

УДК:639.371.2.07

ИЗМЕНЕНИЯ МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ СТЕРЛЯДИ (*ACIPENSER RUTHENUS*) ПРИ ИХ ВЫРАЩИВАНИИ В ИСКУССТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ

© 2017 М.Г. Рамазанова, Н.М. Абдуллаева

Дагестанский государственный университет, г. Махачкала

Статья поступила в редакцию 21.03.2017

Описываются гематологические показатели крови стерляди (*Acipenser ruthenus*), выращенной в условиях замкнутого водоснабжения. Отмечается более высокое содержание в крови гемоглобина - 113 г/л. При этом не наблюдалось снижение общего числа эритроцитов. Отмечены незначительные нарушения в морфологии клеток красной крови. Общее количество лейкоцитов оказалось в два раза меньше приведенных в литературе данных. Лимфоциты составили 83%, что соответствует верхней границе нормы. Выявлено большее количество палочкоядерных нейтрофилов (11%), что свидетельствует о более высокой их фагоцитарной активности. В малых количествах (6%) встречались палочкоядерные эозинофилы, по содержанию которых можно предположить об инвазивном либо инфекционном поражении стерляди.

Ключевые слова: стерлядь, эритроциты, лимфоциты, нейтрофилы, эозинофилы, бассейны.

Введение. Нормальное состояние популяции рыб зависит от условий среды их обитания, от воздействия на них различных биотических и абиотических факторов. Наряду с достаточным наличием кормовых объектов, существенную роль играют адаптационные механизмы организма к условиям внешней среды. Осетровые рыбы являются уникальными реликтовыми видами, которые успешно эволюционируя на протяжении миллионов лет, приспособились к меняющимся экологическим условиям. Однако из-за стремительного вмешательства человека в естественный ход биологических процессов в настоящее время данная группа рыб находится на грани полного исчезновения. Особенно актуальной в таких условиях становится необходимость сохранения, восстановления и увеличения популяций ценных видов рыб, являющихся общемировым богатством [4, 2, 13].

С этой целью разработаны и внедрены современных технологии, одной из которых является выращивание рыбы в установках с замкнутым водоиспользованием (УЗВ). Подобные установки обеспечивают полную независимость производственного процесса от природно-климатических условий и времени года. Разведение рыбы в установках замкнутого водоснабжения весьма перспективно. Одной из уникальных рыб в аквакультуре является стерлядь (*Acipenser ruthenus*, *Linnaeus, 1758*). Так как это самый

скороспелый вид среди осетровых, с короткими межнерестовыми интервалами. Стерлядь является самой маленькой рыбой в этом семействе, но, безусловно, ценной промысловой рыбой. Она занесена в Красную книгу Российской Федерации [5, 15, 17]. Для выращивания здоровых особей стерляди необходимо проведение систематических проверок. Многолетний поиск различных исследований, как морфологических, так и физиолого-биохимических, выявил ряд показателей крови, определяющих интенсивность обменных процессов, меняющихся на различных этапах развития рыб [10].

Морфофизиологическое состояние рыбы зависит от условий ее содержания. Все изменения, происходящие в организме, отражаются на гематологических показателях. Исследование крови дает достаточно ясную картину даже на самых ранних этапах различных заболеваний, а также при изменениях условий обитания рыб. Правильная и своевременная диагностика изменений картины крови позволяет выявить возникающий дисбаланс или патологию в организме рыб, поэтому для оценки физиологического состояния производителей необходимо проводить комплексное гематологическое исследование для [6, 16].

В связи с этим целью наших исследований послужило изучение морфофизиологических показателей периферической крови у особей стерляди (*Acipenser ruthenus*), при их выращивании в условиях замкнутого водоснабжения. Впервые будут рассмотрены цитоморфологические показатели красной и белой крови рыб данного вида.

Рамазанова Мадрижат Галамудиновна, аспирант 3-го года обучения. E-mail: madrijat@mail.ru
Абдуллаева Наида Муртазалиевна, кандидат биологических наук, доцент. E-mail: casa1@yandex.ru.

Объект и методика исследований. Объектом исследования служили сеголетки стерляди (*Acipenser ruthenus*), со средней массой 49,77 грамм и средней абсолютной длиной равной 22,6 см. Они выращивались в условиях замкнутого водоснабжения в ОАО «Ширококольский рыбокомбинат» Тарумовского района Республики Дагестан. Бассейны, в которых содержались рыбы имели размеры 2х2м. Исследования проводились в весенне-летний период 2017 года.

В работе использовались общепринятые методы исследования. Для изучения гематологических показателей кровь брали из хвостовой вены прижизненно. Каплю крови наносили на предметное стекло и производили мазок. Подписанные мазки крови ставили в специальные штативы для просушки, после чего производили фиксацию и окраску препаратов. В качестве фиксаторов использовали спирт 96%, а для окраски – азур-эозин. После окраски препараты хорошо прополаскивали дистиллированной водой и ставили в штативы для просушки. Для изучения морфологической картины крови мазки рассматривали под микроскопом со встроенным видеоокуляром TourCam. Клетки крови идентифицировали по классификации Н. Т. Ивановой (1983). Использовали дифференциальный подсчет лейкоцитов, то есть выводили лейкоцитарную формулу. Количество различных групп лейкоцитов выражали в процентах (%) [12]. Патологические изменения форменных элементов крови рыб определили согласно рекомендациям Л.Д.Житиновой с соавторами (1989) [7].

Часть полученной крови переносили в пробирки, предварительно обработанные раствором антикоагулянта. При подсчете общего количества форменных элементов крови использовали камеру Горяева. Подсчет эритроцитов производили в пяти 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 $1/4000\text{мм}^3$ крови. Умножив полученный результат на 4000 и на степень разведения, получали среднее содержание форменных элементов в 1мм^3 крови. Общее число лейкоцитов учитывали косвенным методом. 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 [8].

Для определения количества гемоглобина смешивали 5 мл трансформера и 20мкл крови. Через 10 минут гемоглобин определяли на аппарате «МиниГЕМ– 540» и выражали в г/л.

Полученные результаты подвергали статистическому анализу [9].

Результаты и обсуждения. При изучении периферической крови сеголеток стерляди, представителя семейства осетровые – *Acipenser ruthenus*, выяснилось, что в среднем количество клеток красной крови составило $0,5 \times 10^6$ мкл, что значительно ниже (почти в два раза) по сравнению с показателями молодой стерляди ($0,98 \times 10^6$ мкл), приведенными в литературе [1, 14]. Они имели овальную, вытянутую, иногда неправильную форму, с выпячиваниями. Ядра были округлой формы, иногда с шероховатой поверхностью (рис.1).

В исследованных мазках обнаружены разноразмерные эритроциты (анизоцитоз). Данное явление относится к дегенеративным и свидетельствует о функциональной недостаточности кроветворных органов [10]. В процентном соотношении количество таких клеток составило 2-3 % от общего количества эритроцитов (рис.1).

По полученным данным в периферической крови у стерляди (*Acipenser ruthenus*), концентрация гемоглобина находилась на уровне 113 г/л. Полученные результаты оказались на 12 % выше литературных данных (92 г/л) [1, 14].

Морфология белой крови исследованных осетровых видов рыб характеризовалась преобладанием лимфоцитов, количество которых составило 83%. Они имели красно-фиолетовое круглое ядро, в котором хроматин образовывал переходы от более плотных к менее плотным участкам. В цитоплазме лимфоцитов наблюдалась прерывистость, иногда цитоплазма образовывала выпуклости на подобие псевдоподий, которые придавали клетке амебоидную форму (рис.2). Среднее содержание лейкоцитов в периферической крови особей составило $21,8 \times 10^3$ мкл, что в два раза ниже литературных данных – $58,24 \times 10^3$ мкл [3].

Наряду с этим необходимо отметить, что исследование морфологической картины лимфоцитарного профиля имеет важное значение для интегральной оценки физиологического состояния рыб. Так, лейкограмма данного вида представлена клетками гранулоцитарного ряда: палочкоядерные ней-

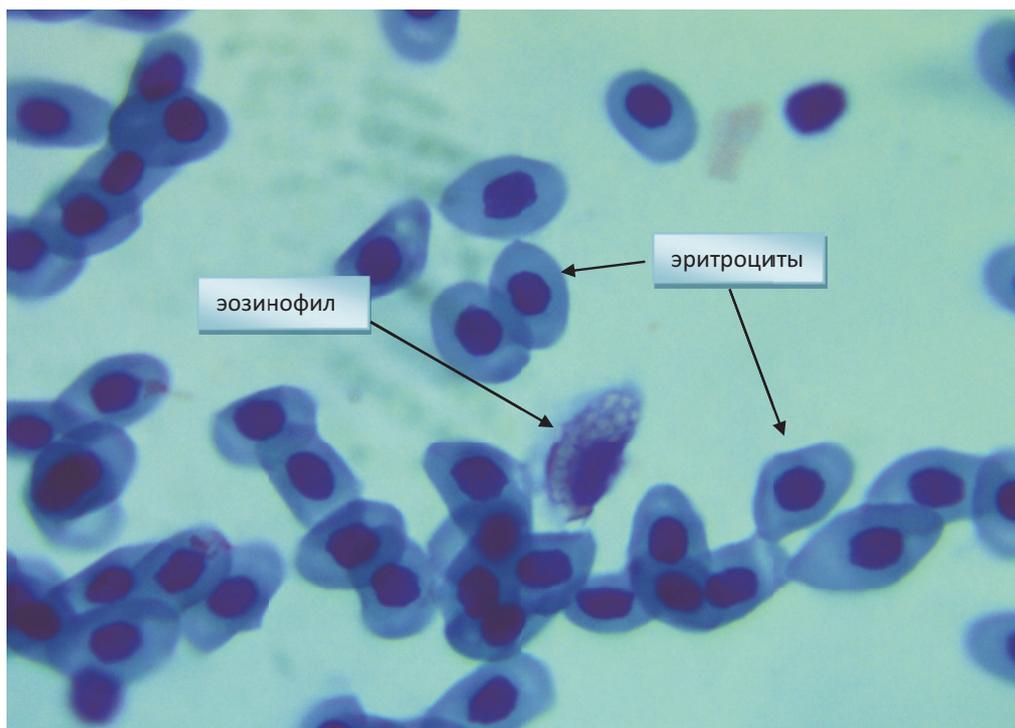


Рис. 1. Гемограмма стерляди (*Acipenser ruthenus*), $\times 100$

трофилы и эозинофилы. Палочкоядерные эозинофилы (рис. 1, рис. 3) имели слабобазофильную цитоплазму, в которой плотно располагались гранулы желто-оранжевого цвета, количество клеток составило 6%. Ядра эозинофилов имели вытянутую форму. Окрашивались в фиолетово-синий цвет. Располагались в основном у края клетки. Контуры ядра, как и контуры клеток, были нарушены вследствие заполнения цитоплазмы гранулами.

Палочкоядерные нейтрофилы были представлены зернистыми клетками (11%), содержащими в цитоплазме почти бесцветные гранулы, их ядра были продолговатой формы и располагались по периферии клеток (рис.3).

Выявлено большее количество палочкоядерных нейтрофилов (11%) у исследованных видов рыб, что свидетельствует о более высокой фагоцитарной активности. В малых количествах (6%) встречались палочкоядер-

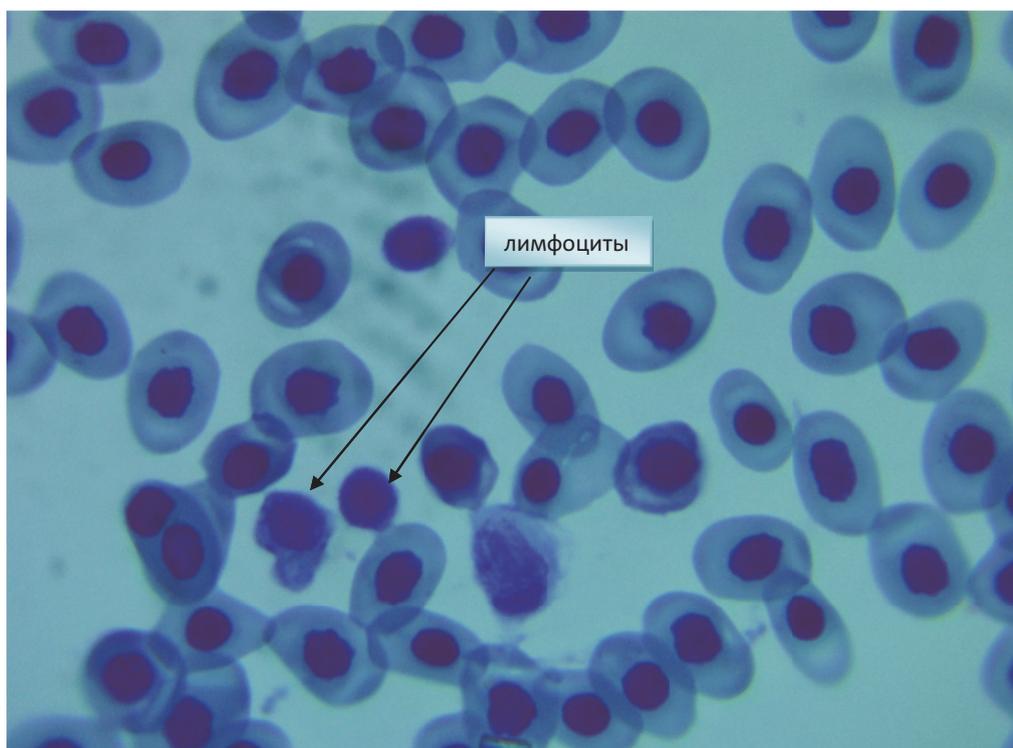


Рис. 2. Гемограмма стерляди (*Acipenser ruthenus*), $\times 100$

ные эозинофилы, по содержанию которых можно предположить об аллергических инфекционных поражениях (табл. 1). Данное явление может быть связано со средой обитания гидробионтов. В связи чем были взяты пробы воды для определения качество воды. Активная реакция (рН) воды оказалась слабощелочной 7,5. Осетровые переносят широкие колебания показателей рН, наиболее оптимальной для УЗВ считают рН 7,8-8,0. В результате исследования гидрохимических проб из водозабора было выявлено повышенное содержание сульфатов (290 мг/л), в то время как предельно допустимая норма их в воде при выращивании осетровых составляет 50 мг/л [11].

Следует подчеркнуть, что ответ кровеносной системы рыб, как целостного образования на воздействие неблагоприятных факторов среды многогранный. Информация о структурных показателях эритро- и лейкограммы представляют существенный интерес для понимания функционирования гомеостатический механизмов, адаптация кроветворной системы рыб к неблагоприятным факторам среды и биоиндикации в условиях загрязнения вод различными токсикантами.

По результатам наших исследований наличие изменений в морфологической структуре клеток скорелировано с содержанием химического состава воды рыбохозяйственного водоема. Так, цитоморфологический анализ гемограммы сеголеток стерляди (*Acipenser ruthenus*), выращенных в бассейнах ОАО «Ширококольский рыбокомбинат», показал, что

общее количество эритроцитов и лейкоцитов несколько занижены, по сравнению с показателями, приведенными в литературе. Цитоморфологический анализ показал, что малый процент клеток красной крови (2-3%) имел незначительные деструктивные нарушения. Полученные данные также подтверждаются гидрохимическими показателями, что свидетельствует о хроническом стрессе организма рыб в результате воздействия неблагоприятных факторов.

ВЫВОДЫ

В результате исследований основных гидрохимических показателей водной среды в УЗВ обнаружено повышенное содержание азота аммонийного (NH_4) (3,7), при ПДК до 0,5, также сульфатов в 6 раз по сравнению с ПДК (50мг/л). Очевидно, что обнаруженные изменения клеток крови являются ответной реакцией на общетоксическое действие обнаруженных анионов на организм рыб.

При изучении периферической крови стерляди (*Acipenser ruthenus*) выявлено:

Количество эритроцитов составило $0,5 \times 10^6$ мкл, что ниже по сравнению с литературными данными – на 45%, а концентрация гемоглобина напротив оказалась выше на 19%.

Общее количество лейкоцитов составило $21,8 \times 10^3$ мкл., что в два раза ниже литературных показателей. В процентном соотношении лимфоциты составили -83%, палочкоядерные нейтрофилы – 11% и палочкоядерные эозинофилы – 6%.

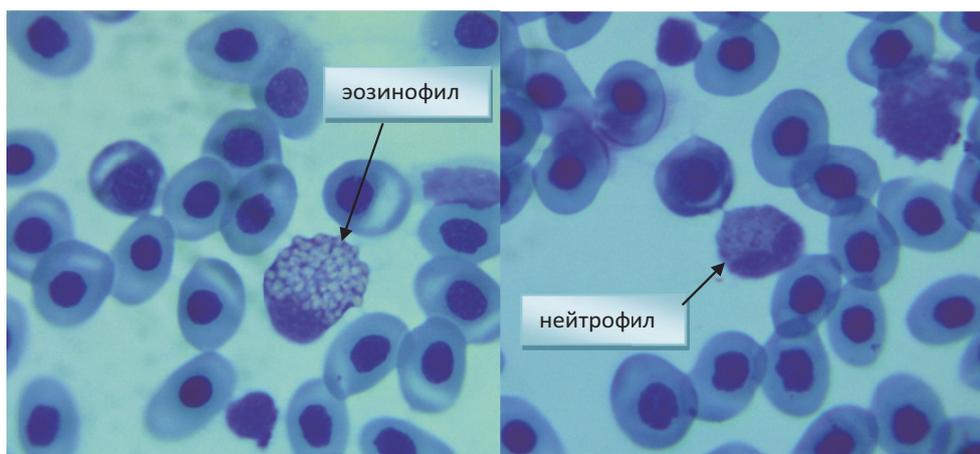


Рис. 3. Гемограмма стерляди (*Acipenser ruthenus*), $\times 100$

Таблица 1. Лейкограмма стерляди (*Acipenser ruthenus*)

Вид	Лейкоциты, 10^3 мкл	Лимфоциты, %	Палочкоядерные нейтрофилы, %	Палочкоядерные эозинофилы, %
Стерлядь (<i>Acipenser ruthenus</i>)	21,8	83	11	6

Изучение морфологической картины крови выявил незначительные нарушения в морфологическом отношении эритроцитов (пойкилоцитоз, анизацитоз), что, по-видимому, связано с выращиванием рыб в экологически трансформированной среде.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Бахарева А.А., Грозеску Ю.Н. Технологические особенности содержания ремонтных групп осетровых рыб в условиях рыбоводных заводах Юга России // Известия Самарского научного центра Российской академии наук, т. 12. №1(5). 2010. С. 1264-1266.
2. Бедняков Д.А. Структурно-функциональные особенности мембранного пищеварения у осетрообразных видов рыб и их гибридов. Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук. Астрахань – 2014.
3. Величко М.С. Адаптационные возможности молоди стерляди при выращивании в различных водных системах. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Калининград, 2009.
4. Гераскин П.П. Влияние загрязнения Каспийского моря на физиологическое состояние осетровых рыб // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2006. Т. 8. № 1. С. 273-282.
5. Григорьев С. С., Седова Н.А. Индустриальное рыбоводство: Биологические основы и основные направления разведения рыбы индустриальными методами. Петропавловск- Камчатский: КамчатГТУ, 2008. – 186 с.
6. Грозеску Ю.Н., Бахарева А.А. Использование гематологических показателей для отбора рыбоводно-продуктивных самок и самцов осетровых рыб // Вестник АГТУ. 2008. № 3. С.18-21.
7. Житенева Л.Д., Полтавцева Т.Г., Рудницкая О.А. Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб. Ростов н/Д.: Кн. изд-во, 1989. 112 с.
8. Иванова Т.Н. Атлас клеток крови рыб. М.: Легкая и пищевая промышленность», 1983. 200 с.
9. Калинина В.Н., Панкин В.Ф. Математическая статистика. М.: Дрофа, 2002. 336с.
10. Лапухин Ю.А., Пономарев С. В., Сорокина М. Н. Сравнительная оценка функционального состояния молоди гибрида стерлядь х белуга // Вестник АГТУ. 2008. № 3(44). С.14-17
11. Матишов Г.Г., Матишов Д.Г., Пономарёва Е.Н., Сорокина М.Н., Казарникова А.В., Коваленко М.В. Основы осетроводства в условиях замкнутого водообеспечения для фермерских хозяйств. Ростов-на-Дону: Изд-во ЮНЦ РАН, 2008. 112 с.
12. Методические указания по проведению гематологического обследования рыб (утвер. заместитель руководителя Департамента ветеринарии В.В.СЕЛИВЕРСТОВ 2 февраля 1999 г. N 13-4-2/1487)
13. Распопов В.М., Сергеева Ю.В. Морфофизиологические особенности популяции русского осетра Волго-Каспийского бассейна // Вестник АГТУ. Сер.: Рыбное хозяйство. 2016. № 4. С.116-121.
14. Сементина Е.В. Ихтиогематологические показатели как критерий условий выращивания и обитания рыб: дис. ... канд. биол. наук: Калининград, 2011. С.241.
15. Чипинов В.Г., Коваленко М.В., Храмова А.В. Особенности выбора видов осетровых для выращивания в УЗВ и опыт транспортировки молоди при высоких летних температурах // Вестник АГТУ. 2006. № 3 (32). С.59-63
16. Abdullaeva N.M., Gabibov M.M., Asadulaeva P.A., Ramazanova M.G. Analysis of the leukogram of sturgeons (*Acipenserbaerii* (Brandt) and *A. gueldenstaedtii* (Brandt)) grown in artificial reservoirs // Inland Water Biology. 2015. Т. 8. № 4. С. 421-425.
17. Williot P., Rouault T., Pelard M., Mercier D., Lepage M., Davail-Cuisset B., Kirschbaum F., Ludwig A. Building a broodstock of the critically endangered sturgeon *Acipensersturio*: Problems and observations associated with the adaptation of wild-caught fish to hatchery conditions. // *Cybium, the International Journal of Ichthyology* (edited by the Société Française d'Ichtyologie) 2007, 31(1): 3-11.

**STUDY OF MORPHOPHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF STERLET BLOOD
(*ACIPENSER RUTHENUS*) DURING THEIR CULTIVATION
UNDER ARTIFICIAL CONDITIONS**

© 2017 M.G. Ramazanova, N.M. Abdullaeva

Daghestan State University, Makhachkala

Hematological indices of the blood of sterlet individuals (*Acipenser ruthenus*) are described, when they are grown in conditions of closed water supply. It turned out that the fish were characterized by a higher content of hemoglobin in the blood - 113 g / l. With elevated hemoglobin, the total number of erythrocytes decreased. When studying the picture of red blood, minor disturbances in the morphology of the cells were noted. The total number of leukocytes turned out to be half the data given in the literature. White blood was lymphoid in nature, the number of lymphocytes was 83%. A greater number of stab neutrophils (11%) in fish was noted, which indicates a higher phagocytic activity. In small quantities (6%) there were also stabnuclear eosinophils
Key words: sterlet, erythrites, lymphocytes, neutrophils, eosinophils, pools.

Madrizhat Ramazanova, Graduate Student of the 3rd Year of Training. E-mail: madrijat@mail.ru
Naida Abdullaeva, Candidate of Biology, Associate Professor. E-mail: caca1@yandex.ru