

НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ИММУНИТЕТА ЛЕЩА САРАТОВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

Т. А. Суворова^{1,*}, Д. В. Микряков¹, Г. И. Пронина²,
А. С. Мамонова³, А. В. Герман¹, С. В. Кузьмичева¹

¹ Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН

152742 пос. Борок, Ярославская область, Некоузский р-н, e-mail: *tanya@ibiw.ru

² Российский государственный аграрный университет МСХА им. К.А. Тимирязева
127434 г. Москва, ул. Тимирязевская, 47

³ Всероссийский научно-исследовательский институт интегрированного рыбоводства
142460 пос. им. Воровского, Московская область, Ногинский район

Поступила в редакцию 16.10.2023

Проведено исследование некоторых параметров неспецифического гуморального и клеточного иммунитета у особей леща Саратовского водохранилища. Изучен уровень антимикробных свойств и С-реактивного белка сыворотки крови, неспецифических иммунных комплексов в тканях почки, селезенки и печени, определена доля иммунодефицитных особей и фагоцитарная активность нейтрофилов. Исследование показало значимые различия показателей антимикробных свойств сыворотки крови и содержания неферментного катионного белка в лизосомах нейтрофилов периферической крови у лещей из центральной части и низовьев водоема. У большинства исследованных особей зафиксирован положительный уровень С-реактивного белка. Выявленные различия, вероятно, обусловлены воздействием на организм лещей различных экологических факторов.

Ключевые слова: лещ *Abramis brama*, неспецифический иммунитет, сыворотка крови, бактерицидная активность, неспецифические иммунные комплексы, С-реактивный белок, фагоцитарная активность нейтрофилов.

DOI: 10.47021/0320-3557-2024-60-67

ВВЕДЕНИЕ

В современных условиях возрастает актуальность биологического мониторинга водоемов. Для диагностирования изменений окружающей среды одна из важнейших задач – изучение физиологического состояния организмов.

Саратовское – одно из самых крупных водохранилищ Волжско-Камского каскада, относится к водохранилищам речного типа. Оно имеет объем при нормальном подпорном горизонте (НПГ) 12.9 км³, длину распространения подпора от плотины 157 км, наибольшую ширину 25 км. Качество воды Саратовского водохранилища формируется под влиянием переноса загрязняющих веществ из Куйбышевского водохранилища и сброса загрязненных сточных вод предприятий и населенных пунктов Самарской и Саратовской областей [Лямперт и др., 2022 (Lyampert et al., 2022); Беспалова, 2018 (Bespalova, 2018)].

Сравнение качества воды верхних и нижних участков водохранилища по уровню химического потребления кислорода, содержанию тяжелых металлов и растворенного кислорода не показало существенных различий, что позволяет отнести качество воды на всем протяжении водохранилища к классу 3А “загрязненная” [Обзор..., 2021 (Obzor..., 2021)]. Дополнительным фактором снижения качества воды может быть массовое развитие синезеленых водорослей, биомасса которых возрастает в направлении

от верхнего участка водохранилища к нижнему [Герасимова, 1996 (Gerasimova, 1996); Селезнева, 2018 (Selezneva, 2018)]. С наличием в Саратовском водохранилище комплекса загрязняющих веществ связывают увеличение частоты разнообразных патологий эритроцитов и отклонений гематологических параметров у массовых видов рыб и морфологических аномалий молоди рыб [Минеев, 2007; 2020 (Mineev, 2007, 2020)].

Среди промысловых рыб ихтиофауны Волжско-Каспийского бассейна ведущее место занимает лещ *Abramis brama* L. [Завьялов и др., 2007 (Zavyalov et al., 2007); Ермолин, 2010 (Ermolin, 2010)]. По типу питания лещ – типичный бентофаг с широким спектром питания: для молоди большое значение играет зоопланктон, крупные особи могут поедать молодь рыб, но основным видом пищи служат донные беспозвоночные – личинки насекомых, моллюски, черви, ракообразные и др. [Атлас..., 2002 (Atlas..., 2002)]. Высокая численность вида, длительный жизненный цикл и отсутствие протяженных миграций позволяет использовать его в качестве биоиндикатора при осуществлении программ мониторинга экосистем и оценки экологического состояния водоемов.

Цель работы – исследование иммунологических показателей леща Саратовского водохранилища.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Отлов рыбы проводили в сентябре 2019 г. в ходе комплексной гидробиологической экспедиции на научно-исследовательском судне “Академик Топчиев” ИБВВ РАН донным тралом. Траление проводили на трех стандартных станциях: 1 – Широкий Буерак, 2 – Хвалынский, 3 – Кашпир-Рудник (табл. 1; см. рисунок). Первые две – низовье водохранилища, а третья – центральная часть. Всего было исследовано 18 одноразмерных особей леща средней массой 491 ± 0.06 г и длиной (SL) 30.40 ± 1.16 см.

Таблица 1. Характеристика места отбора проб

Table 1. Characteristics of the sampling site

Показатель Indicator	Широкий Буерак Shiroky Buerak	Хвалынский Khvalynsk	Кашпир- Рудник Kashpir- Rudnik
Т воды, °С T water, °С	17.8	17.6	17.5
Т воздуха, °С Air T, °С	12.7	16.8	17.0
Глубина, м Depth, m	21–29	20–25	15–20



Рисунок. Карта-схема Саратовского водохранилища.

Figure. Schematic map of the Saratov reservoir.

У рыб проводили отбор крови из хвостовой вены для исследования бактериостатической активности сыворотки крови (БАСК), доли иммунодефицитных (ИМД) особей, содержания неспецифических иммунных комплексов (ИК), уровня С-реактивного белка (СРБ) и фагоцитарной активности (ФА) нейтрофилов. Для определения ФА делали мазки, которые фиксировали в 5%-ном растворе сульфосалициловой кислоты в течение 60–90 с, промыва-

ли дистиллированной водой, высушивали. Затем окрашивали 0.1%-ным раствором бромфенолового синего в боратном буфере в течение 1–2 мин. После чего трижды промывали 0.05 М раствором боратного буфера по 1–3 мин. На следующем этапе докрашивали ядра 1%-ным раствором сафранина в течение 30–60 с. Затем промывали проточной водой и высушивали на воздухе.

Для получения сыворотки кровь рыб собирали в сухую стерильную пробирку. Пробирку с кровью оставляли в штативе на 1 ч при комнатной температуре, а потом выдерживали 1 сут в холодильнике при 4°C для свертывания крови и ретракции сгустка. После этого сыворотку забирали шприцем с тонкой иглой и переносили в пробирку Эппендорфа. После вскрытия у рыб также отбирали кусочки почки, селезенки и печени, которые помещали в сухие стерильные пробирки. Пробы сыворотки крови и органов замораживали в морозильной камере при температуре минус 18–20°C. В лабораторных условиях непосредственно перед анализом пробы размораживали при комнатной температуре. Для исследования уровня ИК из почки, селезенки и печени готовили гомогенат с физиологическим раствором в соотношении 1:6.

БАСК оценивали нефелометрическим методом в модификации В.Р. 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 рыбо-пептонном бульоне в присутствии сыворотки (опыт) и без нее (контроль) определяли после 5–6-часовой инкубации при температуре 26°C. Оценивали изменения 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%-ным полиэтиленгликолем молекулярной массой 6000 [Гриневиц, Алферов, 1981 (Grinevich, Alferov, 1981)].

Уровень СРБ определяли визуально по реакции агглютинации латекс-реагента с сывороткой крови, используя набор реагентов СРБ-Ольвекс. Исследования и оценку реакции проводили согласно инструкции по применению набора.

ФА определяли по содержанию неферментного катионного белка в лизосомах нейтрофилов периферической крови цитохимическим методом с бромфеноловым синим [Шубич, 1974 (Schubich, 1974)], адаптированным для гидробионтов. Микроскопическое исследование мазков проводили под цифровым микроскопом Optika DM-15 с увеличением

($\times 600$) просматривая по 100 клеток в каждом мазке. По степени фагоцитарной активности исследуемые клетки делили на 4 группы (0–3 балла): 0 – гранулы катионного белка отсутствуют, 1 – единичные гранулы, 2 – гранулы занимают примерно 1/4 цитоплазмы, 3 – гранулы занимают более 1/4 цитоплазмы. Средний цитохимический коэффициент (СЦК) рассчитывали по формуле:

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

где N_0, N_1, N_2, N_3 – соответственно число нейтрофилов с активностью 0, 1, 2 и 3 балла;

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 И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных результатов показал, что лебеди, отловленные на разных станциях, различались по исследованным показателям гуморального иммунитета (табл. 2, 3).

Иммунитет (от лат. *Immunitas* – освобождение от чего-либо) – состояние невосприимчивости организма к воздействию болезнетворных агентов, продуктов их жизнедеятельности, а также генетически чужеродных ве-

ществ, обладающих антигенными свойствами. Различают врожденный (неспецифический) и приобретенный (специфический) иммунитет. Приобретенный иммунитет высокоспецифичен в отношении каждого конкретного возбудителя. Врожденные факторы защиты в организме выполняют функции нейтрализации и лизиса чужеродных тел.

Таблица 2. Иммунологические показатели сыворотки крови

Table 2. Immunological parameters of blood serum

Станция Station	БАСК, % BABS, %	ИМД, % IMI, %	СРБ CRP	СЦК ACC
Широкий Буерак (1) Shiroky Buerak (1)	41.50 \pm 5.77	0	>6 у 82%	1.93 \pm 0.03
Хвалынский (2) Khvalynsk (2)	39.25 \pm 6.81	0	>6 у 75%	1.78 \pm 0.18
Кашпир-Рудник (3) Kashpir-Rudnik (3)	76.73 \pm 11.58 ^{1,2}	0	>6 у 75%	1.59 \pm 0.04 ¹
Среднее по станциям Average by station	48.82 \pm 5.47	0	Положительный более чем у 75%	1.78 \pm 0.06

Примечание. Здесь и в таблице 3: “^{1,2}” – значимые различия показателей между станциями.

Note. Here and in table 3: “^{1,2}” – significant differences in indicators between stations.

Таблица 3. Содержание неспецифических иммунных комплексов, у.е.

Table 3. Content of nonspecific immune complexes, c.u.

Станция Station	Сыворотка Serum	Печень Liver	Почки Kidneys	Селезенка Spleen
Широкий Буерак (1) Shiroky Buerak (1)	6.36 \pm 2.55	3.84 \pm 0.97	1.34 \pm 0.53	1.96 \pm 0.45
Хвалынский (2) Khvalynsk (2)	6.56 \pm 1.97	9.70 \pm 3.79	2.62 \pm 1.32	1.32 \pm 0.69
Кашпир-Рудник (3) Kashpir-Rudnik (3)	9.40 \pm 2.75	2.45 \pm 1.46	1.67 \pm 0.86	2.12 \pm 0.62
Среднее по станциям Average by station	7.17 \pm 1.46	4.83 \pm 1.16	1.70 \pm 0.44	1.85 \pm 0.31

Сыворотка крови рыб выполняет широкий спектр защитных функций, направленных на поддержание постоянства внутренней среды при нарушении гомеостаза. Интегрированным выражением противомикробных свойств гуморального звена неспецифического иммунитета служит БАСК. Этот показатель отражает функционирование всего комплекса механизмов естественного иммунитета (системы комплемента, пропердина, иммуноглобулинов, лизоцима, протеасом, С-реактивного белка, бактериолизинов и т.д.), [Микряков, 1991 (Mikryakov, 1991); Койко и др., 2008 (Koiko et al., 2008); Ройт и др., 2000 (Roit et al., 2000); Van Muiswinkel, Vervoorn-Van der Wal, 2006; Van der Marel, 2012 и др.]. Проведенные ранее исследования закономерностей изменения БАСК у разных по экологии видов рыб показали связь антимикробной функции сыворотки крови с физиолого-биохимическим состоянием организма, интенсивностью заражения паразитами и уровнем антропогенного загрязнения водоема [Микряков, 1984 (Mikryakov, 1984); Силкина, 1988 (Silkina, 1988); Микряков, Микряков, 2015 (Mikryakov, Mikryakov, 2015) и Микряков и др., 2001; 2011 (Mikryakov et al., 2001; 2011) и др.]. Иммунодефицитных особей в водохранилище зафиксировано не было. В сыворотке крови рыб со ст. Кашпир-Рудник величина БАСК достоверно превышала таковую у особей с других станций (табл. 2). Это указывает на более высокую функциональную активность неспецифических факторов иммунной системы у лещей, обитающих в центральной части водохранилища.

Различия в уровне БАСК повлияли на количественное содержание ИК в сыворотке крови и печени (табл. 3). 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 клиренс 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 (Roit et al., 2000); Койко и др., 2008 (Koiko et al., 2008)]. Более высокие показатели ИК в тканях печени

лещей со ст. 3 и сыворотке крови с 3 ст. указывают на активную работу иммунной системы по нейтрализации чужеродного антигена. Обнаруженные отличия в интенсивности образования ИК, вероятно, связаны с уровнем антропогенного загрязнения водоема. Ранее в акваториях вблизи крупных промышленных и транспортных центров, в том числе Балаково и Хвалынский (расположенных недалеко от станций 1 и 2), отмечен высокий процент рыб с морфофизиологическими нарушениями и ярко выраженными симптомами интоксикации [Минеев, 2023 (Mineev, 2023)]. Также, возможно, на это влияет заражение большинства особей леща диплозоидами *Diplozoon paradoxum* [Кузьмичева и др., 2022 (Kuzmicheva et al., 2022)]. Данные эктопаразиты питаются кровью, инициируя ответную реакцию иммунной системы организма хозяина. Это подтверждается повышенной долей эозинофилов в иммунокомпетентных органах исследованных лещей [Суворова, Герман, 2021 (Suvorova, German, 2021)]. Интенсивность синтеза этих клеток повышается при паразитарных инвазиях и аллергических реакциях организма, в том числе на различные ксенобиотики [Пронина, Пронин, 1988 (Pronina, Pronin, 1988); Микряков и др., 2001 (Mikryakov et al., 2001)].

Наличие воспалительных процессов в организме леща Саратовского водохранилища подтверждают исследования уровня СРБ. Этот белок острой фазы – наиболее чувствительный лабораторный маркер инфекционных процессов, воспаления и тканевого повреждения. Установлено, что у большинства (>75%) особей леща зафиксирован положительный (>6 мг/л), а у остальных отрицательный (<6 мг/л) показатель (табл. 2). СРБ – один из ключевых компонентов гуморального врожденного иммунитета, обеспечивает связь между врожденной и адаптивной иммунной системами [Назаров, 2010 (Nazarov, 2010)], способный распознавать микробы и способствовать их поглощению фагоцитами [Bottazzi et al., 2010; Lee et al., 2017]. В сыворотке здорового организма СРБ отсутствует, но его уровень быстро и многократно увеличивается при инфекционных и паразитарных заболеваниях.

При исследовании ФА – показателя клеточного иммунитета обнаружены отличия по количеству неферментного катионного белка в лизосомах нейтрофилов у лещей из разных акваторий (табл. 2). Известно, что нейтрофильный гранулоцит одним из первых реагирует на развитие воспалительного процесса в организме, участвуя в фагоцитозе. Результаты лизосомально-катионного теста показали, что

на ст. 3 содержание неферментного катионного белка в лизосомах нейтрофилов ниже, чем на других станциях. Это, скорее всего, обусловлено различиями интенсивности клеточного иммунного ответа организма на воздействие патогенов. Снижение содержания катионного белка в лизосомах нейтрофилов иммуноустойчивых особей фиксируют при контакте с пато-

геном, в т.ч. во время эпизоотий [Власенко, Вишневецкий, 2020 (Vlasenko, Vischnevskii, 2020)]. Ранее нами были получены результаты по уменьшению СЦК у краснухоустойчивых пород карпа [Пронина и др., 2015 (Pronina et al., 2015)] и в гемоцитах не заболевших речных раков при вспышке ржавопятнистого заболевания [Pronina et al., 2022].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволило установить количественные показатели гуморального и клеточного иммунитета лещей Саратовского водохранилища. Рыбы, отловленные в центральной части водохранилища достоверно отличались высоким уровнем БАСК и низким содержанием неферментного катионного белка в лизосомах нейтрофилов периферической крови. У большинства особей зафик-

сирован положительный уровень СРБ, а отличия в содержании ИК в тканях и органах не были достоверны. Обнаруженные различия между особями из разных частей водоема, вероятно, связаны с воздействием на организм лещей различных экологических факторов. Полученные данные можно использовать для мониторинга состояния здоровья рыб.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания № 121050500046-8.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Атлас пресноводных рыб России. Т. 1. М.: Наука, 2002. 379 с.
- Беспалова К.В. Анализ экологического состояния Саратовского и Куйбышевского водохранилищ // Татищевские чтения: актуальные проблемы науки и практики: Материалы XV Международной научно-практической конференции. Том 1. Тольятти: Волжский университет имени В.Н. Татищева (институт), 2018. С. 150–158.
- Власенко В.С., Вишневецкий Е.А. Сравнительная характеристика кислородзависимой и кислороднезависимой бактерицидных систем нейтрофилов при лейкозной инфекции // Вестник КрасГАУ. 2020. № 11 (164). С. 170–174.
- Герасимова Н.А. Фитопланктон Саратовского и Волгоградского водохранилищ. Тольятти: ИЭВБ РАН, 1996. 200 с.
- Гриневич Ю.А., Алферов А.Н. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных // Лаб. дело. 1981. № 8. С. 493–496.
- Ермолин В.П. Состав ихтиофауны Саратовского водохранилища // Вопросы ихтиологии. 2010. Т. 50, № 2. С. 280–284.
- Завьялов Е.В., Ручин А.Б., Шляхтин Г.В. и др. Рыбы севера Нижнего Поволжья: Кн. 1. Состав ихтиофауны, методы изучения. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2007. 208 с.
- Койко Р., Саншайн Д., Бенджамини Э. Иммунология. М.: Изд. центр “Академия”, 2008. 368 с.
- Кузьмичева С.В., Микряков Д.В., Балабанова Л.В. Уровень заражения моногенейми лещей, обитающих в водохранилищах Волги // Рыбоводство и рыб. хоз-во. 2022. № 2 (193). С. 138–148. DOI: 10.33920/sel-09-2202-05.
- Лямперт Н.А., Лобченко Е.Е., Ничипорова И.П. Динамика качества воды р. Волга за период с 2016 по 2020 год // Наука, образование, молодежь: горизонты развития: Материалы II Национальной научно-практической конференции. Керчь: ФГБОУ ВО “Керченский государственный морской технологический университет”, 2022. 472 с.
- Микряков В.Р. Закономерности формирования приобретенного иммунитета у рыб. Рыбинск: ИБВВ РАН, 1991. 154 с.
- Микряков В.Р. Закономерности функционирования иммунной системы пресноводных рыб: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Москва, 1984. 37 с.
- Микряков В.Р., Балабанова Л.В., Заботкина Е.А. и др. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление среды. М.: Наука, 2001. 126 с.
- Микряков В.Р., Микряков Д.В. Иммунологическая индикация здоровья рыб // Вопросы ихтиологии. 2015. Т. 55, № 1. С. 119–123.
- Минеев А.К. Морфологические нарушения у рыб Средней и Нижней Волги. Тольятти: Анна, 2020. 104 с.
- Минеев А.К. Морфологический анализ и патологические изменения структуры клеток крови у рыб Саратовского водохранилища // Вопросы ихтиологии. 2007. Т. 47, № 1. С. 93–100.
- Минеев А.К. Морфофизиологические аспекты развития стресса у рыб в условиях изменения климата и интенсификации антропогенной нагрузки на водоемы средней и нижней Волги // Биосфера. 2023. Т. 15, № 2. С. 111–127.
- Назаров П.Г. Пентраксины в реакциях врожденного и приобретенного иммунитета, организации матрикса, фертильности // Медицинский академический журн. 2010. Т. 10, № 4. С. 107–124. DOI: 10.17816/MAJ104107-124.

- Обзор состояния и загрязнения окружающей среды на территории деятельности Саратовского ЦГМС – филиала ФГБУ “Приволжское УГМС” за 2021 год. Саратов, 2021. 92 с.
- Пронина Г.И., Корягина Н.Ю., Иванов А.А. Физиолого-иммунологические адаптации карпа к краснухе // Известия ТСХА, 2015. № 5. С. 94–105.
- Пронина С.В., Пронин Н.М. Взаимоотношения в системах гельминт-рыбы. М.: Наука, 1988. 176 с.
- Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. Пер. с англ. М.: Мир, 2000. 592 с.
- Селезнева А.В. Оценка диффузного загрязнения Саратовского водохранилища // Водное хозяйство России. 2018. № 5. С. 101–115.
- Силкина Н.И. Сезонная динамика липидов сыворотки крови и ее связь с иммунологической реактивностью. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Москва, 1988. 17 с.
- Суворова Т.А., Герман А.В. Состав лейкоцитов леща Саратовского водохранилища // Рыбоводство и рыб. хозяйство. 2021. № 2. С. 44–51. DOI: 10.33920/sel-09-2102-04.
- Шубич М.Г. Выявление катионного белка в цитоплазме лейкоцитов с помощью бромфенолового синего. Цитология. 1974. Т. 16, № 10. С. 1321–1322.
- Bottazzi B., Doni A., Garlanda C., Mantovani A. An integrated view of humoral innate immunity: pentraxins as a paradigm // *Ann. Rev. Immun.* 2010. Vol. 28. P. 157–183.
- Lee P.T., Bird S., Zou J. Martin S.A.M. Phylogeny and expression analysis of C-reactive protein (CRP) and serum amyloid-P (SAP) like genes reveal two distinct groups in fish // *Fish & Shellfish Immunology*. 2017. Vol. 65. P. 42–51.
- Pronina G.I., Koryagina N.Y., Trenkler I.V. Influence of rusty-spotted disease on river crayfish in aquaculture // *AACL Bioflux*. 2022. Vol. 15(1). P. 407–414.
- Schaperclaus W. *Fischkrankheiten*. Berlin: Academic-Verlag, 1979. 317 p.
- Van der Marel M.C. *Carp mucus and its role in mucosal defense*: PhD Thesis, Wageningen University. The Netherlands. 2012. 189 p.
- Van Muiswinkel W., Vervoorn-Van Der Wal B. The immune system of fish // *Fish Diseases Disorders*. 2006. Vol. 1. P. 678–701.

REFERENCES

- Atlas of freshwater fish of Russia. T. 1. M., Nauka, 2002, 379 p. (In Russian)
- Bespalova K.V. Analysis of the ecological state of the Saratov and Kuibyshev reservoirs. *Tatishchevskie chteniya: aktual'nye problemy nauki i praktiki: Materialy XV Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii. Tom 1* [Tatishchev readings: current problems of science and practice: Materials of the XV International Scientific and Practical Conference. Volume 1]. Tol'yatti, Volzhskij universitet imeni V.N. Tatishcheva, 2018, pp. 150–158. (In Russian)
- Bottazzi B., Doni A., Garlanda C., Mantovani A. An integrated view of humoral innate immunity: pentraxins as a paradigm. *Ann. Rev. Immun.*, 2010, vol. 28, pp. 157–183.
- Ermolin V.P. Sostav ihtiofauny Saratovskogo vodohranilishcha [Composition of the Ichthyofauna of the Saratov Reservoir]. *Ichthyology*, 2010, vol. 50, no. 2, pp. 280–284. (In Russian)
- Gerasimova N.A. Phytoplankton of the Saratov and Volgograd reservoirs. Tol'yatti, IEVB RAN, 1996. 200 p. (In Russian)
- Grinevich Yu.A., Alferov A.N. Opredelenie immunnykh kompleksov v krovi onkologicheskikh bol'nykh [Determination of immune complexes in the blood of cancer patients]. *Lab. delo*, 1981, no. 8, pp. 493–496. (In Russian)
- Kojko R., Sanshajin D., Bendzhamini E. *Immunologiya*. M., Izd. centr “Akademiya”. 2008. 368 p. (In Russian)
- Kojko R., Sanshajin D., Bendzhamini E. *Immunologiya*. M., Izd. centr “Akademiya”, 2008. 368 p. (In Russian)
- Kuz'micheva S.V., Mikryakov D.V., Balabanova L.V. Uroven' zarazheniya monogeneyami leshchej, obitayushchih v vodohranilishchah Volgi [Infection level of monogenea breams living in Volga reservoirs]. *Rybovodstvo i ryb. hoz-vo*, 2022, no. 2 (193), pp. 138–148. doi: 10.33920/sel-09-2202-05.
- Lee P.T., Bird S., Zou J. Martin S.A.M. Phylogeny and expression analysis of C-reactive protein (CRP) and serum amyloid-P (SAP) like genes reveal two distinct groups in fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, vol. 65, pp. 42–51.
- Lyampert N.A., Lobchenko E.E., Nichiporova I.P. Dynamics of river water quality Volga for the period from 2016 to 2020. *Nauka, obrazovanie, molodezh': gorizonty razvitiya: Materialy II Nacional'noj nauchno-prakticheskoy konferencii* [Science, education, youth: development horizons: Materials of the II National Scientific and Practical Conference]. Kerch', FGBOU VO “Kerchenskij gosudarstvennyj morskoy tekhnologicheskij universitet”, 2022. 472 p. (In Russian)
- Mikryakov V.R. Patterns of formation of acquired immunity in fish. Rybinsk, IBVV RAN, 1991. 154 p. (In Russian)
- Mikryakov V.R. Zakonomernosti funkcionirovaniya immunoj sistemy presnovodnykh ryb. *Extended Abstract of PhD. Biol. Sci. Diss.* Moscow, 1984. 37 p. (In Russian)
- Mikryakov V.R., Balabanova L.V., Zobotkina E.A. i dr. Reaction of the fish immune system to water pollution with toxicants and acidification of the environment. M., Nauka, 2001. 126 p. (In Russian)
- Mikryakov V.R., Mikryakov D.V. Immunologicheskaya indikaciya zdorov'ya ryb [Immunological indication of fish health]. *Ichthyology*, 2015, vol. 55, no. 1, pp. 119–123. (In Russian)
- Mineev A.K. Morfofiziologicheskie aspekty razvitiya stressa u ryb v usloviyah izmeneniya klimata i intensifikacii antropogennoj nagruzki na vodoyomy srednej i nizhnej Volgi [Morphophysiological aspects of the development of stress in fish under conditions of climate change and intensified anthropogenic load on water bodies of the middle and lower Volga]. *Biosfera*, 2023, vol. 15, no. 2, pp. 111–127. (In Russian)

- Mineev A.K. Morfologicheskij analiz i patologicheskie izmeneniya struktury kletok krovi u ryb Saratovskogo vodohranilishcha [Morphological analysis and pathological changes in the structure of blood cells in fish of the Saratov reservoir]. *Voprosy ihtiologii*, 2007, vol. 47, no. 1, pp. 93–100. (In Russian)
- Mineev A.K. Morphological disorders in fish of the Middle and Lower Volga. Tol'yatti, Anna, 2020, 104 p. (In Russian)
- Nazarov P.G. Pentraksiny v reakciyah vrozhdenного i priobretyonnogo immuniteta, organizacii matriksa, fertil'nosti [Pentraxins in the Reactions of Innate and Acquired Immunity, Matrix Organization, and Female Fertility]. *Medicinskij akademicheskij zhurn.*, 2010, vol. 10, no. 4, pp. 107–124. (In Russian)
- Obzor sostoyaniya i zagryazneniya okruzhayushchej sredy na territorii deyatel'nosti Saratovskogo CGMS – filiala FGBU “Privolzhskoe UGMS” za 2021 god [Review of the state and pollution of the environment in the territory of operation of the Saratov Central State Hydrometeorological Service, a branch of the Federal State Budgetary Institution Privolzhskoe UGMS, for 2021]. Saratov, 2021, 92 p. (In Russian)
- Pronina G.I., Koryagina N.Y., Trenkler I.V. Influence of rusty-spotted disease on river crayfish in aquaculture. *AACL Bioflux*, 2022, vol. 15(1), pp. 407–414.
- Pronina G.I., Koryagina N.Yu., Ivanov A.A. Fiziologo-immunologicheskie adaptacii karpa k krasnuhe [Physiological and immunological adaptations of carp to rubella]. *Izvestiya TSKHA*, 2015, no. 5, pp. 94–105. (In Russian)
- Pronina S.V., Pronin N.M. Relationships in helminth-fish systems. M., Nauka, 1988. 176 p. (In Russian)
- Rojt A., Brostoff Dzh., Mejl D. Immunology. M., Mir, 2000. 592 p.
- Schaperclaus W. Fischkrankheiten. Berlin, Academic-Verlag, 1979. 317 p.
- Selezneva A.V. Ocenka diffuznogo zagryazneniya Saratovskogo vodohranilishcha [Assessment of the Saratov reservoir diffuse pollution]. *Vodnoe hoz'yajstvo Rossii*, 2018, no. 5, pp. 101–115. (In Russian)
- Shubich M.G. Vyyavlenie kationnogo belka v citoplazme lejkocitov s pomoshch'yu bromfenolovogo sinego [Detection of cationic protein in the cytoplasm of leukocytes using bromophenol blue]. *Citologiya*, 1974, vol. 16, no. 10, pp. 1321–1322. (In Russian)
- Silkina N.I. Sezonnaya dinamika lipidov syvorotki krovi i eyo svyaz' s immunologicheskoy reaktivnost'yu [Seasonal dynamics of serum lipids and its relationship with immunological reactivity]. *Extended Abstract of Cand. Biol. Sci. Diss.* Moscow, 1988. 17 p. (In Russian)
- Suvorova T.A., German A.V. Sostav lejkocitov leshcha Saratovskogo vodohranilishcha [Composition of leukocytes of bream in the Saratov reservoir]. *Rybovodstvo i ryb. hoz-vo*, 2021, no. 2, pp. 44–51. doi:10.33920/sel-09-2102-04. (In Russian)
- Van der Marel M.C. Carp mucus and its role in mucosal defense: PhD Thesis, Wageningen University. The Netherlands, 2012. 189 p.
- Van Muiswinkel W., Vervoorn-Van Der Wal B. The immune system of fish. *Fish Diseases Disorders*, 2006, vol. 1, pp. 678–701.
- Vlasenko V.S., Vishnevskij E.A. Sravnitel'naya harakteristika kislorodzavisimoy i kislorodnezasvisimoy baktericidnyh sistem nejtrofilov pri lejkoznoj infekcii [Comparative characteristics of oxygen-dependent and oxygen-independent bactericidal systems of neutrophils during leukemic infection]. *Vestnik KrasGAU*, 2020, no. 11 (164), pp. 170–174. (In Russian)
- Zav'yalov E.V., Ruchin A.B., Shlyahtin G.V. i dr. Fishes of the north of the Lower Volga region: Book 1. Composition of ichthyofauna, methods of study. Saratov, Izd-vo Sarat. un-ta, 2007. 208 p. (In Russian)

SOME INDICES OF NON-SPECIFIC IMMUNITY OF BREAM OF THE SARATOV RESERVOIR

T. A. Suvorova^{1,*}, D. V. Mikryakov¹, G. I. Pronina²,
A. S. Mamonova³, A. V. German¹, S. V. Kuzmicheva

¹ Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences
152742 Borok, Russia, e-mail: *tanya@ibiw.ru

² Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy
127434 Moscow, st. Timiryazevskaya, 47

³ All-Russian Research Institute of Integrated Fish Farming
142460 them. Vorovskogo, Moscow oblast, Noginsky raion

Revised 16.10.2023

The study of some parameters of nonspecific humoral and cellular immunity in sexually mature bream of the Saratov Reservoir was carried out. The fish were caught by bottom trawl in September 2019 during a complex hydrobiological expedition aboard the R/V “Akademik Topchiev” organized by the Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences. Trawling operations were performed at three standard stations: 1 – Shiroky Buerak, 2 – Khvalynsk, 3 – Kashpir Rudnik. The first two stations were located in the lower reaches of the reservoir and the third one was in the central part. Fish blood was sampled from the tail vein to obtain serum and prepare smears for phagocytic activity of neutrophils. After autopsy, pieces of immunocompetent organs (kidney, spleen and liver) were also taken from the fish in dry sterile tubes. The level of antimicrobial properties and C-reactive protein of blood serum, nonspecific immune complexes in kidney, spleen and liver tissues

were studied, the proportion of immunodeficient individuals and phagocytic activity of neutrophils were determined. The study established quantitative indicators of humoral and cellular immunity of bream of the Saratov Reservoir. The comparative analysis showed significant differences in antimicrobial properties of blood serum and the content of non-enzymatic cationic protein in lysosomes of neutrophils of peripheral blood in bream from the central part and the lower reaches of the reservoir. Fish caught in the central part of the reservoir were characterized by high level of bactericidal activity of blood serum and low level of phagocytic activity of neutrophils. The majority of the studied individuals had a positive level of C-reactive protein and unreliable differences in the content of IR in tissues and organs. The revealed differences are probably caused by the impact of different environmental factors on the bream organism.

Keywords: bream *Abramis brama*, nonspecific immunity, blood serum, bactericidal activity, nonspecific immune complexes, C-reactive protein, phagocytic activity of neutrophils