

УДК 639.312

Характеристика крови и гистология половых желёз заводского и дикого гольца озёрного

В.С. Анохина, А.Н. Квасоварова, К.С. Щербак

Биологический факультет МГТУ, кафедра биологии

Аннотация. Исследована морфологическая картина крови, анатомическое и цитологическое состояние гонад у разновозрастной заводской молоди гольца озёрного *Salvelinus alpinus lepechini* (G.) от производителей оз. Топозеро и дикого гольца оз. Гремяха. Обсуждены причины различия физиологических параметров заводских и диких рыб. Выявлены признаки резорбции ооцитов у заводских самок. Установлено, что протогиния является закономерным природным явлением в локальных популяциях пресноводного гольца.

Abstract. The morphological picture of blood, anatomic, cytologic and sexual condition at uneven-age fish-breeding and wild *Salvelinus alpinus lepechini* (G.) from the lakes Topozero and Gremyakh have been investigated. Reasons for differences in physiological parameters of plant and wild fish have been discussed. Some signs of oocytes' resorption in plant breeding females have been revealed. It has been established that protogyny is a natural phenomenon in natural local populations of *Salvelinus alpinus lepechini* (G.).

Ключевые слова: голец озёрный, заводское выращивание, гематология, половые клетки, гистология
Key words: *Salvelinus alpinus lepechini* (G.), fish-breeding, hematology, sexual cells, histology

1. Введение

Необходимым условием успешного ведения интенсивного рыбоводства и воспроизводства ценных видов рыб является тщательный контроль физиологического состояния объектов выращивания по характеристике текущих обменных процессов, показателям крови, характеру воспроизводственной функции, связанной с процессами размножения. Кровь, как наиболее лабильная ткань, быстро реагирует на действие различных факторов, поэтому её характеристики имеют особое значение для ранней диагностики заболеваний, в том числе незаразных. Система крови рыб подвергается выраженным функциональным расстройствам и патологическим изменениям при действии неблагоприятных факторов внешней среды, при инфекционных и алиментарных заболеваниях, поэтому изменения в крови могут служить надежным показателем степени воздействия повреждающих факторов и физиологического статуса рыб. В открытой научной литературе сведений о характеристике крови, сроках и характере созревания гольца озёрного в условиях рыбоводных заводов не имеется, однако исследования данного вопроса приобретают всё большую актуальность в связи с потребностью рыбной отрасли в мониторинге здоровья заводских рыб и формировании искусственных маточных стад.

Основная цель настоящего исследования – провести тестирование физиологического состояния заводских особей гольца озёрного по морфологической картине крови на фоне алиментарных заболеваний; определить возможность использования гематологических показателей для репрезентативной оценки состояния здоровья рыб в зависимости от условий выращивания; исследовать особенности генеративных процессов заводских и диких рыб на микроскопическом уровне.

2. Материал и методы

Объект исследования – *S. alpinus lepechini* (G.), голец озёрный топозёрской популяции генерации 2006 г. Работы выполнены на Кандалакшском экспериментальном лососевом заводе (КЭЛЗ) в период с 2009 по 2011 гг. По показателям крови диагностировали физиологическое состояние исследованных особей. Кровь исследовали по стандартной методике (*Методические указания...*, 1999). Мазки крови изготавливали и окрашивали по Романовскому – Гимза, рыб измеряли и взвешивали, определяли физиологические индексы (*Квасоварова, Анохина, 2011*). Для исследования отбирали пробы рыб трёх размерных групп (мелкая, средняя и крупная), в каждой из которых кровь больных катарактой и здоровых рыб анализировали отдельно (рис. 1).

Изучали картину красной и белой крови по морфологическим характеристикам лейкоцитов и эритроцитов (*Иванова, 1983*), определяли лейкоцитарную формулу, измеряли продольный и поперечный диаметр эритроцитов (при увеличении 100×7), отмечали патологию форменных элементов крови. Для оценки эритроцитарной картины крови просматривали под микроскопом не менее 1000 эритроцитов в каждой мазке. Для определения лейкоцитарной формулы производили подсчет 200 клеток белой крови в мазке. Оценивали состояние половых желёз. Отпрепарированные гонады фиксировали в 4%-м формалине, гистологический анализ выполняли по стандартной методике (*Аверинцев, 1947*).



Рис. 1. Катаракта правого глаза у заводского гольца озёрного

Для определения стадий зрелости рыб использовали шкалу *О.Ф. Сакун* и *Н.А. Буцкой* (1963), классификацию ооцитов осуществляли по шкале *Г.М. Персова* (1966), а также ориентировались на данные гистологических исследований других авторов (*Taranger*, 1993). Общее количество использованного в работе материала представлено в табл. 1.

Таблица 1. Количество обработанного материала

Исследуемые параметры	Исследовано, экз.
Гематологические:	
– пробы крови на гемоглобин;	88
– мазки крови;	88
– эритроциты;	84000
– лейкоциты	17600
Гистологические	51

3. Результаты

3.1. Исследование морфологической картины крови *S. alpinus lepechini* (G.)

Красная кровь. Эритроциты

Результаты цитометрических измерений даны в табл. 2.

Таблица 2. Средние размеры эритроцитов и их ядер в крови *S. alpinus lepechini* (G.), $n = 20$ экз. 2009 г.

Объект	Количество измерений	h (продольный диаметр), мкм			h_1 (поперечный диаметр), мкм			h / h_1
		среднее	σ	CV, %	среднее	σ	CV, %	
Клетка (эритроцит)	300	18,4	2,1	11,6	9,8	1,2	12,5	1,9
Ядро эритроцита	300	8,2	1,2	14,9	3,8	0,6	16,2	2,2

Продольный диаметр эритроцитов составлял от 14,4 до 21,6 мкм, поперечный – от 7,2 до 12,6 мкм, при варибельности признака 11,6-12,5 %. Варибельность размеров ядер была несколько выше: 14,9 % для продольного диаметра и 16,2 % – для поперечного. Предельные значения размеров ядра находились в диапазоне от 5,4 до 9,8 мкм и от 3,6 до 5,4 мкм соответственно.

Зрелые эритроциты составляли самую многочисленную группу элементов красной крови и в июне, и в августе (табл. 3). Содержание в крови незрелых эритроцитов (в мазках они представлены в основном базофильными нормобластами) уменьшилось с 8,6 % в июне до 0,7 % в августе.

По соотношению молодых и зрелых форм эритроцитов оценивали активность эритропоэза. Отмечено, что у больных рыб в июне после зимовки процент зрелых эритроцитов несколько ниже, чем у здоровых. В августе данный показатель увеличивается, но разница между количеством зрелых эритроцитов в крови больных и здоровых особей сохраняется. В крови здоровых и больных катарактой рыб наибольшее количество незрелых форм отмечено в июне. К концу августа содержание зрелых элементов красной крови повышается до 95-97 % и практически достигает нормы и у больных, и у здоровых рыб.

Во всех просмотренных мазках крови отмечали нарушения структуры эритроцитов: пойкилоцитоз, наличие фестончатых контуров эритроцитов, анизоцитоз (рис. 2). Количество эритроцитов с патологией уменьшилось с 3,5 % в июне до 2,3 % в августе.

Таблица 3. Сравнительная характеристика форменных элементов красной крови *S. alpinus lepechini* (G.) генерации 2006 г.

Период исследования	Размерная группа	Процентный состав форменных элементов красной крови гольца озёрного (среднее $\pm \sigma$)		
		зрелые	незрелые	патология
Июнь 2009 г.	мелкая	88,6 \pm 1,0	8,8 \pm 0,9	2,6 \pm 0,5
	средняя	86,5 \pm 1,4	9,3 \pm 0,8	4,2 \pm 0,7
	крупная	88,6 \pm 1,9	7,8 \pm 1,0	3,7 \pm 0,9
Среднее в июне (n = 15)		87,9 \pm 1,7	8,6 \pm 1,0	3,5 \pm 1,0
Август 2009 г.	мелкая	96,4 \pm 0,4	0,8 \pm 0,2	2,8 \pm 0,3
	средняя	97,3 \pm 0,7	0,6 \pm 0,3	2,1 \pm 0,8
	крупная	97,1 \pm 1,3	0,8 \pm 0,4	2,1 \pm 1,2
Среднее в августе (n = 19)		97,0 \pm 1,0	0,7 \pm 0,3	2,3 \pm 0,9

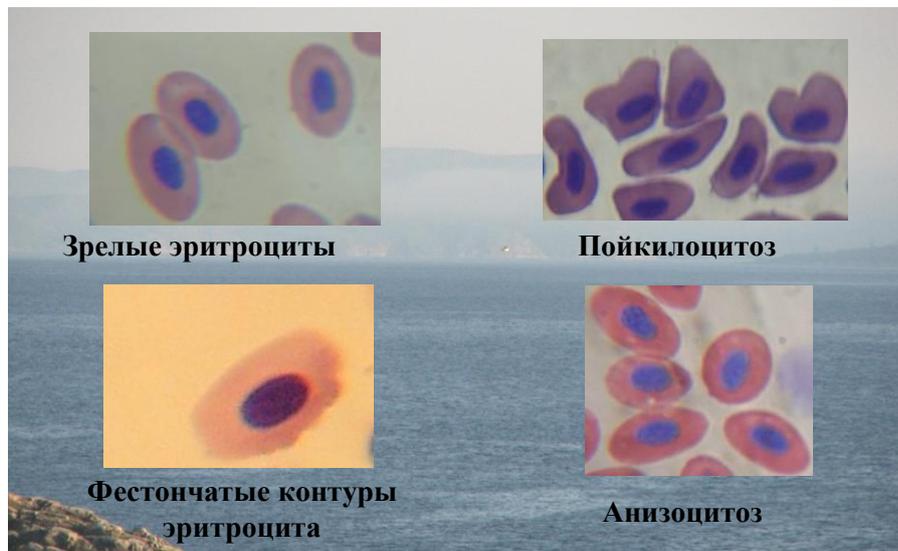


Рис. 2. Виды эритроцитов гольца озёрного *S. alpinus lepechini* (G.)

В кровяном русле больных рыб выявлялось повышенное количество незрелых эритроцитов. Высокое процентное содержание эритроцитов с явными нарушениями морфологического строения наблюдали в июне, после длительной зимовки, и у здоровых (3,3 %) и у больных катарактой рыб (3,7 %). Патологические формы эритроцитов обнаружены в крови всех исследованных размерных групп заводских гольцов. Процент таких эритроцитов от июня к августу закономерно снижался независимо от наличия или отсутствия катаракты у рыб.

Красная кровь. Гемоглобин

Содержание гемоглобина в крови гольца озёрного летом 2009 г. представлено в табл. 4.

Концентрация гемоглобина в крови гольца озёрного была чрезвычайно низкой в июне после зимовки и оставалась ниже известных нормативных значений для лососевых рыб на протяжении всего летнего периода. Тем не менее, значение показателя гемоглобина к концу летнего выращивания повысилось практически в два раза в группе отстававших в росте мелких рыб (с 3,3 до 6,3 г%), а также заметно увеличилось у крупных особей (до 6,8 г%). Исследованиями не установлено достоверных отличий по содержанию гемоглобина между здоровыми и больными катарактой особями гольца.

Таблица 4. Содержание гемоглобина в крови *S. alpinus lepechini* (G.) (2009 г.), г%

Месяц	Размерные группы рыб (среднее $\pm \sigma$)			В общей выборке
	мелкая	средняя	крупная	
Июнь	3,3 \pm 0,8	5,2 \pm 1,1	4,8 \pm 0,7	4,7 \pm 1,1
Август	6,3 \pm 1,3	6,5 \pm 0,9	6,8 \pm 1,2	6,5 \pm 1,1

Белая кровь. Лейкоциты

Данные морфологической структуры клеток белой крови рыб представлены в табл. 5.

Таблица 5. Сравнительная характеристика форменных элементов белой крови *S. alpinus lepechini* (G.) генерации 2006 г.

Сроки	Размерная группа	Процентный состав форменных элементов белой крови гольца озёрного (среднее $\pm \sigma$)		
		лимфоциты	нейтрофилы	моноциты
Июнь 2009 г.	мелкая	90,8 \pm 1,7	6,6 \pm 1,2	2,6 \pm 0,7
	средняя	91,6 \pm 2,3	5,3 \pm 1,6	3,1 \pm 0,8
	крупная	92,3 \pm 1,4	4,7 \pm 1,0	3,0 \pm 0,6
Среднее в июне ($n = 15$)		91,6 \pm 1,8	5,5 \pm 1,4	2,9 \pm 0,7
Август 2009 г.	мелкая	92,4 \pm 0,8	6,3 \pm 0,7	1,4 \pm 0,5
	средняя	92,0 \pm 0,8	6,0 \pm 0,6	2,0 \pm 0,5
	крупная	91,9 \pm 1,3	6,6 \pm 1,1	1,5 \pm 0,5
Среднее в августе ($n = 19$)		92,1 \pm 1,0	6,3 \pm 0,8	1,6 \pm 0,5

В составе белой крови гольца озёрного в июне и августе лимфоциты были самой многочисленной группой лейкоцитов. В лейкоцитарной формуле больных и здоровых рыб лимфоциты, составляющие от 90,5 до 95,2 % от общего числа исследованных клеток белой крови, преобладают над нейтрофилами и моноцитами, при этом содержание нейтрофилов варьирует от 3,2 до 6,4 %, моноцитов – от 1,6 до 3,2 %. Количество нейтрофилов в крови рыб увеличилось с 5,5 % в июне до 6,3 % в августе (рис. 3).

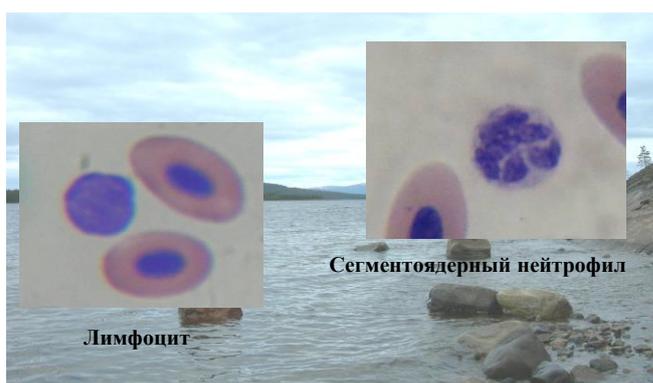


Рис. 3. Лейкоциты гольца озёрного *S. alpinus lepechini* (G.)

На протяжении жизненного цикла лейкоцитарная формула меняется под влиянием факторов внешней среды. В лейкоцитарной формуле больных и здоровых рыб лимфоциты, составляющие от 90,5 до 95,2 % от общего числа исследованных клеток белой крови, преобладают над нейтрофилами и моноцитами, при этом содержание нейтрофилов варьирует от 3,2 до 6,6 %, моноцитов – от 1,4 до 3,2 %.

Количество лимфоцитов и в июне, и в августе у здоровых рыб несколько выше, чем у больных катарактой, однако достоверных различий не выявлено, их доля за летний период меняется несущественно. Качественный состав белой крови у гольцов характеризуется относительной сезонной стабильностью, с явным преобладанием фагоцитирующих форм у больных катарактой рыб. Значимые изменения наблюдали в содержании нейтрофилов. Для рыб семейства лососевых содержание нейтрофилов составляет, как правило, от 4,7 до 5,3 %. Доля нейтрофилов в июне составляла в крови больных рыб 6,3 %, что существенно выше, чем у здоровых (4,4 %). Впоследствии содержание этих клеток у здоровых рыб заметно увеличивается, и в августе данный показатель достигает и даже превышает рекомендуемую норму.

Увеличение количества нейтрофилов сопровождается резким снижением количества моноцитов, доля которых у больных рыб сократилась за летний период в два раза и составила в августе 1,6 %, по сравнению с 3,2 % в июне. При исследовании моноцитов выявлены следующие закономерности. Количество моноцитов у здоровых рыб в августе ниже в сравнении с июнем. У больных катарактой рыб процент моноцитов выше, чем у внешне здоровых особей – как после зимовки, так и после летнего содержания.

3.2. Дифференцировка пола и половое созревание

Дифференцировка пола и состояние половых желёз заводского гольца озёрного

Соотношение полов у заводских рыб и характер развития половых желёз изучали в три этапа на основе визуального определения пола и по гистологическим препаратам. Исследовали трёхгодовиков, трёхлеток и четырёхгодовиков одной генерации, выращенных на КЭЛЗ.

Анатомически пол определялся на всех этапах исследования. Мужские и женские гонады отличались по форме и размерам (у самок они крупнее), по расположению кровеносных сосудов.

Яичники в большинстве случаев несимметричные, иногда левый или правый большего размера. Визуальное распределение рыб на самцов и самок по типичным анатомическим признакам выявило присутствие в каждой возрастной категории мужских и женских особей с гонадами разных стадий развития: незрелые, стадии I-III и VI-II. Ступени морфологической и цитологической дифференцировки половых клеток прослеживали на гистологических препаратах (табл. 6). У заводских особей в возрасте 3., 3+ и 4. установлены практически все известные стадии развития половых клеток, исключая оогонии.

Самки. В марте 2010 г. среди заводских трёхгодовалых самок выявлены экземпляры с гонадами 2-й стадии созревания и замедленным темпом роста ($L_3 = 20$ см и менее). При детальном изучении гистологических срезов было идентифицировано четыре из пяти известных. У заводских особей в возрасте 3., 3+ и 4. установлены практически все известные стадии состояний ооцитов, названных Г.М. Персовым (1966; 1968) ступенями развития ооцитов периода протоплазматического роста (ПР).

На препаратах не просматривались оогонии и ооциты ранней профазы мейоза. Младшая генерация ооцитов была представлена ооцитами 2-й и 3-й ступеней. У среднеразмерных самок весом до 80 г ооциты старшей генерации находились в фазе вакуолизации цитоплазмы (5 ступень ПР). У более крупных самок, вес которых (без внутренностей) приближался к 90-100 г ($L_3 = 22$ см и более), преобладали ооциты 4-й и 5-й ступеней протоплазматического роста. У некоторых рыб ооциты завершили вакуолизацию цитоплазмы и перешли в следующую, третью стадию созревания. Данные гистологического анализа подтвердили установленную достаточно тесную корреляционную связь между развитием одного из яичников (левого) и параметрами роста, а также упитанностью рыб (Анохина, 2012). Вместе с тем, в цитологической картине яичников наиболее крупных самок отмечены артефакты, которые одни авторы объясняют действием фиксаторов при изготовлении препаратов, другие связывают с нарушением репродуктивной функции (Подушка, 2000). В частности, у заводских особей гольца на гистологических препаратах этих самок выявлены растянутые оболочки и резорбция части ооцитов (табл. 6, III). Отдельные крупные особи в возрасте 4 года выметали яйцеклетки и имели яичники с крупными опустевшими фолликулами, т.е. в состоянии "после нереста". Новый фонд клеток в этих яичниках был представлен ооцитами 2 и 3 порядка.

Самцы. Весной 2010 г. в когорте заводских рыб преобладали самцы I-й неактивной стадии зрелости, семенники имели вид очень тонких прозрачных тяжей. Цитологическая картина характеризуется наличием сперматогоний начальных ступеней деления, сгруппированных в ампулы или цисты (табл. 6, IV). Часть половых клеток представлена сперматогониями в фазе размножения. Это состояние характерно для самцов как средних, так и крупных размерных групп. У незначительной части самцов в возрасте 3. с явно ампульным строением гонад, типичным для семенников, встречаются одиночные ооциты I-II-й ступени ПР.

Дифференцировка пола и состояние половых желёз гольца оз. Гремяха

Самки. Все самки были с крупной икрой и находились в завершающей фазе созревания. Возрастной диапазон икорных рыб составлял от 6+ до 7+, наименьшие длина и масса – 17 см и 39,84 г, а максимальные значения этих параметров – 32 см и 235 г.

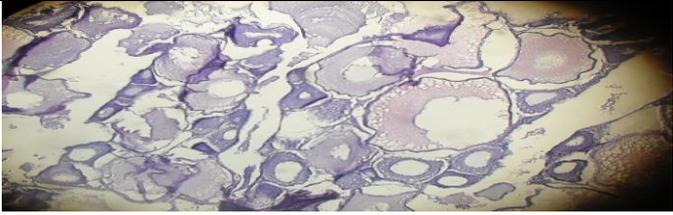
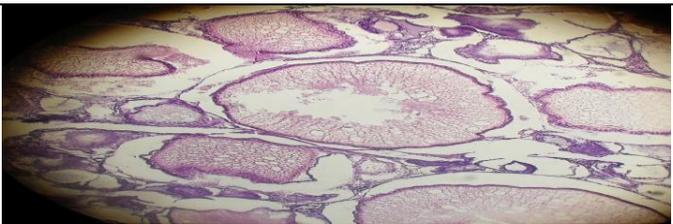
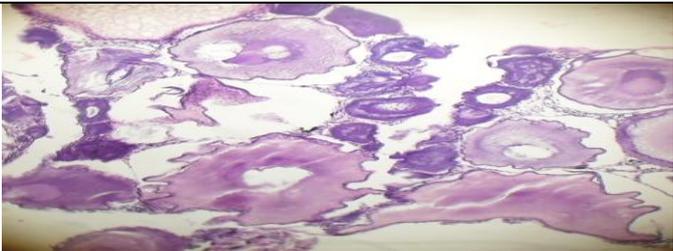
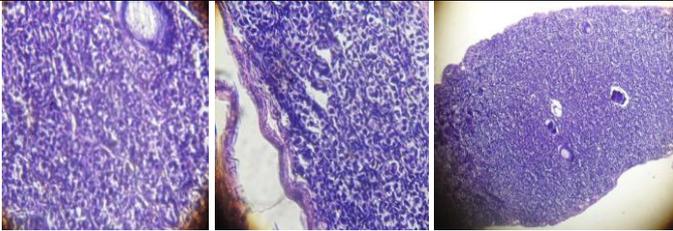
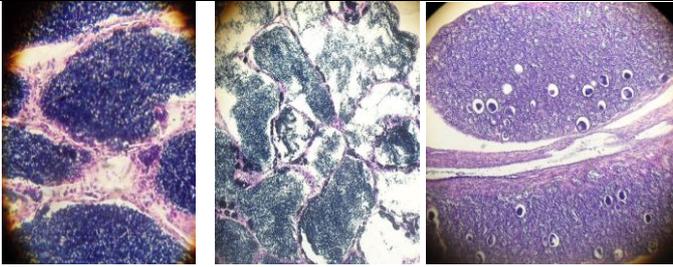
Самцы. На гистологических препаратах мужские половые железы были представлены половыми клетками разных ступеней развития. Семенники самого мелкого самца ($L_3 = 15$ см) в возрасте 3+ содержали сперматогонии со сперматоцитами 1-го и 2-го порядка.

Гонады других самцов имели вид плотных или мягких белых тяжей, заполнявших полость тела рыб, их состояние можно охарактеризовать как нерестовое и преднерестовое.

Половые клетки находились на стадии активного сперматогенеза, ампулы заполнены сперматозоидами (табл. 6, V). Длина (L_3) этих рыб варьировала от 16,5 до 24, 5 см, возраст – от 3+ до 8+.

У двух диких самцов, как и у некоторых заводских рыб, в гонадах явно мужского (ампульного) строения также отмечены одиночные ооциты в фазе протоплазматического роста, их численность была выше в утолщённой головной части половых желёз, с которой начинаются процессы дифференцировки пола.

Таблица 6. Гистологическая характеристика состояния половых желёз заводского и дикого гольца озёрного

Гистологическая картина яичников и семенников под микроскопом	Характеристика состояния половых желёз
Яичники (заводские самки гольца озёрного <i>S. alpinus lepechini</i> (G.))	
 <p style="text-align: right;">I</p>	<p>Основной фонд представлен ооцитами разных стадий цитоплазматического роста</p>
 <p style="text-align: right;">II</p>	<p>Высвобождение ооцитов из фолликулярной оболочки. Присутствуют лопнувшие фолликулы и ооциты, завершившие трофоплазматический рост. Резервный фонда представлен цитоплазматическими ооцитами</p>
 <p style="text-align: right;">III</p>	<p>Процессы резорбции невыметанных, закончивших трофоплазматический рост ооцитов, фолликулярная оболочка не нарушена. Резервный фонд представлен цитоплазматическими ооцитами начальных фаз протоплазматического роста</p>
Семенники (заводские самцы гольца озёрного <i>S. alpinus lepechini</i> (G.))	
 <p>A1. A2. B.</p> <p style="text-align: right;">IV</p>	<p>IV. Гистологическая картина семенников заводского гольца. A1-A2. Крупные сперматогонии собраны в ампулы. Б. Просматриваются цитоплазматические ооциты, что характерно при протогинии</p>
Семенники (дикие самцы гольца озёрного <i>S. alpinus lepechini</i> (G.))	
 <p>A3. B. B.</p> <p style="text-align: right;">V</p>	<p>V. Гистологическая картина семенников дикого гольца. A3. Свободные сперматозоиды в просветах сосудов. Б. В состоянии нереста. Часть ампул опустошена. В. Для ранней стадии характерна протогиния</p>

4. Обсуждение

Характеристики крови являются в практическом рыбоводстве исключительно важными для оценки состояния здоровья и жизнеспособности рыб. Многими исследователями показано, что система крови рыб подвержена выраженным функциональным расстройствам и патологическим изменениям при действии неблагоприятных факторов внешней среды, химических токсикантов, при инфекционных и

алиментарных заболеваниях. Наблюдающиеся при этом изменения в крови являются надежным показателем степени воздействия этих повреждающих факторов и физиологического статуса рыб (Глаголева, Бодрова, 1988).

Кровь, как наиболее лабильная ткань, быстро реагирует на действие различных факторов, приводит к восстановлению равновесия между организмом и средой и поэтому широко используется для ранней диагностики заболеваний, в том числе и незаразных. Информация о морфологии и реактивности крови лососевых имеется в работах Г.Г. Серпунина (2000), Л.М. Михайловой (2004), Лунден Туула (Tuula Lunden, 2001) и др. Однако в научной литературе отсутствуют данные относительно состояния крови гольца озёрного в условиях его искусственного выращивания или в нативном ареале.

Зимовка рыб, как известно, оказывает существенное влияние на характеристику красной крови, в частности на содержание гемоглобина. Гематологические исследования крови заводской молоди гольца озёрного после зимовки на заводах Мурманской области выявили гемолитическую анемию, которая сопровождала клиническое течение алиментарного заболевания – катаракты. У больных рыб отмечено не только низкое содержание гемоглобина, но и большое количество разрушенных эритроцитов. При этом в кровяном русле выявлялось повышенное количество незрелых эритроцитов.

Одной из причин увеличения в этот период количества незрелых форм эритроцитов и чрезвычайно низкого содержания гемоглобина у больных и здоровых рыб является сезонное усиление обмена веществ, связанное с подъёмом температуры воды в июне. Относительная стабилизация основных параметров среды в летний период приводит к некоторому увеличению количества красного дыхательного пигмента. Заметное повышение содержания гемоглобина в летний период наблюдали как у здоровых, так и у больных рыб. Однако на фоне неудовлетворительного качества кормов и бедного рациона угнетение жизненных функций в зимний период содержания было столь значительным, что даже в августе показатель гемоглобина по-прежнему не достигал и лишь приближался к гематологической норме (Методические указания..., 1999). Определённой закономерности между количеством дыхательного пигмента в крови и наличием или отсутствием катаракты не выявлено.

Благоприятные условия среды в летний период стимулировали метаболические процессы и, по всей вероятности, стали основной причиной усиления новообразования клеток крови. Показатели гемоглобина и интенсификация гемопоэза в этот период свидетельствуют о повышении физиологического статуса и жизнеспособности рыб. Вместе с тем, усиление эритропоэза может наблюдаться также в случае дефицита кислорода или по мере созревания гонад (Серпунин, 2000).

Низкие значения ГСИ исключают влияние генеративного фактора на заметные изменения показателей крови. Относительно концентрации кислорода в выростных емкостях с гольцом на протяжении всего исследования достоверных сведений получить не представилось возможным, потому в работе влияние данного фактора на состав крови не рассматривается. Некоторые исследователи расценивают преобладание незрелых форм эритроцитов как неблагоприятный фактор, характеризующий, прежде всего, условия выращивания рыб. В соответствии с представленными результатами необходимо признать неблагоприятными условия содержания молоди гольца озёрного на рыбодоводных заводах Мурманской области.

Относительно низкий процент зрелых эритроцитов в крови культивируемых рыб после зимовки позволяет на основе литературных данных предположить возможное развитие в зимне-весенний период псевдомоноза – инфекционной болезни, вызываемой вирулентными штаммами бактерий рода *Pseudomonas*. Обычно псевдомонозы регистрируются у рыб при зимнем содержании в бассейнах зимовальных комплексов. В летнее время псевдомонозы, как правило, не регистрируются (Мусселус, 1983), но последствия заболевания могут быть обнаружены.

Как показали исследования, предположение о наличии псевдомоноза или остаточных признаков данной болезни у вышедших из зимовки рыб не лишено оснований. Выявленный пойкилоцитоз, наличие фестончатых контуров эритроцитов, анизоцитоз, являются клиническим проявлением перенесённого заболевания. За летний период морфологическая картина крови существенно улучшилась.

Важная роль в поддержании физиологических и иммунологических функций рыб принадлежит клеткам белой крови – лейкоцитам, которые участвуют в регенерации поврежденных тканей, разрушении чужеродных тел, синтезе белка и антител, инкапсуляции паразитов и т.д. В составе белой крови гольца озёрного лимфоциты являются самой многочисленной группой лейкоцитов, что является нормой (Житенева и др., 2001). По результатам проведённых исследований не установлено достоверной статистической связи между количеством этих клеток в составе белой крови гольца озёрного и сезонными факторами или наличием катаракты.

Незначительные сезонные изменения произошли с нейтрофилами. Пониженный процент нейтрофилов в крови исследованных заводских гольцов, как и существенное повышение по сравнению с рекомендуемой нормой их количества, является одним из признаков неблагополучного иммунного статуса рыб. По этому показателю физиологическое состояние гольца озёрного может быть оценено в изучаемый период не выше удовлетворительного.

К изменению лейкоцитарной формулы и увеличению фагоцитирующих форм в составе белой крови приводят, как хорошо известно, нарушения условий содержания рыбы, гипоксия, бактериальная инфекция, наличие алиментарных заболеваний, отклонения температурного режима от оптимальных условий, качество водной среды. Лейкопоз за счёт фагоцитирующих форм, каковыми являются нейтрофилы и моноциты, стимулируется, как правило, этими и другими неблагоприятными факторами.

Моноциты – активные фагоциты крови – увеличивают защитные силы организма рыб, поглощая продукты распада клеток и тканей и концентрируются в очагах воспаления, где могут трансформироваться в макрофаги. Заметное снижение их доли в составе белой крови гольца озёрного после летнего выращивания может свидетельствовать либо об угасании воспалительных процессов, либо о трансформации моноцитов в макрофаги вследствие длительного воздействия неблагоприятных факторов среды. Вторая причина представляется более вероятной, поскольку каких-либо свидетельств о наличии воспалительных процессов у здоровых рыб исследованиями не установлено, в то время как динамика содержания моноцитов у здоровых гольцов носила сходный характер с таковой у больных катарактой рыб. Кроме того, чрезвычайно низкое содержание незрелых эритроцитов в августе, свидетельствующее о снижении продолжительности жизни эритроцитов и угнетении эритропоэза, сопровождающегося анемией, являются дополнительным подтверждением возможной гиперактивации фагоцитов.

Все изменения, отмеченные в крови гольца озёрного, типичны для болезней, возникновение и развитие которых объясняется использованием недоброкачественных кормов (Глаголева, 1977; Глаголева, Бодрова, 1988; Житенева и др., 1989). Таким образом, выявленная неоднозначность защитной реакции организма на комплекс биотических и абиотических факторов (активация у больных и угнетение у здоровых рыб) не позволяет дать объективную оценку реализации этой функции. Очевидно, что без комплекса бактериологических, гистологических и других общепринятых методов ихтиопатологических исследований трудно установить причину даже самой элементарной анемии, не говоря уже о патологических изменениях в морфологии клеток крови.

Исследования подтвердили, что алиментарные заболевания влияют на количественные и качественные показатели крови гольца озёрного, изменяя морфологическую картину крови в целом, её отдельные параметры и их динамику. Вместе с тем, абсолютные значения отдельных гематологических показателей крови не дают репрезентативной оценки состояния здоровья рыб в целом и должны рассматриваться в комплексе с морфофизиологическими характеристиками рыб.

Цитометрические данные красных кровяных телец и их ядер у заводского гольца свидетельствуют, что размеры эритроцитов и их ядер не зависят от размеров рыб и их физиологического состояния. Данные по вариабельности этих признаков на разных этапах культивирования рыб – и больных, и здоровых особей – характеризуют цитометрические показатели как достаточно стабильные. Размеры эритроцитов являются менее изменчивым параметром, чем размеры их ядер.

Учитывая, что за гематологическую норму принимают характеристики рыб, выращенных в условиях, соответствующих их биологическим потребностям, необходимо констатировать, что цитометрические и морфологические показатели крови гольца озёрного, представленные в данной работе, не могут рассматриваться как нормативные. Однако они могут быть рекомендованы в качестве стартовых параметров для сравнительной оценки физиологического состояния рыб на определённых этапах их культивирования, при разработке стандартов качества заводской молоди (Анохина, Квасоварова, 2010; Квасоварова, Анохина, 2011). Для цельной и репрезентативной характеристики физиологического состояния рыб следует рассматривать комплекс гематологических показателей в их совокупности и с учётом условий содержания рыб.

Конечной целью биологической науки всегда является управление численностью животных и растений – подавление одних, сохранение и прогрессивное увеличение численности других видов. В обоих случаях решающим звеном выступает регулирование воспроизводства, что, в свою очередь, требует отличного знания развития половой системы. Проблема пола, по существу, распадается на три самостоятельные проблемы: определение пола, дифференцировка пола, соотношение полов (Персов, 1966; 1968; 1975). В первой проблеме основным является вопрос о том, когда происходит определение пола, т.е. происходит ли оно еще до оплодотворения (прогамно), в момент оплодотворения (сингамно) или после оплодотворения (эпигамно). Вторая проблема включает ряд вопросов: как протекает процесс дифференцировки пола, когда он начинается, по каким анатомическим признакам можно было бы задолго до появления ооцитов и сперматоцитов судить о направлении дифференцировки пола. Третья проблема связана с решением вопроса о соотношении полов на разных этапах существования популяции. Соответственно этим задачам первая проблема является преимущественно генетической, вторая – эмбриологической, третья – экологической. Возраст наступления половой зрелости рыб, плодовитость, сроки и условия нереста являются важнейшими популяционными характеристиками, динамика которых определяется темпом роста особей, сложившимися внутривидовыми и межвидовыми отношениями, условиями обитания рыб в водоемах различных географических широт (Кошелев, 1971; 1984). Как известно, у большинства видов рыб сроки наступления половой зрелости обычно связаны с

достижением определённых размеров – длины и массы, а не возраста, т.е. физиологический возраст не всегда отражает хронологический. Наиболее сложный характер носит связь степени развития половых желёз с размерами рыб. Большинство авторов пришли к выводу, что эта зависимость может носить как прямой, так и обратный характер. Немигрирующие популяции гольца в природе могут достигать зрелости при длине 10 см в возрасте 2-х лет, однако есть популяции, созревающие в 7-17 лет.

Голец-паля Кольского полуострова обычно становится половозрелым на четвёртом году жизни (3+), при длине тела около 30 см. Сроки нереста растянуты с августа по ноябрь. Тугорослые формы достигают половой зрелости, как правило, на пятом году. Голец оз. Гремяха был выловлен в октябре, в сезон его нереста. Анализ размерно-возрастного состава диких рыб с текучими половыми продуктами показывает, что тугорослые гольцы оз. Гремяха созревают в возрасте от 3+ до 8+, при длине от 16,5 до 24, 5 см. У гольца, как ни у одной другой лососевой рыбы, широко варьируют сроки нереста. Голец может нереститься и осенью, и весной, иногда даже летом и зимой. Голец оз. Топозеро в природе нерестится не ежегодно, довольно часто встречаются самки, у которых в полости тела обнаружена крупная остаточная, не выметанная в прошлом году икра с наличием в другой части ястыка недоразвитых икринок, которые не успевающих дозреть ко времени нереста. Это объясняет представленное в настоящей работе многообразие гистологической картины состояния яичников и семенников у разновозрастных заводских рыб одной генерации. В совокупности полученные данные позволяют утверждать, что значительная доля заводских рыб генерации 2006 г. с высоким темпом роста созрела и, возможно, отнерестилась в возрасте 3+. Часть рыб этой же генерации находилась в стадии завершения созревания в возрасте 4 года. В целом разновременимость созревания гонад обуславливает растянутость нерестового сезона.

Все исследователи описывают единый план развития половых клеток у рыб. Различия проявляются в продолжительности разных периодов развития, последовательности проявления образований в ядре и цитоплазме ооцита, в строении и толщине оболочек. У рыб наблюдается большое разнообразие путей и способов осуществления анатомической и цитологической дифференцировок гонад в направлении яичников и семенников. Материалы настоящего исследования впервые характеризуют анатомическое и цитологическое состояние гонад у разновозрастного дикого и заводского гольца озёрного двух локальных групп – из оз. Гремяха и потомства производителей оз. Топозеро.

Неоднородность в состоянии половых желёз гольца озёрного разного происхождения, индивидуальные различия обнаруживаются по морфологической и цитологической картине яичников и семенников. Ступени дифференцировки половых клеток хорошо прослеживаются на гистологических препаратах.

В целом характер роста и созревания гонад заводского гольца типичен для семейства лососевых, но имеет отличительные черты, свойственные рыбам в период адаптации к изменившимся условиям обитания. Гистологическая картина состояния яичников некоторых заводских рыб в возрасте 3+ и 4 года даёт основание предполагать, что у части самок ооциты завершили трофоплазматический рост, перешли в стадию завершения созревания, однако этот процесс завершился не овуляцией, а резорбцией крупных ооцитов – нарушение процесса воспроизводства, вероятнее всего, вызвано несоответствием условий среды, что вполне согласуется с данными о неудовлетворительных условиях содержания рыб на предприятиях.

На начальных этапах дифференцировки мужских половых клеток генеративная ткань семенников заводских и диких рыб была представлена крупными одиночными сперматогониями. В дальнейшем развитии отмечена высокая интенсивность процесса размножения сперматогоний, представленных более поздними генерациями меньшего размера. Конец активного сперматогенеза, который наблюдали у самцов гольца оз. Гремяха, сопровождался появлением на гистологических срезах скоплений сперматозоидов, равномерно лежащих в просветах канальцев.

Гистологические исследования не выявили нарушений в морфологической картине семенников заводских и диких рыб, но и у самцов гольца озёрного с рыбоводных заводов Мурманской области, и у гольцов оз. Гремяха установлено явление протогинии. Подобные картины найдены у вьюнов в возрасте 199-260 дней, у горбуши и других рыб (Персов, 1975). У горбуши, например, возникновение этого явления (протогинии) рассматривается на видовом уровне в качестве способа реализации ведущей тенденции в современной эволюции дальневосточных лососей – перехода к жизни в море, на популяционном – как способа авторегуляции половой структуры.

5. Заключение

Исследование морфофизиологического статуса рыб имеет большое значение для создания новых технологических приемов выращивания и оценки состояния здоровья рыбы.

Оценка эритроцитарной картины крови заводского гольца свидетельствует о перенесённом в зимний период инфекционным заболеванием псевдомонозом и наличии остаточных признаков данной болезни. Пониженный процент нейтрофилов в крови рыб характеризует физиологическое состояние культивируемого гольца не выше, чем удовлетворительное. Исследованиями не установлено

достоверной статистической связи между количеством лейкоцитов и сезонными факторами или наличием катаракты у гольца озёрного. Для репрезентативной оценки состояния здоровья рыб на лососевых рыболовных заводах необходим ихтиопатологический мониторинг с применением комплекса бактериологических, гистологических и других методов исследований на всех стадиях выращивания рыб.

В ходе комплексного исследования крови и генеративных процессов заводских рыб и гольца оз. Гремяха установлено, что биотехнологический режим выращивания, характерный для региональных предприятий вследствие специфики их технических возможностей, приводит к заболеванию и снижению показателей жизнеспособности заводских рыб. Об ослаблении жизненных функций свидетельствуют пониженные значения всех рассмотренных физиологически значимых параметров и выявленные признаки резорбции ооцитов у старшевозрастных самок.

Явление протогинии характерно и для заводских, и для диких особей гольца озёрного. Таким образом, протогиния является закономерным природным явлением в локальных популяциях гольца озёрного и, как отмечалось для других видов рыб, свидетельствует о текущих процессах авторегуляции половой структуры.

Литература

- Taranger G.L.** Sexual maturation in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., aspects of environmental and hormonal control. *Bergen, Norway*, 31 p., 1993.
- Tuula Lunden.** Effects of antimicrobial drugs on the immune defence of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Thesis ... Dr (Natur. Sci.), Abo Akad. Univ., Abo*, 8 p., 2001.
- Аверинцев С.В.** Малый практикум беспозвоночных (простейшие и бесхордовые многоклеточные). *М., Советская наука*, 304 с., 1947.
- Анохина В.С.** Рыбоводно-биологическая оценка заводского выращивания гольца озёрного на предприятиях Мурманской области. *Вестник МГТУ*, т.15, № 3, с.493-504, 2012.
- Анохина В.С., Квасоварова А.Н.** Картина крови гольца озёрного с Князегубского рыболовного завода Мурманской области. *Мат. конф. "Наука и образование", Мурманск, МГТУ*, с.905-906, 2010.
- Глаголева Т.П., Бодрова Т.И.** Диагностическое значение гематологического анализа у лососевых видов рыб. Корма и методы кормления марикультуры. *М., Наука*, 230 с., 1988.
- Глаголева Т.П.** Гематологический анализ молоди балтийского лосося при искусственном выращивании. *Рига, Звайгзне*, 93 с., 1977.
- Житенева Л.Д., Макаров Э.В., Рудницкая О.А.** Эволюция крови. *Ростов н/Д., Деловой мир*, 114 с., 2001.
- Иванова Н.Т.** Атлас клеток крови рыб (сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб). *М., Лег. и пищ. пром-сть*, 184 с., 1983.
- Квасоварова А.Н., Анохина В.С.** Морфологическое тестирование гольца озёрного с рыболовных заводов Мурманской области. *Успехи современного естествознания*, № 8, с.41-42, 2011.
- Кошелёв Б.В.** Некоторые закономерности роста и времени наступления первого икротетания у рыб. *Закономерности роста и созревания рыб. М., Наука*, с.186-218, 1971.
- Кошелёв Б.В.** Экология размножения рыб. *М., Наука*, 310 с., 1984.
- Методические указания по проведению гематологического обследования рыб. № 13-4-2/1487. *М., Минсельхозпрод России*, 20 с., 1999.
- Михайлова Л.М.** Основные результаты исследования состояния клеток крови *Salmo trutta* Linnaeus на фоне токсических воздействий. *Юж.-рос. вестн. геол., геогр. и глобал. энергии*, № 1, с.90-92, 2004.
- Мусселиус В.А.** Лабораторный практикум по болезням рыб. *М., Лег. и пищ. пром-сть*, 296 с., 1983.
- Персов Г.М.** Дифференцировка пола у рыб. *Л., Изд-во Ленингр. ун-та*, 148 с., 1975.
- Персов Г.М.** Изменения темпа развития гонад у тихоокеанских лососей в ходе их эволюции. *Темп индивидуального развития животных и его изменения в ходе эволюции. М., Наука*, с.66-82, 1968.
- Персов Г.М.** Ранний период гаметогенеза у проходных лососей. *Тр. ММБИ, М.-Л., Наука*, с.7-44, 1966.
- Подушка С.Б.** Критический обзор публикаций о нарушениях репродуктивной системы у осетровых. *СПб., Научно-техн. бюллетень лаборатории ихтиологии ИНЭНКО*, вып. 3, с.9-30, 2000.
- Сакун О.Ф., Буцкая Н.А.** Определение стадий зрелости и изучение половых циклов рыб. *Мурманск, Рыбное хозяйство*, 46 с., 1963.
- Серпунин Г.Г.** Морфологическая характеристика крови молоди атлантического лосося *Salmo salar* Linnaeus, выращиваемой в садках. *Тез. докл. междунар. конф. "Атлантический лосось: биология, охрана и воспроизводство"*, 4-8 сентября, 2000 г., Петрозаводск, с.49-50, 98, 2000.