



Математическая оценка физиологических показателей жизнестойкости нильской тилапии *Oreochromis niloticus*

<https://doi.org/10.36038/0131-6184-2024-5-105-114>

Научная статья
УДК 574.24

Крючков Виктор Николаевич – доктор биологических наук, профессор кафедры «Гидробиология и общая экология» ФГБОУ ВО «Астраханский государственный технический университет», Астрахань, Россия
E-mail: kvn394@rambler.ru

Егорова Вера Ивановна – кандидат биологических наук, доцент, директор Института рыбного хозяйства, биологии и природопользования, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный технический университет», Астрахань, Россия
E-mail: lekaego@mail.ru

Джалмухамбетова Елена Азатуллаевна – кандидат физико-математических наук, доцент кафедры «Математические и естественно-научные дисциплины»; Каспийский институт морского и речного транспорта им. ген.-адм. Ф.М. Апраксина – филиал ФГБОУ ВО «ВГУВТ», Астрахань, Россия
E-mail: elena_jalm@mail.ru

Волкова Ирина Владимировна – доктор биологических наук, профессор кафедры «Гидробиология и общая экология» ФГБОУ ВО «Астраханский государственный технический университет»; профессор кафедры «Математические и естественно-научные дисциплины»; Каспийский институт морского и речного транспорта им. ген.-адм. Ф.М. Апраксина — филиал ФГБОУ ВО «ВГУВТ», Астрахань, Россия
E-mail: gridasova@mail.ru

Адреса:

1. ФГБОУ ВО «Астраханский государственный технический университет» – Россия, 414056, г. Астрахань, ул. Татищева, стр. 16/1
2. Каспийский институт морского и речного транспорта им. ген.-адм. Ф.М. Апраксина – филиал ФГБОУ ВО «ВГУВТ» – Россия, 414024, г. Астрахань, ул. Б. Хмельницкого, д. 3

Аннотация. Исследования по выявлению наиболее жизнеспособных рыб с использованием функциональной нагрузки. В качестве стресс-фактора использован фенол. Экспериментальные данные по подсчету количества выживших особей к определенным моментам времени, в зависимости от показателей крови, были подвергнуты математической обработке с использованием метода сравнения выживаемости. Применение индексов крови необходимо в качестве средства диагностики и прогноза при патологических процессах для достижения объективности результатов в практике рыбоводства. В качестве одного из показателей адаптационных возможностей культивируемых рыб авторы предлагают использовать оценку крови по пятибалльной шкале.

Ключевые слова: резистентность организма, стресс-фактор, фенол, функция выживаемости, лизоцим, форменные элементы крови, динамика выживания, динамика гибели

Для цитирования: Крючков В.Н., Егорова В.И., Джалмухамбетова Е.А., Волкова И.В. Математическая оценка физиологических показателей жизнестойкости нильской тилапии *Oreochromis niloticus* // Рыбное хозяйство. 2024. № 5. С. 105-114. <https://doi.org/10.36038/0131-6184-2024-5-105-114>

MATHEMATICAL ASSESSMENT OF PHYSIOLOGICAL INDICATORS OF NILE TILAPIA *Oreochromis niloticus* VITALITY

Viktor N. Kryuchkov – Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Hydrobiology and General Ecology, Astrakhan State Technical University, Astrakhan, Russia

Vera I. Egorova – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Director of the Institute of Fisheries, Biology and Environmental Management, Astrakhan State Technical University, Astrakhan, Russia

Elena A. Dzhalmbukhambetova – Candidate of Physical and Mathematical Sciences, Associate Professor of the Department of Mathematical and Natural Science Disciplines; Caspian Institute of Marine and River Transport named after General Adm. F.M. Apraksin – branch of the Federal State Budgetary Educational Institution «VGUVT», Astrakhan, Russia

Irina V. Volkova – Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Hydrobiology and General Ecology, Astrakhan State Technical University; Professor of the Department of Mathematical and Natural Science Disciplines; Caspian Institute of Marine and River Transport named after Gen. – Adm. F.M. Apraksin – branch of the Federal State Budgetary Educational Institution «VGUVT», Astrakhan, Russia

Addresses:

1. **Astrakhan State Technical University** – Russia, 414056, Astrakhan, Tatishcheva str., p. 16/1
2. **Caspian Institute of Marine and River Transport named after Gen.-Adm. F.M. Apraksin** – branch of the Federal State Budgetary Educational Institution «CIMRT» – Russia, 414024, Astrakhan, B. Khmelnitsky str., 3

Annotation. Mathematical assessment of physiological indicators of tilapia vitality. Research to identify the most viable fish using functional loading. Phenol was used as a stress factor. Experimental data on the calculation of the number of surviving individuals at certain points in time, depending on blood parameters, were mathematically processed using the survival comparison method. The use of blood indices is necessary as a means of diagnosis and prognosis in pathological processes in order to achieve objective results in fish farming practice. As one of the indicators of the adaptive capabilities of cultured fish, the authors propose to use a blood score on a five-point scale.

Keywords: body resistance, stress factor, phenol, survival function, lysozyme, shaped elements of blood, dynamics of survival, dynamics of death

For citation: Kryuchkov V.N., Egorova V.I., Dzhalmbukhambetova E.A., Volkova I.V. Mathematical assessment of physiological indicators of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* viability // Fisheries. 2024. No 5. Pp. 105-114. <https://doi.org/10.36038/0131-6184-2024-5-105-114>.

Рисунки и таблицы – авторские / The drawings and tables was made by the author

ВВЕДЕНИЕ

Успешное культивирование рыб в искусственных условиях требует нормального функционирования организма при высокой резистентности к различным повреждающим воздействиям. Интерес исследователей и практиков рыбного хозяйства к проблемам физиологии адаптации рыб напрямую связан с проблемами интенсификации аквакультуры, когда, вследствие увеличения плотности посадки, количества кормов, применения удобрений и других мероприятий, направленных на повышение продуктивности, неизбежно создаются условия для дополнительной нагрузки на организм культивируемых рыб. По сравнению с дикой природой, рыбы, выращиваемые в условиях интенсивной аквакультуры, подвергаются воздействию различных стрессо-

ров, которые могут повлиять на их рост и благополучие [15]. Многочисленные рыбоводные манипуляции, в свою очередь, также являются стрессовыми факторами. Все вместе это снижает резистентность рыб и, при наличии возбудителя, провоцирует возникновение болезни.

Успешное выращивание рыбы в товарных хозяйствах (прудовых, промышленных) в конечном итоге зависит от того, насколько она адаптирована к условиям содержания.

Современные представления об адаптационных механизмах показывают, что их специфические компоненты базируются на основе уже сформировавшихся физиологических процессов [12].

Устойчивость рыб к стрессу различной этиологии обусловлена деятельностью гомео-

статических систем, в том числе и иммунной системы, а также связанными с ней другими физиологическими функциями. Наиболее тесно иммунная система связана с неспецифической защитой (инактивацией) от патогенов. Неспецифический компонент адаптации к любому стресс-фактору заключается в активации механизмов клеточного и гуморального иммунитета, детоксикационной системы цитохрома P-450, антиоксидантных систем [9].

Знание приспособительных возможностей организма рыб позволяет найти оптимальные условия их содержания. Иммунофизиологические исследования получили распространение в связи с развитием аквакультуры и освоения новых объектов разведения [2], при этом необходимо осуществить подбор информативных показателей, определяемых с помощью надежных и доступных методов исследования.

Гематология и гемато-биохимия являются перспективными направлениями в исследованиях физиологии рыб, в первую очередь вследствие их информативности при диагностике патологических состояний. Существенную роль гемато-биохимические показатели играют при прогнозе здоровья культивируемых видов рыб [14]. Показатели крови считаются важными физиологическими маркерами для изучения реакции рыб на стресс [19], в том числе вызываемый высокими плотностями посадки культивируемых рыб и рыбоводными манипуляциями [18], другими агентами, вызывающими стресс [17].

Таким образом, изучение факторов неспецифической защиты, обеспечивающих резистентность организма рыб, разработка системы показателей качества молоди, определяющих ее резервную устойчивость, является одним из перспективных направлений исследований в аквакультуре.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Место исследования

Местом исследования был выбран бассейн и аквариальный комплекс малого инновационного предприятия «Эко-тропик». Одним из направлений деятельности предприятия, созданного при участии Астраханского государственного технического университета, была разработка новых и адаптация существующих биотехнологий культивирования тропических видов аквакультуры в условиях континентального климата юга России.

Представленное исследование было проведено с использованием нильской тилляпии *Oreochromis niloticus*, которая содержалась в садках, размещённых в прудах, и в УЗВ.

Экспериментальные резервуары

Для экспериментов использовались аквариумы объёмом 300 л, куда помещались подопытные рыбы массой 60–80 граммов. Все аквариумы были снабжены биофильтрами и аэрацией, однако при проведении тестирования рыб водообмен и аэрация отключались, чтобы не вывести из строя биофильтры. Температуры воды в аквариумах 24–26 °С, pH 7,2, содержание растворённого кислорода – не менее 7,0 мг/л.

План эксперимента

Был проведён эксперимент с функциональной нагрузкой по выявлению наиболее жизнеспособных рыб. В качестве стресс-фактора использован фенол в концентрации 50,0 мг/л. Концентрация фенола была подобрана в предварительном эксперименте. Экспериментальные аквариумы были заполнены предварительно отстоянной водой, добавлен маточный раствор фенола в количестве, необходимом для создания выбранной концентрации с последующим немедленным добавлением рыбы, чтобы свести к минимуму снижение номинальной дозированной концентрации фенола. У всех подопытных рыб была предварительно собрана кровь, все рыбы индивидуально были помечены подрезанием лучей плавников. Отмечалось время выживания каждой рыбы.

Забор крови и гематологические показатели

Для минимизации стресса от манипуляций перед отбором крови производилась анестезия препаратом трикаин метанесульфат (концентрация 0,05 г/л, экспозиция 2–3 мин., определялась визуально по внешним проявлениям у рыб). Считается, что данная манипуляция оказывает минимальное влияние на рыб [21]. Кровь собирали путем пункции сосудов хвостового стебля.

Свежие мазки крови готовили сразу после отбора крови. Подсушенные мазки фиксировались смесью спирт-эфир (1:1), затем окрашивались азур-эозином по Романовскому-Гимза. Дифференцированный подсчёт лейкоцитов производился четырехпольным методом, идентификация лейкоцитов – с использованием атласа Н.Т. Ивановой [5].

Определение в гранулоцитах (нейтрофилах) неферментных катионных белков (лизосомально-катионный тест) проводили на нефиксированных мазках не позднее 1 суток после отбора по Н.А. Макаревичу [8], с окраской красителем прочный зелёный, приготовленным на метаноле трис-буфере с pH 8,1–8,2, докраска – азуром-1. Средний цветной коэффи-

циент (СЦК) определяли полуколичественным методом по формуле:

$$СЦК = (0q_1 + 0,5q_2 + 1,0q_3 + 1,5q_4 + 2,0q_5 + 3,0q_6) / Q, \quad (1)$$

где $Q = \sum q_j$, q_j – количество клеток с определенной степенью окрашивания цитоплазмы.

Исследуемые клетки делились на кластеры по интенсивности и характеру окраски цитоплазмы: 0 – окраска отсутствует; 0,5 – единичные гранулы, слабое окрашивание; 1,0 – бледно-зелёный цвет либо гранулы занимают примерно 1/3 цитоплазмы; степень 1,5 – цитоплазма окрашена равномерно в светло-зелёный цвет; 2,0 – вся цитоплазма окрашена в зелёный цвет, имеются гранулы или участки с тёмно-зелёным цветом; 3,0 – вся цитоплазма тёмно-зелёного цвета.

Лизоцим в сыворотке крови определяли методом серийных разведений по литическому действию на тест-микроорганизмы *Micrococcus lysodeicticus* [3].

Математическая обработка результатов

Экспериментальные данные по подсчету количества выживших особей к определенным моментам времени, в зависимости от показателей крови, были подвергнуты математической обработке [11] с использованием метода сравнения выживаемости [4].

Для построения функций выживаемости различных групп особей по показателям крови и оценки эффективного времени выживания использован метод линейной регрессии с минимизацией ошибок методом наименьших квадратов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Гематологические параметры.

Клеточный состав крови тилапии

Анализ лейкоцитарного состава периферической крови давно и успешно применяется для диагностики различных патологических состояний, в том числе и у рыб.

На мазках крови тилапий были представлены практически все типы форменных элементов крови, характерных для данного вида. Показано наличие в крови форменных элементов на ранних стадиях дифференциации, что в равной степени относится как к эритроидному ряду, так и к лейкоцитарному.

Результаты анализа мазков крови тилапий представлены в таблице 1.

Показано, что условия содержания рыб находят своё отражение в клеточном составе периферической крови. Так, у рыб, содержащихся в установленном в пруду садке, было достоверно большее ($P < 0,05$) представительство гранулоцитов, как нейтрофилов, так и эозинофилов. Также относительное количество моноцитов достоверно выше почти в два раза у рыб из пруда по сравнению с теми, которые содержались в контролируемых условиях в УЗВ.

Математическая модель динамики выживания рыб при токсической нагрузке

В данном исследовании, в качестве стресс-фактора, была применена фенольная интоксикация. Внешнее проявление токсического процесса, при воздействии летальных концентраций токсикантов, заключается в гибели подопытных животных (в условиях экспе-

Таблица 1. Клеточный состав крови нильской тилапии / **Table 1.** Cellular composition of the blood of the Nile tilapia

Тип клеток		Пруд (садок)	УЗВ
Нейтрофилы	МН	2,32±0,08	1,32±0,14
	ММН	4,36±0,15	4,42±0,60
	ПЯН	5,8±0,17	3,57±0,77
	СЯН	5,28±0,18	3,3±0,25
	Σ нейтрофилы	17,76	12,61
Гранулоциты	МЭ	0,5±0,005	0,0
	ММЭ	0,5±0,005	0,01
	Σ Гранулоциты	1,0	0,01
Эозинофилы	ПЯЭ	1,20±0,09	0,01±0,005
	СЯЭ	0,84±0,07	0,03±0,003
	Σ Эозинофилы	3,04	0,05
Агранулоциты	Монобласты (МБ)	2,42±0,03	2,86±0,19
	Моноциты (М)	2,25±0,17	1,32±0,15
	Лимфоциты (Л)	74,54±2,42	83,15±7,66

Обозначения: МН – нейторофильные миелоциты, ММН – нейтрофильные метамиелоциты, ПЯН – палочкоядерные нейтрофилы, СЯН – сегментноядерные нейтрофилы, МЭ – эозинофильные миелоциты, ММЭ – эозинофильные метамиелоциты, ПЯЭ – палочкоядерные эозинофилы, СЯЭ – сегментноядерные эозинофилы.

римента), которая происходит не одновременно. Временной интервал от гибели первых экземпляров до достижения определённого эффекта зависит от ряда факторов, в том числе и от состояния рыб.

Так как время жизни рыб в благоприятных условиях во много раз больше времени жизни в агрессивной среде, что выступает в качестве критерия жизнестойкости рыб, динамику численности n_k k -ой группы в воде с фенолом можно приближенно описывать дифференциальным уравнением:

$$dn_k/dt = -\frac{1}{\tau_k} \cdot [n_k - n_k(\infty)], n_k \geq n_k(\infty), \quad (2)$$

где $n_k(\infty)$ – число особей, сумевших адаптироваться к неблагоприятным условиям (проживших до окончания эксперимента); τ_k – эффективное время выживания k -ой группы ($k=1, 2, 3, 4$).

Следует пояснить, что отмеченная выше «адаптация» имеет кратковременный характер, при продолжении действия стресс-фактора выбранной интенсивности её срыв неизбежен. Эффективное время выживания характеризует сопротивляемость данной группы рыб воздействию агрессивной среды. Чем больше τ_k , тем больше сопротивляемость данной группы. Отметим, что эффективное время выживания τ_k в 1,44 раза больше так называемой медианы выживания [4].

В рамках данного эксперимента не выделено количество особей $n_k(\infty)$, которые сумели адаптироваться к неблагоприятным условиям среды. При малых значениях концентрации вредных веществ это количество, очевидно, будет ненулевым.

В результате получаем систему из нескольких таких уравнений динамики численности группы по показателю крови. Количество уравнений в системе определяется числом выбранных для тестирования показателей. Каждое из этих уравнений имеет решение вида:

$$n_k = n_k(0) \cdot [\alpha_k + (1 - \alpha_k) \cdot \exp(-\frac{t}{\tau_k})]. \quad (3)$$

Здесь $n_k(0)$ – начальное количество рыб k -ой группы; $\alpha_k = n_k(\infty)/n_k(0)$ – постоянная, равная отношению числа адаптировавшихся особей к их первоначальному количеству; t – текущее время (в тех же единицах, что и эффективное время жизни τ_k).

Динамику выживания (гибели) всей исследуемой совокупности рыб $N = \sum_i n_i$ можно описывать функцией, аналогичной функции (3):

$$N = N(0) \cdot [\alpha + (1 - \alpha) \cdot \exp(-\frac{t}{\tau})]. \quad (4)$$

Здесь $N(0)$ – общее количество рыб в начальный момент времени (при $t=0$); τ – эффективное время выживания всей совокупности рыб; $\alpha = N(\infty)/N(0)$ – отношение суммарного количества адаптировавшихся особей к их начальному количеству.

Оценка эффективного времени жизни (выживания)

Для оценки эффективного времени выживания группы тилапий в агрессивной среде был применён метод наименьших квадратов в задаче о линейной регрессии.

Рассмотрим k -ю группу рыб. Запишем решение уравнения (2) математической модели в виде:

$$\frac{n_k(t) - n_k(\infty)}{n_k(0) - n_k(\infty)} = \exp(-\frac{t}{\tau_k}), \quad (5)$$

Прологарифмировав левую и правую этого равенства, получаем линейное уравнение:

$$y_k(t) = -\frac{1}{\tau_k} \cdot t, \quad (6)$$

где введено обозначение для функции, представляющей собой при $n_k(\infty) = 0$ натуральный логарифм отношения числа живых рыб к их первоначальному количеству:

$$y_k(t) = \ln \left[\frac{n_k(t) - n_k(\infty)}{n_k(0) - n_k(\infty)} \right]. \quad (7)$$

В данном эксперименте необходимо было по конечному числу ($m=3$) данных, полученных с погрешностью, определить параметры математической связи величин для линейного закона (6) изменения численности рыб.

Задача линейной регрессии состоит в восстановлении линейной зависимости $y(t)$ по результатам измерений t_i , и y_i , где $i=1, 2, \dots, m$.

Коэффициент линейной регрессии будет иметь вид:

$$a = \frac{\sum_{i=1}^m (t_i \cdot y_i)}{\sum_{i=1}^m t_i^2}, \quad (8)$$

Получаем связь коэффициента линейной функции со временем выживания данной группы рыб: $a_k = -1/\tau_k$. Отсюда, учитывая формулу (8), приходим к формуле для оценки эффективного времени выживания особей, относящихся к k -й группе по показателям крови:

$$\tau_k = -\frac{\sum_{i=1}^m t_i^2}{\sum_{i=1}^m (t_i \cdot y_i)}. \quad (9)$$

Эта формула далее будет использована для оценки результатов эксперимента с функциональной нагрузкой.

Оценка зависимости резистентности тилляпии от показателей активности лизосомально-катионных белков

Лизосомальные катионные белки (ЛКБ), обнаруживаемые в полиморфно-ядерных лейкоцитах, играют существенную роль в процессах, обеспечивающих неспецифическую защиту от патогенов и в иммунных процессах. ЛКБ принимают участие в развитии клеточных и гуморальных реакций при реализации иммунного ответа, таким образом, включаясь в обеспечение иммунного гомеостаза и, соответственно, в приобретение адаптации к условиям жизни. Кроме того, лизосомальные катионные белки участвуют в бактериальном клиренсе [10; 20]. Имеются достоверные сведения об интегративной роли (ЛКБ) в механизмах регуляции дифференциации лейкоцитов [20; 10].

Несмотря на то, что основная область применения лизосомально-катионного теста – это оценка иммунного статуса, в частности, эффективности фагоцитоза, ранее были проведены работы, которые показали возможность использования этого теста для характеристики общей резистентности рыб [6].

Результаты опыта с функциональной нагрузкой, позволяют выделить четыре группы рыб, которые различались по выживаемости и по значениям ЛКБ в тесте (табл. 2)

На рисунке 1 показано, что при острой интоксикации первоначально идёт элиминация

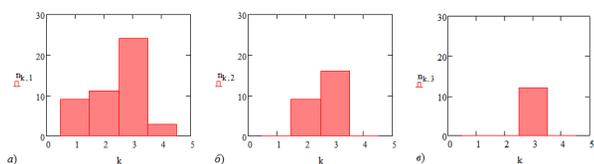


Рисунок 1. Распределение численности групп по показателю ЛКТ: а) в начальный момент; б) при $t=30$ мин; в) при $t=60$ мин

Figure 1. Distribution of the number of groups according to the LCT indicator: a) at the initial moment; b) at $t=30$ min; c) at $t=60$ min

особей с крайними значениями СЦК в лизосомально-катионном тесте.

На рисунке 2 сравниваются кривые динамики численности рыб по отношению к начальному их количеству, полученные в эксперименте (синяя ломаная линия) и в результате моделирования (красная штриховая).

Характер кривых показывает, что математическая модель выживаемости рыб при острой интоксикации, в зависимости от показателя активности ЛКБ, адекватно отражает результаты эксперимента.

Оценка зависимости резистентности тилляпии от показателей клеточного состава крови (индекс Бредекка)

Индекс Бредекка (ИБ), определяемый как отношение лимфоцитов к палочкоядерным нейтрофилам, применяется как интегральный показатель функционального состояния организма. Отмечается, что его увеличение свидетельствует о повышении уровня неспецифической резистентности организма, напротив, снижение является признаком снижения общей резистентности [7].

Результаты опыта с функциональной нагрузкой позволяют выделить три группы рыб,

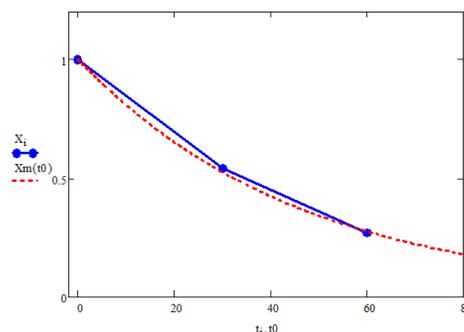


Рисунок 2. Сравнение динамики численности рыб в математической модели и в эксперименте (ЛКТ)

Figure 2. Comparison of fish population dynamics in a mathematical model and in an experiment (LCT)

Таблица 2. Динамика численности групп выживших рыб при разных значениях СЦК в ЛКТ, % / **Table 2.** Dynamics of the number of groups of surviving fish at different values of CCS in LCT, %

Но группы	ЛКТ	Кол-во рыб при $t = 0$ мин	Кол-во рыб при $t = 30$ мин	Кол-во рыб при $t = 60$ мин
1	0,3 - 0,7	100	0	0
2	0,7 - 1,1	100	81,8	0
3	1,1 - 1,8	100	68,0	52,0
4	1,8 - 2,0	100	0	0

Таблица 3. Динамика численности групп выживших рыб при разных значениях индекса Бредекка, % / **Table 3.** Dynamics of the number of groups of surviving fish at different values of the Bredekka index, %

Но группы	ИБ	Кол-во рыб при $t = 0$ мин	Кол-во рыб при $t = 30$ мин	Кол-во рыб при $t = 60$ мин
1	12,0 – 14,2	100	100	89
2	14,3 – 17,0	100	22,2	11,5
3	17,0 – 20,6	100	33,3	10,0

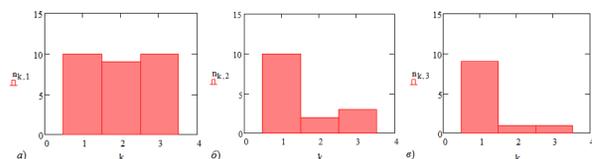


Рисунок 3. Распределение численности групп по показателю ИБ: а) в начальный момент; б) при $t=30$ мин; в) при $t=60$ мин.

Figure 3. Distribution of the number of groups according to the IB indicator: a) at the initial moment; b) at $t = 30$ min; c) at $t = 60$ min.

которые характеризовались различной устойчивостью к действию стресс-фактора, соответственно была выявлена неоднородность рыб по критерию значения индекса Бредекка (табл. 3).

Результаты эксперимента по выживанию трех групп тилапий по показателям крови ИБ, представленные в таблице 3, графически отражены на рисунке 3.

Расчетные значения эффективного времени жизни для группы тилапий по значениям крови ИБ приведены в таблице 4.

Наибольшее расчетное значение эффективного времени жизни (712 мин.) у рыб первой группы. Именно эта группа отличается наибольшей выживаемостью.

На рисунке 4 сравниваются кривые динамики (ИБ) численности рыб по отношению к начальному их количеству, полученные в эксперименте (синяя линия) и в результате моделирования (красная штриховая линия).

Оценка зависимости резистентности тилапии от показателей активности лизоцима

Лизоцим – это фермент из группы гликозидаз (НФ 3.2.1.17). Неоднократно отмечено, что лизоцим играет важную роль в формировании и реализации врожденного иммунитета рыб, является одним из первых звеньев неспецифической защиты от патогенов. Поэтому изучение влияния внешних факторов, в том числе и температуры, на активность лизоцима – это по-прежнему актуальное направление исследований [13], имеющее как теоретическое, так и практическое значение.

Результаты опыта с функциональной нагрузкой позволяют выделить четыре группы рыб по устойчивости, в зависимости от активности лизоцима в сыворотке крови (рис. 5).

Сплошная синяя ломаная линия показывает зависимость от времени суммарного количества живых рыб, то есть динамику общей численности.

Цвета линий для групп указаны около оси ординат на рисунке 5: 1-я группа со значениями лизоцим в интервале 1-3 усл.ед./мл; 2-я группа – 4-6 усл.ед./мл; 3-я группа – 7-8 усл.ед./мл; 4-я группа – 9-12 усл.ед./мл.

Расчетные значения эффективного времени жизни для групп тилапий по значениям показателя активности лизоцима приведены в таблице 5.

На рисунке 6 сравниваются кривые динамики (лизоцим) численности рыб по отношению к начальному их количеству, полученные в эксперименте (синяя линия) и в результате моделирования (красная штриховая).

Интегральная оценка выживаемости

Поскольку время выживания рыб в агрессивной среде зависит не только от их адаптационных возможностей, но и в значительной мере от параметров среды, при интегральной оценке устойчивости рыб к действию стресс-фактора была принята балльная оценка выживаемости, показанная в таблице 6.

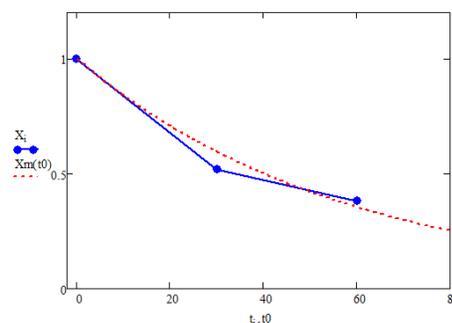


Рисунок 4. Сравнение динамики численности рыб в математической модели и в эксперименте (по показателю ИБ)

Figure 4. Comparison of fish population dynamics in a mathematical model and in an experiment (according to the IB indicator)

Таблица 4. Расчетные времена выживания тилляпий по показателю ИБ при острой интоксикации / **Table 4.** Estimated survival times of tilapia in terms of IIB in acute intoxication

Но группы	ИБ	Время жизни, мин
1	12,0 - 14,2	712
2	14,3 - 17,0	25,4
3	17,0 - 20,6	25,8
N		57,7

Таблица 5. Расчетные времена выживания тилляпий при острой интоксикации по показателю активности лизоцима / **Table 5.** Estimated survival times of tilapia in acute intoxication by lysozyme activity index

Но группы	ИБ	Время жизни, мин
1	12,0 - 14,2	712
2	14,3 - 17,0	25,4
3	17,0 - 20,6	25,8
N		57,7

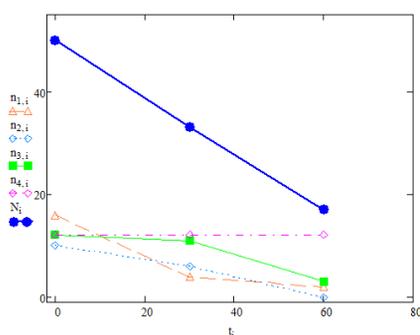


Рисунок 5. Динамика численности рыб экспериментальных групп в зависимости от показателя лизоцима в сыворотке крови

Figure 5. Dynamics of the number of fish in experimental groups depending on the lysozyme index in blood serum

Наименее устойчивыми оказались особи со сниженными показателями неспецифической резистентности. Несколько более устойчивыми оказались рыбы, у которых большинство показателей значительно превышали средние. Само по себе повышение реактивности следует рассматривать как благоприятный прогностический признак, однако в этот период организм остается чувствительным к воздействию неблагоприятных условий. Такая рыба может считаться условно здоровой. При обитании в благоприятных условиях можно рассчитывать на увеличение её жизнестойкости.

Наиболее качественной можно считать рыбу, показатели которой не выходят за пределы доверительного интервала средних величин.

Как правило, при оценке состояния организма рыб принято использовать показатели исследуемых параметров, сравнивая их с некой нормой. Однако отмечается существенная

вариабельность значений каждого иммунологического показателя. Даже у особей с выраженным иммунодефицитом всегда обнаруживается значительная часть индивидуумов с такими значениями отдельных показателей, которые не отличаются от нормы. Наиболее приемлемой для оценки резистентности является концепция «мобилей»: одно и то же интегральное состояние нормы может достигаться совокупностью неодинаковых уровней показателей отдельных параметров, характеризующих различные защитные механизмы. Изменение одного параметра распространяется на всю систему, сдвигая все остальные. При этом сдвиг может скомпенсировать возникшие изменения или не скомпенсировать. Поэтому мы предлагаем оценивать каждый показатель в баллах и выводить средний балл.

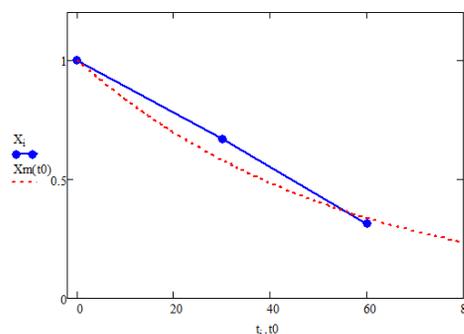


Рисунок 6. Сравнение динамики численности рыб в математической модели и в эксперименте (лизоцим)

Figure 6. Comparison of fish population dynamics in a mathematical model and in an experiment (lysozyme)

Таблица 6. Оценка выживаемости рыб при фенольной интоксикации в зависимости от показателей крови / **Table 6.** Assessment of fish survival in phenolic intoxication depending on blood parameters

Показатель	Баллы	5	4	3	2
ЛКТ		1,1-1,7	более 1,80	0,7-1,3	менее 0,7
Лизоцим, усл.ед./мл		5- 8	менее 4	6-11	менее 0,30
ИБ (Г)		12-14	более 17,0	14-17	менее 10

ОБСУЖДЕНИЕ

Как правило, полиморфно-ядерные лейкоциты, прежде всего нейтрофилы, рассматриваются как факторы антимикробной резистентности, чаще всего в форме фагоцитов крови (микрофагов). Однако их функциональные возможности не ограничиваются фагоцитозом. Так, имеются сведения об участии нейтрофилов в развитии стресс-реакции путём секреции и выделения в плазму крови дефензинов [1]. Дефензины известны как катионные пептиды, активные против многих патогенов, интерес к которым обусловлен их ролью в реализации защитных функций клетки крови [16]. По свидетельству И.В. Нестеровой с сотр. [10], прежнее представление о нейтрофильных гранулоцитах как о короткоживущих эффекторных клетках является неполным, поскольку исследования последних позволили выявить их участие во многих защитных функциях, реализующихся, в том числе, и при взаимодействиях с другими клетками крови. Одним из косвенных показателей такого взаимодействия, по всей вероятности, выступает рассмотренный индекс Бредекка, определяемый как отношение лимфоцитов к палочкоядерным нейтрофилам.

Индексы крови всё шире применяются как средство диагностики или прогноза при течении патологических процессов [7]. Однако для широкого использования их в практике рыбоводства необходимы дополнительные исследования. Поэтому, до получения соответствующих результатов, в качестве одного из показателей адаптационных возможностей культивируемых рыб можно использовать оценку крови по следующей шкале: 5 баллов – лейкоформула, соответствующая норме, нет патологии лейкоцитов, патологических форм эритроцитов не более 5%, нет грубых патологий; 4 балла – имеются незначительные отклонения от нормы лейкоформулы по отдельным классам клеток в пределах не более 2m, возможна вакуолизация моноцитов, сдвиг в ядерной формуле гранулоцитов при сохранении в норме их суммарного содержания, доля измененных эритроцитов 5-10%; 3 балла – имеется дефицит какого-либо класса лейко-

цитов либо его резкое увеличение, сюда же следует отнести случаи большого количества (20-25% и более) ненормальных эритроцитов (сильную агглютинацию, анемию, массовый пойкилоцитоз и другие подробные явления) даже при нормальной лейкоформуле.

ВЫВОДЫ

В основе интегральной оценки качества (адаптационного потенциала, резистентности) лежит положение, что одинаковые состояния устойчивости к неблагоприятным факторам среды могут обеспечиваться разными механизмами, недостаточность одного механизма резистентности компенсируется другими. Математическое моделирование и численный анализ данных эксперимента по выживанию тилапий в опыте с функциональной нагрузкой приводит к некоторым выводам:

1. Результаты эксперимента в целом согласуются с предложенной математической моделью динамики численности рыб.
2. Рассчитываемое по опытным данным эффективное время жизни является количественным параметром, характеризующим устойчивость к агрессивной среде группы особей с определенными значениями показателя крови.
3. Рассчитанные по данным эксперимента эффективные времена жизни по выбранным показателям крови (ЛКТ, ИБ, лизоцим) оказались довольно близкими по значению.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Вклад в работу авторов: В.Н. Крючков – идея статьи, подготовка обзора литературы, корректировка текста; В.И. Егорова – идея статьи, подготовка обзора литературы, сбор данных, подготовка статьи, окончательная проверка; Е.А. Джалмухамбетова – анализ данных; И.В. Волкова – подготовка обзора литературы, корректировка текста.

The authors declare that there is no conflict of interest. Contribution to the work of the authors: V.N. Kryuchkov – preparation of a literature review, text correction; V.I. Egorova – idea of the article, preparation of a literature review, data collection, preparation of the article final verification; E.A. Dzhalmukhambetova – data analysis; I.V. Volkova – preparation of a literature review, correction of the text.

ЛИТЕРАТУРА И ИСТОЧНИКИ

1. Алешина Г.М., Янкевич И.А. Иммуноферментное определение содержания дефенсинов нейтрофильных гранулоцитов в плазме крови крыс в условиях экспериментального стресса // Российский иммунологический журнал. 2013. Т. 7. №2-3. С. 127-128.
2. Вихман А.А. Системный анализ иммунофизиологической реактивности рыб в условиях аквакультуры. – М.: Экспедитор. 1996. 176 с.
3. Генералова Л.П., Ситнова О.В. Методика определения лизоцима жидкостно-гелевым способом. – М.: ВНИИПРХ. 1994. 3 с.
4. Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика. 1998. 459 с.
5. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. – М.: Легкая и пищевая промышленность. 1982. 184 с.
6. Крючков В.Н. Иммуно-физиологические исследования в практике товарного рыбоводства // Первый российско-американский симпозиум «Аквакультура и здоровье рыб». Рабочая программа и тезисы сообщений. – М.: 1998. С. 111-113 (159-161).
7. Леонов В.В., Павлова О.Н., Гуленко О.Н., Кузнецова О.Г., Варфоломеева Л.Г. Интегральные гематологические индексы, как способ оценки реактивных изменений крови на нагрузку антиоксидантами // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2022. № 4. С. 133-140.
8. Макаревич Н.А. Лизосомально-катионный тест для оценки резистентности организма крупного рогатого скота // Ветеринария. 1988. №5. С. 26-28.
9. Меерсон Ф.З. Адаптационная медицина: механизмы и защитные эффекты адаптации. – М.: Нурохиа Medical J. 1993. С. 168-226.
10. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Евглеvский А.А. Нейтрофильные гранулоциты: новый взгляд на «старых игроков» на иммунологическом поле // Иммунология. 2015. Т. 36. № 4. С. 257-265.
11. Рациков В.И., Рощаль А.С. Численные методы решения физических задач: учеб. пособие. – СПб.: Лань. 2005. 208 с.
12. Сороко С.И. Значение стресс-реакции в интегративном ответе организма человека на острое гипоксическое воздействие // Вестник образования и развития науки Российской академии естественных наук. 2016. № 4. С. 88-95.
13. Health”. Working program and abstracts of messages. – М.: Pp. 111-113 (159-161). (In Russ.).
14. Leonov V.V., Pavlova O.N., Gulenko O.N., Kuznetsova O.G., Varfolomeeva L.G. (2022). Integral hematological indices as a way to assess reactive blood changes to the load of antioxidants // Bulletin of new medical technologies. Electronic edition. No. 4. Pp. 133-140. (In Russ.).
15. Makarevich N.A. (1988). Lysosomal cation test to assess the resistance of the body of cattle // Veterinary medicine. No.5. Pp. 26-28. (In Russ.).
16. Meerson F.Z. (1993). Adaptive medicine: mechanisms and protective effects of adaptation. – М.: Hypoxia Medical J. Pp. 168-226. (In Russ.).
17. Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Chudilova G.A., Lomtadidze L.V., Kovaleva S.V., Yevglevsky A.A. (2015). Neutrophilic granulocytes: a new look at the “old players” in the immunological field // Immunology. Vol. 36. No. 4. Pp. 257-265. (In Russ.).
18. Raschikov V.I., Roshal A.S. (2005). Numerical methods for solving physical problems: textbook. stipend. – St. Petersburg: Lan. 208 p. (In Russ.).
19. Soroko S.I. (2016). The importance of stress reactions in the integrative response of the human body to acute hypoxic effects // Bulletin of Education and development of science of the Russian Academy of Natural Sciences. No. 4. Pp. 88-95. (In Russ.).
20. Bowden T.J. (2008). Modulation of the immune system of fish by their environment // Fish Shellfish Immunol. V. 25. Pp. 373-383.
21. Fazio F. (2019). Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: a review // Aquaculture. 500. Pp. 237-242.
22. Magnoni L.J., Novais S., Eding E., Leguen I., Lemos M.F.L., Ozorio R., Geurden I., Prunet P., Schrama J.W. (2019). Acute stress and an electrolyte-imbalanced diet, but not chronic hypoxia, increase oxidative stress and hamper innate immune status in a rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) isogenic line // Front. Physiol. 10. 453.
23. Neelima S., Archana K., Athira P.P., Anju M.V., Anooja V.V., Bright Singh I.S., Rosamma P. (2021). Molecular characterization of a novel β -defensin isoform from the red-toothed trigger fish, *Odonus niger* (Ruppel, 1836) // Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, Volume 19. Issue 1. 71.
24. Parrino V., Cappello T., Costa G., Cannavà C., Sanfilippo M., Fazio F., Fasulo S. (2018). Comparative study of haematology of two teleost fish (*Mugil cephalus* and *Carassius auratus*) from different environments and feeding habits // Eur. Zool. J. 85. Pp. 194-200.
25. Refaey M.M., Li D., Tian X., Zhang Z., Zhang X., Li L., Tang, R. (2018). High stocking density alters growth performance, blood biochemistry, intestinal histology, and muscle quality of channel catfish *Ictalurus punctatus* // Aquaculture. 492. Pp. 73-81.
26. Seibel H., Baßmann B., Rebl A. (2021). Blood will tell: What hematological analyses can reveal about fish welfare // Front. Vet. Sci. 8.
27. Soehnlein O., Weber C., Lindbom L. 2009. Neutrophil granule proteins tune monocytic cell function // Trends Immunol. V. 30. No 11. Pp. 538-546.
28. Topic Popovic N., Strunjak-Perovic I., Coz-Rakovac R., Barisic J., Jadan M., Persin Berakovic A., Sauerborn Klobucar R., (2012). Tricaine methane-sulfonate (MS222) application in fish anaesthesia // J. Appl. Ichthyol. 28. Pp. 553–564.

LITERATURE AND SOURCES

1. Alyoshina G.M., Yankelevich I.A. (2013). Enzyme immunoassay determination of neutrophil granulocyte defensins in rat blood plasma under experimental stress // Russian Immunological Journal. Vol. 7. No. 2-3. Pp. 127-128. (In Russ.).
2. Vikhman A.A. (1996). System analysis of immunophysiological reactivity of fish in aquaculture conditions. – М.: Forwarder. 176 p. (In Russ.).
3. Generalova L.P., Sitnova O.V. (1994). Methods of determining lysozyme by liquid-gel method. – М.: VNIIPRH. 3 p. (In Russ.).
4. Glants S. (1998). Medico-biological statistics. – М.: Praktika. 459 p. (In Russ.).
5. Ivanova N.T. (1982). Atlas of fish blood cells. – М.: Light and food industry. 184 p. (In Russ.).
6. Kryuchkov V.N. (1998). Immuno-physiological studies in the practice of commercial fish farming // The first Russian-American symposium “Aquaculture and Fish
7. aterial поступил в редакцию/ Received 07.05.2024
Принят к публикации / Accepted for publication 10.09.2024