——— ОРИГИНАЛЬНЫЕ **СТАТЬИ** ——

УДК 597.556.331.9-111.11

СОСТАВ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОРОДАТКИ POGONOPHRYNE SP. (PERCIFORMES: ARTEDIDRACONIDAE) И СЕРОЙ НОТОТЕНИИ LEPIDONOTOTHEN SQUAMIFRONS (GÜNTHER, 1880) (PERCIFORMES: NOTOTHENIIDAE) ИЗ МОРЯ РОССА

© 2023 г. И. И. Гордеев^{1, 2, *}, Д. В. Микряков³, Л. В. Балабанова³

¹Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО), Москва 105187, Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва 119234, Россия ³Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина (ИБВВ) РАН, пос. Борок, Ярославской области 152742, Россия

> *e-mail: gordeev_ilya@bk.ru Поступила в редакцию 21.09.2022 г. После доработки 26.01.2023 г. Принята к публикации 26.01.2023 г.

Проведено сравнительное исследование состава лейкоцитов периферической крови бородатки и серой нототении (сквамы), выловленных в море Росса. В мазках крови обнаружены разные по морфофункциональным характеристикам и структуре клетки: лимфоциты, моноциты, нейтро- и эозинофилы и бласт-клетки. Анализ лейкограммы показал, что белая кровь исследуемых видов имеет лимфоидный характер. В лейкограмме сквамы доля лимфоцитов достоверно выше, а моноцитов и бластных форм — ниже. У бородатки по сравнению с серой нототенией одноименные клетки лейкоцитов, как правило, крупнее.

Ключевые слова: море Росса, бородатки Pogonophryne, серая нототения Lepidonotothen squamifrons, лейкограмма, лейкоциты

DOI: 10.31857/S0134347523030051, EDN: SBCWCF

Бородатки рода *Родопорнтупе* Regan, 1914 – мелкие донные рыбы, относящиеся к отряду окунеобразных (Perciformes: Artedidraconidae), — эндемики Южного океана. В настоящее время существует более 20 валидных видов данного рода, распространенных исключительно в пределах Антарктической зоогеографической области на глубинах до 3000 м (Балушкин и др., 2010; Gon, Heemstra, 1990; Miller, 1993; FishBase..., 2022). В последней работе, посвященной видам этого рода и выполненной с применением методов молекулярной генетики, отмечено наличие 27 валидных видов (Eastman, Eakin, 2022). Образ жизни жабовидных бородаток изучен крайне слабо. Обитая на большой глубине, они попадают в уловы только во время глубоководных тралений или в процессе ярусного лова клыкачей в зоне действия Конвенции по сохранению морских живых ресурсов Антарктики (Петров и др., 2015). Их определение очень сложно, поэтому имеются только неполные данные о размерном составе отдельных видов и их батиметрическом распределении, а также отрывочные сведения по некоторым особенностям питания и размножения. Жабовидные бородатки рода *Pogonophryne* — хищникиоппортунисты, потребляющие любую доступную
животную пищу. Это могут быть как подвижные
объекты (в основном ракообразные, иногда рыба
и изредка полихеты), так и довольно крупные
останки рыб и беспозвоночных. Это подтверждается поимками бородаток на крючки донных ярусов с использованием рыбы и кальмаров в виде
наживки (Шандиков, 2012). У *Pogonophryne scotti*
Regan, 1914, которая встречается только у Южных
Оркнейских о-вов, в питании отмечены мизиды,
креветки, гаммариды и каляноиды (Wyanski, Targett, 1981). Известно также о наличии у некоторых
видов бородаток полового диморфизма (Gon,
Неетstra, 1990).

Серая нототения или сквама *Lepidonotothen squamifrons* (Günther, 1880) (Perciformes: Nototheniidae) — эндемик Антарктики — распространена циркумполярно (FishBase..., 2022). В 1970—1990-х гг. интенсивный вылов этого вида вели на подводных поднятиях в Индийском океане. С 8 ноября 1997 г., согласно Мере по сохранению 129/XVI (Список действующих мер..., 1997), его

добыча в основных местах промысла (банки Обь и Лена) полностью запрещена. Особенно активно в промысле сквамы участвовал СССР, которому принадлежит и первенство в разведке скоплений данного вида (Зайцев, 2015). В состав рациона серой нототении входят как донные, так и пелагические организмы. Основу пищи взрослых особей составляют сальпы, гребневики, медузы, эвфаузиевые и гиперииды, а также полихеты и офиуры (Pakhomov, 1993).

Состав лейкоцитов изучен у представителей различных систематических и экологических групп рыб и зависит от видовых и экологических особенностей, функционального состояния организма, сезона года, возраста и характера влияния биотических и абиотических стресс-факторов (Иванова, 1983; Точилина, 1994; Грушко и др., 2009; Яхненко, Клименков, 2009; Гордеев и др., 2022; Ellis, 1977; Zapata et al., 1996). Однако в доступной литературе мало данных о составе клеток белой крови представителей ихтиофауны холодных вод Антарктики и Субантарктики. Ранее мы провели исследование состава лейкоцитов крови и органов кроветворения у обитающих в море Росса антарктического клыкача Dissostichus mawsoni Norтап, 1937 (Гордеев и др., 2014), а также патагонского клыкача D. eleginoides Smitt, 1898 (Gordeev et al., 2017) и георгианского ската Amblyraja georgiana (Norman, 1938) из моря Скоша (Гордеев и др., 2019).

Цель работы — изучить состав лейкоцитов крови бородатки и серой нототении, выловленных в море Росса.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Четыре особи *Pogonophryne* sp. средней массой 440 ± 18.91 г и длиной (TL) 29.25 ± 1.03 см выловлены в море Росса (77°33' ю.ш., 179°36' в.д.) в январе 2015 г.; один экземпляр (TL 23 см, масса 180 г) — в январе 2013 г. в координатах 73°30′ ю.ш., 176°50′9″ в.д. Девять особей серой нототении *Lep*idonotothen squamifrons (Günther, 1880) также пойманы в море Росса в январе 2015 г., их средняя масса 420 ± 35.91 г, длина (*TL*) 33.67 ± 0.60 см); один экземпляр выловлен в январе 2013 г. $(TL\ 41\ cm,\ macca\ 780\ r).$ Все рыбы добыты российским судном "Янтарь-35" (ООО "Орион", Хабаровск) в ходе промысла клыкачей Dissostichus spp. в зоне действия Конвенции по сохранению морских живых ресурсов Антарктики. Отлов проводили при помощи донного яруса типа "автолайн" системы "Мустад" на глубине 593-779 м.

Отбор крови из хвостовой вены производили сразу после поимки рыб. Мазки крови делали на обезжиренное предметное стекло, сушили и фиксировали в 96% этаноле в течение 30 мин. В лабораторных условиях мазки окрашивали по Романов-

скому-Гимзе. Микроскопическое исследование мазков проводили под световым микроскопом "Биомед-6ПР1-ФК" (×360). В каждом препарате анализировали 200 лейкоцитов, которые идентифицировали, используя общепринятую методику (Иванова, 1983). Фотографии клеток и их измерения выполняли на Digital Microscope KEYENCE VHX-1000.

Статистическую обработку результатов исследования проводили по стандартным алгоритмам, реализованным в пакете программ Statistica 6.0, с использованием t-теста. Различия считали значимыми при $p \le 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В мазках периферической крови исследуемых особей обнаружены характерные для большинства видов рыб типы лейкоцитов (табл. 1). В лейкограмме бородатки и сквамы преобладают лимфоциты (соответственно 87.40 и 91.42%) при незначительном содержании других типов клеток: моноцитов (2.40 и 1.57%), нейтрофилов (2.40 и 1.42%), эозинофилов (3.40 и 2.85%) и бластных форм (4.40 и 2.71%); базофилы отсутствуют. Лейкограммы бородатки и сквамы достоверно различаются содержанием лимфоцитов (соответственно 87.40 и 91.42%), моноцитов (2.40 и 1.57%) и бластных форм клеток (4.40 и 2.71%).

У бородатки по сравнению со сквамой одноименные клетки лейкоцитов, как правило, крупнее (табл. 1). Средний диаметр лимфоцитов бородатки достоверно больше, чем у сквамы. Эти клетки небольшого размера и обычно с псевдоподиями имеют типичное округлое строение - большую часть занимает ядро, окруженное узким ободком цитоплазмы (рис. 1а, 2а). Моноциты крупнее лимфоцитов, с эксцентрично расположенным округлым ядром и с фагосомами в цитоплазме. Различий по размерам и форме у исследуемых видов не обнаружено (рис. 16, 26). Нейтрофилы характеризуются эксцентрично расположенным ядром и мелкими гранулами в цитоплазме (рис. 1a, 2a). Среднее значение большого и малого диаметра клеток у бородатки больше по сравнению со сквамой. У эозинофилов округлое эксцентрично расположенное ядро, гранулы в цитоплазме более крупные и более темные, чем у нейтрофилов (рис. 1в, 2в). Обнаруженные в крови исследуемых видов эозинофилы не отличались по форме и размерам. Бластные клетки довольно крупные, большую часть занимает ядро, окруженное узким слоем цитоплазмы (рис. 1г, 2г). Бластные клетки сквамы, в отличие от других типов клеток, значительно крупнее, чем у бородатки.

Таблица 1. Состав и размеры лейкоцитов периферической крови бородатки *Pogonophryne* sp. и серой нототении *Lepidonotothen squamifrons*

	Доля клеток, %		Диаметр, мкм		
Тип клеток	Pogonophryne sp.	Pogonophryne sp. Lepidonotothen squamifrons		Lepidonotothen squamifrons	
Лимфоциты	87.40 ± 0.92	91.42 ± 0.57*	$\frac{7.3 \pm 0.2}{6.2 \pm 0.3}$	$\frac{6.7 \pm 0.1 *}{5.7 \pm 0.3}$	
Моноциты	2.40 ± 0.24	1.57 ± 0.20 *	$\frac{15.3 \pm 0.5}{12.7 \pm 0.6}$	$\frac{14.7 \pm 0.3}{12.7 \pm 0.5}$	
Нейтрофилы	2.40 ± 0.50	1.42 ± 0.20	$\frac{14.9 \pm 0.3}{13.2 \pm 0.4}$	$\frac{13.3 \pm 0.3^*}{11.5 \pm 0.3^*}$	
Эозинофилы	3.40 ± 0.81	2.85 ± 0.34	$\frac{14.8 \pm 0.5}{12.4 \pm 0.6}$	$\frac{14.00 \pm 0.3}{12.5 \pm 0.2}$	
Бластные формы	4.40 ± 0.74	2.71 ± 0.28*	$\frac{11.9 \pm 0.2}{10.6 \pm 0.5}$	$\frac{14.3 \pm 0.3^*}{12.4 \pm 0.7}$	

^{*} Значимое различие между особями бородатки и нототении, при $p \le 0.05$. Примечание. Над чертой — большой диаметр, под чертой — малый.

ОБСУЖДЕНИЕ

При сравнении соотношения разных форм лейкоцитов бородатки и сквамы с данными литературы обнаружены как сходства, так и различия.

Состав лейкоцитов, за исключением базофилов, исследуемых видов сопоставим с таковым большинства видов рыб (Иванова, 1983), в том числе окунеобразных (Гордеев и др., 2014; Barber et al., 1981; Gordeev et al., 2017). В составе крови доми-

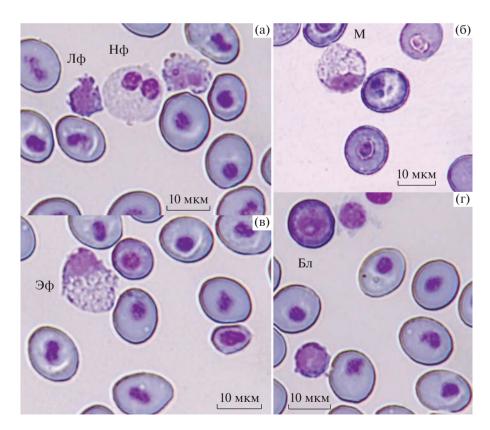
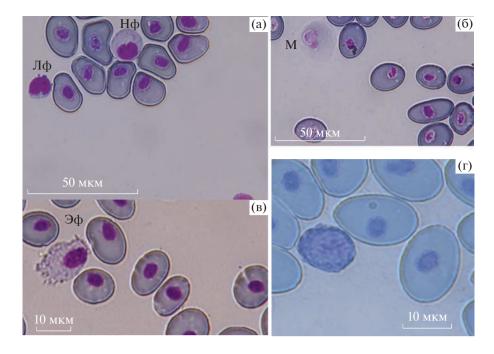


Рис. 1. Клетки крови бородатки *Родопорhrупе* sp.: а — лимфоцит (Лф) и нейтрофил (Нф); б — моноцит (М); в — эозинофил (Эф); Γ — бластная клетка (Бл).



Puc. 2. Клетки крови серой нототении Lepidonotothen squamifrons. Обозначения, как на рис. 1.

нируют лимфоциты, составляя около 90% всех лейкоцитов. Лимфоциты – центральные клетки иммунной системы, которые подразделяются на две основные субпопуляции: Т- и В-лимфоциты. Т-лимфоциты выполняют функции распознавания чужеродных тел, разрушения антигена, формирования специфического иммунитета и адаптации рыб к паразитам и токсическим факторам. Для В-лимфоцитов характерны функции синтеза антител, образования предшественников антителообразующих клеток и формирования клеток памяти (Микряков, 1991; Ellis, 1977; Manning, Nakanishi, 1996; Van Muiswinkel, Vervoorn-Van Der Wal, 2006; Uribe et al., 2011; Scapigliati, 2013). В отличие от лимфоцитов, содержание в крови других агранулоцитов - моноцитов - незначительное (<2%). Они обладают высокой фагоцитарной активностью по отношению к продуктам распада клеток и тканей, обезвреживают токсины, принимают участие в выработке цитокинов (Zapata et al., 1996; Hodgkinson et al., 2015). В лейкограмме бородатки доля моноцитов достоверно выше, чем у сквамы (2.40 vs 1.57%). Относительное содержание зернистых лейкоцитов (нейтрофилов и эозинофилов) в мазках крови исследуемых видов невелико (<3.5%). Основные функции этих клеток - фагоцитоз, синтез медиаторов иммунного ответа и неспецифических факторов иммунитета (Галактионов, 2005; Manning, Nakanishi, 1996; Havixbeck, Barreda, 2015; Katzenback, 2015). Кроме того, в лейкоцитарной формуле выявлены юные, незрелые или бластные формы клеток бласт-клетки, доля которых в лейкограмме прес-

новодных видов может достигать 10% и зависит от видовых и экологических особенностей рыб (Иванова, 1983).

Доля содержания разных типов лейкоцитов у бородатки и сквамы, а также у исследованных ранее антарктического клыкача Dissostichus mawsoni, патагонского клыкача Dissostichus eleginoides и георгианского ската Amblyraja georgiana, выловленных в тех же широтах (Гордеев и др., 2014, 2019; Gordeev et al., 2017), значительно не отличалась. Сравнительный анализ показал, что содержание лимфоцитов в лейкограммах варьировало в пределах 85—92%, моноцитов 1-2%, нейтрофилов 1-5%, эозинофилов -3-6% и бластных форм -2-4%.

Анализ размеров клеток белой крови обнаружил значительные различия как между исследуемыми видами, так и при сравнении с клыкачами и скатом, исследованными нами ранее (Гордеев и др., 2014, 2019; Gordeev et al., 2017). Наименьший размер клеток отмечен у антарктического клыкача, а наибольший — у георгианского ската (табл. 2). Обнаруженные различия, вероятно, связаны с видовыми особенностями, а не условиями обитания.

Таким образом, результаты исследования показывают, что лейкоциты периферической крови исследуемых видов рыб по морфофункциональным характеристикам гетерогенны и представлены разными по составу и структуре клетками: лимфоцитами, моноцитами, нейтрофилами, эозинофилами и бласт-клетками. Анализ относительного содержания отдельных пулов клеток в лейкограмме показал, что белая кровь имеет лим-

Тип клеток	Диаметр, мкм						
	Dissostichus mawsoni	Dissostichus eleginoides	Lepidonotothen squamifrons	Pogonophryne sp.	Amblyraja georgiana		
Лимфоциты	5.4 × 5.0	6.1 × 5.3	6.7×5.7	7.3×6.2	13.7 × 11.1		
Моноциты	12.7×10.0	13.1 × 11.7	14.7×12.7	15.3×12.7	31.1×23.3		
Нейтрофилы	11.8×9.1	12.2 × 11.5	13.3 × 11.5	14.9×13.2	24.1×22.5		
Эозинофилы	12.7×11.8	12.8×10.9	14.0 ×12.5	14.8×12.4	25.2×21.6		
Бластные формы	11.2×9.0	11.8×10.0	14.3 × 12.4	11.9 × 10.6	23.0×20.1		

Таблица 2. Размеры лейкоцитов периферической крови пяти видов рыб из вод Антарктики

фоидный характер. Бородатка отличалась от серой нототении величинами содержания лимфоцитов, моноцитов и бласт-клеток, а также более крупными размерами почти всех типов лейкоцитов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания № 121050500046-8.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- *Балушкин А.В., Петров А.Ф., Прутько В.Г. Pogonophryne brevibarbata* sp. nov. (Artedidraconidae, Notothenioidei, Perciformes) новый вид жабовидной бородатки из моря Росса, Антарктика // Тр. ЗИН РАН. 2010. Т. 314. № 4. С. 381—386.
- Галактионов В.Г. Эволюционная иммунология: Учебное пособие. М.: ИКЦ Академкнига. 2005. 408 с.
- Гордеев И.И., Балабанова Л.В., Суворова Т.А., Микряков Д.В. Состав лейкоцитов периферической крови горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* и кеты *Oncorhynchus keta* (Salmonidae) в морской период жизни // Вопр. ихтиологии. 2022. Т. 62. № 2. С. 244—248.
- Гордеев И.И., Микряков Д.В., Балабанова Л.В., Микряков В.Р. Состав лейкоцитов периферической крови антарктического клыкача *Dissostichus mawsoni* Norman, 1937 (Nototheniidea) // Вопр. ихтиологии. 2014. Т. 54. № 4. С. 479—482.
- Гордеев И.И., Микряков Д.В., Балабанова Л.В., Микряков В.Р. Клеточный состав периферической крови и некоторых органов кроветворения ската Amblyraja georgiana (Norman, 1938) (Rajiformes: Rajidae) из моря Скоша // Биол. моря. 2019. Т. 45. № 6. С. 422—427.

- *Грушко М.П., Ложниченко О.В., Федорова Н.Н.* Гемопоэз у осетровых рыб. Астрахань: Триада. 2009. 190 с.
- Зайцев А.К. Современное состояние популяций серой нототении (*Lepidonotothen squamifrons*) в индоокеанском секторе Антарктики // Тр. ЮгНИРО. 2015. Т. 53. С. 124—130.
- *Иванова Н.Т.* Атлас клеток крови рыб М.: Легкая и пищевая промышленность. 1983. 184 с.
- Микряков В.Р. Закономерности формирования приобретенного иммунитета у рыб. Рыбинск: ИБВВ РАН. 1991. 154 с.
- Петров А.Ф., Кузнецова Е.Н., Гордеев И.И. и др. О российском научном наблюдении на промысле видов *Dissostichus* spp. в зоне действия АНТКОМ в сезоне 2014/2015 // Тр. ВНИРО. 2015. Т. 155. С. 160—165.
- Список действующих мер по сохранению. Сезон 1997/98 г. АНТКОМ. Хобарт, Австралия. 1997. 108 с.
- *Точилина Л.В.* Лейкоцитарная формула морских рыб // Гидробиол. журн. 1994. Т. 30. Вып. 3. С. 50—57.
- Шандиков Г.А. Краткий обзор антарктических пуголовковидных рыб-бородаток рода *Pogonophryne* (Perciformes: Notothenioidei: Artedidraconidae) // Вісник Харківського національного університету імені ВН Каразіна. 2012. Серія: Біологія (16). С. 121–139.
- Яхненко В.М., Клименков И.В. Особенности состава и структуры клеток крови рыб пелагиали и прибрежья озера Байкал // Изв. РАН. Сер. биол. 2009. № 1. С. 46—54.
- Barber D.L., Westerman J.E.M., White M.G. The blood cells of the Antarctic icefish Chaenocephalus aceratus Lonnberg: light and electron microscopic observation // J. Fish. Biol. 1981. V. 19. № 1. P. 11–18.
- Gordeev I.I., Mikryakov D.V., Balabanova L.V., Mikryakov V.R.
 Composition of leucocytes in peripheral blood of Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*, Smitt, 1898) (Nototheniidae) // Polar Res. 2017. V. 36:1, 1374126, https://doi.org/10.1080/17518369.2017.1374126
- Gon O., Heemstra P.C. Fishes of the Southern Ocean. Grahamstown: JLB Smith Institute of Ichthyology. 1990. 462 p.
- Eastman J.T., Eakin R.R. Decomplicating and identifying species in the radiation of the Antarctic fish genus *Pogonophryne* (Artedidraconidae) // Polar Biol. 2022. T. 45. № 5. P. 825–832. https://doi.org/10.1007/s00300-022-03034-3
 - nttps://doi.org/10.1007/500300-022-03034-3

- Ellis A.E. The leucocytes of fish: a review // J. Fish. Biol. 1977. V. 11. № 5. P. 453–491. https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1977.tb04140.x
- Fish Base. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version (02/2022)
- *Havixbeck J.J., Barreda D.R.* Neutrophil development, migration, and function in teleost fish // Biology. 2015. V. 4. № 4. P. 715–734. https://doi.org/10.3390/biology4040715
- Hodgkinson J.W., Grayfer L., Belosevic M. Biology of bony fish macrophages // Biology. 2015. V. 4. P. 881–906. https://doi.org/10.3390/biology4040881
- Katzenback B.A. Antimicrobial peptides as mediators of innatr immunity in teleosts // Biology. 2015. V. 4. № 4. P. 607–639.
- Manning M.J., Nakanishi T. The specific immune system: cellular defenses // The fish immune system: organism, pathogen and environment. London: Acad. Press. 1996. P. 160–206.
- *Miller R.G.* A history and atlas of the fishes of the Antarctic Ocean. Foresta Institute, Nevada. 1993. 792 p.

- Pakhomov E.A. Feeding habits and estimate of ration of gray notothenia, Notothenia squamifrons squamifrons, on the Ob and Lena Tablemounts (Indian Ocean Sector of Antarctica) // J. Ichthyol. 1993. V. 33. № 9. P. 57–71.
- Scapigliati G. Functional aspects of fish lymphocytes // Dev. Comp. Immunol. 2013. V. 41. № 2. P. 200–208. https://doi.org/10.1016/j.dci.2013.05.012
- *Uribe C., Folch H., Enriquez R., Moran G.* Innate and adaptive immunity in teleost fish: A review // Vet. Med. 2011. V. 56. № 10. P. 486–503. https://doi.org/10.17221/3294-VETMED
- Van Muiswinkel W., Vervoorn-Van Der Wal B. The immune system of fish // Fish Diseases and Disorders. V. 1. Wallingford: CABI.P. 2006. P. 678–701. https://doi.org/10.1079/9780851990156.0678
- Wyanski D.M., Targett T.E. Feeding biology of fishes in the endemic Antarctic Harpagiferidae // Copeia. 1981.
 P. 686–693.
 https://doi.org/10.2307/1444575
- Zapata A.G., Chiba A., Varas A. 1 Cells and tissues of the immune system of fish // Fish Physiol. 1996. V. 15. P. 1–62.
 https://doi.org/10.1016/S1546-5098(08)60271-X

Composition of Leukocytes of the Peripheral Blood of Plunderfish *Pogonophryne* sp. (Perciformes: Artedidraconidae) and Grey Rockcod *Lepidonotothen squamifrons* (Günther, 1880) (Perciformes: Nototheniidae) from the Ross Sea

I. I. Gordeyev^{a, b}, D. V. Mikryakov^c, and L. V. Balabanova^c

^aRussian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (VNIRO), Moscow 105187, Russia ^bLomonosov Moscow State University, Moscow 119234, Russia

^cPapanin Institute for Biology of Inland Waters (IBIW), Russian Academy of Sciences, Borok 152742, Russia

A comparative study of the composition of peripheral blood leukocytes of plunderfish and grey rockcod or squama caught in the Ross Sea has been carried out. Blood smears revealed cells of different morphofunctional characteristics and structure: lymphocytes, monocytes, neutro- and eosinophils, and blast cells. An analysis of the leukogram showed that the white blood of the studied species has a lymphoid character. In the rockcod leukogram, the proportion of lymphocytes is significantly higher, while that of monocytes and blast forms is lower. In the plunderfish, in comparison with grey rockcod, the leukocyte cells of the same name are usually larger.

Keywords: Ross Sea, Pogonophryne plunderfish, grey rockcod Lepidonotothen squamifrons, leukogram, leukocytes