

тезисы докладов III Междунар. экологического симпозиума (14–15 сентября 2006 г.) в г. Полоцке : в 2 т. / Полоцкий государственный университет. – Полоцк, 2006. – Т. 2. – С. 196–197.

7. Федотов, Д. Н. Морфология и патология щитовидной железы крупного рогатого скота в условиях Республики Беларусь / Д. Н. Федотов, М. П. Кучинский, Г. М. Кучинская // *Veterinaria Med-itsinasi*. – Ташкент, 2019. – № 9 (142). – С. 7–11.

8. Федотов, Д. Н. Формообразовательные процессы и морфологические изменения периферических эндокринных желез при адаптивно-приспособительных реакциях енотовидной собаки в зоне снятия антропогенной нагрузки и при действии радиоактивного загрязнения / Д. Н. Федотов, И. С. Юрченко // *Ветеринарный журнал Беларуси*. – 2019. – № 1 (10). – С. 68–71.

УДК 574.24:639.2/3

<https://doi.org/10.47612/2224-1647-2021-2-7-12>

Полоз С.В., кандидат ветеринарных наук

Дегтярик С.М., кандидат биологических наук, доцент

РУП «Институт рыбного хозяйства», г. Минск

## ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ФОРМИРОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ У ПОЙКИЛОТЕРМНЫХ ЖИВОТНЫХ

### Резюме

Установлены зависимости и закономерности влияния абиотических факторов на формирование устойчивости пойкилотермных животных на модельном виде *Cyprinus carpio*. Резкое снижение температуры водной среды приводит к увеличению уровня кортизола в сыворотке крови рыб. Снижение количества растворенного кислорода в водной среде приводит к повышению уровня кортизола. На фоне увеличения времени нахождения в безводной среде у *Cyprinus carpio* в сыворотке крови уровень белка снижается, а уровень кортизола повышается.

**Ключевые слова:** карп, абиотические факторы, температура, кислород, кортизол сыворотки крови, общий белок.

### Summary

Dependences and regularities of the influence of abiotic factors on the formation of resistance of poikilothermic animals on the model species *Cyprinus carpio* have been resisted. A sharp decrease in the temperature of the aquatic environment leads to an increase in the level of cortisol in the blood serum of fish. A decrease in the amount of dissolved oxygen in the aquatic environment leads to an increase in cortisol levels. With an increase in the time spent in an anhydrous medium in the serum of *Cyprinus carpio*, the level of protein decreases, and the level of cortisol increases.

**Keywords:** carp, abiotic factors, temperature, oxygen, serum cortisol, total protein.

Поступила в редакцию 13.09.2021 г.

### ВВЕДЕНИЕ

Устойчивость гидробионтов, обитающих в самых разнообразных естественных и искусственных условиях, представляет собой область исследований, которая касается многих научных дисциплин и представляет исключительный интерес для широкого круга исследователей и специалистов. Многие теоретические вопросы экологии и иммунобиологии гидробионтов, а также практические вопросы рациональ-

ного использования рыбных ресурсов в естественной среде и вопросы аквакультуры необходимо решать с учетом их физиологического статуса [4].

Среди абиотических факторов водной среды, влияющих на жизнедеятельность гидробионтов, особую роль играет температура [5, 6]. Именно температура определяет ход и интенсивность процессов питания, роста, развития и выживаемости водных организмов. Кроме того, распреде-

ление и поведение рыб в естественных условиях и аквакультуре зависит от нормального содержания кислорода в водной среде. Поэтому очень важно представлять, где расположены зоны эколого-физиологического оптимума [5, 6], а также сублетальные и летальные пределы, где жизненные процессы рыб или затруднены, или невозможны [1].

Стресс становится все более изучаемой темой из-за его влияния на рост, размножение, иммунную систему и, в конечном итоге, на устойчивость животного. Развиваются новые экспериментальные методы описания физиологии стресса у рыбы, содержащейся в неволе, или у дикой рыбы в естественных условиях обитания, будь то оценка благополучия в аквакультуре, адаптивных способностей в экологии рыб или исследования последствий резких изменений окружающей среды, вызванных деятельностью человека. Кортизол оказался надежным индикатором стресса и считается основным его гормоном.

Эффективное реагирование на стрессор является адаптивным, и у большинства животных развился общий процесс, включающий активацию оси гипоталамус-гипофиз-надпочечники/межпочечники. У многих млекопитающих и рыб кортизол – основной кортикостероид, вырабатываемый в данной оси [3].

Кортизол является важнейшим циркулирующим глюкокортикоидом у рыб, и его действие опосредуется его цитозольным рецептором, рецептором глюкокортикоидов (GR), и регулирует экспрессию генов, участвующих в росте, метаболизме и иммунной функции. Кортизол может играть ключевую роль в перераспределении энергетического субстрата в гепатоцитах, чтобы справиться со стрессом. Недавние исследования также указывают на роль кортизола в обеспечении быстрых реакций, которые не являются геномными и включают модуляцию вторичных сигнальных каскадов [2].

**Цель работы** – установить уровень кортизола и общего белка сыворотки крови пойкилотермных животных на биологической модели *Cyprinus carpio* в зависимости от влияния абиотических факторов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на базе селекционно-племенного участка «Изобелино» и ХРУ «Вилейка» Минской области, а также в условиях лаборатории болезней рыб РУП «Институт рыбного хозяйства» РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству» в четыре этапа.

На первом этапе определяли уровень кортизола у производителей карпа в период нерестового процесса при интенсивном производстве. По принципу рандомных аналогов было сформировано 6 групп: первая группа (n=5) – самки до нереста; вторая (n=5) – самки после естественного нереста; третья (n=5) – самки после интенсивного нереста; четвертая (n=5) – самцы до нереста; пятая (n=5) – самцы после нереста (естественное воспроизводство); шестая (n=5) – самцы после нереста (интенсивное производство).

На втором этапе определяли влияние резкого снижения температуры водной среды. Методом рандомных аналогов было сформировано две группы карпа (сеголеток). В первой группе (n=6) температуру водной среды резко снижали с 15 °С до 6 °С с экспозицией 2,5 часа, в контрольной группе (n=6) – поддерживали на уровне 15 °С.

На третьем этапе изучали влияние количества кислорода в водной среде. Методом рандомных аналогов было сформировано две группы карпа (сеголеток). В первой группе (n=6) уровень кислорода в водной среде составил 5,3 мг/л (аэрация отсутствовала), в контрольной группе (n=6) – 8,43 мг/л (аэрация поддерживалась). Исследования проводили после предварительной адаптации с прочими равными условиями.

На четвертом этапе определяли зависимость уровня белка и кортизола от

времени нахождения рыбы в безводной среде. Методом случайных аналогов было сформировано две группы карпа (сеголеток). Отбор крови рыб в каждой экспозиции проводился одновременно. Первая экспозиция составила 5–10 минут (n=6), вторая – 10–15 минут (n=6), третья – 15–20 минут (n=6). Вторая группа (n=6) служила контролем.

На всех этапах исследования сыворотку крови получали общепринятыми методами (у сеголеток – из сердца) с последующим центрифугированием. Уровень общего белка определяли с помощью рефрактометра согласно инструкции по применению. Показатели кортизола устанавливали методом иммуноферментного анализа, используя диагностические наборы. Затем строили калибровочную кривую, нанося данные среднего значения коэффициента поглощения, полученного из каждого референсного стандарта. Используя среднее значение коэффициента поглощения для каждого образца, по калибровочной кривой определяли соответствующую концентрацию кортизола в нмоль/л. Статистическая обработка проводилась в программе Excel.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант Б20-019).

Выражаем благодарность кандидату ветеринарных наук, доценту Тяпше Ю.И. (РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского») за возможность проведения спектрофотометрических исследований.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При интенсивном выращивании вместе с естественной кормовой базой водоёма кормление рыб осуществляется либо комбикормами, либо отдельными его компонентами (зерно и отходы его переработки). При этом кормовой коэффициент уменьшается, а скорость роста рыбы увеличивается. Для кормления рыбы выделяют специальные кормовые места. Это позволяет контролировать поедаемость корма. Сбалансированное кормление, включающее потребление зоопланктона и комбикорма, обеспечивает быстрый прирост массы тела рыб. Введение в рацион комбикорма способствует повышению двигательной активности рыб, что требует контроля уровня кислорода в прудах.

Определение уровня кортизола у производителей карпа в период нерестового процесса при интенсивном производстве проводили при соблюдении всех условий интенсивного выращивания карпа.

Результаты исследований показали, что в 3-й группе уровень кортизола в сыворотке крови карпа составляет  $1024,0 \pm 11,7$  нмоль/л ( $P < 0,02$ ), что в 2,1 раза выше, чем в 1-й группе, в которой уровень кортизола  $483,8 \pm 65,5$  нмоль/л, и в 1,7 раз выше, чем во 2-й группе, в которой уровень кортизола –  $612,6 \pm 126,1$  нмоль/л соответственно. В 6-й группе уровень кортизола в сыворотке крови карпа составляет  $917,4 \pm 21,8$  нмоль/л ( $P < 0,05$ ), что на 44,2 % выше, чем в 4-й группе, где уровень кортизола  $512 \pm 28,5$  нмоль/л, и на 37,2 % выше, чем в 5-й, в которой уровень кортизола –  $576,3 \pm 43,7$  нмоль/л соответственно (таблица).

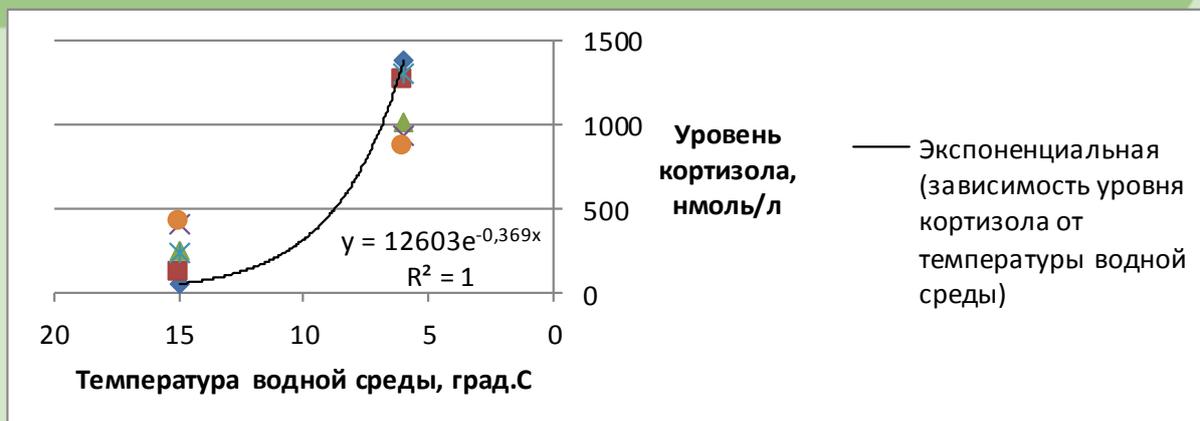
Таблица. – Уровень кортизола у производителей карпа в период нерестового процесса, нмоль/л

Группа					
1	2	3	4	5	6
586,0	722,0	932,0	496,0	568,0	805,0
416,0	338,0	1224,0	416,0	786,0	785,0
334,0	286,0	1049,0	638,0	554,0	1014,0
214,0	1489,0	969,0	592,0	626,0	1023,0
869,0	228,0	946,0	418,0	348,0	960,0
$483,8 \pm 65,5$	$612,6 \pm 126,1$	$1024,0 \pm 11,7^*$	$512,0 \pm 28,5$	$576,3 \pm 43,7$	$917,4 \pm 21,8^{**}$

Примечание – \* $P < 0,02$ ; \*\* $P < 0,05$

На втором этапе в результате экспериментальных исследований установлена зависимость уровня кортизола в сыворотке крови карпа от снижения температуры водной среды. При резком снижении температуры водной среды с 15 °С до 6 °С гибель сеголеток карпа начинается при экспозиции

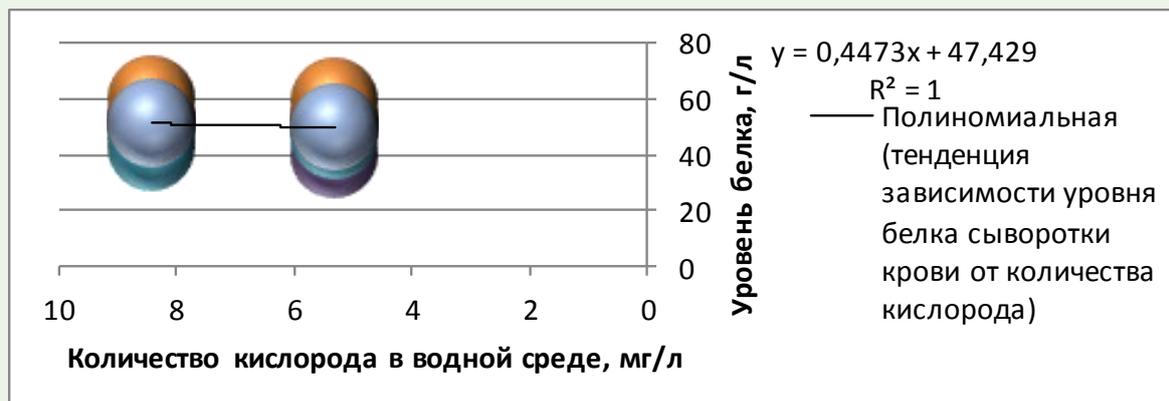
2,5 часа. Резкое снижение температуры водной среды приводит к увеличению уровня кортизола в сыворотке крови рыб опытной группы до  $1124,7 \pm 51,2$  нмоль/л, что в 4,6 раза выше, чем в контрольной группе –  $245,3 \pm 36,9$  нмоль/л (рисунок 1).



**Рисунок 1. – Зависимость уровня кортизола в сыворотке крови сеголеток карпа от температуры водной среды**

На третьем этапе при изучении влияния количества кислорода в водной среде установлено, что в первой группе, где количество кислорода было 5,3 мг/л, уровень белка в сыворотке крови составил  $49,8 \pm$

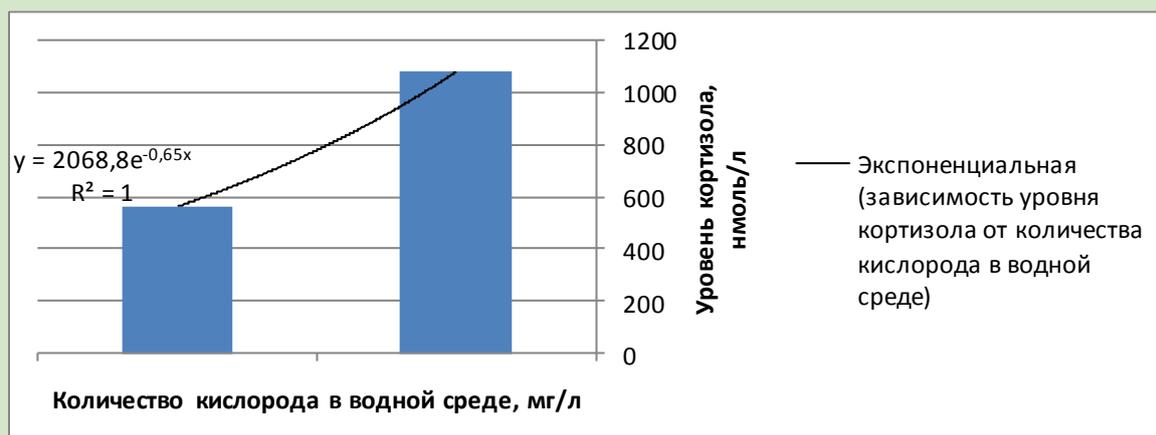
$1,24$  г/л. В контрольной группе, где количество кислорода в водной среде было 8,43 мг/л, уровень белка в сыворотке крови составил  $51,2 \pm 1,72$  г/л.



**Рисунок 2. – Зависимость уровня белка в сыворотке крови сеголеток карпа от количества кислорода в водной среде**

Также установлена зависимость уровня кортизола от концентрации растворенного кислорода в водной среде. Уровень кортизола в сыворотке крови в первой группе, где в условиях водной среды концентрация кислорода была 5,3 мг/л, соста-

вил  $1079,7 \pm 46,5$  нмоль/л, что на 47,7 % выше, чем в контрольной группе ( $563,5 \pm 40,6$ ), в которой количество кислорода в водной среде было 8,43 мг/л (рисунок 3).

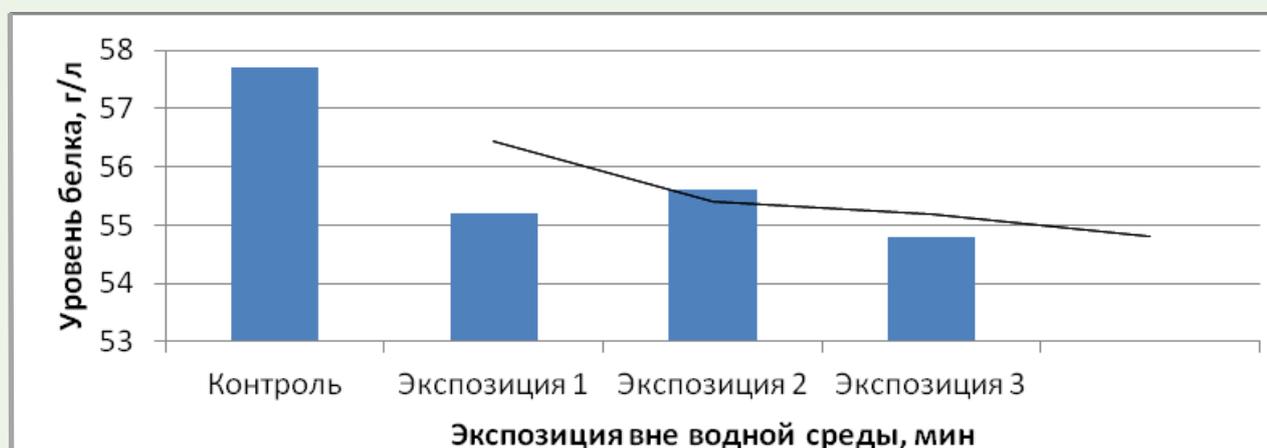


**Рисунок 3. – Зависимость уровня кортизола в сыворотке крови сеголеток карпа от количества кислорода в водной среде**

На четвертом этапе определяли уровень белка и кортизола в зависимости от времени нахождения рыбы в безводной среде.

На рисунке 4 отражена линейная фильтрация, характеризующая тенденцию снижения уровня белка сыворотки крови сеголеток карпа в зависимости от времени

нахождения в безводной среде. При этом уровень белка при экспозиции 1 составил  $55,2 \pm 1,16$  г/л, при экспозиции 2 –  $55,6 \pm 1,16$  г/л, при экспозиции 3 –  $54,8 \pm 0,95$  г/л, в контрольной группе –  $57,7 \pm 1,63$  г/л. Таким образом, чем больше время экспозиции, тем ниже уровень белка в сыворотке крови.



**Рисунок 4. – Уровень белка в сыворотке крови сеголеток карпа в безводной среде**

Также установлено увеличение уровня кортизола в сыворотке крови сеголеток карпа в зависимости от времени нахождения в безводной среде. При этом уровень кортизола при экспозиции 1 составил  $732,0 \pm 79,2$  нмоль/л, при экспозиции 3 –  $764,7 \pm 105,0$  нмоль/л (рисунок 5). Причем

наибольшее увеличение наблюдалось при экспозиции 2, когда уровень кортизола составил  $1112,0 \pm 52,5$  нмоль/л, что в 2,7 раза выше, чем в контрольной группе ( $415,7 \pm 82,0$  нмоль/л), достоверное отличие от контрольной группы  $P \leq 0,005$ .

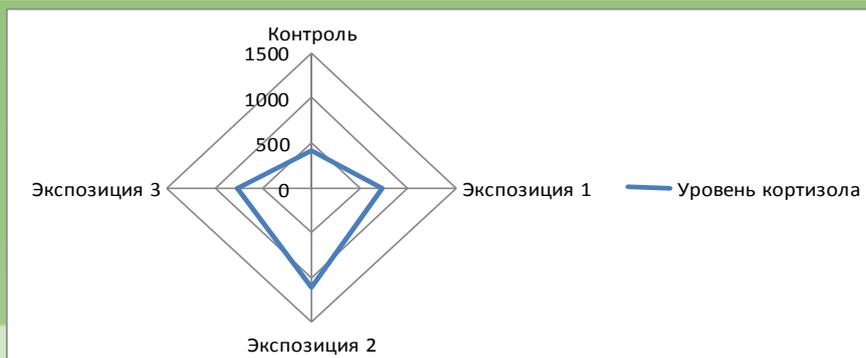


Рисунок 5. – Уровень кортизола в сыворотке крови сеголеток карпа в безводной среде

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В посленерестовый период уровень кортизола у самок и самцов повышается как при естественном воспроизводстве, так и при интенсивном выращивании по сравнению с таковым до нереста, однако при интенсивном выращивании этот показатель значительно выше. При этом у самок уровень кортизола выше, чем у самцов, особенно при интенсивном производстве.

Установлена зависимость уровня кортизола в сыворотке крови карпа от температуры водной среды. Резкое снижение температуры водной среды с 15 °С до 6 °С приводит к увеличению уровня кортизола в 4,6 раза. Экспозиция 2,5 часа вызывает летальный эффект.

Уровень кортизола в сыворотке крови в первой группе, где в условиях водной среды концентрация кислорода была

5,3 мг/л, составил 1079,7±46,5 нмоль/л, что на 47,7 % выше, чем в контрольной группе, где количество кислорода в водной среде было 8,43 мг/л. Установлена зависимость: чем ниже количество растворенного кислорода в водной среде, тем выше уровень кортизола.

Длительное нахождение рыб в безводной среде приводит к изменению показателей общего белка и кортизола в сыворотке крови. При этом установлено, что на фоне увеличения времени нахождения в безводной среде уровень белка снижается до 54,8±0,95 г/л (в контрольной группе – 57,7±1,63 г/л), а уровень кортизола повышается до 1112,0±52,5 нмоль/л, что в 2,7 раза выше, чем в контрольной группе. Установлена закономерность: чем дольше время нахождения рыб в безводной среде, тем ниже их устойчивость.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Beitinger, T. A. *Temperature tolerances of North American freshwater fishes exposed to dynamic changes in temperature* / T. A. Beitinger, W. A. Bennet, R. W. McCauley // *Env. Biol. Fishes.* – 2000. – Vol. 58, iss. 3. – P. 237–275.
2. Faught, E. *Mechanisms of cortisol action in fish hepatocytes* / E. Faught, M. M. Vijayan // *Comparative Biochemistry and Physiology Part B : Biochemistry and Molecular Biology.* – 2016. – Vol. 199. – P. 136–145.
3. Sadoul, B. *Measuring cortisol, the major stress hormone in fishes* / B. Sadoul, B. Geffroy // *Fish biology.* – 2019. – Vol. 94, iss 4. – P. 540–555.
4. Голованов, В. К. *Температура и здоровье рыб. Экологические, физиолого-биохимические и иммунологические аспекты* / В. К. Голованов // *Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов : расширенные материалы IV Междунар. конф., Борок, 24–27 сентября 2015 г. / РАН, Федер. агентство науч. орг. России, ФГБУН «Ин-т биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН» ; [под ред. В. Р. Микрякова, Е. А. Криксунова, Д. В. Микрякова] ; отв. за вып. Д. С. Павлов [и др.]. – Ярославль : Филигрань, 2015. – С. 11–19.*
5. Голованов, В. К. *Температурные критерии жизнедеятельности пресноводных рыб* / В. К. Голованов. – М. : Полиграф-Плюс, 2013. – 300 с.
6. Голованов, В. К. *Эколого-физиологические закономерности распределения и поведения пресноводных рыб в термоградиентных условиях* / В. К. Голованов // *Вопросы ихтиологии.* – 2013. – Т. 53, № 3. – С. 286–314.