

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ФИЗИОЛОГО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЫБ СЕМЕЙСТВА ЦИХЛОВЫЕ И КАРПОВЫЕ

Г.И. ПРОНИНА^{1,2}, О.В. САНАЯ¹

(¹ ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева;

² ФГБНУ ВНИИ ирригационного рыбоводства)

Современная аквакультура развивается быстро и включает в себя не только продовольственное рыбоводство, но и декоративное разведение рыб, где, как в любой быстро развивающейся отрасли животноводства, могут возникать проблемы, связанные с состоянием здоровья рыб. Карп является основным объектом в российском рыбоводстве. Это базовый вид прудовой поликультуры, неприхотливый, всеядный и быстрорастущий. Тиляния – один из наиболее предпочтительных видов мировой аквакультуры благодаря выносливости, быстрому набору массы и возможности переносить высокую плотность посадки. Дискус – самый популярный из декоративных видов рыб, обладающий большим количеством цветовых вариаций и своеобразным поведением, являющийся рентабельным в разведении. Проведена сравнительная физиологическая оценка костистых рыб семейства карповых и цихловых. Определялись гематологические показатели: эритроцитарная и лейкоцитарная формулы – методом дифференциального подсчета; биохимические параметры сыворотки крови на анализаторе, средний цитохимический коэффициент содержания лизосомального катионного белка в нейтрофилах крови рыб. Результаты исследований показали видовые особенности в интенсивности эритро- и лейкопоэза, доли гранулярных клеток миелоидного ряда. Выявлено, что особенностью дискусов является присутствие в крови бластных форм лейкоцитов: миелобластов, промиелоцитов, миелоцитов. В крови тилянии, в отличие от крови дискуса и карпа, отмечается высокое содержание гранулоцитов: нейтрофилов, эозинофилов и базофилов, моноцитов и лимфоцитов в лейкограмме. Отмечены различия между видами по результатам лизосомально-катионного теста. Также можно отметить разницу по ряду биохимических показателей: у тилянии – по сравнению с другими видами в содержании альбуминов, щелочной фосфатазы и АЛТ; у дискусов – в активности ферментов лактата и КК.

Ключевые слова: *дискус, *Symphysodon haraldi*, тиляния, *Oreochromis niloticus*, карп, *Suipinus carpio*, гематологические, биохимические показатели, лизосомально-катионный тест.*

Введение

Оценка физиологического состояния и иммунного статуса рыб в аквакультуре является актуальным направлением исследований, так как условия их разведения и выращивания значительно отличаются от естественных условий. Сравнительная физиологическая оценка рыб различных, особенно систематически отдаленных видов, важна также для понимания эволюционных закономерностей [9, 10].

Гематологические параметры часто используются в качестве важного показателя для оценки состояния здоровья рыб. Влияние дивергентных условий окружающей среды и кормовых привычек на кровь рыб отражается на показателях крови, что полезно для мониторинга состояния здоровья рыб и понимания их взаимоотношений с различными условиями среды обитания [3, 6, 7].

Важной особенностью рыб семейства цихловых является кормление молоди эпидермальным секретом, причем в зависимости от вида рыб – самцами, самками

или обоими родителями. Поэтому выявление физиологических особенностей по показателям крови этих рыб является актуальной задачей [4, 8, 11].

Среди видов неотропических цихлид, продаваемых в декоративных целях, выделяется дисковая рыба *Symphysodon aequifasciatus* Pellegrin, 1904, Cichlidae, которая произрастает в реках бассейна Амазонки. Основными характеристиками этого вида являются его небольшие размеры, высокая и округлая форма тела, а также широкая цветовая гамма. Эти цихлиды, предназначенные для декоративных целей, имеют большой коммерческий спрос, но релевантных сведений об их развитии и размножении существует недостаточно [4, 8].

Тилапия относится к числу наиболее распространенных пресноводных видов аквакультуры по всему миру и представляет собой основной продукт питания. Тилапия – предпочтительный вид аквакультуры ввиду своей выносливости и способности переносить высокую плотность запаса. Также тилапии или их африканские родственники цихлиды являются популярными видами аквариумов как в частных, так и в общественных коллекциях [3, 5, 7].

В связи с вышеизложенным **цель** работы заключается в сравнительной физиолого-иммунологической характеристике по гематологическим, цитохимическим и биохимическим показателям дискусов, в отношении тилапии – как родственной систематической группы с кормлением молоди эпидермальным секретом родителей. Для сравнения в исследованиях использован также карп – наиболее изученная пресноводная культивируемая рыба.

Материалы и методы исследований

Объектами исследований являлись половозрелые дискусы (*Symphysodon haraldi* Schultz, 1960) в возрасте 12 мес.

Для сравнения даны показатели нильской тилапии (*Oreochromis niloticus*) и карпа (*Cyprinus caprio* L.) [2, 5].

Кровь у дискусов отбиралась из хвостовой вены, прижизненно (рис. 1).

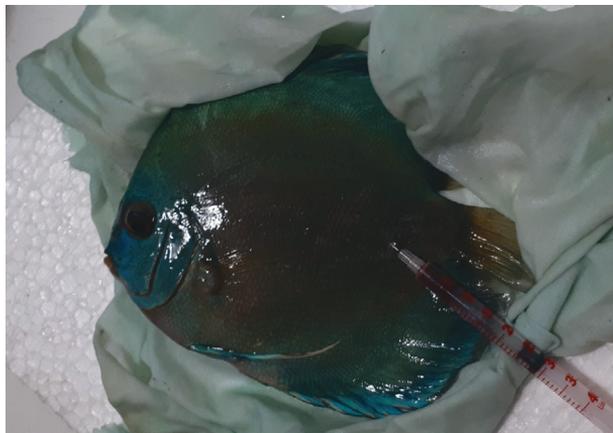


Рис. 1. Отбор крови у дискуса

Физиолого-иммунологическая оценка рыб проводилась по гематологическим, цитохимическим и биохимическим показателям.

Мазки крови (по 2 шт. от каждой рыбы: один для лейкограммы, второй – для цитохимической реакции определения катионного белка) изготавливались сразу – после отбора крови.

Лейкоцитарная формула определялась методом дифференциального подсчета в окрашенных по Паппенгейму мазках периферической крови. Уровень гемопоэза рыб определялся по доле незрелых форм эритроцитов и лейкоцитов.

Фагоцитарная активность нейтрофилов рыб оценивалась с помощью лизосомально-катионного теста, адаптированного для гидробионтов Г.И. Прониной (2014) цитохимическим методом с бромфеноловым синим. Определялось содержание неферментного катионного белка в лизосомах нейтрофилов периферической крови. По степени фагоцитарной активности исследуемые клетки делились на 4 группы:

0 степень – гранулы катионного белка отсутствуют;

1 степень – единичные гранулы;

2 степень – гранулы занимают примерно 1/3 цитоплазмы;

3 степень – гранулы занимают 1/2 цитоплазмы и более.

Средний цитохимический коэффициент (СЦК) рассчитывали по формуле:

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

где N_0 , N_1 , N_2 , N_3 – количество нейтрофилов с активностью 0, 1, 2 и 3 баллов соответственно.

Для получения сыворотки кровь рыб набиралась шприцем в сухую пробирку. Пробирка с кровью оставлялась в штативе на 1 ч при комнатной температуре. После образования сгустка крови сыворотка Пастеровской пипеткой осторожно отделялась от образовавшегося сгустка и помещалась в холодильник при температуре +3°C на 3–5 ч для завершения образования сыворотки. Затем сыворотка отсасывалась шприцем с тонкой иглой или пипеткой и переносилась в пробирку Эппендорфа.

Сыворотка крови для биохимического анализа замораживалась при температуре –15–20°C и транспортировалась в лабораторию в замороженном виде в термоконтейнерах.

Биохимический анализ сыворотки крови проводился на приборе Chem Well Awareness Technology с использованием реактивов VITAL.

Математическую обработку цифровых материалов проводили методом вариационной статистики по Стьюденту с использованием программы Excel пакета Microsoft Office.

Результаты и обсуждение

Результаты исследований, представленные в таблице 1, показали, что особенностью дискусов является присутствие в крови бластных форм клеток миелоидного ряда: миелобластов, промиелоцитов, миелоцитов.

В крови тилапии, в отличие от крови дискуса и карпа, отмечается высокое содержание гранулоцитов за счет лимфоцитов: нейтрофилов, эозинофилов и базофилов. Ввиду того, что эти клетки являются микрофагами, можно предположить, что большая их доля в лейкограмме обусловлена необходимостью неспецифической клеточной защиты организма и связана со стресс-факторами, связанными в свою очередь с транспортировкой тилапий из фермы в аквариальные условия лаборатории. При этом менялись температура и состав воды.

У дискусов ниже, чем у карпа, показатель лизосомально-катионного теста, что свидетельствует не о недостатке выработки катионного белка клетками, а скорее о расходовании его в процессе неспецифической иммунной защиты, связанной

с обитанием в аквариальных условиях, отличных от естественных, а также с применением в процессе выращивания лечебно-профилактических средств (неорганических красителей, антибиотиков и др.).

Таблица 1

Гематологические и цитохимические показатели рыб в эксперименте, $M \pm m$

Показатели	Дискус	Карп (Пронина, Петрушин, 2012)	Тиляпия (El-Sayed и др., 2007)
Лейкоцитарная формула, %			
Миелобласты	1,0±0,1	-	-
Промиелоциты	1,0±0,1	-	-
Миелоциты	1,0±0,1	-	-
Метамиелоциты	2,0±0,1	2,3±0,3	-
Палочкоядерные нейтрофилы	5,0±0,7	2,8±1,1	
Сегментоядерные	2,7±0,6	3,0±0,3	
Всего нейтрофилов	7,7±0,7	5,8±0,3	30,3±0,7аб
Эозинофилы	1,0±0,1	2,7±0,3а	9,0±0,1аб
Базофилы	-	1,6±0,3	8,3±0,3аб
Моноциты	2,0±0,5	4,5±0,5а	1,3±0,3б
Лимфоциты	84,3±2,4	83,1±1,7	51,1±0,6аб
Лизосомально-катионный тест			
СЦК, ед.	1,38±0,05	1,77±0,18а	-

Примечание. Здесь и далее: абв – различия достоверны при $P < 0,05$.

Уровень аланинаминотрансферазы и аспаргатаминотрансферазы изучаемых рыб находился для большинства их в пределах физиологической нормы [1]. Отмечено, что у тиляпии активность АЛТ несколько выше, чем у карпа (табл. 2). Вероятно, это связано с условиями среды, так как показатель является лабильным.

Активность лактата дискусов выше, чем у карпа. Это позволяет предположить снижение гликогенеза, что, вероятно, связано с видовыми особенностями данных рыб.

У тиляпии выявлен высокий уровень альбуминов, что наряду с высоким значением АЛТ свидетельствует об интенсивном белковом обмене. Однако содержание общего белка достоверно не различается у исследуемых видов рыб. Следовательно, у дискуса и карпа выше содержание глобулинов, в том числе гамма-глобулинов. Данное предположение подтверждается большей долей лимфоцитов, в том числе В-лимфоцитов, вырабатывающих иммуноглобулины.

Биохимические показатели рыб в эксперименте, М ± m

Показатели	Дискус	Карп (Пронина, Петрушин, 2012)	Тиляпия (El-Sayed и др., 2007)
АЛТ, ед/л	63,7 ± 16,4	29,7 ± 5,7	50,1 ± 0,36
АСТ, ед/л	60,3 ± 13,8	79,1 ± 26,1	50,0 ± 0,3
Глюкоза, ммоль/л	4,6 ± 0,4	5,0 ± 0,6	3,9 ± 0,1
КК, ед/л	1246 ± 701	740 ± 418	Данные не найдены
Лактат, мг/дл	16,6 ± 1,2	7,3 ± 2,1a	Данные не найдены
ЩФ, ед/л	153,5 ± 37,6	206,8 ± 68,8	63,1 ± 3,3a
Мочевина, мг/дл	9,4 ± 5,3	12,2 ± 1,7	
Мочевая к-та, мг/дл	5,6 ± 1,1	3,8 ± 1,0	
Общ белок, г/л	60,8 ± 12,6	61,6 ± 5,1	57,2 ± 3,1
Альбумин, г/л	21,6 ± 5,1	20,3 ± 0,9	38,8 ± 0,6ab
Триглицериды, мг/дл	502,8 ± 28,1	484,5 ± 11,1	472,2 ± 7,3
Холестерин, мг/дл	439,2 ± 121,5	644,8 ± 100,3	189,7 ± 2,76

Таким образом, сравнительная оценка карпа и рыб семейства цихловые показала физиологические особенности видов. Выявлено, что у дискусов в лейкограмме содержатся незрелые лейкоциты, а также происходит активация иммунитета судя по низкому содержанию лизосомального катионного неферментного белка в нейтрофилах и высокому содержанию глобулинов в сыворотке крови. У этих рыб отмечено высокое содержание лактата, связанное, вероятно, с их видовыми особенностями. В крови тиляпии, в отличие от крови дискуса и карпа, отмечаются высокое содержание гранулоцитов (микрофагов) и высокий уровень АЛТ и альбуминов, характеризующие интенсивный белковый обмен.

Статья подготовлена при финансовой поддержке РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, тема проекта – «Повышение иммунитета дискусов с помощью пробиотика *Bacillus Subtilis*», № 1.2.13.

Библиографический список

1. Пронина Г.И. Референтные значения физиолого-иммунологических показателей гидробионтов разных видов / Г.И. Пронина, Н.Ю. Корягина // Вестник Астраханского государственного технического университета. – 2015. – № 4. С. 103–108.
2. Пронина Г.И. Сравнительная физиологическая оценка производителей карпа и сома обыкновенного / Г.И. Пронина, А.Б. Петрушин // Известия ОГАУ. – 2012. – № 3. – С. 263–265.

3. *Ahmed I.* Comparative study of hematological parameters of snow trout *Schizopyge plagiostomus* and *Schizopyge niger* inhabiting two different habitats / I. Ahmed, Z.A. Sheikh // *The European Zoological Journal*. – 2020. – Vol. 87. – № 1. – P. 12–19.
4. *Buckley J.* Parental care and the development of the parent offspring conflict in discus fish (*Symphysodon* spp.). – School of Biomedical and Biological Sciences, 2011. – 260 p.
5. *El-Sayed Y.S.* Acute intoxication of deltamethrin in monosex Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* with special reference to the clinical, biochemical and haematological effects / Y.S. El-Sayed T.T., Saad S.M. El-Bahr // *Environmental Toxicology and Pharmacology*. – 2007. – № 24. – P. 212–217.
6. *Hrubec T.C.* Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured Tilapia (*Oreochromis* Hybrid) / T.C. Hrubec, J.L. Cardinale, S.A. Smith // *Veterinary Clinical Pathology*. – 2000. – Vol. 29 (1). – P. 7–12.
7. *Mauel M.J.* Hematologic and plasma biochemical values of healthy hybrid tilapia (*Oreochromis Aureus* × *Oreochromis Nilotica*) maintained in a recirculating system / M.J. Mauel, D.L. Miller, A.L. Merrill // *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. – 2007. – 38 (3). – P. 420–424.
8. *Satoh S.* Costs and benefits of biparental mucus provisioning in discus fish (*Symphysodon aequifasciatus*) / S. Satoh, H. Tanoue, M. Mohri // *Ichthyological Research*. – 2018. – № 65. – P. 510–514.
9. *Sunyer J.O.* Fishing for mammalian paradigms in the teleost immune system // 2013 *Nature America*. – № 14 (4). – P. 320–326.
10. *Uribe C.* Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review / C. Uribe, H. Folch, R. Enriquez, G. Moran // *Veterinárni medicína*. – 2011. – № 56 (10). – P. 486–503.
11. *Vallejos-Vidal E.* The response of fish to immunostimulant diets / E. Vallejos-Vidal F. Reyes-Lopez M. Teles, S. MacKenzie // *Fish and Shellfish Immunology*. – 2016. – № 56. – P. 34–69.

COMPARATIVE PHYSIOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF FISH SPECIES OF CICHLIDAE AND CYPRINIDAE FAMILIES

G.I. PRONINA^{1,2}, O.V. SANAYA¹

(¹ Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy;

² All-Russian Research and Development Institute of Irrigation Fishery)

Modern aquaculture is rapidly developing. It includes food fish farming and decorative fish breeding. Like in any fast-growing livestock industry, there may be problems related to the health of fish. Carp is the main object in Russian fish farming, representing the basic type of unpretentious, omnivorous and fast-growing pond polyculture. Tilapia is one of the most preferred species of global aquaculture, due to its hardiness, rapid weight gain and ability to tolerate high planting density. Discus is the most popular of the ornamental fish species; it features a large number of color variations, interesting behavior and is cost-effective in breeding. The authors carried out comparative physiological assessment of bony fish of the cyprinid and cichlid families. Hematological parameters were determined – erythrocyte and leukocyte formulas (by means of differential analysis techniques); biochemical parameters of blood serum (with the analyzer), the average cytochemical coefficient of lysosomal cationic protein content in fish blood neutrophils. The research results showed specific features in the intensity of erythro- and leukopoiesis, the proportion

of granular cells of the myeloid series. It was revealed that the peculiarity of discus is the presence of blast forms of white blood cells in the blood: myeloblasts, promyelocytes, and myelocytes. In the blood of tilapia, in contrast to discus and carp, there is a high content of granulocytes: neutrophils, eosinophils and basophils of monocytes and lymphocytes in the leukogram. Differences between species were noted based on the results of the lysosomal cation test. The difference in a number of biochemical parameters can also be seen: in tilapia as compared with other species – in the content of albumins, alkaline phosphatase and ALT, in discus – in the activity of lactate and KK enzymes.

Key words: *discus, Symphysodon haraldi, tilapia, Oreochromis niloticus, carp, Cyprinus carpio, hematological, biochemical indicators, lysosomal-cation test.*

References

1. Pronina G.I., Koryagina N.Yu. Referentnye znacheniya fiziologo-immunologicheskikh pokazateley gidrobiontov raznykh vidov // Vestnik Astrahanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. 2015; 4: 103–108. (In Rus.)
2. Pronina G.I., Petrushin A.B. Sravnitel'naya fiziologicheskaya otsenka proizvoditelej karpa i soma obyknovennogo // Izvestiya OGAU. 2012; 3: 263–265.
3. Ahmed I., Sheikh Z.A. Comparative study of hematological parameters of snow trout *Schizopyge plagiostomus* and *Schizopyge niger* inhabiting two different habitats // The European Zoological Journal. 2020; 87; 1: 12–19
4. Buckley J. Parental care and the development of the parent offspring conflict in discus fish (*Symphysodon* spp.). – School of Biomedical and Biological Sciences, 2011: 260. (In Rus.)
5. El-Sayed Y.S., Saad T.T., El-Bahr S.M. Acute intoxication of deltamethrin in monosex Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* with special reference to the clinical, biochemical and haematological effects // Environmental Toxicology and Pharmacology. 2007; 24: 212–217
6. Hrubec T.C., Cardinale J.L., Smith S.A. Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured Tilapia (*Oreochromis Hybrid*) // Veterinary Clinical Pathology. 2000; 29 (1): 7–12.
7. Mauel M.J., Miller D.L., Merrill A.L. Hematologic and plasma biochemical values of healthy hybrid tilapia (*Oreochromis Aureus* × *Oreochromis Nilotica*) maintained in a recirculating system // Journal of Zoo and Wildlife Medicine. 2007; 38(3): 420–424
8. Satoh S., Tanoue H., Mohri M. Costs and benefits of biparental mucus provisioning in discus fish (*Symphysodon aequifasciatus*) // Ichthyological Research. 2018; 65: 510–514
9. Sunyer J.O. Fishing for mammalian paradigms in the teleost immune system // Nature America. 2013; 14 (4): 320–326
10. Uribe C., Folch H., Enriquez R., Moran G. Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review // Veterinárni medicína. 2011; 56 (10): 486–503.
11. Vallejos-Vidal E., Reyes-Lopez F., Teles M., MacKenzie S. The response of fish to immunostimulant diets // Fish and Shellfish Immunology. 2016; 56: 34–69.

Прони́на Га́лина Ио́зеповна, д-р биол. наук, заведующий лабораторией, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт ирригационного рыбоводства» (142460, Российская Федерация, Московская область, Ногинский район, пос. им. Воровского,

ул. Сергеева, 24; профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева» (127550, г. Москва, Тимирязевская ул., 49; e-mail: gidrobiont4@yandex.ru; тел.: (903) 173-62-47).

Саная Ольга Владимировна, аспирант кафедры физиологии, этологии и биохимии животных, магистр с.-х. наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева» (127550, г. Москва, Тимирязевская ул., 49; e-mail: discuss2020@gmail.com; тел.: (916) 818-29-40).

Galina I. Pronina, DSc (Bio), Head of Laboratory, All-Russian Research and Development Institute of Irrigation Fishery (142460, Moscow region, Noginsk district, Im. Vorovskogo settlement, Sergeeva Str., 24); Professor, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (127550, Moscow, Timiryazevskaya Str. 49. gidrobiont4@yandex.ru, (903) 173-62-47).

Olga V. Sanaya, MSc (Ag), postgraduate student, the Department of Animal Physiology, Ethology and Biotechnology, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (127550, Moscow, Timiryazevskaya Str. 49. discuss2020@gmail.com, (916) 818-29-40).