

УДК 597.552.1;146.33:577.15

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЛИЗОЦИМА В ОРГАНАХ И ТКАНЯХ САМОК ЩУКИ *Esox lucius* (Esocidae) ПРИ СОЗРЕВАНИИ ГОНАД

© 2023 г. М. Ф. Субботкин¹, *, Т. А. Субботкина¹

¹Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина (ИБВВ) РАН,
пос. Борок, Некоузский р-н, Ярославская обл., Россия

*e-mail: smif@ibiw.ru

Поступила в редакцию 08.11.2022 г.

После доработки 23.01.2023 г.

Принята к публикации 31.01.2023 г.

Изучали влияние развития гонад самок щуки *Esox lucius* с сентября по апрель на количественные показатели лизоцима — компонента неспецифической резистентности и размеры некоторых органов иммунной системы. Установлено, что в период созревания самок и развития гонад происходит существенное снижение концентрации лизоцима в сыворотке и селезенке. В это время размеры печени увеличиваются, а селезенки уменьшаются, индекс почек остается неизменным. Концентрация лизоцима в печени и сыворотке находится в обратной корреляции с увеличением гонад, но зависимость от размеров гонад слабая. Рост гонад и значительное увеличение размеров печени не влияет на лизоцимный индекс печени, отражающий общее количество фермента в этом органе. Обнаружено, что снижение концентрации фермента в печени пропорционально увеличению размеров органа. Концентрация лизоцима в сыворотке показала прямую связь с температурой воды водоема, но в органах такая зависимость не проявлялась. Количественные показатели фермента в селезенке и относительные размеры органа в исследуемый период оказались более связанными с температурой воды, чем с гонадосоматическим индексом. Процесс созревания гонад у самок, в сочетании с внешним воздействием температуры, оказывает как прямое, так и опосредованное влияние на количество лизоцима в тканях. Концентрация тканевого лизоцима как показателя с фиксированной размерностью может быть обусловлена не только состоянием иммунитета, но и изменениями размеров органов.

Ключевые слова: концентрация, лизоцимный индекс, соматический индекс, печень, почки, селезенка, сыворотка, температура

DOI: 10.31857/S0042132423030109, **EDN:** QQJJOY

ВВЕДЕНИЕ

Фермент лизоцим является одним из важных компонентов врожденного или неспецифического иммунитета рыб. Несмотря на большое внимание к изучению иммунного ответа рыб, о зависимости показателей, в том числе лизоцима, от физиологического состояния и соответствующего изменения размеров органов известно мало (Куровская и др., 2015). Большинство исследований проводится на объектах аквакультуры, тогда как рыбы из естественной среды обитания изучаются значительно реже. Поэтому особый интерес вызывает влияние нормальных жизненных процессов на количественные показатели иммунитета у диких рыб. Значительные колебания активности лизоцима в годовом цикле рыб обычно рассматриваются в сезонном или температурном аспекте (Bowden, 2008; Morgan et al., 2008; Abolfathi et al., 2020). При анализе активности или количества лизоцима конечный результат выражается в фиксированной размерности: г ткани органа, г белка

жидкости, мл, л и т.п. (Субботкин, Субботкина, 2018). Фиксированная размерность не учитывает морфофизиологические параметры органов в качестве целых структур, их размеры, массу у рыб разных размеров или внутри особи, а также изменение физиологического состояния.

Рост рыб и развитие половых продуктов в период подготовки к размножению сопровождаются существенными изменениями размеров внутренних органов (Куровская и др., 2015; Силкин и др., 2019; Сергеева, 2020; Бурлаков и др., 2021). В процессе созревания гонад количественные показатели лизоцима значительно варьируют (Heidari, Farzadfar, 2017), но как это может быть связано с изменениями размеров органов, в том числе выполняющими иммунные функции, ранее не изучалось и остается неясным.

В связи с этим цель работы — определение зависимости количественных показателей лизоцима в тканях и органах самок щуки от зрелости гонад.

Таблица 1. Морфофизиологические показатели самок щуки ($M \pm m$)

Время лова	Температура воды, °С*	Число рыб	Стадия зрелости гонад	Длина (l), см	Масса рыб, г		Масса органов, г	
					общая	печень	почки	селезенка
09.2017	13	4	II, II–III	47.9 ± 5.8	1020.0 ± 332.9	17.6 ± 6.7	7.3 ± 2.0	1.5 ± 0.6
10.2017	6	9	II, II–III	49.8 ± 3.7	1160.6 ± 221.6	22.2 ± 4.7	8.4 ± 1.7	1.4 ± 0.3
12.2017	0	7	II–III, III	60.7 ± 1.3	2170.0 ± 167.1	59.5 ± 6.2	14.5 ± 1.1	2.35 ± 0.3
01.2018	0	8	III–IV	61.0 ± 1.7	2258.7 ± 170.1	60.2 ± 5.9	15.1 ± 1.3	1.8 ± 0.2
04.2018	0	5	IV, IV–V	49.2 ± 2.4	1263.0 ± 235.3	25.5 ± 5.7	8.0 ± 1.6	1.1 ± 0.2

Примечание: * – по: Буторин и др., 1982.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования были самки щуки *Esox lucius* Рыбинского водохранилища, отловленные в районе п. Борок в период с сентября по апрель, до начала таяния льда. По открытой воде рыб отлавливали закидным неводом. Подо льдом отлов проводился ставными сетями и рыб отбирали через сутки после перебора сетей. Рыб обездвигивали резким ударом по голове, затем отбирали кровь из хвостовых сосудов, а также органы: печень, почки и селезенку – для анализа лизоцима. Стадии зрелости гонад определяли визуально (Сакун, Буцкая, 1963). Образцы тканей печени, почек, селезенки и сыворотки хранили в замороженном состоянии при -18°C в течение 3–10 дней до анализа. Концентрацию лизоцима в образцах определяли методом диффузии в агар, наиболее оптимальным для работы с окрашенными и мутными гомогенатами тканей. Методика основана на просветлении слоя агара вокруг лунки с образцом за счет лизиса клеток *Micrococcus lysodeikticus* под действием диффундирующего фермента из гомогената ткани органа или сыворотки. Диаметр зоны просветления пропорционален логарифму количества лизоцима в пробе. Концентрацию лизоцима в образцах рассчитывали на основе калибровочной кривой, построенной с использованием стандартного куриного лизоцима, и выражали в мкг/г ткани органа или мкг/мл сыворотки. Более подробно метод и подготовка образцов для анализа описаны в нашем сообщении (Субботкина, Субботкин, 2003).

В практике физиологических исследований для нивелирования размерно-массовых различий органов оценивают их морфофизиологические или соматические индексы. Для этого печень, почки, селезенку, гонады и тело рыб взвешивали, а индексы органов, в том числе гонадосоматический индекс (ГСИ), рассчитывали по формуле: отношение массы органа к массе тела без внутренностей $\times 100$. Общее количество фермента в органе ранее не определялось, и для его оценки нами предложен новый показатель – лизоцимный индекс органа, который позволяет нивелировать морфофизиологические различия органов, и с этих позиций

может быть другим объективным количественным критерием. Лизоцимный индекс рассчитывали по формуле: концентрация лизоцима в мкг/г ткани органа $\times$ соматический индекс органа. Оценивали общий размер органов иммунной системы как сумму их соматических индексов (СИО) и общее количество лизоцима в них (СЛИО). Всего были обследованы 33 самки щуки разного размера на разных стадиях зрелости гонад (СЗГ) (табл. 1).

Для статистического анализа небольшого количества объектов исследований использовали непараметрические критерии: Манна–Уитни (U) для сравнения выборок, коэффициент корреляции Спирмена (r_s), однофакторный анализ Краскела–Уоллиса (H). Все приведенные значения коэффициента корреляции r_s были достоверно значимые при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

За период наблюдений наиболее значимые изменения произошли в гонадах, соматический индекс которых увеличился в 7 раз. В зимние месяцы и апреле индекс печени также был значительно увеличен. Размер селезенки варьировал в меньшей степени, а у почек оставался неизменным. В совокупности направленность изменений относительной массы трех органов иммунной системы (СИО) повторяла изменения печени, как наиболее крупного органа ($r_s = 0.98$) (рис. 1).

Концентрация лизоцима в органах, кроме печени, не была стабильной в разные месяцы. В почках, несмотря на двукратную разницу между максимальными и минимальными значениями в зимний и весенний периоды, различия были не достоверные, что вероятно связано с чувствительностью критерия U для малочисленных выборок. В апреле, при наиболее высоких ГСИ, концентрация лизоцима в почках, селезенке и сыворотке была минимальная. В сезонном аспекте, с осени до весны, при значительном увеличении ГСИ в сыворотке выявлено максимальное 6-кратное снижение концентрации фермента (рис. 2).

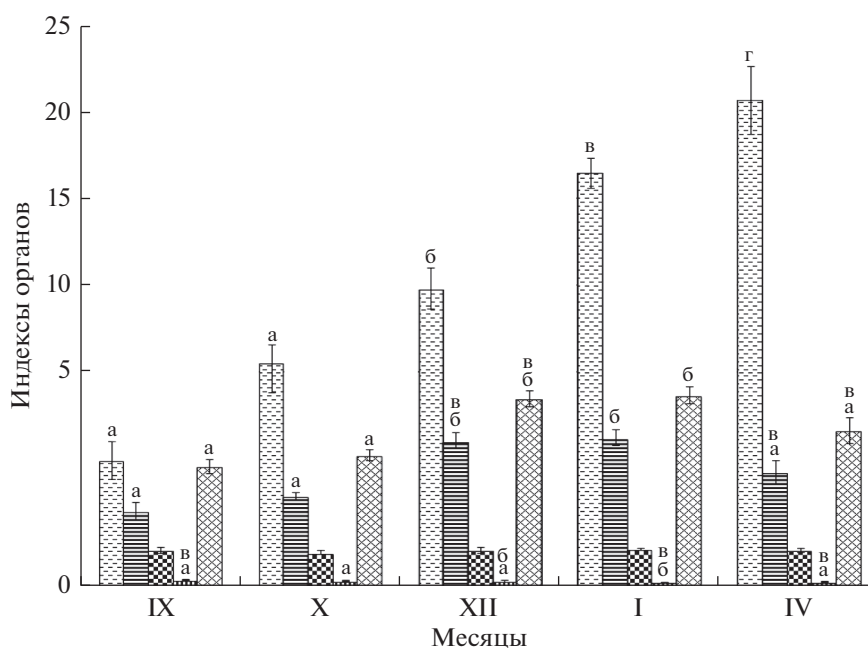


Рис. 1. Сезонные изменения соматических индексов органов шуки: — гонадосоматический индекс (ГСИ); — индекс печени; — индекс почек; — индекс селезенки; — сумма индексов органов иммунной системы (СИО). Разные буквы над столбцами обозначают достоверные различия для одного показателя.

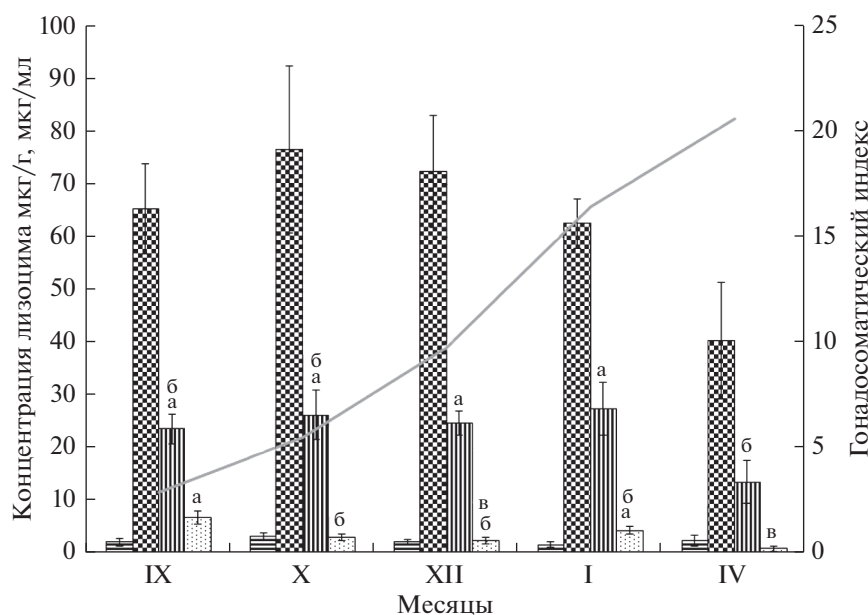


Рис. 2. Сезонная вариабельность концентрации лизоцима в тканях шуки: — печень, — почки, — селезенка, — сыворотка. / — ГСИ. Разные буквы над столбцами обозначают достоверные различия для одного показателя.

Увеличение СЗГ сопровождалось повышением соматического индекса печени и, напротив, снижением индекса селезенки при неизменном индексе почек (табл. 2). На этом фоне происходило снижение концентрации лизоцима в селезенке

и сыворотке. Обнаружено, что, несмотря на изменение относительной массы печени, лизоцимный индекс, то есть общее количество фермента в органе, оставался постоянным. При неизменном соматическом индексе почек наблюдалась отчет-

Таблица 2. Концентрация и индексные показатели лизоцима и органов самок щуки на разных стадиях зрелости гонад (СЗГ) ($M \pm m$)

СЗГ	Число рыб	Концентрация лизоцима мкг/г, мкг/мл				Соматические индексы органов		
		печень	почки	селезенка	сыворотка	печень	почки	селезенка
II, II–III	15	3.0 ± 0.5	75.1 ± 9.7	25.5 ± 3.0 а	4.0 ± 0.7 а	2.2 ± 0.2 а	0.8 ± 0.04	0.2 ± 0.01 а
III, III–IV	13	2.0 ± 0.3	64.3 ± 5.7	26.5 ± 3.1 а	4.0 ± 0.6 а	3.4 ± 0.1 б	0.8 ± 0.03	0.1 ± 0.01 б
IV, IV–V	5	2.5 ± 1.0	40.5 ± 11.0	13.7 ± 4.1 б	1.02 ± 0.6 б	2.7 ± 0.3 а	0.8 ± 0.04	0.1 ± 0.02 б

СИО	Лизоцимные индексы органов			СЛИО	ГСИ
	печень	почки	селезенка		
3.2 ± 0.2	6.3 ± 1.1	65.2 ± 9.0	4.0 ± 0.5 а	75.6 ± 10.1	5.0 ± 0.7 а
4.3 ± 0.1	6.7 ± 1.1	54.0 ± 5.4	2.9 ± 0.4 а.б	63.6 ± 5.9	14.3 ± 1.0 б
3.6 ± 0.3	6.5 ± 2.6	34.7 ± 9.2	1.6 ± 0.4 б	42.7 ± 8.9	20.7 ± 2.0 в

Примечание: разные буквы в столбцах обозначают достоверные различия для одного показателя при $p < 0.05$.

Таблица 3. Концентрация и индексные показатели лизоцима и органов самок щуки с разными гонадосоматическими индексами ($M \pm m$)

ГСИ	Число рыб	Концентрация лизоцима мкг/г, мкг/мл			
		печень	почки	селезенка	сыворотка
< 4	7	3.4 ± 0.8	72.0 ± 18.2	24.5 ± 3.2	6.1 ± 0.9 а
4–6*	3	3.6 ± 1.4	76.0 ± 13.3	26.3 ± 6.9	2.5 ± 0.4 б
6–11*	8	2.0 ± 0.4	66.1 ± 11.2	26.8 ± 4.6	2.8 ± 0.5 б
11–16*	7	2.2 ± 0.7	67.4 ± 11.4	21.4 ± 3.3	2.9 ± 1.0 а.б
16–28	8	2.1 ± 0.6	54.1 ± 6.9	22.6 ± 5.7	2.9 ± 0.9 б

Соматические индексы органов			СИО	Лизоцимные индексы органов			СЛИО
печень	почки	селезенка		печень	почки	селезенка	
1.9 ± 0.2 а	0.8 ± 0.05	0.2 ± 0.01 а	2.9 ± 0.2	6.3 ± 1.7	60.8 ± 15.0	4.2 ± 0.8	71.3 ± 17.1
2.3 ± 0.3 а.б	0.9 ± 0.1	0.2 ± 0.04 а.б	3.4 ± 0.5	8.6 ± 3.4	71.9 ± 22.8	4.3 ± 1.0	84.8 ± 25.8
2.8 ± 0.3 б	0.8 ± 0.04	0.1 ± 0.01 а.б	3.8 ± 0.3	5.5 ± 1.0	54.1 ± 10.7	3.3 ± 0.6	62.9 ± 11.5
3.1 ± 0.3 б	0.8 ± 0.03	0.1 ± 0.01 а.б	4.1 ± 0.3	6.3 ± 1.2	57.4 ± 10.4	2.5 ± 0.4	66.2 ± 10.7
3.2 ± 0.2 б	0.9 ± 0.02	0.1 ± 0.01 б	4.2 ± 0.2	7.1 ± 2.0	47.3 ± 5.4	2.5 ± 0.7	56.9 ± 6.4

Примечание: * – среднее значение ГСИ больше предыдущего в 2 раза. Разные буквы в столбцах обозначают достоверные различия для одного показателя при $p < 0.05$.

ливая тенденция снижения количественных показателей лизоцима при увеличении зрелости гонад. В селезенке все анализируемые параметры также понизились при увеличении СЗГ. Общее количество лизоцима в трех органах (СЛИО) показало тенденцию снижения на фоне увеличения СЗГ и определялось доминирующим количеством фермента в почках.

Анализ рыб с разными ГСИ выявил направленность изменений соматических индексов органов, подобную с СЗГ, где обнаружены значимые различия в печени и селезенке и стабильность индекса почек. Концентрация лизоцима в сыворотке была наиболее высокой при самых низ-

ких значениях ГСИ, затем с увеличением ГСИ она снизилась и поддерживалась на одинаковом уровне. С ростом ГСИ анализируемые параметры демонстрировали разнонаправленные изменения, однако не все они имели достоверное подтверждение (табл. 3).

Однофакторный анализ и корреляция выявили, что показатели печени самок щуки в большей степени, чем у других органов, связаны со зрелостью гонад. Соматический индекс печени проявлял высокую корреляцию с абсолютной массой гонад ($r_s = 0.78$), но меньше с СЗГ и ГСИ ($r_s = 0.53$ и $r_s = 0.56$ соответственно) и был связан с этими показателями, что также подтверждается критерием H

($p < 0.02$). Соматический индекс селезенки показал обратную корреляцию со всеми параметрами, отражающими зрелость гонад ($r_s = -0.46...-0.53$), однако связь этих показателей по критерию H была не существенная. Соматический индекс почек не зависел от размеров гонад.

Концентрация лизоцима в печени и сыворотке имела обратную корреляцию с разными параметрами гонад ($r_s = -0.35...-0.44$), но наибольшую зависимость от их абсолютной массы проявляла только концентрация лизоцима в печени ($H = 16.7$ при $p = 0.05$). В остальных случаях критерий H показал слабую зависимость фермента от размеров гонад. Наличие такой корреляции может указывать на опосредованное влияние созревания рыб на концентрацию лизоцима. В отличие от концентрации, общее количество лизоцима в печени оставалось постоянным и, соответственно, связи с гонадами не было. Вместе с тем концентрация лизоцима в печени показала высокую зависимость от его общего количества в органе ($r_s = 0.89$; $H = 26.6$ при $p = 0.002$). Данные в табл. 3 показывают, что с увеличением ГСИ концентрация фермента в печени снизилась в 1.67 раз, а соматический индекс органа возрос в 1.68 раз. Следовательно, изменение концентрации лизоцима в печени, как компонента неспецифического иммунитета, является результатом пропорционального увеличения размера органа, который, в свою очередь, тесно связан с размером гонад.

Концентрация лизоцима в селезенке не зависела от морфофизиологических параметров гонад. Лизоцимный индекс селезенки как показатель общего количества фермента имел обратную корреляцию с СЗГ и ГСИ ($r_s = -0.40$ и $r_s = -0.43$ соответственно), но его связь с гонадами по критерию H не выявлена. Вместе с тем концентрация фермента в селезенке в высокой степени зависела от его общего количества в органе ($r_s = 0.83$; $H = 23.9$ при $p = 0.004$).

Количество лизоцима в почках не зависело от размера гонад, однако оказалось связанным с селезенкой. Концентрация лизоцима в почках прямо коррелировала с индексом селезенки ($r_s = 0.56$). Общее количество фермента в почках также имело корреляцию с соматическим индексом селезенки ($r_s = 0.58$) и показало наличие слабой связи этих показателей по критерию Краскела–Уоллеса ($H = 14.0$ при $p = 0.05$). Лизоцим в почках показал еще большую связь с лизоцимным индексом селезенки, а именно, концентрация прямо коррелировала с общим количеством лизоцима в селезенке ($r_s = 0.62$), а лизоцимный индекс почек оказался в зависимости от количества фермента в селезенке ($r_s = 0.60$; $H = 17.0$ при $p < 0.05$). Концентрация фермента в почках оказалась в наивысшей зависимости от его общего количества в органе ($r_s = 0.96$; $H = 29.4$ при $p = 0.001$).

Развитие гонад щуки происходит в условиях меняющегося температурного фона окружающей среды. По данным (Буторин и др., 1982), температура воды в водоеме в течение рассматриваемого периода понижается в среднем на 13 градусов – до 0°C в зимне-весенний период. Все показатели зрелости гонад самок щуки, а также соматический индекс печени, имели обратную зависимость от температуры воды ($r_s = -0.75...-0.80$; $H = 17.9-21.3$ при $p < 0.001$). Индекс селезенки, напротив, имел прямую связь с этим фактором внешней среды ($r_s = 0.47$; $H = 7.15$ при $p < 0.05$). Концентрация лизоцима в сыворотке также показала прямую связь с температурой воды ($H = 6.81$ при $p < 0.05$), но корреляция была незначительная. С целью определить, какой из факторов – зрелость гонад или температура воды, оказывал влияние на лизоцим щуки, рыбы были поделены на группы с условно “низкими” (1.76–9.20) и “высокими” (13.11–27.50) ГСИ. В одном случае дифференцировка была выполнена независимо от температуры воды, во втором – с учетом температуры. Статистический анализ показал, что лизоцимный индекс селезенки, а также соматические индексы селезенки и печени, связаны с ГСИ щуки у селезенки в обратной зависимости, а у печени – в прямой. В случае дифференцировки рыб с учетом температурного фактора все значения коэффициента корреляции и критерия H были выше ($H = 6.25-13.86$, при $p < 0.01$), чем без такового ($H = 4.48-7.66$, при $p < 0.05$). В этом случае отрицательную корреляцию показала и концентрация лизоцима в селезенке ($r_s = -0.41$), но связь по критерию H была незначительная.

ОБСУЖДЕНИЕ

Щука обычно созревает в возрасте 3+ (Никольский, 1971). По данным (Иванова, Свирская, 2005), впервые нерестящиеся мелкие экземпляры достигают длины 36 см и массы 300 г. В проведенных исследованиях все рыбы относились к взрослым особям и, вероятно, имели потенциал для участия в размножении в следующем нерестовом сезоне.

Известно, что абсолютные и относительные размеры органов рыб непостоянны. Они могут зависеть от размеров тела, внутренних физиологических процессов в разные сезоны года (Medford, Mackay, 1978; Hansson et al., 2006; Bennett, Janz, 2007; Rohlenova et al., 2011), могут быть связаны с полом (Kortet et al., 2003). Однако о влиянии изменений размеров органов на показатели иммунитета, в зависимости от физиологического состояния рыб, известно мало (Куrowsкая и др., 2015).

Проведенные исследования показали, что за период наблюдений ГСИ самок щуки увеличился более чем в 7 раз. В органах иммунной системы произошло увеличение размеров печени и уменьшение размеров селезенки при стабильном соматическом

индексе почек. В совокупности относительная масса иммунных органов увеличилась более чем в 1.4 раза за счет доминирующего размера печени.

Анализ концентрации лизоцима показал наиболее значительное снижение уровня фермента в сыворотке крови. Увеличение размеров печени сопровождалось пропорциональным снижением концентрации лизоцима, но общее количество фермента в органе сохранялось на сопоставимом уровне при низких и высоких показателях зрелости гонад. В селезенке, наряду с уменьшением размера органа, у рыб с наиболее зрелыми гонадами наблюдалось не только снижение концентрации лизоцима, но и лизоцимного индекса, отражающего общее количество фермента. В почках, при неизменных размерах органа в процессе развития гонад наблюдалась тенденция снижения концентрации и общего количества лизоцима. При этом была выявлена прямая связь количественных показателей лизоцима в почках с общим количеством фермента и размером селезенки. Корреляция количественных показателей лизоцима в органах иммунной системы с размерами гонад, при отсутствии статистически значимой зависимости, может указывать на опосредованное влияние развития гонад на этот компонент неспецифической резистентности. На это также указывает зависимость количества лизоцима в почках от его количества в селезенке, поскольку общее количество фермента в селезенке и размер органа были более связанными с развитием гонад, чем в почках. В итоге, к концу периода созревания гонад самок щуки, общее количество фермента в трех органах в совокупности уменьшилось в 1.8 раз, главным образом за счет почек. Это показывает компромиссное сокращение энергетических затрат организма на иммунитет в пользу воспроизводства потомства (Viney et al., 2005).

Концентрация лизоцима в ткани органа, выражаемая в фиксированной размерности, показала очень сильную зависимость от общего количества фермента в органе и размеров самого органа. Это обнаружено на примере пропорционального изменения концентрации фермента и соматического индекса печени. Печень — один из крупных органов, ее соматический индекс примерно в 20 раз больше индекса селезенки, но концентрация лизоцима в селезенке, напротив, существенно выше таковой в печени. Как результат — лизоцимные индексы этих органов, отражающие общее количество фермента в них, оказываются показателями близкого сопоставимого уровня. Таким образом, концентрация лизоцима в органе является показателем, также зависящим от размера органа.

Развитие гонад самок щуки и подготовка к нересту проходит на фоне изменяющейся температуры водоема. Температура воды как абиотический фактор окружающей среды играет важную

роль в жизни пойкилотермных животных, таких как рыбы. Известно, что температурная зависимость лизоцима у рыб неоднозначна и может быть связана с экологией, видом и полом (Субботкин, Субботкина, 2016; Makrinos, Bowden, 2016; Paprezikova et al., 2016). В наших исследованиях только концентрация лизоцима в сыворотке крови показала прямую связь с температурой воды. При оценке доминирующего влияния зрелости гонад или температуры воды, лизоцим селезенки, а также размеры этого органа и печени, показывали большую связь с температурой воды в водоеме, чем с размерами гонад. Большее влияние на лизоцим температуры внешней среды, чем репродуктивная активность, включая созревание гонад, отмечено у самок и самцов каспийского кутума *Rutilus frisii kutum* с октября по май в период нерестовой миграции и нереста (Ghafoori et al., 2014; Heidari, Farzadfar, 2017).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования выявили следующее. Во-первых, показано, что развитие гонад созревающих самок щуки в период, предшествующий нересту, оказывало влияние на лизоцим — компонент врожденного иммунитета. С увеличением размеров гонад концентрация лизоцима во всех органах и сыворотке снижалась, что статистически подтверждено в селезенке и сыворотке и отрицательной корреляцией в печени. Количественные показатели фермента в почках, также имели тенденцию снижения при стабильном размере органа. Во-вторых, выявлено влияние размеров органов иммунной системы — источников лизоцима для анализа. Обнаружено, что при пропорциональном изменении соматического индекса печени и концентрации фермента в органе, общее количество лизоцима в нем поддерживалось на одном уровне. Таким образом, впервые показано, что вариабельность концентрации лизоцима может быть обусловлена изменением размеров органа, связанным с нормальным физиологическим процессом, а не только с воздействием факторов, вызывающим иммунный ответ. В связи с этим, возникает важная роль общего количества лизоцима в органах для более объективной оценки состояния неспецифического иммунитета, поскольку при определении концентрации не учитываются индивидуальные размеры органов. Общее количество лизоцима в печени и селезенке, в сравнении с почками, невелико, и оно не оказывает существенного влияния на общее количество фермента в трех исследованных органах. Динамика СЛИО определяется количеством лизоцима в почках, как органе, наиболее богатом этим ферментом, и в целом отражает тенденцию снижения его количества с ростом гонад. Обнаружена связь количественных показателей

лизосима в сыворотке и селезенке с температурой воды водоема.

Созревание половых продуктов самок щуки в сочетании с внешним фактором среды обитания, сопровождающееся морфофизиологическими изменениями органов, оказывает комплексное, как прямое, так и опосредованное влияние на параметры врожденного иммунитета рыб.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания Института биологии внутренних вод РАН (тема: 121051100104-6).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

При манипуляциях с рыбами международные, национальные и институциональные принципы использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бурлаков И.А., Крючков В.Н., Волкова И.В. Реакция почечек густеры (*Blicca bjoerkna*) дельты Волги на условия обитания // Вестн. АГТУ. Сер. Рыбное хоз-во. 2021. № 3. С. 142–149.
https://doi.org/10.24143/2073-5529-2021-3-142-149
- Буторин Н.В., Курдина Т.Н., Бакастов С.С. Температура воды и грунтов Рыбинского водохранилища. Л.: Наука, 1982. 224 с.
- Иванова М.Н., Свирская А.Н. Рост мелких и крупных сеголеток щуки *Esox lucius* в последующие годы жизни в мелководных прудах // Вопр. ихтиол. 2005. Т. 45 (3). С. 380–388.
- Куровская Л.Я., Лысенко В.Н., Неборачек С.И. Морфофизиологические показатели некоторых видов осетровых рыб (Acipenseridae, Acipenseriformes) разного возраста, выращиваемые в аквакультуре // Рибогосподарська наука України. 2015. № 1. С. 108–119.
- Никольский Г.В. Частная ихтиология. М.: Высшая школа, 1971. 471 с.
- Сакун О.Ф., Буцкая Н.А. Определение стадий зрелости и изучение половых циклов рыб. М.: Рыбное хозяйство, 1963. 36 с.
- Сергеева Н.П. Динамика массы индексов печени тресковых рыб восточной Камчатки в связи с созреванием гонад // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана. 2020. № 59. С. 5–26.
https://doi.org/10.15853/2072-8212.2020.59.5-26
- Силкин Ю.А., Василец В.Е., Силкина Е.Н. и др. Морфофизиологические характеристики черноморского саргана (*Belone belone euxini* Günter, 1866) в посленерестовом периоде у берегов Юго-Восточного Крыма // Экосистемы. 2019. № 17. С. 77–86.
- Субботкин М.Ф., Субботкина Т.А. Изменчивость содержания лизосима у леща Рыбинского водохранилища в разные сезоны годового цикла // Изв. РАН. Сер. биол. 2016. № 3. С. 309–314.
https://doi.org/10.7868/S0002332916020090
- Субботкин М.Ф., Субботкина Т.А. Влияние кормления и кормовых добавок на лизосим карповых рыб (Сем. Cyprinidae) // Успехи соврем. биол. 2018. Т. 138 (4). С. 409–424.
https://doi.org/10.7868/S0042132418040075
- Субботкина Т.А., Субботкин М.Ф. Содержание лизосима в органах и сыворотке крови у различных видов рыб р. Волги // Журн. эволюц. биохим. физиол. 2003. Т. 39 (5). С. 430–437.
- Abolfathi M., Akbarzadeh A., Hajimoradloo A., Joshaghani H.R. Seasonal changes of hydrolytic enzyme activities in the skin mucus of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* at different body sizes // Dev. Comp. Immunol. 2020. V. 103. P. 103499.
https://doi.org/10.1016/j.dci.2019.103499
- Bennett P.M., Janz D.M. Seasonal changes in morphometric and biochemical endpoints in northern pike (*Esox lucius*), burbot (*Lota lota*) and slimy sculpin (*Cottus cognatus*) // Freshwat. Biol. 2007. V. 52. P. 2056–2072.
https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2007.01819.x
- Bowden T.J. Modulation of the immune system of fish by their environment // Fish Shellfish Immunol. 2008. V. 25 (4). P. 373–383.
https://doi.org/10.1016/j.fsi.2008.03.017
- Hansson T., Lindesjö E., Forlin L. et al. Long-term monitoring of the health status of female perch (*Perca fluviatilis*) in the Baltic sea shows decreased gonad weight and increased hepatic EROD activity // Aquat. Toxicol. 2006. V. 79. P. 341–355.
https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.07.001
- Heidari B., Farzadfar F. Effects of temperature and gonadal growth on the lysozyme level of immune tissues in the male and female Caspian kutum (*Rutilus frisii kutum*) // Aquacult. Res. 2017. V. 48 (2). P. 377–385.
https://doi.org/10.1111/are.12886
- Ghafoori Z., Heidari B., Farzadfar F., Aghamaali M. Variations of serum and mucus lysozyme activity and total protein content in the male and female Caspian kutum (*Rutilus frisii kutum*, Kamensky 1901) during reproductive period // Fish Shellfish Immunol. 2014. V. 37 (1). P. 139–146.
https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.01.016
- Kortet T.R., Taskinen J., Sinisalo T., Jkinen I. Breeding-related seasonal changes in immunocompetence, health state and condition of the cyprinid fish, *Rutilus rutilus* L. // Biol. J. Linn. Soc. 2003. V. 78. P. 117–127.
https://doi.org/10.1046/j.1095-8312.2003.00136.x
- Makrinos D.L., Bowden T.J. Natural environmental impacts on teleost immune function // Fish Shellfish Immunol. 2016. V. 53. P. 50–57.
https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.03.008
- Medford B.A., Mackay W.C. Protein and lipid content of gonads, liver, and muscle of northern pike (*Esox lucius*) in relation to gonad growth // J. Fish. Res. Board Can. 1978. V. 35. P. 101–106.

1978. V. 35. P. 213–219.
<https://doi.org/10.1139/f78-035>
- Morgan A.L., Thompson K.D., Auchinachie N.A., Migaud H. The effect of seasonality on normal haematological and innate immune parameters of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* L. // Fish Shellfish Immunol. 2008. V. 25 (6). P. 791–799.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2008.05.011>
- Papežíková I., Mares J., Vojtek L. et al. Seasonal changes in immune parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and brook trout × Arctic charr hybrids (*Salvelinus fontinalis* × *Salvelinus alpinus* alpinus) // Fish Shellfish Immunol. 2016. V. 57. P. 400–405.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.08.048>
- Rohlenova K., Morand S., Hyršl P. et al. Are fish immune systems really affected by parasites? An immunoeological study of common carp (*Cyprinus carpio*) // Parasit. Vectors. 2011. V. 4. P. 120.
<https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-120>
- Viney M.E., Riley E.M., Buchanan K.L. Optimal immune responses: immunocompetence revisited // Trends Ecol. Evol. 2005. V. 20 (12). P. 665–669.
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.10.003>

The Effect of Gonads Maturation on Lysozyme of Pike Females *Esox lucius* (Esocidae)

M. F. Subbotkin^a * and T. A. Subbotkina^a

^aPapanin Institute of Inland Water Biology, Russian Academy of Sciences, Borok, Nekouzskii district, Yaroslavl oblast, Russia

*e-mail: smif@ibiw.ru

The effect of the gonad development in the pike *Esox lucius* females on the quantitative parameters of the lysozyme, a component of nonspecific resistance, and the size of some the immune system organs was studied from September to April. The variability of the lysozyme concentration as an indicator of the amount of enzyme in a fixed dimension, as well as the total amount of lysozyme in the whole organ was evaluated. It is established that during the period of female maturation and gonad development the concentration of lysozyme in the serum and spleen significantly decreases. At this time, the size of the liver increases, and the spleen decreases, the kidney index remains unchanged. The concentration of lysozyme in the liver and serum is inversely correlated with the increase of the gonads, but the dependence on the gonads size is weak. The growth of the gonads and a significant increase in the size of the liver do not affect the lysozyme index of the liver, which reflects the total amount of the enzyme in this organ. It was found that the decrease in the enzyme concentration in the liver is proportional to the increase in the size of the organ. A direct relationship was found between the quantitative parameters of the lysozyme in the kidney and the total amount of the enzyme and the size of the spleen, therefore, a decrease in the concentration and total amount of lysozyme in the kidney may be a manifestation of the indirect effect of gonad maturation. The concentration of lysozyme in the serum showed a direct relationship with the water temperature of the water body, but such a relationship was not manifested in the organs. In the studied period, the quantitative parameters of the enzyme in the spleen and the relative size of the organ turned out to be more related to the water temperature than to the gonadosomatic index. The maturation of the gonads in females, combined with the external influence of temperature, has both a direct and indirect effect on the concentration of lysozyme in tissues. The concentration of tissue lysozyme as an indicator with a fixed dimension can be determined not only by the state of immunity, but also by changes in the size of organs. Determination of the total amount of lysozyme in the immune system organs increases the objectivity of assessing the influence of the physiological state of the organism on the nonspecific immunity of fish.

Keywords: concentration, lysozyme index, somatic index, liver, kidneys, spleen, serum, temperature