



Российская Академия Наук

Р А С



Отделение биологических наук РАН

Научный Совет по гидробиологии и ихтиологии РАН

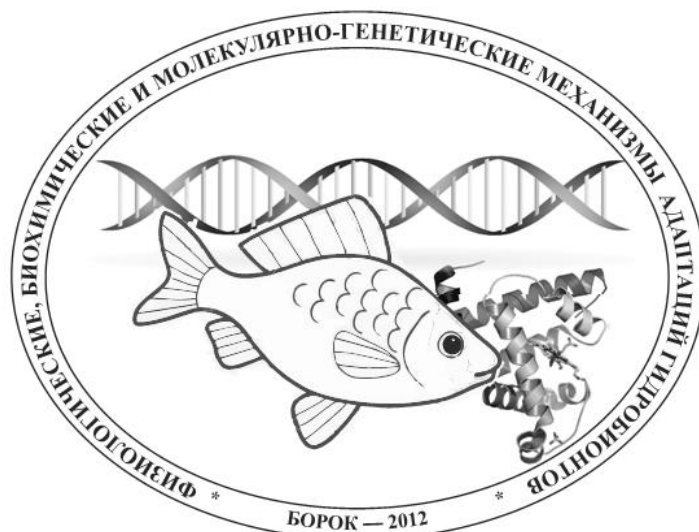
Российский фонд фундаментальных исследований

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук**

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Тюменский государственный университет»**

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ, БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИЙ ГИДРОБИОНТОВ

Материалы Всероссийской конференции с международным участием



Борок 2012

4. Formation of filopodia in earthworm (*Lumbricus terrestris*) coelomocytes in response to osmotic stress/ M. R. Kasschau, T. D. Ngo, M.L. Sperber, K.L. Tran // *Zoology*. 2007. V.110. P. 66–76.

THE IMPACT OF THE CHANGE OF OSMOTIC PRESSURE ON THE STRUCTURE OF COELOMOCYTES OF THE MEDICINAL LEECH (*HIRUDO MEDICINALIS*)

Pigaleva T. A.

We describe the effect of a change in osmotic pressure on some of the structural characteristics of the coelomocytes of the medicinal leech *Hirudo medicinalis*. Application of atomic force and light microscopy was used to estimate the linear parameters and the elastic characteristics of the cell membranes of coelomic fluid and the structure of the microrelief and the cytoskeleton. The data, which allows cells to share a strategy of adaptation to survival in the hypertonic and hypotonic medium.

АДАПТАЦИЯ СОМА ОБЫКНОВЕННОГО (*Silurus glanis* L.) К УСЛОВИЯМ ВЫРАЩИВАНИЯ И ДОМСТИКАЦИИ В УПРАВЛЯЕМЫХ ПРУДОВЫХ ХОЗЯЙСТВАХ

Г.И. Пронина¹, А.О. Ревякин², А.Б. Петрушин¹, В.А. Петрушин¹

¹Государственное научное учреждение научно-исследовательский институт ирригационного рыбоводства россельхозакадемии, московская обл., пос. Воровского, 142460, россия, e-mail: gidrobiont4@yandex.ru

²Государственное учреждение научный центр биомедицинских технологий рамн, московская обл., красногорский р-н 143442, россия. E-mail: ar_info@mail.ru

Сом обыкновенный – хищник, является биологическим мелиоратором, так как уничтожает большую и сорную рыбу. Его мясо обладает высокими вкусовыми свойствами. В карповых рыбоводных хозяйствах с недавнего времени его разводят как дополнительную культуру. В условиях культивирования рыбы подвергаются стресс-факторам, в частности хендлинговым операциям, искусственным условиям зимовки и др. Поэтому для успешной доместикиции сома необходимо выявить его адаптационные возможности с учетом сезона года, пола, стадии онтогенеза.

У рыб, по мнению Б.Н. Казанского (1975), очень надежно осуществляется синхронизация размножения с сезонной цикличностью природы и адаптация к не периодичным сезонным сдвигам. Например, с началом генеративного синтеза и по мере возрастания его интенсивности происходит замедление, а затем и полное прекращение процессов белкового роста и жиронакопления в мышцах и полости тела. Во время созревания гонад количество альбуминов в крови значительно снижается (Кирсипуу, 1981). Однако содержание белка в печени самок во время вителлогенеза увеличивается за счет активного синтеза оовителлина из поступающих в печень продуктов распада белковых комплексов мышц, при этом возрастает содержание нуклеиновых кислот (Ипатов, 1982).

Известно, что показатели крови отражают адаптационные свойства организма. Пониманию механизмов адаптации к условиям существования способствует изучение гематологических показателей рыб, выращиваемых при различном уровне интенсификации, а также рыб из различных по степени антропогенного воздействия водоемов (Серпунин, 2002).

Фагоцитарную активность клеток можно оценивать по содержанию катионного белка в лизосомах. Неферментный катионный белок обеспечивает цитотоксичность клеток и свидетельствует об их способности к фагоцитозу (Пигаревский, Мазинг, 1981). Катионные белки, содержащиеся в азурофильных и специфических гранулах нейтрофилов и макрофагов, обеспечивает высокую бактерицидную активность в синергическом взаимодействии с системой миелопероксидаза – H_2O_2 . Катионный белок повышает проницаемость сосудов микроциркулярного русла, а также стимулирует хемотаксис моноцитов, инициирует миграцию гранулоцитов. В процессе изучения свойств катионных белков нейтрофилов в условиях фагоцитоза и воспаления было выяснено, что эти белки не только обладают противомикробной

активностью, но и регулируют множество защитно-адаптационных реакций, ответственных за развитие неспецифической резистентности человека и животных (Kokriacov, 1990).

Настоящему исследованию подвергались сомы сурской популяции, выращиваемые в СХПРК «Киря» и волжской популяции, культивируемые в хозяйствах Волгоградской области: СПК «Ергенинский» и ООО «Флора».

Кровь для анализа отбирали из хвостовой вены с соблюдением правил асептики. Определялся комплекс показателей, предложенный Г.И. Прониной для оценки рыб (2012). Данный комплекс включает показатели: гематологические (эритропоз и лейкоцитарную формулу), биохимические (активность некоторых ферментов и содержание белка, альбуминов, глюкозы и др. в сыворотке крови) и иммунологические (фагоцитарная активность по среднему цитохимическому коэффициенту содержания неферментного катионного белка в нейтрофилах крови по М.Г. Шубичу, 1974).

Проведенные исследования позволили выявить изменчивость гематологических, биохимических и иммунологических показателей сома обыкновенного при выращивании и доместикации в условиях рыбоводных хозяйств в разные сезоны года.

Сом обыкновенный относится к теплолюбивым рыбам. Поэтому гораздо интенсивнее растет в условиях пятой рыбоводной зоны (Волгоградская область), чем во второй (Чувашия). В Волгоградском хозяйстве у сома в лейкоцитарной формуле отсутствуют бластные формы гранулоцитов, тогда как в «Кире» у самцов и самок присутствует определенный процент метамиелоцитов, и миелоцитов (табл. 1). Такая активация лейкопоза у сома весной, вероятно, связана с влиянием резких температурных перепадов, характерных для климата Чувашии. Кроме того, производители сома из СХПРК «Киря» впервые созрели для нереста.

Таблица 1. Морфометрические, гематологические и цитохимические показатели производителей сома обыкновенного

Показатели	СХПРК «Киря», 2 зона рыбоводства		Р/х «Флора», 5 зона рыбоводства	
	Самцы	Самки	Самцы	Самки
Масса, г	2630±178*	2500±141*	3340±120*	3517±392*
Длина тела, см	83±1,0	74±1,1	77±1,2	75±2,1
Эритропоз, %				
Гемоцитобласты, эритробласты	0,7±0,4	-	1,0±0,7	1,0±0,7
Нормобласты	2,7±0,4	3,0±1,4	2,3±0,4	4,7±0,4
Базофильные эритроциты	11,7±4,0	7,5±0,7	12,3±1,8	14,0±4,6
Сумма зрелых и полихроматофильных эритроцитов	85,0±4,4	89,5±2,1	84,3±2,7	80,3±4,8
Лейкоцитарная формула, %				
Миелоциты	0,5±0,4	1,0±0,4	-	-
Метамиелоциты	3,0±1,4	3,5±0,7	-	-
Палочкоядерные нейтрофилы	0,7±0,8	1,5±2,1	1,0±0,7	3,3±1,6
Сегментоядерные	4,3±0,8	4,5±2,1	3,7±1,1	4,0±1,2
Всего нейтрофилов	5,0±1,4	6,0±4,2	4,7±0,4	7,3±0,4
Базофилы	0,3±0,4	-	-	-
Моноциты	3,3±2,0	2,5±0,7	2,0±0,7	2,7±1,1
Лимфоциты	88,3±2,3	87,0±2,8	93,0±1,2	90,0±0,7
Фагоцитарная активность				
СЦК	1,30±0,15*	1,72±0,51	1,81±0,20	1,90±0,19*

Примечание: здесь и далее * различия достоверны

Уровень активности эритропоэза был одинаков у рыб, как второй, так и пятой зоны рыбоводства и находился в пределах, свойственных здоровым особям этого вида с хорошей жизнеспособностью и стабильной кроветворной системой. У производителей, особенно у самок, наблюдалось увеличение количества незрелых эритроцитов в периферической крови. По-видимому, их повышенное образование в весенний период компенсирует затраты на усиленный кислородный обмен при выработке половых продуктов.

Количество неферментного катионного белка в лизосомах нейтрофилов периферической крови сома обыкновенного в пятой зоне рыбоводства было несколько больше, чем во второй, климатические условия которой вызывают повышенный расход лизосомального протеина при адаптации к влиянию абиотических факторов среды. Об этом же свидетельствует менее интенсивный рост рыб второй зоны. Тем не менее, получены хорошие результаты по выращиванию сома обыкновенного в карповых рыбоводных хозяйствах второй зоны рыбоводства.

По мере роста рыбы происходят изменения гематологической картины крови сома, связанные с физиологическими процессами: ростом, созреванием гонад. Кровь у рыб отбиралась в одно и то же время осенью, что позволяет нам сравнить разновозрастные группы сомов рыбоводного хозяйства ООО «Флора» (табл. 2). Наиболее интенсивно гемопоэз протекает у годовиков, несмотря на осенний период. Усиление эритропоэза годовиков сома связано с ростом, который продолжается у молоди сома несколько дольше, чем у карпа. Рост двухгодовиков осенью замедляется. То же можно сказать и о производителях после нереста. Усиление лейкопоэза осенью отмечено нами и у карпа. Возможно из-за необходимости усиления иммунной защиты при подготовке к зимовке, когда происходит торможение обменных процессов в организме рыб.

Таблица 2. Гематологическая характеристика сома обыкновенного в онтогенезе

Показатели	Годовики	Двухгодовики	Производители	
			Самцы	Самки
Эритропоэз, %				
Гемоцитобласты, эритробласты	1,3±0,3	0,5±0,7	1,0±0,7	1,0±0,7
Нормобласты	6,7±0,9	2,5±0,7	2,3±0,4	4,7±0,4
Базофильные эритроциты	15,7±2,3	5,5±2,1	12,3±1,8	14±4,6
Сумма зрелых и полихроматофильных эритроцитов	76,3±2,2	91,0±2,8	84,3±2,7	80,3±4,8
Лейкоцитарная формула, %				
Миелобласты	-	-	-	-
Промиелоциты	-	-	-	-
Миелоциты	1,0±0,6	-	-	-
Метамиелоциты	2,3±0,3	-	-	-
Палочкоядерные нейтрофилы	2,7±0,7	1,4±0,7	1,0±0,7	3,3±1,6
Сегментоядерные	2,7±0,7	8,0±0,0	3,7±1,2	4,0±1,2
Всего нейтрофилов	5,3±0,7	11,5±0,7	4,7±0,4	7,3±0,4
Эозинофилы	0,7±0,3	-	-	-
Базофилы	0,7±0,3	-	-	-
Моноциты	2,0±0,9	3,5±4,9	2,0±0,7	2,7±1,1
Лимфоциты	88,0±1,0	85,0±4,2	93,0±1,2	90,0±0,7
Фагоцитарная активность				
СЦК	1,80±0,10	2,09±0,23	1,80±0,20	1,91±0,19

Установлено, что в Чувашии скорость роста сомов на третьем году выше, чем в Волгоградской области, несмотря на более комфортные условия последней. Это объясняется тем, что во второй зоне рыбоводства созревание сомов наступает гораздо позже, чем в пятой. А

основной рост рыб приходится на период до их созревания. Как во второй, так и в пятой зоне рыбоводства определены факторы, обеспечивающие оптимальные условия для роста и развития сомов. Это наличие доступной пищи, укрытий, плотность посадки, температура, длительность фотопериода.

Годовики отличаются присутствием в крови эозинофилов и базофилов. Кроме возрастных особенностей имеет место созревание гонад и подготовка производителей к нересту. Наибольший уровень потенциала фагоцитарной активности по цитохимическому коэффициенту содержания катионного белка в нейтрофилах крови отмечен у двухгодовиков.

Биохимия сыворотки крови молоди сома обыкновенного из разных хозяйств показала высокий уровень активности трансаминаз (табл. 3). Уровень активности аланинаминотрансферазы свидетельствует о высоком потенциале роста рыб. У двухлетков сома СПК «Ергенинский» отмечено очень низкое значение аспаратаминотрансферазы. Молодь сома из этого хозяйства значительно опережает по массе и, соответственно по скорости роста, одновозрастные группы из других рассматриваемых нами хозяйств. Активность ГГТ крови молоди сома из хозяйств Волгоградской области почти в два раза превышает таковую в «Кире». У сеголетков из «Ергенинского» по сравнению с сеголетками из «Кири» различия достоверны при $t=4,17$. Одной из причин усиления активности фермента является интенсивный рост рыб, при котором выбрасывается большое количество продуктов метаболизма. Соответственно происходит нагрузка на печень. Источником сывороточной ГГТ, как правило, является гепатобилиарная система. Данное повышение активности ГГТ не связано с остеосинтезом, так как активность ЩФ не увеличилась (при нарушениях остеосинтеза одновременно повышается активность ГГТ и ЩФ). Напротив, у молоди сома обыкновенного из СПК «Ергенинский» активность ЩФ была почти в два раза ниже, чем у одновозрастных групп из СХПРК «Киря»; для сеголетков различия достоверны ($t=3,89$).

Уровень глюкозы в сыворотке крови исследуемой молоди сома обыкновенного был невысоким. По-видимому, осенью при подготовке к зимовке происходит накопление гликогена в печени как энергетического резерва. Свидетельством этого являются высокие показатели лактатдегидрогеназы, участвующей в процессах гликолиза.

Таблица 3. Биохимическая характеристика крови молоди сома

Показатели	«Киря»		«Ергенинский»		«Флора»
	Сеголетки	Двухлетки	Сеголетки	Двухлетки	Двухлетки
Масса тела, г	78±7	590±37	322±206	1356±109	1059±8
АЛТ, ед/л	47,0±10,0	27,7±2,2	28,8±2,4	29,4±1,5	32,8±2,9
АСТ, ед/л	571±42	554±26	557±9	39±2	547±5
ГГТ, ед/л	2,3±0,3*	4,5±1,7	8,5±1,5*	9,50±1,8	5,84±2,5
Глюкоза, ммоль/л	2,3±0,7	3,2±0,4	2,0±0,1	4,7±0,48	3,7±0,4
КК, ед/л	3532±426	1956±636	3411±604	1886±405	1339±442
Креатинин, мкмоль/л	7,7±5,4	1,4±0,7	-	9,2±3,6	6,1±3,7
ЛДГ, ед/л	369±161	624±115	734±231	-	293±146
Лактатат, мг/дл	34,1±8,2	31,5±6,4	26,1±3,9	81,1±10,8	43,6±6,1
ЩФ, ед/л	30,3±1,3*	20,6±4,9	12,8*±4,3	15,0±1,9	20,2±6,3
Альбумин, г/дл	10,0±0,8	11,9±0,4	9,3±0,4	11,4±0,2	10,6±0,2
Амилаза, ед/л	5,2±2,3	7,2±2,6	11,8±4,6	8,2±1,7	5,8±1,9
Общий белок, г/л	21,7±1,8	28,5±0,9	21,58±1,0	24,0±0,5	24,2±0,5
Панкреатическая амилаза, ед/л	5,2±2,1	7,3±1,7	13,7±7,8	7,28±1,8	13,68±1,5
Триглицериды, мг/дл	413±107	758±79*	299±78	168±23*	336±52*
Холестерин, мг/дл	275±20	255±25	127±18	190±7	508±376

Жировой обмен у сомов происходит по-разному в разных хозяйствах. Наиболее интенсивное накопление резерва у молоди сома в «Кире», особенно у двухлеток: содержание триглицеридов у них выше по сравнению с двухлетками «Ергенинского» ($t=7,11$) и по сравнению с одновозрастной группой из «Флоры» ($t=7,45$). Отмечен высокий показатель холестерина у двухлеток из «Флоры», что также свидетельствует об интенсивном жировом обмене.

Таким образом, сом обыкновенный обладает достаточным резервом, позволяющим ему адаптироваться к условиям культивации и одомашнивания. Что делает возможным проводить его селекцию по зоотехническим и физиологическим показателям.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ипатов В.В. Динамика содержания нуклеиновых кислот в тканях балтийской трески как показатель интенсивности процессов роста // Рыбохозяйственные исследования в бассейне Балтийского моря. Рига. 1982. Вып. 17. С. 107-112.
2. Казанский Б.Н. Закономерности гаметогенеза и экологическая пластичность размножения рыб // Сб.: Экологическая пластичность половых циклов и размножение рыб. – Л.: Изд. Ленинградского Ун-та, 1975. С.3-32
3. Кирсипуу А. Белковый спектр сыворотки крови сома // Сб. гидробиол. Исслед. Тарту: Гос. Ун-т, №10, 1981. С. 138-140.
4. Пигаревский В.Е., Мазинг Ю. А. К методике применения лизосомально-катионного теста в лабораторной диагностической практике // Лабораторное дело, 1981, № 10. С. 579—582.
5. Пронина Г.И. Физиолого-иммунологическая оценка культивируемых гидробионтов: карпа, сома обыкновенного, речных раков // Диссертация доктора биол. наук. Москва, 2012. 246с.
6. Серпунин Г.Г. Гематологические показатели адаптаций рыб / Автореф. докт. биол. наук. Калининград, 2002. – 49 с.
7. Шубич М.Г. Выявление катионного белка в цитоплазме лейкоцитов с помощью бромфенолового синего // Цитология, 1974, N 10. С. 1321-1322.
8. Kokriacov V.N. Lysosomal cationic proteins in neutrophilic granulocytes during phagocytosis and inflammation. *Vopr Med Khim.* 1990. 36 (6). P. 13-16.

ADAPTATION OF THE CATFISH EUROPEAN (*Silurus glanis* L.) TO CONDITIONS OF CULTIVATION AND DOMESTICATION IN OPERATED POND FARMS

G.I.Pronina, A.O.Revyakin, A.B.Petrushin, V.A.Petrushin

Research of a catfish European, grown up in fish-breeding farms of the second and fifth zones of fish breeding is carried out. The range of physiological variability and adaptable possibilities of a catfish on hematology, biochemical and cytochemical indicators is estimated.

РЫБЫ КАК ТЕСТ-ОБЪЕКТ ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ЭКОСИСТЕМ

Решетников Ю.С., Попова О.А.

Институт проблем экологии и эволюции имени А.Н.Северцова РАН, Москва

E-mail: ysreshetnikov@gmail.com

В связи с усилением влияния хозяйственной деятельности человека на наземные и пресноводные экосистемы насущными проблемами во всем мире стали загрязнение больших территорий промышленными и сельскохозяйственными стоками, атмосферный перенос загрязнений на большие расстояния, радиоактивное загрязнение, потеря биологического разнообразия. Во многих пресноводных экосистемах наблюдаются сукцессионные изменения в структуре рыбного населения. Особую тревогу вызывает состояние водоемов в промышленных зонах, где кумулятивный эффект всех видов загрязнений наиболее велик. Здесь наблюдаются большие сукцессионные изменения водных экосистем вплоть до полного уничтожения многих живых существ.

Проблемы оценки состояния и устойчивости экосистем могут решаться на разных уровнях. Мы исходили из того, что само состояние гидробионтов может служить обобщенным показателем степени экологического благополучия водоема (Попова и др., 1997; Решетников и др., 1999; Reshetnikov et al., 2002 и др.). Рыбы, как последнее звено в трофической цепи