Плазма	Не обнаружено	1.0–9.6 ед./мг белка	Медь, хитозан, <i>Ptychobothrium</i> sp.	
Головная почка	Не обнаружено	22.63–50.53 ед./мг белка	То же	
Печень	3.93 ед./мг белка	0.72–5.66 ед./мг белка	»	
Сыворотка	Не обнаружено	Не обнаружено	Левамизол, <i>Aeromonas hydrophila</i>	Magsood et al., 2009
	860, 1296 ед./мл белка сыворотки)	1884–3257 ед./мл белка сыворотки)*		
Сыворотка	28.4 ед./мл	8.5–15.9 ед./мл	Carassius auratus Дексаметазон, <i>Aeromonas hydrophila</i>	Qi et al., 2016
	0.010–0.017 ед. оптической плотности	0.011–0.072 ед. оптической плотности	Вторичный метаболит <i>Alcaligenes faecalis</i>	Wang et al., 2011б
Плазма	4 мг/мл	3.3–5.9 мг/мл*	<i>Azadirachta indica</i> , <i>Oscinum sanctum</i> , <i>Curcuma longa</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i>	Harikrishnan et al., 2010
	12.3–18.7 мг/мл	9.2–22.4 мг/мл	<i>Azadirachta indica</i> , <i>Oscinum sanctum</i> , <i>Curcuma longa</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i>	Harikrishnan et al., 2009a
Сыворотка	2.6–3.2 ед./мл	3.4–5.5 ед./мл	Атразин, симазин, диурон, изопротурон, <i>Aeromonas hydrophila</i>	Fatima et al., 2007
	7.9–13.9 ед./мл	10.5–24.1 ед./мл		

Таблица 1. Окончание

Локализация	Активность (содержание, концентрация лизоцима)		Действующая субстанция (заражение, интоксикация, вакцинация, иммунизация)	Литературный источник
	незараженные особи (контроль)	зараженные рыбы (опыт)		
Плазма	220–461 ед./л 18.7–21 ед./мг белка 22.1 ед./мг белка	230–501.7 ед./л 8–33 ед./мг белка 18.1–36 ед./мг белка	<i>Microcystis aeruginosa</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Wilhania somnifera</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Oscitum sanctum</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i>	Das et al., 2013 Sharma et al., 2010 Das et al., 2015
Сыворотка	483.06–612.02 ед./мг белка сыворотки 25.2 ед./ (мин мг белка сыворотки)	677.60–808.74 ед./мг белка сыворотки 27.5–45.4 ед./ (мин мг белка сыворотки)	Желатинизированный крахмал, температура, <i>Aeromonas hydrophila</i> Листья гуавы и манго, <i>Aeromonas hydrophila</i>	Alexander et al., 2011 Fawole et al., 2016
	—	569.02–1008.20 ед./ (мин мг белка)	Кукурузный крахмал, п-3-полиненасыщенные жирные кислоты, <i>Aeromonas hydrophila</i>	Misra et al., 20066
	0.5 ед., оптическая плотность/(мл мин)	675.41–1122.34 ед./ (мин мг белка сыворотки)	Кукурузный крахмал, <i>Aeromonas hydrophila</i>	Kumar et al., 2007
	27–31 ед. оптической плотности	0.2–0.3 ед., оптическая плотность/(мл мин)	α-Перметрин, <i>Aeromonas hydrophila</i>	Nayak et al., 2004
		31–54 ед. оптической плотности	Три антигена <i>Aeromonas hydrophila</i>	Sen et al., 2014
Сыворотка	4.69–4.75 мкг/мл 93.33 ед./мл 107 ед./мл	4.76–12.49 мкг/мл 112.0–136.0 ед./мл 114–145.4 ед./мл	<i>Catla catla</i> <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Aphanomyces invadans</i> <i>Edwardsiella tarda</i> <i>Aphanomyces invadans</i>	Kumar et al., 2015 Baruah et al., 2012 Devi et al., 2012 Saikia, Kamliya, 2012
Сыворотка	20.7–31.6 ед. оптической плотности	20.7–52.7 ед. оптической плотности	<i>Cirrhina mrigala</i> Аздирахтин, камфора, куркумин, <i>Aphanomyces invadans</i>	Harikrishnan et al., 20096
Сыворотка	706–731 ед./мин	572–830 ед./мин	<i>Barbus grypus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulguricus</i> , <i>L. casei</i> (Orla-Jensen)	Mohammadian et al., 2016
Сыворотка	21–29 ед./мл	20–73 ед./мл*	<i>Puntius gonionotus</i> Медь, <i>Aeromonas hydrophila</i>	Shariff et al., 2001
Плазма	13.4–15.7 мкг/(мл × 10 ²)	11.7–13.6 мкг/(мл × 10 ²) 21.3–33.5 мкг/(мл × 10 ²)	То же	

* Данные получены под воздействием различных факторов, поэтому реакции на заражение рыб могли регистрироваться при более высоких показателях лизоцима, чем в контроле; “—” — данные отсутствуют.

2010). Реакция другой тропической рыбы *Catla catla* также сопровождалась повышением активности фермента до 35% ($p < 0.05$) на 10–14 сут после инъекции патогена и снижением активности в последующие 2 нед. (Devi et al., 2012) (табл. 1).

Попытка использовать лизоцим в качестве критерия для оценки устойчивости молоди индийского карпа *Labeo rohita* из различных семей к инфекционному возбудителю *Edwardsiella tarda* не дала результата. Содержание лизоцима в сыворотке широко варьировало между отдельными особями, а по средним значениям семьи различались в 11 раз. Корреляции между выживаемостью зараженных рыб и уровнем лизоцима не обнаружено (Mohanty et al., 2007). Подобные результаты получены и в отношении возбудителя *Aeromonas hydrophila* в семьях от различных пар производителей, у которых содержание лизоцима в сыворотке не коррелировало с выживаемостью зараженных рыб (Sahoo et al., 2008).

ПАЗАРИТАРНОЕ ЗАРАЖЕНИЕ

Заражение карпа *Cyprinus carpio* цестодами *Ptychobothrium* sp. вызывало снижение активности лизоцима в головной почке на 22% ($p < 0.05$). Однако при экспозиции в сублетальных концентрациях меди в воде, напротив, наблюдалось повышение лизоцимной активности у зараженных рыб на 24–41% ($p < 0.05$). В плазме чистых и зараженных рыб лизоцимная активность не проявлялась, но под влиянием меди у зараженных особей она возросла до 50-кратных значений по сравнению с незараженными рыбами. Активность фермента в печени не обнаружена ни у здоровых, ни у зараженных рыб (Dautremepuits et al., 2004) (табл. 1).

Пресноводные вши *Argulus siamensis* Wilson через 15 сут после заражения индийского карпа *Labeo rohita* вызывали снижение активности сывороточного лизоцима на треть при низкой степени заражения ($p < 0.05$), и слабо влияли или не влияли на активность фермента при средней и высокой степени заражения (Saurabh et al., 2010) (табл. 1). Также показано, что на третьи сутки после заражения метанауплиями *Argulus siamensis* активность лизоцима в сыворотке рыб возросла на треть ($p < 0.05$), но затем снизилась до исходного уровня и была минимальной через 21 сут после заражения ($p < 0.05$). Максимально повышенная экспрессия гена лизоцима G-типа в коже *Labeo rohita* была зарегистрирована через 12 ч после заражения. В головной почке в самые ранние и самые поздние сроки после заражения наблюдалась пониженная экспрессия гена лизоцима G-типа ($p < 0.05$), хотя через 12–24 ч она соответствовала исходному уровню. Ген лизоцима C-типа был обнаружен только в головной почке и показал повышенную экспрессию через 6 ч после заражения ($p < 0.05$) (Kar et al., 2015).

Заражение серебряного карася *Carassius auratus gibelio* группой эктопаразитов *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet, *Trichodina* sp., *Dactylogyrus* sp. и *Gyrodactylus* sp. вызвало через 8 сут значительное снижение содержания лизоцима: в почках — в 3.8 раз, в печени и сыворотке — в 2.9 раза ($p < 0.05$). В то же время, содержание фермента в селезенке оставалось без изменений (Куровская, Стрилько, 2016) (табл. 1).

ВАКЦИНАЦИЯ И ИММУНИЗАЦИЯ

Для защиты рыб от инфекционных заболеваний в условиях высоко интенсифицированной аквакультуры проводят вакцинацию или иммунизацию рыб. С этой целью используют различные антигенные субстанции на основе возбудителей, которые, как правило, инъецируют внутривнутрино.

При внутрибрюшинной иммунизации индийского карпа *Labeo rohita* антигенными фрагментами поверхностных мембран *Edwardsiella tarda*, адсорбированными на модифицированные микросферы поли-ε-капролактона хитозана и альгината, активность лизоцима в сыворотке рыб была в 7–8 раз выше, чем у контрольных неиммунизированных рыб ($p < 0.05$). Чистые антигенные фрагменты и с неполным адъювантом Фрейнда вызывали четырех-, —пятикратное повышение активности фермента ($p < 0.05$) (Behera, Swain, 2012) (табл. 1).

Вероятно, менее выраженное действие на лизоцим оказывают субстанции от *Aeromonas hydrophila*. Обнаружено, что чистый препарат белков поверхностной мембраны этого возбудителя не вызывал изменений в активности лизоцима в сыворотке крови у молоди *Labeo rohita* (Behera, Swain, 2013). В другом исследовании вакцинация годовиков этого вида рыб разными дозами убитых формалином клеток *Aeromonas hydrophila* через 1 нед. вызвала повышение активности лизоцима в сыворотке крови на 53–128% ($p < 0.05$). Затем, к четвертой неделе, неспецифическая реакция постепенно снизилась, но активность фермента оставалась выше контрольных значений (Dash et al., 2011). Внутрибрюшинная иммунизация *Labeo rohita* белковым препаратом *Aeromonas hydrophila* с неполным адъювантом Фрейнда, с микросферами полилактида-ко-гликолевой кислоты (PLGA) и альгинат-хитозан-PLGA композитными микросферами привела к росту активности фермента у опытных рыб в 1.5–1.6 раз относительно контроля на 21 и 42 сут ($p < 0.05$) (Behera, Swain, 2013). Близкие или более высокие значения активности сывороточного лизоцима наблюдались у *Labeo rohita* на 10 сут после вакцинирования одними антигенами инактивированной формалином *Aeromonas hydrophila* и в сочетании с неполным адъювантом Фрейнда. Однако к 30 сут активность фермента значительно понизилась,

но в опыте с адьювантом оставалась выше, чем у контрольных рыб ($p < 0.05$) (Sen et al., 2014). Внутривентральные инъекции яванскому карпу *Puntius gonionotus* (Bleeker) убитых формалином клеток *Aeromonas hydrophila* через 5 сут вызвали значительное, более чем в 2 раза, увеличение активности лизоцима в плазме ($p < 0.05$). В присутствии в воде меди активность фермента возрастала в меньшей степени (Shariff et al., 2001) (табл. 1).

Вакцинация молоди карася *Carassius auratus gibelio* убитыми формалином *Aeromonas hydrophila* вызывала рост активности лизоцима в сыворотке более чем в 2.5 раза до третьей недели, но к пятой неделе активность значительно снизилась ($p < 0.05$) (Wu et al., 2013). Внутривентральные инъекции молоди белого амура *Stenopharingodon idella* липополисахаридов, белков наружной мембраны и убитых формалином клеток *Aeromonas hydrophila* вызывали существенное, до пяти раз ($p < 0.05$), увеличение активности сывороточного лизоцима на второй и третьей неделях, с последующим снижением к исходным значениям на пятой неделе (Sun et al., 2011). При вакцинации молоди тупоногого леща *Megalobrama amblycephala* целыми клетками инактивированной формалином *Aeromonas hydrophila* и рекомбинантным белком наружной мембраны наибольший эффект наблюдался в начале эксперимента с инактивированными клетками возбудителя, когда активность лизоцима в сыворотке была на четверть выше у опытных рыб. В дальнейшем активность фермента у рыб с разными вакцинами выровнялась, но оставалась более высокой ($p < 0.05$) в сравнении с невакцинированным контролем (Wang et al., 2013) (табл. 1).

Вакцинация молоди карпа *Cyprinus carpio* коммерческим препаратом против *Aeromonas hydrophila/A. salmonicida* Griffin et al. способствовала сохранению активности лизоцима плазмы на одном уровне в течение 5 нед. наблюдений, тогда как у невакцинированных рыб наблюдалось снижение активности. Вакцинация, вероятно, может оказывать иммуносупрессивный эффект на активность фермента у рыб при кормлении растительными экстрактами *Astragalus radix* Bunge и *Ganoderma lucidum* Karst (Yin et al., 2009). В другом исследовании вакцинация молоди карпа *Cyprinus carpio* клетками *Aeromonas hydrophila*, убитыми формалином и измененными под влиянием антибиотика рифамицина, не оказывала влияния на активность лизоцима в сыворотке рыб. Вместе с тем, во всех опытах за 28 сут активность снизилась почти в 2.5 раза (Jiang et al., 2016). У молоди карпа *Cyprinus carpio* вакцины на основе *Aeromonas bestiarum* Ali et al. в виде масляных эмульсий, с убитыми формалином клетками и убитой формалином культурой, через 30 сут вызывали подъем уровня сывороточного лизоцима в 2–3.5 раза и лизоцима кожной слизи в 1.5–2.3 раза ($p < 0.05$). Вакцина с

клеточными липополисахаридами возбудителя такого эффекта не имела (Kozinska, Guz, 2004) (табл. 1).

Молодь катлы *Catla catla* вакцинировали внутримышечно чистым экстрактом грибка *Aphanomyces invadans*, экстрактом с неполным адьювантом Фрейнда и внеклеточным продуктом этого патогена. Наибольший рост активности лизоцима сыворотки – в 1.8 раза ($p < 0.05$) отмечен в опытах с адьювантом Фрейнда на пятые сутки после иммунизации, но через 25 сут эффект вакцинации закончился (Saikia, Kamilya, 2012).

Иммунизация серебряного карася *Carassius gibelio* против вируса герпеса карповых рыб (CyHV-2) возбудителем, инактивированным с помощью β -пропиолактона, вызывала повышение активности сывороточного лизоцима через 4–14 сут на 20–85% ($p < 0.05$). Однако через 21 сут активность фермента вновь вернулась к исходному уровню (Zhang et al., 2016) (табл. 1).

Оральное вакцинирование рассматривается как вариант более предпочтительный, чем инъекции. Оральное введение молоди *Labeo rohita* различных антигенных композиций *Aeromonas hydrophila*, а именно: нагруженных антигеном, покрытых и непокрытых альгинатом микросфер хитозана, а также свободных антигенов и убитых формалином целых клеток возбудителя, показало, что наибольшее повышение активности сывороточного лизоцима на 40–45% ($p < 0.05$) вызывают микросферы хитозана с клеточными антигенами (Behera, Swain, 2014).

ИММУНОСТИМУЛЯТОРЫ

Иммуностимуляторы – обширная группа веществ различной природы, включая синтетические соединения. Роль иммуностимуляторов заключается в повышении общей устойчивости животных к различным заболеваниям, в том числе инфекционным, в основном, путем активизации неспецифических механизмов защиты. Их использование в аквакультуре рассматривается в качестве альтернативы антибиотикам, лекарственным химиопрепаратам, вакцинам, пробиотикам. Однако, наличие ряда ограничений сдерживает их широкое применение в практике (Liu et al., 2011; Raa, 1996; Wang et al., 2010, 2011a, 2011b; Watanuki et al., 2009).

Внутривентральная инъекция синтетических олигодезоксинуклеотидов вызывала у карпа *Cyprinus carpio* более чем 2.5-кратное повышение активности сывороточного лизоцима (Tassakka, Sakai, 2002). Инъекции высокой дозы β -глюкана 150 мг/кг не влияли на активность лизоцима в плазме взрослого линя *Tinca tinca* (L.) (Vainikka et al., 2005). В другом исследовании инъекции малькам индийского карпа *Labeo rohita* меньших

доз такого иммуностимулятора повышали активность сывороточного лизоцима до двух раз ($p < 0.05$) (Misra et al., 2006a) (табл. 1).

ЭНДОТОКСИНЫ

К эндотоксинам относят бактериальные липополисахариды, являющиеся компонентами внешней стенки оболочки клетки грамотрицательных бактерий. Их считают основным фактором вирулентности и клинического проявления заболеваний среди животных. Несмотря на это, липополисахариды обладают потенциалом для формирования положительных иммунных реакций (Swain et al., 2008). Инъекции эндотоксина *Escherichia coli* Castellani and Chalmers годовикам индийского карпа *Labeo rohita* повысили уровень сывороточного лизоцима при низких дозах ($p < 0.01$), но вызвали супрессивный эффект при более высоких дозах ($p < 0.01$) (Nayak et al., 2008).

ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ

Внутрибрюшинные инъекции карпу *Cyprinus carpio* циклических дипептидов и других компонентов из состава вторичных метаболитов *Anoxybacillus kamchatkensis* Kevbrin et al., *A. flavithermus* Pikuta et al., *Bacillus simplex* способствовали повышению активности сывороточного лизоцима на 30–170% (Liu et al., 2011, Wang et al., 2010, 2011a). Циклический пептид из вторичных метаболитов *Alcaligenes faecalis* Castellani and Chalmers повышал активность сывороточного лизоцима серебряного карася в 2.5–5 раз (Wang et al., 2011b) (табл. 1).

КОМПОНЕНТЫ РАСТИТЕЛЬНОЙ ПРИРОДЫ

Кокосовое масло в виде инъекции через 7 сут вызывало рост активности лизоцима в плазме взрослого линя *Tinca tinca* на 28%. Далее активность снижалась и достигла начального уровня после четвертой недели (Vainikka et al., 2005). Действие водных, этанольных и метанольных экстрактов смеси трех трав *Azadirachta indica* A. Juss, *Oscimum sanctum* L. и *Curcuma longa* L. сравнивали на золотой рыбке *Carassius auratus*. Наиболее высокую активность лизоцима плазмы вызывали этанольные и метанольные экстракты в самой большой дозе – 100 мг/кг массы тела. Однако у рыб, зараженных *Aeromonas hydrophila*, лучшая выживаемость наблюдалась при дозах 50 и 5 мг/кг, независимо от экстрагирующей среды (Harikrishnan et al., 2009a). Внутримышечное введение этанольной смеси из азадирахтина, камфоры и куркумина, в зависимости от дозы и срока, вызывало как повышение, так и понижение активности сывороточного лизоцима у индийского карпа *Cirrhina mrigala*, дважды зараженного *Aphanomyces invadans*. У рыб, не получивших инъекции расти-

тельных компонентов, активность фермента постоянно снижалась (Harikrishnan et al., 2009b). Полисахарид, выделенный из плодов инжира *Ficus carica* L., оказывал иммуностимулирующее действие на белого амура *Stenopharingodon idella* во всех дозах инъекции в течение 7–21 сут, повысив активность сывороточного лизоцима на 53–212% ($p < 0.05$) (Yang et al., 2015) (табл. 1).

ГОРМОНЫ

Разные дозы кортизола (гормона стресса) после внутрибрюшинного введения белому амуру *C. idella* повышали активность лизоцима в сыворотке рыб в начале эксперимента до 7 сут ($p < 0.05$). Масло какао стимулировало пролонгированный ответ, проявляющийся максимальными значениями активности фермента через 2 нед. ($p < 0.05$) и сохраняющийся до 30 сут (Wang et al., 2005). Дексаметазон (синтетический глюкокортикостероид), имеющий сходство функций с кортизолом, но обладающий иммуносупрессивным действием, вызывал снижение активности лизоцима в сыворотке карася *Carassius auratus* на 44–70% ($p < 0.05$), в зависимости от ежедневных инъекций, в течение 3, 6 и 9 сут (Qi et al., 2016). Инъекция тестостерона в кокосовом масле в дозе 80 мг/кг не оказывала существенного влияния на активность лизоцима в плазме взрослого линя *Tinca tinca* в течение 5 нед. (Vainikka et al., 2005) (табл. 1).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Заражение карповых рыб патогенными возбудителями показало разнонаправленный характер иммунных ответов. В большинстве случаев рыбы реагируют снижением активности сывороточного лизоцима, но наряду с этим, отмечается отсутствие реакций или повышение активности. Колебания в обе стороны могут превышать двукратные значения относительно контрольных показаний. Данные обзора отражают проблемы, связанные с оценкой результатов анализа реакции лизоцима карповых рыб, при воздействии не только различных, но и одинаковых по природе субстанций. Разнонаправленные изменения активности фермента у различных видов рыб на действие одного и того же патогена могут быть объяснены их видовыми особенностями. Однако заражение обыкновенного карпа *Cyprinus carpio* возбудителем *Aeromonas hydrophila* в совокупности показывает все виды ответных реакций. Такие результаты вызывают больше вопросов, чем однозначных ответов. Эта проблема не связана с видовыми характеристиками рыб, а, вероятно, обусловлена существенными различиями исходного физиологического состояния особей, отобранных для экспериментов, или какими-то методическими

особенностями. Паразитарные заражения, как правило, сопровождаются в итоге снижением активности лизоцима в сыворотке и органах рыб, но эти изменения имеют сложный характер. Токсиканты, присутствующие в воде, способны оказывать воздействие на зараженных рыб, подавляя или усиливая ответные реакции.

Иммунизация или вакцинация рыб различными субстанциями на основе *A. hydrophila* обычно вызывает реакции в сторону повышения активности фермента. Скорость, продолжительность и сила ответных реакций, в зависимости от условий экспериментов, может существенно различаться. В отдельных случаях активность лизоцима в сыворотке крови возрастает до 5 раз. Подобные иммунные ответы наблюдаются и при иммунизации против других возбудителей, а рост активности фермента превышает восьмикратные значения. Инъекции других субстанций разной природы, исключая гормоны, в большинстве случаев оказывают иммуностимулирующее действие, повышая активность сывороточного лизоцима у разных видов карповых. Доза действующего агента может значительно влиять на ответную активность фермента, оказывая иммуностимулирующий или иммуносупрессивный эффект. Это отмечено также при паразитарном заражении.

Проблемы методического плана, заключающиеся в очень широком диапазоне варьирования значений показателя и разнообразии используемых единиц для обозначения активности или содержания лизоцима, существенно затрудняют сопоставимость полученных результатов. У обыкновенного карпа *Cyprinus carpio* активность сывороточного лизоцима в сопоставимых единицах варьирует от 30 до 4148 ед./мл, у индийского роху *Labeo rohita* — от 1.04 до 432.6 ед./мл. Сложно оценить эффективность манипуляций по повышению реакций неспецифической защиты в работах одних авторов, когда в результате иммуностимуляции повышенная активность сывороточного лизоцима оказывается в десятки раз ниже контрольных значений у других. Высокая активность лизоцима в сыворотке может не соответствовать физиологически нормальному уровню и не отражать способность рыб сопротивляться какому-либо негативному воздействию. У золотой рыбки *Carassius auratus* после заражения *Aeromonas hydrophila* более высокая смертность рыб наблюдалась при самой высокой активности фермента. Поэтому высокую активность лизоцима карповых рыб следует рассматривать с осторожностью.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания (тема № АААА-А18-118012690222-4).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Куровская Л.Я., Стрилько Г.А. 2016. Влияние pH водной среды на уровень заражения эктопаразитами, содержание белка и лизоцима у некоторых видов карповых рыб (Cyprinidae) // Рыбогосподарська наука України. Т. 1. № 35. С. 88.
<https://doi.org/10.15407/fsu2016.01.088>
- Abasali H., Mohamad S. 2010. Immune response of common carp (*Cyprinus carpio*) fed with herbal immunostimulants diets // Agric. J. V. 5. № 3. P. 163.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01660.x>
- Alexander C., Sahu N.P., Pal A.K. et al. 2011. Haemato-immunological and stress responses of *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings: effect of rearing temperature and dietary gelatinized carbohydrate // J. Anim. Physiol. An. N. V. 95. № 5. P. 53.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2010.01096.x>
- Ardo L., Jeney Z., Adams A. et al. 2010. Immune responses of resistant and sensitive common carp families following experimental challenge with *Aeromonas hydrophila* // Fish Shellfish Immunol. V. 29. № 1. P. 111.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.02.029>
- Baruah A., Saha R.K., Kamilya D. 2012. Inter-species transmission of the epizootic ulcerative syndrome (EUS) pathogen, *Aphanomyces invadans*, and associated physiological responses // Bamidgeh. V. 64. P. 9.
- Behera T., Swain P. 2012. Antigen adsorbed surface modified poly-ε-caprolactone microspheres stimulates both adaptive and innate immune response in fish // Vaccine. V. 30. № 35. P. 5278.
<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.05.028>
- Behera T., Swain P. 2013. Alginate-chitosan-PLGA composite microspheres induce both innate and adaptive immune response through parenteral immunization in fish // Fish Shellfish Immunol. V. 35. № 3. P. 785.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.06.012>
- Behera T., Swain P. 2014. Antigen encapsulated alginate-coated chitosan microspheres stimulate both innate and adaptive immune responses in fish through oral immunization // Aquacult. Int. V. 22. № 2. P. 673.
<https://doi.org/10.1007/s10499-013-9696-8>
- Betoulle S., Etienne J.C., Vernet G. 2002. Acute Immunotoxicity of Gallium to Carp (*Cyprinus carpio* L.) // Bull. Environ. Contam. Toxicol. V. 68. № 6. P. 817.
<https://doi.org/10.1007/s00128-002-0028-3>
- Bols N.C., Brubacher J.L., Ganassin R.C. et al. 2001. Ecotoxicology and innate immunity in fish // Dev. Comp. Immunol. V. 25. № 8–9. P. 853.
[https://doi.org/10.1016/s0145-305x\(01\)00040-4](https://doi.org/10.1016/s0145-305x(01)00040-4)
- Chen Y., Zhu X., Yang Y. et al. 2014. Effect of dietary lysozyme on growth, immune response, intestine microbiota, intestine morphology and resistance to *Aeromonas hydrophilia* in gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) // Aquacult. Nutr. V. 20. № 3. P. 229.
<https://doi.org/10.1111/anu.12069>
- Das B.K., Pradhan J., Sahu S. 2009. The effect of *Euglena viridis* on immune response of rohu, *Labeo rohita* (Ham.) // Fish Shellfish Immunol. V. 26. № 6. P. 871.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.03.016>
- Das B.K., Pradhan J., Sahu S. et al. 2013. *Microcystis aeruginosa* (Kütz) incorporated diets increase immunity and survival of Indian major carp *Labeo rohita* (Ham.)

- against *Aeromonas hydrophila* infection // Aquacult. Res. V. 44. № 6. P. 918.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2012.03098.x>
- Das R., Raman R.P., Saha H. et al. 2015. Effect of *Ocimum sanctum* Linn. (Tulsi) extract on the immunity and survival of *Labeo rohita* (Hamilton) infected with *Aeromonas hydrophila* // Aquacult. Res. V. 46. № 5. P. 1111.
<https://doi.org/10.1111/are.12264>
- Dash S., Das S.K., Samal J. et al. 2011. Dose dependence specific and non-specific immune responses of Indian major carp (*L. rohita* Ham) to intraperitoneal injection of formalin killed *Aeromonas hydrophila* whole cell vaccine // Vet. Res. Commun. V. 35. № 8. P. 541.
<https://doi.org/10.1007/s11259-011-9498-2>
- Dautremepuits C., Betoulle S., Paris-Palacios S. et al. 2004. Humoral immune factors modulated by copper and chitosan in healthy or parasitised carp (*Cyprinus carpio* L.) by *Ptychobothrium* sp. (Cestoda) // Aquat. Toxicol. V. 68. № 4. P. 325.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.04.003>
- Devi T.B., Kamilya D., Abraham T.J. 2012. Dynamic changes in immune-effector activities of Indian major carp, catla (*Catla catla*) infected with *Edwardsiella tarda* // Aquaculture. V. 366–367. № 5. P. 62.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.09.002>
- Fatima M., Mandiki S.N.M., Douxfils J. et al. 2007. Combined effects of herbicides on biomarkers reflecting immune-endocrine interactions in goldfish. Immune and antioxidant effects // Aquat. Toxicol. V. 81. № 2. P. 159.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.11.013>
- Fawole F.J., Sahu N.P., Pal A.K. et al. 2016. Haemato-immunological response of *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings fed leaf extracts and challenged by *Aeromonas hydrophila* // Aquacult. Res. V. 47. № 12. P. 3788.
<https://doi.org/10.1111/are.12829>
- Harikrishnan R., Balasundaram C., Kim M.-C. et al. 2009a. Innate immune response and disease resistance in *Carassius auratus* by triherbal solvent extracts // Fish Shellfish Immunol. V. 27. № 3. P. 508.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.07.004>
- Harikrishnan R., Balasundaram C., Dharaneedharan S. et al. 2009b. Effect of plant active compounds on immune response and disease resistance in *Cirrhina mrigala* infected with fungal fish pathogen, *Aphanomyces invadans* // Aquacult. Res. V. 40. № 10. P. 1170.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02213.x>
- Harikrishnan R., Balasundaram C., Heo M.-S. 2010. Herbal supplementation diets on hematology and innate immunity in goldfish against *Aeromonas hydrophila* // Fish Shellfish Immunol. V. 28. № 2. P. 354.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.11.013>
- Jiang X., Zhang C., Zhao Y. et al. 2016. Immune effects of the vaccine of live attenuated *Aeromonas hydrophila* screened by rifampicin on common carp (*Cyprinus carpio* L.) // Vaccine. V. 34. № 27. P. 3087.
<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.04.075>
- Jin Y., Tian L., Zeng S. et al. 2013. Dietary lipid requirement on non-specific immune responses in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) // Fish Shellfish Immunol. V. 34. № 5. P. 1202.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.01.008>
- Kar B., Mohanty J., Hemaprasanth K.P. et al. 2015. The immune response in rohu, *Labeo rohita* (Actinopterygii: Cyprinidae) to *Argulus siamensis* (Branchiura: Argulidae) infection: kinetics of immune gene expression and innate immune response // Aquacult. Res. V. 46. № 6. P. 1292.
<https://doi.org/10.1111/are.12279>
- Kozinska A., Guz L. 2004. The effect of various *Aeromonas bestiarum* vaccines on non-specific immune parameters and protection of carp (*Cyprinus carpio* L.) // Fish Shellfish Immunol. V. 16. № 3. P. 437.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2003.08.003>
- Kumar V., Sahu N.P., Pal A.K. et al. 2007. Immunomodulation of *Labeo rohita* juveniles due to dietary gelatinized and non-gelatinized starch // Fish Shellfish Immunol. V. 23. № 2. P. 341.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2006.11.008>
- Kumar R., Mukherjee S.C., Ranjan R. et al. 2015. Effect of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* on haematological and immunological parameters of *Catla catla* (Hamilton) // Aquacult. Int. V. 23. № 5. P. 1275.
- Liu J., Lei Y., Wang F. et al. 2011. Immunostimulatory activities of specific bacterial secondary metabolite of *Anoxybacillus flavithermus* strain SX-4 on carp, *Cyprinus carpio* // J. Appl. Microbiol. V. 110. № 4. P. 1056.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.04963.x>
- Liu B., Ge X., Xie J. et al. 2012. Effects of anthraquinone extract from *Rheum officinale* Bail on the physiological responses and HSP70 gene expression of *Megalobrama amblycephala* under *Aeromonas hydrophila* infection // Fish Shellfish Immunol. V. 32. № 1. P. 1.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2011.02.015>
- Maqsood S., Samoon M.H., Singh P. 2009. Immunomodulatory and growth promoting effect of dietary levamisole in *Cyprinus carpio* fingerlings against the challenge of *Aeromonas hydrophila* // Turk. J. Fish. Aquat. Sci. V. 9. № 1. P. 111.
- Misra C.K., Das B.K., Mukherjee S.C. et al. 2006a. Effect of multiple injections of β -glucan on non-specific immune response and disease resistance in *Labeo rohita* fingerlings // Fish Shellfish Immunol. V. 20. № 3. P. 305.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.05.007>
- Misra S., Sahu N.P., Pal A.K. et al. 2006b. Pre- and post-challenge immuno-haematological changes in *Labeo rohita* juveniles fed gelatinised or non-gelatinised carbohydrate with n-3 PUFA // Fish Shellfish Immunol. V. 21. № 4. P. 346.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.12.010>
- Mohammadian T., Alishahi M., Tabandeh M.R. et al. 2016. Probiotic effects of *Lactobacillus plantarum* and *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* on some immune-related parameters in *Barbus grypus* // Aquacult. Int. V. 24. № 1. P. 225.
<https://doi.org/10.1007/s10499-015-9921-8>
- Mohanty B.R., Sahoo P.K., Mahapatra K.D. et al. 2007. Innate immune responses in families of Indian major carp, *Labeo rohita*, differing in their resistance to *Edwardsiella tarda* infection // Curr. Sci. India. V. 92. № 9. P. 1270.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.06.008>
- Mohanty B.R., Sahoo P.K. 2010. Immune responses and expression profiles of some immune-related genes in Indian major carp, *Labeo rohita* to *Edwardsiella tarda* in-

- fection // Fish Shellfish Immunol. V. 28. № 4. P. 613. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.12.025>
- Nayak A.K., Das B.K., Kohli M.P.S. et al. 2004. The immunosuppressive effect of α -permethrin on Indian major carp, rohu (*Labeo rohita* Ham.) // Fish Shellfish Immunol. V. 16. № 1. P. 41. [https://doi.org/10.1016/S1050-4648\(03\)00029-9](https://doi.org/10.1016/S1050-4648(03)00029-9)
- Nayak S.K., Swain P., Nanda P.K. et al. 2008. Effect of endotoxin on the immunity of Indian major carp, *Labeo rohita* // Fish Shellfish Immunol. V. 24. № 4. P. 394. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2007.09.005>
- Qi X-Z., Li D-L., Tu X. et al. 2016. Preliminary study on the relationship between dexamethasone and pathogen susceptibility on crucian carp (*Carassius auratus*) // Fish Shellfish Immunol. V. 48. P. 79. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.10.017>
- Raa J. 1996. The use of immunostimulatory substances in fish and shellfish farming // Rev. Fish. Sci. V. 4. № 3. P. 229. <https://doi.org/10.1080/10641269609388587>
- Sahoo P.K., Mahapatra K.D., Saha J.N. et al. 2008. Family association between immune parameters and resistance to *Aeromonas hydrophila* infection in the Indian major carp, *Labeo rohita* // Fish Shellfish Immunol. V. 25. № 1–2. P. 163. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2008.04.003>
- Sahu S., Das B.K., Mishra B.K. et al. 2007. Effect of *Allium sativum* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila* // J. Appl. Ichthyol. V. 23. № 1. P. 80. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2006.00785.x>
- Sahu S., Das B.K., Mishra B.K. et al. 2008. Effect of dietary *Curcuma longa* on enzymatic and immunological profiles of rohu, *Labeo rohita* (Ham.), infected with *Aeromonas hydrophila* // Aquacult. Res. V. 39. № 16. P. 1720–1730. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02048.x>
- Saikia D., Kamilya D. 2012. Immune responses and protection in catla (*Catla catla*) vaccinated against epizootic ulcerative syndrome // Fish Shellfish Immunol. V. 32. № 2. P. 353. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2011.11.030>
- Saurabh S., Sahoo P.K. 2008. Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system // Aquacult. Res. V. 39. № 3. P. 223. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01883.x>
- Saurabh S., Sahoo P.K., Mohanty B.R. et al. 2010. Modulation of the innate immune response of rohu *Labeo rohita* (Hamilton) by experimental freshwater lice *Argulus siamensis* (Wilson) infection // Aquacult. Res. V. 41. № 9. P. 326. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02538.x>
- Sen S.S., Giri S.S., Sukumaran V. 2014. Immune responses and protection in rohu vaccinated against *Aeromonas hydrophila* infection // Aquacult. Int. V. 22. № 5. P. 1637. <https://doi.org/10.1007/s10499-014-9770-x>
- Shariff M., Jayawandena P.A.H.L., Yusoff F.M. et al. 2001. Immunological parameters of Javanese carp *Puntius gonionotus* (Bleeker) exposed to copper and challenged with *Aeromonas hydrophila* // Fish Shellfish Immunol. V. 11. № 4. P. 281. <https://doi.org/10.1006/fsim.2000.0309>
- Sharma A., Deo A.D., Riteshkumar S.T. et al. 2010. Effect of *Withania somnifera* (L. Dunal) root as a feed additive on immunological parameters and disease resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings // Fish Shellfish Immunol. V. 29. № 3. P. 508. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.05.005>
- Siwicki A., Studnicka M. 1987. The phagocytic ability of neutrophils and serum lysozyme activity in experimentally infected carp, *Cyprinus carpio* L. // J. Fish Biol. V. 31. (Suppl. A). P. 57. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1987.tb05293.x>
- Siwicki A.K., Cossarini-Dunier M., Studnicka M. et al. 1990. In vivo Effect of the Organophosphorus Insecticide Trichlorophon on Immune Response of Carp (*Cyprinus carpio*). II. Effect of High Doses of Trichlorophon on Nonspecific Immune Response // Ecotoxicol. Environ. Saf. V. 19. № 1. P. 99. [https://doi.org/10.1016/0147-6513\(90\)90084-I](https://doi.org/10.1016/0147-6513(90)90084-I)
- Skouras A., Lang T., Vobach M. et al. 2003. Assessment of some innate immune responses in dab (*Limanda limanda* L.) from the North Sea as part of an integrated biological effects monitoring // Helgoland Mar. Res. V. 57. № 3. P. 181. <https://doi.org/10.1007/s10152-003-0143-5>
- Sun J., Wang Q., Qiao Z. et al. 2011. Effect of Lipopolysaccharide (LPS) and Outer Membrane Protein (OMP) Vaccines on Protection of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*) against *Aeromonas hydrophila* // Bami-dgeh. V. 63. P. 8.
- Swain P., Nayak S.K., Nanda P.K. et al. 2008. Biological effects of bacterial lipopolysaccharide (endotoxin) in fish: A review // Fish Shellfish Immunol. V. 25. № 3. P. 191. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2008.04.009>
- Tassakka A.C.M.A.R., Sakai M. 2002. CpG oligodeoxynucleotides enhance the non-specific immune responses on carp, *Cyprinus carpio* // Aquaculture. V. 209. № 1–4. P. 1. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00764-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00764-5)
- Thilagam H., Gopalakrishnan S., Bo J. et al. 2009. Effect of 17 β -estradiol on the immunocompetence of Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) // Environ. Toxicol. Chem. V. 28. № 8. P. 1722. <https://doi.org/10.1897/08-642.1>
- Tort L., Balasch J.C., Mackenzie S. 2003. Fish immune system. A crossroads between innate and adaptive responses // Immunologia. V. 22. № 3. P. 277.
- Vainikka A., Jokinen E.I., Kortet R. et al. 2005. Effects of testosterone and β -glucan on immune functions in tench // J. Fish. Biol. V. 66. № 2. P. 348. <https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2005.00598.x>
- Wang W.B., Li A.H., Cai T.Z. et al. 2005. Effects of intraperitoneal injection of cortisol on non-specific immune functions of *Ctenopharyngodon idella* // J. Fish. Biol. V. 67. № 3. P. 779. <https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2005.00779.x>
- Wang G.-X., Liu Y.-T., Li F.-Y. et al. 2010. Immunostimulatory activities of *Bacillus simplex* DR-834 to carp (*Cyprinus carpio*) // Fish Shellfish Immunol. V. 29. № 3. P. 378. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.03.014>
- Wang G.-X., Wang Y., Wu Z.-F. et al. 2011a. Immunomodulatory effects of secondary metabolites from thermophilic *Anoxybacillus kamchatkensis* XA-1 on carp, *Cyprinus*

- carpio* // Fish Shellfish Immunol. V. 30. № 6. P. 1331.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2011.03.011>
- Wang G.-X., Li F.-Y., Cui J. et al. 20116. Immunostimulatory activities of a decapeptide derived from *Alcaligenes faecalis* FY-3 to Crucian carp // Scand. J. Immunol. V. 74. № 1. P. 14.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2011.02533.x>
- Wang N., Yang Z., Zang M. et al. 2013. Identification of Omp38 by immunoproteomic analysis and evaluation as a potential vaccine antigen against *Aeromonas hydrophila* in Chinese breams // Fish Shellfish Immunol. V. 34. № 1. P. 74.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.10.003>
- Watanuki H., Chakraborty G., Korenaga H. et al. 2009. Immunostimulatory effects of natural human interferon-alpha (huIFN- α) on carps *Cyprinus carpio* L. // Vet. Immunol. Immunop. V. 131. № 3–4. P. 273.
<https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2009.04.005>
- Wu Z.X., Pang S.F., Liu J.J. et al. 2013. *Coriolus versicolor* polysaccharides enhance the immune response of crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) and protect against *Aeromonas hydrophila* // J. Appl. Ichthyol. V. 29. № 3. P. 562.
<https://doi.org/10.1111/jai.12105>
- Yang X., Guo J.L., Ye J.Y. et al. 2015. The effects of *Ficus carica* polysaccharide on immune response and expression of some immune-related genes in grass carp, *Ctenopharyngodon idella* // Fish Shellfish Immunol. V. 42. № 1. P. 132.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.10.037>
- Yin G., Ardo L., Thompson K.D. et al. 2009. Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Ganoderma lucidum*) enhance immune response of carp, *Cyprinus carpio*, and protection against *Aeromonas hydrophila* // Fish Shellfish Immunol. V. 26. № 1. P. 140.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2008.08.015>
- Zhang L., Ma J., Fan Y. et al. 2016. Immune response and protection in gibel carp, *Carassius gibelio*, after vaccination with β -propiolactone inactivated cyprinid herpesvirus 2 // Fish Shellfish Immunol. V. 49. P. 344.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.01.003>

Effect of Infection and Injections of Substances from Different Origin on Lysozyme in Cyprinids (Cyprinidae) (Review)

M. F. Subbotkin¹,* and T. A. Subbotkina¹

¹Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, Borok, Nekouzskii raion, Yaroslavl oblast, Russia

*e-mail: smif@ibiw.ru

In the review for the period of 2000–2016 the reactions of lysozyme in carp fishes (Family Cyprinidae), found under experimental conditions by the impact of substances from different origin, are shown. Ten species that are the objects of aquaculture are studied. The effect of pathogenic and parasitic infection, vaccination and immunization, as well as immunostimulants, including endotoxins, secondary metabolites, components of plant origin and hormones by means of injections, is considered. Pathogenic challenge of carp *Cyprinus carpio* L. by *Aeromonas hydrophila* (Chester) shows multidirectional changes and their absence in the activity of lysozyme. Parasitic infection of different fish species usually has an immunosuppressive effect. Vaccination and immunization cause an increase in serum lysozyme activity to 7–8 folds relative to control fish. However, the immune responses differ in time and depend on some factors, including the structure of the active substance and the composition of vaccine. Most immunostimulants contribute to a different degree to the increase in the activity and content of lysozyme in serum and organs of carps. The immune responses can be reversed depending on the dose of the active substance. The diversity of units of lysozyme activity makes it difficult to systematize immune responses even within a single fish species. The range of variation in serum lysozyme activity of *Cyprinus carpio* and *Labeo rohita* in studies of different researchers is very wide, which, probably, cannot correspond to adequate physiological values. There are data indicating the highest mortality among experimental fishes which have the highest serum lysozyme activity.

Keywords: lysozyme, activity, content, serum, organs, Cyprinidae, infection, injection