



## Биология и экология гидробионтов

УДК 597.556.35:591.05

# ИММУНОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ЧЕРНОМОРСКОЙ КАМБАЛЫ КАЛКАН *SCOPHTHALMUS MAEOTICUS MAEOTICUS* В РАЗЛИЧНЫЕ ПЕРИОДЫ РЕПРОДУКТИВНОГО ЦИКЛА

© 2018 Н. Е. Бойко, Л. П. Ружинская

*Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства, Ростов-на-Дону 344002, Россия*  
*e-mail: natalia.boyko@inbox.ru*

**Аннотация.** Приведены результаты многолетних исследований факторов неспецифического иммунитета у производителей калкана из северо-восточной части Черного моря в преднерестовый, нерестовый и постнерестовый периоды. Получены данные по лейкоцитарному составу, лизоциму, иммуноглобулинам и иммунным комплексам сыворотки крови. Показано, что в природных условиях уровень активности клеточного и гуморального составляющих иммунитета определяется годовыми ритмами, связанными с созреванием рыб и температурными условиями среды. В периферической крови калкана лейкоциты в основном представлены лимфоцитами и нейтрофилами с преобладанием в составе последних палочкоядерных нейтрофилов. В нерестовый период у калкана в составе белой крови снижается доля нейтрофилов, в составе нейтрофилов — доля палочкоядерных форм клеток (у самок). Половые различия в состоянии гуморального иммунитета у производителей отмечены в нерестовый период и по отдельным показателям четко выражены. До нереста иммунофизиологический статус у самок и самцов в норме обеспечивается высокими концентрациями лизоцима и иммуноглобулинов. В активную фазу цикла в сыворотке крови самок отмечено снижение содержания лизоцима, иммуноглобулинов и повышение содержания иммунных комплексов. У самцов калкана завершение репродуктивного цикла характеризуется ростом лизоцима, снижением иммуноглобулинов и стабильными величинами иммунных комплексов.

**Ключевые слова:** *Scophthalmus maeoticus maeoticus*, Черное море, промысловые виды, репродуктивный цикл, кровь, лейкоциты, лизоцим, иммуноглобулины, иммунные комплексы

## ON IMMUNOPHYSIOLOGICAL STATUS OF THE BLACK SEA TURBOT *SCOPHTHALMUS MAEOTICUS MAEOTICUS* AT DIFFERENT REPRODUCTIVE STAGES

N. E. Boyko, L. P. Ruzhinskaya

*Azov Sea Research Fisheries Institute, Rostov-on-Don 344002, Russia*  
*e-mail: natalia.boyko@inbox.ru*

**Abstract.** Results of the long-term studies of the nonspecific immunity factors in the turbot breeders from the north-eastern part of the Black Sea during the pre-spawn, spawning and post-spawn periods are presented. Data on leukocyte composition, lysozyme, immunoglobulins and immune complexes of the blood serum were obtained. It is shown that, in natural conditions, the activity level of the cellular and humoral components of immunity is determined by annual rhythms associated with maturation of the sexual products and the temperature conditions of the medium. Turbot peripheral blood leukocytes are mainly represented by lymphocytes and neutrophils, the latter ones showing predominance of stab neutrophils in the composition. During the spawning period, the fraction of neutrophils in the turbot white blood decreases, as well as the fraction of stab cell forms in the neutrophil composition (in females). Sex differences in the state of humoral immunity are found in breeders during the spawning period, and they are obvious due to certain indicators. Before spawning, immunophysiological status of both females and males is normally achieved by high concentrations of lysozyme and immunoglobulins. In the active phase of the cycle, a decrease in the content of lysozyme and immunoglobulins and an increase in the content of immune complexes were recorded in the blood serum of females. In the turbot males, the completion of its reproduction cycle is characterized by an increase in lysozyme, a decrease in immunoglobulins and by stable values of immune complexes.

**Keywords:** *Scophthalmus maeoticus maeoticus*, Black Sea, commercial species, reproduction cycle, blood, leukocytes, lysozyme, immunoglobulins, immune complexes

## ВВЕДЕНИЕ

Калкан *Scophthalmus maeoticus maeoticus* — ценный промысловый объект, близкий к атлантическому тюрбо *Psetta maxima*. Часть популяции калкана обитает у северо-восточной части черноморского побережья Российской Федерации. В современный период запасы черноморского калкана невелики. В числе основных причин — нестабильность естественного размножения и чувствительность представителей этого вида к стрессорным воздействиям [1–3]. Основной способ поддержания численности популяции калкана — его искусственное разведение [4]. Выращивание калкана заводским способом предполагает формирование маточных стад, специфика содержания которых в промышленных условиях создает для рыб дополнительные нагрузки. Поэтому особый интерес представляет исследование естественной резистентности или системы врожденного иммунитета, характеризующей устойчивость к негативным воздействиям. Система врожденного иммунитета у рыб является основной «линией» защиты. Она весьма чувствительна и немедленно реагирует на изменение гомеостаза [5].

Синтез и перенос факторов иммунитета является одной из функций крови. Определение иммунологического статуса на основании исследования показателей крови является весьма доступным малоинвазивным способом контроля, позволяющим своевременно оценить возможность рыб противостоять разнообразным патогенам.

Поскольку калкан контактирует с грунтом и не совершает протяженных миграций, представители

этого вида могут быть также удобным объектом при осуществлении программ мониторинга экосистем. Однако для использования показателей иммунитета в качестве критериев здоровья рыб в практике рыбоводства, а также для интегральной характеристики состояния акваторий необходимо иметь представление об их вариабельности в популяции в естественных условиях среды. Сведения, характеризующие состояние клеточного и гуморального иммунитета у калкана, особенно в период, представляющий интерес для аквакультуры (завершающая фаза созревания гонад), немногочисленны. В литературе имеются материалы о составе и соотношении иммунокомпетентных клеток (лейкоцитов) в крови промыслового калкана из Черного моря безотносительно к стадии зрелости рыб [6], а также у родственного вида — производителей и молоди атлантического тюрбо [7, 8].

Цель данной работы — выявить особенности иммунологического статуса у производителей черноморского калкана в естественных условиях обитания на основании анализа лейкоцитарного состава, лизоцима, иммуноглобулинов и иммунных комплексов крови; оценить характер активности врожденных факторов защиты в зависимости от стадии репродуктивного цикла, половой принадлежности и сезона.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор материала для анализа проводили в 2009–2017 гг. со второй декады марта по третью декаду октября из уловов камбальных сетей в зоне черно-

морского шельфа от пос. Большой Утриш до района Большого Сочи (пос. Лазаревское и Лоо), а также из траловых уловов в морских экспедициях по Черному морю от Керченского пролива до г. Адлер. Всего обследовано 67 самок и 62 самца калкана. Длина самок варьировала от 38 до 65 см (средняя — 49,4 см), масса — от 2200 до 9500 г (средняя — 4056 г). У самцов длина находилась в

пределах 36–50 см (средняя — 44,1 см), масса — 1200–4300 г (средняя — 2587 г). Полученный материал группировали и анализировали в соответствии с данными, указанными в табл. 1.

Анализ лейкоцитарного состава крови выполняли согласно принятым в ихтиологических исследованиях методам [9]. Кровь отбирали из гемального канала хвостового стебля. Препараты периферичес-

**Таблица 1.** Объем материала и сроки отбора производителей калкана в Черном море

**Table 1.** Material scope and sampling periods of the turbot breeders in the Black Sea

Сроки отбора рыб Period of fish sampling		Температура воды, °С* Water temperature, °С*	Пол рыб Fish sex	Стадия зрелости Maturation stage	Количество рыб Number of fish
1	Преднерестовый период Pre-spawn period	7–8	самки females	III, III–IV	10
			самцы males	III	9
2	Нерестовый период Spawning period	11–15	самки females	IV–V, VI–V	24
			самцы males	III–IV	28
3	Окончание нерестового периода The final stage of spawning period	19–22	самки females	VI–II	22
			самцы males	II	18
4	Постнерестовый период Post-spawn period	16–18	самки females	II	11
			самцы males	II	7

\* Температура поверхностного слоя моря.

\* Temperature of the sea surface layer.

кой крови готовили на месте вылова рыб, высушивали на воздухе и фиксировали в смеси этанола и диэтилового эфира с последующим окрашиванием. Дальнейший анализ состоял в определении морфологического состава крови методом световой иммерсионной микроскопии. В мазке проводили подсчет лейкоцитов, среди форм гранулоцитарного ряда подсчитывали зрелые клетки: нейтрофилы палочко- и сегментоядерные; эозинофилы и базофилы, в пределах агранулоцитарного ряда — лимфоциты и моноциты. Лейкоцитарный состав выражали в процентном соотношении отдельных видов зрелых лейкоцитов, а также в соотношении грануло- и агранулоцитов.

Содержание лизоцима в сыворотке крови измеряли нефелометрическим методом, основанным на лизисе грамм-положительных бактерий *Micrococcus lysodeikticus* [10]. Об активности лизоцима судили

по изменению светопропускания микробной взвеси под влиянием лизоцима исследуемой ткани по сравнению с показателем исходной микробной взвеси. Уровень активности выражали в условных величинах (процентах светопропускания).

Общее количество иммуно-γ-глобулинов определяли осаждением насыщенными растворами сульфатов с последующим измерением оптической плотности раствора [11]. Результаты анализа представляли в условных единицах.

Определение иммунных комплексов в сыворотке крови производили методом осаждения полиэтиленгликолем с последующим измерением оптической плотности раствора [12].

Шкала зрелости калкана приведена в соответствии с данными, представленными в работах М.Г. Таликиной [13], О.Ф. Сакун и И.А. Буцкой [14].

Результаты представляли в условных единицах. Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием программы Excel. Для оценки достоверности различий использовали t-критерий Стьюдента. Достоверными считали различия при уровне значимости  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

*Состав и соотношение лейкоцитов крови.* В табл. 2 представлены средние величины показате-

лей лейкоцитарного состава крови черноморского калкана в сравнении с лейкоцитарной формулой крови родственного культивируемого вида — тюрбо [7, 8].

Из табл. 2 следует, что периферическая кровь черноморского калкана, как и тюрбо, имела лимфоидный характер, где лимфоциты были самым многочисленным видом лейкоцитов, составляя от 64,5 до 75,1 %. Второй по численности в составе лейкоцитов являлась популяция нейтрофилов — от 29,4 до 35,5 % с преобладанием более молодых

**Таблица 2.** Лейкоцитарный состав периферической крови производителей черноморского калкана и атлантического тюрбо в различных условиях обитания

**Table 2.** Leukocyte composition of the peripheral blood of turbot and the Black Sea turbot breeders under various environmental conditions

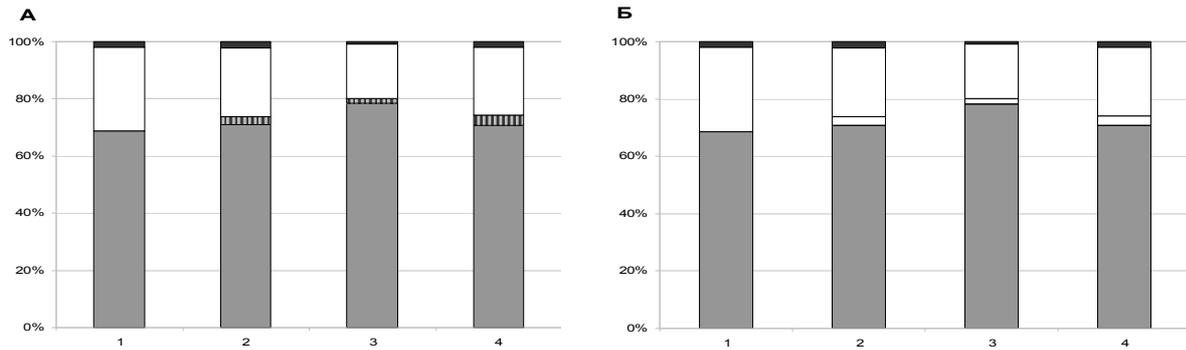
Лейкоциты Leucocytes	Черноморский калкан, «дикие» производители* The Black Sea turbot, "wild" breeders*	Черноморский калкан, «дикие» рыбы** The Black Sea turbot, "wild" fish**	Атлантический тюрбо, аквакультура*** Turbot, aquaculture***	Атлантический тюрбо, производители, аквакультура**** Turbot, breeders, aquaculture ****	
				7 дней УЗВ***** 7 days RAS*****	14 дней УЗВ 14 days RAS
Лимфоциты Lymphocytes	75,1 ± 1,3	64,5	85	69,1 ± 4,6	46,3 ± 3,8
Моноциты Monocytes	2,1 ± 1,0	—	3,3	0,2 ± 0,1	0,9 ± 0,5
Нейтрофилы палочкоядерные Stab neutrophils	21,1 ± 0,9	35,5	11,7	4,8 ± 1,2	10,1 ± 1,7
Нейтрофилы сегментоядерные Segmented neutrophils	8,3 ± 0,5			5,7 ± 1,2	5,5 ± 1,7
Предшественники нейтрофилов Neutrophil precursors	нет данных no data	нет данных no data	нет данных no data	14,5 ± 2,0	28,1 ± 2,1
Эозинофилы (Псевдоэозинофилы) Eosinophils (Pseudo-eosinophils)	1,5 ± 0,4	—	—	0,1 ± 0,1	0,4 ± 0,2
Базофилы Basophils	единично sporadically	—	—	5,6 ± 1,2	8,8 ± 3,4

\* Наши данные; \*\* [6]; \*\*\* [8]; \*\*\*\* [7]; \*\*\*\*\* установка замкнутого водоснабжения.

\* Internal data; \*\* [6]; \*\*\* [8]; \*\*\*\* [7]; \*\*\*\*\* recirculating aquaculture system.

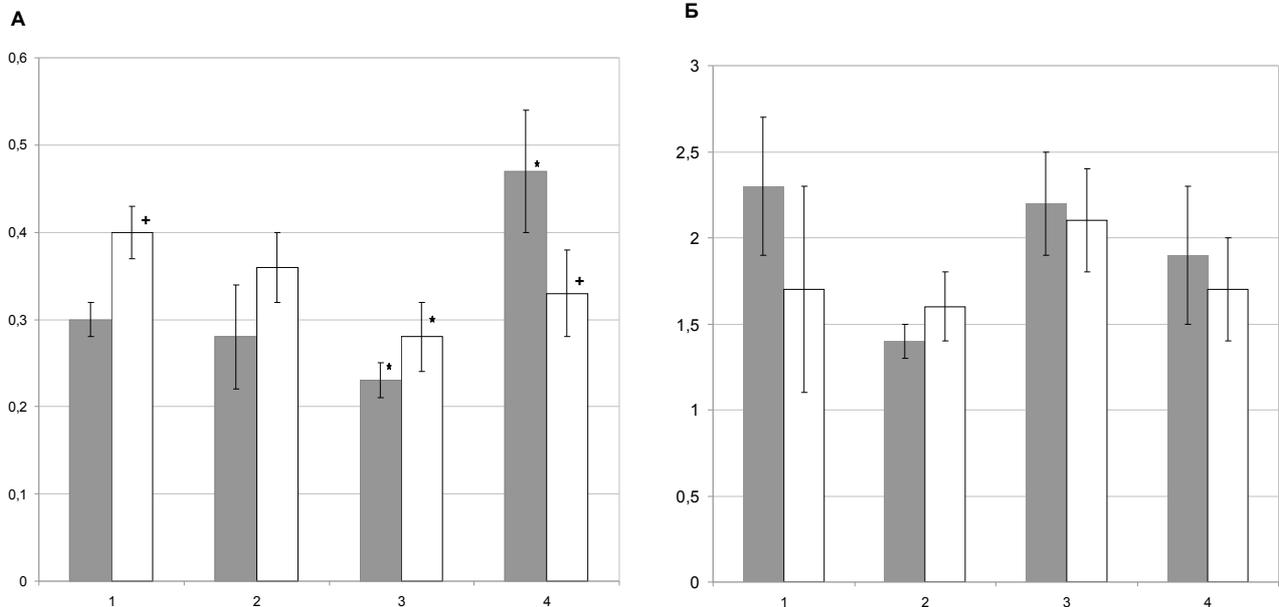
(палочкоядерных) форм клеток. Моноциты составляли в среднем 2,1 % лейкоцитарного пула. Эозинофильные гранулоциты (псевдоэозинофилы), функциональные аналоги тучных клеток млекопитающих, были представлены в количестве 1,5 %. В единичных случаях в составе белой крови калкана отмечались базофильные гранулоциты. Лейкограмма калкана в сезонном аспекте представлена на рис. 1.

У самок и самцов до нереста (гонады на стадии зрелости III, III–IV) отношение нейтрофилов к лимфоцитам было на уровне 0,31 и 0,40, соответственно (рис. 2А). К концу нереста (гонады на стадии VI–II и II) этот индекс у самок снизился до 0,23, а у самцов — до 0,28 ( $p < 0,05$ ). Осенью индекс нейтрофилов/лимфоциты в крови самок был на самом высоком уровне (0,47), т. е. выше, чем в летний



**Рис. 1.** Лейкоцитарный состав крови черноморского калкана в различные периоды репродуктивного цикла: А — самки, Б — самцы. Серым цветом обозначены лимфоциты, штриховкой — моноциты, белым — нейтрофилы, черным — эозинофилы; по оси ординат: проценты, по оси абсцисс: 1 — преднерестовый период, 2 — нерестовый период, 3 — нерестовый период, окончание, 4 — постнерестовый период

**Fig. 1.** Leukocyte composition of the Black Sea turbot blood at different stages of the reproduction cycle: А — females, В — males. Grey color marks lymphocytes, hatching — monocytes, white color — neutrophils, black color — eosinophils, on the y-axis: percentage rate; on the x-axis: 1 — pre-spawn period, 2 — spawning period, 3 — spawning period, final stage, 4 — post-spawn period



**Рис. 2.** Соотношение нейтрофилов и лимфоцитов (А), палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов (Б) в крови черноморского калкана в различные периоды репродуктивного цикла. Серый цвет — самки, белый — самцы; по оси ординат: лейкоцитарные индексы, по оси абсцисс: обозначения те же, что на рис. 1; \* значения, достоверно отличающиеся от (1); + значения, достоверно различающиеся у самок и самцов в один и тот же период

**Fig. 2.** Ratio of neutrophils and lymphocytes (A), stab and segmented neutrophils (B) in the Black Sea turbot blood at different stages of the reproduction cycle. Gray color — females, white — males; on the y-axis: leukocyte indices, on the x-axis: designations are the same as in Fig. 1; \* values, significantly different from (1); + values, significantly different for females and males for the same period

период ( $p \leq 0,05$ ), и выше, чем у самцов ( $p \leq 0,05$ ), показатель которых составил 0,33.

Индекс палочкоядерные/сегментоядерные нейтрофилы у самок был наименьшим в период нереста и составил 1,3 ( $p \leq 0,05$ ). У самцов достоверных сезонных различий не выявлено вследствие большого диапазона варьирования показателей (рис. 2Б).

*Лизоцимная активность крови.* Средние величины показателей лизоцима по всей выборке составили для самок 29 %, а для самцов почти в два раза выше — 52 % (табл. 3).

При рассмотрении динамики лизоцима в крови калкана в сезонном аспекте можно отметить, что половые различия имелись только в нерестовый

**Таблица 3.** Средние величины показателей гуморального иммунитета производителей черноморского калкана**Table 3.** Average values of the Black Sea turbot breeders humoral immunity

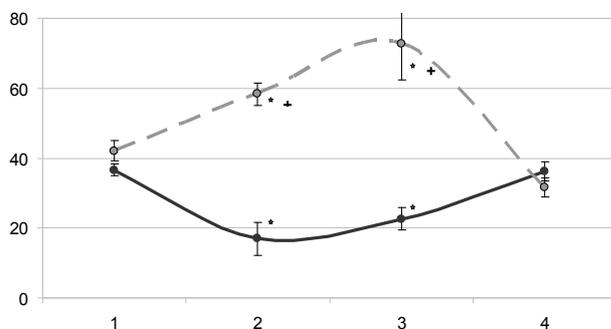
Лизоцим, % светопропускания Lysozyme, % light transmittance		Иммуно-γ-глобулины, условные единицы Immuno-γ-globulins, conventional units		Иммунные комплексы, условные единицы Immune complexes, conventional units	
самки females	самцы males	самки females	самцы males	самки females	самцы males
29,0 ± 2,1	52,0 ± 3,6*	5,0 ± 0,3	3,1 ± 0,2*	55,1 ± 5,8	47,5 ± 5,2

\* Достоверные различия у самок и самцов.

\* Values, significantly different for females and males.

период, причем динамика у самок и самцов была разнонаправленной (рис. 2). Наименьшее количество лизоцима было в крови у нерестящихся и недавно завершивших нерест самок — 16,9–22,6 %, у самцов в этот же период выявлены наиболее высокие показатели — 58,3–72,6 % ( $p \leq 0,01$ ) (рис. 3).

*Иммуноглобулины сыворотки крови.* Среднегодовые величины показателей иммуноглобулинов в сыворотке крови у самок составили 5,0 у. е., у самцов — 3,1 у. е. (табл. 3). У самок и самцов наивысшие показатели иммуноглобулинов были перед нерестом (6,4 и 4,4 у. е., соответственно), наиболее

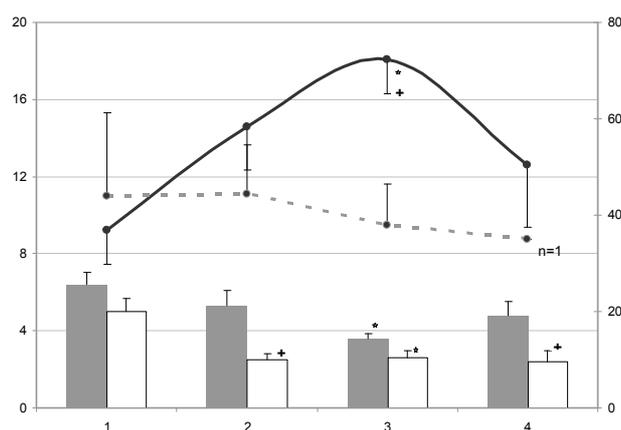


**Рис. 3.** Содержание лизоцима в сыворотке крови производителей черноморского калкана в различные периоды репродуктивного цикла. Сплошная линия — самки, пунктир — самцы; по оси ординат: процент светопропускания, по оси абсцисс: обозначения те же, что на рис. 1, 2; \* значения, достоверно отличающиеся от (1); + значения, достоверно различающиеся у самок и самцов в один и тот же период

**Fig. 3.** Content of lysozyme in the blood serum of the Black Sea turbot breeders at different stages of the reproduction cycle. Solid line — for females, dashed one — for males; on the y-axis: percentage rate of light transmittance, on the x-axis: designations are the same as in Fig. 1, 2; \* values, significantly different from (1); + values, significantly different in females and males for the same period

низкие — у недавно отнерестившихся рыб (3,6 и 2,4 у. е.) (рис. 4). Осенью количество иммуноглобулинов у самок было выше, чем у самцов ( $p \leq 0,05$ ).

*Иммунные комплексы.* Средние величины этого показателя в крови составляли у самок 55,1 у. е., у самцов — 47,5 у. е. (табл. 3). Самки и самцы не различа-



**Рис. 4.** Содержание иммуноглобулинов и иммунных комплексов в сыворотке крови производителей черноморского калкана в различные периоды репродуктивного цикла. Темным цветом обозначены самки, светлым — самцы; по левой оси ординат: иммуноглобулины, у. е. (столбцы); по правой оси ординат: иммунные комплексы, у. е. (линии); по оси абсцисс: обозначения те же, что и на рис. 1–3; \* значения, достоверно отличающиеся от (1); + значения, достоверно различающиеся у самок и самцов в один и тот же период

**Fig. 4.** Content of immunoglobulins and immune complexes in the blood serum of the Black Sea turbot breeders at different stages of the reproduction cycle. Dark color marks females, light one — males; on the left y-axis: immunoglobulins, conditional units (columns), on the right y-axis: immune complexes, conditional units (lines); on the x-axis: designations are the same as in Fig. 1–3; \* values, significantly different from (1); + values, significantly different in females and males for the same period

лись по содержанию иммунных комплексов в преднерестовый период (36,9 у. е. и 44,0 у. е., соответственно). В конце нереста самки имели наиболее высокие значения показателя — 72,3 у. е. ( $p \leq 0,05$ ), тогда как у самцов содержание комплексов сохранялось неизменным на протяжении всего исследуемого периода (рис. 4). Таким образом, существенные различия между полами по содержанию иммунных комплексов были отмечены в конце нереста ( $p \leq 0,01$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты наших исследований согласуются с материалами, полученными ранее Л.В. Точиной для черноморского калкана, а также с показателями белой крови камбалы тюрбо. В лейкограмме черноморского калкана большинство клеток представлено лимфоцитами, среди функционально активных гранулоцитов преобладают палочкоядерные нейтрофилы. Преобладание лимфоцитов в составе белой крови свойственно рыбам, ведущим малоактивный, придонный образ жизни [6].

Сезонные изменения лейкоцитарного состава крови калкана, вероятнее всего, происходили вследствие варьирования в кровяном русле нейтрофильных гранулоцитов, так как в периоды относительной «нейтрофилии» в составе белой крови увеличивалась доля более молодых, палочкоядерных форм нейтрофилов. Лейкоцитарный сдвиг в сторону нейтрофилов у рыб имеет приспособительный характер и наблюдается при изменении условий обитания. Так, кровь производителей тюрбо при их резервации в УЗВ реагирует стрессорным увеличением доли палочкоядерных нейтрофилов и их предшественников [7].

Свою функцию — ликвидацию чужеродного агента — нейтрофилы осуществляют с помощью фагоцитоза, выделяя в окружающую среду содержимое лизосом. Известно, что из врожденных параметров иммунитета фагоцитоз обычно проявляет активность в нижнем температурном диапазоне обитания рыб, тогда как *приобретенные* функции защиты, в частности активация лимфоцитов и продуцирование специфических антител, более эффективны при повышенных температурах [5]. Сдвиг в сторону нейтрофилов у калкана был отмечен ранней весной, когда рыбы еще находятся в зоне низких температур, и затем осенью, когда они после нереста в теплой мелководной зоне перемещаются на значительные глубины [15], в зону пониженных температур. Поэтому есть вероятность, что нейтрофильный сдвиг синхронизирован с температурными условиями среды. Активация нейтрофиль-

ного звена позволяет рыбам противостоять неблагоприятным воздействиям (инфекциям и инвазиям), опасность которых в зимовальный период увеличивается [15, 16]. Все же сезонное варьирование лейкоцитарного состава могло быть следствием наложения нескольких факторов. Известно, что выброс нейтрофилов в кровь у придонных морских рыб происходит на фоне повышенной мышечной нагрузки [17]. Снижение нейтрофилов в летний период могло произойти из-за того, что после нереста рыбы малоподвижны, питаются неактивно, а их нагул начинается только с осени. Однако осенью у самок калкана доля нейтрофильных гранулоцитов оказалась значительно выше, чем у самцов. Очевидно, это приспособление вызвано необходимостью фагоцитоза значительного объема отмирающих тканей, в том числе остаточных ооцитов, в связи с перестройкой гонад и подготовкой к новому нерестовому циклу. На величину нейтрофильных индексов также могли повлиять различия в гормональном статусе рыб. Эстрогены и андрогены влияют на лейкоцитарный состав крови, хотя не всегда эффект может быть однонаправленным [18].

Лизоцим является гуморальным фактором естественной резистентности и секретируется лизосомами нейтрофилов и макрофагов в кровь и межклеточные пространства тканей. Поэтому нейтрофильный сдвиг и повышение фагоцитарной активности часто сочетаются с повышением лизоцима в крови [3, 19]. Лизоцим стимулирует фагоцитарную и антителообразующую функции иммунокомпетентных клеток. У рыб он участвует в поддержке гомеостаза при изменениях условий обитания, при адаптивных процессах, в том числе при инфекционных заболеваниях. По уровню лизоцимной активности можно судить о степени защищенности организма от микробной нагрузки в биоценозе [20].

У производителей калкана, в отличие от многих других видов морских рыб [19, 21], лизоцим содержался в достаточно высоких количествах и регистрировался в крови на всех стадиях репродуктивного цикла рыб. Половые различия проявлялись только в нерестовый период, когда величина этого показателя у самок оказалась на самом низком уровне. У самцов, в отличие от самок, защитные свойства сыворотки крови в разгар нерестового периода и в конце его в обычных условиях обеспечивались самой высокой активностью лизоцима. Интересно, что у других видов рыб, имеющих высокий уровень лизоцимной активности, не обнаружено связи величины этого показателя с полом и стадией зрелости [22].

Иммуно-γ-глобулины или природные антитела — ключевые компоненты гуморального врожденного иммунитета у животных, в т. ч. рыб. Они продуцируются клетками (В-1-лимфоцитами) без внешней (антигенной) стимуляции. Эти полиспецифичные молекулы у рыб присутствуют уже на эмбриональной стадии развития. Находясь в больших количествах в сыворотке крови, природные антитела обеспечивают немедленную защиту от широкого спектра патогенов. В крови рыб присутствуют также и *специфические* иммуноглобулины, генерируемые лимфоцитами рыб против конкретных антигенов: они обеспечивают адаптивный иммунный ответ.

Активность гуморальных неспецифических факторов связана у рыб с общим уровнем белкового обмена, показателем которого является содержание белка сыворотки крови. Известно, что при неблагоприятных воздействиях на рыб (например, паразитарном заболевании) рыбы испытывают дефицит белка в организме и, соответственно, недостаток иммуноглобулинов [16]. Низкое количество сывороточных иммуноглобулинов в период завершения созревания гонад и вымета половых продуктов — следствие характерного для летне-осеннего периода истощения производителей и формирования в крови иммунных комплексов. Циркулирующие в крови иммунные комплексы возникают при связывании иммуноглобулинами антигенов, нежелательных компонентов, предназначенных для удаления из организма, в частности фрагментов отмирающих клеток и токсических продуктов обмена. Комплексы образуются при каждой встрече антител с антигеном и обычно эффективно разрушаются фагоцитами, хотя могут откладываться и сохраняться в тканях на протяжении длительного времени. В связи с этим «иммуноглобулиновый» дефицит у калкана в указанный период можно рассматривать как признак активизации функций организма по очищению крови от чужеродных агентов. У самок калкана максимум содержания комплексов приходится на конец нереста, максимум клеток, способных к фагоцитозу (нейтрофилов), — на осень; у самцов же величины обоих параметров в эти периоды весьма стабильны. Очевидно, у самок, имеющих высокий уровень генеративного обмена, обеспечивающего значительный размер гонад, процессы очищения организма от фрагментов отмирающих тканей и продуктов резорбции яйцеклеток протекают в ином, более напряженном режиме, чем у самцов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В природных условиях у самок и самцов черноморского калкана отмечена внутрigoдовая изменчивость клеточного и гуморального звеньев иммунитета, уровень активности которых в крови определяется годовыми ритмами, связанными с половыми особенностями и температурными условиями среды.

Иммунофизиологический статус самок характеризуется наибольшими отличиями от самцов в самой активной фазе репродуктивного цикла и свидетельствует о напряженном состоянии системы гуморального иммунитета. В этот период иммунная система самок может стать критической мишенью для большого числа антигенов и экологических факторов, что следует учитывать при осуществлении работ по воспроизводству вида.

Отсутствие половых различий в иммунофизиологическом статусе у калкана в периоды, когда он наиболее интенсивно облавливается промыслом (ранний весенний и осенне-зимний периоды), делает его удобным тест-объектом, позволяя использовать показатели врожденного иммунитета безотносительно к полу рыб в качестве биомаркеров быстрых природных или антропогенных изменений.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Работа была выполнена в рамках Госзадания по заказу Росрыболовства РФ. Авторы выражают свою глубокую благодарность руководителям рыболовецких предприятий, особенно Г.Д. Хмельницкому, директору ООО «Катран», за предоставление живого материала и возможность проведения исследований; О.А. Рудницкой, являвшейся многие годы сотрудником АзНИИРХ — за помощь в обработке и обсуждении данных. Авторы признательны руководству и коллективам лабораторий ихтиопатологии, генетических исследований и морских рыб АзНИИРХ за творческое сотрудничество и поддержку в морских экспедициях.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Овен Л.С., Шевченко Н.Ф., Битюкова Ю.Е., Болтачев А.Р., Пантелеева О.В. Размерно-возрастной состав и репродуктивная биология черноморского калкана *Psetta maxima maeotica* // Вопросы ихтиологии. 2001. Т. 41. № 5. С. 631–636.
2. Бойко Н.Е., Стрижакова Т.В., Рудницкая О.А., Ружинская Л.П., Морозова М.А., Самарская Е.А., Цема Н.И. Материалы к характеристике функционального состояния черноморского калкана

- Scophthalmus maeoticus maeoticus* в нерестовый период 2009–2010 гг. // Вопросы рыболовства. 2013. Т. 14. № 2 (54). С. 272–282.
3. Бойко Н.Е., Ружинская Л.П., Рудницкая О.А., Короткова Л.И. Исследование факторов неспецифической иммунной защиты черноморского калкана // Матер. докл. IV Междунар. науч.-технич. конф.: Научно-практические вопросы регулирования рыболовства (г. Владивосток, 18–19 мая 2017 г.). Владивосток: Изд-во Дальрыбвтуз, 2017. С. 76–79.
  4. Маслова О.Н. Разведение и товарное выращивание черноморской камбалы-калкан *Scophthalmus maeoticus* // Труды ВНИРО. 2013. Т. 150. С. 35–49.
  5. Magnadóttir B. Innate immunity of fish (overview) // Fish & Shellfish — Immunology. 2006. Vol. 20. Pp. 137–151. doi:10.1016/j.fsi.2004.09.006.
  6. Точилина Л.В. Лейкоцитарная формула морских рыб // Гидробиологический журнал. 1994. Т. 30. № 3. С. 50–57.
  7. Аминова В.А., Серпунин Г.Г., Савина Л.В., Сементина Е.В. Гематологическая характеристика производителей камбалы тюрбо (*Psetta maxima* L.) // Рыбное хозяйство. 2012. № 6. С. 54–56.
  8. Burrows A.S., Fletcher T.C., Mannin M.J. Haematology of the turbot, *Psetta maxima* (L.): ultrastructural, cytochemical and morphological properties of peripheral blood leucocytes // Journal of Applied Ichthyology. 2001. Vol. 17. Issue 2. Pp. 77–84.
  9. Житенева Л.Д., Макаров Э.В., Рудницкая О.А. Основы гематологии (в сравнительном аспекте). Ростов-н/Д.: Эверест, 2004. 311 с.
  10. Дорофейчук В.Г. Определение активности лизоцима нефелометрическим методом // Лабораторное дело. 1968. № 1. С. 28–30.
  11. McEvan A.D., Fisher E.W., Selman I.E., Penhale W.J. A turbidity test for the estimation of immune globulin levels in neonatal calf serum // Clinica Chimica Acta. 1970. Vol. 27. Issue 1. Pp. 155–163.
  12. Гриневич Ю.А., Алферов А.Н. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных // Лабораторное дело. 1981. № 8. С. 493–496.
  13. Таликина М.Г. Овогенез и половой цикл черноморской камбалы *Scophthalmus maeoticus* (Pallas) // Вопр. ихтиологии. 1975. Т. 14, № 3. С. 436–444.
  14. Сакун А.Ф., Буцкая И.А. Определение стадий зрелости и изучение половых циклов рыб. Мурманск: Изд-во ПИНРО, 1968. 47 с.
  15. Марти Ю.Ю. Миграции морских рыб. М: Пищевая промышленность, 1980. 248 с.
  16. Стрижакова Т.В., Бойко Н.Е., Бортников Е.С., Ружинская Л.П., Дудкин С.И., Шевкоплясова Н.Н., Бугаев Л.А. Вспышка миксоблезиса лобана *Mugil cephalus* L. в российских водах Черного моря // Рыбное хозяйство. 2017. № 5. С. 38–42.
  17. Точилина Л.В. Картина крови у пелагических и придонных морских рыб при различной скорости плавания // Гидробиологический журнал. 1997. Т. 33, № 3. С. 90–96.
  18. Мошкин М.П., Герлинская Л.А., Евсиков В.И. Иммунная система и реализация поведенческих стратегий размножения при паразитарных прессах // Журнал общей биологии. 2003. Т. 64, № 1. С. 23–44.
  19. Кондратьева И.А., Киташова А.А. Функционирование и регуляция иммунной системы рыб // Иммунология. 2002. № 2. С. 97–101.
  20. Fletcher T.C. Modulation of nonspecific host defenses in fish // Veterinary Immunology and Immunopathology. 1986. Issue 12. Pp. 59–67.
  21. Saurabh S., Sahoo P.K. Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system // Aquaculture Research. 2008. Vol. 39. Issue 3. Pp. 223–239.
  22. Субботкина Т.А., Субботкин М.Ф. Лизоцим четырех видов осетровых рыб сем. Acipenseridae р. Волги // Биология внутренних вод. 2002. № 2. С. 88–93.

## REFERENCES

1. Oven L.S., Shevchenko N.F., Bityukova Yu.E., Boltachev A.R., Panteleeva O.V. Razmerno-voznostnoy sostav i reproduktivnaya biologiya chernomorskogo kalkana *Psetta maxima maeotica* [The length and age composition and reproductive biology of the Black Sea turbot *Psetta maximal maeotica*]. *Voprosy ikhtiologii* [Journal of Ichthyology], 2001, vol. 41, no. 5, pp. 631–636. (In Russian).
2. Boyko N.Ye., Strizhakova T.V., Rudnitskaya O.A., Ruzhinskaya L.P., Morozova M.A., Samarskaya E.A., Tsema N.I. Materialy k kharakteristike funktsional'nogo sostoyaniya chernomorskogo kalkana *Scophthalmus maeoticus maeoticus* v nerestovyy period 2009–2010 gg. [On the functional state of Black Sea turbot *Scophthalmus maeoticus maeoticus* during the spawning period of 2009–2010]. *Voprosy rybolovstva* [Problems of Fisheries], 2013, vol. 14, no. 2 (54), pp. 272–282. (In Russian).
3. Boyko N.Ye., Ruzhinskaya L.P., Rudnitskaya O.A., Kороткова L.I. Issledovanie faktorov nespetsificheskoy immunoy zashchity chernomorskogo kalkana [Investigation of the factors of nonspecific immune defense of the Black Sea turbot]. In: *Materialy dokladov IV Mezhdunarodnoy nauchno-tekhnicheskoy konferentsii "Nauchno-prakticheskie voprosy regulirovaniya rybolovstva"* (Vladivostok, 18–19 maya 2017 g.) [Scientific and practical issues of fishery regulation. Proceedings of the 4th International Conference (Vladivostok, 18–19 May, 2017)], Vladivostok: FESTFU Publ., 2017, pp. 76–79. (In Russian).
4. Maslova O.N. Razvedenie i tovarnoe vyrashchivanie chernomorskoy kambaly-kalkan *Scophthalmus maeoticus* [Black sea turbot *Scophthalmus maeoticus* breeding and farming]. *Trudy VNIRO*, 2013, vol. 150, pp. 35–49. (In Russian).

5. Magnadóttir B. Innate immunity of fish (overview). *Fish & Shellfish — Immunology*, 2006, vol. 20, pp. 137–151. doi:10.1016/j.fsi.2004.09.006.
6. Tochilina L.V. Leykotsitarnaya formula morskikh ryb [Leukocyte formula of marine fishes]. *Gidrobiologicheskii zhurnal [Hydrobiological Journal]*, 1994, vol. 30, no. 3, pp. 50–57. (In Russian).
7. Amineva V.A., Serpunin G.G., Savina L.V., Sementina E.V. Gematologicheskaya kharakteristika proizvoditeley kambaly tyurbo (*Psetta maxima* L.) [Hematological characteristics of the turbot breeders (*Psetta maxima* L.)]. *Rybnoe khozyaystvo [Fisheries]*, 2012, no. 6, pp. 54–56. (In Russian).
8. Burrows A.S., Fletcher T.C., Mannin M. J. Haematology of the turbot, *Psetta maxima* (L.): ultrastructural, cytochemical and morphological properties of peripheral blood leucocytes. *Journal of Applied Ichthyology*, 2001, vol. 17, issue 2, pp. 77–84.
9. Zhiteneva L.D., Makarov E.V., Rudnitskaya O.A. Osnovy gematologii (v sravnitel'nom aspekte) [Basics of hematology (the comparative aspect)]. Rostov-on-Don: Everest, 2004, 311 p. (In Russian).
10. Dorofeychuk V.G. Opredelenie aktivnosti lizotsima nefelometricheskim metodom [Determination of lysozyme activity by nephelometric method]. *Laboratornoe delo [Laboratory Service]*, 1968, issue 1, pp. 28–30. (In Russian).
11. McEvan A.D., Fisher E.W., Selman I.E., Penhale W.J. A turbidity test for the estimation of immune globulin levels in neonatal calf serum. *Clinica Chimica Acta*, 1970, vol. 27, issue 1, pp. 155–163.
12. Grinevich Yu.A., Alferov A.N. Opredelenie immunnykh kompleksov v krovi onkologicheskikh bol'nykh [Determination of immune complexes in the blood of cancer patients]. *Laboratornoe delo [Laboratory Service]*, 1981, no. 8, pp. 493–496. (In Russian).
13. Talikina M.G. Ovogenez i polovoy tsikl chernomorskoy kambaly *Scophthalmus maeoticus* (Pallas) [Ovogenesis and the sexual cycle of the Black Sea flounder *Scophthalmus maeoticus* (Pallas)]. *Voprosy ichthyologii [Journal of Ichthyology]*, 1975, vol. 14, no. 3, pp. 436–444. (In Russian).
14. Sakun A.F., Butskaya I.A. Opredelenie stadiy zrelosti i izuchenie polovykh tsiklov ryb [Determination of stages of maturity and the study of sexual cycles of fish]. Murmansk: PINRO Publ., 1968, 47 p. (In Russian)
15. Marti Yu.Yu. Migratsii morskikh ryb [Migrations of marine fishes]. Moscow: Pishchevaya promyshlennost' [Food Industry], 1980, 248 p. (In Russian).
16. Strizhakova T.V., Boyko N.E., Bortnikov E.S., Ruzhinskaya L.P., Dudkin S.I., Shevkoplyasova N.N., Bugaev L.A. Vspyshka miksobolezisa lobana *Mugil cephalus* L. v rossiyskikh vodakh Chernogo morya [Myxosporidiosis outbreak in grey mullet (*Mugil cephalus* L.) in the Russian Black Sea waters]. *Rybnoe khozyaystvo [Fisheries]*, 2017, no. 3, pp. 38–42. (In Russian).
17. Tochilina L.V. Kartina krovi u pelagicheskikh i pridonnykh morskikh ryb pri razlichnoy skorosti plavaniya [Blood picture in pelagic and near-bottom marine fishes under the different speed of swimming]. *Gidrobiologicheskii zhurnal [Hydrobiological Journal]*, 1997, vol. 33, no. 3, pp. 90–96. (In Russian).
18. Moshkin M.P., Gerlinskaya L.A., Evsikov V.I. Immunnaya sistema i realizatsiya povedencheskikh strategiy razmnzheniya pri parazitarnykh pressakh [The immune system and implementation of behavioral reproductive strategies in parasitic pressure]. *Zhurnal obshchey biologii [Biology Bulletin Review]*, 2003, vol. 64, no. 1, pp. 23–44. (In Russian).
19. Kondrat'eva I.A., Kitashova A.A. Funktsionirovanie i regulyatsiya immunnoy sistemy ryb [The immune system function and regulation in fish]. *Immunologiya [Immunology]*, 2002, no. 2, pp. 97–101. (In Russian).
20. Fletcher T.C. Modulation of nonspecific host defenses in fish. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 1986, no. 12, pp. 59–67.
21. Saurabh S., Sahoo P.K. Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. *Aquaculture Research*, 2008, vol. 39 (3), pp. 223–239.
22. Subbotkina T.A., Subbotkin M.F. Lizotsim chetyrekh vidov osetrovnykh ryb sem. Acipenceridae r. Volgi [The lysozyme of four species of sturgeons of Acipenceridae family in the Volga River]. *Biologiya vnutrennikh vod [Inland Water Biology]*, 2002, no. 2, pp. 88–93. (In Russian).

Поступила 20.06.2018

Принята к печати 07.08.2018