

ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ
ОСЕТРОВЫХ РЫБ СРЕДНЕГО КАСПИЯ

© 2016 Н.М. Абдуллаева, М.Г. Рамазанова, М.М. Габитов

Дагестанский государственный университет

Статья поступила в редакцию 09.05.2016

Нами были изучены изменения ряда гематологических показателей периферической крови рыб семейства осетровые (*Acipenser*, по Брандту), на примере севрюги (*Acipenser stellatus*) и русского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii*). Выявлены незначительные отклонения в структуре клеток крови, позволяющие диагностировать изменения, возможно, связанные с антропогенным воздействием. В периферической крови изученных рыб отмечено понижение количество эритроцитов и повышение содержания гемоглобина. Количественные и морфологические показатели лейкоцитов незначительно отличаются от литературных показателей.

Ключевые слова: севрюга, осетр, кровь, эритроциты, гемоглобин, лейкоциты

В настоящее время одной из актуальных проблем физиологии является изучение эколого-физиологических и физиолого-биохимических механизмов воздействия факторов среды различной природы на организм животных [1]. Антропогенное воздействие становится все более многофакторным. Несомненно, наряду с загрязнением воздушной среды, нарушением экосистем суши, негативное воздействие распространяется и на гидросферу. Это относится и к Каспию [7]. Каспий – самый богатый в мире водоем по численности и количеству видов осетровых [13]. Каспийское море с устьями впадающих в него рек является одним из важнейших рыбохозяйственных водоемов России. Многие каспийские виды рыб, в том числе осетровые, принадлежат к трансграничным видам, их ареалом обитания является весь Каспий и реки бассейна [10]. Ухудшение среды обитания и плохое качество воды способствует снижению количества осетровых рыб. Статус угрозы оценивается как высокий, что угрожает их исчезновению [15]. Таким образом, запасы осетровых Каспийского моря, составляющие основу мирового генофонда этих реликтовых рыб, находятся в напряженном состоянии [12].

В этих условиях для сохранения и восстановления естественных популяций этих уникальных, реликтовых и высокоценных видов рыб необходимо принятие срочных неординарных и кардинальных мер [14]. Существует необходимость разрабатывать, внедрять и использовать альтернативные подходы в разведении и сохранении ценных видов животных [2, 3]. Необходимо отметить, что изучение функциональных нарушений рыб представляет одну из наиболее сложных научных задач, определяющее значение которой заключается в формировании их численности и видового разнообразия [5]. Изучение физиологического состояния необходимо для более полной и всесторонней функциональной характеристики осетровых и их адаптационных возможностей [11].

При оценке состояния рыб важное место занимают гематологические исследования. Кровь – чувствительный и информативный индикатор состояния

защитных сил организма животных [4]. Она быстро реагирует на действие различных неблагоприятных факторов и может служить одним из ранних показателей нарушения состояния рыб при загрязнении среды обитания. Это позволяет не только оценивать и прогнозировать экологические последствия нарушения качества водной среды, но и разрабатывать методы оптимизации рыбной продукции в водоемах [9].

Цель работы: используя цитоморфологические исследования, изучить количественные и качественные изменения гематологических показателей осетровых рыб на примере севрюги и русского осетра, обитающих в Каспийском море.

Методы исследований. Объектом исследования служили рыбы семейства осетровые: севрюга (*Acipenser stellatus*) и русский осетр (*Acipenser gueldenstaedtii*) в возрасте 1-2 года, выловленные у Дагестанского побережья Среднего Каспия. В работе использовались гематологические методы исследования [6]. Для анализа гематологических показателей кровь брали прижизненно. Для проведения подсчета эритроцитов и лейкоцитов полученную кровь переносили в пробирки, предварительно обработанные раствором антикоагулянтов. Каплю крови наносили на предметное стекло и производили мазок. Мазки крови подсушивали и производили фиксацию и окраску препаратов. В качестве фиксаторов использовали спирт 96%, а для окраски – азури-эозин. Морфологическую картину крови оценивали по мазкам, которые изучали под микроскопом со встроенным видеоокуляром ToprCam. Клетки крови идентифицировали по классификации Н.Т. Ивановой [6]. При подсчете общего количества форменных элементов крови использовали камеру Горяева. Подсчет эритроцитов производили в 5 больших квадратах: в четырех больших квадратах, расположенных по углам, и в одном, расположенном в центре сетки. Каждый большой квадрат включает 16 малых, что в сумме составляет 80 малых квадратов. Среднее количество клеток определяли путем деления всех подсчитанных клеток на число квадратов, в которых подсчитывали форменные элементы крови. Полученная цифра соответствовала среднему количеству клеток, содержащемуся в 1/4000 мм³ крови. Умножив полученный результат на 4000 и на степень разведения, получали среднее содержание форменных элементов в 1 мм³ крови.

Абдуллаева Наида Муртазалиевна, кандидат биологических наук, доцент. E-mail: casa1@yandex.ru

Рамазанова Мадрижат Галамудиновна, аспирантка. E-mail: madrijat@mail.ru

Габитов Магомед Магомедович, доктор биологических наук, профессор. E-mail: piziolog1@yandex.ru

Количество лейкоцитов подсчитывали в 50 больших (800 малых) квадратах, расположенных в разных участках камеры Горяева. Умножив полученный результат на 4000 и на степень разведения, получали среднее содержание лейкоцитов крови в 1мм^3 крови. Для определения количества гемоглобина смешивали 5 мл трансформера и 20 мкл крови. Через 10 минут гемоглобин определяли на аппарате «МиниГЕМ- 540» и выражали в г/л. Результаты подвергали статистическому анализу [10].

Результаты и обсуждение. Анализ изученных гематологических показателей рыб семейства осетровых в возрасте от 1-2 года выявил незначительные отличия в содержании лейкоцитов у севрюги ($60 \times 10^9/\text{л}$) от литературных показателей ($70 \times 10^9/\text{л}$) [9] и соответствие физиологическим нормам – $25 \times 10^9/\text{л}$ [9] их количества у русского осетра – $26,7 \times 10^9/\text{л}$. Проведенный анализ эритроцитарной картины показывает, что количество эритроцитов у севрюги и русского осетра составляет $0,56 \times 10^{12}/\text{л}$ и $0,23 \times 10^{12}/\text{л}$ соответственно, что значительно ниже литературных данных (у севрюги – $1,60 \times 10^{12}/\text{л}$, у русского осетра – $0,60 \times 10^{12}/\text{л}$) [9]. В периферической крови изученных видов осетровых рыб было отмечено высокое содержание гемоглобина относительно условной нормы ($120\text{г}/\text{л}$) [9]. Так, у русского осетра уровень гемоглобина составил $272\text{г}/\text{л}$ и у севрюги – $188\text{г}/\text{л}$, что можно рассматривать как приспособление для компенсации недостатка кислорода в различных тканях и органах рыб.

При исследовании периферической крови у севрюги (*Acipenser stellatus*) были обнаружены незначительные изменения в морфологии клеток красного ряда. Эритроциты имели овальную форму и содержали ядра в основном округлой формы, которые на мазках окрашивались в синие цвета. У 15% эритроцитов ядра имели неправильную форму. Выраженных дегенеративных изменений ядер не наблюдалось. У 4-5% красных клеток крови были отмечены пристеночные ядра. Наблюдались незначительные изменения размеров эритроцитов. Визуализировались клетки крови на стадии разрушения, что также можно отнести к числу патоморфологических изменений.

Морфология белой крови исследованных рыб характеризовалась преобладанием лимфоцитов. Указанные клетки – самые представительные у рыб семейства осетровых и занимают до 75% лейкоцитарного ряда. Они имеют красно-фиолетовое круглое ядро, в котором хроматин образует переходы от более плотным к менее плотным участкам. Цитоплазма лимфоцитов прерывистая, иногда образовывала выпуклости напоподобие псевдоподий, которые придавали клетке амебоидную форму. При изучении мазков крови из агранулоцитов встречались и моноциты. На их долю приходилось 20% общего количества лейкоцитов. Моноциты имели синие-фиолетовое крупное ядро округлой формы и узкий ободок цитоплазмы, окрашенный в дымчатый цвет.

В периферической крови севрюги были выявлены клетки из класса гранулоцитов – эозинофилы. Их количество составило $10,68 \times 10^6/\text{л}$. Синие-фиолетовое ядро неправильной формы располагалось эксцентрично. У эозинофильных элементов крупные оранжево-красные гранулы были густо расположены на фоне слабобазофильной цитоплазмы. Гранулы часто располагались не только в цитоплазме, но и в самом ядре. Иногда зерна казались бесцветными и плотно сидящими друг около друга (рис. 1). Очевидно, увеличение содержания эозинофилов является своеобразной

реакцией организма на поступление в него чужеродных веществ. Количество эозинофилов увеличивается при аллергической реакции, синдромах паразитарных инфекций, кожных болезней, гельминтозах [8].

По сравнению с севрюгой у русского осетра в гемограмме не были обнаружены эозинофилы, но были выявлены 30% моноцитов. Клетки содержали окрашенное в синий цвет крупное ядро и узкий ободок цитоплазмы, окрашенный в темно-синие, фиолетовые тона. Контур клетки были неровные. Согласно литературным данным, подобные деструктивные изменения могут быть спровоцированы наличием токсических агентов в организме, а также при вирусных и паразитарных заболеваниях [8]. При исследовании лейкоцитарного профиля русского осетра, как и у севрюги, наблюдалось преобладание лимфоцитов (70%). Лимфоциты содержали округлое ядро, окрашенное в синий цвет. Деструктивных изменений в структуре ядра не наблюдалось. Цитоплазма агранулоцитов окрашивалась в фиолетовый цвет и была представлена узким ободком с выпуклостями.

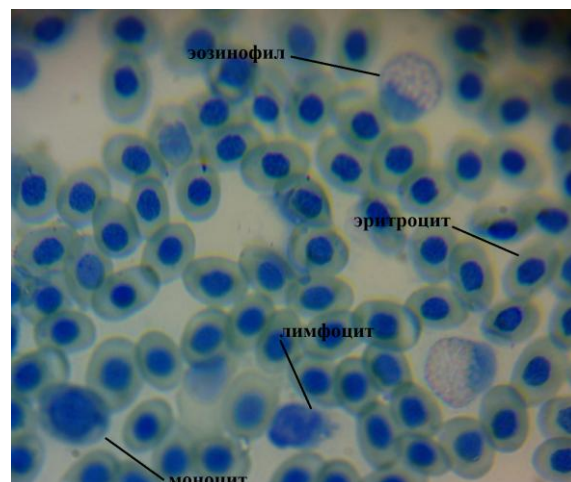


Рис. 1. Гемограмма севрюги (*Acipenser stellatus*), $\times 100$

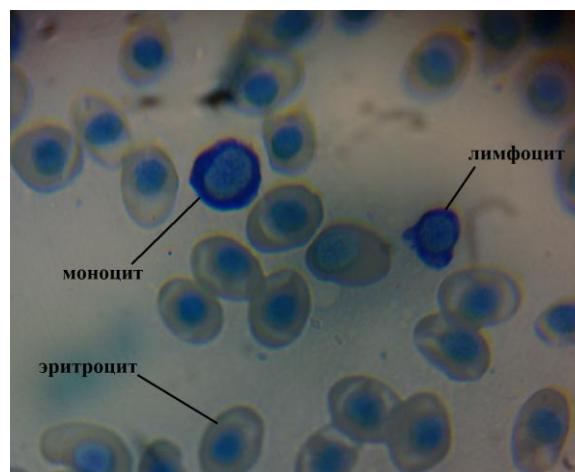


Рис. 2. Гемограмма русского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii*), $\times 100$

При проведении гематологических исследований установлено, что 7-8% клеток красной крови русского осетра имели патоморфологические изменения. Особенно обращает на себя внимание пойкилоцитоз. Встречались клетки серповидной, вытянутой и полукруглой форм. В цитоплазме клеток наблюдались

перинуклеарные зоны просветления. Среди ядер эритроцитов структурные нарушения не были выявлены, за исключением пристеночных ядер. Такие клетки составляли 2-3% всех эритроцитов (рис. 2).

Отмечены отклонения гематологических показателей периферической крови осетровых (*Acipenser*), которые проявляются, в первую очередь, в нарушениях морфологии клеток и их ядер, а также в изменениях лейкоцитарной формулы, указывают на то, что исследованные виды рыб обитают в условиях постоянной антропогенной нагрузки, что может быть одной из причин резкого снижения их численности. В современных условиях катастрофического снижения численности природных популяций осетровых рыб в Каспии можно рекомендовать усиление объединенного контроля всех прикаспийских государств за их выловом, повышение эффективности естественного и искусственного воспроизводства. Для улучшения состояния естественного воспроизводства осетровых рыб следует создавать условия для размножения, восстанавливать нерестилища и обеспечивать необходимый гидрологический режим.

Выводы:

1. В периферической крови исследованных осетровых рыб, выловленных у Дагестанского побережья Среднего Каспия, общее количество лейкоцитов соответствует уровню контроля у русского осетра и незначительно снижено у севрюги. В крови обоих видов рыб из агранулоцитов обнаружены моноциты, а из гранулоцитов – эозинофилы.

2. Анализ показателей красной крови показал пониженное количество эритроцитов и резкое повышение содержания гемоглобина в крови как русского осетра, так и севрюги.

3. У обоих видов осетровых рыб зарегистрированы разнообразные деструктивные нарушения в строении эритроцитов, эозинофилов и моноцитов, а также структуры их ядер.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Бехтерева, Т.В. Эколого-физиологические исследования. - М., 1998. 121 с.
2. Васильева, Л.М. Современные проблемы осетроводства в России и мире // ТППП АПК. 2015. №2 (6) С. 30-36.
3. Егоров, М.А. Морфофизиологические эффекты фитогормона эпибрасинолида на позвоночных животных в раннем онтогенезе // Известия Самарского научного центра РАН. 2003. №2. С. 355-362.
4. Еошина, Т.Л. Накопление тяжелых металлов в водных экосистемах разной степени загрязненности / Т.Л. Еошина, Л.Н. Шихова, Е.М. Лисицын, А.С. Жиряков // Проблемы региональной экологии. 2007. №2. С. 17-23.
5. Земков, Г.В. Экспериментальные данные изучения механизма развития токсикоза у рыб / Г.В. Земков, Г.Ф. Журавлева // Успехи современного естествознания. 2004. № 1. С. 41.
6. Иванова, Т.Н. Атлас клеток крови рыб. - М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983. 200 с.
7. Катунин, Д.Н. Эколого-токсикологическая характеристика Волго-Каспийского бассейна в условиях антропогенного воздействия на биоресурсы и среду обитания / Д.Н. Катунин, Т.Р. Курочкина, Б.М. Насибулина и др. // В кн.: Рыбохозяйственные исследования на Каспии. - Астрахань, 2000. 30 с.
8. Кузина, Т.В. Цитофизиологические особенности крови промысловых рыб Волго-Каспийского канала. Автореферат дисс. на соиск. уч. степ. д.б.н. - Волгоград, 2012. С. 2-5.
9. Курамышина, Н.Г. Эколого-физиологическая характеристика рыб малых рек Южного Урала / Н.Г. Курамышина, Э.Э. Нуртдинова, А.Д. Назыров и др. // Вестник Оренбургского государственного университета. 2015. № 4 (179). С. 240-243.
10. Калинина, В.Н. Математическая статистика / В.Н. Калинина, В.Ф. Панкин. - М.: Дрофа, 2002. 336 с.
11. Лепилина, И.Н. Состояние запасов каспийских осетровых в многолетнем аспекте (литературный обзор) / И.Н. Лепилина, Т.В. Васильева, А.С. Абдусаматов // Юг России: экология, развитие. 2010. №3. С. 57-65.
12. Магзанова, Д.К. Физиологические показатели производителей осетровых рыб в современных экологических условиях / Д.К. Магзанова, Г.Ф. Журавлева, М.Л. Егоров // Успехи современного естествознания. 2005. №8. С. 14-16.
13. Мамедов, Ч.А. Резервы повышения эффективности воспроизводства осетровых рыб на рыболовных заводах в современных экологических условиях // Вестник КГУ им. Н.А. Некрасова. 2011. № 2. С. 5-12.
14. Ходоревская, Р.П. Современное состояние запасов осетровых каспийского бассейна и меры по их сохранению / Р.П. Ходоревская, В.А. Калмыков, А.А. Жилкин // Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство. 2012. №1. С.99-106
15. Bronzi, A. Present and future sturgeon and caviar production and marketing: A global market overview / A. Bronzi, H.P. Rozenthal // Journal of Applied Ichthyology. 2014. P. 1536-1546.
16. St. Pierre (U.S. Fish Wildlife Service), 2006. *Acipenser oxyrinchus* ssp. *Oxyrinchus*. In: IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.2. P. 10-35.

STUDYING THE PHYSIOLOGICAL STATE OF STURGEON IN THE MIDDLE CASPIAN SEA

© 2016 N.M. Abdullaeva, M.G. Ramazanov, M. M. Gabibov
Dagestan State University

We have studied changes of a number of hematologic indicators of peripheral blood in fishes of sturgeon family (*Acipenser*, according to Brandt), on the example of starred sturgeon (*Acipenser stellatus*) and Russian sturgeon (*Acipenser guldentstädtii*). The insignificant deviations in structure of blood cells allowing to diagnose changes, perhaps, connected with anthropogenous influence are revealed. In peripheral blood of the studied fishes decrease quantity of erythrocytes and increase content of hemoglobin is noted. Quantitative and morphological indexes of leukocytes slightly differ from literary ones.

Key words: *starred sturgeon, sturgeon, blood, erythrocytes, hemoglobin, leukocytes*

Naida Abdullaeva, Candidate of Biology, Associate Professor. E-mail: caca1@yandex.ru
Madrizhat Ramazanov, Post-graduate Student. E-mail: madrijat@mail.ru
Magomed Gabibov, Doctor of Biology, Professor. E-mail: piziolog1@yandex.ru