

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
Научный Совет по проблемам гидробиологии и ихтиологии РАН
Институт биологии внутренних вод
РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК
Отделения ветеринарной медицины и зоотехнии
ГНУ ВНИИ ирригационного рыбоводства
МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РФ
ФГУ Межведомственная ихтиологическая комиссия
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ
Московский государственный университет технологий и управления

ПРОБЛЕМЫ ИММУНОЛОГИИ, ПАТОЛОГИИ И ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ РЫБ И ДРУГИХ ГИДРОБИОНТОВ – 2

*Расширенные материалы
Международной научно-практической конференции*



БОРОК – МОСКВА

2007

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
Научный Совет по проблемам гидробиологии и ихтиологии РАН
Институт биологии внутренних вод
РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК
Отделения ветеринарной медицины и зоотехнии
ГНУ ВНИИ ирригационного рыбоводства
МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РФ
ФГУ Межведомственная ихтиологическая комиссия
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ
Московский государственный университет технологий и управления

ПРОБЛЕМЫ ИММУНОЛОГИИ, ПАТОЛОГИИ И ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ РЫБ И ДРУГИХ ГИДРОБИОНТОВ – 2

*Расширенные материалы
Международной научно-практической конференции*

БОРОК – МОСКВА
2007

УДК [597.08:612.017] (063)

Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов – 2.
//Расширенные материалы Международной научно-практической конференции, Борок, 17-20 июля 2007 года. М.: Россельхозакадемия 2007 – 564 с. Под редакцией д.б.н., проф. В.Р. Микрякова, д.б.н. проф. А.М. Наумовой, д.б.н., проф. А.Л. Никифорова-Никишина, к.б.н. Е.А. Заботкиной, к.б.н. Д.В. Микрякова. Печатается по решению Оргкомитета Международной научно-практической конференции

Рассматриваются вопросы эволюционной, экологической, инфекционной, инвазивной патологии и иммунологии. Дается характеристика последствий антропогенного загрязнения водных экосистем, транспортного, токсического стрессов, условий содержания гидробионтов в аквакультуре на иммунологических, биохимических, генетических механизмы адаптации, темпы роста, развития, выживаемости, характер проявления патологических, эпизоотических процессов. Предлагаются новые подходы управления состоянием здоровья гидробионтов и иммунитетом рыб, основанные на использовании специфических и неспецифических иммуномодуляторов, гормональных препаратов и создании благоприятных для их роста и развития экологических условий. Приводятся данные о возможности использования морфопатологических, биохимических, иммунологических, паразитологических показателей для оценки состояния гидробионтов, обитающих в морских и пресноводных экосистемах и в условиях аквакультуры.

Тематика представленных сообщений будет интересна специалистам академических, рыбохозяйственных и ветеринарных НИИ, а также преподавателям ВУЗов: биологам, ихтиопатоологам и ветеринарным врачам, иммунологам, паразитологам, экологам, токсикологам, рыбаводам, практическим работникам по разведению и борьбе с болезнями гидробионтов, специалистам, занимающимся вопросами охраны природы.

Ответственные за выпуск: академик РАН Д.С. Павлов;
академик РАСХН А.М. Смирнов;
д.б.н., проф. В.Р. Микряков;
д.б.н., проф. С.И. Никоноров;
д.б.н. проф. А.М. Наумова;
д.б.н., проф. А.Л. Никифоров-Никишин;
д.б.н. проф. Ю.С. Решетников;

За достоверность представленных к публикации материалов ответственность несут авторы.

ISBN 978-5-85941-135-1

©Институт биологии внутренних вод РАН, 2007

©Межведомственная ихтиологическая комиссия, 2007

©Московский государственный университет технологии и управления, 2007

© Россельхозакадемия

Problems of immunology, pathology, health protection fishes and other aquatic animals – 2. Enlarged materials of International scientific and applied research conference, Borok, 17-20 July 2007. M.: RASHN, 2007-564 p. Under the editorship of Doctor of Biological Sciences, Prof. V. R. Mikryakov, Doctor of Biological Sciences, Prof. A. M. Naumova, Doctor of Biological Sciences, Prof. A. L. Nikiforov-Nikishin, Candidate of Biological Sciences E. A. Zabolkina, Candidate of Biological Sciences D. V. Mikryakov.

Questions of evolutionary, ecological, infectious, invasion pathology and immunology are considered. Characteristic is given of the effects of anthropogenic pollution of aquatic ecosystems, of transport, toxic stresses, and aquaculture conditions on immunological, biochemical, genetic mechanisms of adaptation, growth rates, development, survival, pathological and epizootic processes. New approaches for the control of hydrobiont health and fish immunity based on specific and non-specific immunomodulators, hormonal preparations and ecological conditions favorable for growth and development are suggested. Data on the use of morphopathological, biochemical, immunological and parasitological indices for assessment of aquatic organisms inhabiting marine and freshwater ecosystems as well as in aquaculture are presented.

The themes of presented works are diverse and will be of interest to biologists, ichthyopathologists, immunologists, parasitologists, ecologists, toxicologists, pisciculturists, aquatic organism breeders, specialists in the field of environmental protection and health control and lecturers at institutes of higher education.

Editorial Board: Academician RAN D.S. Pavlov
Academician RAAS A. M. Smirnov
Doctor of Biological Sciences, Prof. V. R. Mikryakov;
Doctor of Biological Sciences, Prof. S. I. Nikonorov;
Doctor of Biological Sciences, Prof. A.M. Naumova;
Doctor of Biological Sciences, Prof. A. L. Nikiforov-Nikishin;
Doctor of Biological Sciences, Prof. Yu.S. Reshetnikov;

Authors of the corresponding materials are responsible for reliability of the data presented in these collected articles.

©Institute for Biology of Inland Waters RAS, 2007

©Interdepartmental Ichthyological Commission, 2007

©Moscow State University of Technology and Management, 2007

© RAAS

ПРЕДИСЛОВИЕ

Международная научно-практическая конференция «Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов – 2» организована Решением бюро отделения общей биологии РАН совместно с отделениями ветеринарной медицины и зоотехнии РАСХН, Федеральным агентством по рыболовству МСХ РФ (ФГУ «Межведомственная ихтиологическая комиссия»), Министерством образования и науки (Московский государственный университет технологии и управления) на базе лаборатории иммунологии Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН.

На конференции представлен широкий круг актуальных проблем иммунологии и патологии гидробионтов, направленных на охрану их здоровья, управление биологической продуктивностью, обеспечение оптимального роста, развития и определении роли иммунологических механизмов в реализации процессов адаптации к поврждающим факторам (паразитам, ксенобиотикам) в антропогенно–трансформированных естественных экосистемах и при воспроизводстве их в условиях аквакультуры.

В сборник включены 119 научных сообщений. Авторами статей являются исследователи ведущих научных центров Российской академии наук, высших учебных заведений, отраслевых рыбохозяйственных и ветеринарных институтов не только Российской Федерации, но и Беларуси, Казахстана, Украины, Исламской республики Иран, Тайваня, Вьетнама. В представленных материалах рассматриваются эволюционные, экологические, генетические, физиолого-биохимические, инфекционные, инвазионные, токсикологические и алиментарные аспекты патологии и иммунологии; вопросы оценки качества среды обитания, основанные на данных анализа морфопатологических, иммунологических, биохимических, физиологических, микробиологических, паразитологических показателей гидробионтов, обитающих в антропогенно-трансформированных, техногенно-загрязненных пресноводных и морских естественных экосистемах и в условиях их искусственного воспроизводства; вопросы управления охраной здоровья водных животных путем воздействия на структурно-функциональное состояние иммунной системы специфическими и неспецифическими иммуностимуляторами, использования лекарственных препаратов, пробиотиков, кормления их доброкачественными кормами и создания экологически безопасных условий для обеспечения оптимального роста, развития и сохранения индивидуальной целостности объектов аквакультуры на всех этапах их онтогенеза.

В соответствии с основными направлениями научной программы, вынесенными для обсуждения на конференции, сборник состоит из 5 разделов:

1. Актуальные проблемы общей и частной иммунологии и патологии;
2. Оценка состояния особи, популяций, сообществ и экосистем;
3. Морфологические, экологические, генетические и биохимические аспекты патологии в естественных и управляемых экосистемах;
4. Иммунитет рыб и других гидробионтов к паразитам;
5. Проблемы охраны здоровья объектов аквакультуры.

В заключение следует отметить, что представленные в сборнике статьи будут интересны для широкого круга специалистов, занимающихся разработкой фундаментальных и научно-практических проблем патологии, иммунологии, охраны здоровья и борьбы с болезнями рыб и других гидробионтов, вопросами их воспроизводства в естественных и выращивания в искусственных условиях.

академик РАН Д.С. Павлов;
академик РАСХН А.М. Смирнов;
д.б.н., проф. В.Р. Миняков;
д.б.н., проф. С.И. Никоноров;
д.б.н. проф. А.М. Наумова;
д.б.н., проф. А.Л. Никифоров-Никишин;
д.б.н., проф. Ю.С. Решетников.

PREFACE

The International Conference "Problems of pathology, immunology and health protection of fish and other hydrobionts - 2" is organized by the decision of the Bureau of the Department of General Biology of RAS jointly with the Department of Veterinary Medicine of RAAS, Federal Fishery Agency of Ministry of Agriculture of RF (Federal Central Board "Inter-departmental Ichthyological Commission"), Ministry of Education and Science (Moscow State University of Technology and Management). It was held at Laboratory of Immunology of the Institute for Biology of Inland Waters RAS.

The Conference was devoted to a wide range of important problems of immunology and pathology of hydrobionts associated with their health protection, control of biological productivity and maintenance of their optimal growth and development, and evaluation of immunological mechanisms in realization of processes of adaptation to disturbing factors (parasites, xenobiotics) in ecosystems subjected to anthropogenic load and their reproduction in aquaculture.

The collected articles include 119 scientific reports. Their authorship belongs not only to specialists from large scientific centers of the Russian Academy of Sciences, institutes of higher education, branch institutes and laboratories of fishery of Russian Federation but of Byelorussia, Kazakhstan, Ukraine, the Islam Republic of Iran, Taiwan, Vietnam.

The materials presented in the book view evolutionary, ecological, genetic, physiological and biochemical, infectious, invasive, toxicological and alimentary aspects of pathology, immunology, evaluation of ambient medium quality based on the results of analysis of morphopathological, immunological, biochemical, physiological, microbiological, parasitological indices of hydrobionts inhabiting transformed anthropogenically, technogenically polluted, freshwater, marine ecosystems and in artificial ecosystems; problems of health protection control of aquatic animals through the exposure of the immune system to specific and non-specific immunostimulators, the use of medical preparations, probiotics, their feeding with food of high quality and creation of ecologically safe conditions for optimal growth, development and conservation of individual integrity of aquaculture objects at all stages of their ontogenesis.

According to the main directions of the scientific program, brought up for the discussion at the conference, the book includes 5 parts.

1. Actual problems of general and particular immunology and pathology;
2. Assessment of the state of individuals, populations, communities and ecosystems;
3. Morphological, ecological, genetic and biochemical aspects of pathology in natural and controlled ecosystems;
4. Fish and other hydrobionts immunity to parasites;
5. Problems of health protection of aquaculture objects.

In conclusion it should be noted that all articles in the book would be of interest to a wide circle of specialists engaged in development of fundamental problems of pathology, immunology, health protection and control of fish and other hydrobionts diseases, reproduction under natural and artificial conditions of breeding.

Academician of RAS D.S. Pavlov;
Academician of RAAS A.M. Smirnov;
Doctor of Biology, prof. V.R. Mikryakov;
Doctor of Biology, prof. S.I. Nikonorov;
Doctor of Biology, prof. A.M. Naumova;
Doctor of Biology, prof. A.L. Nikiforov-Nikishin;
Doctor of Biology, prof. Yu.S. Reshetnikov.

ЧАСТЬ 1. АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ОБЩЕЙ И ЧАСТНОЙ ИММУНОЛОГИИ И ПАТОЛОГИИ

ХАРАКТЕР ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА ЛЕЙКОЦИТОВ ПРИ ЯЗВЕННОЙ ПАТОЛОГИИ КОЖИ КАРПА *CYPRINUS CARPIO* L.

Балабанова Л.В., Микряков Д.В., Микряков В.Р.

Институт биологии внутренних вод им. И.Д.Папанова РАН E-mail:

mvt@ibiw.yaroslavl.ru

Язвенная болезнь кожи (ЯБК) относится к числу широко распространенных заболеваний рыб (Болезни рыб: справочник 1989; Грищенко, Смирнова, 2000; Sayackkara, Srivastava, 1997) и является одной из причин, вызывающих снижение темпов роста, развития и их гибели.

Характерными признаками этой болезни являются изъязвление кожи, образование на поверхности тела разных по форме, размеру язвенных образований. Основной причиной, вызывающей ЯБК принято считать неспецифическую смешанную инфекцию, состоящую из представителей условно-патогенных бактерий из родов аэромонад, псевдомонад, ахромобактер, энтеробактер, вибрионад и др. (Болезни рыб: справочник 1989 и др.). ЯБК встречается среди разных по экологии, систематическому положению видов рыб, обитающих в естественных водоемах, условиях аквакультуры и аквариума.

Эпизоотии ЯБК в основном появляются после воздействия на рыб стресс-факторов (Болезни рыб: Справочник, 1989). Наиболее часто ЯБК рыбы болеют после нереста, транспортировки, резких перепадов температуры, ухудшения условий среды обитания, вызванных загрязнением воды разными по природе и происхождению поллютантами, при нарушении нормы посадки, кормлении недоброкачественными кормами и т.д.

Вместе с тем вопрос о характере изменения состава лейкоцитов, являющихся основными клетками иммунной системы во всем многообразии их субпопуляций, при стресс индуцированной ЯБК карпов следует считать недостаточно изученным.

Между тем патологические процессы у стрессированных рыб, проявляющиеся в виде ЯБК, свидетельствуют о нарушении функции клеточного звена иммунитета по распознаванию «своего» и «чужого», разрушению и отторжению чужеродных тел, обеспечению структурной целостности организма рыб, повышению их адаптивного потенциала к паразитам (В. Микряков, 1991; В. Микряков и др., 2001; Микряков, Микряков, 2005). Исходя из вышеизложенного, представляется весьма важным определение характера изменения состава лейкоцитов при ЯБК, от структурно-функционального состояния, которых зависит поддержание антигенно-структурного гомеостаза, сохранение индивидуальной целостности, реализация трофических, регенерационных процессов и иммунитета рыб к патогенным организмам.

Настоящее сообщение посвящено изучению сходства и различия состава лейкоцитов между пораженными и непораженными ЯБК карпами *Cyprinus carpio* L. Изучение этого вопроса позволит подойти к оценке характера влияния ЯБК на иммунный статус и разработке мероприятий по профилактике ЯБК при выращивании рыб в условиях аквакультуры.

Целью работы является определение характера реагирования клеточного звена иммунной системы на поражение рыб ЯБК, установление связи происходящих в составе лейкоцитов дестабилизационных процессов с язвенным повреждением кожи.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом для исследования послужили заболевшие после транспортировки ЯБК карпы *Cyprinus carpio* L. Рыб в возрасте 2+, 3+ средней массой 200-250 г перевозили в пластиковых ваннах объемом 1м³ в течение 10 часов из тепловодного рыбоводного хозяйства ОАО РТФ «Диана» поселка Кадуй Вологодской области до экспериментальной базы «Сунога» ИБВВ им. И.Д. Папанина РАН. После транспортировки рыб содержали в принудительно аэрируемых аквариумах при температуре воды 18-20°C. Через 1 нед 16 особей из 39 карпов заболели ЯБК.

Состав лейкоцитов определяли в мазках крови, полученной из хвостовой вены. Мазки фиксировали этиловым спиртом и окрашивали по Романовскому-Гимза.

Результаты исследований подвергали статистической обработке при помощи стандартного пакета программ (Microsoft Office 98, приложение Statistica) с последующей оценкой различий с использованием t-теста, $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Лейкоциты карпа *Cyprinus carpio* L., как видно из материалов исследования, состоят из разных по структуре и функциональному значению типов клеток: лимфоцитов, моноцитов, палочко- и сегментоядерных нейтрофилов, эозинофилов и базофилов, и клеток типа бластов (см. табл.). По составу лейкоциты больных с ЯБК не отличались от таковых здоровых особей. Лимфоциты представляют самый большой пул иммунокомпетентных клеток, на долю которых в периферической крови приходится более 70 % из состава лейкоцитов. По уровню содержания лимфоцитов рыбы отличаются от теплокровных и человека (Иванова, 1983). В составе лейкоцитов рыб на долю лимфоцитов приходится свыше 60-90% клеток (Иванова, 1983; В. Микряков, 1991), тогда как у теплокровных – менее 60% (Александровская и др., 1987). Лимфоциты у рыб, как и у всех позвоночных животных, относятся к группе наиболее быстро реагирующих клеток иммунной системы на внедрение в организм чужеродных тел, на начало воспалительного процесса. Согласно современным представлениям, лимфоцит является ключевой клеткой иммунной системы, обеспечивающей все основные реакции иммунитета (В. Микряков, 1991; Хаитов и др., 2002) по распознаванию, разрушению, отторжению чужеродных тел, синтезу антител, сохранению индивидуальной целостности и формированию адаптивного иммунитета. По характеру выполняемой функции, содержанию мембранных образраспознающих иммуноглобулиновых рецепторов, гистогенезу и продолжительности жизни лимфоциты гетерогенны и подразделяются на две субпопуляции. Условно их обозначают как Т- и В- лимфоциты (В. Микряков, 1991; Manning, Nakanishi, 1996). В состав лимфоцитов входят также естественные или натуральные киллеры, осуществляющие разрушение опухолевых и вирусинфицированных клеток. Им принадлежит важная роль в поддержании врожденного иммунитета (Хаитов и др., 2002).

В реализации функции иммунной защиты, процессов адаптации и обеспечения иммунитета к чужеродным телам важная роль принадлежит и другим типам лейкоцитов: гранулоцитам и моноцитам. Гранулоциты у карпа представляют собой смешанную популяцию, состоящую из нейтрофилов, эозинофилов и базофилов (Иванова, 1983). Палочкоядерных нейтрофилов у карпа, в отличие от гомойотермных животных содержится больше, чем сегментоядерных клеток (Александровская и др., 1987).

Основной функцией нейтрофилов является уничтожение чужеродных тел, иммунных комплексов, дефективных (поврежденных) и омертвевших клеток собственного организма путем фагоцитоза, синтез цитокинов, медиаторов иммунного ответа, дефензинов, гемолизина, хитиназы и т.д. (Manning, Nakanishi, 1996). Они выполняют также киллерную функцию по отношению к зараженным вирусами клеткам. Важная роль в осуществлении эффекторных функций нейтрофилов

принадлежит бактерицидным системам, лизосомальным ферментам, которыми они богаты, и токсическим кислородным метаболитам (O_2^- , O_2^{\cdot} , H_2O_2 , OH , NO и др.), выделяемым ими при взаимодействии с чужеродными телами и видоизмененными тканями собственного организма.

В составе гранулоцитов карпа встречаются также клетки с эозинофильной и базофильной зернистостью, на долю которых приходится около 1,5-2% от общего числа лейкоцитов. Моноцитов у карпа, как и у животных и человека, в составе крови содержится в пределах 1,5%. Иммунологические функции моноцитов, эозинофилов и базофилов у рыб изучены очень слабо.

В крови карпа выявлены молодые и незрелые клетки типа бласт, на долю которых в периферической крови в среднем приходится около 4,5% от общего числа лейкоцитов. Они, видимо, у рыб, согласно мнению Т.И. Ивановой (1983), являются родоначальными клетками гранулоцитов. О функциональном значении этих клеток в реализации иммунологических функций и патологических процессов какие-либо сведения в доступной литературе отсутствуют.

Анализ состава и доли содержания лейкоцитов в периферической крови позволил установить сходство и различие между рыбами с ЯБК и без нее. Большинство особей с язвенным повреждением поверхности тела отличались от рыб без патологии кожи колебанием относительных величин отдельных типов лейкоцитов (см. табл.).

Таблица

Уровень содержания лейкоцитов в периферической крови пораженных и непораженных язвенной болезнью карпов, %

Категория рыб	Лимфоциты	Моноциты	Палочко-ядерные нейтрофилы	Сегментоядерные нейтрофилы	Эозинофиль	Базофилы	Бластные формы
здоровые	77,2±2,01	1,3±0,13	12,6±1,34	2,7±0,52	1,2±0,20	0,2±0,07	4,6±0,62
больные	61,2±3,90*	1,4±0,21	25,5±3,41*	3,7±0,72	2,4±0,43*	0,6±0,18	4,9±0,93

Примечание: * отмечены данные достоверного отличия при $p \geq 0.05$.

В лейкограмме периферической крови рыб с ЯБК лимфоцитов в среднем выявлено на 16% меньше, а палочкоядерных нейтрофилов на 14% и эозинофилов на 1,2% больше, чем у здоровых карпов. По величине содержания моноцитов, сегментоядерных нейтрофилов, базофилов, клеток типа бласт в лейкограммах особей с патологией кожи и без нее достоверных различий не выявлено. Аналогичный характер отклонений показателей лимфоцитов и нейтрофилов в лейкоформуле крови ранее установили Сайккара и Сривастава (Sayackkara, Srivastava, 1997) у *Heteropneustes fossilis* с язвенным поражением кожи. У больных особей по сравнению с рыбами без ЯБК лимфоцитов обнаружено меньше на 20%, а нейтрофилов на 14% больше. Кроме того, у исследуемых рыб с поврежденной кожей авторы установили повышенное содержание моноцитов.

Уменьшение количества лимфоцитов с одной стороны, увеличение гранулоцитов с другой свидетельствует о том, что у больных с патологией кожи процесс дифференцировки иммунокомпетентных стволовых кроветворных клеток в сторону образования клеток лимфоидного ряда подавляется, а миелоидных – активизируется. Это происходит, по-видимому, в результате дисрегуляции синтеза цитокинов клетками лимфомиелоидной ткани, выполняющих функции регуляции процессов дифференцировки, межклеточного взаимодействия и формирования клеточного и

гуморального иммунитета (Хайтов и др., 2002). Вполне вероятно, при ЯБК повреждаются клетки ответственные за синтез цитокинов, регулирующих лимфопоз, а таковые – за гранулопоз контролирующих медиаторов нет.

Установленное различие в процентном содержании лейкоцитов в лейкограммах крови больных и здоровых рыб позволяет высказать предположение, что ЯБК является местным или локальным проявлением хронического воспалительного процесса поверхностной локализации и свободного выхода язвенных повреждений наружу.

Таким образом, проведенные исследования позволили установить характер изменения клеточного звена иммунной системы при ЯБК. Больные с язвенной патологией кожи карпы отличались от здоровых дисбалансом соотношения величины содержания отдельных типов лейкоцитов.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект №06-04-48812).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александровская О.В., Радостина Т.Н., Козлов Н.А. Цитология, гистология и эмбриология. М.: Агропромиздат. 1987. 448 с.
2. Болезни рыб: справочник. / Васильков, Г.В., Грищенко Л.И., Енгашев В.Г. и др.; Под ред. Осетрова В.С. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Агропромиздат. 1989. 288 с.
3. Грищенко Л.И., Смирнова В.В. Клинико-анатомическая картина и изменения гематологического статуса у карпов при асцитно-язвенном синдроме в тепловодных хозяйствах // Паразиты и болезни рыб: Сб. научн. трудов. М.: ВНИРО. 2000. С. 52-56.
4. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. М.: Лег. и пищ. пром-сть. 1983. 184 с.
5. Микряков В.Р. Закономерности формирования приобретенного иммунитета у рыб. Рыбинск: ИБВВ РАН. 1991. 153 с.
6. Микряков В.Р., Балабанова Л.В., Заботкина Е.А. и др. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление воды. – М.: Наука. 2001. 126 с.
7. Микряков Д.В., Микряков В.Р. Влияние гормона стресса кортизона на лейкоциты крови караса *Carassius carassius* L. // Биол. внутр. вод. 2005. № 4. С. 90-94.
8. Хайтов Р.М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология: Учебник. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина. 2002. 536 с.
9. Manning M.J., Nakanishi T. The specific immune system: cellular defenses. London. Academic Press. 1996. P. 160-206.
10. Sayackkara N., Srivastava P.P. Changes in hematological parameters in *Heteropneustes fossilis* affected with cutaneous ulceration // Proc. Nat. Acad. Sci., India. B. 1997. № 2. С. 117-119.

CHARACTER OF CHANGE OF STRUCTURE OF LEUKOCYTES AT THE ULCER PATHOLOGY OF THE SKIN OF CARP *CYPRINUS CARPIO* L.

L.V. Balabanova, V.R. Mikryakov, D.V. Mikryakov

Character of change of structure of leukocytes is studied at a ulcer pathology of a skin of carp *Cyprinus carpio* L. Similarity and distinction in a level of the contents of separate types of leukocytes of healthy and sick fishes is shown.

НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ БТШ В МЕХАНИЗМАХ АДАПТАЦИИ К ГИПЕРТЕРМИИ У ПРЭСНОВОДНЫХ АМФИПОД *Gmelinoides fasciatus* И *Eulimnogammarus cyaneus*.

Д.С. Бедулина, М.В. Протопопова, В.В. Павличенко, Ж.М. Шатилина, М.А. Тимофеев

Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия, mtim@inbox.ru
Байкальский исследовательский центр, Иркутск, Россия

У гидробионтов существует ряд специфических механизмов температурных адаптаций на разных уровнях организации: этологическом (реакция избегания), физиологическом, биохимическом и молекулярном. Универсальным клеточным механизмом ответа на стресс является синтез особых белков, названных открывшим их в 1962 году Ритгзой, белками теплового шока (БТШ) или стрессовыми белками. (Sanders, 1993; Feder et al., 1995; Hartl, 1996; Feder, Hofmann, 1999). С момента открытия было обнаружено большое количество стрессовых белков, которые в зависимости от молекулярной массы разделены на ряд семейств: БТШ70, БТШ60, БТШ90, БТШ100 и низкомолекулярные БТШ.

Низкомолекулярные или малые белки теплового шока — очень большая и гетерогенная группа, объединяющая в своем составе белки с молекулярными массами от 12 до 43 кДа. Все эти довольно разнородные белки объединены в одну группу потому, что имеют в своей структуре высоко консервативный участок, который впервые был обнаружен в α -кристаллинах хрусталика глаза и получил название «кристаллиновый домен». Низкомолекулярные (малые) белки теплового шока (нмБТШ) выполняют функции молекулярных шаперонов и предотвращают агрегацию частично денатурированных белков в клетке, они узнают и избирательно взаимодействуют с белками, находящимися в частично денатурированном состоянии (Панасенко, и др. 2003). Помимо шапероновой, известно еще несколько функций нмБТШ, так, например, эти белки имеют ряд функций в клеточном ядре, а также участвуют в механизмах защиты тРНК во время стресса (Sun, MacRae, 2005). Ряд нмБТШ, в частности БТШ 27, могут принимать участие в сигнальных путях регуляции апоптоза и в эмбриогенезе (Coccappon et al., 2003).

Байкальские организмы являются уникальным объектом для исследования механизмов стресс-адаптации. Для озера характерна высокая степень эндемизма обитающих в нем организмов. Из нескольких крупных групп эндемиков озера особый интерес представляют амфиподы (Crustacea, Amphipoda), обитающие в широком диапазоне условий среды: от зон литорали до больших глубин, а, следовательно, обладающие широким спектром адаптивных возможностей. Данная группа организмов в аспекте молекулярных и клеточных механизмов стресс-адаптации практически не изучена.

Целью представленного исследования являлось выявление участия нмБТШ семейства α -кристаллинов в механизмах стресс-адаптации к повышенной температуре у пресноводных амфипод озера Байкал.

Для исследования было выбрано два эндемичных вида амфипод *Gmelinoides fasciatus* и *Eulimnogammarus cyaneus*, обитающих в зоне литорали.

Особенностью *E. cyaneus* является то, что 90 % его популяции населяет узкую зону в полосе прибоя, распространяющуюся на расстоянии одного метра в сторону суши, где этот вид образует наибольшие скопления (Тахтеев, 2000). По экспериментальным данным вид принадлежит к группе видов с высокими терморезистентными способностями - гибель 100% особей данного вида при экспозиции при 30 °С отмечали через 2,5 часа. (Тимофеев, 2002). Особи данного вида обладают достаточно выраженным термопреферентумом и предпочитают температуру

11 - 12 °С - наибольшее количество рачков (30%) концентрировалось в этой зоне (Тимофеев, Кириченко, 2004).

G. fasciatus принадлежит к немногочисленной в Байкале группе эврибионтов и занимает в ней крайнее место по своей способности к активному освоению разнообразных водоемов (озера от эв- до олиготрофных, а так же реки) (Базикалова, 1951). *G. fasciatus* так же очень устойчив к высоким температурам. При экспонировании при 30 °С полную гибель рачков фиксировали через 6,5 часов. В то время как экспозиция при 25 °С даже после 48 часов не вызывала гибели 50% особей. При экспериментальных исследованиях особи вида проявили предпочтение температурной зоны 17 - 18°С, где концентрировалось 30% рачков (Тимофеев, 2002).

Амфипод отлавливали стандартным гидробиологическим методом с использованием сачка. Перед экспериментом рачков предварительно акклимировали к лабораторным условиям при температуре 6-8°С в течении двух суток и более. Эксперименты проводили в аэрируемых термостатируемых камерах при температуре 25°С. Образцы фиксировали в жидком азоте и подвергали дальнейшему биохимическому анализу, включающему денатурирующий электрофорез в ПААГ по стандартному методу (Laemmli, 1970) и вестерн-блоттинг с использованием антител к $\alpha A/\alpha B$ -кристаллинам (Stressgen). Количество белка в пробах определяли по методу Lowry et al. (1951) при длине волны 750 нм. Полуколичественный анализ содержания белка на мембранах проводили с помощью программы Gel Explorer.

Полученные результаты показали, что у обоих исследованных видов при воздействии гипертермии происходит индукция синтеза нмБТШ.

У *E. suaneus* отмечен конститутивный синтез α -кристаллинов с молекулярной массой 35 кДа. В ходе эксперимента наблюдалось повышение содержания этих белков через 3 и 12 часов экспозиции.

У *G.fasciatus* отмечен конститутивный синтез нмБТШ с молекулярной массой 38 кДа. Наблюдалось повышение уровня их синтеза к 3-м и 6-ти часам эксперимента и снижение к 12 часам.

Таким образом, учитывая известные функции нмБТШ, одной из которых является защита белковых молекул от денатурации в стрессовых условиях, можно предположить, что эти белки играют роль в системе адаптации к гипертермии у исследованных видов амфипод. Так же в ходе исследования определены межвидовые различия в молекулярной массе и содержании нмБТШ.

Исследование поддержано грантами РФФИ: 06-04-48099-а, 05-04-97263-р, 05-04-97239-р.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Feder M. F., Hofmann G. E. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology // *Annu.Rev.Physiol.* 1999. V. 61. P.243-82.
2. Sanders B.M. Stress proteins in aquatic organisms: an environmental perspective // *Crit. Rev. in Toxicol.* – 1993. – V.23, №1. – P.49-75.
3. Feder M.E., Parsell D.A., Lindquist S.L. The stress response and stress proteins // *Cell Biology of Trauma / ed. J.J. Lemasters, C. Oliver. Boca Raton, FL:CRC, 1995. P.177-191.*
4. Hartl F.U. Molecular chaperones in cellular protein folding//*Nature.* 1996. V.381. P.571-579.
5. Панасенко О.О., Ким М.В., Гусев Н.Б. Структура и свойства малых белков теплового шока // *Успехи биол. химии.* 2003. Т. 43. С.59-98.
6. Concannon C. G., Gorman A. M., Samali A. On the role of Hsp27 in regulating apoptosis // *Apoptosis.*- 2003. – V. 8. – P. 61–70.
7. Sun Y., MacRae T. H. Small heat shock proteins: molecular structure and chaperone function // *Cell. Mol. Life Sci.*. 2005. V. 62. P. 2460–2476

8. Тахтеев В.В. Жизненные формы амфипод озера Байкал // Проблемы систематики, экологии и токсикологии беспозвоночных. Иркутск: Изд-во ИГУ, 2000. С. 12 - 21.
9. Timofeyev M.A. On the role of adaptive abilities in the distribution of endemic amphipods from Lake Baikal // Verh. Intrenat. Verein. Limnol. 2002. V. 28. P.1613-1615.
10. Тимофеев М.А., Кириченко К.А. Экспериментальная оценка роли абиотических факторов в ограничении распространения эндемиков за пределы озера Байкал на примере амфипод // Сибирский экологический журнал. 2004. №1. С.41-50.
11. Базикалова А.Я. О росте некоторых амфипод из Байкала и Ангары // Труды Байкальской Лимнологической станции. 1951. Т. XIII. С. 206 – 216.
12. Laemmli U.K. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. 1970. V. 227, N. 5259. P.680-685

D.S. BEDULINA, M.V. PROTOPOPOVA, V.V. PAVLICHENKO, Z.M. SHATILINA, M.A. TIMOFEYEV SMALL HSP IN MECHANISMS OF ADAPTATION TO HYPERTHERMIA IN FRESHWATER AMPHIPODS *GMELINOIDES FASCIATUS* AND *EULIMNOGAMMARUS CYANEUS*

We showed induction of small HSP in Baikalian amphipods challenged with exposure to heat stress. This proteins has a conserved α -crystallin domain, and bind partially denatured proteins, thereby preventing irreversible protein aggregation during stress. sHSP also take part in embryogenesis and apoptosis pathways and has some other function in cell. Amphipods – is a big divestible group of animals, habited in Baikal. This group has a high level of endemism, and habits by different conditions. We choused for our research two species of baikalian amphipods *Gmelinoides fasciatus* and *Eulimnogammarus cyaneus*. These species are representatives of littoral zone inhabitants, and have high ability to hypertthermia. After stress exposure increasing of the sHSP level was detected. Furthermore the difference in molecular mass and content of these proteins between species was shown.

АДГЕЗИЯ БАКТЕРИЙ К ЭРИТРОЦИТАМ РЫБ

Н.И. Вовк

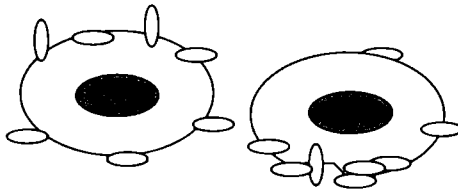
Национальный аграрный университет, Киев, Украина

e-mail: nvovk@ukr.net

Биологическое равновесие между патогеном и организмом рыб нарушается, преимущественно, в результате снижения иммунологической реактивности, что в свою очередь зависит от ряда биотических, абиотических и антропогенных факторов [1]. Наиболее чувствительны к действию возбудителя ослабленные особи [2] у которых антителогенез, фагоцитарная активность лейкоцитов и уровень гуморальных факторов резко снижается [3].

Для периферийной крови, как и для системы крови в целом, свойственны ярко выраженные трофические и защитные функции. Количественный и морфологический анализ крови – один из показательных и объективных методов контроля физиологического состояния организма. Форменные элементы крови, исполняя физиологические и иммунологические функции, участвуют в синтезе белка, процессах регенерации, опознании и разрушении чужеродных антигенов. Их количество, как и качественные характеристики, имеют важное диагностическое значение [4, 5, 6].

При гематологическом исследовании у карпа Фресинет старших возрастных групп с локальными геморрагиями в области брюшка, разрушенной межлучевой тканью плавников, признаками анемии и накоплением темного пигмента в селезенке, в мазках крови, окрашенных по Паппенгейму, было обнаружено значительное количество эритроцитов (до 45%) на поверхности которых отмечалось налипание бактерий. Их число варьировало от 1-2 до 7-12 клеток на эритроцит, а в местах наибольшего скопления бактериальных клеток четко прослеживалось нарушение его целостности, что схематически показано на рисунке. При этом склеивания эритроцитов не наблюдали.



Адгезия бактерий к эритроцитам рыб

Бактерии – мелкая овальная палочка - идентифицированы не были, поскольку микробиологические посеы не проводились.

Адгезию бактерий к эритроцитам (до 32-68%), значительный гемолиз последних мы наблюдали и у карпа при экспериментальной бактериальной инфекции, вызванной культурами *Citrobacter sp.* (шт. 988) и *A. hydrophila* (шт. 9831). Всего было исследовано 17 штаммов бактерий, выделенных от больных рыб, зоны деполимеризации ДНК у которых находились в пределах 3-6 мм.

Таким образом, выше изложенное может свидетельствовать о том, что при некоторых бактериальных инфекциях у рыб, клетками-мишенями, в первую очередь, являются эритроциты, что подтверждается резким снижением гемоглобина, анемией и значительным накоплением темного пигмента в селезенке больных рыб за счет гемолиза эритроцитов и образования гемосидерина.

Согласно данным литературы, адгезия играет важную роль в персистенции бактерий во многих экосистемах. Она необходима для запуска инфекционного процесса патогенными бактериями. Ее механизмы у патогенных, условно-патогенных, и непатогенных бактерий, их зависимость от экологических условий изучены недостаточно. Адгезины, отвечающие за прикрепление возбудителя к клеткам макроорганизма, очень разнообразны. Их уникальное строение свойственно не только видам, но и штаммам, что обуславливает высокую специфичность процесса адгезии.

Описана значительная адгезивная активность *A. hydrophila* с высоким уровнем адгезии (более 20 бактерий на клетку) на культурах ткани [7]. Установлено, что адгезивность штаммов вибрионов (*V. parahaemolyticus*) и аэромонад (*A. hydrophila*) в опыте *in vitro* зависела от многих факторов, в частности от количественного соотношения бактерий и клеток-реципиентов, времени и температуры инкубации [8].

В качестве эффективных ингибиторов процесса бактериальной адгезии возможно использование антагонистических взаимоотношений между эндогенной и патогенной микрофлорой, что приводит к снижению адгезивной активности последней [9].

В этой связи, роль природных бактерий-антагонистов, выделенных от рыб, как ингибиторов аллохтонной микрофлоры (возможно и за счет снижения адгезивных свойств последней) в системе первичной защиты организма, очевидна [10].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ведемейер Г. А., Мейер Ф.П., Смит Л. Стресс и болезни рыб. – М.: Легкая и пищ. пром-сть, 1981. – 127 с.
2. Литвинова Т.Г., Вовк Н.И., Стецюк З.О., Архангельский Е.Ю., Мельник О.М. Комулятивный токсикоз старших вікових груп коропа //Рибне господарство. – Київ, 1999. – № 52-53. – С. 140-144.
3. Вовк Н.И., Яновская Г.Н., Якимчук О.Н. Сравнительная характеристика гематологических и иммунологических показателей здоровых и больных рыб. //Материалы Междуна. симпоз. "Рыбохозяйственная наука: проблемы научно-технического сотрудничества" (сентябрь 1997 г., Киев) – Киев, 1997. – С. 39-40.
4. Ройт. Основы иммунологии. – М.: Мир, 1991. – 323 с.
5. Головина Н. А. Кровь рыб, как диагностическая система физиологического состояния организма // 1 Конгр. ихтиологов России, Астрахань, сент., 1997: Тез. докл. – Астрахань, 1997. – С. 215-216.
6. Серпунин Г.Г. Использование гематологических показателей адаптации рыб в аквакультуре //Тез докл. УІІІ сьезда Гидробиологического общества РАН, Калининград, сентябрь, 2001г. – Калининград, 2001. – Т.2. – С. 64-65.
7. Bartkova G., Ciznar J. Adherence pattern of non-pilatiol *A. hydrophila* strains to tissue cultures. // Microbiol. – 1994. – 77, № 310. – P. 47-55.
8. Levett P.N., Daniel R.R. Adhesion of vibrios and aeromonads to isolated rabbit brush borders. // S. Gen. Microbiol. – 1981. – 125, № 1. – P. 167-172.
9. Афиногенов Г.Е., Еропкина Е.Н. Бактериальная адгезия и способы ее предотвращения //Диagn., профилакт. и лечение ранев. инфекций в травмат. и ортопедии – С.-П.: Рос. НИИ травматол. и ортопедии, 1994. – С. 8-14.
10. Вовк Н.И. Біологічна активність гетеротрофної мікрофлори та слизу риб //Рибне господарство. – К: Аграрна наука, 2001. – Вип. 58. – С. 96-99.

BACTERIAS ADHESIA TO FISH ERYTHROCYTES

Vovk N.I.

Information about of bacterias adhesia to fish erythrocytes is discussed. The role of normoflora and allohton microflora in this interactions also discussed.

ГУМОРАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МОРУЛОПОДОБНЫХ КЛЕТОК ГОЛОТУРИИ *EUPENTACTA* *FRAUDATRIX*

Л.С. Долматова, Ю.И. Добряков, О.А. Заика

Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН,

Владивосток, Россия

e-mail: dolmatova@poi.dvo.ru

Клеточный состав целомической жидкости голотурий (Echinodermata, Holothuroidea) представлен несколькими типами клеток. Фагоциты, или амебоциты составляют большую часть клеток и выполняют функции иммуноцитов. Морулоподобные клетки у голотурий могут осуществлять инкапсулирование бактерий, и таким образом, также участвовать в иммунной защите организма голотурий. Иммунный ответ у иглокожих осуществляется при взаимодействии различных иммуноцитов, и, как и у позвоночных животных, может координироваться гуморальными продуктами, причем роль модуляторов клеточной активности могут играть опсонины и лектины [1]. Последние у беспозвоночных могут играть и роль опсоцинов [1]. Исследования последних лет показали, что фагоцитирующая активность у некоторых видов иглокожих, в частности, морских ежей, усиливается при действии опсоцинов [2]. В некоторых случаях были установлены и клетки-продуценты лектинов, в частности морулоподобные клетки голотурии *Apostichopus japonicus* синтезируют маннансвязывающий лектин [3].

Вместе с тем, для голотурий данные о гуморальной регуляции активности иммунного ответа практически отсутствуют, как и сведения о рецепторах клеток.

Ранее центрифугированием целомической жидкости дальневосточной голотурии *Eupentacta fraudatrix* в градиенте плотности фиколла-верографина были выделены две фракции фагоцитов (92-98%), а также фракция, обогащенная (до 44-47%) морулоподобными клетками (ФМК) [4].

Было показано также, что активность антиоксидантных ферментов во фракциях фагоцитов (Ф) и ФМК различна, что, по-видимому, отражает различную функциональную активность этих клеток [5]. Полученные фракции также отличались по уровню связывания растительных лектинов рецепторами на поверхности клеток [6].

Целью работы явилось исследование влияния продуктов, выделяемых фагоцитами голотурий *E. fraudatrix* во внеклеточную среду, на активность антиоксидантных ферментов и связывание растительных лектинов поверхностными рецепторами ФМК *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Голотурии *E. fraudatrix* (длиной 60-70 мм), собранные в заливе Петра Великого в ноябре 2004 года, содержали в аквариуме с аэрируемой морской водой 14-30 дней до начала эксперимента. Проведено две серии опытов. Фракции клеток целомической жидкости (собранной от 20 животных) получали центрифугированием в градиенте плотности фиколла-верографина, как описано ранее [6]. Жизнеспособность клеток определяли тестом исключения трипанового синего.

После разделения на фракции клеточные суспензии (2×10^6 кл/мл) инкубировали в круглодонных планшетах, по 0,5 мл в лунке, при 23 °С в течение 3-х часов. Затем из части лунок, содержащих клетки фракции Ф, отбирали клеточные суспензии, клетки осаждали, супернатант доводили средой до исходного объема инкубата. В лунки с 0,5 мл клеток ФМК вносили по 0,5 мл супернатанта Ф или буфера, в оставшиеся лунки с клетками Ф добавляли равный объем буфера. Вновь инкубировали при 23 °С, отбор проб производили в начале инкубации (0 мин), через 30 и 18 час от начала инкубации.

Для определения экспрессии поверхностных рецепторов клеток к лектинам использовали конъюгированные с FITC (флюоросцеин изотиоцианат) растительные лектины (ICN, США): конканавалин А (кон А), лектины из *Arachis hypogaea* и *Glycin Max* [6].

Часть клеточных суспензий замораживали в жидком азоте и хранили при -20°C до последующих анализов ферментативной активности.

После размораживания и разрушения клеток ультразвуком (22 кГц × 100 с (5 раз по 20 с), 0°C) в присутствии фенолметилсульфонилфторида (10⁻³ М), ядра осаждали центрифугированием. В полученных супернатантах определяли активность супероксиддисмутазы (СОД) - по подавлению восстановления НСТ в реакционной смеси с ксантином и ксантинооксидазой [7], при pH 8,3 и температуре 25°C, каталазы - по снижению поглощения перекиси водорода [8], при pH 7,3 и температуре 30°C. Указанные значения pH и температура были определены как оптимальные ранее [5]. Измерения активности ферментов проводили в трипликатах. Результаты обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

К началу эксперимента жизнеспособность клеток исследованных фракций составила 98-100%. По окончании 18-часовой инкубации клеток Ф, ФМК, а также ФМК, обработанных супернатантами фагоцитов (ФМК+СФ), жизнеспособность всех исследованных клеток снизилась до 83-85%. Таким образом, не было обнаружено различий между клетками по их жизнеспособности во все время эксперимента.

Данные по определению активности ферментов в исследуемых клетках представлены в таблице 1.

Таблица 1

Активность антиоксидантных ферментов в отдельных фракциях клеток голопурий *E. fraudatrix* в течение инкубации с буферным раствором или супернатантом фагоцитов

Фракция клеток	Активность СОД, ед./мг белка		Активность каталазы, мкмоль/мин/мг белка	
	30 мин	18 час	30 мин	18 час
Ф	26,46±3,09	16,55±0,63	13,78±0,59	25,47±1,37
ФМК	32,55±2,37	**44,54±5,39	17,25±0,85	*52,25±1,65
ФМК+СФ	25,43±0,59*	26,51±1,34*	4,85±0,55**	18,79±0,90**

*P<0,05, **P<0,01 по сравнению с Ф (для ФМК) или с ФМК (для ФМК+СФ)

После 30-минутной инкубации не было выявлено различий в активности СОД и каталазы между клетками исследуемой фракции фагоцитов и ФМК. Через 18 час инкубации активность СОД и каталазы в ФМК возрастала (в 1,4 и 3 раза, соответственно), в то время как в фагоцитах возрастала активность каталазы (в 1,8 раза), но снижалась активность СОД (в 1,6 раза) по сравнению с 30-мин интервалом инкубации.

При этом в клетках ФМК, инкубированных с супернатантами фагоцитов, через 30 мин инкубации активность СОД снижалась в 1,3 раза, а через 18 час - в 1,7 раза по сравнению с активностью фермента во фракции, необработанной супернатантом ФМК. Активность каталазы во фракции ФМК, обработанной супернатантом фагоцитов, снижалась уже через 30 мин инкубации в 3,6 раза, а через 18 час - в 2,7 раза по сравнению с активностью фермента во фракции, необработанной супернатантом ФМК.

Такое снижение активности ферментов клеток ФМК при добавлении супернатантов фагоцитов, по-видимому, не связано с возможным увеличением концентрации «балластного» белка в пробах за счет добавления супернатанта, так как разница в содержании белка в супернатантах клеток ФМК, инкубированных с физраствором или супернатантом фагоцитов, была недостоверной (данные не

приводятся). При этом изменения активности ферментов в исследуемые временные интервалы значительно превышали возможный эффект увеличения концентрации «балластных» белков. Представляется вероятным, что в супернатантах фагоцитов, предварительно проинкубированных 3 часа, находятся вещества, способные стимулировать функциональную активность морулоподобных клеток, что приводит к более быстрому истощению активности антиоксидантных ферментов в клетках ФМК, как это наблюдается в самих фагоцитах. Для последних была показана более высокая чувствительность к повреждающему действию оксидантного стресса, чем у морулоподобных клеток [4].

Ранее в опытах с обратным воздействием, при инкубации фагоцитов с супернатантами ФМК, предварительно проинкубированных в течение трех часов, была продемонстрирована стимуляция в фагоцитах антиоксидантных ферментов СОД, глутатионредуктазы и каталазы по сравнению с самими фагоцитами [9]. Анализ результатов настоящей работы и данных работы [9] свидетельствует о том, что фагоциты и морулоподобные клетки в процессе иммунного ответа могут оказывать взаимное противоположное влияние на функциональную активность друг друга на уровне гуморальных продуктов.

Среди гуморальных регуляторов иммунного ответа у позвоночных немаловажную роль играют некоторые лектины [10], а растительные лектины, в частности, кон А, используют для модуляции иммунного ответа в эксперименте. В исследовании Долматовой и др. [6], было показано, что в норме конА связывался с $17\pm 4\%$ клеток ФМК и $27\pm 5\%$ фагоцитов, а в процессе 48-часовой инкубации количество клеток, связывающих кон А, значительно возрастало. При этом воздействие такого стрессового фактора, как термостабильный токсин (ТСТ) *Yersinia pseudotuberculosis*, подавляло связывание лектинов с поверхностью клеток. Лектины из *Arachis hypogaea* и *Glycin Max* в норме не связывались с поверхностью клеток. В настоящей работе, как видно из таблицы 2, уровень экспрессии поверхностных рецепторов к кон А, как и к лектинам из *Arachis hypogaea* и *Glycin Max*, достигал высокого уровня через 3 часа инкубации клеток в обеих исследованных фракциях клеток, при этом уровни связывания лектинов клетками разных фракций значительно отличались. Через 30 мин после вторичного помещения в термостат процент связывания всех исследованных лектинов в ФМК значительно снижался (на 23%, 30% и 24% для лектинов из *Arachis hypogaea*, *Glycin Max* и кон А, соответственно). Через 18 час уровень связывания лектинов из *Arachis hypogaea* и *Glycin Max* возвращался к исходному уровню (0 мин вторичной инкубации), а процент связывания кон А оставался сниженным на 19%. В фагоцитах, напротив, через 18 час инкубации процент связывания кон А не отличался от исходного, а процент связывания лектинов из *Arachis hypogaea* и *Glycin Max* был снижен на 53% и 37%, соответственно. По-видимому, проведение манипуляций с клетками, в процессе постановки вторичной инкубации, сопряженное с изменением режимов температуры и влажности, оказывают стрессовое влияние на клетки, сопровождаемое снижением связывания поверхностных рецепторов клеток ФМК и фагоцитов к исследуемым FITC-меченым лектинам, как и в случае с ТСТ.

Вместе с тем, при инкубации с супернатантами фагоцитов, не происходило изменения экспрессии рецепторов к растительным лектинам на поверхности клеток ФМК: уровень связывания ФМК с FITC-мечеными лектинами из *Arachis hypogaea* и *Glycin Max*, а также кон А как в начале инкубации, так и через 18 час не отличался от такового в клетках ФМК, инкубированных с супернатантами фагоцитов.

Данные работы Долматовой и др. [6] указывают на то, что действие стресса на уровень связывания растительных лектинов может быть опосредовано кислородными метаболитами, а каталаза защищает клетки от снижения экспрессии поверхностных

рецепторов. Как видно из сопоставления данных таблиц 1 и 2, через 18 час инкубации в ФМК возвращение уровня связывания лектинов к исходному происходило также при увеличении активности каталазы.

Таблица 2

Связывание FITC-меченых растительных лектинов в отдельных фракциях клеток голотурий *E. fraudatrix* в течение инкубации с буферным раствором или супернатантом фракции фагоцитов

Фракция клеток	Связывание лектинов, %								
	<i>Arachis hypogaea</i>			<i>Glycin Max</i>			Кон А		
	0 мин	30 мин	18 час	0 мин	30 мин	18 час	0 мин	30 мин	18 час
Ф	80,1±9,7	-	37,5±2,6**	70,5±6,8	-	44,4±2,3**	50,9±3,8	-	50,8±6,1
ФМК	54,5±6,6	12,5±1,1**	55,2±5,6	54,5±2,7	16,7±1,4**	52,4±4,3	57,1±3,6	38,5±4,6*	46,2±7,09*
ФМК+СФ	54,2±5,3	-	57,7±5,9	-	-	47,0±2,9	57,0±5,1	-	46,9±4,2*

*P<0,05, **P<0,01 по сравнению с контролем (0 мин)

Голотурии могут синтезировать маннан-связывающие лектины [3], а также специфичные к N-ацетил-α-D-галактозамину цитотоксичные лектины [11]. Было показано, что в норме фагоциты и клетки ФМК могут связывать растительные лектины, специфичные к углеводным остаткам, указанным выше [6], в том числе, кон А, и, в значительно меньшей степени, лектины из *Glycin Max*, но практически не связывают лектины из *Arachis hypogaea*, у которых специфичность к углеводам отличается от таковой у известных лектинов голотурий. Вместе с тем, результаты настоящей работы свидетельствуют о возможности экспрессии поверхностных рецепторов и к лектинам из *Arachis hypogaea* и *Glycin Max* в процессе инкубации и, возможно, других стрессовых воздействиях. Изменения в экспрессии рецепторов к лектинам в процессе инкубации и соответствие динамики ее изменения изменениям в активности антиоксидантных ферментов, прежде всего, каталазы, свидетельствует в пользу участия лектинов голотурий в иммунном ответе. Однако отсутствие изменений связывания исследуемых лектинов с клетками ФМК при инкубации их с супернатантами фагоцитов по сравнению со связыванием при контрольном инкубировании клеток ФМК с физраствором, по-видимому, свидетельствует о том, что данные лектины или лектины со сходной специфичностью связывания не участвуют в гуморальной регуляции иммунного ответа клеток ФМК со стороны фагоцитов. Клетки-продуценты отдельных лектинов у голотурий недостаточно изучены. Так, маннан-связывающие лектины голотурий синтезируются морулоподобными клетками [3], и, возможно, участвуют в регуляции активности фагоцитов, а также самих морулоподобных клеток. Лектины, синтезируемые фагоцитами иглокожих и голотурий, в частности, практически не описаны. Имеются единичные сообщения о лектинах, синтезируемых амебоцитами крабов, со специфичностью к 1-3-β-D-глюканам [12]. Полученные в настоящей работе данные указывают на то, что гуморальная регуляция активности морулоподобных клеток фагоцитами голотурий не осуществляется лектинами со специфичностью к маннозе (кон А) или D-galNac (пример *Glycin Max*) и β-D-gal(1-3)-D galNac (пример *Arachis hypogaea*).

В целом, полученные данные свидетельствуют о том, что фагоциты голотурий *E. fraudatrix* могут модулировать функциональную активность морулоподобных клеток через гуморальные механизмы, но, по-видимому, лектины с указанной выше специфичностью не являются молекулами, осуществляющими взаимодействие фагоцитов и морулоподобных клеток в ходе иммунного ответа.

ЛИТЕРАТУРА

- Исаева В.В., Коренбаум Е.С. Защитные функции целомоцитов и иммунитет иглокожих//Биология моря.-1989.-№ 6.-С. 3-14.

2. L.A. Clow., D.A. Raftos, P.S. Gross, L.C. Smith. The sea urchin complement homolog SpC3, functions as an opsonin // *J. Exp. Biology.* - 2004. - V. 207. - P. 2147-2155.
3. Елисейкина М.Г., Булгаков А.А., Назаренко Е.Л. и др. Распределение манна-специфического лектина 32 кДа в тканях дальневосточной голотурии *Stichopus japonicus* // *Изв. РАН. Сер. «Б».* - 1999. - N2. - С. 228-232.
4. Dolmatov I.Yu., Dolmatova L.S., Shitkova O.A., Kovaleva A.L. Dexamethasone-induced apoptosis in phagocytes of holothurian *Eupentacta fraudatrix* // *Proceedings of the 11 International Echinoderm Conference, Munich, Germany, 2003. London, 2004.* P. 105-119.
5. Долматова Л.С., Елисейкина М.Г., Ромашина В.В. Антиоксидантная ферментативная активность целомочитов дальневосточной голотурии *Eupentacta fraudatrix* // *Журнал эволюционной биохимии и физиологии.* 2004. Т. 40, № 2. С. 104-111.
6. Долматова Л.С., Шиткова О.А., Долматов И. Ю., Тимченко Н.Ф. Термостабильный летальный токсин *Yersinia pseudotuberculosis* индуцирует апоптоз и ингибирует экспрессию поверхностных рецепторов к лектинам в иммунocyтах голотурии *Eupentacta fraudatrix* // *Журнал микробиологии.* - 2006. - № 3. Приложение. - С. 23-28.
7. Beachamp C.O., Fridovich I. Superoxide dismutase: improved assays and assay applicable to acrilamide gels // *Anal. Biochem.* - 1971. - Vol. 44. - P. 276-287.
8. Catalase/ H. Aebi // *methods of enzymatic analysis.* - New York, London, 1974. - P. 673-682.
9. Долматова Л.С., Шиткова О.А. Взаимодействие отдельных субпопуляций целомочитов голотурий // *Научные труды I съезда физиологов СНГ. Москва, 2005. Т. 1.* - С. 110.
10. Лахтин В.М. Молекулярная организация лектинов // *Молек. Биология.* - 1994. - Том 2 вып. 2. - С. 245-273.
11. Characterization of functional domains of the hemolytic lectin CEL-III from the marine invertebrate *Cucumaria echinata* / Y. Kouzuma, Y. Suzuki, M. Nakano et al. // *J. Biochem.* 2003. V. 134. P. 395-402.
12. Purification and characterization of a (1 \rightarrow 3)-beta-D-glucan-binding protein from horseshoe crab (*Tachyplesus tridentatus*) amoebocytes / H. Tamura, S. Tanaka, T. Oda et al. // *Carbohydr. Res.* - 1996. - V. 295. - P. 103-116.

HUMORAL REGULATION OF FUNCTIONAL ACTIVITY OF MORULA CELLS OF HOLOTHURIAN EUPENTACTA FRAUDATRIX

L.S. Dolmatova, Yu.I. Dobryakov, O.A. Zaika

V.I. Il'ichev Pacific oceanological institute FEB RAS, Vladivostok, Russia

e-mail: dolmatova@poi.dvo.ru

The aim of the study was to investigate the possible humoral mechanisms of cooperation of separate fractions of immunocytes (phagocytes and morula cells) of holothurian *Eupentacta fraudatrix*. Phagocytes (P) or cells of fraction enriched with morula cells (PMC) were incubated with phosphate buffered saline (1:1, v/v) for 30 min or 18 h at 23° C. Additionally, PMC were incubated with cell suspension supernatants of phagocytes at the same conditions. Phagocytes and PMC were preliminary incubated for 3 h at 23° C. It was shown that activities of antioxidant enzymes superoxide dismutase and catalase in PMC treated with supernatants of P significantly decreased compared to that in untreated PMC at all periods of incubation. FITC-conjugated plant lectins from *Arachis hypogaea*, *Glycin Max*, and con A bound to P and PMC cells in different manner. The variations in the lectin binding to PMC cells during incubation time corresponded to changes in catalase activity. However, there was no difference between level of binding of all lectins to cells of PMC treated and untreated with supernatants of P. The data obtained suggest that P cells of holothurian *E. fraudatrix* can modulate PMC functional activity via humoral factors. Lectins with specificity to mannose-, D-galNac-, and β -D-gal(1-3)-D galNac- residues, apparently, can participate in immune defense of holothurians. However, they failed to be considered as humoral mediators of phagocyte influence on morula cell activity.

ПЕРВОЕ СООБЩЕНИЕ О НАХОЖДЕНИИ АКТИНОСПОРИДИЙ В ОЛИГОХЕТАХ ИЗ ВОДОЕМОВ САНКТ ПЕТЕРБУРГА И ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Дудин А.С.

Государственный НИИ озерного и речного рыбного хозяйства (ФГНУ
«ГосНИОРХ»), наб. Макарова, д. 26, Санкт-Петербург 199053,
тел.(812) 323 77 24 факс (812) 323 60 51, niorkh@mail.lanck.net

Актиноспоридии (ранее актиномиксидии), как паразиты водных аннелид известны с 1899 (Štolc, 1899). Морфологически они близки к миксоспоридиям. За последующие сто лет несколько раз происходил пересмотр систематического положения актиноспоридий, а так же значительно расширился список как самих видов так и их хозяев. Большинство исследований проводилось на светооптическом уровне (Janiszewska 1955,1957), в то время как ультраструктуре и биологии этих паразитов посвящены лишь несколько работ (Marques 1984; Lom and Dykova 1997; Lom et al. 1997). Подобный незначительный интерес к актиноспоридиям можно связать, как с малой практической значимостью, как самих олигохет, так и их паразитов. До недавнего времени *Actinosporea* наряду с *Myxosporea* рассматривались, как два самостоятельных класса составляющий тип *Myxozoa* (Levine et. al., 1980). Повышенный интерес к изучению актиноспоридий возник в связи с открытием, сделанным американскими учеными Вольфом и Маркив (Wolf and Markiw, 1984). В опубликованной ими статье доказывалось, что актиноспоридия рода *Triactinomyxon* являются стадией развития миксоспоридии *Myxobolus cerebralis*, которая паразитирует в хрящевой ткани лососевых рыб, главным образом радужной форели. Позднее другие исследователи получили экспериментальные доказательства того, что актиноспорейная стадия присутствует в жизненном цикле различных миксоспоридий, представителей родов *Myxobolus*, *Myxidium*, *Henneguya*, *Hoferellus*, *Thelohanellus*, *Sphaerospora*, *Zschokkella*, *Ceratomyxa*. Кентом с соавторами, на основании накопленных данных, было принято решение считать рыб окончательным, а олигохет промежуточным хозяином этих паразитов (Kent et al., 1994). Исходя из этого, для обозначения видов *Myxozoa* предложено сохранить уже существующую систему миксоспоридий, а при описании актиноспор временно, до расшифровки цикла, использовать бывшие родовые названия актиноспоридий как названия для сборных групп, характеризующие их морфологию.

По причине почти полного отсутствия данных по паразито- хозяйным отношениям на популяционном уровне, в ряде стран были проведены полевые исследования зараженности олигохет актиноспоридиями, как из естественных водоемов так и из рыбоводных хозяйств.

Целью данной работы было определение уровня зараженности актиноспоридиями олигохет, обитающих в различных естественных водоемах Санкт Петербурга и Ленинградской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор донных отложений, из которых отбирались олигохеты, проводили в период с 2005 по 2006 год, с регулярностью один раз в две недели (за исключением зимы, когда сбор прекращался) на трех водоемах, расположенных на территории С-Петербурга и в его окрестностях, различных по гидрологическим особенностям, уровню эвтрофикации и степени антропогенного воздействия.

На первом водоеме, реке Охта, материал собирали в двух местах. Первая точка сбора находилась в средней части реки, около ж/д. станции Ржевка и характеризовалась чертами небольшого руслового водохранилища с богатой икhtiофауной. Вторая точка

сбора находилось неподалеку от места впадения р. Охта в Неву и отличалась довольно высоким уровнем загрязненности воды промышленными сбросами. На реке Славянка материал отбирали также в двух точках, в устье, перед впадением в Неву и в ее верхнем течении, в районе г. Пушкина. В обоих местах нами отмечался высокий уровень эвтрофикации и значительная загрязненность водоема сточными водами, но несмотря на это ихтиофауна была довольно разнообразна. Третий водоем представлял собой холодноводный ручей ключевого происхождения, впадающий в озеро Можайское расположенное рядом с Красным Селом.

Донные отложения отбирали с глубины 0,5-1 м. при помощи гидробиологического скребка. Собранный материал массой около 2 кг промывали дважды, первый раз на водоеме, а второй в лаборатории чистой водой через мельничный газ с размером ячеек 1мм, затем он разделялся на небольшие порции, из которых олигохет отбирали визуально. Собранных червей помещали в чашки Петри, примерно по 100 экземпляров в каждую и содержали при комнатной температуре (20-22°С) под тонким (до 10 мм) слоем воды на протяжении 1,5 месяцев. Просмотр чашек на наличие спор актиноспоридий осуществлялся трижды в неделю, при помощи бинокулярного микроскопа МБС -10 на максимальном увеличении. После обнаружения в чашке спор паразита, олигохет из нее рассаживали индивидуально в планшеты с небольшими углублениями, воду из которых ежедневно просматривали, согласно общепризнанному методу (Yokoyma., 1991). Обнаруженных таким способом актиноспор фиксировали в спирте и жидкости Карнуа (для дальнейшей окраски по методу Фельгена) и заключали в глицерин-желатин. Помимо этого осуществляли прижизненное измерение спор и проводили их фотосъемку. Измерения спор осуществляли согласно руководству Лома (Lom et al., 1997) на основе 10-15 произвольно выбранных экземпляров (мертвых, незрелых или деформированных спор не измеряли).

РЕЗУЛЬТАТЫ

За 2 года исследований была проанализирована зараженность актиноспоридиями порядка 36 000 экземпляров олигохет, среди которых доминировали три вида *Tubifex tubifex*, *Limnodrilus hoffmeisteri* и *Lumbriculus variegatus*. В пяти местах отбора проб был установлен различный уровень зараженности олигохет и выявлено 7 различных форм актиноспоридий.

На первом участке реки Охта, в ее среднем течении за время исследований было собрано 5 000 экз. олигохет. При их содержании в лабораторных условиях было выделено три различные формы актиноспоридий, принадлежащим к двум сборным группам. К сборной группе *Triactinomyxon* нами были отнесены 2 различные формы. Для первой были характерны споры с цилиндрической спороплазмой, содержащей в себе 16 вторичных клеток, сравнительно небольшим стилетом и равными по длине хвостовыми отростками. Всего данной формой были заражены 2 из 1500 олигохет *T. tubifex* (0.13%) собранных в период с 5.06 по 14.06.07. Вторая форма характеризовалась бочкообразной элиспорой с содержащей 32 вторичные клетки спороплазмой, длинным стилетом и длинными, загнутыми кверху отростками. Этой формой была заражена одна из 500 олигохет (0.2%) собранных 13.09.06. Однако в связи с незрелостью олигохеты определение ее родовой и видовой принадлежности не представилось возможным.

Представители сборной группы *Siedleckiella* были обнаружены нами в пробе взятой 14.06.06. Зараженность олигохет *T. tubifex* составила 0,4%.

Со второго участка реки Охта за весь период исследования было собрано 2 000 экз. олигохет. В лаборатории олигохеты выделили споры, относящиеся к двум сборным группам.

Споры сборной группы *Triactinomyxon*, имеющие бочкообразную спороплазму содержащую 32 вторичных клетки, укороченный стилет, и равные по длине хвостовые отростки, загнутые кверху концами, были обнаружены в пробе взятой 5.07.06. Зараженность олигохет *T. tubifex* составила 0.44% (2 из 450).

Представители сборной группы *Raabeia*, характеризующиеся цилиндрической спороплазмой, содержащей 32 вторичные клетки, и сильноизогнутыми каудальными отростками равной длины, были обнаружены в пробе взятой 12.06.05. Зараженность олигохет *L. hoffmeisteri* составила 0.6% (3 из 450 экземпляров).

Из холодноводного ручья впадающего в озеро Можайское за время исследований было собрано 5 000 экземпляров олигохет. В лабораторных условиях олигохеты *T. tubifex* выделяли споры актиноспоридий, принадлежащие к сборной группе *Triactinomyxon*. Спороплазма спор цилиндрической формы с 32 вторичными клетками, довольно длинным стилетом и хвостовыми отростками разной длины. Зараженность отмечена дважды, весной (с 15.06 по 26.06.06) и осенью (19.09.06). Средний уровень зараженности составил 0.4 и 0.6% соответственно.

Из среднего течения реки Славянка однократно (15.08.06) нами была взята проба содержащая 22000 экземпляров олигохет. Зараженность актиноспоридиями, отнесенных нами к сборной группе *Triactinomyxon*, была отмечена у 17 олигохет, что составляет 0,07%. Спороплазма у всех выделившихся спор, имела цилиндрическую форму и содержала в себе 8 вторичных клеток. Споры так же отличались прямым стилетом и довольно длинными и практически не изогнутыми хвостовыми отростками разной длины.

У олигохет из устья реки Славянка собранных в период с 11.06 по 02.07. общим количеством 5000 экз. выхода спор актиноспоридий в воду отмечено не было.

Таким образом, всего нами было выявлено 7 форм актиноспоридий, из которых 5 были отнесены к сборной группе *Triactinomyxon*, 1- к сборной группе *Raabeia* и 1- к сборной группе *Siedleckiella*. Сравнение наших результатов с имеющимися литературными данными показало, что по основным морфометрическим характеристикам, таким как размер эписпоры и количество вторичных клеток, споры выделенные незрелой олигохетой (среднее течение Охты) соответствует *Triactinomyxon* «Е» описанный у олигохет из канадского озера (Xiao & Desser 1998). Споры, выделенные *Tubifex tubifex* из устья Охты по длине стилета и количеству вторичных клеток вполне соответствуют *Triactinomyxon* «D» так же описанному у олигохет из канадского озера (Xiao & Desser 1998). Остальные 5 форм отличаются от ранее описанных форм и очевидно являются новыми. Четкой сезонной динамики выделения актиноспоридий олигохетами из всех точек сбора, учитывая крайне низкую зараженность установить не удалось. Первые выделения спор отмечено из пробы олигохет от 05 июня, последние из пробы от 13 сентября.

ВЫВОДЫ

За время исследований нам удалось выделить семь форм актиноспоридий, пять из которых видимо, являются новыми. Так же удалось определить уровень естественной зараженности олигохет актиноспоридиями, который как оказалось, имеет довольно низкие значения, значительно отличающиеся от результатов полученных большинством исследователей. Какие либо объяснения по столь низкой зараженности очевидно могут быть даны после изучения зараженности рыб миксоспоридиями. Дальнейшие наши исследования будут направлены на восполнение пробелов по зараженности рыб миксоспоридиями в изучаемых водоемах, а так же на проведение экспериментальных исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Janiszewska J. 1955. *Actinomyxidia*. Morphology, ecology, history of investigations, systematics, development. – Acta Parasitologica Polonica. Vol. II: 405-437.
- Janiszewska J. 1957. *Actinomyxidia* II. New systematics, sexual cycle, descriptions of new genera and species. – Zoologica Poloniae. 8: 3-34.
- Levine N.D., Corliss J.O., Cox F.E.G., Deroux G., Grain J., Honinberg B.M., Leedale G.F., Loeblich A.R., Lom J., Lynn D., Marinefeld E.G., Page F.C., Polyanski G., Sprague V., Vavra J., Wallace F.G. 1980: A newly revised classification of the Protozoa. J. Protozool. 27: 37-58.
- Lom J. and Dykova I. 1997. Ultrastructural features of the actinosporean phase of Myxosporaea (ph. Myxozoa): a comparative study. – Acta Protozool. 36(2): 83-103.
- Lom J., Yokoyama H., Dykova I. 1997. Comparative ultrastructure of Aurantiactinomyxon and Raabeia actinosporean stages of myxozoan life cycle. – Arch. Fur Protistenkunde. 148(1/2): 173-189.
- Marque A. 1984. Contribution a la des Actinomyxides, ultrastructure, cycle, biologique, systematique. –These. Doctoral d'Etat. Montpellier, France. 218 pp.
- Marque A. 1984. Contribution a la des Actinomyxides, ultrastructure, cycle, biologique, systematique. –These. Doctoral d'Etat. Montpellier, France. 218 pp.
- Markiw M.E. 1986. Salmonid Whirling Disease: Dynamics of experimental production of the infective stage – The Triactinomyxon spore. Can. J. Fish Aquat. Sci. vol43 (3): 521-526.
- Štolc A. Actinomyxidies, nouveau groupe de Mesozooaires parent des Myxosporidies Bull. Intl. Acad. Sci. Bohem. 22: 1-12
- Wolf K., Markiw M. 1984. Biology contravenes taxonomy in the *Myxozoa*: new discoveries show alternation of in vertebrate and vertebrate hosts. Science. 225.4669: 1449-1452.
- Xiao C., Desser S.S. 1998. Actinosporean stages of myxozoan parasites of oligochaetes from lake Sasajewun, Algonquin Park, Ontario: new forms of triactinomyxon and raabeia. –J. Parasitol. 84(5): 998-1009.

THE FIRST REPORT ON OCCURRENCE OF ACTINOSPOREANS IN OLIGOCHAETES FROM FRESHWATERS OF ST. PETERSBURG AND LENINGRAD DISTRICT

Dudin A.S.

During 2005-2006 actinospore infection of oligochaetes of five freshwater sampling sites of St-Petersburg and Leningrad district was studied. 36 000 specimens were examined in total.

As a result by using the "cell-well plate method" five types of Triactinomyxon, one type of Raabeia and one type of Siedleckiella were revealed. The five detected types (three Triactinomyxon, one Raabeia and one Siedleckiella) were different from actinosporea forms hitherto described and probably are new. This is the first report on the occurrence of members of Actinosporea in Russia.

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КОСТИСТЫХ РЫБ

Заботкина Е.А.

Институт биологии внутренних вод им. И.Д.Папанова РАН,
Борок Ярославской обл., Россия, zabel@ibiw.yaroslavl.ru

Проанализирована фагоцитарная активность лейкоцитов периферической крови 10 видов костистых рыб, обитающих в водоемах Ярославской обл. (щука обыкновенная *Esox lucius*, европейский хариус *Thymallus thymallus*, лещ обыкновенный *Abramis brama*, елец *Leuciscus leuciscus*, линь *Tinca tinca*, плотва *Rutilus rutilus*, карп *Cyprinus carpio*, голец *Barbatula barbatula*, речной окунь *Perca fluviatilis* и обыкновенный судак *Stizostedion lucioperca*) и изменение ее под действием ионов кадмия *in vivo* у гольца и окуня. Фагоцитарную активность нейтрофилов оценивали с помощью НСТ-теста. Исследования показали, что изучаемые показатели имеют видовую специфику, и выявленные различия в способности генерировать активные формы кислорода у исследованных видов рыб могут быть связаны с экологическими условиями существования рыб и чувствительностью данных рыб к содержанию кислорода. Изучение действия 14 сут экспозиции гольца и окуня в сублетальных концентрациях кадмия также выявило видовую специфику в динамике функциональной активности нейтрофилов.

Фагоцитоз можно отнести к эволюционно наиболее древним неспецифическим клеточным иммунным реакциям. В процессе фагоцитоза у рыб участвуют макрофаги и гранулоциты (Ellis et al., 1977; McArthur et al., 1984; Балабанова, 1990; Hirota et al., 1993; Angeles, Meseguer, 1994). Участие гранулоцитов в поглощении частиц туши, бактериального и растворимого антигена исследовано у костистых и хрящевых (Suzuki, 1984; Finco-Kent, Thune, 1987). В реакциях фагоцитоза у рыб активно участвуют нейтрофилы, которые составляют в периферической крови в норме у разных видов рыб от 25 до 5% (Микряков, Балабанова, 1979; Лапирова, Заботкина, 2005).

Механизм фагоцитоза, как у беспозвоночных, так и у позвоночных животных однотипен, он зависит от температуры, и скорость его возрастает при ее повышении (Микряков, 1990). Повышение температуры активирует и фагоцитарную активность гранулоцитов, а снижение, наоборот, замедляет фагоцитарные реакции гранулоцитов (Avtalion, Sharabani, 1975). При фагоцитозе происходит генерация активных форм кислорода (АФК), к которым относят супероксидный анион-радикал, синглетный кислород, гидроксильный радикал и перекись водорода, и поглощение кислорода. Это явление получило название «респираторного взрыва» фагоцитов. Одним из инструментов изучения АФК является реакция восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест), которая позволяет не только выявить фагоцитирующие нейтрофилы, но и охарактеризовать состояние их ферментных систем. Известно, что нейтрофилы крови человека функционально неравнозначны и по-разному реагируют как на индукцию фагоцитоза, так и на действие различных факторов *in vivo* (Герасимов, Калуцкая, 2000; Герасимов, Игнатов, 2001; 2004; 2005). Сведения об особенностях функциональной активности нейтрофилов костистых рыб в литературе редки.

В связи с этим задачей настоящего исследования было рассмотреть особенности спонтанного и индуцированного фагоцитоза нейтрофилами периферической крови костистых рыб – обитателей пресноводных водоемов Ярославской обл., определить видовые особенности данной реакции изменение ее под действием ионов кадмия.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследовали функциональную специфичность нейтрофилов периферической крови половозрелых особей от 10 видов костистых рыб, обитающих в водоемах Ярославской обл. (обыкновенная щука *Esox lucius*, европейский хариус *Thymallus thymallus*, обыкновенный лещ *Abramis brama*, елец *Leuciscus leuciscus*, линь *Tinca tinca*,

обыкновенная плотва *Rutilus rutilus*, карп *Cyprinus carpio*, голец *Barbatula barbatula*, речной окунь *Percas fluviatilis* и обыкновенный судак *Stizostedion lucioperca*).

Влияние сублетальных концентраций ионов кадмия (in vivo) на фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови исследовали после 14 сут экспозиции сеголеток окуня (массой 6.8±1.3 г и длиной 9.0±0.6 см, концентрация токсиканта 20 мкг/л по иону металла) и половозрелых особей гольца (длиной 9,4±0,6 см и весом 4,03±0,74 г, концентрация токсиканта 50 мкг по иону металла).

Оценку фагоцитарной активности проводили методом НСТ-теста по И.Г. Герасимову, Д.Ю. Игнатову (2001) в нашей модификации, адаптированной для рыб. Для этого цельную кровь рыб собирали в пластиковые пробирки с 20 мкл цитрата натрия (3.8%). Затем инкубировали 0.5 мл крови с 0,25 мл 0,3% водного раствора НСТ и 0,25 мл фосфатного буфера, рН 7.0 (спонтанный фагоцитоз) или заменяли последний 0,25 мл 5% водного раствора продигоизана на том же буфере (индуцированный фагоцитоз). По степени активности образования гранул диформазана в цитоплазме клеток нейтрофилы классифицировали на 4 группы: 0 – отсутствие гранул диформазана в цитоплазме клетки, 1 – гранулы занимают менее 1/3 площади клетки, 2 – от 1/3 до 2/3, 3 – более 2/3. Рассчитывали долю активированных нейтрофилов (ДАН, %) и индекс активации нейтрофилов (ИАН, усл. ед.) по общепринятой формуле (Герасимов, Игнатов, 2001).

$ИАН = (0N_0 + 1N_1 + 2N_2 + 3N_3) / 100$, где N_0, N_1, N_2 и N_3 , - количество нейтрофилов с активностью 0, 1, 2 и 3 балла соответственно.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы Excel при $P \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Видовые особенности функциональной активности нейтрофилов.

ДАН. Результаты исследования показали, что данный показатель имеет видовые отличия. Наиболее низким при спонтанном фагоцитозе он оказался у щуки, гольца и карпа, а наиболее высоким – у окуня, судака и плотвы (табл. 1).

В средней группе, с показателями от 24 до 30% активированных нейтрофилов оказались большинство карпов рыб и хариус. Показатели индуцированного фагоцитоза оказались, как правило, в 1.5 – 2 раза выше показателей спонтанного фагоцитоза. Менее всего индукция фагоцитоза отразилась на нейтрофилах карпа и плотвы, тогда как активность нейтрофилов щуки увеличилась в 2.19 раза, а гольца – в 2.5 раза. В тоже время при индуцированном фагоцитозе наиболее высокие показатели ДАН отмечены у окуневых, а среди карповых – у линя, у остальных исследованных видов данный показатель колебался в пределах 35-45%.

Таблица 1

Доля активированных нейтрофилов периферической крови некоторых видов костистых рыб

Вид рыб	ДАНсп, %	ДАНинд, 5	Степень активации
Щука	18,00±1,50	38,81±11,22	2,16
Хариус	24,5±5,50	46,50±0,50	1,9
Лещ	29,83±7,83	44,17±14,50	1,48
Елец	28,00±0,67	40,00±0,10	1,43
Линь	30,50±5,50	58,00±5,00	1,9
Плотва	37	42	1,14
Карп	19,33±4,22	19,66±7,11	1,02
Голец	18,00±4,00	45,00±6,00	2,5
Окунь	36,67±4,22	58±2	1,58
Судак	31,50±2,50	56,5±0,5	1,79

ИАН. Индекс активности нейтрофилов при спонтанном и индуцированном фагоцитозе также различен. Если при спонтанном фагоцитозе индекс активности нейтрофилов (ИАН) достоверно не отличался у всех исследованных видов рыб, то при индуцированном фагоцитозе наибольший индекс активности нейтрофилов отмечен у окуневых, чуть ниже – у линя и хариуса. Наименьший ИАН отмечен у карпа (табл. 2). По степени активации исследованные виды расположились следующим образом: голец>щука>лещ>плотва>карп.

Таблица 2

Индекс активности нейтрофилов периферической крови некоторых видов рыб

Вид рыб	ИАН _{сп} , усл. ед	ИАН _{инд} , усл. ед	Степень активации
Щука	0,25±0,02	0,65±0,18	2,6
Хариус	0,34±0,05	0,84±0,20	2,47
Лещ	0,40±0,10	0,70±0,24	1,75
Елец	0,35±0,01	0,63±0,06	1,8
Линь	0,36±0,06	0,91±0,04	2,53
Плотва	0,49	0,79	1,61
Карп	0,32±0,08	0,32±0,13	1
Голец	0,30±0,07	0,96±0,14	3,2
Окунь	0,52±0,09	1,28±0,16	2,46
Судак	0,47±0,01	1,13±0,06	2,4

Таким образом, наиболее высокие значения ДАН и ИАН отмечаются у рыб, обитающих в водах с высоким насыщением кислородом (голец, хариус) и очень чувствительных к содержанию кислорода в среде (окуневые). Выявленные различия в способности генерировать активные формы кислорода у исследованных видов рыб могут быть, помимо этого, связаны и с видовыми особенностями, экологическими условиями существования рыб.

Влияние ионов кадмия на активность нейтрофилов в НСТ-тесте.

При экспозиции гольцов и окуней в течение 14 сут в сублетальных концентрациях ионов кадмия отмечено, что данный металл влияет на нейтрофилы окуня и гольца по-разному (Табл. 3, 4).

У окуня ДАН при спонтанном фагоцитозе у опытных рыб несколько снижается по отношению к контролю, но отличия от контроля недостоверны, в то время как доля активированных нейтрофилов достоверно выше контрольного уровня. Изменения ИАН носят сходный характер: он достоверно повысился только в индуцированном фагоцитозе.

У гольца, в отличие от окуня, доля активированных нейтрофилов в результате действия ионов кадмия достоверно повысилась, как при спонтанном, так и индуцированном фагоцитозе.

Таблица 3

Изменение доли активированных нейтрофилов (ДАН) периферической крови окуня и гольца под действием ионов кадмия

	Вариант опыта	окунь	голец
ДАН _{сп}	контроль	24,67±5,00	18,33±3,56а
	опыт	20,67±2,89*	34,80±2,64а
ДАН _{инд}	Контроль	31,20±3,04	45,00±6,00б
	опыт	37,00±2,00*	57,80±4,16б

Примечание: знаками *, а, б отмечены пары достоверно отличающихся значений при $p \leq 0.05$

Изменение индекса активности нейтрофилов (ИАН) периферической крови окуня и гольца под действием ионов кадмия

	Вариант опыта	окунь	голец
ИАН _{сп}	контроль	0,37± 0,04	0,30± 0,07а
	опыт	0,33± 0,04	0,60± 0,05а
ИАН _{инд}	Контроль	0,48± 0,04*	0,96± 0,14б
	опыт	0,58± 0,02*	1,19± 0,19б

Примечание: знаками *, а, б отмечены пары достоверно отличающихся значений при $p \leq 0.05$

Считается, что в тесте спонтанной активации выявляется доля клеток, которые регулируют действие вазоактивных медиаторов и комплемента, тогда как индуцированная активность позволяет оценить количество потенциальных фагоцитов.

В отличие от человека, в крови рыб, нейтрофилы представлены в основном незрелыми формами – миелоцитами и метамиелоцитами, доля зрелых клеток составляет у разных видов рыб от 5 до 8% (Заботкина, Назарова, 2006). К тому же миелоциты и метамиелоциты у рыб, так же, как и зрелые формы, обладают фагоцитарной способностью.

Некоторое снижение показателей спонтанной активации нейтрофилов периферической крови окуня (как ДАН, так и ИАН) в опыте по сравнению с контролем свидетельствует об уменьшении доли нейтрофилов, регулирующих воспалительные процессы. Вместе с тем, увеличение параметров индуцированной активности нейтрофилов у рыб, экспонированных в соли кадмия, говорит об усилении активных форм кислорода и увеличении доли потенциальных фагоцитов, по-видимому, добавление продигозана в реакционную среду стимулирует выработку АФК в нейтрофилах всех стадий зрелости. Увеличение обоих показателей у гольца под действием ионов кадмия свидетельствует об усилении продукции АФК клетками и увеличении доли нейтрофилов, регулирующих воспалительные реакции у этого вида рыб. Различия в характере изменения этих показателей у гольца и окуня могут быть объяснены особенностями физиологии этих видов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, показатели общей неспецифической защитной реакции рыб, оцененные с помощью НСТ-теста, имеют видовую специфику. Обнаруженные различия можно связать как с образом жизни и условиями местообитания рыб, так и видовыми физиологическими особенностями. Экспозиция рыб в сублетальных концентрациях ионов кадмия, как правило, вызывает повышение доли нейтрофилов, ответственных за регуляцию воспалительных процессов и усиление продукции АФК этими клетками.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балабанова Л.В. Изменения в структуре гранулоцитов карпа при введении углерода//Бюлл.биол.внутр.вод.1990. N 87.
2. Балабанова Л.В. Судьба парентерально введенных бактерий в организме рыб.// Физиология и паразитология пресноводных животных. Л., Наука, 1979. С.88-104.
3. Герасимов И.Г., Игнатов Д.Ю. Особенности активации нейтрофилов *in vitro*// Цитология. 2004. Т. 46, № 2. С. 155-158.
4. Герасимов И.Г., Игнатов Д.Ю. Особенности восстановления нитросинего тетразолия нейтрофилами крови человека. II. Влияние ионов натрия и калия//Цитология. 2005. Т. 47, № 6. С. 554-558.

5. Герасимов И.Г., Игнатов Д.Ю. Функциональная неравнозначность нейтрофилов крови человека: генерация активных форм кислорода// Цитология. 2001. Т. 43, № 5. С. 432-436.
6. Герасимов И.Г., Калуцкая О.А. Кинетика реакции восстановления нитросинего тетразолия нейтрофилами крови человека// Цитология. 2000. Т.42, №2. С. 160-165.
7. Заботкина Е.А., Назарова Е.А. Сравнительная характеристика лейкоцитарного состава периферической крови и иммунокомпетентных органов пресноводных и морских костистых рыб // Экологические проблемы уникальных природных и антропогенных ландшафтов. Материалы Всерос. Науч.-практ. Конференции. Ярославль, 2006. С. 57-61.
8. Лапирова Т.Б., Заботкина Е.А. Сравнительная характеристика иммунофизиологического состояния рыб из различных по степени загрязнения участков Рыбинского водохранилища// Эпизоотологический мониторинг в аквакультуре: состояние и перспективы. Расшир. Мат-лы Всерос. Науч.-практ. конф. – сем. 13-14 сент. 2005 г. Москва, 2005. М.: Россельхозакадемия. С. 53 – 56.
9. Микряков В.Р. Закономерности формирования приобретенного иммунитета у рыб. Рыбинск, 1991. 154 с.
10. Микряков В.Р., Балабанова Л.В. Клеточные основы иммунитета у рыб// Физиология и паразитология пресноводных животных. Л., Наука, 1979. С.105-114.
11. Angeles E.M., Meseguer J. Phagocytic defence mechanisms in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): An ultrastructural study// *Anat.Rec.* 1994. Vol. 240, N 4. P. 589-597.
12. Ellis A.E., Munro A.Z.S., Roberts R.J. Defence mechanisms in fish. I. A study of the phagocytic system and the of intraperitoneally injected particulate material in the plaice (*Pleuronectes platessa* L.)// *J.Fish Biol.* 1976. Vol.8, N 1. P.67-78.
13. Finco-Kent D., Thune R.L. Phagocytosis by catfish neutrophils// *J.Fish Biol.* 1987. Vol. 31, Suppl. A. P. 41-49.
14. Hirota Y., Mukamoto M., Baba T.S., Kodama H., Azuma I. Effect of muramyl dipeptide on phagocyte functions in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)// *Bull.Univ.Osaka Prefect. B.* 1993. Vol.45. P.67-74.
15. Mc Arthur J.I., Fletcher T.C. Phagocytosis in fish// *Fish immunology.* M.J.Manning a. M.F. Tather (Eds). London, Acad.Press. 1985. P.29.
16. Suzuki K. A light and electron microscope study on the phagocytosis of leucocytes in rockfish and rainbow trout// *Bull.Jap.Soc.scient.Fish.* 1984. Vol. 50. P.1305-1315.

**THE FEATURES OF FUNCTIONAL ACTIVITY OF PERIFERAL BLOOD
NEUTROPHILS OF BONE FISH.**

Zabotkina E.A.

*Papanin Institute for biology of inland waters of RAS, Borok, Yaroslavl district, Russia;
e-mail: zabel@ibiw.yaroslavl.ru*

The phagocytic activity of peripheral blood neutrophils was analyzed of 10 species of bone fish from Yaroslavl district reservoirs (white-spotted *Esox lucius*, European grayling *Thymallus thymallus*, common bream *Abramis brama*, dace *Leuciscus leuciscus*, tench *Tinca tinca*, roach *Rutilus rutilus*, carp *Cyprinus carpio*, stone *Barbatula barbatula*, perch *Perca fluviatilis* and pike perch *Stizostedion lucioperca*). Furthermore, the effects of cadmium sublethal concentrations were investigated on phagocytic activity of neutrophils of carp, perch and stone loach. Phagocytic activity of neutrophils was estimated using NBT-test. The part of active neutrophils and the index of neutrophilic activity were estimated. Investigations showed, these parameters of general protective reaction have specific differences. Besides, they may be connected with mode of life and environmental conditions.

In conclusion, these parameters of general protective reaction have specific differences. Besides, they may be connected with mode of life and environmental conditions.

ИЗМЕНЕНИЕ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ФУНКЦИЙ ЭРИТРОЦИТОВ ПРЕСНОВОДНЫХ РЫБ ПРИ СТРЕССЕ

Запруднова Р.А., Камшилов И.М.

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанова РАН, Борок, Россия
e-mail: rimma@ibiv.yaroslavl.ru

На настоящий момент адаптация гемоглобиновой системы рыб к стрессовым воздействиям изучена достаточно слабо. Имеющиеся сведения о функциональных свойствах гемоглобина и ионном окружении разрозненны и отчасти противоречивы. Наиболее исследовано влияние гипоксии и изменения температуры на функциональные свойства гемоглобина (Nikinmaa, 1992). Однако не уделялось должного внимания зависимости величины эффекта от дозы воздействия и исходного состояния организма. Целью настоящей работы явилось одновременное исследование функциональных свойств гемоглобина (сродство к кислороду, эффект Бора) и ионного окружения некоторых видов пресноводных рыб Рыбинского водохранилища под влиянием разной природы стрессоров, отличающихся силой и продолжительностью.

Исследовали половозрелых и близких к половозрелости особей леща *Abramis brama* (L.), линя *Tinca tinca* (L.), карася *Carassius auratus gibelio* (Bloch) и щуки *Eso. lucius* L. в летне-осеннее время года. Сбор проб эритроцитов их обработка, а также анализ концентрации ионов натрия, калия, магния, кальция и функциональных свойств гемоглобина к кислороду описаны ранее (Запруднова, 2000; Камшилов, 2001). В ряд случаев измеряли скорость поглощения кислорода рыбами в закрытом аквариуме при помощи кислородомера КП-115. Контрольным показателем состояния организма служила концентрация ионов натрия и калия в плазме крови.

1. Нормальное физиологическое состояние. Реакция на непродолжительные воздействия (острый стресс).

За нормальное физиологическое состояние принимали состояние рыб либо сразу после кратковременного отлова, либо в результате 10 дневной и более продолжительной акклимации в искусственных условиях, максимально приближенной к естественным (использовалась отстоянная водопроводная вода, затемненные 4000 л бассейны, 100% насыщение воды кислородом, соотношение массы тела рыб и воды 0,1:200 и более, температура воды 16-17°C). Визуально: рыбы без повреждений кожных покровов с светлой окраской тела и нормальной двигательной активностью.

а) Влияние несильных непродолжительных стрессоров. Опыты проводили главным образом, на леще и карасе. После укола шприцем в брюшную полость у лещей концентрация магния и натрия в эритроцитах увеличивалась, а калия и кальция уменьшалась (рис. А). При действии других несильных, непродолжительных нагрузок (таких как, 1-2 мин. извлечение рыб из воды и 1-5 мин. помещение в небольшой объем воды, введение физиологического раствора, плавное изменение температуры воды на 4°C в сутки, а также введение низких доз адреналина и норадrenalина – 0,01-0,05 мг/кг веса) изменения содержания ионов происходило на близкие к указанным на рисунке величины, но под влиянием гормона концентрация натрия в эритроцитах была в 2-раза выше. Так, например, в эритроцитах леща в первые 0,5-2 ч наблюдалось максимальное отклонение содержания ионов от нормы для магния, натрия, калия и кальция, соответственно, на 87-150, 42-120, 11-18, 42-50%. В дальнейшем амплитуда сдвига ионного состава уменьшалась, а его продолжительность увеличивалась. Таким образом, изменения в ионном составе эритроцитов представляли собой затухающий

колебательный процесс, продолжающийся до 2х суток. При этом отклонения одновалентных катионов опережали изменения в содержании двухвалентных, и

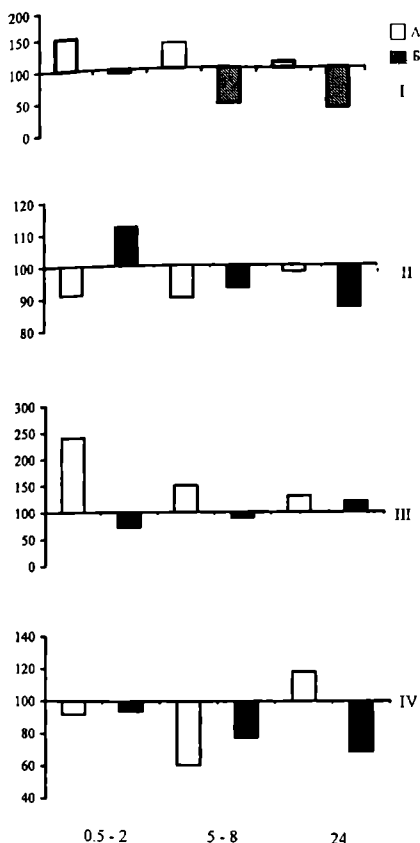


Рис. Динамика содержания натрия (I), калия (II), магния (III) и кальция (IV) в эритроцитах рыбы при слабом (А) и сильном (Б) непродолжительном стрессе (показания в тексте). По оси ординат отклонение концентрации ионов от первоначальных значений, %; по оси абсциссе время с начала стрессового воздействия, ч.

максимальное отклонение двухвалентных ионов приходилось на время возвращения одновалентных катионов к норме, другими словами, эти изменения происходили в противофазе. Сродство гемоглобина к кислороду под воздействием указанных стрессоров увеличивалось в 1.5 и более раз (сдвиг диссоционной кривой влево наблюдали при концентрации буферного раствора 0.05M, 0.005 и рН 7.2, 6.6). Величина эффекта Бора, главным образом, понижалась, но не всегда эти отклонения были статистически значимы. В ответ на слабые непродолжительные воздействия у рыб отмечали гипернатриемию в пределах 10% и гипокалиемию (концентрация калия в плазме крови уменьшалась в 3-5 раз). Изменения содержания ионов во внутренней среде организма также представляли затухающий колебательный процесс. Кроме того, наблюдалось замедление двигательной активности и снижение потребления кислорода из воды у леща, карася, соответственно, в 1.3 и 1.2.

Состояние рыб, вызываемое воздействием несильных непродолжительных нагрузок и сопровождающееся усилением анаболизма и повышением устойчивости организма к воздействию неблагоприятных факторов, называется физиологическим стрессом (Аршавский, 1982). Повышение концентрационных ионных градиентов на клеточной мем-

бране (главным образом за счет гипернатриемии и гипокалиемии), свидетельствующее о повышении энергетики организма, можно рассматривать как важнейший механизм усиления анаболизма у животных при несильных непродолжительных нагрузках. Из литературных данных (Константинов, 1993) известно, что при небольших колебаниях абиотических факторов наблюдается усиление роста и развития рыб, которое, в свою очередь, сопровождается снижением потребления кислорода и пищи. Результаты настоящих исследований позволяют предположить, что еще одним из возможных механизмов повышения анаболизма под влиянием несильных непродолжительных стрессоров может быть снижение газообмена, что, возможно, обусловлено повышением сродства гемоглобина к кислороду и соответствующим изменением

ионного окружения. Главную роль в сдвиге диссоционной кривой влево, вероятно, играют ионы магния – конкуренты АТФ, отрицательного модулятора сродства гемоглобина к кислороду. Величина эффекта Бора может быть снижена в результате значительного защелачивания внутриэритроцитарной среды путем обмена ионов натрия на протоны. Несмотря на регистрируемое уменьшение поглощения кислорода из воды рыбами, уровень кислорода в крови для организма оказался избыточным. Об этом свидетельствовало снижение концентрации калия в эритроцитах, отрицательно коррелирующей с содержанием кислорода в крови и количеством оксигемоглобина. Уменьшение концентрации кальция в эритроцитах, вероятно, в первую очередь диктовалось необходимостью стабилизации цитоскелета.

б) Действие сильных непродолжительных стрессоров.

Опыты проводились на леща и щуке. Из известных нам стрессоров наиболее сильное неблагоприятное воздействие оказывали отлов и транспортировка. У рыб в этих условиях наблюдалось максимальное содержание катехоламинов в крови, истощение запасов гормонов в хромаффинной ткани более чем на 90% и максимальное отклонение ионного состава внутренней среды и других тканей в сторону снижения концентрационных градиентов на мембране клеток, например, обратимые гипонатриемия и гиперкалиемия достигали, соответственно, 30 и 150%. В первые часы транспортировки в небольшом объеме воды и при недостатке кислорода в эритроцитах леща содержание калия повышалось, а магния снижалось (Рис. Б). В результате 7-14 сут акклимации в благоприятных условиях концентрация ионов калия возвращалась к исходному значению, а содержание магния, напротив, повышалось почти в 2 раза. Сродство гемоглобина к кислороду и величина эффекта Бора у леща были самыми низкими во время отлова, когда отмечена самая высокая концентрация натрия в эритроцитах. В ходе транспортировки рыб и при акклимации эти показатели увеличивались, соответственно, в 3-2 и 1,5-2 раза (регистрировали при обеих концентрациях буферного раствора и обеих величинах рН). При этом концентрация натрия в эритроцитах снижалась в среднем в 1,5 раза. Вероятно, значительную роль в сдвиге диссоционной кривой влево у акклимированных рыб играют ионы магния.

При содержании рыб после отлова в небольших объемах воды в условиях аутогенной гипоксии и резкого повышения температуры воды на 10°C и более, сродство гемоглобина к кислороду у леща и щуки увеличивалось в 2-3 раза в сравнении с тем уровнем, что рыбы имели сразу после отлова. Концентрация магния в эритроцитах снижалась в 1,4-1,6 раза, а уровень калия и натрия близок к норме, но в ряде случаев содержание натрия могло непродолжительно увеличиваться не более, чем в 1,5 раза. Во всех случаях отмечено повышение эффекта Бора в 1,5 – 1,7 раза. Перед гибелью у рыб (при содержании кислорода в воде в среднем 2,5 мг/л) сродство гемоглобина к кислороду оставалось таким же высоким, и практически до самой смерти поддерживалось высокое содержание калия в эритроцитах, и мало изменялась концентрация других ионов. Более того, перед гибелью ионный гомеостаз эритроцитов сохранялся дольше, чем - внутренней среды и мозговой ткани. Так гипонатриемия и гиперкалиемия достигали, соответственно, 50 и 300%, а потери ионов из мозга могли превышать половину от исходных значений. При сильном остром стрессе обнаружена отрицательная корреляция между концентрацией ионов калия в эритроцитах леща и щуки и содержанием кислорода в воде. В начальный период сильного острого стресса (15 мин.) отмечено увеличение потребления кислорода примерно в 1,5 раза, однако в дальнейшем этот показатель снижался до уровня равного или более низкого, чем в контроле.

II. Подострый и хронический стресс.

Подострый стресс у леща, линя и карася вызывали содержанием рыб в неблагоприятных температурных условиях (с суточными колебаниями в 3°C около 20°C). Соотношение массы тела и воды 1:60 и меньше. Концентрация кислорода снижена на 20-30% от полного насыщения. Использовалась также неотстоенная водопроводная вода, был высок уровень шумовых и световых раздражителей. В этих условиях рыбы жили от нескольких дней до 3 недель. Поведение заторможенное, окраска тела темная, спинной плавник прижат к туловищу, возможны язвы на теле от травм в процессе отлова и заболевания сапролегнией. В этих условиях отмечалось низкое сродство гемоглобина к кислороду и невысокий эффект Бора, близкие к тем, что наблюдались сразу после отлова рыб из природной среды. Содержание ионов в эритроцитах также практически не отличалось от тех значений, что регистрировали у рыб сразу после отлова. Концентрация натрия в плазме крови снижена на 20%, уровень калия – близок к нормальным значениям.

Хронический стресс вызывали длительным (от 1 до 3 мес) содержанием рыб в неблагоприятных условиях: обычно при повышенном фоне световых и шумовых раздражителей, невысокой гипоксии и/или повышенной плотности посадки и/или в небольших объемах воды. Поведение рыб несколько заторможено, окраска тела может быть близка к нормально светлой, регистрировали также пониженное потребление кислорода. Сродство гемоглобина к кислороду у леща, щуки, линя и карася в этих условиях было в 2-3 раза выше того, что регистрировали сразу после отлова рыб из естественной среды, а эффект Бора увеличен почти в 2 раза. Установлена обратная зависимость концентрации калия в эритроцитах от содержания кислорода в окружающей среде. Концентрация натрия ниже, а магния выше, чем у рыб после отлова. У каждого вида рыб при стрессе обнаружена отрицательная корреляция между содержанием натрия в эритроцитах и величиной эффекта Бора.

Состояние организма, возникающее при действии сильных и/или продолжительных стрессоров и сопровождающееся усилением катаболических процессов и понижением неспецифической устойчивости организма, определяется как патологический стресс (Аршавский, 1982). При действии сильных и/или продолжительных стрессоров наблюдалось уменьшение ионных концентрационных градиентов на мембранах клеток и ослабление активных ионных потоков, то есть происходили изменения в системе водно-солевого равновесия, противоположные такому при действии несильных непродолжительных стрессоров. Характер изменения содержания ионов в эритроцитах у рыб при патологическом стрессе также, главным образом, противоположен такому при физиологическом, за исключением динамики кальция. Концентрация магния колебалась около нижней своей границы, а калия, напротив, - верхней. Уровень натрия мог быть как пониженным, так и непродолжительное время – повышенным. Хотя указанные ионы, несомненно, обеспечивают оптимальные условия для функционирования гемоглобина, однако главная роль в изменении сродства гемоглобина к кислороду при остром и подостром патологическом стрессе, вероятно, принадлежит изменению содержания АТФ в эритроцитах, а при хроническом стрессе, вероятно, также еще формированию фракций гемоглобина с другими свойствами.

III. Реакция на непродолжительные воздействия в условиях подострого и хронического стресса.

Влияние *слабых непродолжительных стрессоров* на гемоглобиновую систему исследовали на леще, карасе и лине. Небольшие физические нагрузки (хэндлинг) и введение невысоких доз адреналина (0.05 мг/кг и ниже) рыбам в условиях подострого и хронического стресса практически не вызывали изменений функциональных свойств гемоглобина и ионного состава эритроцитов. Лишь однажды у леща при 0.005M и pH

6.6 буферного раствора наблюдали повышение сродства гемоглобина к кислороду в 1,1-2 раза, сопровождающееся повышением содержания магния (на 37%), натрия (50%) и калия (8%). Снижались интенсивность двигательной активности и скорость потребления кислорода. Трехдневная тренировка рыб к невысокой гипоксии (20% увеличивала сродство гемоглобина к кислороду по типу патологического стресса, т.е. сочетании с повышением эффекта Бора и с характерной для патологического стресса динамикой концентрации ионов в эритроцитах Аутогенная гипоксия продолжительностью до 2 ч. отдельно, либо в сочетании с введением низких доз адреналина приводила к сдвигу диссоционной кривой вправо: сродство уменьшалось в 1,1-2 раза. Уровень натрия в эритроцитах повышался почти в 2 раза, концентрация калия находилась в пределах нормы, содержание магния снижалось почти на 10%. Сдвиг диссоционной кривой гемоглобина вправо наблюдали также у рыб через 1,5 ч после окончания действия сильной 15 мин нагрузки. Уменьшение сродства гемоглобина к кислороду обычно коррелировало с уменьшением эффекта Бора; повышением потребления кислорода. В качестве *сильной, кратковременной нагрузки* на лебце, карасе и лине применяли резкое повышение температуры воды на 20°C помещение рыб в дистиллированную воду в сочетании с сильными механическим раздражителями, введение высоких (до 7 мг/кг) доз адреналина. Влияние этих факторов изучали в течение 15 мин и 1,5 ч. После сильных нагрузок наблюдали повышение сродства гемоглобина к кислороду (в 1,1- 1,4 раза), более выраженное через 15 мин чем через 1,5 ч. Эффект Бора уменьшался в первые минуты, но увеличивался через 1,5 ч. Содержание магния всегда снижалось (до 50%), уровень натрия был повышенным (до 30%) в первые минуты, концентрация калия оставалась близкой к норме.

Таким образом, только в нормальном физиологическом состоянии под действием слабых, непродолжительных нагрузок возможно повышение сродства гемоглобина к кислороду, коррелирующее с уменьшением эффекта Бора, увеличением содержания магния и натрия в эритроцитах и снижением калия, а также с уменьшением потребления кислорода. При подостром и хроническом стрессе рыбы оказывались нечувствительными к дополнительным несильным непродолжительным воздействиям.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Преобладающая стратегия в адаптации гемоглобиновой системы к стрессовым нагрузкам различной дозы и природы у рыб, находящихся изначально в нормальном физиологическом состоянии – повышение сродства гемоглобина к кислороду, обычно сопровождающаяся снижением потребления кислорода. Однако механизмы такой адаптации различны и зависят от силы и продолжительности стрессорного воздействия. Полученные данные позволяют заключить, что ионы магния в эритроците способствуют сдвигу диссоционной кривой влево при действии на рыб несильных непродолжительных нагрузок, их положительное модулирующее влияние несколько слабее при акклимации рыб к благоприятным искусственным условиям. Эффект Бора сродство гемоглобина к кислороду изменялись однонаправлено при патологическом стрессе и разнонаправлено - при физиологическом. Гемоглобиновая система рыб при подостром и хроническом стрессе практически не отвечала на дополнительные слабые непродолжительные раздражители. Дополнительные воздействия на рыб в условиях подострого и хронического стресса значительно чаще сдвигали диссоционную кривую гемоглобина вправо, чем такие же стрессоры у рыб в нормальном состоянии, что обычно сопровождалось повышением потребления кислорода. Реакция гемоглобиновой системы на очень сильные, но непродолжительные стрессоры сходна у рыб в различном состоянии. Полученные данные позволяют заключить, что ионы натрия

участвуют в изменении эффекта Бора у рыб при всех видах стресса. Не обнаружено однозначной связи между функциональными свойствами гемоглобина и концентрацией калия в эритроцитах, хотя существует отрицательная корреляция между последней и содержанием кислорода в воде.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 06-04-48282).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Аршавский И.А. Физиологические механизмы и закономерности индивидуального развития.- М.:Наука.,- 1982.- 270с.
- Запруднива Р.А. Влияние адреналина на содержание калия в плазме крови леща при стрессе и нересте // Биол. внутр. вод.- 2000.- № 4.- С. 133-139.
- Камшилов И.М. Методика определения функциональных свойств у рыб (влияние метгемоглобина и АТФ) // Биол. внутр. вод.-2001.- № 1.- С. 96-101.
- Константинов А.С. Влияние колебаний температуры на рост, энергетику и физиологическое состояние молоди рыб // Извест. АН РАН. Сер. биол.- 1993.-№ 1.- С. 55-63.
- Nikinmaa M. Membrane transport and control of hemoglobin oxygen affinity in nucleated erythrocytes // *Physiol. Rev.*- 1992.-V.72.- P. 301-321.

CHANGE OF RESPIRATORY FUNCTIONS OF RED BLOOD CELLS IN FRESH-WATER FISHES AT STRESS

Zaprudnova R.A., Kamshilov I.M.

We studied modification of functional properties of hemoglobin (affinity to oxygen, Bohr effect) and an ionic environment (concentration of sodium, potassium, magnesium, calcium ions in red blood cells) in bream, pikes, tench and crucian of the Rybinsk reservoir at stress. Dependence of red blood cells system adaptation from the starting functional condition of organism and stressful influence magnitude was determined.

УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫЕ И ТОКСИКОГЕННЫЕ МИЦЕЛИАЛЬНЫЕ ГРИБЫ - АССОЦИАНТЫ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ

Л.В. Зверева

Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток, Россия
e-mail: inmarbio@mail.primorye.ru

Исследование мицелиальных грибов, ассоциированных с двустворчатыми моллюсками имеет как фундаментальный интерес, так и большое практическое значение. С одной стороны, изучение таксономического состава мицелиальных грибов – ассоциантов моллюсков и их распределения на поверхности раковины и во внутренних органах животных является основой для выяснения характера взаимоотношений грибов с моллюсками, установления их трофических и топических связей и, в конечном итоге, определения роли мицелиальных грибов в метаболизме двустворчатых моллюсков. С другой стороны, многие виды мицелиальных грибов являются условно-патогенными организмами, вызывая микозы растений, животных и человека. Кроме того, многие штаммы мицелиальных грибов продуцируют микотоксины, способные вызывать микотоксикозы животных и человека.

Практический интерес обусловлен тем, что двустворчатые моллюски - важнейший объект промысла и марикультуры, используются в пищевых, лечебно-профилактических и других коммерческих целях. В связи с этим, исследования патогенных и токсикогенных грибов, заселяющих внутренние органы съедобных моллюсков необходимы для безопасного использования моллюсков в пищу, для предотвращения токсикоинфекций людей при употреблении зараженных грибами морепродуктов, а также для успешного развития хозяйств марикультуры.

Установлен таксономический состав мицелиальных грибов, ассоциированных с двустворчатыми моллюсками *Mytilus trossulus*, *Mizuhopecten yessoensis*, *Crenomytilus grayanus*, *Modiolus modiolus*, *Anadara broughtoni*, *Spisula sachalinensis*, *Corbicula japonica*. Выделено около 600 штаммов, идентифицировано 53 вида грибов, из них 7 видов сумчатых грибов, 41 вид анаморфных и 5 видов зигомиецетов. Из внутренних органов *Mizuhopecten yessoensis* выделено и идентифицировано 18 видов мицелиальных грибов, из *Modiolus modiolus* - 22 вида, из *Mytilus trossulus* - 4 вида, из *Crenomytilus grayanus* - 24 вида, из *Anadara broughtoni* - 1 вид, из *Spisula sachalinensis* - 3 вида, из *Corbicula japonica* - 10 видов (Zvereva, Vysotskaya 2003; Vysotskaya, Zvereva, 2004; Зверева, Высоцкая, 2005). Таксономический состав мицелиальных грибов - ассоциантов зависит от видовой принадлежности моллюска - "хозяина". Характер распределения мицелиальных грибов на поверхности раковины и во внутренних органах моллюска показал следующее. Биоразнообразие грибов на поверхности раковины моллюска, не имеющего явных патологий, выше, чем во внутренних органах. Так, у *Mizuhopecten yessoensis* на поверхности раковины обнаружено 9 видов грибов, в пищеварительной железе - 6 видов, в мантии - 7, в мускуле - 4, в жабрах - 3, в гонадах - 2, в почках - 1 вид грибов, что свидетельствует об избирательности в заселении грибами внутренних органов моллюсков. Наибольшее количество видов грибов обнаружено в пищеварительной железе и в мантии двустворчатых моллюсков, наименьшее - в почках. Количественные данные и особенности распределения мицелиальных грибов во внутренних органах моллюска свидетельствуют о степени его иммунной защиты. Физиолого-биохимические свойства грибов, а особенно способность образовывать биологически активные метаболиты, определяют характер воздействия мицелиальных грибов на организм моллюска - "хозяина". Из изученных видов двустворчатых моллюсков залива Петра Великого выделены мицелиальные грибы, которые характеризуются как - условно-патогенные и токсинообразующие грибы, способные вызывать микозы и микотоксикозы беспозвоночных и рыб

(виды рода *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Chaetomium*, и др.) (Sallenave-Namont et al., 2000; Grovel et al., 2003);

- продуценты протеолитических ферментов (напр., виды рода *Cladosporium*), что косвенно свидетельствует о их патогенности (Pivkin, 2000);
- продуценты гемолитических метаболитов (напр., виды рода *Chaetomium*), что обуславливает их патогенные свойства (Худякова и др., 2000);
- продуценты антибиотических веществ (напр., виды родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Mucor*), что обуславливает их конкурентоспособность с другими микроорганизмами (Pivkin, 2000).

Большинство видов мицелиальных грибов, изолированных из органов двустворчатых моллюсков, относится к группе условно - патогенных грибов, среди них представители родов *Aspergillus* (*A. niger*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. ochraceus*, *A. Versicolor*, *A. nidulans*, и др.), *Penicillium* (*P. citrinum*, *P. simplicissimum*, *P. commune* и др.), *Cladosporium* (*C. cladosporioides*, *C. sphaerospermum*, *C. oxisporum*, и др.), *Stachybotrys* (*S. chartarum*), *Alternaria* (*A. alternata*, *A. tenuissima*, и др.), *Aureobasidium* (*A. Pullullanii*), *Trichoderma* (*T. viride*, *T. koningii*, и др.), *Chaetomium* (*Ch. globosum*, *Ch. funicola*, и др.), *Mucor* (*M. racemosum*, *M. circinelloides*), *Rhizopus* (*Rh. nigricans*), и другие. Обнаруженные во внутренних органах моллюсков виды грибов родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Stachybotrys*, *Alternaria*, *Trichoderma*, *Chaetomium*, *Rhizopus* и другие известны как возбудители глубоких и оппортунистических микозов как у человека и наземных животных, так и у морских беспозвоночных и рыб. Так, выделенные из морских голотурий - дальневосточного трепанга, кукумарии японской мицелиальные грибы *Cladosporium brevicompactum*, *C. sphaerospermum* обладают выраженной протеолитической активностью, что косвенно свидетельствует о их патогенности (Pivkin, 2000). Грибы, принадлежащие к роду *Cladosporium*, изолировали из гиперплазированного эпителия жабр у трески, *C. cladosporioides* был обнаружен на омарях, а *C. sphaerospermum* был выделен из осьминога (Strongman et al., 1997). При исследовании эпизоотий у коралла *Gorgonia ventalina* изолирован гриб *Aspergillus sydowii* (Slattery, 1999). Данные виды грибов являются продуцентами микотоксинов: афлатоксинов (*A. flavus*, *A. parasiticus*), ократоксинов (*A. ochraceus*), стеригматоцистинов (*A. versicolor*, *A. nidulans*), глиотоксинов (*A. fumigatus*) и др., и способны вызывать микотоксикозы как у человека, так и у животных из наземных и морских местообитаний. Так, грибы рода *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. parasiticus*) вызывают афлатоксикозы культивируемых ракообразных (Sindermann, Lightner, 1988), *A. fumigatus* продуцирует глиотоксин, накапливающийся в мягких тканях культивируемого во Франции двустворчатого моллюска *Mytilus edulis* (Grovel et al., 2003). В составе грибов-ассоциантов двустворчатых моллюсков нами обнаружены полисапробные сумчатые грибы рода *Chaetomium*, способные образовывать гемотоксины, обуславливающие их патогенные свойства (Зверева, Высоцкая, 2005; Худякова и др., 2000). Миколого - токсикологические исследования мускула *Mytilus edulis* показывают, что присутствие токсикогенных грибов в моллюсках представляет реальный риск отравления людей при употреблении зараженных морепродуктов (Sallenave-Namont et al., 2000). Микобиотический мониторинг моллюсков из различных районов залива Петра Великого показал, что видовое обилие условно - патогенных и токсинообразующих мицелиальных грибов во внутренних органах моллюсков возрастает в загрязненных прибрежных водах. Так, из внутренних органов *Modiolus modiolus* и *Crenomytilus grayanus*, собранных в загрязненных тяжелыми металлами биотопах Уссурийского залива (Японское море), выделено 35 видов грибов, из них 83 % - условно-патогенные и токсинообразующие виды из родов *Aspergillus* - 12, *Penicillium* - 10, *Chaetomium* - 7 видов (Зверева, Высоцкая, 2005).

Таким образом, в загрязненных биотопах вследствие снижения иммунной защиты организма моллюска в его органах аккумулируются условно-патогенные и токсико-генные мицелиальные грибы. Поскольку обследованные двустворчатые моллюски являются важнейшими объектами промысла и марикультуры, представляет большой научный и практический интерес всестороннее исследование микобиоты моллюсков, установление роли мицелиальных грибов в патологическом процессе у гидробионтов, а также осуществление контроля за накоплением микотоксинов в тканях моллюсков.

Исследования микобиоты моллюсков выполнены при финансовой поддержке грантов ДВО РАН "Реакция морской биоты на изменение природной среды и климата", "Биологическая безопасность Дальневосточных морей России. Биотоксины", ЦПК ДВО РАН "Микроорганизмы Дальнего Востока России: систематика, экология, биотехнологический потенциал".

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Зверева Л.В., Высоцкая М.А. Мицелиальные грибы - ассоцианты двустворчатых моллюсков из загрязненных биотопов Уссурийского залива Японского моря // Биология моря. 2005. Т. 31. № 6. С. 443 - 446.

Худякова Ю.В., Пивкин М.В., Кузнецова Т.А., Свсташев В.И. Грибы грунтов Японского моря (Российское побережье) и их биологически активные метаболиты. // Микробиология. 2000. Т. 69, № 5. С. 722 - 726.

Grovel O., Y.F. Pouchus, J.-F. Verbist. Accumulation of gliotoxin, a cytotoxic mycotoxin from *Aspergillus fumigatus*, in blue mussel (*Mytilus edulis*) // *Toxicon*. 2003. N 42. P. 297-300.

Pivkin M. V. Filamentous Fungi Associated with Holothurians from the Sea of Japan, off the Primorye Coast of Russia // *Biol. Bull.* 2000. V. 198. P. 101-109.

Sallenave-Namont C., Pouchus Y.F., Robiou du Pont T., Lassus P., Verbist J.F. Toxicogenic saprophytic fungi in marine shellfish farming areas // *Mycopathologia*. 2000. V. 149. P. 21-25.

Sindermann C.J., Lightner D.V. Disease diagnosis and control in North American marine aquaculture. Elsevier Science Publishers: Amsterdam New-York London. 1988. 431 pp.

Slattery M. Fungal pathogenesis of the sea fan *Gorgonia ventalina*: direct and indirect consequences // *Chemocology*. 1999. Vol. 9. P. 97 - 104.

Strongman D.B., Morrison C.M., McClelland G. Lesions in the musculature of captive American plaice *Hippoglossoides platessoides* caused by the fungus *Hormoconis resinae* (Deuteromycetes) // *Dis. Aquat. Org.* 1977. Vol. 28. P. 107 - 113.

Vysotskaya Maria A., Loubov V. Zvereva. Filamentous fungi associated with bivalve mollusks from Peter the Great Bay (Sea of Japan, Russia). Abstracts of the Conference Mollusks of the Northeastern Asia and Northern Pacific: Biodiversity, Ecology, Biogeography and Faunal History, October 4-6, 2004. Vladivostok, Russia, Vladivostok: Dalnauka, 2004. P. 166 - 167.

Zvereva L.V., M.A. Vysotskaya. Filamentous Fungi Associated with Bivalve Mollusk *Corbicula japonica* Prime. Marine environment: Nature, communication and business. International conference. // Korea Maritime University. Vladivostok, June 2, 2003. P.48.

PATHOGENIC AND TOXICOGENIC FILAMENTOUS FUNGI ASSOCIATED WITH BIVALVE MOLLUSKS

Loubov V. Zvereva

Taxonomic composition of filamentous fungi, associated with the bivalves *Mytilus trossulus*, *Mizuhopecten yessoensis*, *Crenomytilus grayanus*, *Modiolus modiolus*, *Anadara broughtoni*, *Spisula sachalinensis*, *Corbicula japonica* has been established. About of 600 strains have been isolated, and 53 fungi species have been identified, including 7 species of *Ascomycetes*, 41 species of anamorphous fungi and 5 species of *Zygomycetes*. Physiological properties of fungi, especially their heterotrophic feeding, determine the nature of filamentous fungi effect on the host mollusk organism. Filamentous fungi were isolated from the organisms of the examined bivalves. Isolated fungi can be characterized as (1) conventionally pathogenic and toxin producing fungi, able to cause mycoses and mycotoxicoses of invertebrates and fish (species of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Chaetomium*, and other genera); (2) producers of proteolytic ferments (for example, species of *Cladosporium* genus), which stipulates their pathogenic properties; (3) producers of hemolytic metabolites (for example, species of *Chaetomium* genus), which testifies to pathogenic nature of these fungi; (4) producers of antibiotic substances (for example, species of *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Mucor* genera), which stipulates their competitiveness.

ВЛИЯНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРЛЕЙКИНА -2 (RIL-2) НА ПОКАЗАТЕЛИ БЕЛОЙ КРОВИ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ СТЕРЛЯДИ (*ACIPENSER RUTHENUS*) ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА

Касаева С.Ю., Судакова Н.В., Савенкова Е.Н.

ФГУП НПЦ по осетроводству «БИОС», ул. Володарского, 14 а, 414000, г. Астрахань. Россия. E-mail: bios94@mail.ru.

В настоящее время разработано достаточно много методов и препаратов, направленных на предупреждение и лечение заболеваний рыб в условиях аквакультуры. Относительно быстрый эффект, достигаемый использованием химиопрепаратов в борьбе с инфекционными заболеваниями рыб, их доступность и простота применения, привели к широкому внедрению в рыбоводство антибиотиков, сульфаниламидов и антисептиков нитрофуранового ряда, как с лечебной, так и профилактической целью. Однако, использование антибактериальных препаратов может быть оправдано только в случаях действительно бактериальной инфекции, а также чувствительности возбудителя к данному препарату, подтвержденным лабораторным путем. Кроме того, многие антибиотики оказывают отрицательное влияние на естественные факторы иммунитета. Так, левомицетин, полимиксин, вибромицин, ампициллин угнетают опсонофагоцитарную систему иммунитета, осложняя течение гнойно-септических процессов. Гентамицин вызывает значительное угнетение реакций гуморального иммунитета: активности антителообразования на 72% и образования комплексов антиген-антитело на 79% и т.д. [1], а окситетрациклин вызывает у осетровых рыб выраженную эозинофилию, свидетельствующую о аллергизации [2]. В аквакультуре также применяют вещества, обладающие иммуностимулирующими свойствами: глюкан, хитин, лактоферрин и левамизол. Кроме того, иммуностимулирующий эффект может возникать при использовании витаминов В, Е, С, гормона роста, пролактина и трийодтиронина. Однако, применение некоторых препаратов, в том числе обладающих иммуностимулирующим действием, может иметь некоторые ограничения и порой вполне объективные. Так, все препараты, перечисленные выше невозможно применять при отсутствии питания у рыб, так как они используются в качестве добавок в корм.

В связи с этим особую актуальность приобретает профилактика и лечебная терапия экологически чистыми, безопасными для человека медикаментозными средствами группы иммуномодуляторов, обладающих как иммуностимулирующими, так и иммуносупрессивными свойствами, причем на определенных этапах рыбоводного процесса, когда применение других препаратов невозможно по каким-либо причинам [2; 3; 4].

Экспериментальную работу с производителями стерляди проводили на производственной базе ФГУП НПЦ «БИОС» с 10.05.06 по 13.06.06 г. Для постановки эксперимента были сформированы 3 группы рыб, средняя масса которых составляла 1,47 кг. Созревание икры стимулировали двукратной инъекцией синтетического аналога гонадотропин - рилизинг гормона ЛГ-РГ- люлюберина «Сурфагон» (Мосагроген, Россия). Прижизненное получение овулировавшей икры у производителей осуществляли методом С.Б. Подушки (1996). В группе «опыт 1» 10-ти рыбам после проведения операции вводили рекомбинантный интерлейкин-2 (rIL-2) в дозе 3000 ед./кг массы тела; группе «опыт 2» 11-ти рыбам - 5000 ед./кг. RIL-2 вводили подкожно, двукратно с интервалом между инъекциями 24 часа, непосредственно после взятия крови из хвостовой вены. Самкам стерляди из группы «контроля» (10 экз.) после операции не вводили каких-либо препаратов. Все рыбы имели индивидуальные метки,

которые закреплялись на первом костном луче грудных плавников, кроме того, для страховки индивидуального мечения дополнительно пробивали плавники.

Перед оперативным вмешательством у производителей определяли размерные весовые показатели, и был проведен клинический осмотр. Взятие крови от рыб трех групп осуществляли прижизненно, пункцией хвостовой вены, за 10 дней до оперативного вмешательства, непосредственно после получения половых продуктов через 7, 14 суток, после инъектирования Ронколейкином.

Микроскопия мазков крови подопытных производителей стерляди показала, что начале эксперимента лейкограммы рыб были в пределах физиологических норм относительно идентичны, так как достоверных различий не выявлено (таблица 1).

Таблица
Лейкоцитарная формула производителей стерляди в условиях эксперимента (%)

Вариант	Сутки	Лимфоциты	Моноциты	Эозинофилы	Сегментоядерные нейтрофилы	Палочкоядерные нейтрофилы
Опыт 1	-10	77,42±2,59	2,33±0,93	1,25±0,48	5,92±1,63	13,08±1,85
Опыт 2		73,85±2,74	1,95±0,37	0,80±0,30	6,15±0,91	17,25±2,28
Контроль		70,01±6,77	3,20±0,64	1,00±0,22	8,00±1,72	17,79±5,25
Опыт 1	0	61,75±9,40	1,00±0,32	3,25±0,96	5,50±2,04	28,50±8,53*
Опыт 2		63,55±6,14	1,45±0,29	4,20±0,82	7,10±1,26	23,70±5,44*
Контроль		69,80±3,17	1,10±0,24	4,20±1,50	5,40±0,37	19,50±2,80
Опыт 1	7	54,50±6,81	1,00±0,32	2,08±0,59	10,58±2,46	31,83±5,88*
Опыт 2		73,05±2,71*	1,40±0,24	4,45±0,75	5,35±0,93	15,75±1,87
Контроль		54,40±5,56	3,00±0,32	6,00±1,82	9,60±2,06	27,00±5,87*
Опыт 1	14	55,05±5,62	1,15±0,26	3,61±0,45	18,00±5,05	22,20±1,97
Опыт 2		69,50±1,77	1,35±0,24	4,00±0,54	10,40±1,67	14,75±1,24
Контроль		58,40±3,97	0,90±0,40	6,50±1,41	10,10±1,83	24,10±4,83

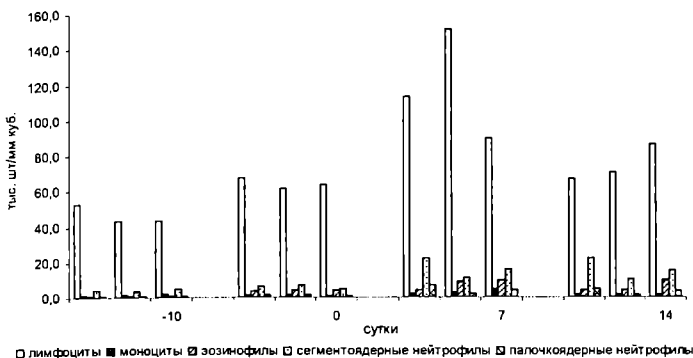
Примечание-«*» - различия достоверны (p<0,05)

Однако, при анализе мазков обнаружено, что 72±6,8% эозинофилов были дезгранулированными, т.е при сохранении целостности клеточной стенки количества эозинофильного катионного белка было крайне низким, что свидетельствует о наличии цитотоксического эффекта. Несмотря на это, соотношение клеточных элементов белой крови было в пределах физиологической нормы. Об относительной физиологической норме можно говорить на основании всех приведенных гематологических, физиологических и иммунологических данных и ихтиопатологического осмотра. В дооперационный период лейкоцитарный профиль у производителей стерляди характеризовался явным доминированием лимфоцитов - 52,6; 42,8; 43,4 тыс.шт./мкл и крайне низким количеством эозинофилов - 0,9; 0,5; 0,6 тыс.шт./мкл, соответственно по группам рыб (опыт 1), (опыт 2) и контроль.

На нулевые сутки по данным лейкограмм наблюдали достоверное (p<0,05) перераспределение профиля в сторону нейтрофилии у всех групп оперированных особей, при этом основную долю нейтрофильных гранулоцитов составляли палочкоядерные формы. Однако, в абсолютном значении количество нейтрофилов осталось на прежнем уровне, составляя при этом 1,6; 1,6, 0,9 тыс.шт./мкл соответственно по группам опыт-1, опыт-2, контроль (рисунок 1).

Также увеличилось содержание эозинофилов у рыб из первой опытной группы: 2,6 у второй - 5,3, у контрольных в 4,2 раза, а в абсолютном значении количество эти:

клеток возросло до 3,3; 4,0 и 3,8 тыс.шт./мкл, соответственно. Несмотря на то, что анализ лейкограмм свидетельствует о снижении относительного числа лимфоцитов в первом и во втором опытных вариантах в 1,3 и 1,2 раза, а в контроле оно осталось почти на прежнем уровне, их абсолютное количество возросло на 8,5; 29,9; 30,9%, соответственно по группам. Абсолютное количество моноцитов в крови несколько снизилось в среднем с 1,5 до 1,1 тыс.шт./мкл.



Примечание - «*» - различия достоверны ($p < 0,001$); 1 - (опыт 1); 2 - (опыт 2); 3- контроль
 Рисунок 1 - Лейкоцитарный профиль крови стерляди в условиях эксперимента в тыс.шт/мкл.

На седьмой день исследований в лейкоцитарной формуле у рыб из группы, пронъецированных IL-2 в дозе 5 тыс.ед./кг обнаружено увеличение количества лимфоцитов при $p < 0,05$, у особей из первой опытной и контрольной, продолжалось снижение количества лимфоцитов и увеличение числа палочкоядерных, сегментоядерных форм нейтрофилов. При этом абсолютное число лимфоцитов в крови продолжало повышаться, достигая значений - 109,0; 149,8; 89,2 тыс.шт./мкл, соответственно по группам рыб: опыт 1, опыт 2, контроль. Это, по-видимому, объясняется усилением воспалительной реакции после хирургического вмешательства. Абсолютное число моноцитов также имело тенденцию к повышению. Однако данный показатель у рыб из контрольной группы был на 59,3 и 41,7% выше, чем у производителей стерляди из опытных групп. Видимо у рыб группы контроля был инфекционный процесс, поэтому и происходила активация моноцитарно-макрофагального комплекса. Активная пролиферация лимфоцитов у рыб из первого и второго опытных вариантов, вероятно, обусловлена активным влиянием ключевого провоспалительного цитокина (IL-2).

К четырнадцатым суткам картина лейкоцитарной формулы сохранялась, но отмечено снижение абсолютного числа лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов, палочкоядерных и сегментоядерных форм нейтрофилов практически до первоначальных показателей. При этом, у рыб из группы контроля зарегистрировано превышение числа эозинофилов в среднем на 43,2%, лимфоцитов - на 20,5% относительно опытных групп. Таким образом, анализ лейкоцитарной формулы крови стерляди подтверждает более раннюю регенерацию поврежденных тканей яйцеводов после оперативного вмешательства у производителей, которым двукратно был введен иммуномодулятор в дозе 5 тыс.ед./кг массы тела.

Для оценки способности палочкоядерных нейтрофилов к фагоцитозу был проведен лизосомально-катионный тест, в котором определяли содержание лизосомальных катионных белков (ЛКБ) по среднему штирхимическому коэффициенту (СЦК).

В начале эксперимента состояние производителей стерляди по среднему цитохимическому коэффициенту было оценено в 4 балла (хорошо).

Таблица

Лизосомально-катионный тест нейтрофилов в крови производителей стерляди в условиях эксперимента

Вариант	сутки			
	-10	0	7	14
контроль	0,73±0,04	0,64±0,08	0,50±0,05*	0,51±0,07*
Опыт 1	0,68±0,09	0,70±0,09	0,57±0,07*	0,58±0,07*
Опыт 2	0,65±0,04	0,67±0,05	0,77±0,06*	0,75±0,05*

Примечание - «*» - различия достоверны (p<0,05)

На 7-е и 14-е сутки выявлены различия (p<0,05) показателей СЦК ЛКТ по введению rIL-2 между второй опытной и первой опытной, контрольной группами производителей производителей стерляди из этих групп был оценен в 3 бал (удовлетворительно). Коэффициент корреляции между СЦК ЛКТ нейтрофилов уровнем лимфоцитов в крови производителей стерляди составил - 0,79.

Таким образом, обнаружено, что влияние rIL-2 на показатели белой крови производителей осетровых рыб имеет дозозависимый характер. Показано, что rIL способствует активной регенерации поврежденных тканей осетровых рыб при хирургической травматизации и более ранним сроком репарации. Зарегистрировано позитивное влияние rIL-2 на клеточный иммунитет в первую очередь на активную пролиферацию лимфоцитов и восстановление фагоцитарной функции нейтрофильных гранулоцитов осетровых рыб и их гибридов. Координируя межклеточные взаимодействия, он обеспечивает повышение устойчивости к вторичным инфекциям.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Видсин В.Н. Антисептики и антибиотики в оперативной хирургии// Ветеринария – Вып. 9 2004.- С. 46-53
2. Касаева С.Ю. Судакова Н.В., Письменная О.А., Савенкова Е.Н., Дегтярев А.И. Предоперационная иммунокоррекция гибрида (белуга х стерлядь) в условиях индустриального рыбоводства //Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития: Материал докл. IV Междунар. науч. практ. конф., 13-15 марта. Астрахань.- М.: Изд-во ВНИРО, 2006 С.254-257.
3. Касаева С.Ю., Судакова Н.В. К вопросу о необходимости осуществления санитарно профилактических мероприятий при индустриальном выращивании осетровых рыб// Вестн Кабардино-балкарского университета. Серия Биологические науки - Вып.7 –Нальчик: Каб. Балк. ун-т., 2005.- С.104-107.
4. Касаева С.Ю. Письменная О.А., Савенкова Е.Н. Основные периоды иммунокоррекции молоди гибрида русский осетр х сибирский осетр ранних сроков получения на первом году жизни //Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития: Материалы докл. I Междунар. науч. практ. конф., 13-15 марта. Астрахань.- М.: Изд-во ВНИРО, 2006. С.247-251.

INFLUENCE OF RECOMBINANT INTERLEUKIN-2 (rIL-2) ON THE WHITE BLOOD INDICES OF STERLET BREEDERS (*ACIPENSER RUTHENUS*) AFTER SURGERY

Kasaeva S.Yu., Sudakova N.V., Savenkova E.N.

The white blood indices of Sterlet breeders before and after life-saving roe extraction surgery are given in the article. The influence of recombinant interleukin-2 (rIL-2) on the redistribution of leukocyte ratio in fish blood and the change in the functional activity of neutrophilic granulocytes characterizing early tissue reparation after surgery is shown. A positive effect of rIL-2 on Sterlet breeders by means of stimulation of immune control cell proliferation is determined.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ИХТИОПАТОЛОГИИ АКВАКУЛЬТУРЫ КНР (ОБЗОР КИТАЙСКОЙ НАУЧНОЙ ПЕРИОДИКИ)

Кондратьева И.А.¹, Рябов В.Б.², Гуй Лянъсин².

1. *Международный учебно-научный биотехнологический центр МГУ им. М.В. Ломоносова. 119992, Москва, Ленинские горы, д.1, корп. 12*
2. *МГУ им. Ломоносова. 119992, Москва, Ленинские горы, д.1, корп. 12*

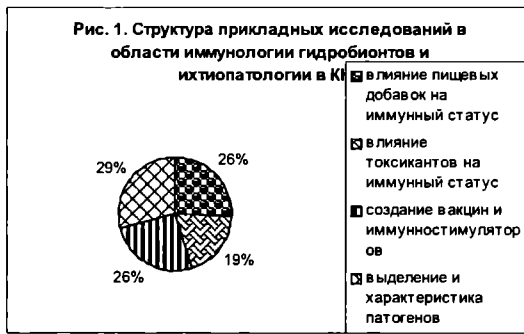
В настоящее время массовые инфекционные заболевания ценных видов гидробионтов (рыб, креветок, моллюсков), содержащихся в условиях аквакультуры, наносят значительный экономический ущерб во многих странах мира. Для борьбы со вспышками массовых инфекций необходимо проведение комплексных исследований, имеющих целью выделение патогенов, их характеристику, изучение особенностей взаимодействия с организмом хозяина и хода инфекционного процесса, создание вакцин и иммунных препаратов. Кроме того, первоочередное значение имеет наблюдение за иммунным статусом культивируемых гидробионтов, в том числе за изменением параметров иммунитета в зависимости от условий содержания и кормления.

В последние годы аквакультура КНР развивается быстрыми темпами. В 2006 году Китай производил 37-38% от общего объема мировой аквакультуры. В связи с этим исследования в области иммунопатологии и вакцинации приобретают в этой стране все большую роль из-за периодических вспышек инфекционных заболеваний у культивируемых видов рыб и ракообразных. Актуальным является анализ основных направлений научной деятельности лабораторий, занимающихся исследованием фундаментальных и прикладных вопросов здоровья и болезней гидробионтов в Китае.

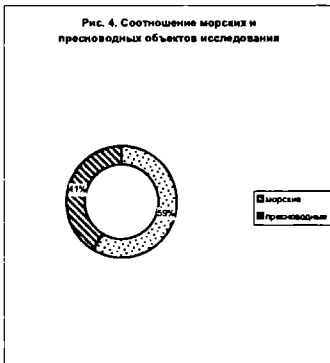
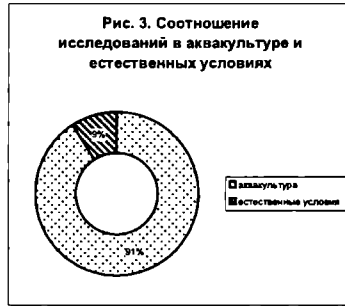
В российском и англоязычном Интернете практически отсутствуют работы по ихтиопатологии, проводимые в КНР. В связи с этим для обзора современного состояния исследований в этой области представляется важным анализ китайской периодики за последние несколько лет. Составление подобного обзора имеет целью определение соотношения фундаментальных и прикладных исследований, количества и взаимосвязей лабораторий, а также приоритетных направлений в области ихтиопатологии и иммунологии гидробионтов.

В Китае на 2007 год существует более 40 научных центров, занимающихся проблемами аквакультуры и, в той или иной мере, вопросами иммунитета гидробионтов. Однако, несмотря на развитую аквакультуру, исследования в области ихтиопатологии в КНР фрагментарны. Комплексные исследования по диагностике инфекционных заболеваний культивируемых рыб и вакцинации проводятся в Исследовательском институте рыбного хозяйства Перл-Ривер, Исследовательском Рыбохозяйственном институте Южно-Китайского моря (г. Гуанчжоу) и в Главной лаборатории мариккультуры Океанского университета Китая (г. Циндао). В остальных институтах по данным анализа публикаций за 2001-2007 гг. выполняются отдельные исследования по разработке пищевых добавок и иммуностимуляторов, выделению и характеристике патогенных штаммов, а также экотоксикологии (рис. 1).

Систематизированные фундаментальные исследования строения и функционирования иммунной системы рыб ведутся в Исследовательском центре биотехнологии рыб Института гидробиологии Китайской академии наук (г. Вухань). Для КНР характерно активное сотрудничество между институтами и лабораториями по выполнению совместных исследований.



Структура ихтиопатологии в Китае ориентирована на прикладные исследования (рис 2), связанные с разработкой вакцин и иммуностимуляторов. При этом подавляющая часть работ выполняется на объектах пресноводной аквакультуры (представители семейства *Acipenseridae*, видов *Carassius auratus gibelio*, *Anguilla Anguilla*, *Ictalurus punctatus*, *Macrobrachium nipponense*) и мариккультуры (*Pseudosciaea crocea*, *Scophthalmus maximus*, *Lateolabrax japonicus*, *Lutjanus sanguineus*, *Chlamydomonas farreri*, *Litopenaeus vannamei*, *Penaeus monodon*) (рис. 3 и таблица 1).



На объектах, не являющихся видами аквакультуры (*Oreochromis Nilotica*, *Spinibarbus sinensis*, *Boleophthalmus pectinirostris*), проводятся модельные эксперименты по оценке влияния антропогенного загрязнения на иммунный статус гидробионтов.

Таблица 1. Объекты исследований в области иммунологии гидробионтов и ихтиопатологии в КНР

Таксономическая группа	Латинское название	Русское название
Костные рыбы (Osteichthyes)	<i>Acipenser schrencki</i>	Осстр амурский
	<i>Acipenser sinensis</i>	Осстр китайский
	<i>Anguilla Anguilla</i>	Угорь европейский
	<i>Bolcophthalmus pectinirostris</i>	Илистый прыгун
	<i>Carassius auratus gibelio</i>	Карась серебряный
	<i>Stenopharyngodon idellus</i>	Карп травяной
	<i>Epinephelus akaara</i>	Групер
	<i>Fugu obscurus</i>	Фуру
	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	Карп серебряный
	<i>Ictalurus punctatus</i>	Сом канальный
	<i>Lateolabrax japonicus</i>	Судак морской японский
	<i>Lutjanus erythropterus</i>	Луциан розовый
	<i>Lutjanus sanguineus</i>	Луциан горбоголовый
	<i>Monopterus albus</i>	Угорь рисовый
	<i>Oreochromis Niloticus, O. Aureus</i>	Тилapia
	<i>Paralichthys olivaceus</i>	Камбала японская
	<i>Plecoglossus altivelis</i>	Айю
	<i>Pseudosciaena crocea</i>	Горбыль
	<i>Rachycentron canadum</i>	Коббия
	<i>Scophthalmus maximus</i>	Тюрбо
<i>Siniperca chuatsi</i>	Окунь китайский	
<i>Sparus macrocephalus</i>	Спарус	
<i>Spinibarbus sinensis</i>	Барбус	
<i>Trachinotus ovatus</i>	Трахинот	
Моллюски (Mollusca)	<i>Chlamys farreri</i>	Гребешок
	<i>Cyclina sinensis</i>	
	<i>Haliotis discus Hanmai</i>	Морское ушко
	<i>Haliotis diversicolor</i>	Морское ушко
<i>Pinctada martensii</i>	Устрица	
Ракообразные (Crustacea)	<i>Litopenaeus vannamei</i>	Креветка белая тихоокеанская
	<i>Macrobrachium nipponense</i>	Креветка восточная речная
	<i>Penaeus monodon</i>	Креветка тигровая

В связи с тем, что большая часть научных центров Китая, занимающихся проблемами аквакультуры, расположена на морском побережье, преобладают работы по морским гидробионтам, особенно по рыбам (рис. 4, рис. 5).

В центре внимания ихтиопатологов КНР – вирусные и бактериальные заболевания гидробионтов, ведущие к массовой гибели в аквакультуре. Чаще других выделяют и исследуют возбудителей вибриоза (*Vibrio anguillarum*, *Vibrio alginolyticus* и другие виды рода *Vibrio*) и аэромоназа (*Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*). Среди вирусных патогенов наибольшее внимание уделяется нодавирусным и иридовирусным инфекциям рыб (таблица 2).

В аквакультуре ракообразных наибольшей проблемой остается инфекция, вызываемая вирусом синдрома белых пятен (семейство *Nimaviridae*). Вспышки этого заболевания наносят значительный урон креветочным хозяйствам. Разработка методов диагностики и терапии синдрома белых пятен ведется в Океанском университете Китая и Исследовательском рыбохозяйственном институте Желтого моря (г. Циндао).

Таблица 2. Патогены рыб и беспозвоночных, исследуемые в КНР

Группа патогенов	Название	Заболевание
Бактериальные	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Аэромоноз рыб
	<i>Aeromonas sobria</i>	
	<i>Proteus mirabilis</i>	Кожные язвы рыб
	<i>Pseudomonas maltophilia</i>	Псевдомоноз рыб
	<i>Vibrio vulnificus</i>	Вибриоз рыб
	<i>Vibrio harveyi</i>	
	<i>Vibrio anguillarum</i>	
<i>Vibrio alginolyticus</i>		
Вирусные	Нодавирусы	Нодавирусная инфекция рыб
	Вирус синдрома белых пятен	Синдром белых пятен креветок
	Иридовирусы	Иридовирусная инфекция рыб
Паразитарные	<i>Cryptocaryon irritans</i>	Криптокариоз рыб
Грибковые	<i>Mycor sp</i>	Мукоромикоз рыб

Суммируя данные проведенного литературного анализа, можно охарактеризовать особенности исследований в области здоровья и болезни гидробионтов за период 2001-2007 гг. по китайскому Интернету.

ВЫВОДЫ

1. В КНР характерно преобладание прикладных работ над фундаментальными и проблемам здоровья и болезням гидробионтов
2. Приоритетными являются работы по патогенезу и диагностике массовых инфекционных заболеваний рыб в аквакультуре
3. Установлено, что в Китае имеется небольшое число крупных исследовательских центров по ихтиопатологии и иммунологии гидробионтов, однако существует широкое сотрудничество между институтами и лабораториями в этой области.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Chang O.Q., Shi C.B., Ma H., Pan H.J., Yu D.G., Wu S.Q. (2006) Histopathological study on lymphocystis disease of *Rachycentron caradum*. *Journal of Fishery Sciences of China*, 13, 45-62
2. Ding S.H., Wang Y.D., Peng Y.Y., Sun H.C., Deng L.P., Li Y.W., (200) Immunogenicity and protective effects of an oral vaccine microparticle against *aeromonas hydrophila* in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Journal of South China Agricultural University (natural science)*, 27, 501-508
3. Ding S.H., Wang Y.D., Peng Y.Y., Sun H.C., Deng L.P., Li Y.W., (2006) Virus diseases and control methods of *Scophthalmus maximus*. *Reservoir Fisheries*, 26, 332-338
4. Gao P., Wu J., Gu B., Hu N.T., (2007) Discuss on security problem of using drug disease prevention and cure of aquaculture animal. *Feed industry*, 28, 164-169
5. Lin M., Yang X.L., Xue H., Cao H.P., Qiu J.Q., (2006) Effect on Fish Cell Lines as Pathogens by *Bdellovibrio BDH21-02 Strain*. *Journal of Shanghai fisheries university*, 33, 127-132

CURRENT STATE OF CHINESE AQUACULTURE IN ASPECT OF ICTHIOPATHOLOGY (REVIEW OF CHINESE SCIENTIFIC PERIODICALS)

I.A. Kondratieva, V.B. Ryabov, Lian Xing Gui

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia e-mail: iakondratieva@yandex.ru

In our review, research labs of Institutes and Universities at Chinese Academy of Fishery Sciences dealing with problems of ichthyopathology were analyzed. The list of main species and their pathogens in Chinese aquaculture was composed. Comparative analysis was made.

РОЛЬ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ В НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЕ РЫБ. ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ И ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА АКТИВНОСТЬ ПРОТЕИНАЗ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА.

Кузьмина В.В., Ушакова Н.В.

*Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанова РАН, Борок,
Ярославской обл.*

Систематизированы данные, касающиеся роли пищеварительной системы в неспецифической защите рыб. Описана роль структурного и функционального барьеров пищеварительного тракта, механизмов детоксикации, а также влияние температуры и тяжелых металлов (цинк, медь) на активность протеиназ желудка и кишечника, выполняющих роль функционального барьера.

Ранее анализировалась роль защитной функции пищеварительного тракта, а также зависимости иммунологического статуса от эффективности питания рыб [3, 5]. При этом подчеркивалось, что факторы, влияющие на структурно-функциональные характеристики пищеварительной системы, могут влиять не только на неспецифический, но и специфический иммунитет рыб [7]. В указанной работе приводились данные, полученные при стандартной температуре (20°C). Однако у рыб процесс пищеварения протекает в широком диапазоне температур, причем температура оказывает различное влияние как на активность разноименных ферментов у рыб одного вида, так и одноименных ферментов у рыб разных видов [2, 5, 12]. Кроме того, в последние годы было показано, что различные антропогенные факторы, в том числе тяжелые металлы, значительно снижают активность пищеварительных гидролаз, в частности протеиназ [7, 8]. Особый интерес представляет изучение раздельного и сочетанного влияния на активность протеиназ температуры и таких эссенциальных металлов, как цинк и медь, которые в небольших количествах необходимы организму, в значительных – токсичны. Однако содержание меди и цинка в естественной пище может превышать потребности рыб, достигая 10-20 и 40-50 мг/кг, в искусственной – 300, 480 и даже 600 мг/кг сухого веса корма [10].

Защитная функция пищеварительного тракта. В настоящее время твердо доказана важная роль пищеварительного тракта рыб в защите внутренней среды организма не только от кишечных бактерий, вирусов, паразитов, различных ксенобиотиков и пищевых антигенов, но также от белков и пептидов пищи [13]. Для рыб описана многоуровневая система неспецифической защиты пищеварительного тракта, включающая структурный и энзиматический барьеры [3], препятствующие транзиту через апикальную мембрану энтероцитов не только бактерий и надмолекулярных агрегаций, но и молекул с большой молекулярной массой, таких, как белки, входящие в состав пищи и одновременно являющиеся питательными веществами и мощными аллергенами. Помимо структур пищеварительного тракта (микроворсинки, гликокаликс, плазматическая мембрана), защитными свойствами обладает слизь, выделяемая бокаловидными клетками. Не менее важную роль играет энзиматический барьер, обеспечивающий последовательную деградацию белков, гликопротеинов и гликолипидов до уровня мономеров, утрачивающих специфичность. Выделено десять уровней энзиматического барьера, а также восемь источников ферментов [3, 5]. Помимо пищеварительного тракта значительную роль в поддержании функции неспецифической защиты пищеварительной системы играет печень (гепатопанкреас) рыб, осуществляющая конечные этапы детоксикации различных веществ, в том числе тяжелых металлов.

Степень развития отдельных механизмов защиты у рыб разных видов различна и в значительной мере определяется характером их питания. У видов, потребляющих

значительное количество белка (типичные и факультативные ихтиофаги), активность протеиназ значительно выше, чем у рыб, относящихся по типу питания к другим экологическим группам, пища которых содержит меньше высокомолекулярных белковых компонентов. При этом у ихтиофагов, не размельчающих жертву увеличивается роль индуцированного аутолиза, за счет которого в тканях жертвы разрушается от 50 до 90% пептидных связей от суммарной активности одноименных гидролаз трофических партнеров [4, 5]. Это обстоятельство позволило прийти к заключению о том, что ферменты объектов питания компенсируют слабое развитие лимфоидной ткани у рыб [3].

Механизмы детоксикации тяжелых металлов. В пищеварительном тракте металлы могут быть изолированы в виде нерастворимых гранул, которые выводятся неповрежденными с фекалиями [15]. Другой путь детоксикации металлов – связывание их с термостабильными белками, отличающимися большим содержанием цистеина, металлотионеинами (МТ) и глутатиона, а также с рядом низко- и высокомолекулярных белков [21]. Если количество тяжелых металлов превышает связывающую способность белков, то они аккумулируются небелковыми соединениями [11]. МТ описаны более чем у 80 видов рыб и беспозвоночных животных [1]. Виды, вырабатывающие МТ аккумулируют металлы в 10-40 раз сильнее. Одной из важнейших характеристик МТ является гетерогенность, видоспецифичность и индуцибельность, причем они синтезируются не только в ответ на присутствие металлов, но и других агентов (гормоны, лекарства, спирты, цитокины, алкилирующие агенты, рентгеновское излучение, инфекции и другие химические и физические воздействия). Цинк – наиболее сильный индуктор МТ, медь – самый слабый [21]. Молекулярная масса МТ может значительно варьировать. Так, у радужной форели выявлены МТ молекулярной массой <3, 11, 30 и >70 кДа, причем цинк связывается преимущественно с низкомолекулярной фракцией (<3 кДа) [23]. Содержание МТ в тканях рыб зависит от концентрации металлов в пище. При введении в рацион молоди атлантического лосося меди в концентрации 5, 35 и 700 мг Cu/kg сухого корма увеличение содержания МТ печени (в 3.5 и 90 раз) отмечено только для рыб, получавших два последних варианта корма [14]. При этом концентрация МТ коррелирует со степенью загрязнения водной среды [22]. Увеличение концентрации МТ в печени плотвы может наблюдаться через 1 сут экспозиции рыб в среде, содержащей цинк и медь [19], а максимальное увеличение у ювенильных особей кижуча – через 4 [16] или 6 нед [18], у канального сомика – через 6 нед [20]. Затем отмечается стабилизация [18] или снижение их уровня [20]. На примере ювенильных особей кижуча показано, что при действии сублетальной концентрации Cu (150 мкг/л в течение 7 сут) период полураспада МТ равен 30 сут [17].

Влияние температуры и тяжелых металлов (цинк, медь) на энзиматический барьер. Поскольку активность протеиназ зависит от физико-химических условий гастроэнтеральной среды, для выяснения вопроса о степени влияния цинка и меди на функционирование энзиматического барьера рыб важно исследовать их действия на разные этапы протеолиза. Как подчеркивалось ранее, содержание меди и цинка в пресной воде значительно ниже, чем в пище рыб, а чувствительность их поведенчески реакций много выше чувствительности протеиназ [5]. Так, скорость пищевой реакции достоверно замедляется уже в присутствии 0.28 мг/л в случае цинка и 0.25 мг/л в случае меди, в то время как достоверное торможение ферментативной активности при этих концентрациях металлов наблюдается лишь в редких случаях, у большинства исследованных видов – в присутствии 25-50 мг/л металлов [7, 8]. До последнего времени эффекты тяжелых металлов оценивались при стандартной температуре обычно 20°C. Поскольку активность ферментов в значительной мере зависит от температуры, важно было оценить влияние цинка и меди на активность протеиназ

функционирующих в желудке и кишечнике рыб в диапазоне температур их жизнедеятельности. В связи с этим исследовали влияние цинка и меди в концентрации 10 мг/л, часто встречающейся в тканях объектов питания рыб [10] на активность аспартильных протеиназ слизистой оболочки желудка и сериновых протеиназ слизистой оболочки кишечника рыб разных видов и экологических групп (табл. 1, 2). Как показывает табл. 1, цинк, как правило, оказывает меньшее влияние, чем медь, а эффекты металлов несколько ниже при 20°C, чем при 0°C. При этом в 14 из 30

Таблица 1. Влияние цинка и меди на активность аспартильных протеиназ слизистой оболочки желудка рыб

Вид	Степень снижения ферментативной активности, %*					
	0°C		10°C		20°C	
	Zn	Cu	Zn	Cu	Zn	Cu
Щука	6	12	8	14	7	12
Судак	12	18	9	18	7	11
Окуль	6	15	5	17	6	8
Налим	7	11	8	11	8	9
Тюлька	26	33	17	19	6	18

* Здесь и в табл. 2 * - % от контроля, принятого за 100. Приведены значения, полученные при определении ферментативной активности в суммарных пробах слизистой оболочки от 5-7 экз. рыб (тюльки - 30 экз.) в 4-х повторностях.

случаев торможение активности не превышает 10%, в 14 - колеблется от 10 до 20% и лишь у тюльки значительно выше при 0°C. Важно, что у всех видов, кроме тюльки, присутствие металлов слабо влияет на эффекты температуры. Так, эффект цинка при 0°C увеличивается в пределах 4%, меди - на 3-6% по сравнению с таковым при 20°C.

Степень влияния этих металлов на активность сериновых протеиназ слизистой оболочки кишечника рыб значительно выше (табл. 2). Как показывает эта таблица, у большинства видов рыб эффекты металлов выше в случае трипсиноподобных (ТП) по сравнению с химотрипсиноподобными (ХП) протеиназами во всем диапазоне исследованных температур. Действительно, при 0°C в присутствии цинка активность ХП у рыб разных видов снижается на 9-37%, в то время как активность ТП - на 18-65%, в присутствии меди - 15-62 и 27-75% соответственно. Особо следует отметить, что у плотвы в присутствии обоих металлов, напротив, степень снижения активности ХТ выше, чем ТП. При 20°C в большинстве случаев негативные эффекты несколько ниже, чем при 0°C. Так, у окуня активность ХП при 0°C в присутствии цинка уменьшается на 36%, в присутствии меди - на 62%, при 20°C - на 17 и 39% соответственно. При этом степень воздействия металлов зависит от вида рыб, а также структуры фермента и субстрата, но не зависит от таксономического положения. Последнее может быть связано с тем, что количество цинка и меди, поступающих в кишечник в составе панкреатического сока и желчи, у рыб разных видов в разной степени увеличивает пул металлов. Также важно, что цинк и медь могут значительно подавлять активность пищеварительных гидролаз лишь в случае, когда механизмы детоксикации ослаблены и возможности организма образовывать хелатные комплексы недостаточны для связывания металлов, поступающих в пищеварительный тракт в форме неорганических соединений [1].

Приведенные результаты свидетельствуют о том, что наличие цинка и меди в корме, может снижать активность протеиназ желудочно-кишечного тракта, и эффективность начальных и промежуточных этапов гидролиза белковых компонентов пищи рыб. При этом температура слабо влияет на эффекты металлов в случае аспартильных протеиназ желудка у типичных ихтиофагов, а также ихтиофагов-факультативных бентофагов и в значительно большей степени подавляет активность

ферментов у планктофага-факультативного ихтиофага тюльки. Вместе с тем температурно-зависимые эффекты металлов на сериновые протеиназы не связаны типом питания рыб. Как подчеркивалось ранее, защитная функция пищеварительно тракта, а также иммунологический статус в значительной мере зависят эффективности питания рыб [1], что подтверждается данными Г.Д. Гончарова и В. Микрякова, свидетельствующими о том, что у голодающих карпов, не только низкие коэффициенты упитанности и содержание белка в сыворотке крови, но и интенсивность антителообразования, которая снижается в 8,4 раза [5]. При этом температура и тяжелые металлы, влияя на активность пищеварительных гидролаз, в большей степени воздействуют на неспецифический и специфический иммунитет безжелудочных бенто- и планктофагов по сравнению с типичными ихтиофагами.

Таблица 2 Влияние цинка и меди на активность сериновых протеиназ слизистой оболочки кишечника рыб

Вид	Степень снижения ферментативной активности, %					
	0°C		10°C		20°C	
	Zn	Cu	Zn	Cu	Zn	Cu
Химотрипсиноподобные протеиназы						
Щука	23	50	33	43	12	25
Судак	22	39	27	42	21	27
Окунь	36	62	39	54	17	39
Налим	9	15	9	13	7	13
Тюлька	24	41	26	29	20	26
Синц	13	35	28	34	5	16
Уклейка	19	50	20	39	4	35
Плотва	37	58	29	61	43	67
Лещ	17	30	25	39	30	56
Трипсиноподобные протеиназы						
Щука	65	75	38	49	58	62
Судак	46	61	17	36	17	24
Окунь	45	57	19	35	24	34
Налим	18	27	13	19	14	19
Тюлька	38	48	17	50	18	23
Синц	22	48	19	28	10	19
Уклейка	58	73	34	43	54	56
Плотва	18	48	14	25	5	29
Лещ	60	70	28	52	38	60

Таким образом, эффективность пищеварительной системы рыб, выполняющей помимо трофической функции, функцию неспецифической защиты организма токсической и аллергической агрессии, в значительной мере зависит от температуры наличия в пище таких тяжелых металлов, как цинк и медь. При этом низкая температура и высокие концентрации металлов негативно влияют на энзиматический барьер, обеспечивающий неспецифическую защиту рыб от белковой агрессии, система детоксикации, уменьшающая количество тяжелых металлов, может частично нивелировать их негативный эффект и увеличивать эффективность энзиматического барьера.

Работа выполнена при частичной поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 06-04-48170).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Коновалов Ю. Д. Реакция блоксинтезирующей системы рыб на наличие в организме катионов ртути, кадмия, меди и цинка // Гидробиол. ж. 2001. Т. 37. № С.95-105.

2. Кузьмина В.В. Температурные адаптации ферментов, осуществляющих мембранное пищеварение у пресноводных костистых рыб // Журн. Общ. Биол. 1985. Т.46. №6. С. 824-837.
3. Кузьмина В.В. Защитная функция пищеварительного тракта рыб // Вопр. ихтиологии. 1995. Т.35. №. 1. С.86-93.
4. Кузьмина В.В. Вклад индуцированного аутолиза в процессы пищеварения вторичных консументов на примере гидробионтов // Доклады РАН. 2000. Т. 339. №. 1. С.172-174.
5. Кузьмина В. В. Физиолого-биохимические основы экзотрофии рыб. М. Наука 2005. 300с.
6. Кузьмина В.В., Голованова И. Л. Влияние антропогенных факторов на активность пищеварительных ферментов рыб. // Биол. Внутр. Вод. 1997. №3. С. 71-76.
7. Кузьмина В.В., Шишин М.М., Смирнова Е.С. Влияние тяжелых металлов на функцию неспецифической защиты пищеварительного тракта рыб // В кн.: Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб. М.: Россельхозакадемия. 2004. С. 101-111.
8. Кузьмина В.В., Шишин М.М., Корюкаева Н.В., Наумова М.А., Ботяжова О.А. Влияние цинка и меди на активность протеназ пищеварительного тракта у ряда видов пресноводных костистых рыб // Биол. Внутр. Вод. 2005. №4. С.102-109.
9. Микряков В. Р. Закономерности формирования приобретенного иммунитета у рыб. Рыбинск. Изд.: ИББ РАН. 1991.154с.
10. Остроумова И.Н. Биологические основы кормления рыб. СПб.:ГосНИОРХ. 2001. 372с.
11. Столяр О. Б., Курант В. З., Хоменчук В. А., Грубинко В. В. Характеристика низкомолекулярных серосодержащих соединений гепатопанкреаса карпа при интоксикации Cu и Zn // Гидробиологический журнал. 2003. Т. 39. N 4. С. 91-98
12. Уголев А.М., Кузьмина В.В. Пищеварительные процессы и адаптации у рыб. СПб.: Гидрометеоиздат. 1993. 238 с.
13. Уголев А.М. Иезуитова Н.Н, Тимофеева Н.М. Энзиматический барьер тонкой кишки // Физиол. журн. 1992. Т.78. №. 8 С.1-2.
14. Bemtssen M. H. G., Hylland K., Wendelaar Bonga S. E., Maage A. Toxic levels of dietary copper in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) part // Aquat. Toxicol. 1999. Vol. 46. № 2. P.87-99.
15. Laskowski R., Hopkin S.P. Accumulation of Zn, Cu, Pb and Cd the garden snail (*Helix aspersa*): implication for predators // Environ. Pollution. 1996. V.91. №3. P.289-297.
16. McCarter J. A., Roch M. Hepatic metallothionein and resistance to copper in juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) // Comp. Biochem. Phys. 1983. V.74. №1. P.133-138.
17. McCarter J. A., Roch M. Chronic exposure of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) to sublethal concentrations of copper: 3. Kinetics of metabolism of metallothionein // Comp. Biochem. Phys. 1984. V. 77. №1. P. 83-88.
18. McCarter J. A., Matheson A. T., Roch M., Olafson R. W., Buckley J. T. Chronic exposure of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) to sublethal concentrations of copper: 2. Distribution of copper between high-molecular-weight and low-molecular-weight proteins in liver cytosol and the possible role of metallothionein in detoxification // Comp. Biochem. Phys. 1982. V. 72. № 1. P. 21-26.
19. Paris-Palacios S., Biagianti-Risbourg S., Foley A., Vernet G. Metallothioneins in liver of *Rutilus rutilus* exposed to Cu²⁺. Analysis by metal summation, SH determination and spectrofluorimetry // Compar. Biochem. Physiol. 2000. V. 126 C. Is. 2. P. 113 – 122.
20. Perkins E. J., Griffin B., Hobbs M., Gollon J., Wolford L., Schlenk D. Sexual differences in mortality and sublethal stress in channel catfish following a 10 week exposure to copper sulfate // Aquat. Toxicol. 1997. V. 37. № 4. P. 327-339.

21. Pourang N., Dennis J.H., Ghourchian H. Tissue distribution and redistribution of trace element in shrimp species with the emphasis on the roles of metallothionein. *Ecotoxicology*. 2004. V.13. P. 519-533.
22. Roch M., McCarter J. A. Hepatic metallothionein production and resistance to heavy metals by rainbow trout (*Salmo gairdneri*) held in a series of contaminated lakes // *Comp Biochem. Physiol.* 1984. V. 77. № 1. P. 77-82.
23. Spry D. J., Wood C. M. The influence of dietary and waterborne zinc on heat-stable metallothionein ligands in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson: Quantification by cadmium-109 radioassay and evaluation of the assay // *J. Fish Biol.* 1989. V.35. №4. P. 557-576.

**ROLE OF DIGESTIVE SYSTEM IN NONSPECIFIC PROTECTION OF FISHES.
INFLUENCE OF TEMPERATURE AND HEAVY METALS ON PROTEINASE ACTIVITY
OF DIGESTIVE CANAL.**

Kuz'mina V.V., Ushakova N.V.

I.D.Papanin Institute for Biology of Inland Waters of the Russian Academy of Science, Borok,
Yaroslavl prov.

The data concerning a role of digestive system in nonspecific protection of fish are systematized. Role of structural and functional barriers of digestive canal, mechanisms of detoxication, as well as influence of temperature and heavy metals (zinc, copper) on proteinase activity of stomach and intestines which is carrying out a role of a functional barrier are described.

СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕННОСТИ ОРГАНОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ БАЙКАЛЬСКОЙ НЕРПЫ *PUSA SIBIRICA*

Кутырев И.А.¹, Пронина С.В.^{1,2}

¹Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ, Россия

²Бурятский государственный университет, Улан-Удэ, Россия

e-mail: sankaar@biol.bsc.buryatia.ru

Байкальская нерпа – эндемик и единственное водное млекопитающее озера Байкал. Нерпа является конечным звеном в трофической цепи водоема, оказывает огромное влияние на функционирование экосистемы озера и служит прекрасным индикатором не только рыбных запасов, но и биоценоза в целом, включая антропогенное воздействие (Пастухов, 1989; Петров, 1999; Бодоев и др., 2003).

Цель настоящей работы – дать аналитический обзор состояния изученности иммунной системы байкальской нерпы по имеющимся, в том числе авторским, публикациям и сформулировать задачи дальнейших исследований по этой проблеме.

Научные исследования, посвященные байкальской нерпе, за период с 1771 по 2007 гг., изложены более чем в 600 научных публикациях (Кутырев и др., 2006а). Сведения по органам и тканям иммунной системы (тимус, групповые лимфоидные узелки (лимфоидные бляшки), паховые и брыжеечные лимфатические узлы, селезенка, кровь) изложены в 25 научных работах.

Тимус. Гистоморфологические особенности тимуса даны по работам Л.М. Ерофеевой (2003, 2004), Э.В. Дондитова, Г.П. Ламажаповой (2007). Тимус байкальской нерпы, в отличие от тимуса других млекопитающих, состоит не из двух, а из четырех долей. Две доли грудные и две – шейные. Соединительнотканная капсула тимуса нерпы толстая, плотная, содержит большое количество клеток фибробластического ряда, тогда как у других млекопитающих она тонкая, с немногочисленными клетками фибробластического ряда. Паренхима тимуса имеет типичное дольчатое строение.

Плотность распределения клеток на единице площади гистологического среза неодинакова в структурно-функциональных зонах тимуса имеют. Максимальная плотность – в глубоких слоях коркового вещества, минимальная – в мозговом веществе. Преобладающей клеточной формой в тимусе являются лимфоциты (80–90%). Количество митотически делящихся клеток достигает 1,2%. Количество гибнущих клеток находится на уровне 5-6%. Кроме того, в подкапсульной зоне и мозговом веществе содержатся плазматические клетки, а также эозинофильные и нейтрофильные гранулоциты.

Строение тимуса было изучено на различных этапах постнатального онтогенеза. У животных 2-летнего возраста дольки различных размеров. Мозговое вещество обычно сильно фрагментировано. У нерпы 3-летнего возраста мозговое вещество компактное, имеет центральное расположение в дольке. У молодых нерп наблюдается четко выраженная кортико-медуллярная граница. Тимус нерпы 8 лет также имеет выраженное дольчатое строение, однако, дольки более крупные, чем у 2- и 3-летних животных, и расположены рыхло. Междольковые перегородки широкие и заполнены жировой и фиброзной тканью. Небольшие скопления жировых клеток выявляются в дольках тимуса под капсулой, и в виде мощных жировых разрастаний окружают орган снаружи. Кортико-медуллярная граница плохо определяется. Наличие мощного соединительнотканного каркаса может быть связано с условиями среды обитания. В тимусе нерпы всех возрастов преобладает корковое вещество. Доля его в тимусе уменьшается с возрастом животных. В то же время относительная площадь мозгового вещества не изменяется. В тимусе взрослых нерп (8 лет) увеличивается доля соединительнотканнных элементов и сосудов. Площадь капсулы больше в 1,6 раза, а

площадь сосудов – в 3 раза. Таким образом, с возрастом у нерп появляются признаки возрастной инволюции.

Групповые лимфоидные узелки (лимфоидные бляшки) подвздошной кишки были исследованы Д.Е. Григоренко (2002, 2003, 2004). Она установила, что в зависимости от возраста животного, каждая бляшка состоит из 5-12 крупных лимфоидных узелков, залегающих в слизистой оболочке и подслизистой основе кишки. Все лимфоидные узелки в составе бляшки имеют широкие центры размножения, вокруг которых отсутствует типичная мантийная зона. Каждый лимфоидный узелок в составе бляшки заключен в своеобразный каркас из пучков соединительной ткани, с более тонкой волокнистой структурой у молодых нерп и грубыми, рыхлыми соединительнотканскими волокнами у взрослых животных.

Концентрация малых лимфоцитов в куполе в 3 раза больше, чем в остальных зонах. Митотически делящиеся клетки в 5 раз чаще встречаются в герминативных центрах, чем в куполе и в межузелковой зоне. В отличие от других зон, в межузелковой зоне отмечено наибольшее число плазматических клеток и гранулоцитов. В герминативных центрах и межузелковой зоне значительную долю (почти 25%) составляют деструктивно измененные клетки. Также выявлена максимальная доля макрофагов.

Возрастные различия в микротопографии лимфоидных бляшек подвздошной кишки проявляются в более низком содержании лимфоидных узелков у взрослых нерп (8 лет), чем у молодых животных (2-3 года). У взрослых животных диаметр лимфоидных узелков бляшки в 1,5-2 раза меньше, а расстояние между узелками больше, чем у молодых нерп. В паренхиме групповых лимфоидных узелков подвздошной кишки байкальской нерпы в возрасте 2-3 лет преобладают молодые формы клеток и средние лимфоциты.

Лимфатические узлы. Структурная организация и клеточный состав паховых лимфатических узлов описаны В.А. Флоренсовым (1964, 1966). По этим данным, в лимфатических узлах не выражена граница между корковым и мозговым веществом. Синусы тонкие, щелевидные, часто лишены синцития. В паренхиме содержится огромное число однотипных фолликулов, находящихся на одной стадии цикла. На одном из полюсов фолликулов видны плотные скопления лимфоцитов. Типичные мозговые тяжи прослеживаются лишь на некоторых участках. Среди клеток часто попадаются эритроциты. Макрофагов и бластов мало, много лимфоцитов (93%). По сравнению с аналогичными узлами других хищных животных, мало ретикулярных клеток.

Изучению организации брыжеечных лимфатических узлов посвящены работы И.А. Кутырева и соавт., 2003, 2004 (а, б, в), 2006б; И.А. Кутырева, 2004, 2005; Л.М. Ерофеевой и соавт., 2004). Эти исследования выявили следующие особенности: сильное развитие соединительной ткани; большая площадь, занимаемая лимфоидными узелками; высокое содержание среди них вторичных лимфоидных узелков; большая доля, занимаемая мозговым веществом; наличие широких межклеточных пространств.

Клеточный состав брыжеечных лимфатических узлов байкальской нерпы во всех возрастных группах характеризуется наличием большого числа малодифференцированных форм клеток (лимфобластов и больших лимфоцитов) в центрах размножения лимфоидных узелков; исключительно высоким содержанием плазматических клеток; превышением количества плазмобластов над количеством плазмоцитов; превышением числа малых лимфоцитов над числом средних лимфоцитов почти во всех структурно-функциональных зонах; преобладанием средних и малых лимфоцитов в корковом веществе, по сравнению с мозговым; высоким содержанием ретикулярных клеток; наличием небольшого числа эозинофилов; более высокой плотностью распределения клеток в корковом веществе, по сравнению с мозговым веществом.

По нашим данным, в постнатальном онтогенезе брыжеечные лимфатические узлы байкальской нерпы претерпевают следующие возрастные изменения структурной организации: увеличение относительной площади соединительнотканного компонента; уменьшение доли, занимаемой корковым веществом; уменьшение относительной площади лимфоидных узелков, в том числе вторичных лимфоидных узелков. Проявляется тенденция к возрастному снижению корково-мозгового индекса. В процессе постнатального онтогенеза происходит снижение числа средних лимфоцитов и ретикулярных клеток, увеличение числа плазматических клеток; уменьшение числа больших лимфоцитов, увеличение содержания малых лимфоцитов в корковом веществе; снижение числа деструктивно измененных и разрушенных клеток в центрах размножения лимфоидных узелков; уменьшение числа малых лимфоцитов в мозговом веществе.

С.В. Прониной с соавт. (2006) были изучены также изменения содержания тучных клеток в лимфатических узлах при заражении гельминтами. У особой, зараженных нематодой *Contracaecum osculatum baikalensis*, среднее количество тучных клеток в лимфатических узлах, расположенных у желудка и 12-перстной кишки, в поле зрения в 2 раза больше, по сравнению с незараженными. Проведенный морфометрический анализ показал, что у незараженных нерп 2/3 (71%) от всей популяции тучных клеток составляют темные и очень темные формы, то есть клетки насыщенные биологически активными веществами. На долю светлых клеток и очень светлых приходится лишь 1/3 от всей популяции тучных клеток. У зараженных животных эти показатели имеют обратный характер, на темные и очень темные клетки приходится лишь 1/3 (29%) клеток от всей популяции, а на светлые и очень светлые - 71%. Преобладание относительного количества темных клеток над светлыми является показателем активного накопления биологически активных веществ в популяции тучных клеток в лимфатических узлах здоровых животных. В то же время значительное преобладание светлых и очень светлых клеток у животных при язвенной болезни, вероятно, обусловлено активным выделением биологически активных веществ, это подтверждается и показателями индекса дегрануляции тучных клеток у больных животных. При анализе индекса дегрануляции тучных клеток было установлено, что сильно дегранулированные клетки у здоровых нерп составляют менее 10%, у зараженных животных относительное содержание этих клеток в 5,5 раза выше. В целом, полученные данные по количеству клеток, насыщению их гранул биологически активными веществами и индексу дегрануляции, свидетельствуют об активном участии тучных клеток в регуляторных механизмах язвенного контрацекоза у байкальского тюленя.

Селезенка. По данным С.В. Прониной, А.Ю. Фелюшкиной (2005), С.В. Прониной (2006) общий план строения селезенки щенков нерпы сходен с таковой других млекопитающих, но отличается более толстой капсулой, покрывающей орган с поверхности и значительным развитием трабекул. В органе уже имеются все основные лимфоидные образования белой пульпы: лимфоидные узелки и лимфоидные муфты, макрофагально-лимфоидные эллипсоиды. Однако небольшое количество лимфоидных фолликул, их небольшие размеры, отсутствие в них реактивных центров, слабая выраженность периартериальных лимфоидных муфт указывает на то, что структура лимфоидной ткани не достигает полной морфологической зрелости у щенков нерпы, которые еще продолжают питаться молоком матери. Наличие незрелых форм эритроцитарного и мегакариоцитарного рядов свидетельствует о том, что эритропоэз и активный тромбоцитопоэз в селезенке нерпы продолжается и после рождения. У других млекопитающих, как известно, эти процессы заканчиваются в период эмбриогенеза.

Кровь. Э.В. Дондитовым и соавт., (1999); Э.В. Дондитовым, С.Д. Жамсарановой (1999) у щенков (1,5 месяца) байкальской нерпы определены иммунокомпетентные

клетки крови. Было установлено, что относительное количество лейкоцитов в мазке крови составляет 26,2 %, количество Т-лимфоцитов – 31,7% от общего количества лимфоцитов. Фагоцитарная активность и интенсивность нейтрофилов по отношению к *Staph. aureus* составили соответственно 69,2% и 8,3%.

Заключение. Анализ литературных данных по изучению иммунной системы байкальской нерпы показал, что исследованиями охвачены: из центральных органов – тимус; из периферических органов и тканей – лимфатические узлы, селезенка, групповые лимфоидные узелки, кровь. По широте исследований изучение иммунной системы байкальской нерпы превосходит состояние изученности любого другого вида водных млекопитающих. Описаны возрастные особенности тимуса, лимфатических узлов, групповых лимфоидных узелков. Такие аспекты, как пол; сезон, в который происходил отбор материала, не были приняты во внимание.

По нашему мнению, в дальнейших исследованиях иммунной системы байкальской нерпы необходимо изучить другие иммунокомпетентные органы и ткани, прежде всего красный костный мозг; половые и сезонные особенности иммунных реакций разных органов и тканей. Кроме того, для более точной идентификации популяций иммунокомпетентных клеток, выявления классов иммуноглобулинов, цитокинов необходимо использование современных методик иммунологических исследований, к ним относятся: проточная цитофлюориметрия, иммуноцитохимия, иммуногистохимия и др.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Байкальская нерпа: паспорт и библиография / И.А. Кутырев, Н.М. Пронин, Л.С. Имхелова [и др.] – Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2006а. – 92 с.
2. Возрастные изменения морфологии брыжеечных лимфатических узлов байкальской нерпы / И.А. Кутырев, Л.М. Ерофеева, М.Р. Сапин [и др.] // Морфологические ведомости, 2004а - № 1-2 – С. 58.
3. Григоренко Д.Е. Возрастные особенности морфологии лимфоидной бляшки подвздошной кишки у байкальской нерпы / Д.Е. Григоренко // Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии. Сборник научных трудов НИИ морфологии человека РАМН. М., 2003. С. 66-69.
4. Григоренко Д.Е. Морфология групповых лимфоидных узлов подвздошной кишки у байкальской нерпы / Д.Е. Григоренко // Морфология. - 2002. - Т. 121. - № 2-3. - С. 4.
5. Григоренко Д.Е. Цитоархитектоника групповых лимфоидных узелков у молодых (неполовозрелых) байкальских нерп / Д.Е. Григоренко // Морфология. - 2004. - Т. 126. - № 4. - С. 127-128.
6. Дондитов Э.В. Исследование иммунокомпетентных клеток крови байкальской нерпы / Э.В. Дондитов, С.Д. Жамсаранова // Проблемы устойчивого развития региона: Тез. шк.-семинара молодых ученых. - Улан-Удэ, 1999. - С. 127-128.
7. Дондитов Э.В. Особенности микроскопической анатомии тимуса байкальской нерпы / Э.В. Дондитов, Г.П. Ламажапова // Экология в современном мире: взгляд научной молодежи: Мат-лы Всероссийский конф. молодых ученых. – Улан-Удэ, 2007. – С. 23-24.
8. Дондитов Э.В. Некоторые показатели иммунной системы щенков-кумуткан байкальской нерпы / Э.В. Дондитов, И.И. Оленникова, С.Д. Жамсаранова // Биология в пороге XXI века: Тез. докл. регион. научн. конф. - Улан-Удэ, 1999. - С. 127-128.
9. Ерофеева Л.М. Морфологическая характеристика тимуса байкальской нерпы различных возрастных групп / Л.М. Ерофеева // Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии: Сборник научных трудов НИИ морфологии человека РАМН. М. 2003. - С. 69-72.
10. Ерофеева Л.М. Характеристика клеточного состава морфофункциональных компонентов тимуса неполовозрелой байкальской нерпы / Л.М. Ерофеева // Морфология. - 2004. - Т.126. - № 4. - С. 47.
11. Кутырев И.А. Гистоморфологические показатели органов иммунной системы байкальской нерпы / И.А. Кутырев, Г.П. Ламажапова, С.Д. Жамсаранова

Научный и инновационный потенциал Байкальского региона глазами молодежи: Материалы науч. конф. – Улан-Удэ, 2003. – Ч. 2. – С. 32-35.

12. Кутырев И.А. Гистоморфология брыжеечных лимфатических узлов байкальской нерпы в постнатальном онтогенезе: Автореф. ... дис. канд. биол. наук / И.А. Кутырев. – Улан-Удэ, 2005. – 23 с.

13. Кутырев И.А. Цитологические особенности брыжеечного лимфатического узла новорожденных особей байкальской нерпы / И.А. Кутырев // Актуальные аспекты экологической, сравнительно-видовой, возрастной и экспериментальной морфологии: Матер. междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию профессора Вениамина Яковлевича Суетина. – Улан-Удэ, 2004. – С. 110-111.

14. Микроанатомические особенности лимфоидных органов нерпы – эндемика экосистемы озера Байкал / И.А. Кутырев, Г.П. Ламажапова, Л.М. Ерофеева [и др.] // Научные основы сохранения водосборных бассейнов: Матер. междунар. конф. – Улан-Удэ, 2004б. – Ч. 1. – С. 156-157.

15. Основные параметры мониторинга здоровья популяции байкальской нерпы / Н.В. Бодоев, Н.М. Пронин, Е.А. Петров [и др.] // Закон Российской Федерации "Об охране озера Байкал как фактора устойчивого развития Байкальского региона": Матер. междунар. конф. - Иркутск: Изд-во ИГ СО РАН, 2003. - С. 65-67.

16. Особенности морфологии и цитоархитектоники брыжеечных лимфатических узлов у взрослых особей байкальской нерпы / Л.М. Ерофеева, С.Д. Жамсаранова, И.А. Кутырев [и др.] // Вестник новых медицинских технологий, 2004. – Т. XI, - № 3. – С. 18-20.

17. Пастухов В.Д. Важнейший объект биологического мониторинга / В.Д. Пастухов // Охота и охот. х-во – 1989. - №5. - С. 13-15.

18. Петров Е.А. Современное состояние популяции байкальской нерпы *Pusa sibirica*: линейно-весовые характеристики / Е.А. Петров // Зоолог. Журн. – 1999. - Т.79, - № 9. – С. 1117 – 1124.

19. Пронина С.В. Морфофункциональная характеристика селезенки шенков байкальской нерпы (*Pusa sibirica* Gmel.) / С.В. Пронина // Морфология. 2006. № 3. С. 56-58.

20. Пронина С.В. Морфофункциональные особенности селезенки байкальской нерпы (*Phoca sibirica* Gmel.) / С.В. Пронина, А.Ю. Фелюшкина // Вестник БГУ: Сер. Биология, Вып. 7. - Улан-Удэ: Изд-во Бурятского госуниверсита, 2005.- С. 208 – 210.

21. Сравнение микроанатомических и цитологических характеристик брыжеечного лимфатического узла полувзрослых и взрослых особей байкальской нерпы (*Pusa sibirica*) / И.А. Кутырев, Г.П. Ламажапова, Л.М. Ерофеева [и др.] // Зоологический журнал. – 2006б. – Т. 85, № 7. – С. 886-892.

22. Флоренсов В.А. Кроветворная функция лимфатических узлов в онтогенезе и эволюции позвоночных / В.А. Флоренсов // Арх. анат. – 1966. – Т. 51. - № 9. – С. 48-60.

23. Флоренсов В.А. Филогенез и онтогенез кроветворной функции лимфатических узлов позвоночных животных: Дисс. ... докт. биол. наук / В.А. Флоренсов. – Иркутск-Москва, 1964. – 214 с.

24. Цитологические особенности брыжеечного лимфатического узла подростков байкальской нерпы / И.А. Кутырев, Г.П. Ламажапова, Л.М. Ерофеева [и др.] // Актуальные проблемы морфологии: Сб. науч. тр. – Красноярск, 2004в. - С. 161-162.

STATE OF INVESTIGATING OF BAIKAL NERPA *PUSA SIBIRICA* IMMUNE SYSTEM ORGANS

I.A. Kutyrev, S.V. Pronina

Analyze of scientific articles about investigations of Baikal nerpa immune system organs has done. Analyze has shown that thymus, lymph nodes, spleen, gut associated tissue, blood were explored. It is ordered to use modern methods as flow cytofluorimetry, immunocytochemistry, immunohistochemistry etc. to exposure of classes of antibodies and cytokines.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ НЕКОТОРЫХ ИММУНОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ РЕЦИПРОКНЫХ ГИБРИДОВ (F₁) ПЛОТВЫ И СИНЦА

Лапирова Т.Б., Микряков В.Р., Слынько Ю.В.

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН
Борок Ярославской обл. ltb@ibiw.yaroslavl.ru

В работе представлен сравнительный анализ некоторых иммунофизиологических показателей реципрокных гибридов плотвы и синца. Установлено, что по ряду параметров, характеризующих степень напряженности врожденного иммунитета, гибриды имели более высокие значения, чем родительские виды. При этом между гибридными группами рыб были также выявлены существенные различия по некоторым морфофизиологическим и иммунологическим показателям. Полученные результаты также позволяют считать, что исследование исследуемых признаков идет в основном по отцовской линии.

Изучение наследования устойчивости рыб к заболеваниям представляет огромный практический интерес. По мнению В.С. Кирпичникова (1987) высокий уровень резистентности в большей степени обеспечивается хорошим иммунофизиологическим состоянием, т.е. в конечном счете, условиями обитания рыб, чем генотипом. При этом зарубежными учеными, занимающимися изучением данного аспекта селекционных программ, высказывалось мнение, что некоторые факторы устойчивости (защитная функция кожи и слизистых оболочек; активность пищеварительных ферментов; количество и активность лейкоцитов; протективные свойства сыворотки крови и т.д.) имеют, вероятно, генетическую основу (Wolf, 1953). В то же время, именно множественность факторов, определяющих естественную резистентность организма, видимо, и приводит к тому, что в результате проведения селекционных программ уровень устойчивости к возбудителям болезней повышается, но она никогда не бывает абсолютной (Price, 1985).

Если вопросы наследования устойчивости рыб в целом изучены еще недостаточно, то сведений об иммунном статусе гибридов разных видов рыб практически нет. Как известно, в естественных условиях отдаленная гибридизация в подавляющем большинстве случаев встречается у карповых. Исходя из вышеизложенного, целью настоящей работы стал анализ особенностей структурно-функционального состояния иммунной системы реципрокных гибридов (F₁) плотвы (*Rutilus rutilus*) и синца (*Abramis ballerus*), проведенный на основе исследования показателей клеточного и гуморального иммунитета, а также выявления тенденций наследования некоторых механизмов естественной резистентности

Материал и методы исследования.

Работу проводили в конце мая, для опыта использовали гибриды, полученные в результате реципрокного скрещивания - плотва х синец (ПхС) и синец х плотва (СхП) (здесь и далее в работе первым называется материнский вид) в возрасте 1+. У рыб определяли вес, длину тела и длину по Смитту, индексы иммунокомпетентных органов, содержание в них лизоцима, бактериостатическую активность сыворотки крови (БАСК), а также просчитывали лейкоцитарную формулу периферической крови.

Выбор указанных иммунологических признаков обусловлен тем, что они отражают состояние врожденного иммунитета и наиболее часто используются при осуществлении селекционно-генетических работ и оценке степени сопротивляемости к агрессивным факторам среды биотического и абиотического происхождения (Weeks et al., 1989), а используемые нами показатели массы и длины тела свидетельствуют о характере и активности физиологических процессов, обеспечивающих пластический и энергетический обмена (Яржомбек и др., 1986).

Индексы внутренних органов рассчитывали как отношение массы органа к общей

массе тела, выраженное в процентах. Метод учета бактериостатических свойств сыворотки крови основан на способности сыворотки угнетать рост микроорганизмов, определение этого показателя проводили нефелометрическим методом (Методические указания..., 1987), используя в качестве тест-бактерий миллиардную взвесь суточной культуры *Aeromonas hydrophila*.

Определение лизоцима проводили высокочувствительным фотонейфелометрическим методом (Блумберга, Дундуре, 1987). Нами было проанализировано содержание лизоцима в иммунокомпетентных органах: почках, селезенке, сердце, а также печени. Экстракты тканей получали по стандартной методике (Вихман, Генералова, 1991). Кровь отбирали из хвостовой вены путем каудотомии. Мазки крови обрабатывали по стандартной методике, при определении клеток пользовались классификацией, разработанной Н.Т. Ивановой (Иванова, 1983; 1995).

Все полученные данные подвергнуты статистической обработке в программе Excel при уровне значимости $P \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение.

Проведенные исследования позволили провести сравнительный анализ исследуемых иммунофизиологических параметров реципрокных гибридов. Полученные нами морфометрические показатели свидетельствуют, что при отсутствии значимых различий в длине, разница в показателях массы тела оказалась весьма значительной и статистически достоверной. Как видно из таблицы 1, родительские виды имеют значительные отличия по коэффициенту упитанности. Гибриды по данному показателю занимают как бы промежуточное положение, однако за счет большей массы тела у гибридов СхП коэффициент упитанности на 23% превышал таковой другой группы.

Таблица 1.

Коэффициент упитанности и индексы внутренних органов

Группа рыб	Коэффициент упитанности, (%)	Индексы органов, (%)		
		Печень	Почки	Селезенка
Плотва	1.9±0.03	1.71±0.08	0.54±0.08	0.24±0.02
Синец	1.1±0.05	0.43±0.07	0.37±0.06	0.21±0.01
ПхС	1.3±0.02	0.35±0.03*	0.34±0.01	0.12±0.01
СхП	1.6±0.01	0.66±0.04	0.32±0.03	0.11±0.02

Примечание. Здесь и далее значком * помечены показатели со статистически достоверными различиями между гибридными группами рыб.

Полученные данные позволяют говорить о том, что общий уровень метаболизма может быть генетически обусловлен и в данном случае прослеживается тенденция наследования признака по отцовской линии. Аналогичное соотношение показателей выявлено и по гепатосоматическим индексам, в то время как по индексам почек и селезенки исследуемые группы гибридов практически не отличались.

Выявленные различия по коэффициентам упитанности и индексам печени свидетельствуют, что для молоди гибридов СхП, по сравнению с другой группой (ПхС), более близок уровень энергетического и пластического обмена, характерный для плотвы.

Одним из важнейших факторов неспецифического гуморального иммунитета является лизоцим (мурамидаза) - фермент, относящийся к низкомолекулярным белкам.

Он обладает лизирующими свойствами, в основном в отношении грам-положительных бактерий, расщепляя основное вещество клеточной стенки бактерии – муреин (Лукьяненко, 1989; Grinde, 1989). По многогранности физиологического действия лизоцим приближается к комплементу, выполняя в организме, помимо бактерицидной а, возможно, и вирулицидной (Чернушенко, Когосова, 1978), ряд других важных биологических функций: стимулирует фагоцитоз, инициирует синтез как нормальных так и иммунных антител (Бухарин, Васильев, 1974; Даугалиева, Филиппов, 1991; Маянский, 1991). Уровень активности данного защитного фактора имеет видовые особенности, чаще встречается и более активен у хищных рыб, у мирных карповых рыб содержание мурамидазы невелико и обнаруживается лишь у 30-40% особей (Аминев, Яржомбек, 1984).

Т.к. сыворотки крови было недостаточно для определения содержания в ней лизоцима, концентрацию фермента определяли только во внутренних органах. Как видно из таблицы 2, максимальным содержанием лизоцима было в селезенке, затем сердце и почках. В печени активность фермента была наименьшей.

Основная масса лизоцима синтезируется тканевыми макрофагами и молодыми нейтрофилами, в последних выявлено наиболее высокое содержание фермента. Локализуется он в лизосомах и высвобождается при дегрануляции клеток (Бухарин, Васильев, 1974; Шевак, 1989; Ingram, 1980). Т.к. почки и селезенка рыб являются основными органами гемоиммунопоэза, ткань их богата клетками миелоидного ряда что объясняет высокое содержание фермента в экстрактах органов. Скопления лимфомиелоидной ткани имеются и в сердце (Галактионов, 1995).

Таблица:

Содержание лизоцима в органах, мкг/мг ткани

Орган	Группа рыб			
	Плотва	Синец	Плотва x Синец	Синец x Плотва
Почки	1.8±0.9	2.5±1.4	2.4±0.6	1.6±0.3
Селезенка	4.9±2.3	3.8±1.3	3.8±1.3	4.6±0.8
Сердце	2.8±1.2	3.9±1.3	3.7±0.4	2.0±0.7
Печень	0.6±0.3	0.5±0.2	0.5±0.1	0.7±0.1

Печень, помимо пищеварительной, выполняет также функцию нейтрализации детоксикации патогенных агентов и ксенобиотиков (Арцимович и др. 1992; Заботкин, Микряков, 1998), поэтому ее также относят к иммунокомпетентным органам. Однако содержание лизоцима в гомогенатах ткани печени у рыб, как правило, невысоко (Субботкина, Субботкин, 2003). Разброс значений содержания фермента как и каждому органу внутри группы, так и между гибридами, весьма высок, различия недостоверны (Табл. 2).

Противомикробная активность сыворотки крови занимает важное место среди факторов гуморального неспецифического иммунитета, предотвращая распространение и размножение инфекционного агента в организме (Лукьяненко, 1971; 1989; Микряков, 1991; Fletcher, 1982). Обеспечиваются защитные свойства сыворотки соединениями бактерицидными, ингибирующими рост микроорганизмов, лизирующими и другими свойствами. Таким образом, протективные свойства сыворотки крови являются наиболее общим показателем, отражающим функционирование ее растворимых компонентов.

Бактериостатические свойства сыворотки крови, %

Группа рыб	Плотва	Синец	ПхС	СхП
БАСК, %	10.0 \pm 2.3	15.4 \pm 2.8	41.3 \pm 9.1*	20.6 \pm 4.0

Полученные нами результаты показывают, что сыворотка крови синца угнетала рост микроорганизмов активнее, чем плотвы (Табл. 3). В то же время обе группы гибридов имели более высокие значения показателя по сравнению с родительскими формами. Между собой группы гибридов также различались весьма существенно, в два раза. И в данном случае также превышение показателя у гибридов ПхС соответствует более высоким значениям отцовского вида. Столь выраженные различия согласуются с приведенным выше предположением о возможности наследования некоторых наиболее общих факторов устойчивости, в том числе антимикробной активности сыворотки крови.

Как известно, все функции иммунной системы, в конечном счете, обеспечиваются лейкоцитами, именно они практически и определяют компенсаторные возможности организма (Казлаускене Восилене, 1995). Важнейшим показателем общего состояния защитных сил организма, неспецифической резистентности, способности противостоять негативному воздействию факторов экзо- и эндогенной природы является лейкоцитарная формула, отражающая соотношение иммунокомпетентных клеток в периферической крови.

Таблица 4.

Соотношение лейкоцитов периферической крови, %

Группа рыб	Лимфоциты	Метамиелоциты	Палочко-ядерные нейтрофилы	Сегментоядерные нейтрофилы	Моноциты
Плотва	87.0 \pm 4.9	7.4 \pm 1.9	2.1 \pm 1.0	0.7 \pm 0.2	2.6 \pm 0.5
Синец	70.3 \pm 5.3	22.4 \pm 2.1	6.3 \pm 1.8	0.2 \pm 0.1	0.8 \pm 0.3
ПхС	68.5 \pm 3.1	20.1 \pm 2.1*	10.2 \pm 1.6	0.8 \pm 0.3	0.3 \pm 0.1
СхП	74.1 \pm 3.7	12.1 \pm 2.0	11.8 \pm 2.0	0.6 \pm 0.2	0.4 \pm 0.3

Кровь всех исследуемых нами групп рыб, носила лимфоидный характер (Табл. 4). Из агранулоцитов встречались в небольшом количестве моноциты. Относительное содержание этих клеток у плотвы несколько превышало таковое у синца, а обе группы гибридов имели более низкие значения показателя, чем у родительских форм, и почти не отличались между собой. Гранулоциты были представлены нейтрофилами разной степени зрелости. Доля зрелых нейтрофильных гранулоцитов - сегментоядерных - была невелика, у гибридов в целом несколько выше, чем у родительских видов. Процент содержания молодых форм нейтрофилов - палочкоядерных - был больше, чем сегментоядерных. У синца этот показатель достоверно превышал таковой у плотвы, у гибридов был достоверно выше, чем у родительских форм, а у гибридных групп почти одинаков. Доля метамиелоцитов, являющихся предшественниками палочкоядерных нейтрофилов, но уже способных на этой стадии зрелости к фагоцитозу, была вновь достоверно выше у синца среди родительских видов, а у группы гибридов ПхС выше, нежели у СхП. Основываясь на полученных данных, можно заключить, что

наследование соотношения основных типов лейкоцитов периферической крови и также больше по отцовской линии.

Как известно, нейтрофилы обладают выраженной фагоцитарной способностью. Захват и разрушение микроорганизмов осуществляются ими как в кровяном русле, так и в тканях (Weeks et al., 1989). Фагоцитируя микроорганизмы, нейтрофил гидролизуют их, при этом сама клетка разрушается, высвобождая химически активные вещества, тормозящие развитие вредной микрофлоры (Suzuki, Hibiya, 1988). Помимо того, нейтрофилы содержат различные гидролитические ферменты, большое количество мислопероксидазы, после стимуляции бактериями они способны вырабатывать активные формы кислорода (Ellis, 1999; Anderson, Zeeman, 1995).

Учитывая наличие такого широкого спектра бактерицидных факторов, содержащихся в гранулах нейтрофилов, можно предположить, что при более высоком относительном содержании этих клеток в крови, сыворотка будет обладать более выраженным протективным потенциалом. С этих позиций можно объяснить более высокую антимикробную активность сыворотки крови гибридов ПхС, имеющей в составе лейкоцитов периферической крови большее число нейтрофилов, богатых лизосомальными ферментами, по сравнению с другой группой гибридов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что исследуемые группы реципрокных гибридов плотвы и синца имели более высокие значения ряда параметров, характеризующих степень напряженности врожденного иммунитета, у родительские виды. Между гибридными группами выявлены достоверные различия в общем уровне обмена веществ, некоторых морфологических параметрах активности факторов гуморального и клеточного иммунитета. Анализ полученных данных позволяет считать, что наследование исследуемых признаков идет в основном по отцовской линии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аминева В.А., Яржомбек А.А. Физиология рыб. М.: Легкая пр-сть, 1984. 200 с.
2. Арцимович Н.Г., Настоящая Н.Н., Казанский Д.Б. Печень как орган иммунобиологической системы гомеостаза//Усп. совр. биол. 1992. Т.112. №1. С.88-91.
3. Блумберга И.А., Дундуре Б.Л. Фотометрический метод определения лизоцима в интраназальной жидкости// Лаб. Дело. 1987. №8. С. 617-619.
4. Бухарин О.В., Васильев Н.В. Лизоцим и его роль в биологии и медицине. Томск. Изд-во Томск. ун-та, 1974. 207 с.
5. Вихман А.А., Генералова Л.П. Методические указания по количественному анализу гуморальных факторов резистентности в органах и тканях рыб. М., ВНИИПРХ 1991.
6. Галактионов В.Г. Очерки эволюционной иммунологии. М., Академкнига. 1995. 405 с.
7. Даугалиева Э.Х., Филиппов В.В. Иммунный статус и пути его коррекции при гельминтозах сельскохозяйственных животных. М., Агропромиздат. 1991. 188 с.
8. Заботкина Е.А., Микряков В.Р. Реакция иммунокомпетентных клеток печени карпа на воздействие карбофоса//Доклады РАН. 1997. Т.352. № 4. С.562-564.
9. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. М., "Легкая и пищевая промышленность" 1983. 184 с.
10. Иванова Н.Т. Система крови. Материалы к сравнительной морфологии систем крови человека и животных. Ростов н/Д. 1995. 155 с.
11. Казлаускене Н., Восилене М. Воздействие сублетальных концентраций меди на физиологические показатели радужной форели//Вопр. ихт. 1995. Т. 35. №3. С.412-416.
12. Кирпичников В.С. Генетика и селекция рыб. Л., Наука. 1987. 547 с.
13. Кулер Э. Сравнительная иммунология: пер. с англ. М.:Мир. 1980. 422 с.
14. Леутская З.К., Некоторые аспекты иммунитета при гельминтозах. М., Наука. 1990. 210 с.

15. Лукьяненко В.И. Иммунология рыб. М., "Пищевая промышленность", 1971. 363 с.
16. Лукьяненко В.И. Иммунология рыб. Врожденный иммунитет. М., ВО "Агропромиздат" 1989. 270 с.
17. Маянский Д.Н. Проблема иммунитета в общей патологии. В сб. Методологические аспекты современной иммунологии. Новосибирск: Наука, 1991. С. 74-84.
18. Методические указания по определению уровня естественной резистентности рыб к инфекционным болезням. М.: Госагропром РСФСР. 1987. 38с.
19. Микряков В.Р. Закономерности формирования приобретенного иммунитета у рыб. Рыбинск, 1991.
20. Субботкина Т. А., Субботкин М. Ф. Активность лизоцима в органах и сыворотке крови у различных видов рыб р. Волги//Журнал эволюционной биохимии и физиологии, 2003, т. 39, № 5. С. 40-45.
21. Чернушенко Е.Ф., Когосова Л.С. Иммунологические исследования в клинике. Киев, "Здоров'я". 1978. 180 с.
22. Шевак И. Макрофаги и другие вспомогательные клетки. В кн.: Иммунология. Под ред. У Пола. М., Мир, 1989. Т. 1 С. 115-168.
23. Яржомбек А.А., Лиманский В.В. Щербина Т.В. Справочник по физиологии рыб. ВО "Агропромиздат", 1986. 191 с.
24. Anderson D.P. and Zeeman M.G. Immunotoxicology in fish//In book "Fundamentals of aquatic toxicology (2th Ed.).Ed. by Gary M. Rond 1995. Taylor Francis, W.D.C., U.S.A. P.371-404.
25. Ellis E. Immunity to bacteria in fish// Fish & Shellfish Immunology . V. 9, N 4, 1999. pp. 291-308.
26. Fletcher T.C. Non-specific defence mechanisms of fish// Dev. And Comp. Immun., Supplement 2. 1982. P. 123-133.
27. Grinde B. Lysozym from rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, as an antibacterial agent against fish pathogens// J. of Fish Diseases. 1989. 12. P. 95-104.
28. Ingram G.A. Substances involved in the natural resistance of fish to infection, a review// J. Fish Biol., 1980. V. 31. N5. P. 1223-160.
29. Price. D.J. Genetics of susceptibility and resistans to desease in fishes // J.Fish. Biol. 1985. 26. P. 509-519.
30. Suzuki Y., Hibiya T. Dynamics of leucocytic inflammatory responses in carp//Fish Pathol. V. 23. 1988. P. 179-184.
31. Weeks B.A., Anderson D.P., DuFour A.P. Immunological Biomarkers to Assess Environmental Stress //Biomarkers. Biochemical, Physiological and Hystological Markers of Anthropogenic Stress. Keystoun, 1989. 384 P.
32. Wolf L.E. Development of disease- resistant strains of fish //Trans. Am. Fish. Soc. 1953. 83. P. 342-349.

THE COMPARATIVE ANALYSIS OF SOME IMMUNOPHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF RECIPROCAL HYBRIDS (F1) OF ROACH AND ZOPE

Lapirova T.B., Mikryakov V.R., Slynko Y.V.

The paper presents the comparative analysis of several immunophysiological indicators of reciprocal hybrids of roach and zope. It has been determined that the hybrids demonstrated the values of numerous parameters characterizing the innate immunity higher than those of their parent species. Additionally there were significant differences discovered between the hybrid forms of fish concerning several morphophysical and immunological indicators. The obtained results besides enable the investigated characteristics to be treated like that inherited on paternal line.

**ЭВОЛЮЦИОННЫЙ АНАЛИЗ РОЛИ ТОЛЛ-ПОДОБНЫХ И ДРУГИХ
ОБРАЗРАСПОЗНАЮЩИХ
РЕЦЕПТОРОВ В ИММУННЫХ РЕАКЦИЯХ ОРГАНИЗМА.**

Лебедев К.А., Полякина И.Д.

Москва МГМСУ

На ранних этапах эволюции образраспознающие рецепторы определяют специфичность реакций леток естественного иммунитета на чужеродное. На поздних этапах эволюции при образовании лимфоцитов начинается формирование более специфичного адаптивного иммунитета с клонами клеток той или иной специфичности. Однако регуляция ответа этих клеток на чужеродное так же контролируется через образраспознающие рецепторы находящиеся на этих клетках. Последнее появилось полной неожиданностью для иммунологов, изучающих лимфоциты.

Разные виды рыб являются прекрасной моделью развития адаптивного иммунитета на фоне естественного и роли образраспознающих рецепторов в процессе.

ЗАКОНОМЕРНОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ УРОВНЯ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ В ЖИДКОСТЯХ ОРГАНИЗМА РЫБ В ПРОЦЕССЕ ОБЕСПЕЧЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ И МЕТАБОЛИЗМА ПРИ АДАПТАЦИИ ЖИВОТНЫХ К НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ ФАКТОРАМ

В.И. Мартемьянов

*Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок, Россия,
e-mail: martem@ibiw.yaroslavl.ru*

Способность животных противостоять факторам среды связана с защитными системами, функционирование которых существенно зависит от содержания электролитов во внутренней среде и клеточной жидкости организма. Ионы кальция контролируют различные процессы жизнедеятельности, участвуя в обеспечении устойчивости, роста, формирования костей, транспортной функции, свертывания крови, взаимодействия белков с углеводами и жирами, регуляции проницаемости клеточных мембран, секреторных, биосинтетических, биоэнергетических реакций и активности многих ферментов, запуска процессов сокращения различных мышц, включая особую роль в выполнении немышечных форм подвижности. Выявлено (Shaw, 1995), что спорозонты *Theileria parva* используют свои резервы ионов кальция в механизме проникновения в лимфоциты крупного рогатого скота, поражая тем самым иммунную функцию этих клеток.

Многочисленные данные показывают, что уровень кальция в сыворотке крови здоровых людей поддерживается в очень узком пределе 2.2-2.6 ммоль/л (Рейнольдз, 1991; Уиллз, Барнет, 1991). Различные заболевания, включая раковые, сопровождаются смещением регуляции содержания ионов кальция в крови за пределы этого диапазона как в сторону снижения (гипокальциемия), так и повышения (гиперкальциемия). Эти признаки используются в клинической практике с целью улучшения диагностики тех или иных заболеваний. Клинические исследования свидетельствуют, что при патологических процессах концентрация ионов кальция изменяется также в цитоплазме различных клеток организма.

Показано (Болдырев, 1986; Вугтаве, 1967), что в нормальных клетках уровень ионов кальция поддерживается на определенных уровнях, контролируя путем торможения скорость ферментативных реакций гликолитического пути. При этом ионы кальция сильно угнетают преобразование пирувата в лактат, предотвращая чрезмерное закисление цитоплазмы. Раковые клетки, усиленно выводя ионы кальция, снижают его уровень в цитоплазме до очень низких значений, способствуя повышению устойчивости цитоскелета и усилению активности ферментов гликолитического пути. Из-за снятия угнетающего действия происходит усиленное преобразование пирувата в лактат, вызывая чрезмерное закисление цитоплазмы. Высокая устойчивость раковых клеток к различным факторам создает трудности при разработке способов борьбы с этим тяжелым заболеванием.

Относительно гидробионтов показано (Виноградов, 2000), что свои потребности в электролитах, включая кальций, они обеспечивают главным образом за счет транспорта из внешней среды ионообменными насосами, расположенными в жабрах. Увеличение концентрации кальция в воде оказывает стабилизирующий эффект на клеточные мембраны жаберного эпителия, способствуя повышению устойчивости гидробионтов к неблагоприятным факторам за счет снижения утечки солей из организма. Значение кальция в жизнедеятельности водных животных и зависимость его распределения в организме от концентрации в воде рассматривалась в ряде статей и монографии (Романенко и др., 1982). Нами совместно с другими исследователями получены результаты по изменению уровня кальция в плазме и тканях рыб при напряженных

ситуациях во время размножения и действии ряда неблагоприятных (включая инфекции) факторов. В данном сообщении проводится сравнительный анализ данных с целью выявления общих закономерностей и специфических изменений уровня ионов кальция в плазме и тканях рыб при адаптации к экстремальным факторам.

Выявлено, что незадолго до нереста уровень ионов кальция снижается в продолжительный период до минимальных значений главным образом в эритроцитах производителей рыб (рис. а). Известно, что скорость гликолиза (Burgave, 1967) и устойчивость клеток тела животных (Болдырев, 1986) зависит от внутриклеточной концентрации кальция. Повышение уровня кальция в цитоплазме тормозит активность ферментов гликолитического пути и ослабляет цитоскелет, а при определенных избыточных количествах разрушает его, вызывая гибель клетки. Снижение концентрации кальция внутри клетки, наоборот, ведет к усилению гликолиза и увеличению их устойчивости к любым повреждающим факторам. Следовательно, уменьшение концентрации кальция в эритроцитах производителей способствует усилению гликолиза и повышению устойчивости клеток. Это позволяет обеспечить организм необходимыми потребностями в кислороде в напряженный для рыб период связанный с нерестом и длительным после нерестовым восстановлением от истощения.

В ответ на резкие воздействия, такие как отлов и транспортировка, содержание ионов кальция быстро снижалось до минимальных значений в плазме, эритроцитах и мышечной ткани рыб (рис. б). Эти данные показывают, что по сравнению с напряженным состоянием производителей в период размножения, резкие воздействия более губительны для рыб. Поскольку при остром стрессе организм вынужден обеспечивать поддержание устойчивости и усиления ферментативной активности за счет изгнания ионов кальция не только из эритроцитов, но также из клеток других тканей.

В ходе акклимации животных к лабораторным условиям концентрация кальция в плазме и эритроцитах стабилизировалась на низких уровнях (рис. б), которые характерны для производителей в период размножения (рис. а). Это есть физиологическое состояние "диких" рыб, помещенных в искусственные условия является более напряженным по сравнению с таковым у особей в природной среде. Такая ситуация ведет к тому, что многие виды рыб, включая промысловые, не могут размножаться в неволе. Это является серьезным препятствием для увеличения воспроизводства ценных видов рыб заводским способом.

В ходе отлова и транспортировки проявляется резкое непродолжительное действие многих факторов различной природы. Необходимо было выявить, каким образом влияет на регуляцию содержания кальция в плазме и тканях рыб длительное воздействие вредного фактора. В качестве такового использовали хроническую (в течение 90 суток) интоксикацию карпа фенолом (5 мг/л). В ответ на отлов и транспортировку концентрация кальция в плазме и тканях рыб резко и быстро изменялась в первые часы воздействия, а затем стабилизировалась на определенных уровнях (рис. б). При интоксикации фенолом содержание кальция в плазме и тканях карпа изменялось в течение всего периода в виде чередования повторяющихся циклов разной амплитуды (рис. в). Эти данные показывают, что при хроническом действии вредного фактора стабилизации данного показателя не происходит, свидетельствуя о длительном проявлении противоборства между повреждающим действием токсиканта и защитными системами организма.

В опытах проведенных на карпах, которые содержались при критически высоких температурах, нами было получено, что закономерности изменений уровня ионов кальция в эритроцитах и мышцах зависят от степени истощения защитных ресурсов

организма. В начальный период нахождения рыб в зоне критических температур содержание кальция в эритроцитах и мышцах карпа было снижено, обеспечивая

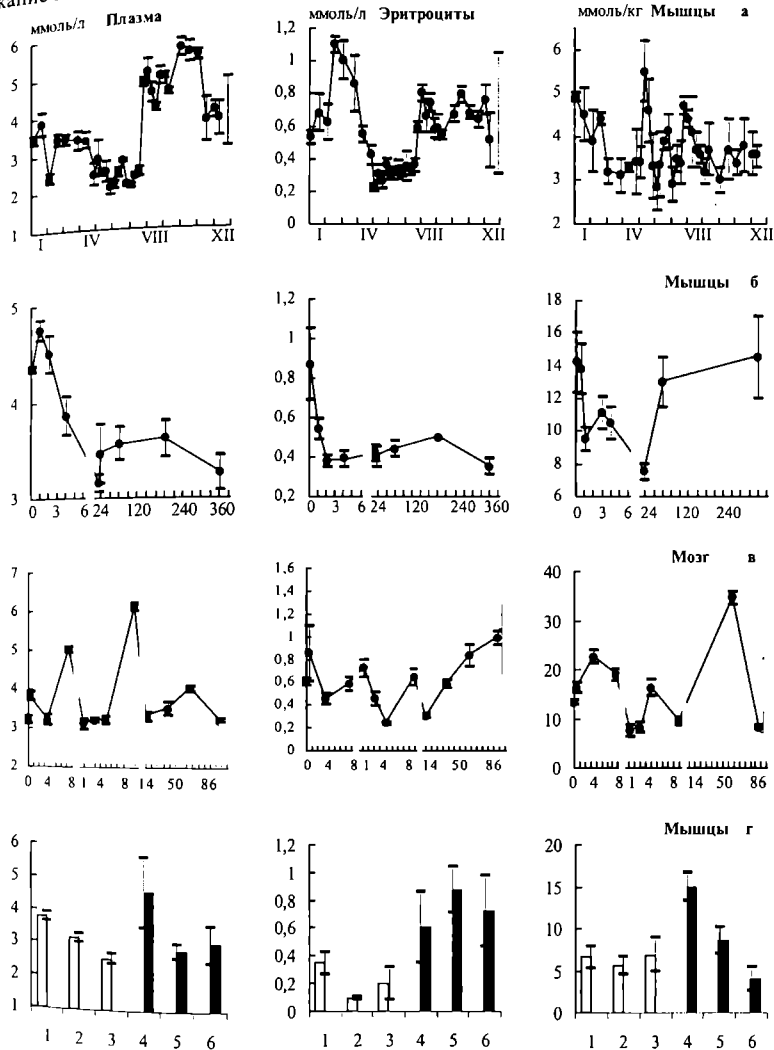


Рис. Динамика содержания кальция в плазме, эритроцитах и тканях рыб в ходе годового цикла и при адаптации к неблагоприятным факторам. а - у плотвы в ходе годового цикла; б - у плотвы в ответ на отлов, транспортировку и в ходе акклиматизации в лабораторных условиях; в - у карпа в ходе хронического воздействия фенола (5 мг/л в течение 90 суток); по оси абсцисс - время; г - у карпа при иктиофтириозе (светлые маркеры) и аэромонозе (темные маркеры); 1, 4 - контроль; 2, 5 - слабая (30 экз. инфузорий иктиофтириуса на рыбу, "слабовирулентный штамм" аэромоноза) 3, 6 - сильная (600 экз. иктиофтириуса на рыбу, "сильновирулентный штамм" аэромоноза) степень заражения.

повышенную устойчивость и метаболические процессы в клетках организма. Длительное пребывание рыб (более 3х недель) в зоне неблагоприятных температур сопровождалось истощением адаптивных ресурсов организма. В результате физиологические системы были не в состоянии удерживать низкий уровень кальция в клетках, что приводило к увеличению его концентрации в тканях с последующей гибелью рыб. Эти результаты показывают, что сублетально высокие температуры оказывают на карпов более сильное дестабилизирующее влияние по сравнению с хроническим действием 5 мг/л фенола.

Исследований о выявлении влияния каких-либо болезней на регуляцию уровня кальция во внутренней среде и тканях рыб не проводилось. Нами в содружестве с коллективом научных сотрудников ВНПО по рыбоводству было изучено влияние разной интенсивности заражения ихтиофтириусом (Лиманский и др., 1984) и аэромонозом (Яржомбек и др., 1984) на содержание кальция в плазме, эритроцитах и мышцах карпа. Ихтиофтириоз и аэромоноз сопровождались снижением уровня кальция в плазме крови рыб (рис. г). При этом исследуемый показатель имел обратную связь: повышением количества инфузорий ихтиофтириуса. Заражение рыб ихтиофтириусом вызывало уменьшение концентрации кальция в эритроцитах, тогда как бактерии аэромоноза способствовали повышению его количества во внутриклеточной жидкости. Ихтиофтириус не вызывал изменений уровня кальция в мышцах карпа, тогда как аэромоноз, сопровождался снижением на 42.7% и 73.3%, при действии, соответственно слабого и сильного штамма бактерий. Данные показывают, что закономерность изменений уровня кальция в плазме, эритроцитах и мышечной ткани рыб при инфекционных заболеваниях проявились в основном сходным образом, как и на другие неблагоприятные условия, в виде снижения концентрации, отражая защитную роль данного процесса. По сравнению с ихтиофтириусом, аэромоноз оказывает более губительное действие, препятствуя эритроцитам осуществлять защитные способности снижать уровень кальция во внутриклеточной жидкости. Возможно бактерии аэромоноза выделяют токсины оказывающие сходный эффект с веществами вызывающими фавизм. При фавизме, в эритроцитах людей, имеющих дефицит фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, наблюдали снижение активности кальциевого насоса и более чем 10 кратное увеличение концентрации ионов кальция в внутриклеточной жидкости, сопровождающееся гемолизом красных кровяных клеток (De Flora et al., 1985). Инкубация нормальных эритроцитов *in vitro* с дивизионом пиримидином, агликоном, веществ содержащихся в бобах и которые вовлечены в патологию фавизма, приводила к снижению Са-АТФазы и увеличению концентрации внутриклеточного кальция.

Таким образом, сравнение представленных данных показывает, что в неблагоприятные ситуации организм рыб стремится снизить внутриклеточную концентрацию ионов кальция, обеспечивая тем самым усиление метаболических процессов и повышение устойчивости на клеточном уровне. При этом, чем выше повреждающее действие неблагоприятного фактора, тем быстрее наступает истощение защитных систем, проявляющееся в неспособности удерживать низкий уровень кальция во внутриклеточной жидкости. Повышение содержания ионов кальция в цитоплазме снижает устойчивость клеток и тормозит в них метаболические процессы. Действие наиболее опасных факторов (аэромоноз, фавизм, ряд химических соединений) сопровождается патологическими изменениями в эритроцитах выражающиеся в увеличении уровня ионов кальция в цитоплазме, приводящее к снижению устойчивости красных клеток, вплоть до их гемолиза. Закономерность изменений содержания ионов кальция при раковом росте во многом имеют сходство с такими, а именно, поддержание низкого уровня, которые наблюдаются

нормальных клетках организма в ответ на неблагоприятные условия. Однако раковая опухоль сохраняет низкий уровень кальция постоянно, тогда как нормальные клетки только определенный период, а при хроническом действии фактора (рис. г) в виде ряда циклов. Возможно, что патология раковых клеток обусловлена причинами, связанными с потерей способности адекватно оценивать окружающую среду, а поддержание низкого уровня кальция в цитоплазме является реакцией на это. В этом плане гипотеза (Макрушин, Худолей, 1991) об опухоли, как атавистической реакции на условия окружающей среды имеет смысл. Возможное лечение этого недуга может быть основано на мероприятиях, направленных на избирательное увеличение концентрации ионов кальция в цитоплазме раковых клеток, как за счет угнетения кальциевого насоса, так и повышения проницаемости клеточных мембран к этому катиону за счет использования веществ подобных токсинам вырабатываемых аэромонадом и содержащихся в бобах, которые вызывают фавизм.

ЛИТЕРАТУРА:

- Болдырев А.А. Введение в биохимию мембран. М., 1986. 112 с.
- Лиманский В.В., Мартемьянов В.И., Бекина Е.Н., Головина Н.А. Изменение электролитного состава крови и мышц при заражении карпа *Ichthyophthirius multifiliis* (Ciliata, Ophryoglenidae) // Паразитология. 1984. Т. 18. № 6. С. 479-481.
- Макрушин А.В., Худолей В.В. Опухоль как атавистическая адаптивная реакция на условия окружающей среды // Журн. общ. биологии. 1991. Т. 52. № 5. С. 717-722.
- Рейнольдз Л.Р. Гипокальциемия // Трудный диагноз. М.: Медицина, 1992. Т. 1. С. 366-382.
- Уиллз М.Р., Барнетт Б.Л. Гиперкальциемия // Трудный диагноз. М.: Медицина, 1992. Т. 1. С. 323-345.
- Яржомбек А.А., Лиманский В.В., Бекина Е.Н., Мартемьянов В.И., Юхименко Л.Н. Электролитный состав карпа при аэромоназе // Сборник науч. тр. ВНИИ пруд. х-ва. 1984. № 40. С. 74-80.
- Bygrave F.L. The ionic environment and metabolic control // Nature. 1967. V. 214. № 5089. P. 667-671.
- De Flora A., Benatti U., Guida L. et al. Favism: disordered erythrocyte calcium homeostasis // Blood. 1985. V. 66. № 2. P. 294-297.
- Shaw M.K. Mobilization of intrasporozoite Ca^{2+} is essential for *Theileria parva* sporozoite invasion of bovine lymphocytes // Eur. J. Cell. Biol. 1995. V. 68. № 1. P. 78-87.
-

ВЛИЯНИЕ СУБЛЕТАЛЬНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ КАДМИЯ НА СООТНОШЕНИЕ И СТРУКТУРУ ЛЕЙКОЦИТОВ ГОЛОВНОЙ И ТУЛОВИЩНОЙ ПОЧЕК РЕЧНОГО ОКУНЯ (*PERCA FLUVIATILIS L.*).

Назарова Е.А., Заботкина Е.А.

Институт биологии внутренних вод им. И.Д.Пананина РАН

e-mail: nazarova@ibiw.voroslavl.ru

На примере окуля изучено влияние сублетальной концентрации ионов кадмия на соотношение и структуру лейкоцитов у головной и туловищной почки. Методами световой и электронной микроскопии оценено состояние данных органов через 7 и 14 суток экспозиции. Отмечено преимущественное повреждение митохондрий во всех типах лейкоцитов и проявлении фагоцитарной способности гранулоцитов, что свидетельствует о нарушении обменных процессов в клетках и усилении утилизационных процессов в ткани. Выявленные нарушения позволяют предположить ослабление защитных функций и, как следствие, снижение устойчивости рыб к различным заболеваниям.

Проблема высокой токсичности даже незначительных концентраций тяжелых металлов для гидробионтов приобретает в последнее время все большую актуальность в связи с увеличением промышленных стоков во внутренние водоемы. К одним из наиболее токсичных для рыб тяжелых металлов относят кадмий (Линник, Искра, 1997), содержание которого в природных пресных водах варьирует от 0.1 до 10 мг/л, а антропогенная нагрузка увеличивает его концентрацию до 50 мг/л. (Ghosal, Kavita, 2002). Он легко поглощается из воды и накапливается в теле обитателей водоемов, при этом в работах, в которых оценивается аккумуляция кадмия в различных органах, показано, что наибольшее накопление металла обнаруживается в почках (Гладышев, Кашулин, 2006; De Smet et al, 2001; De Smet, Biust, 2001; Jayakumar, Vathapparambil, 2006).

Накапливаясь, металл вызывает патологические повреждения гемопозитической ткани и нефронов почек, в результате чего снижаются их осмотические и ионрегулирующие функции, развиваются воспалительные явления, токсической некробиоз, некроз и некробиоз клеток лимфомиелоидной ткани (Гамбарян, Лавров, 1989; Singhal, Jain, 1997). Обнаруживаются кровоизлияния, плазморрагии, отложение гемосидерина в интерстициальной ткани почек (Крючков, Бойко, 2002). Показаны морфологические изменения в головной почке тиляпий. После длительного воздействия сублетальной концентрации кадмия в малых лимфоцитах и плазматических клетках этого вида рыб наблюдается набухание митохондрий и разрушение их крист (Балабанова, 1997).

Однако информация о характере изменений гематологических показателей и повреждениях структуры лейкоцитов в почках рыб, как иммунокомпетентных органов в результате токсического эффекта малых концентраций кадмия на ранних сроках воздействия очень ограничена.

В связи с этим целью данной работы было изучение влияния ионов кадмия на характер изменения соотношения лейкоцитов и повреждения ультраструктуры иммунокомпетентных клеток головной и туловищной почек речного окуля *Perca fluviatilis L.*, как наиболее обычного представителя ихтиофауны водоемов Европейской части России.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работу проводили на 20 особях речного окуля (*Perca fluviatilis L.*) в возрасте 0+ массой 6.8±1.3 г и длиной 9.0±0.6 см в октябре-ноябре 2005 г в лабораторных условиях при средней температуре воды 18.3°C. После акклимации рыб содержали в 50 л аэрируемых пластиковых аквариумах с водопроводной водой при ежедневном кормлении. Подопытных рыб содержали в водопроводной воде с добавлением хлорида кадмия до концентрации 20 мкг/л в расчете по иону металла (0.2 LC₅₀ при 96 ч экспозиции). Через 7 и 14 суток в обеих группах рыб отбирали пробы: приготавливали

мазки-отпечатки головной почки (из-за малых размеров рыб приготовление мазков-отпечатков туловищной почки не представлялось возможным) и фиксировали кусочки головной и туловищной почки для электронной микроскопии.

Анализ соотношения лейкоцитов проводили на мазках – отпечатках головной почки, которые фиксировали этиловым спиртом и окрашивали краской по Романовскому - Гимза. При идентификации лейкоцитов придерживались классификации Ивановой Н.Т. (Иванова, 1983). Оценку результатов проводили в программе Excel при уровне достоверности $\leq 0,05$.

Для электронно-микроскопических исследований кусочки туловищной почки объемом 1 мм^3 подвергали двойной фиксации в 2,5% глицероальдегиде на 0,1M фосфатном буфере и 1% четырехокси осмия (OsO_4), на том же буфере. Затем материал отмывали в промывочном буфере, обезживляли в спиртах возрастающей концентрации и заливали в Эпон 812 по стандартной методике (Мионов, Комиссарчик, 1994). Ультратонкие срезы толщиной 200-300 Å приготавливали на микротоме LKB 8800, контрастировали 0,2%-ми водными растворами уранилцетата и пикрата свинца, и просматривали под трансмиссионным электронным микроскопом JEM 100С при ускоряющем напряжении 80 кВ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Световая микроскопия Результаты исследований показали, что под действием токсиканта изменилось соотношение всех рассматриваемых типов клеток. В первую очередь это коснулось долей лимфоцитов и незрелых и зрелых форм нейтрофилов, что выразилось в лимфопении и нейтрофилии. В головной почке относительное количество лимфоцитов резко снизилось уже через 7 сут экспозиции в токсиканте (Рис. 1). Доля различных форм нейтрофилов у опытных рыб повысилась по сравнению с контролем в 1.5 – 2 раза, но доля зрелых форм клеток через 14 сут возвращалась к контрольным значениям. Относительное количество макрофагов несколько увеличилось по сравнению с контролем, но различия по сравнению с контролем не были достоверными. Значительное увеличение претерпела доля эозинофилов: их количество изменилось с 1.5%



Рис. 1. Изменение соотношения лейкоцитов в головной почке окуня под действием кадмия. Контроль – значения в контрольной группе, 7, 14 – значения в опыте через 7 и 14 суток экспозиции в токсиканте, соответственно. * обозначены параметры, достоверно отличающиеся от контроля; а – значения при 14 сут экспозиции, достоверно отличающиеся от 7 сут. Достоверное до 6,5% через 7 сут и 4,5% через 14 сут экспозиции в соли кадмия. Достоверное по сравнению с контролем возрастание относительного количества

гранулоцитов в головной почке в оба срока отбора проб произошло в основном за счет увеличения доли миелоцитов, метамиелоцитов и палочкоядерных нейтрофилов.

Следует отметить, что наибольшие значения наблюдались через 7 суток экспозиции, тогда как к 14 сут показатель несколько снизился, хотя по-прежнему был достоверно выше контроля. Эти колебания, по-видимому, могут быть связаны с перераспределением этих клеток из органа в периферическую кровь или с развитием воспалительных реакций в органе под действием ионов кадмия. Кроме того, следует учитывать, что головная почка обладает высокой гранулопоэтической активностью, и вероятно, наибольший выброс гранулоцитов в кровь происходит именно из почки. Почти двукратное уменьшение относительного количества бластных клеток как на 7 так и на 14 сут экспозиции свидетельствует о сдвиге в процессах лейкопоэза ускоренном созревании незрелых клеток.

Наблюдаемые в головной почке нейтрофилия и лимфопения подобны таковым описываемым в периферической крови у многих видов рыб при различных неблагоприятных воздействиях (Лугаськова, 1997; Моисеенко, 1998; Лапинова, 2000; Б; Аленичев, Рыжков, 2000; Лапинова, Заботкина, 2005). По-видимому, данная реакция является общим неспецифическим ответом на стресс.

Электронная микроскопия. Результаты электронно-микроскопических исследований показали, что в контроле лимфомиелоидная ткань почки окуни содержала все типы лейкоцитов, характерные для этого вида рыб: малые лимфоциты, макрофаги, плазматические клетки и гранулоциты, представленные нейтрофилами и эозинофилами разной степени дифференцировки. Гранулоциты в ткани туловищной почки окуня были представлены в основном незрелыми клетками, тогда как зрелые формы клеток присутствовали в очень незначительных количествах. По структуре специфичных гранул в туловищной почке были идентифицированы гранулоциты 3 типов, отнесенные нами к нейтрофилам и эозинофилам. В норме тонкая структура обоих типов гранулоцитов была подобна таковой, описываемой другими авторами для этого вида рыб (Волынкин, 1983; Балабанова, 2002).

Установлено, что уже через 7 суток экспозиции кадмий оказывал влияние на структуру всех типов лейкоцитов туловищной почки исследуемых рыб. В первую очередь воздействию токсиканта подверглись такие цитоплазматические структуры как митохондрии – органоиды, выполняющие энергетическую функцию. Митохондрии были повреждены почти во всех типах клеток, как лимфоидного, так и миелоидного ряда: наблюдали просветление матрикса и частичное или полное разрушение крист рганелл. Помимо этого, отмечено появление фагосом во всех типах гранулоцитах, что свидетельствует о проявлении их фагоцитарных способностей и участии этих клеток в утилизации поврежденных элементов тканей. Это подтверждается и появлением в цитоплазме нейтрофилов лизосомоподобных гранул, содержащих протеолитические ферменты и участвующих в процессах внутриклеточного переваривания. Усиление этих процессов подтверждается и увеличением количества макрофагов, цитоплазма которых содержала 2-3 крупные фагосомы с остатками различных клеток.

Через 14 суток экспозиции по-прежнему наблюдались изменения структуры тканей, описанные через 7 сут экспозиции в токсиканте. Помимо этого, на данном этапе наблюдали образование ядерной петли в ядрах некоторых лимфоидных клеток возникающее, вероятно, в результате расслоения ядерной мембраны. Подобное явление может свидетельствовать об усилении синтетических процессов в клетках в условиях стресса. Ранее подобное явление наблюдали у карпа при иммунизации, а также у карпа и карася при действии кадмия, фенола и нафталина (Балабанова, Заботкина, 1988; Лапинова и др., 2004; Заботкина, Бубенкова, Назарова, 2005).

Наблюдаемые нами изменения тонкой структуры иммунокомпетентных клеток туловищной почки окуня, вызванные ионами кадмия, были подобны изменениям, описываемым у других видов рыб (Балабанова, 1997; 1998). Ранее, было показано, что экспозиция карпов в течение 14 суток в растворе кадмия концентрацией (5 мг/л) приводила к усилению патологических изменений, включавших в себя разрушение крист митохондрий лейкоцитов, образование ядерной петли в ядрах лимфоцитов, увеличение количества фагосом в макрофагах, опустошение специфичных гранул эозинофилов и проявление фагоцитарной способности нейтрофилов и гранулоцитов смешанного типа (Лапирова и др., 2004; Назарова, 2007). Изменение структур, ответственных за энергетический обмен, факты, свидетельствующие об усилении синтетических процессов и фагоцитарной активности, позволяют предположить, что иммунокомпетентные клетки функционируют в крайне напряженном режиме.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, описанные нами изменения тонкой структуры иммунокомпетентных клеток, а так же изменение соотношения лейкоцитов почек сеголеток окуня под действием сублетальной концентрации кадмия подтверждают высокую токсичность ионов данного металла для рыб. Выявленные нарушения позволяют предположить ослабление защитных функций иммунитета, нарушения обменных процессов в клетках, и, как следствие, снижение устойчивости рыб к различным заболеваниям. Вместе с тем следует отметить, что чувствительность сеголеток окушей к ионам кадмия оказалась на порядок выше по сравнению с годовиками карпа (20 мкг/л и 5мг/л соответственно). Специфика реагирования ткани почек окуня на данный токсикант, скорее всего, связана с видовыми особенностями структуры тканей и интенсивности обменных процессов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алепичев С.В., Рыжков Л.Л. Цитоморфологический состав крови и динамика гематологических показателей окуня (*Perca fluviatilis* L.) Онежского озера в условиях техногенного загрязнения // Вопросы ихтиологии. 2000. Т.40. №1. С.91–96.
2. Балабанова Л.В. Влияние кадмия на ультраструктуру иммунокомпетентных клеток мозамбикской тилляпии *Oreochromis mossambicus* // Цитол. 1997. Т.39. №8. С.677-680.
3. Балабанова Л.В. Влияние кадмия на ультраструктуру иммунокомпетентных клеток селезенки и почек осетра *Acipenser baeri* Brandt // Биол.внутр. вод. 1998. №2. С. 80- 85.
4. Балабанова Л.В. Ультраструктура гранулоцитов некоторых видов окунеобразных рыб // Биология внутренних вод. 2002. № 1. С. 79 - 84.
5. Балабанова Л.В., Заботкина Е.А. Ультраструктура клеток иммунной системы карпа *Surpinus carpio* L. в норме и при иммунизации//Цитология. 1988. Т.30. №6. С.657-661.
6. Волынкин Ю.Л. Лейкоциты и тромбоциты периферической крови некоторых рыб отр. Окунеобразных (*Perciformes*)// Вопросы ихтиологии. 1983. Т.23. Вып. 5. С.865-870
7. Галбарян С.П., Лаврова Е.А. Нефротоксическое действие соединений платины, хрома и кадмия на морских костистых рыб // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 1989. Т. 25. № 6. С. 729 - 735.
8. Гладышева И.В., Кашулин Н.А. 2006 Особенности накопления тяжелых металлов в организмах рыб в условиях многокомпонентного загрязнения водоемов (на примере водосбора р. Пасвик, 2002 г.) // Биоиндикация в мониторинге пресноводных экосистем: Тез. докл. СПб., 2006. С.36-37.
9. Заботкина Е.А., Бубенкова Е.В., Назарова Е.А. Действие сублетальных концентраций фенола и нафталина на структуру ткани туловищной почки и селезенки обыкновенного карася // Современные проблемы биологии, экологии, химии: Региональный сборник научных трудов. Ярославль, 2005. С. 79-84.
10. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1983. 184 с.

11. Крючков В.Н., Бойко А.В. Изучение механизма нефротоксичности кадмия для рыб // Современные проблемы Каспия: Тез. докл. Астрахань, 2002. С. 152 - 155.
12. Лапирова Т.Б. Изменения показателей белой крови карпа под влиянием карбофоса иммунизации // Биология внутренних вод. 2000. № 3. С. 102 - 106.
13. Лапирова Т.Б. Влияние различных концентраций карбофоса на гематологические показатели молоди карпа // Биология Внутренних вод. 2000. № 4. С. 141-146.
14. Лапирова Т.Б., Заботкина Е.А., Балабанова Л.В., Микряков В.Р., Назарова Е.А., Бубенкова Е.В. Реакция иммунной системы карпа на действие сублетальных концентраций кадмия // Экологические проблемы уникальных природных и антропогенных ландшафтов: Мат-лы Всеросс. Науч.-практ. конф. Ярославль, 2004. С. 229-234.
15. Лапирова Т.Б., Заботкина Е.А. Сравнительная характеристика иммунофизиологического состояния рыб из различных по степени загрязненности участков Рыбинского водохранилища // Эпизоотологический мониторинг аквакультуре: состояние и перспективы: Расшир. Мат-лы Всеросс. Науч.-практ. конф. Москва, 2005. С. 53 - 56.
16. Линник П.Н., Искра И.В. Кадмий в поверхностных водах; содержание, формы нахождения, токсическое действие // Гидробиологический журнал. 1997. Т. 33. № 6. С.72-87.
17. Лугасьякова Н.В. Адаптивные изменения крови рыб в водоемах с разным типом загрязнения // I Конгресс ихтиол. России: Тез. докл. Астрахань, 1997. С. 229.
18. Миронов А.А., Комиссарчик Я.Ю. Методы электронной микроскопии в биологии медицины. СПб.: Наука, 1994. 400 с.
19. Моисеенко Т.И. Гематологические показатели рыб в оценке их токсикозов (в примере сига *Coregonus lavaretus*) // Вопросы ихтиологии. 1998. Т. 38. № 3. С. 371-380.
20. Назарова Е.А. Влияние сублетальной концентрации кадмия на ультраструктуру лейкоцитов головной и туловищной почек головиков карпа (*Cyprinus carpio* L.) // Токсикологический вестник. 2007. № 1. С. 7 - 10.
21. De Smet Hans, De Wachter Bart, Lobinski Richard, Blust Ronny. Dynamics of (Cd,Zn) metallothioneins in gills, liver and kidney of common carp *Cyprinus carpio* during cadmium exposure // *Aquat. Toxicol.* 2001. V. 52. N 3 - 4. P.269 - 281.
22. De Smet Hans, Ronny Biust. Stress Responses and changes in Protein Metabolism in *Cyprinus carpio* during cadmium exposure // *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2001. V. 48. № 3. P. 17 - 22.
23. Ghosal T. K., Kaviraj A. Combined effects of cadmium and composted manure to aquatic organisms // *Chemosphere.* 2002. V. 46. № 5. P. 1099 - 1105.
24. Jayakumar Panchanathan, Paul Vattapparumbil Issac. Patterns of cadmium accumulation in selected tissues of the catfish *Clarias batrachus* (Linn.) exposed to sublethal concentration of cadmium chloride // *Vet. arh.* 2006. V.76. N 2. P.167 - 177.
25. Singhal R.N., Jain M. Cadmium induced changes in the histology of kidneys in common carp, *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) // *Bull. Environ. Contam. and Toxicol.* 1997. V.58. N 3. P. 456-462.

INFLUENCE OF SUB-LETHAL CONCENTRATION OF CADMIUM IONS ON A PROPORTION AND STRUCTURE OF LEUKOCYTES IN THE KIDNEY HEAD AND TRUNK OF PERCH (*PERCA FLUVIATILIS* L.).

E.A. Nazarova., E.A. Zabotkina

I.D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS. nazarova@ibiw.yaroslavl.ru.

On an example of the perch influence of sub-lethal concentration of cadmium ions on a proportion and structure of leukocytes at head and trunk kidneys was studied. Changes of organs in 7 and 14 day of an exposition were investigated by light and electron microscopy methods. It was noted that mitochondrion in all types of leukocytes were damaged and that phagocytic capacities of granulocytes became apparent. The said changes show disturbances of exchange processes in cells and amplification of heat-recovery processes in tissue. The revealed disturbances allow assuming that slackening of protective functions and, as consequence, decreasing in stability of fishes to various diseases.

НЕКОТОРЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭВОЛЮЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ ИММУНОЛОГИИ.

Пронина Г.И

*Россельхозакадемия, ГНУ ВНИИ ирригационного рыбоводства, пос. им.
Воровского, Ногинский район, Московская область, Россия. E-mail: LJB@flexuser.ru
lana-vniir@mail.ru*

В условиях интенсивного выращивания объектов аквакультуры (рыб, некоторых беспозвоночных) особую актуальность приобретает вопрос о сохранении, усилении и наследуемости иммунных свойств водных организмов.

В этой связи необходимо изучить иммунологические свойства различных организмов. У беспозвоночных животных биология иммунных систем начала изучаться только в последнее время (1 и др.). Иммунология позвоночных, в частности млекопитающих, известна достаточно хорошо, но остается нерешенной проблема изменения и закрепления в последующих поколениях тех или иных механизмов иммунной защиты.

В 80-х годах был описан целый ряд генов, контролирующих иммунный ответ на специфические антигены. Было выяснено (2), что при скрещивании инбредных линий морской свинки, в случае отсутствия иммунного ответа у потомства, наблюдается генетический феномен (ген PLL). В дальнейшем было найдено не менее 30 различных генов (I_r) у некоторых млекопитающих, регулирующих как клеточный, так и гуморальный иммунитет и получены убедительные доказательства того, что иммунный ответ во многих других случаях контролируется, по крайней мере, двумя генами I_r. Следует отметить тот факт, что гены I_r распознаются только у гомозиготных индивидуумов. В естественных популяциях эти гены (или их продукты), как правило, не выявляются. Исключением могут быть естественные популяции с высокой степенью инбредности, которые часто встречаются у грызунов и других млекопитающих (3). К 1985 году стали известны многочисленные факты выработки иммунитета у животных (паразитов и синантропов), наносящих ущерб сельскому хозяйству, к инсектицидам, родентицидам, фунгицидам и другим отравляющим веществам, а генетики вывели экспериментальные популяции дрозофилы, которые настолько перестроились в процессе отбора, что не могут существовать без ДДТ! (4).

Иммунная система развивалась в процессе эволюции из распознавания двух клеток друг другом при помощи комплементарных поверхностных рецепторов и различения «своего» и «не-своего». В настоящее время эволюцию иммунной системы уже нельзя рассматривать без эволюции комплекса МНС (Major Histocompatibility complex – главный комплекс гистосовместимости), под контролем которого она находится. Дивергенция в процессе эволюции на В-клетки и Т-клетки и их четкое функциональное разделение произошло на уровне амфибий. Причем, у хвостатых амфибий иммуноглобулины (IgM) образуются Т-клетками. Клетки хорошо реагируют на митогены Т-клеток и очень слабо – на митогены В-клеток (митогены – собирательное понятие для веществ, индуцирующих деление клетки). У бесхвостых амфибий уже произошло разделение на В-клетки и Т-клетки. Проведенные исследования (5) показали, что гены I_r связаны с Т-клетками (как и ген PLL), но некоторые их продукты обнаруживаются и на В-клетках, причем последние несут на своей поверхности еще одну группу антигенов – антигены Ia. Один из генетических продуктов, выделяемый Т-клетками, активирует В-клетки. Другой, проявляющийся на В-клетках, действует как акцептор активатора (регулятора) Т-клеток. В-лимфоциты, не содержащие гена Ia, продуцируют только IgM-антитела, тогда как лимфоциты, имеющие Ia, секретируют или IgG, или IgM и IgG (3). Было установлено, что

поверхностные антигены, кодируемые генами главного комплекса гистосовместимости контролируют иммунную реакцию и устанавливают ограничения различия функциональным популяциям Т-клеток. Иммуноглобулины существуют только у позвоночных. У беспозвоночных ничего аналогичного найдено не было. Тем не менее бесчелюстные (или круглоротые, куда относятся миноги и миксины) обладают иммуноглобулинами с μ -подобными тяжелыми цепями. У миксин имеется мультицепь из низкомолекулярных полипептидных цепей, но субъединицы еще не соединены дисульфидными мостиками. Ig M - один из древнейших классов иммуноглобулинов. Он существует у всех костных и хрящевых рыб, причем степень полимеризации разных видов различна. У некоторых бесчлустых амфибий найден другой класс (не имеющий названия), у которого тяжелая цепь сходна с α - или δ -цепью. Только у рептилий впервые появляются χ - и λ -цепи. α -Цепи существуют у птиц и млекопитающих, а γ -цепи - только у млекопитающих. У последних мы находим также разнообразные формы α -, γ -, δ - и ϵ -цепей и экспрессию более, чем одного класса в одной клетке (6).

Механизм иммунного ответа членистоногих еще до конца не ясен. Имеются данные о том, что в основе иммунной защиты, например ракообразных, лежит профенолоксидазная система, которая приводится в действие чужеродными агентами и связана как с клеточным, так и с гуморальным иммунитетом (1). Как у позвоночных, так и у членистоногих и, вероятно, у моллюсков, встречаются опухоли, и можно предположить, что защитные системы развились как реакция организма на aberrantное поведение собственных клеток. (3). Иными словами, биологический смысл иммунного ответа у высших эукариотических организмов состоит в удалении из организма аномальных белков эндогенного происхождения (7).

Селекционно-генетические аспекты иммунитета гидробионтов наиболее полно изучены у рыб (8, 9, 10, 11 и др.).

Интерес, в этом смысле, представляют работы по проведению генетического анализа устойчивости родительских форм и гибридов первого поколения к отдельным инфекционным заболеваниям рыб (гибриды сазана и карпа, лососевых и других групп рыб) (9, 10, 11). Получены данные о низкой наследуемости признака устойчивости различных видов рыб к инфекционным заболеваниям, который контролируется полигенно, что затрудняет исследования в этой области. Изменчивость устойчивости предлагается рассматривать как непрерывный признак и использовать при этом метод построения кривых (8).

В качестве прямых признаков рекомендуется использовать (8) иммунологические показатели: активность комплемента, интенсивность фагоцитоза, антителогенеза и степень устойчивости иммунизированных рыб к повторному заражению. Было обнаружено попарное иммунологическое сходство чешуйчатого карпа с разбросанным и голого с линейным по уровню активности комплемента, интенсивности фагоцитоза и интенсивности антителогенеза. Выяснилось, что у голого и линейного карпов более высокий фагоцитарный индекс и оптимальная активность фагоцитоза у иммунизированных рыб, и ее последующее снижение наступают раньше, чем у чешуйчатого и разбросанного. Прослеживается зависимость между иммунологическими особенностями этих пород карпа и их физиолого-биохимическими характеристиками. Карпы с лучшими иммунологическими показателями лучше переносят зимовку, более устойчивы к дефициту кислорода и высоким температурам, менее интенсивно теряют жир во время зимовки.

Примером косвенных признаков, выявленных по корреляции между иммунными свойствами и экстерьерными и интерьерными характеристиками, является окраска тела некоторых видов рыб, полиморфные белки, в частности трансферрины (8).

Таким образом, при проведении селекционно-генетических работ необходим не только комплексный иммунофизиологический подход, но и изучение генетического механизма наследуемости иммунных свойств организма животных, что позволит проводить селекцию на повышение устойчивости объектов культивирования.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. K. Soderhall, M.W. Johansson and V.J. Smith. Freshwater crayfish: Biology, management and exploitation / edited by D.M Holdich and R.S. Lowery.-Croom Helm, London – Sydney, Timber Press Portland, Oregon.-1988.-498p.
2. Benacerraf B., Germain R.M. The immune response genes of the major histocompatibility complex.- Immunol.Rev.-1978.- С.38- 70.
3. П. Зенгбуш. Молекулярная и клеточная биология.-М.: Мир, 1982.- Т3.-343 с.
4. Яблоков А.В., Медников Б.М. Комментарии (С. 76, 111,) к кн. Чарльз Дарвина «Происхождение видов путем естественного отбора» М.: Просвещение, 1987.-384с.
5. McDevitt H.O., Delovitch T. L., Press J. L. and all. Genetic and functional analysis of the Ia antigens: Their possible role in regulating the immune response .- Transplant Rev.,30,197. (1976)
6. П. Зенгбуш. Молекулярная и клеточная биология. М., «Мир», 1982 г. Т.1.-367 с.
7. Г. Стент, Р. Кэлиндар. Молекулярная генетика.- М.,Мир,1981 г.- С 616-620.
8. В.И. Лукьяненко. Иммунобиология рыб. Врожденный иммунитет.- М., «Агропромиздат», 1989 г. – 271 с.
9. Киричников В.С. Генетика и селекция рыб.- Л.: Наука, 1987.-520с.
10. Киричников В.С. Цели и методы селекции карпа // Известия ГосНИОРХ. 1966. С. 7-28.
11. Сычев Г.А. Сравнительный анализ гибридной молодежи стальноголового лосося и радужной форели по некоторым биологическим признакам // Труды ВНИРО.-1977.- Т. 126.- С.85-88.

SOME GENETICS AND EVOLUTION ASPECTS OF IMMUNOLOGY

Pronina G.I.

ВЛИЯНИЕ МОРФИНОПОДОБНЫХ ПЕПТИДОВ НА НИТРОКСИДЕРГИЧЕСКУЮ И КАТЕХОЛАМИНЕРГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙРОНОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА МОЛОДИ СИМЫ *ONCHORYNCHUS MASU*.

Е.В. Пушина, М. Ю. Флейшман, С.С. Тимошин.

Институт биологии моря им. А.В. Жирмундского ДВО РАН, Владивосток, Россия
e-mail: puschina@mail.ru

Регуляторные пептиды и их синтетические аналоги являются чрезвычайно перспективными веществами с целью их использования в медицине, ветеринарии, сельскохозяйственном и рыбозаводном производствах. Многочисленность этой группы биологически активных веществ в сочетании с полифункциональностью каждого пептида привели к формированию представления о существовании в организме функционально непрерывной совокупности регуляторных пептидов, способной обеспечить управление многими проявлениями жизнедеятельности. Регуляторные пептиды интегрированы в нейроэндокринную систему и осуществляют взаимосвязь между нервной, эндокринной и иммунной системами организма, формируя единый регуляторный континуум (Gomazkov, 2002). Пептидные регуляторы могут оказывать свои эффекты в дозировках на 2-3 порядка меньше, чем гормоны. Высокая эффективность и низкая токсичность пептидных регуляторов определяют перспективность их использования в качестве фармакологических препаратов. Показана способность регуляторных пептидов этого семейства влиять на тканевой гомеостаз и анаболические процессы в различных тканях млекопитающих (Флейшман и др., 2004). Имеются сведения об участии регуляторных пептидов в контроле онтогенетического развития и тканевого гомеостаза у рыб. Наличие долговременного анаболического эффекта после однократного воздействия вещества с периодом полураспада 2 мин представляет особый интерес и свидетельствует о высочайшей активности пептида в отношении развивающейся молоди рыбы. Одним из наиболее интересных и малоизученных классов опиоидных пептидов являются дерморфины – высокоселективные лиганды мю-опиатных рецепторов. Химические аналоги дерморфинов, различающиеся по их тропности к подтипам опиоидных рецепторов, такие как седатин (H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Gly-OH) обладают высокой биологической активностью. Это вещество является смешанным мю/дельта-агонистом, т.е. по своей аффинности к опиоидным рецепторам близко к широко используемому в настоящее время в медицинской и ветеринарной практике даларгину. Параллель между даларгином и аналогами дерморфина представляется уместной в связи с тем, что один из этих аналогов (H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Gly-OH), как и даларгин является смешанным мю/дельта-агонистом. Кроме того, в его структуре, как и в молекуле даларгина, присутствует аргинин. Одним из важных свойств регуляторных пептидов является их способность вызывать ряд отсроченных эффектов. Однако, механизмы этих эффектов остаются невыясненными. Пептид H-Tyr-D-Ala-Phe-Gly-OH отличается от седатина отсутствием аргинина (седатин без аргинина). Ряд биологических эффектов этого пептида совпадают с эффектами седатина, однако, существует и отличия. Анализ этих различий представляет интерес для оценки роли Arg в реализации биологических эффектов аналогов дерморфина.

Нитроксидагическая и катехоламинагическая системы головного мозга являются мощными модуляторами метаболической активности организма, поскольку они осуществляют регуляцию нейроэндокринных, репродуктивных и поведенческих функций. Целью настоящего исследования стало изучение влияния синтетических аналогов дерморфина: седатина, седатина без аргинина, L-NAME и комбинации

пептидов L-NAME + седатин на катехоламинергическую и нитроксидергическую активность нейронов головного мозга у молодежи сими *Onchorynchus masu*.

Пептиды в концентрации 10^{-4} внутримышечно (в область спинного плавника) вводили малькам сими в течение 5 дней. Оценку нитроксидергической и катехоламинергической активности нейронов головного мозга производили с помощью иммуногистохимии тирозингидроксилазы (Vector Laboratories, Burlingame, USA) и нейрональной нитроксидсинтазы (ICN, USA).

В головном мозге костистых рыб существует исходный базисный уровень продукции оксида азота, определяющий наиболее благоприятные условия для протекания естественной деятельности. Так в норме, оксид азота в мозге сими синтезируется в дорсальной области конечного мозга, в ядрах промежуточного мозга: преоптическом, паравентрикулярном, дорсо-медиальном и вентро-медиальном ядрах таламуса, переднем таламическом, задне-туберальном ядрах, в III, IV, VI ядрах октаво-латеральных эфферентных нейронах. Активность NO-синтазы выявлена в холинергических дорсо-латеральных ядрах тегмента, перешейка, переднем ретикулярном ядре, вторичном вкусовом ядре, ретикуло-спинальных нейронах продолговатого мозга. Также нейрональная NOS у рыб в норме синтезируется в серотонинергическом ядре шва, норадренергическом locus ciruleus.

Катехоламины в мозге сими в норме синтезируются в вентральных ядрах конечного мозга, преоптической, заднетуберальной и гипоталамической областях промежуточного мозга. Высоко иммуногенны клетки и волокна сосудистого мешка и нейрогипофиза. Умеренная активность TH обнаружена в нейронах ганглиозного и гранулярного слоев мозжечка, и области полулунного валика. Высокий уровень TH-иммуногенности выявлен в перивентрикулярных ликвороконтактирующих клетках (ЛКК) паравентрикулярного органа ПВО. В продолговатом мозге катехоламинергические нейроны найдены в составе латеральной ретикулярной формации, ядрах тройничного и лицевого нерва. TH-иммунопозитивные клетки присутствуют в IV, VI ядрах глазодвигательного комплекса, нейронах ядер шва, locus ciruleus, вторичного вкусового ядра, латеральных ядер заслонки.

Данные иммуногистохимического анализа нитроксидергической и катехоламинергической активности ядер головного мозга при воздействии синтетических дерморфинов и L-NAME представлены в таблице.

При введении седатина слабая активность нейрональной NOS сохраняется в интегративных центрах мозга сими: в зрительном тектуме, в дорсальной зоне конечного мозга и нейронах гранулярного слоя мозжечка. Нейрональная NOS, присутствующая в норме в ядрах промежуточного мозга и перешейка при введении седатина не выявляется. В ядрах краниальных нервов в норме характеризующихся значительным уровнем активности NOS при введении седатина не выявлено. Снижена катехоламинергическая активность в ядрах промежуточного и среднего мозга. В норме умеренно-высоко иммунопозитивные ядра промежуточного мозга при введении седатина практически не маркируются тирозингидроксилазой. Напротив, по сравнению с нормой, увеличивается число умеренно TH-иммунопозитивных нейронов в конечном мозге, особенно в дорсальной области и вентральных ядрах. В мозжечке и тектуме, ядрах тройничного, лицевого языкоглоточного и блуждающего нервов, а также мозговых ядрах синтез катехоламинов значительно снижен. Выявлено увеличение числа реагирующих нейронов в медиальном и латеральном столбах ретикулярной формации.

Таблица. Катехоламинергическая и нитроксидергическая активность нейронов головного мозга у молодой самки *Onchorynchus masu* при введении синтетических аналогов дерморфина (седатин и седатин без аргинина) и L-NAME.

Структуры головного мозга	Седатин	Седатин без аргинина	L-NAME	L-NAME+седатин
Нейрональная нитроксидсинтаза				
<i>Конечный мозг</i>	-	++	++	+++
Промежуточный мозг:				
Преоптическое, ПВО,	+	++	+++	+++
дорсо-медиальное,	+	+	+/+++	+++
вентро-медиальное,	-	++	++	+++
переднее таламическое,	-	++	+++	+++
задне-туберальное	+	+++	++	+++
Глазо-двигательные ядра: III, IV, VI	-	++	+/+++	+++
Тегментум:				
Дорсо-медиальные ядра тегментума	-	++	++	+++
Мост:				
Ядро перешейка,	-	++	++	+++
вкусовое ядро,	-	+	+	+++
ретикулярное ядро,	-	+	+/+++	+++
ядро шва.	-	+	+	++
Оптический тегтум:				
ЦСС	++	+++	++	+++
ПСС	+	+++	+++	+++
ЦБС	-	++	-	+++
ПВС	-	-	++	+++
Продолговатый мозг: V, VII, IX, X ядра ч/м нервов, ретикуло-спинальные клетки				
	-	++	+/+++	+++
	-	+	+/+++	+++
Тело мозжечка	+	++	+/+++	+++
Ретикулярная формация	-	++	++	+++
Тирозингидроксилаза				
Конечный мозг	++	+/+++	++	+++
Промежуточный мозг:				
Преоптическое,	-	+++	+++	+++
ПВО (ЛКК),	+	+++	+++	+++
Претсктальные ядра,	+	++	+++	+++
	+	++	+++	+++

Вентро-медиальное,	+	++/+++	+++	+++
Вентро-латеральное	+	++	++/+++	+++
задне-туберальное,	+	+++	+++	+++
гипоталамус,	+/++	+++	+++	+++
сосудистый мешок,				
нейрогипофиз				
Глазо- двигательные ядра: IV, VI	++	++	+++	++
Тегментум:	+	++	++	++
Полудушный валик	++		++	++
Мост:				
Вкусовое ядро,	+/++	+	+++	++
ядро заслонки,	+	++	++	+++
locus ceruleus,	++	+++	+++	+++
ядро шва.	+	+++	++	+++
Оптический тектум:				
ЦСС	+	++	++	+++
ПСС	-	-	+	++
ЦБС	-	++	++	+++
ПВС	+	++	+++	+++
Продолговатый мозг: V, VII, IX, X ядра ч/м нервов, ретикуло- спинальные клетки	+/++	++/+++	+++	+++
	++	++	+++	+++
Тело мозжечка			++	+++
Латеральная ретикулярная формация	+/++	++	+++	++

Примечание: 1) - иммуногенные клетки отсутствуют, 2) + слабая активность, 3) ++ умеренная активность, 4) +++ высокая активность

При введении **седатина без аргинина** активность нейрональной NOS сохраняется в большинстве отделов головного мозга симы, в норме синтезирующие NOS. Характерно снижение активности в нейросекреторных ядрах промежуточного мозга, за исключением заднетуберальных ядер. В тектуме нейроны перивентрикулярного серого слоя (ПСС) высоко иммуногенны. Активность de novo выявлена в центральном сером слое (ЦСС) (дорсо-медиальная области) и нейронах и волокнах центрального белого слоя (ЦБС). В моторных дорсо-медиальных ядрах тегмента и мезенцефалической РФ уровень активности синтазы, по сравнению с нормой, снижен. Значительное снижение активности NOS обнаружено в моторных и не моторных ядрах продолговатого мозга. В норме высоко иммунопозитивные ядра V, VII, IX, X пар ч/м нервов значительно снижают уровень активности в проекционных нейронах. Значительно снижена иммуногистохимическая активность в эпендимоцитах мозга симы. Слабо маркируемые клетки обнаружены лишь на территории ромбовидной ямки area postrema, и не найдены в эпендимальной зоне других областей головного мозга. Умеренная активность выявлена в гранулярном слое мозжечка и также дорсо-центральной области конечного мозга. По сравнению с нормой уровень активности NO-синтазы в этих областях изменяется незначительно. Наблюдается значительное увеличение числа ретикулярных катехоламинергических нейронов. Высокая активность TH выявлена в ЛКК

промежуточного мозга: гипоталамических перивентрикулярных ядер заднетуберальной области. Характерно увеличение КЭ активности перивентрикулярных клетках интертекстальной области и area postrema. Уровень активности TH в двигательных ядрах, IV, VI несколько снижен, по сравнению нормой, что также отмечено в дорсальных V, VII ядрах. В IX-X ядрах активность наоборот усилена. В ядрах шва и нейронах голубоватого места активность TH умеренная. В интегративных центрах: конечном мозге, тектуме и мозжечке количество TH-иммунопозитивных клеток увеличено, но уровень активности умеренный.

При введении L-NAME обнаружено общее увеличение числа NO-эргических нейронов в интегративных центрах мозга симы. В конечном мозге умеренная активность NOS выявлена практически во всех зонах дорсальной области. Выраженная активность NOS выявлена в субпаллиальных областях, где умеренное-сильное маркирование характерно для крупных проекционных клеток, принадлежащих очевидно стриатарной формации. В оптическом тектуме наблюдалось как увеличение общего уровня активности NOS, так и числа реагирующих нейронов в его слое. Максимальная активность обнаружена в нейронах ПСС и ЦСС. В мозжечке увеличено количество реагирующих нейронов в гранулярном слое. Индукция NOS выявлена ретикулярной формации на уровне промежуточного и продолговатого мозга, отсутствует в мезенцефалическом отделе. В ядрах перешейка активность NOS снижена. Во всех областях мозга выявлен значительный уровень активности NOS в эпендимоцитах, причем на уровне промежуточного и продолговатого отделов он максимален. В моторных ядрах среднего и продолговатого отделов мозга симы при введении L-NAME выявлена средняя-сильная активность NOS. Таким образом, при введении L-NAME наблюдается индукция NOS во всех интегративных центрах мозга, включая и переднемозговые отделы ретикулярной формации (области сенсорной интеграции). Подобное увеличение активности сохраняется и при реакции на тирозингидроксилазу. Поскольку индукция активности в ретикулярных структурах головного мозга складывается из усиления уровня активности фермента и увеличения числа реагирующих клеток, предполагается активация синтеза КЭ восходящей ретикулярной формации. В мозжечке и зрительном тектуме подобные эффекты выражены в меньшей степени. Катехоламинергическая активность ядер промежуточного мозга несколько снижена, по сравнению с нормой, что вероятно компенсируется активацией КЭ синтеза в прилегающей ретикулярной формации. В ядрах продолговатого мозга, моторных ядрах тегмента уровень синтеза КЭ высокий, однако, перераспределение КЭ активности в пользу структур РФ выражено отчетливо.

При введении комбинации пептидов L-NAME и седатина уровень активности NOS и TH высокий. Он определяется значительной интенсивностью окрашивания клеток, а также увеличением числа реагирующих нейронов и глии. Интенсивно маркированы NOS ядра промежуточного, среднего, продолговатого мозга. На всех уровнях головного мозга выявлена высокая активность NOS в эпендимоцитах. Таким образом, при введении комбинации пептидов выявлено значительное увеличение уровня активности нейрональной NOS и TH в сенсорных, моторных ядрах интегративных центрах головного мозга симы.

Таким образом, результаты исследования впервые показывают, что синтетические аналоги дерморфинов обладают выраженным биологическим воздействием на нитроксидергическую и катехоламинергическую системы головного мозга у молодой симы. Пептиды оказывают влияние на синтез и активность катехоламинов и продукцию оксида азота в сенсорных, двигательных и интегративных центрах головного мозга и ретикулярной формации, модулируя их метаболическую активность.

Работа выполнена при финансовой поддержке Американского фонда содействия и развития (CRDF) и Министерства Образования (проект Y2-B-03-05) и гранта Президента РФ (проект МК-9001.2006.4).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

Gomazkov O.A. Apoptosis in neuronal structures and the role of neurotrophic growth factors. Biochemical mechanisms of brain derived peptide preparations// Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova. – 2002. № 7-С.17-21.

Влияние аргининсодержащего мю-дельта-агониста опиатных рецепторов седатина на процессы синтеза ДНК в эпителии фундального отдела желудка белых крыс/ М. Ю. Флейшман, А.В. Кузнецов, В.И. Дейгин, С.С. Тимошин // Бюл. Экспер. биол. и мед. 2004. Т. 137, № 3. С. 235-237.

EFFECTS MORPHINE-LIKE PEPTIDES TO THE NITROXIDERGIC AND CATECHOLAMINERGIC ACTIVITIES BRAIN NEURONS OF YOUNG SALMON *ONCHORYNCHUS MASU*.

Pushchina E.V., Fleyshman M.Y., Timoshin S.S.

In the present study, have been analyzed the effects morphine-like peptides to the nitroxidergic and catecholaminergic activities brain neurons of young salmon *Onchorynchus masu* by tyrosine hydroxylase and nitric oxide synthase (NOS) immunohistochemistry. Morphine-like peptides are exerted influence on the synthesis of NO and catecholamines in telencephalon, tectum, cerebellum and brain reticular formation. Sedatin (H-Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Gly-OH) injection have inhibitory impact on NO- and catecholamine-productive systems in young salmon brain. Peptide H-Tyr-D-Ala-Phe-Gly-OH decrease level of NO-activity in diencephalic nuclei, which are produced NO in normal conditions, but have not an impact on catecholaminergic activity. The combination of sedatin + L-NAME is increased synthesis of NO and catecholamines in salmon CNS. Thus, morphine-like peptides are biologically active substance, which have apparent influence on the NO and catecholamines production in the young salmon brain.

ПАТОЛОГИИ РЫБ ПРИ АФЛАТОКСИКОЗЕ.

Ю.Н. Шарова, А.А. Лукин

Институт водных проблем Севера КарНЦ РАН, Петрозаводск, Россия
e-mail: sharova@mwpj.krc.karelia.ru

Болезни рыб, возникающие как в естественных, так и в искусственных водоемах наносят значительный ущерб рыбному хозяйству. Особенно остро встает эта проблема в современной аквакультуре. По данным специалистов, ущерб от болезней в искусственном выращивании по отдельным возрастным группам рыб может составлять до 100% (Murjani, 2003). Переход на высокоинтенсивные формы выращивания рыб (повышенные плотности посадки; искусственные, плохо сбалансированные корма; пищевым компонентам, корма; травматизация рыбы при пересадках и перевозках и др.) приводит к развитию алиментарных болезней, вызванных неполноценными и токсичными кормами

Впервые афлатоксикоз был диагностирован в 1960 году на форелевом хозяйстве, где в результате опухолевого поражения печени погибло 85 % радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) (Ashley, 1970). В настоящее время афлатоксин является наиболее изученная группа микотоксинов, которым посвящено более 5000 публикаций (Ashley, 1970; Jantrarotai, Lovell, 1990; Baron *et al.*, 2000; Dominguez-Malagon, Gaytan, Graham, 2001; Hussein *et al.*, 2001; Meki *et al.*, 2001; Tuan *et al.*, 2002 и др.). Афлотоксины – патогенные вещества, образующиеся в длительно хранящихся недоброкачественных кормах. В таком корме развивается плесневый гриб *Aspergillus flavus*, который и выделяет канцерогены группы афлотоксина. Кроме того, афлатоксины могут вызывать развитие патологий опосредованно, оказывая пагубное воздействие на важнейшие питательные компоненты. Так например, афлатоксины оказывают разрушающее действие на витамины А и С, способствующие поддержанию иммунитета, на тиамин, необходимый для метаболизма и функционирования нервной системы, делая рыб более восприимчивыми к бактериальным, вирусным болезням и паразитарным инвазиям. Реакция видов на острое и хроническое действие афлатоксинов различна и определяется факторами окружающей среды: продолжительностью воздействия, возрастом особей, качеством кормов и т.д. Наиболее чувствительными к действию афлатоксинов являются мальки и лососевые виды рыб (Lovell, 1992).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом гистологического исследования являлись сеголетки лососевых, разводимые на Солзенском и Онежском рыбзаводах (Архангельская область). Для анализа отбирались жабры, печень, почки, сердце. Общее количество исследуемого материала составило 80 проб. В качестве фиксатора использовалась смесь Буэна. Обработка проб проводилась по общепринятым гистологическим методикам (Роскин, Левинсон, 1957). Микроскопирование осуществлялось при увеличении 10х10, 10х16.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования сеголетков Солзенского рыбзавода выявили различные патологические изменения функционально важных органов. В **жабрах** на первый план выступали нарушения кровообращения: гемолиз эритроцитов, в кровеносных сосудах некоторых филламентов отмечалось полное разрушение форменных элементов крови, расширенные капилляры переполненные эритроцитами, которые из-за изменения функциональных характеристик слипались, образуя «столбики». Выявлены отеки – обширные полости в респираторных ламеллах на границе с капиллярами, заполненные серозной жидкостью, что влечет за собой респираторный и осморегуляторный дистресс, и летальный исход (Skidmore, Tovell, 1972; Smith, Piper, 1975). Подобные повреждения были описаны

рыб под воздействием тяжелых металлов, а именно кадмия (Матей, 1996), а также у рыб находящихся в условиях острого пищевого афлотоксикоза (Ashley, 1970). Диагностированы опухоли жабр, процесс развития которых у исследуемых сеголетков удалось проследить в динамике. На первом этапе происходило разделение респирационной ламеллы. Образовавшиеся в результате этого процесса окончания, срастались с соседними респирационными ламеллами, образуя, таким образом, единое целое. Затем происходило разрастание жаберного эпителия (процесс гиперплазии), превращавшегося в сплошную массу клеток. Следующим этапом в многостадийном процессе новообразования была гибель отдельных клеток. Этому предшествовали изменения клеток, характерные для необратимых дистрофий, Некрозу предшествовало изменение клеток, характерные для необратимых дистрофий, именуемые некробиозом. Итогом некробиоза является некроз клеток, которые затем подвергаются разложению – аутолизу. В результате гибели клеток образуются бесструктурные гомогенные некротические массы – некротический детрит. Наблюдаемые новообразования можно классифицировать как доброкачественные опухоли, поскольку они состояли из зрелых, дифференцированных клеток, близких к исходной ткани. Т.е. в них не проявлялось клеточного атипизма, но был характерен тканевой атипизм (хаотичное расположение клеток жаберного эпителия). Наиболее тяжелой патологией являлось появление анастомозов, что приводило к слиянию филламентов и превращению строго организованного жаберного аппарата в бесструктурную массу. При этом незатронутым, а, следовательно, способным к выполнению функций, оставался лишь дистальный отдел филламентов.

В печени, как и в других органах, наблюдалось нарушение микроциркуляторного кровообращения, которое проявлялось в полнокровии органа. При этом происходило расширение вен и капилляров, и остановка кровотока – венозный стаз. Процесс сопровождался повышенной проницаемостью стенок кровеносных сосудов и диapedезом эритроцитов. Далее происходит распад эритроцитов и превращение гемоглобина в гемосидерин. В результате всех этих процессов нарушается перфузия ткани кровью и возникает тканевая гипоксия (кислородное голодание), способствующая накоплению в тканях недоокисленных продуктов метаболизма (молочная, пировиноградная кислота) и ацидозу. Выявлен гемолиз эритроцитов до полного разрушения форменных элементов крови, а также деструкция стенок кровеносных сосудов и инфильтрация паренхимы. У всех обследованных особей отмечалась липоидная дегенерация гепатоцитов и обширные кровоизлияния в паренхиму. Печень - основной орган-мишень при афлотоксикозе. Афлатоксины инициируют острый некроз, цирроз и рак печени. Доказано, что 0.02 мг/кг корма – доза афлатоксина, вызывающая в течение 8 месяцев развитие опухолей печени у 58% особей, использование токсичных кормов в течение 12 месяцев приводит к заболсваниям 83% рыб.

В почках у всех сеголетков наблюдалась повышенная васкуляризация органа, обширные кровоизлияния, возникающие, видимо, вследствие увеличения притока крови, повышения давления в кровеносных сосудах и разрыва их стенок. Наряду с этими патологиями наблюдался венозный стаз. Выявлен гемолиз эритроцитов, способствующий развитию гемосидероза, а также деструкция стенок кровеносных сосудов и диapedез эритроцитов. Отмечены признаки нефропатии (дегенеративные изменения сосудисто-клубочково-канальцевого аппарата), выражающиеся в закупорке почечных канальцев гемосидерином, увеличении пространства между боуменовоу капсулой и гломерулой, и некрозе гломерул.

В сердце рыб наблюдалось расширение кровеносных сосудов, выражены расстройства микроциркуляции в виде стазов. Отмечались кровоизлияния и появление воспалительного инфильтрата среди кардиомиоцитов. Мышечные клетки при этом

подвергались лизису. Внутри миокарда, таким образом, возникало разрыхление мускулатуры желудочка клетками крови и очаги некроза, что соответствовало картинам, возникающим при микроинфарктах. Наряду с этим у всех сеголетков выявлен гемолиз эритроцитов. Все эти процессы вызывают расстройства деятельности сердечной мышцы. Повреждения миокарда могут быть вызваны различными патогенными факторами. У исследуемых нами рыб это может быть венозная полнокровие, регистрируемое во всех органах, способствующее развитию анемии (изменению состава крови), который вызывает непосредственное повреждение кардиомиоцитов.

В *жабрах* сеголетков Онежского рыбзавода были представлены все виды нарушений, выявленных у рыб Солзенского рыбзавода (гемолиз эритроцитов, разрушение форменных элементов крови, расширенные капилляры, переполненные эритроцитами, отек респираторных ламелл, наличие анастомозов). Исключением составили новообразования, которые зарегистрированы у Онежских сеголетков начальной стадии развития – стадии раздвоения респираторных ламелл. Поскольку факторы, стимулирующие развитие данной патологии, присутствуют на Онежском рыбзаводе, можно предположить, что процесс образования опухоли достигнет своего логического завершения. Из десяти обследованных рыб всего одна особь имела жабу, характеризующиеся нормальной структурой. В *печени* выявлены липонидная дегенерация гепатоцитов, кровоизлияния в паренхиму, гемолиз эритроцитов кровеносных сосудах и в местах кровоизлияний, высокая степень васкуляризации органа. Кроме этого у сеголетков Онежского рыбзавода отмечен пикноз и гепатоцитов, чего не наблюдалось у солзенских сеголетков. Кариопикноз – необратимое изменение ядра и является основным признаком некроза клеток. В *почках* выявлены гемолиз эритроцитов, гемосидероз, обширные кровоизлияния в паренхиму, повышенное кровенаполнение, истончение и деструкция стенок кровеносных сосудов, диapedез эритроцитов, увеличение пространства между боуменовою капсулой гломерулой, некроз гломерул. В *сердце* – признаки микроинфаркта: дистрофические изменения мышечных волокон в виде их фрагментации, отечность стромы миокарда, выраженные расстройства микроциркуляции в виде стазов в капиллярах, диapedез кровоизлияния.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате диагностических исследований у сеголетков лосося Солзенского Онежского рыбзаводных заводов выявлены патологии органов, вызванные факторами алиментарной природы и, обусловлены использованием некачественных кормов, несбалансированных по основным компонентам, что в конечном итоге приводит к развитию острого пищевого афлатоксикоза. Характер аномалий у обследованных особей (кровоизлияния, отеки, некроз) свидетельствует об остром течении болезни переходящей в разряд необратимых изменений. Подобные патологии приводят к гибели рыб, у выживших особей нарушается осморегуляторная функция, что затрудняет переход молодежи, при катадромной миграции из пресной воды в соленую также ведет к ее гибели.

Следует отметить, что болезни, развивающиеся в результате острого афлатоксикоза, представляют в настоящее время серьезную проблему для аквакультуры во всем мире, в том числе для рыбзаводов северо-запада России. Канцерогенный эффект афлатоксина изучен у лосося, радужной форели, сома, тилапии, группы карпа (Jantrarotai and Lovell, 1990; Lovell, 1992; Tacon, 1992; Chavez et al., 1994; Murjani, 2003). При прогрессировании болезни патологические процессы становятся необратимыми и происходит гибель рыбы, что наблюдалось в морских хозяйствах Белого моря (Карасева, 2003). Меры борьбы только профилактические.

производстве следует использовать только качественные сбалансированные корма и не употреблять лежалые, длительно хранящиеся корма, зараженные токсинами плесневых грибов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Карасева Т.А. Болезни рыб в аквакультуре Севера России (на примере Кольского полуострова // Автореф. дис...канд. биол. наук. Петрозаводск. 2003. 22 с.
- Матей В.Е. Жабры пресноводных костистых рыб: Морфофункциональная организация, адаптация, эволюция. СПб.: Наука. 1996. 204 с.
- Роскин Г.И., Левинсон Л.Б. Микроскопическая техника. М.: Сов. Наука. 1957. 486 с.
- Ashley L.M. Pathology of fish fed aflatoxin and other antimetabolites // Washington, 1970. P. 366-379.
- Baron C.C. Lipopolysaccharide augments aflatoxin B(1)-induced liver injury through neutrophil-dependent and -independent mechanisms // Toxicol Sci. V. 58. 2000. P. 208.
- Dominguez-Malagon H., Gaytan-Graham S. Hepatocellular carcinoma: an update // Ultrastruct Pathol. 25. 2001. P. 497.
- Chavez, S., Martinez, M., Osorio, C., Palacios, Mareno I. Pathological effects of feeding young *Oreochromis niloticus* diets supplemented with different levels of aflatoxin // Aquaculture 127 (1). 1994. P. 49-61.
- Hussein S. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals // Toxicol. 167. 2001. P. 101.
- Jantrarotai, W., Lovell R. Subchronic toxicity of dietary aflatoxin B1 to channel catfish // Journal of Aquatic Animal Health 2. 1990. P. 248-254.
- Lovell, R.T. Mycotoxins: hazardous to farmed fish // Feed International, 13(3). 1992. P. 24-28.
- Meki E.T. Aflatoxin B1 induces apoptosis in rat liver; protective effect of melatonin // Neuroendocrinol 22. 2001. P. 417.
- Murjani, G. Chronic aflatoxicosis in fish and its relevance to human health // Central Institute of Freshwater Aquaculture. India. 2003.
- Skidmore J.F., Tovell P.W. Toxic effect of zinc sulfate on the gills of rainbow trout // Water Res. V. 6. 1972. P. 217-230.
- Smith G.E., Piper R.G. Lesions associated with chronic exposure to ammonia // The Pathology of Fishes, ed. W.E. Ribelin and G. Migaki. Madison, Wis.: University of Wisconsin Press. 1975. P. 497-514.
- Tacon, A. Nutritional fish pathology. Morphological signs of nutrient deficiency and toxicity in farmed fish // FAO Fish Technical Paper No. 330. Rome. 1992. 75 p.
- Tuan, N.A., J.M. Grizzle, R.T. Lovell, B.B. Manning, and G.E. Rottinghaus. Growth and hepatic lesions of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets containing aflatoxin B1 // Aquaculture 212. 2002. P. 311-319.

This study is focused on effect of aflatoxin-contaminated feeds in salmon (*Salmo salar*). Implications of aflatoxins in fish feeds are studied. Signs of aflatoxicosis in fish are found. It is shown that initial findings associated with aflatoxicosis include pale gills, impaired blood clotting, anemia, hemorrhage, acute liver damage, edema. Prolonged feeding of low concentrations of aflatoxins causes liver tumors, and increases in mortality of fish.

ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ АЛИМЕНТАРНОЙ ПРИРОДЫ В ОБМЕНЕ ВЕЩЕСТВ У РЫБ

Щербина М.А., Салькова И.А., Бондаренко О.А.

ФГУП "Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного рыбного хозяйства", Россия, 141821, Московская обл., Дмитровский район, пос. Рыбное E-mail VNIPRH@mail.ru

Изучение пластического и водного обмена у животных в процессе роста диктуется необходимостью познания закономерностей этих процессов для разработки способов их направленной регуляции в условиях аквакультуры.

В предшествующей публикации (Щербина, 1984) было показано, что у рыб, как и у теплокровных животных (Шамаенков и др., 1968; Покровский, 1974, 1975 и т.д.) соотношение в приросте массы основных групп пластических веществ и воды нестабильно и зависит от ряда био- и абиотических факторов. Наиболее сильное влияние на химизм прироста оказывают температура среды, возраст рыб и, естественно, генетические особенности. В то же время прямой коррелятивной связи между уровнем белка в корме и его концентрации в приросте массы не выявлено. Однако отмечено, что при снижении интенсивности весового роста, близком к патологии, наблюдалось «сгущение» прироста за счет повышения концентрации пластических веществ или его «разжижение» за счет удерживания в организме воды. Причинами этих явлений могут быть разнообразные факторы, в том числе алиментарной природы.

К настоящему времени накоплено много доказательств, что значительная часть сырьевых источников, используемых при изготовлении комбикормов для всех видов животных, в том числе и рыб, содержит не только полезные для организма вещества. Во многих из них, наряду с питательными, содержатся так называемые антипитательные факторы – вещества естественного происхождения, которые могут препятствовать нормальному усвоению пищи, нарушать обменные процессы и осморегуляцию, а также тормозить рост животных. Особенно богаты ими побочные продукты переработки масличных культур – жмыхи и шроты, которые во многих случаях являются основным источником белка в комбикормах для поли- и фитофагов. К ним относится комплекс более чем из 40 антипитательных агентов соевого шрота: хлопчатниковый шрот содержит высокоактивный яд – госсипол, рапсовый – токсичные производные глюкозинолатов, подсолнечный – хлорогеновую кислоту и т.д. Не лишены их бобовые и зерновые, а также некоторые продукты биотехнологии; представляют опасность бактерио- и микотоксины, образующиеся в процессе хранения кормов.

Антипитательные факторы, ингибируя действие многих ферментов, в частности печени, оказывают гепатотоксические эффекты, нарушают синтез белка, а также структуру органов, связанных с процессами пищеварения и выделения, препятствуют транспорту пищевых веществ через биологические мембраны и т.д. В результате возможно резкое изменение хода биосинтетических процессов и угнетение роста рыб.

В исследованиях по изучению питательности и специфических свойств комбикормового сырья, которые выполнялись на протяжении нескольких десятилетий, мы нередко наблюдали при торможении роста значительные сдвиги в водном и пластическом обмене, которые возникали у рыб при питании различными сырьевыми компонентами и комбикормами. Ниже мы приводим наиболее интересные результаты этих исследований.

Объектом экспериментов служили сеголетки, годовики или двухлетки карпа и форели. Опыты, как правило, проводились в условиях установок замкнутого водоснабжения при нормальных кислородных и близких к оптимальным

температурных условиях. Различные компоненты обычно испытывались в виде моноорма. В отдельных случаях, когда не представлялось возможным изготовить гранулы из-за сыпучести сырья, готовили его смесь со связующими веществами (например, пшеницей, в случае с перьевой мукой). В качестве контроля обычно служили полнорационные, достаточно полноценные, комбикорма.

Для характеристики направленности обмена веществ растущих рыб был использован предложенный нами (Щербина, 1975) показатель концентрации веществ в приросте, основанный на изменениях в массе и химическом составе рыб в процессе наблюдений. Расчет велся по формуле $K_{пр} (г, МДж / 1 кг прироста) = 10(M_t P_t - M_0 P_0) / M_t$ - M_0 , где M_0 , M_t и P_0 , P_t - масса рыб (г) и содержание веществ (%), а также энергии (МДж/100 г) в начале и конце опыта. О скорости роста рыб судили по показателю среднесуточного прироста (или удельной скорости роста), определяемому по формуле: $СВ(\%) = 200(M_t - M_0) / (M_t + M_0)t$, где t - период экспериментов в сутках.

Как можно видеть по данным табл. 1, при питании карпов естественной пищей и полноценным комбикормом, концентрация воды и пластических веществ в приросте 1 кг массы карпов колебалась соответственно в пределах 700 и 300 г/кг. При этом на долю белковых веществ приходилось около 170 г, липидов - 80-140 г. При дальнейшем обсуждении данных эти показатели мы приняли за норму.

Испытания перьевой муки, которая длительное время считается потенциальным источником концентрированного белкового сырья, позволили обнаружить у рыб резкие сдвиги в соотношении синтезируемых веществ, что, прежде всего, свидетельствовало о серьезном нарушении процессов осморегуляции. Оно выразилось в резком (в 9,5 раза) обезвоживании прироста, повышении почти в 2 раза количества белка и в 1,6 раза - жиров. Изменения в метаболизме сопровождались снижением скорости роста рыб в 1,7 раза. Одна из главных причин отрицательного воздействия муки, находящаяся на поверхности, - неполноценность аминокислотного состава белка, выраженная в дисбалансе незаменимых аминокислот и его низкая переваримость. По нашим данным (Щербина и др., 2004), перьевая мука способна удовлетворить только 11% потребности карпа в гистидине, 14% - в лизине, 56% - фенилаланине.

Сходное действие по резкому (в 2,4 раза) торможению прироста оказало питание карпа кукурузным глютенем, который также рассматривается в качестве концентрата белка и возможного заменителя рыбной муки в комбикормах. Негативное действие при торможении скорости роста в 2,5 раза выразилось в дегидратации, т.е. сгущении прироста (в 1,5 раза), усилении в 2,4 раза липогенеза. Однако изменений в концентрации белка в единице прироста массы не обнаружено. Предполагавшаяся замена в комбикорме ВБС-РЖ 9% рыбной муки на глютен вызвала обезвоживание прироста массы рыб на 8%, активизацию липогенеза на 42% при сокращении концентрации белка в приросте на 11%. Наиболее вероятная причина этого негативного явления - резкий дефицит в глютене лизина (более чем в 3 раза), аргинина (в 1,8 раза) и избыток лейцина (в 2,3 раза) (Щербина и др., 2001). Перечисленные изменения в соотношении воды и пластических веществ в прирастающей массе рыб, одновременно со снижением скорости роста на 12%, также свидетельствовали о патологических сдвигах в организме карпов.

Еще более выраженное сгущение прироста карпов вызвало применение в качестве основной пищи отходов послеспиртового производства - предполагаемого нового компонента комбикормов. Они представляли собой смесь переработанных остатков дробленной пшеницы и биомассы бактерий рода *Saccharomyces*, культивируемых по специальной технологии. Эта технология предполагает извлечение синтезирующими спирт микроорганизмами легкорастворимой части крахмала, отделение спирта и

Таблица 1. Концентрация веществ и энергии в единице прироста массы рыб, выращиваемых в индустриальных условиях, при питании компонентами различного происхождения и комбикормами, (г, МДж/кг прироста массы рыб)

Вид рыб и вариант питания	% сырого протеина / % жира*	Факторы влияния	Условия опытов		Концентрация веществ и энергии в приросте массы рыб**					
			масса до опыта, г	СВ, %	Вода	Сухое в-во	Сырой протеин	Сырой жир	Минер. эле-ты	Энергия
Карп Daphnia magna ВБС-РЖ-81П ВБС-РЖ	44/8,0	сестера, пища норма	17-22	1,67	703	297	174	82	24	7,7
	28/1,7		26-30	1,08	664	336	165	143	16	9,8
<i>Перевая мука - 70%+пшеница</i> 30% ВБС-РЖ	58/3,4	дефицит лизина и гистидина	26-30	0,27	196	804	523	358	82	23,9
	28/2,8		24-26	0,47	489	511	227	187	82	13,1
<i>Кукурузный злактен</i> ВБС-РЖ-81 ВБС-РЖ – замена 9% рыб. муки	52/2,5	дефицит лизина, аргинина	24-26	0,53	445	555	185	360	15	18,6
	28/2,3		16-19	1,30	650	350	176	149	30	10,0
<i>Патрин</i> Белотин ВБС-РЖ-81 Биотрин	27/2,2	специфические свойства	25-28	1,14	597	403	157	212	18	12,5
	44/7,9		26-28	0,96	551	449	192	172	11	12,8
<i>Послепитомые отходы</i> ВБС-РЖ ВБС-РЖ замена 50% на «отходы»	32/4,4	специфические свойства	15-18	1,59	733	267	129	46	44	5,7
	28/2,9		23-25	0,34	647	353	160	24	78	6,3
<i>Биотрин</i> ВБС-РЖ-81	36/3,9	специфические свойства	17-19	1,14	609	391	129	150	34	10,5
	27/3,1		25-28	0,33	565	434	318	25	81	8,6
<i>Рисовый иррот</i> ВБС-РЖ-81 ВБС-РЖ замена 10% соев. шр.	20/10	технология производства, общая токсичность	26-28	0,42	285	715	216	549	34	25,1
	27/2,5		15-17	1,57	627	373	169	175	34	10,9
<i>Рисовый иррот</i> ВБС-РЖ-81 ВБС-РЖ замена 10% соев. шр.	24/6,2	токсичность	23-25	1,09	565	435	158	256	16	14,0
	33/4,5		26-28	0,37	437	563	287	135	91	12,6
<i>Горчичный иррот</i> гранулир. Горчичный шрот экструдир.	28/2,3	токсические агенты (Т.А.)	15-17	1,58	678	322	137	130	30	8,9
	26/2,7		18-22	1,74	686	314	147	128	30	8,7
<i>Горчичный иррот</i> гранулир. Горчичный шрот экструдир.	31/2,9	Т.А., технология производства	18-22	0,46	618	382	169	137	32	10,3
	30/2,6		44-62	0,75	650	350	148	119	31	9,2
Основной комбикорм (ОК) ОК без 10% кровяной муки ОК без 15% пшеничной муки ОК без 10% гидролизной дрожжей	32/3,1	производства	18-22	1,41	642	358	115	149	32	9,8
	39/12,2		25-30 суток. * Содержание в абсолютно сухом веществе линин:	1,24	684	316	83	141		
Формля	30/13,1	специфические свойства	44-62	1,25	628	372	118	163		
	32/12,6		25-30 суток. * Содержание в абсолютно сухом веществе линин:	0,76	529	471	121	219		
ОК без 10% гидролизной дрожжей	35/11,2	свойства	68	0,83	68	932	391	351		

Примечания. Температура экспериментов с мартом 24-25 °С; период экспериментов 25-30 суток. * Содержание в абсолютно сухом веществе линин:

** Концентрация в единице прироста массы: $K_{пр} = 10(M_{ПД} - M_{0}) / (M - M_{0})$, г; МДж/кг; где $M_{пр}$, М, и $M_{ПД}$, М, – масса рыб и содержащее веществ (%) а также (МДж/100 г) в начале и конце опыта, среднесуточный прирост массы рыб; скорость роста $СВ = 200(M - M_0) / (M_t + M_0)t$, где t - период экспериментов, сутки.

обработку твердого остатка путем нейтрализации, обезвоживания, центрифугирования и сушки. Обладая слабо выраженной общей токсичностью, продукты микробиологического разложения зерна совместно с биомассой микроорганизмов проявили негативную способность к нарушению в организме питающихся ими рыб, обмена воды, белка и особенно жира. Количество воды в единице прироста снизилось в 2,2 раза, интенсивность липогенеза возросла в 3,1 раза, белка – на 22%. В результате количество сухого вещества в приросте увеличилось в 1,9 раза при снижении скорости роста рыб в 3,7 раза. Подобное сгущение прироста, как показывают литературные данные (Покровский, 1974; Чернышов, Панин, 2000; Luquet, 1971 и др.), свидетельствует о поступлении в организм сильно действующих токсинов, что согласуется с ранее выявленной (на стилониях) токсичностью корма и резким торможением роста рыб.

Потенциально послеспиртовые отходы можно отнести к продуктам микробиосинтеза. В то же время другие изученные нами продукты этой категории оказали на пластический обмен рыб скорее противоположное, чем сходное действие.

Паприн (алкановые или углеводородные дрожжи), напротив, стимулирует рост рыб (по сравнению с контролем на 28%), вызвал обводнение прироста на 17%. Это означает, что значительная часть прироста массы была обеспечена накоплением воды. Количество белка в единице прироста осталось на уровне контроля, а жиров сократилось в 3,3 раза. В результате потенциальная энергия пластических веществ снизилась в 1,8 раза. Эти особенности влияния паприна не только на рост рыб, но и на обмен веществ, сочетающие положительные и негативные моменты, следует учитывать при включении его в состав комбикормов.

Относительно новые источники микробиального белка, белотин и биотрин, также представляющие смесь зерновых, субстратов культивирования и биомассы бактерий, столь же резко (почти в 3 раза) тормозили рост рыб. Незначительно (на 6 и 3%) обводняя прирост массы, они еще более угнетали синтез жиров (в 6 и 7 раз), повышая при этом концентрацию минеральных веществ в приросте (более чем в 2 и 7 раз). В то же время, концентрация белковых веществ в приросте возросла соответственно на 24 и 166%. Наряду с резким угнетением роста, это так же, как и в случае со спиртовыми отходами, следует охарактеризовать, как патологические изменения метаболизма.

Сильно выраженное отрицательное влияние на организм оказывало кормление карпов рапсовым шротом, который имеет в своем составе целый комплекс антипитательных факторов (эруковая и кротоновая кислоты, синаргин, синапин, полифенолы и др.), образующихся в семенах рапса в процессе роста, а также глюкозинолаты, превращающиеся при переработке и изготовлении комбикормов под действием тепла и влаги в тио- и изотиоцианаты, которые обладают резко выраженным токсическим действием.

Реакция карпов на их присутствие в пище выразилась в сгущении прироста (снижении концентрации воды на 35%), повышении уровня белка в 2,1 раза, минеральных веществ – в 3 раза, энергообеспеченности прироста на 40%. При этом произошло снижение скорости роста рыб в 3,7 раза. В то же время очень интересным оказался результат замены 10% соевого шрота, входившего в состав контрольного комбикорма, на рапсовый. По сравнению с эффектом контрольного комбикорма скорость роста карпов при замене шротов возросла на 10%, в приросте массы незначительно повысилось количество воды и на 7% белка. Описанный факт позволил сделать вывод, что использованный для изготовления комбикорма соевый шрот был более токсичным, чем рапсовый. Это не удивительно, учитывая большое количество антипитательных агентов в сое (41 – по данным обзора Чернышова и Панина (2000) и

др. источникам), качество импортных поставок, а также отечественную технологию подготовки сырья перед включением в комбикорма и их изготовления.

О влиянии технологической обработки на обезвреживание сырья можно судить по результатам выращивания рыб на гранулированном и экструдированном горчичном шроте. Его антипитательные факторы, которые представлены эруковой кислотой, горчичными маслами (эфирами изотиоцианидов) и др., после экструдирования снизили свою токсичность, что отразилось на метаболизме рыб. В природе массы на 5% повысилось количество воды, на 4% снизился белок и на 13% жиры при сохранении нормального уровня минеральных элементов. Не столь резко выраженные, как в вышеописанных случаях изменения, привели, однако, к повышению скорости роста в 63%. В то же время на комбикорме рост рыб был лучшим почти в 2 раза, что свидетельствует о недостаточной детоксикации и сохранении в экструдированном горчичном шроте еще значительного количества антипитательных факторов.

Большой интерес представляют исследования, выполненные с форелью С.П. Тряпкиной (1973, 1977). Пересчеты ее данных позволили выявить специфическую реакцию этого популярного объекта холодноводной аквакультуры и по-новому посмотреть на компоненты комбикормов, обычно используемые в кормлении форели.

Методический подход к экспериментам с форелью был несколько иным, т.к. форель нельзя было кормить монодиетой изучаемых компонентов, как это было возможным в опытах с карпом. По специально разработанной методике (Щербина Тряпкина, 1975) исследуемый компонент изымался из кормосмеси и заменялся инертным веществом. Далее опыты велись обычным порядком.

Наиболее сильное влияние на направленность обменных процессов в организме рыб оказали специфические свойства и доза кормовых гидролизных дрожжей (гиприна). Их изъятие сопровождалось торможением (в 1,5 раза) роста, резким (в 10 раз) обезвоживанием прирастающей массы, повышением (почти в 5 раз) концентрации белка и в 2,5 раза жиров. Таким образом, как и в случаях с описанными выше видами дрожжей, наличие в комбикорме гиприна вызывало обводнение природы, способствовало торможению синтеза липидов и, в отличие от вышеописанных видов, тормозило синтез белка.

Таблица 2. Изменения в обмене веществ у карпа и форели, вызванные присутствием в пище ряда витаминов

Вид рыб и вариант питания	% сырого протеина / % жира*	Скорость роста рыб (СВ), %	Концентрация веществ и энергии в природе массы рыб, г, МДж/кг					энергия
			вода	сухое в-во	сырой протеин	сырой жир	минер. эл-ты	
<i>Карп</i>								
КЭ-2	27/8,4	1,58	582	418	174	158	22	11,6
КЭ-2 + 50 мг/кг β-каротина	27/8,4	1,75	616	384	156	154	19	10,8
КЭ-2 + 80 мг/кг β-каротина	27/8,4	1,35	519	481	179	199	18	13,6
<i>Форель</i>								
РГМ-1ФЭ	38/3,9	1,50	708	292	108	145	52	8,1
РГМ-1ФЭ + В ₁ (15 мг/кг)		2,06	711	289	119	116	47	7,6
РГМ-1ФЭ + В ₂ (30 мг/кг)		1,97	772	228	92	84	44	6,0

Примечания. *Содержание в абсолютно сухом веществе пищи; Температура экспериментов с карпом - 25 °С, форелью - 13-16 °С; период экспериментов 25-30 суток; масса годовиков карпа до опыта - 16-20 г, форели - 32-38 г.

Исключение пшеничной муки, как источника углеводов, вызвав резкое (в 1,6 раза) торможение роста, привело к дегидратации на 23% массы, вызвав существенное усиление (в 1,5 раза) синтеза жиров и в 1,4 раза – белка. Таким образом, пшеничная мука в комплексе с другими компонентами комбикорма способствовала обводнению прироста в 1,3 раза, снижению синтеза белка и в наибольшей степени – жиров.

Изъятие кровяной муки оказало на все показатели положительное действие. При неизменной скорости роста и слабом обезвоживании прироста несколько возросло количество синтезируемых жиров и в 1,4 раза белка. Принимая во внимание отсутствие изменений в скорости роста, можно сделать вывод о резко выраженном отрицательном влиянии кровяной муки на липидный и, особенно, белковый, обмен рыб.

В табл. 2 в интегральном виде представлена характеристика влияния на метаболизм рыб отдельных витаминов. У карпов при введении в корм β -каротина в дозе 50 мг/кг наблюдалась стимуляция роста на 13%. Она сопровождалась разжижением прироста на 6% при снижении концентрации белка на 10%. Увеличение дозы до 80 мг/кг, затормозило рост рыб по сравнению с предшествующей дозой на 16%, а с контролем – на 11% и привело к обезвоживанию прироста соответственно на 19 и 11% за счет повышения в основном концентрации жира (~ на 25%). Описанные изменения можно оценить как патологические сдвиги в метаболизме и отнести за счет возникающего гипervитаминоза А.

У форели, по данным Н.В. Линник и Н.Ф. Шмакова (2000), добавка к комбикорму витамина В₂ (в дозе 15 мг/кг), резко стимулируя рост рыб (почти на 40%), не привела к изменениям в соотношении прорастающих компонентов за исключением снижения концентрации липидов на 20%. Напротив, включение В₂ (30 мг/кг) при меньшей стимуляции роста (на 30%) вызвало разжижение прироста и его энергоёмкости за счет увеличения воды на 9%, уменьшения количества белка на 15%, жира – на 58%, что нельзя не признать нежелательным эффектом для выращиваемых рыб и человека как потребителя рыбной продукции.

Таким образом, можно видеть, что концентрация веществ в приросте рыб достаточно лабильна и зависит не только от перечисленных во вводной части статьи факторов, но также может изменяться в широких пределах в зависимости от присутствия в корме антипитательных агентов различной природы, которые способны вызывать резкие сдвиги в соотношении пластических веществ и воды, угнетая или стимулируя рост рыб.

PATHOLOGICAL CHANGES OF ALIMENTARY NATURE IN FISH METABOLISM

M.A. Shcherbina, I.A. Salkova, O.A. Bondarenko

On the basis of summarizing investigation results of many years, it has been shown that anti-nutritive factors and toxic agents of feeds are capable to result in pathological changes of plastic matters and water relation in fish growth gain while inhibiting fish growth. Water loss of gain at carp feeding on mais gluten caused twofold increase of fat concentration, whereas for feather meal and rape feeding, it caused twofold increase of protein followed by growth rate inhibition by 2-4 times. Blood meal in trout diet resulted in protein concentration decrease by 1,5. times.

УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ СПЕРМАТОГЕННЫХ И СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК ГОНАД ТИХООКЕАНСКОЙ УСТРИЦЫ, ОБИТАЮЩЕЙ В ЗАГРЯЗНЕННОЙ И РЕКРЕАЦИОННОЙ ЗОНАХ ПОБЕРЕЖЬЯ ТАЙВАНЯ

О.В. Юрченко¹, В.И. Радашевский¹, В.Л. Че², А.А. Реунов¹

Институт биологии моря имени А.В. Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток, Россия
Исследовательский центр биоразнообразия, Тайбей, Тайвань
E-mail: olyurchenko@yandex.ru

Различные химические вещества, которые в изобилии попадают в морскую среду вблизи крупных городов, нарушают экологические системы на всех уровнях организации. Двустворчатые моллюски активно накапливают токсиканты в мягких тканях и, поэтому широко используются как в биомониторинговых программах, так и в экспериментально-токсикологических исследованиях. Тихоокеанская устрица *Crassostrea gigas* является самым востребованным и культивируемым видом среди двустворчатых моллюсков и, кроме того, признанным тест-объектом в области токсикологии.

Устричные плантации на Тайване расположены вдоль всего западного побережья острова. В январе 1986 г в устье реки Ирджин Ши в результате сильной контаминации медью, цинком и хлорорганическими соединениями было отмечено появление «зеленых устриц». Через три месяца была зафиксирована их массовая гибель (Lee et al., 1996). Позже подобные случаи были описаны и на других участках западного побережья Тайваня (Lin and Hsieh, 1999). Несмотря на то, что проведено большое количество работ по содержанию тяжелых металлов (ТМ) в мягких тканях взрослых особей (Lee et al., 1996; Jeng et al., 2000; Hsia and Liu, 2003; Fang et al., 2006), антропогенное влияние на репродуктивную функцию изучено слабо. Изучение антропогенного влияния на репродуктивную функцию не ограничивается морфологической характеристикой только половых клеток. В ацинусах семенных двустворчатых моллюсков присутствуют соматические клетки – неподвижные (ауксилярные) и подвижные (гемациты). Соматические клетки моллюсков выполняют питающую, опорную, барьерную и фагоцитарную функции, обеспечивая растущим половым клеткам необходимую микросреду.

Влияет ли антропогенное загрязнение на ультраструктуру клеток гонад и можно ли с помощью ультраструктурного анализа прогнозировать благоприятный исход нереста тихоокеанской устрицы *C. gigas*? Для этого было исследовано состояние семенников устриц из двух акваторий побережья Тайваня.

Устрицы *C. gigas* были собраны на северо-западном побережье о. Тайвань близ крупного индустриального парка Ксинху, в устье реки Киа и на побережье островной зоны Пенгху, расположенной в Тайваньском проливе. Согласно ранее опубликованным данным, акватория Ксинху имеет статус загрязненной территории, в то время как Пенгху является относительно чистой зоной, свободной от индустриальных объектов. Гидрологические характеристики (соленость, температура, pH) морской воды в месте сбора отличались незначительно, в то время как содержание нитратов и некоторых тяжелых металлов (медь, цинк, кадмий) в водах Ксинху превышало аналогичные показатели в акватории Пенгху в десятки раз (EPA Annual Report of Water Quality Monitoring Plan <http://wqshow.epa.gov.tw>, Hsieh HL неопубликованные данные).

Фиксация и дальнейшая подготовка материала для ультраструктурного анализа проводилась по стандартной методике.

Моллюски были собраны на стадии активного гаметогенеза (примерно за месяц до предполагаемого нереста). При удалении раковины обнаружено, что мантия устриц

из загрязненной акватории Ксинху зеленого цвета, а гонадные ткани развиты очень слабо. У устриц из вод Пенгху гонады имели типичный молочный цвет и плотную консистенцию.

При изучении полутонких срезов были отмечено, что количество зрелых сперматозоидов в просветах ацинусов отличается. У устриц из загрязненной акватории Ксинху количество сперматозоидов на 0.001 мм^2 составило 160 ± 33 , в то время как в акватории Пенгху - 280 ± 42 .

Ультраструктурный анализ показал, что морфология сперматогенных клеток также отличается. В ацинусах устриц из загрязненной акватории Ксинху присутствовали спермии, которые соответствуют сделанным ранее описаниям (Gwo et al., 1996). Сперматозоид имеет бочковидное ядро и бокаловидную акросому, однако 26.6 % ($P < 0.05$) имели единообразные нарушения: поврежденная акросома, крупно гранулированный хроматин и электроносветлые участки внутри ядра, плазматическая мембрана, митохондрий и жгутик отсутствовали. У устриц из акватории Пенгху организация сперматозоидов соответствовала нормальной, однако 0.4 % также имели описанные выше нарушения. Морфологическое проявление повреждения акросомы в точности совпадает с описанием акросомной реакции у для *Mitylus edulis* (Nijjima, Dan, 1965). Однако в норме акросомная реакция происходит во время оплодотворения в морской среде, а не в просвете ацинуса семенника. Причиной преждевременной акросомной реакции могла стать дестабилизация лизосомальной мембраны, спровоцированной действием токсикантов.

Еще одна ультраструктурная аномалия – крупно гранулированный, фрагментированный хроматин с электроносветлыми участками внутри ядра. Расценивать ли данный тип нарушения как морфологическое проявление апоптоза или же фрагментация хроматина происходит вследствие активизации гидролаз, предстоит выяснить при комплексном исследовании в дальнейшем. Разрушение ядра происходит также и на ранних стадиях сперматогенеза, стадии сперматоцитов.

Организация соматических клеток гонад различалась у моллюсков, собранных в исследуемых акваториях. Как было показано для устриц из акватории Пенгху, ауксиллярные клетки вытянуты в полость ацинуса. Их отростки располагаются между половыми клетками. Ядро локализуется в базальной части. В цитоплазме отмечены хорошо развитый гранулярный эндоплазматический ретикулум, небольшое количество митохондрий и электроноплотные включения. Очистка ацинусов от неполноценных половых клеток во время сперматогенеза происходит путем фагоцитоза и резорбции их гемацитами в просвете ацинуса. Гемациты – подвижные амебоидные клетки, ядро в которых занимает центральное положение, хорошо развит эндоплазматический ретикулум, цитоплазма заполнена небольшими глобулами разной электронной плотности и мультипластинчатыми телами и фагосомами с единичными спермиями. У устриц из Ксинху ауксиллярные клетки отмечены в значительно меньшем количестве. Гемациты внутри ацинусов встречаются крайне редко. Как следствие редко отмечались явления фагоцитоза и резорбции. Деструкция сперматозоидов происходила непосредственно в просвете ацинусов без участия соматических клеток семенников. Данное явление можно объяснить сильным подавлением функций соматических клеток, которые в условиях антропогенного загрязнения не способны противостоять действию токсикантов и не участвуют в «выбраковывании» неполноценных сперматозоидов.

ВЫВОДЫ:

1. Сравнительный ультраструктурный анализ показал значительное снижение, как качественных, так и количественных характеристик сперматогенных клеток из района Ксинху. Сперматозоиды подвергаются преждевременной акросомной реакции до нереста, в семеннике.

2. Соматические клетки гонад ауксиллярные клетки и гемациты, так же подвержены действию токсикантов. У устриц из загрязненного района функции соматических клеток подавлены, вследствие чего фагоцитоза поврежденных сперматогенных клеток не происходит. Разрушение неполноценных гамет происходит непосредственно при просвете ацинуса.

3. Снижение общего числа сперматозоидов и высокий процент дефектных сперматозоидов отражается на эффективности нереста, что может привести к снижению плотности личинок в планктоне и в дальнейшем изменению бентосного сообщества

Данная работа проведена при финансовой поддержке грантов РФФИ-Тайвань (04-90589) и ДВО РАН (06-III-A-06-158).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- EPA Annual Report of Water Quality Monitoring Plan. <http://wqshow.epa.gov.tw/>
- Fang M.D., Fang H.T., Lee C.L., Ko F.C., Baker J.E. Concentrations of Polychlorinated Biphenyl Congeners in Cultivated Oysters (*Crassostrea gigas*) in Western Taiwan Arch. Environ. Contam. Toxicol. – 2006. - V 51-P. 223–231
- Gwo J.C., Liou C.H., Cheng C.H. Ultrastructure of the spermatozoa of the pacific oyster *Crassostrea gigas* (Mollusca, Bivalvia, Ostreidae)// J Submicrosc.Cytol.Pathol. 1999. V 28. P.395–400
- Hsia M.P., Liu S.M. Accumulation of organotin compounds in Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, collected from aquaculture sites in Taiwan// Sci Total Environ. 2003. V 313 P.41–48
- Jeng M.S., Jeng W.L., Hung T.C., Yeh C.Y., Tseng R.J., Meng P.J., Han B.C. Mussel watch a review of Cu and other metals in various marine organisms in Taiwan, 1991–2000. Environ. Poll. – 2000.–V 110–P.207–215
- Lee Ch.L., Chen H.Y., Chuang M.Y. Use the oyster, *Crassostrea gigas*, and ambient water to assess metal Pollution status of the charting coastal area, Taiwan, after the 1986 green oyster incident// Chemosphere - 1996.-V 33–P.2505–2532
- Lin S., Hsieh I.J. Occurrences of green oyster and heavy metals contaminant level in the San San area, Taiwan// Mar. Poll. Bull. – 1999. V – 38 –P. 960–965
- Nijijima L., Dan J., The acrosome reaction in *Mytilus edulis*. II. Stages in the Reaction Observed in Supernumerary and Calcium-Treated Spermatozoa// J Cell Biol. 1965. 25 P. 249–259

ULTRASTRUCTURAL ORGANIZATION OF SPERM AND SOMATIC CELLS IN THE GONAD OF THE PACIFIC OYSTER *CRASSOSTREA GIGAS* INHABITING POLLUTED AND RECREATIVE AREAS IN TAIWAN.

O.V. Yurchenko, V.I. Radashevsky, H.L. Hsieh, A.A. Reunov

The ultrastructure of sperm and somatic cells of the Pacific oysters *Crassostrea gigas* from an industrially polluted area in Hsinchu County and relatively clean aquaculture area in Penghu Island, Taiwan were studied. The number of spermatozoa in the acinus lumen was significantly lower in oysters from the polluted area than that from the aquaculture area (160 ± 33 cells per 0.001 mm^2 and 280 ± 42 cells per 0.001 mm^2 , respectively, $P < 0.05$). In oysters from the polluted area, 26.6 % of the spermatozoa had damaged acrosome, coarsely granular chromatin and electron-lucent areas in the nucleus; cell membrane, mitochondria and flagellum were frequently absent in these cells. By contrast, in oysters from the clean area, 0.4 % of the spermatozoa in the testes were abnormal. Somatic cells (auxiliary cells and hemocytes) were poorly developed in the oysters from polluted site. There were not any phagocytosis and resorption of damaged sperm cells. Sperm destruction and utilization was noticed directly in acinus lumen. Sea water temperature and salinity were similar in the two areas whereas nitrogenous nutrient concentrations and a number of heavy metal concentrations (e.g. cadmium, copper, zinc) were greater in the industrially polluted area. It is suggested that high percentage of abnormalities in the spermatozoa and dysfunction of the somatic cells in oysters from the industrial area is attributed to environmental pollution.

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ГЕМОМРАГИЧЕСКОЙ СЕПТИЦЕМИИ РЫБ

Л.Н. Юхименко*, Л.И. Бычкова**

* ФГУП "Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного рыбного хозяйства", Рыбное, Россия; E-mail: vnprh@mail.ru

** ФГУ Московский государственный университет технологий и управления, Москва, Россия

Анализ обширного материала, полученного при бактериологическом обследовании рыбоводных хозяйств России и стран СНГ, показал, что основными этиологическими агентами инфекционных бактериальных болезней рыб являются ассоциации микроорганизмов, относящиеся к различным таксономическим единицам. Выделены наиболее часто встречающиеся группы микроорганизмов, которые имеют большое не только эпизоотологическое значение, но и эпидемиологическое, вызывая развитие различных бактериальных патологий у человека, способных передаваться с рыбной продукцией.

Использование при идентификации аэромонад сокращенной биохимической схемы исследований выявило 11 биоваров подвижных аэромонад, что позволило оценить их этиологическую значимость.

Как показывает анализ эпизоотической ситуации в рыбоводных хозяйствах в Российской Федерации и странах СНГ, уже давно отмечается тенденция к значительному снижению уровня заболеваний, вызываемых одним возбудителем (аэромоназ, псевдомоназ, вибриоз, фурункулез), а на первое место выходят заболевания, этиологическими агентами которых являются ассоциации микроорганизмов, в основном грамотригативных.

Проводя диагностику бактериальных болезней рыб в различных регионах до 1980 г. мы выделяли в основном аэромонады с преобладанием *Aeromonas hydrophila* и *A. caviae* (Юхименко и др., 1987). До 1983 г. *A. sobria* не была выделена ни разу, а все штаммы, не укладывающиеся в эту классификацию, мы относили вплоть до 1989 г. к группе *A.sp.* С 1989 г. для удобства проведения эпизоотологического анализа, пользуясь сокращенной схемой и более поздней классификацией (Берджи, 1997; Юхименко, Койдан, 1997; Joseph et al., 1987) стали *A.sp.* подразделять на биовары *A.sp. 1*, *A.sp. 2* и т.д. В 1989 г. таких биоваров выделили 5 - *A.sp.*, *A.sp. 1*, *A.sp. 2*, *A.sp. 3*, *A.sp. 4*. В 1983 г. от больных рыб начали выделяться *A. sobria*, которые сразу заняли доминирующее положение (Юхименко и др., 2001). Всего от рыбы с 1980 г. по 1989 г. было выделено 2259 штаммов аэромонад, из них 37,2% составляли *A. sobria*, 33,8% - *A. hydrophila*, 23,4% - *A. caviae*, 2,9% - *A.sp.*, 0,5% - *A.sp. 1*, 1,3% - *A.sp. 2*, 0,2% - *A.sp. 3*, 0,7% - *A.sp. 4*. При этом следует отметить, что ни в одном случае от больной рыбы не были выделены возбудители в монокультуре. Даже аэромонады, выделяющиеся от одной рыбы из разных органов, относились к разным группам. Кроме того, в качестве сопутствующей микрофлоры, хотя и в небольшом количестве, выделялись другие микроорганизмы. При этом 26,0% составляли энтеробактерии (бактерии группы кишечной палочки - БГКП, гафнии, энтеробактер, протей, цитробактер), а 50,9% составляли неферментирующие щелочеобразователи - НФЩ (моракселла и ацинетобактер). В меньшем количестве выделялись эпидермальный стафилококк, псевдомонады (в том числе *Pseudomonas fluorescens var. capsulata*), алкалингенес, флавобактерии, плесневые грибы, бациллы, дрожжевые грибы, миксобактерии, сарцины, плезомонасы и коринебактерии (представлены в порядке убывания). Всего в 80-е годы в микробиоценозе рыб было идентифицировано 2259 штаммов аэромонад и 549 прочих микроорганизмов, относящихся к 20 родам.

В 90-е годы этиологическая структура аэромонад расширилась, было выделено два новых анаэробных варианта *A.sp. 5* и *A.sp. 6*. Всего было выделено 2685 штаммов

аэромонад. В микробиоценозе внутренних органов рыб продолжали доминировать аэромонады *A. sobria*, далее отмечали *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A.sp. 2*, *A.sp. 4*, *A.sp. 3*, *A.sp. 1*, *A.sp.*, *A.sp. 5*, *A.sp. 6*. В большем количестве стала высеваться сопутствующая микрофлора. Было идентифицировано 2075 штаммов, относящихся к 23 родам. Чаще всего выделялись НФЩ (более 25%) и энтеробактерии (около 34%), при этом значительно возросла частота выделения протеев, цитробактерий и энтеробактера. Увеличилась частота выделения капсулообразующих псевдомонад, появились капсулообразующие аэромонады и БГКП. Кроме вышеуказанных микроорганизмов, выделялись псевдомонады, флавобактерии, плесневые грибы миксобактерии, бациллы, плезиомонас, эпидермальный стафилококк, микроальтеромонас, алкалигенес, коринебактерии, вибрионы, грибы р. *Candida*, дрожжевые грибы (представлены также по мере убывания частоты выделения).

Начиная с 2000 г., этиологическая структура аэромонад была расширена до *A.sp. 11*. Кроме *A. caviae*, аэромонады *A.sp.5-11* также были анаэробные, и в объеме составляли более 25% выделенных аэромонад, что свидетельствует о значительном загрязнении водоемов органикой и стоками различного происхождения (Schubert, 1987). По частоте выделения от рыб аэромонады распределялись следующим образом: *A. sobria*, *A.sp.5*, *A.sp.2*, *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A.sp. 1*, *A.sp. 3*, *A.sp. 4* и *A.sp. 7*, *A.sp. 8*, *A.sp. 11*, *A.sp. 9*, *A.sp. 6*, *A. eucrenophila*, *A.sp. 10*.

Из 1289 штаммов сопутствующей микрофлоры на первом месте были энтеробактерии, на втором – НФЩ, дальше шли псевдомонады, плесневые грибы, эпидермальный стафилококк, бациллы, миксобактерии, флавобактерии, ксантомоны, грибы р. *Candida*.

Следует отметить, что в ряде случаев сопутствующая микрофлора от рыб была представлена 1-2 представителями, а иногда микробиоценоз внутренних органов рыб был весьма пестрым – до 8-10 видов микроорганизмов. Особенно настораживает бурное процветание НФЩ. Чем больше в рыбохозяйственном водоеме органики, тем комфортнее они себя чувствуют. В условиях неблагоприятного токсического фактора воды, повышенной агрессивности среды начинают процветать капсулообразующие микроорганизмы – кишечные палочки, аэромонады, псевдомонады, моракселлы. Капсула у микроорганизмов, выполняя защитную функцию, в то же время повышает агрессивность. С капсулообразующими микроорганизмами сложно бороться, так и лечебные препараты не в состоянии преодолеть этот барьер.

Такая ситуация возникла при изменении финансово-экономического положения многих рыболовных хозяйств: одни разорились, другие – испытывали значительные финансовые затруднения, что не могло не отразиться на качестве кормления и проведении полного объема санитарно-профилактических мероприятий. Особенно ухудшению эпизоотической ситуации в прудовых рыболовных хозяйствах привела ликвидация такого важного мероприятия, как летование прудов (Щербина, 1973). Из-за этого во многих широко эксплуатируемых прудах на дне скопилось огромное количество иловых отложений, в которых благополучно сохраняются не только эпизоотически значимые для рыб микроорганизмы, но и паразитические формы промежуточными хозяевами. При снижении уровня кормления и высоких плотностях посадки выращиваемая рыба переходит на потребление детрита, заполняя желудочно-кишечный тракт сопутствующими микроорганизмами.

Наличие большого количества органики в рыболовных водоемах приводит к аналогичным изменениям и в микробиоценозе воды.

Доминирование условно-патогенных бактерий имеет не только эпизоотическое значение. Многие микроорганизмы играют существенную роль в развитии патологических процессов у теплокровных животных и человека. Прежде всего:

также представители сем. Enterobacteriaceae, как цитробактер, энтеробактер, клебсиелла, эдвардсиелла, протей, гафния, которые могут вызвать у человека поражение желудочно-кишечного тракта, дыхательных путей, мочеполовой системы, различные воспалительные процессы. Это же можно сказать и об аэромонадах, о патогенности которых для человека имеется обширная отечественная и зарубежная литература, описаны даже случаи с летальным исходом (Юхименко и др., 1977; Журавлева, 1998). В связи с этим некоторое недоумение вызывает консерватизм нашего ГОСТ Р 51232-98 по питьевой воде: если обнаруживается кишечная палочка – это плохо, а обнаружение аэромонад не вызывает тревоги.

Не меньшее значение имеют псевдомонады, которые могут вызывать инфекции глаз, воспаление мозговой оболочки, суставов, поражение желудочно-кишечного тракта, различные септические процессы. Важную роль в развитии патологических процессов, вызванных псевдомонадами, играет их высокая протеолитическая активность и хромосомная устойчивость к большинству антибактериальных препаратов, что часто является причиной развития вторичных инфекций. Наибольшее количество внутрибольничных осложнений вызывает *Ps. aeruginosa*-синегнойная палочка, особенно при попадании в родильное и хирургическое отделения.

Флавобактерии вызывают тяжелые формы болезней – менингиты, септицемии, эндокардиты, пневмонии. Их наиболее часто обнаруживают в крови, моче и раневых тканях.

Ацинетобактерии могут поражать кожные покровы, дыхательные пути, мочевыводящую систему, их часто выделяют при септицемиях, менингитах, перитонитах. Ацинетобактерии – неферментирующие грамотрицательные палочки, вторые после псевдомонад по частоте выделения из клинических образцов.

Моракселлы – возбудители респираторных инфекций, острых и хронических конъюнктивитов, септических менингитов, септицемий и уретритов. Следует отметить высокую устойчивость ацинетобактеров и моракселл к замораживанию, действию многих дезинфектантов и антибактериальных препаратов (Медицинская микробиология, 1999).

Из вышесказанного ясно, что все эти группы микроорганизмов широко распространены в окружающей нас среде – воде (пресной, солоноватой и морской), в почве, на наружных покровах водных и наземных животных и человека. Гидробионты – наиболее ценный объект питания человека, и поэтому от качества этой продукции зависит и здоровье человека. Снижение уровня санитарно-профилактических мероприятий, условий хранения и приготовления такой продукции (нарушение санитарно-гигиенических требований) приводит к высокой контаминации гидробионтов и в дальнейшем отмечается их порча, пищевые отравления и другие заболевания человека (Ларцева, 2003). Вот почему при диагностике заболеваний рыбы необходимо строго соблюдать правила техники безопасности.

Диагностика бактериальной геморрагической септицемии сложна, требует использования нескольких сред, тщательного анализа и трактовки полученных результатов. Чаще всего используют среды МПА или эритроит-агар – для определения общего уровня контаминации, среду Эндо – для выделения энтеробактерий, аэромонад, псевдомонад и НФШ, дифференциально-диагностический агар (ДДА) – для вибрионов, среду Анакера-Ордала – для миксобактерий, энтерококкагар – для стрептококков, среду Сабуро – для грибной флоры. Именно учет первичных результатов является наиболее информативным для специалистов – ихтиопатологов, так как позволяет сразу оценить степень контаминации внутренних органов рыб, воды и кормов и дифференцированно подходить к подбору дезинфекционных, терапевтических и профилактических мероприятий.

После учета результатов первичных посевов проводят пересев выросших колоний на первично-дифференцирующие среды, определяют каталазный и оксидазный тесты, дальнейшую идентификацию проводят в соответствии с дифференциальными диагностическими таблицами. У доминирующих групп микроорганизмов определяют чувствительность к антибактериальным препаратам и выбирают оптимальные, учитывая чувствительность к ним и сопутствующей микрофлоры, чтобы, подавляя рост основных микроорганизмов, не создать условия для развития других.

Однако помня о скорости появления устойчивых форм возбудителей у рыб, наиболее эффективным остается повышение резистентности организма рыбы путем использования вакцин и пробиотических препаратов на фоне создания оптимальных технологических параметров среды и полноценного питания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

- Берджи. Определитель бактерий. – М.: Мир, 1997. – 799 с.
- Журавлева Л.А. Распространенность аэромонад в регионе дельты Волги и некоторые эпидемиологические особенности заболеваний, вызываемых ими / Автореферат канд. дисс. мед. наук. – М., 1998. – С.14.
- Ларцева Л.В. Рыбы и гидробионты – переносчики возбудителей инфекционных болезней человека - Астрахань: КаспНИРХ, 2003. – 99 с.
- Медицинская микробиология // Гл. ред. В.И. Покровский, О.К. Поздеев. – М. ГЭОТАР, Медицина, 1999. – 1200 с.
- Щербина А.К. Болезни рыб. – Киев: Урожай, 1973. – 404 с.
- Юхименко Л. Н. и др. Материалы по изучению аэромонад в патологии человека. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – М., 1977.
- Юхименко Л.Н., Викторова В.Ф., Федорченко В.И. Выделение аэромонад из водных рыбоводных прудов // Сб. науч. тр. / Болезни рыб и водная токсикология - М. ВНИИПРХ, 1987. – Вып. 50. – С. 37-46.
- Юхименко Л.Н., Койдан Г.С. Современное состояние проблемы аэромонады рыб / Рыбное хозяйство / Сер. Аквакультура: Информ. пакет. Болезни рыб. – М.: ВНИЭРХ 1997. – Вып. 2. – С. 1-5.
- Юхименко Л.Н., Койдан Г.С., Бычкова Л.И., Гаврилин К.В. Этиологическая структура аэромонад и эпизоотическая ситуация в рыбоводных хозяйствах. // Рыбное хозяйство / сер. Болезни гидробионтов в аквакультуре. Аналитическая и реферативная информация. М.: ВНИЭРХ. – 2001. – Вып. 4. – С.1-9.
- Joseph S.W., Colwell R.R., McDonnell M.T. Research on Aeromonas and Plesiomonas Taxonomy, ecology, isolation and identification// Experientia. – 1987. – V. 43. – № 4. – P. 349-350.
- Schubert R. H. W. Ecology of aeromonas and isolation from environmental samples: Experientia. – 1987. – V. 43. – № 4. – P. 351-354.

ETIOLOGICAL STRUCTURE OF PATHOGENES BY BACTERIAL HEMORRHAGIC SEPTICEMIA IN FISH

L.N. Yukhimenko, L.I. Bychkova

The analysis of voluminous material, received by bacteriological examination of fish-rearing farms of Russia and CIS countries, showed that the main etiological pathogens causing infections bacterial fish diseases were microorganisms' communities related to different taxonomic units. The most often occurring groups of microorganisms have been revealed which are of great epizootologic significance but also epidemiological one while causing development of various bacterial human pathologies capable to transfer with fish products.

Use by the aeromonades identification of a reduced biochemical investigation schema revealed in biovaries of mobile aeromonades what allowed to evaluate their etiological significance.

NATURAL ILLUSTRATION OF STURGEON FISH BLOOD (ACIPENSER
GUELLENSTAEDTI PERSICUS) IN COMPARISON TO SOME OTHER BONY
FISHES SPECIES BLOOD OF SOUTHERN BASIN OF CASPIAN SEA (SALMO
TRUTTA CASPIUS , LIZA AURATUS, RUTILUS FRISII KUTUM)
Saeedi,A.A. Ghiyasi,M. Habebi,F. Binaei,M. Kamgar.M

The Ecological Institute of Caspian Sea, Mazandaran Province, Iran .P.O.Box 961, e-
mail:aliasgharsaeedi@yahoo.com



Acipenser gueldenstaedti



Rutilus frisii Kutum



salmo trutta caspius



Liza auratus

If you or your animal is sick the first things a health professional does is to take a blood sample by comparing the various component in the blood with standard, established in healthy individuals during careful baseline studies, a clinician can often tell you what wrongs and or detail comparative studies in human and domestic animals have delineated conditions to show that blood is the only (mirror) in which vital processes occurring in organisms are reflected (Srivastave 1969).

The great thing a bout this kind of diagnostic testing is that it is not necessary to kill you or your animals to do it of course, there is a limit to the size of fish you can non lethally sample, but most production size stock can be easily bled.

Haematopoietic tissues produced an subsequently release them into the plasma blood stream, in which they are suspected. The factor that determined and maintain the characteristic forms of the blood cells are the specific molecular constituents of the membrane structures and collid, where a provoked alteration in any of these constituents may be responsible for typical cell an early diagnosis of a possible pathology (Cormack 1991).

When hematology value are considered , one must realize that these reflect the response of organism and should be regarded in comparison with normal for that species as related by (Quental & Obach 1992) with normal limits of variation it is possible to correlate internal changes establishing levels for a well-being state for organisms.

The determination of normal blood values must take into account also some biological information because hematology tissues undergo variation as a result of endogenous conditions (Pitomebria 1972 - Kavamoto *et al* ., 1983, 1985; Sarasquete, 1984; Ranzani-

paiva & Godinho 1983; Ranzani – paiva - 1994-1995-1996; Ranzani – paiva & Eiras, Rambhasker & Rao 1987).

Nonetheless the influence of environmental variation on the hematology picture demonstrated that exogenous factors such as temperature, pressure, salinity, PH and dissolved O_2 , among others can alter blood values (Mahajan & Dheer, 1979). This variation in composition is observed not only among different species, but also individuals of the same species or even in a single individual, depending on the environmental and physiological conditions to which fish are subject (Kalashnikova-1976).

MATERIAL & METHODS:

During the period of August to December 2004 about 30 specimens of *Acipenser persicus* in 24.5 kg of average weight and 197 cm of total length, also 30 specimens of *Salmo trutta caspius* in 2.56 kg of average weight and 60.8 cm of total length, also 30 specimens of *Liza (Mugil)* in 252 gr of average weight and 28.7 cm of total length and finally 30 specimens of kutum fish in 825 gr of average weight and 29 cm of total length all of the mentioned fishes have been caught different forms of fishing year (Gill,net and Trawling net cast).

Blood samples were withdraw by caudal puncture with help of disposable syringe lightly moistened with a diluted heparin solution (0.02 cc of heparin, 1 cc blood) and utilized for the identification and differential leukocyte counting with Giemsa and smear were examined by light microscopy using an oil immersion objective (Svobodava 1986, Jirassakuldech 1980).

R.B.C and W.B.C count by use of melangure pipette and neobaer lamella with a dilute Reese solution, hemoglobin (Hb) by method of cyanomethemoglobin and drubkin solution hematocrite (Hct) by method of micro (Svobodava 1986) blood indexes by use of mathematical formula including:

$M.C.V (fl) = (\text{Mean Corpuscular Volume})$

$M.C.H (pg) = (\text{Mean Corpuscular Hemoglobin})$

$M.C.H.C(\%) = (\text{Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration})$

RESULT AND DISCUSSION:

According to table 1 the least number of Erythrocytes was regarded to *A.persicus* by 930769 / mm^3 and most number of the same was belonged to *L.auratus* by 4.139.230/ mm^3 . There is same relation between the number of Erythrocytes and fish species but the variation among there is significant $p < 0.05$. On the other side regarding fish studies it can be mentioned that whatever the fish body weight is lesser, the number of Erythrocytes is more. In this connection the ratio of Erythrocytes number in *L. auratus* to *A.persicus*, Caspian Salmon and Kutum is respectively.

Haematocrite amount in *A.persicus*, Caspian salmon, *L.auratus* and kutum is 35.9, 38.44 and 46% respectively. The highest rate of haematocrite in *L.auratus* and least of that in *A.persicus* was observed.

Regarding the presence of Erythrocyte in both the species and its relation to haematocrite it seems that the variation between them is significant $P < 0.05$. But if the variation between haematocrite amount is not to be so high, the reason is the presence of M.C.V (mean corpuscular volume) which can affect this variation table 1 shows that the amount of hemoglobin in studied fishes is 9.79, 9.94, 10.45 and 9.25 gr/100 ML respectively in which there is some proximity among them.

Amount of M.C.V in studied fishes is (table 1) 386, 311, 106 and 244 and the variation among them is highly significant ($P < 0.001$)

It was observed that the M.C.V is directly connected to rate of fish body weight $P < 0.01$. Amount of M.C.H (mean corpuscular hemoglobin) in studied fishes is 105, 81, 25 and 45 it means that whatever the R.B.C is in lesser size the amount of M.C.H is also lesser. In this connection there is some positive correlation among M.C.H and M.C.V.

According to table 2 the number of W.B.C in A.persicus, Caspian salmon, L.auratus and kutum is 10788, 7550, 43402 and 46115/mm³. The higher number of W.B.C is concerned to L.auratus and kutum but its minimum number is referred to A.persicus and Caspian Salmon. The variation between the W.B.C number of kutum and L. Auratus comparing to A. persicus and Caspian salmon is quite significant $P < 0.05$.

Table 1 Mean factors of hematology in different fish species *Acipenser guldenstadti persicus*, *Salmo trutta Caspius*, *Liza auratus*, *Rutilus frisii kutum*

Fish species	R.B.C (No/ mm ³)	Hct (%)	Hb (gr/dl)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)
<i>Acipenser guldenstaedti</i>	930769	35.9	9.79	386	105	27
<i>Salmo trutta Caspius</i>	1230000	38.2	9.94	311	81	26
<i>Liza auratus</i>	4139230	44	10.45	106	25	24
<i>Rutilus frisii Kutum</i>	1885000	46	9.29	244	49	20

Table 2) W.B.C count and differential count in four fishes species *Acipenser guldenstadti persicus*, *Salmo trutta Caspius*, *Liza auratus*, *Rutilus frisii kutum*

Fish species	W.B.C (No/ mm ³)	Lymph (%)	Neut (%)	IM.N (%)	EOS (%)	Monocyte (%)
<i>Acipenser guldenstaedti</i>	10788	64	22	13	1	-
<i>Salmo trutta Caspius</i>	7550	70	19	10	1	-
<i>Liza auratus</i>	43403	96	4	-	-	-
<i>Rutilus frisii Kutum</i>	46115	93	2	3	2	-

The highest number of W.B.C in peripheral blood is concerned to Lymphocyte which is observed in L.auratus and kutum by 96 % and 93 % respectively but the same is observed in A.persicus and Caspian salmon by 64 % and % 70 respectively.

In other bony fishes like L. plantanus (Ranzani paiva, 1995), Rainbow trout (Razani paiva, 1998) and salminus maxillosus (Ranzani paiva, 2003) also the highest number of W.B.C is consisted of Lymphocytes.

The Lymphocytes of A.persicus was in bigger size comparing to Lymphocytes of other studied fishes. In this respect the nucleus covers the whole of the cytoplasm and the chromatin was observed condense in nucleus.

The number of Neutrophil in studied fishes namely A.persicus, Caspian Salmon, L.auratus and kutum were %22, %19, %4 and %2. The variation among Neutrophile number is significant $P < 0.05$.

The differences regarding natural illustration of studied fishes blood was referred to the point that all the four mentioned fishes are different according to their race, family, species and also nurishment. For instance the *A. persicus* and *Salmo trutta Caspius* are carnivorous. *L. auratus* feeds on detrits and kutum feeds on bivalva (Mollusca).

According to biological characterization and their connection to ecological parameters they involve different physiological reactions. For example the *L. auratus* never migrate to fresh water but other mentioned fishes migrate to fresh water for the purpose of spawning. According to extent resistance to temperature, dissolved oxygen, PH, stress factors and salinity they are having different habit in nature. For instance *Salmo trutta Caspius* prefer to live in cold waters (less temperature) but the other three species prefer warm waters to live.

These groups of ecological parameters caused same changes in blood factors (Mahajan & Dheer, 1979).

These changes not only observed in different fishes but can be also seen in a single species (Kalashikova, 1976).

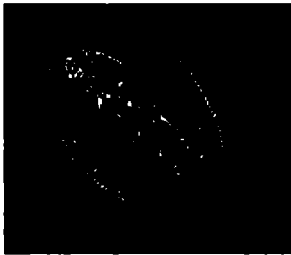
REFERENCES

1. Cormack, D.H., 1991, Histology. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 9 ed., P. 151.
2. Jirasek, J., Pravda, D., Hampl, A., 1980, An effective method of blood sampling for large hematological investigations of fish. *Acta Univ. Agric. Brno* 28: 175-182.
3. Kalashnikova, Z.M., 1976, On the classification of morphological elements in the blood of fish.
4. Kavamoto, E.T., Tokumaru, M., Souza-Silva, R.A.P. & Campos, B.E.S., 1985, Variacoes morfologicas e diferenciais das celulas leucocitarias de "cascudo", *Plecostomus albopunctatus* (Regan, 1908) em relacoes com o desenvolvimento gonadal. *B. Inst. Pesca*, 12(2): 15-21.
5. Mahajan, C.L. & Dheer, J.C. 1979. Cell types in the peripheral blood of an air-breathing fish *Channa punctatus*. *J. Fish Biol.*, 14: 481-487.
6. More tools to monitor fish stock status health fish health notes *Archives July/August 2000*.
7. Pitombeira, M.S., 1972, Hematologia do apaiari, *Astronotus ocellatus* (Cuvier, 1829) peixes teleosteos. Aspectos morfologicos e fisiologicos. So paulo, SP. Doctoral Thesis, Instituto de Biociencias, Depto. De fisiologia Geral, Universidade de So paulo and Universidade federal do Ceara 133. P.
8. Quentel, C. & Obach, A., 1992, The cellular composition of the blood and hematopoietic organs of trout *Scophthalmus maximus* L. *J. Fish Biol.*, 41: 709-716.
9. Rambhaskar, B. & Rao, K.S., 1987, Comparative hematology of ten species of marine fish from Visakhapatnam Coast. *J. Fish Biol.*, 30 (1): 59-66.
10. Ranzani-Paiva, M.J.T. & Eiras, A.C., 1992, Celulas sanguineas e contagem diferencial de leucocitos em 13 especies de teleosteos do rio parana, PR. In: SIMBRAQ, 7, EMBRAPA, 2, Curitiba, SP. Anais pp. 173-181.
11. Ranzani-Paiva, M.J.T. & Godinho, H.M., 1983, Sobre celulas sanguineas e contagem diferencial de leucocitos e eritroblastos em curimata, *Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881 (Osteichthyes, Cypriniformes, Prochilodontidae). *Rev. Brasil. Biol.*, 43 (4): 331-338.
12. Rosenfeld, G., 1947, Corante pancreatico para hematologia e citologia clinica. Nova combinacoes dos componentes do May-Grunwald e do Giesma num corante de emprego facil. *Mem. Inst. Butantan*, 20: 329-334.
13. Sarasquete, M.C., 1984, Variacoes anuais de parametros hematologicos del pez mana *Halobatrachus didactylus*. *S. Inv. Pesq.*, 48 (3): 399-417.

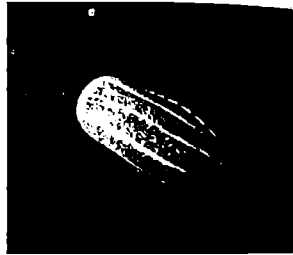
14. Srivastava A.K., 1969, Leucocytes in the blood of four freshwater teleosts. Amer. Zool., 9: 1149.
15. Svobodova. 2., Pravda.D. Palackova.J 1986 .Unified methods of fish hematological investigations. Edice Methodic. VURH vodnany. C. 22.36 P.

Saeedi, A.A., Habebi, F., Zahedi, A., Safari, R., Kamgar, M.
The Ecological Institute of Caspian Sea, Mazandaran Province, Iran. P.O. Box 961

Bacterial flora and parasitic fauna of *M. Leidy* an exotic invader jelly fish to Caspian sea ecosystem and *B. ovata* as an alternative biological control agent was studied during July 2003 - July 2004. using routine bacteriological works, examination of 72 samples of *M. leidy* and sea water obtained from Caspian sea in 20 and 50 meters depths and 10 samples from *B. ovata* 3 sample of black sea water obtained from black sea region out of *Vibrio harveyi*, *Bacillus lincens* and *Shewanella* which are present in high salinity of open sea and ocean and observed in *B. ovata* and black sea water but other bacteria include *Agrobacterium*, *Chromobacterium*, *Micrococcus*, *Aeromonas*, *Bacillus-coagulans* in each both ctenophore (*M. leidy* water Caspian sea and *B. ovata*) was observed and reported. No parasitic fauna was identified in *M. leidy*, while *B. ovata* was contained with *Trichodina* Ctenophora at various concentrations. *B. ovata* kept at higher salinity of 21 ppt was more contaminated with this pretrichial protozoan than in lower salinity (12/6 ppt). Although, more works are required to identify bacterial flora and parasitic fauna of *B. ovata* as a possible alternative biological control agent of *M. leidy*.



M. leidy



Beroe ovata

INTRODUCTION

In 1982 a typical Ctenophora (comb fish) belonged to *Mnemiopsis* genus situated in black sea has been reported (Harbison, 1993).

Initially this stranger animal has been entered the black sea from U.S.A coasts by water balance of different ships. In that time this fish has been distributed all over the U.S coasts. According to suitable ecological condition of black sea it provided a possibility for propagation and reproduction of *Mnemiopsis*. In this aspect due to predator nature this animal started to feed from the eggs and other fish larvae and also to compete the other bony fishes for food. This phenomena caused highly reduction of fish stocks in black sea and also fishery was faced a critical danger. In this case the amount of economical damage was estimated about 250 million \$ (Harbison, 1993). This predator invasion fish was not reported from Caspian sea till 1999 but it was observed and reported in southern coasts of Caspian sea by the end of 2002 (Esmaily, 1999). This invasion animal has been entered the Caspian sea from black sea by water balance of ships and by passing the time it made an adaptation in some basin of Caspian sea.

According to some ecological prevented factors in different parts of Caspian sea particularly less salinity in north parts of Caspian sea that was impossible for *Beroe* comb fish to enter the Caspian sea because *Beroe* has not ability for adaptation in the sea with salinity

less than 10 ppt. However the south coasts of Caspian sea provided this condition (Esmaeli, 1999). Comb fishes normally called as a shelter and host of some parasites. However they resident in the form of local in Mesogloea portion (crowell 1976) . Amphipoda is also another external parasite which has already been reported (Harbison, 1977). There was not special report and particular definition about virus, Bacterial, fungous, protozoa and trematodae in comb fishes (Harbison, 1993).

In fact very few number of pathogenic organism in comb fish were identified. For example multicellular parasites like sea anomene larvae by biologic method can control and reduce the *M.leidy* population as it was happened in eastern north of U.S.A coasts.

Tricodinae is another ciliated unicellular parasite which can live as a host in different sea animals but usually it is called as parasite in salt, brackish and fresh water fishes (Lom, 1970). They often exist as a external parasite on the skin of sea bony fishes (Arthur, 1984). More than 28 species of this parasite live in the body fishes of Caspian sea basin and other water source has already been recognized in this aspect only one species of parasite in tricodina. *Jenophora* can select the comb fishes as a host. for example this case has been reported in *M.mccradyi* comb fish (Anthony .*et al*, 2001).

There is very limited information regarding microbial florae in comb fishes (Estes.*et al*, 1997) but a large number of comb fishes carry natural florae and natural pathogenesis located in sea coast like *Aeromonas* and *vibrio*. The comb fish *M.leidy* is called as a non local animal of Caspian sea but its presence has been reported in 1999. However it may be entered the Caspian sea many years ago but in recent years it caused intensive reduction of kilka fish stocks which are consisted in their food chain .The comb fish may also carried some new micro-organisms. Like funae parasites and microbial florae to the Caspian sea. In order to control this stranger animal the selection of *Beroe* is the only comb fish which can be successfully linked as a predatory invasion to the south basin of Caspian sea in the form of research program. In this case the necessity of research work is to investigate the fauna parasites and microbial florae of *Beroe* and *M.leidy* to beware of probability dangers for Caspian sea ecosystem.

MATERIALS AND METHODS

In order to obtain samples from sea water and *M .leidy* the south basin was divided in 3 regions (Gillan, Mazandaran, Golestan). In each region 6 station were selected in 20m and 50m depths which are showed in below picture. all of the samples were collected from July 2003-July 2004.

1-all of the parasite samples were collected by plankton net with the mesh size of 90-100 micron and the sampling obtained were in a random method. out of 2160 samples of *M.leidy* about 47 *B.ovata* samples were under consideration.

In connection of Microbial flora 72 sample *M.leidy* 72 sample of water Caspian sea , 10 sample of *B.ovata* and 3 sample of black sea water were investigated .

parasite samples were sedimented by centrifuge (1000-1500rpm) and then were investigated by light microscope .

2-for sampling of bacterial flora of sea water the rotner has been used with the volume of 1000cc. in this connection first rotner was striled by 70% of Ethanol alcohol and then washed by normal strille saline 25cc of samples was selected and transfered a strile plastic vessel with the volume of 50cc. these samples were finally preserved in a refrigerator.

3-for sampling from the surface and depths of *M. leidy* and *Beroe* body the procedure is as follows:

3-1-the samples were kept in a plastic vessel (already washed by normal strile saline).

3-2-for surface sampling of *ctenophora* the soap strile was used

3-3-these soaps were transferred to a 50 cc volume of plastic tube which contained 50 cc normal strile saline.

4-for depth sampling of ctenophora initially the surface of ctenophora were striled with 79% of alcohol then it was washed by normal strile saline, transferring to a plastic strile tube with 50 cc volume which contained 25 cc normal saline strile .

5-all of the microbial samples were laboratory cultured and then by the use methods culture (general, specific, selective and differentia) the species of bacterial were recognized.

RESULTS

Investigation and recognition of *M. leidy* and *Beroe ovata* is as follows:

Table 1 :percentage and intensity of infestation *M. leidy* and *Beroe T.ctenophora* parasite

Place of sampling	Intensity of infestation	Percentage of infestation	No.of samples	Ctenophore species
South caspian sea	0	0	2160	<i>M.leidy</i>
Marmara sea	4200-21000	83	22	<i>Beroe</i>

In comparison of percentage and intensity of infestation in *M. leidy* to *T.ctenophora* parasites it was observed that all the *M .leidy* samples had not any infest but 83% of *Ber* samples of Marmara sea were infested to *T.ctenophora* parasites with intensity of minimum 4200and maximum 21000.

Infestation percentage of black sea *Beroe Trichodina*

Table 2: percentage and intensity of infestation in black sea *Beroe* to *T.ctenophora* parasite in different salinitias N=25

Percentage of infestation	2	4	4	6	No of sample	Ctenophore species
	12.6 ‰	14.9 ‰	19 ‰	21.6 ‰	Salinity	
64%	130	250	1400-5000	2600-10500	Intensity	<i>Beroe</i>

73% of *Beroe* samples in black sea were infested to *T.ctenophora* parasites which has maximum salinity 10500 and minimum salinity 130 in number. In low salinity (12.6‰) the infestation intensity reduced .where by the samples of *T.ctenophora* observed in 12.6‰ salinity were degenerated.

Table 3: different types of recognized bacteria on the surface and in body depth of *M.leidy*

Body depth of <i>M.leidy</i>	Body surface of <i>M.leidy</i>
Micrococcus	<i>Bacillus circulans</i>
Staphilococcus	<i>B.sphreicoccus</i>
<i>Vibrio metschinokovii</i>	<i>B.coagulans</i>
<i>Burkholderia mallei</i>	Micrococcus
	<i>M.kristinae</i>
	<i>Vibrio metschinokovii</i>
	Enterobacteria
	<i>Vibrio</i>
	<i>Streptobacillus</i>
	<i>Cytophaga</i>

in these bacteriological investigation from surface and depth body of ctenophora 14 species of bacterial gram negative and gram positive were recognized which are common in two pectoral species (Micrococcus and Vibrio).

Table 4: Recognized bacteria in sampling stations of M.leidy

1- Cytophaga
2- Vibrio
3- Micrococcus
4- Aeromonas salmonicida
5- Aeromonas
6- Erisiplothrix
7- Streptobacillus moniliformis
8- Bacillus firmus

the bacterial flora situated on the body surface of M. leidy are more variety.

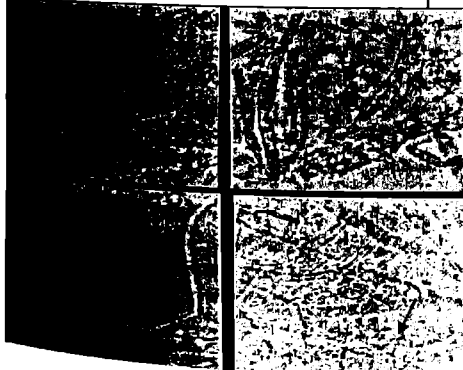
Some bacterial flora of comb fish present in sea water namely vibrio, cytophaga, Micrococcus and streptobacillus are common.

If compare Beroe with M.leidy all the bacteria are common nulesse chromobacterium , Agromobacterium, shewarella and Bacillus .linens but Agrobacterium and chromobacterium was reported in Caspian sea (Kia-1997- filatoa 1985).

Among the recognized bacteria Aeromonas , Vibrio, Cytophaga, Staphilococcus and Micrococcus are called as a natural microflora of fresh water and salt waters which can act as a primary and secondary pathogen in wild and cultured fishes(Austin, 1987).

Table 5: Recognized bacteria on the surface and in the body depth of Beroe ovata and black sea water

B.ovata	Black sea water
1-Agromobacterium tumefaciens	1-Bacillus- coagulans
2-Aeromonas	2-Vibrio harveyi
3-Choromobacterium violaceom	3- Micrococcus
4-Bacillus linens	
5-Shewarella	



DISCUSSION

Ctenophora act as a host for several parasites namely trematode (stunkard 1980) , Amphipoda (Harbison-etal,1977), protistes (kinne, 1990) and unicellular (crowell,1976).

Most of the parasites inhabit the tissues of animal body namely the tissues of mouth and alimentary canal more over the most variety of unicellular and multicellular parasites have been reported in *M.mccradyi* (Anthony .G,2001 and sergio .R,2001). The parasites like *Antamoeba*, *Tericodinae* and unicellular flagellated protodionium attack on ectoderm tissues of comb fish to inhibit the animal body for the purpose of nourishment needs. Flagellated unicellular parasite *Oodinium* inhabits the *M.mccradyi* near the portion of comb - rows tissues. Some of the multicellular parasites like sea -anomene larvae inhabit the abdominal pit (groove), pharynx and mouth ventral of *M. leidy* for the purpose of feeding from comb fish. This process prevent the growth and reproduction of the parasites which finally caused the reduction of their population. This process can be called as an effective biological control method against *M.leidy* population stocks. This is happening as a special case in open seas and oceans (Bumann.D, 1996).

Tericodinae parasites more or less observed in 83 % of *Beroe* sample in Marmara sea and 64 % in black sea. This parasite is generally harmless although in high infections may cause serious damage to the tissues surface. In Caspian sea about 2160 sample of *M.leidy* during summer season were investigated in the field of parasites but no parasites were observed in animal body. It seems that there are much differences between black sea comb fish and Caspian sea comb fish from the view point of ecological condition particularly salinity amount of both the seas. When the comb fish from black sea with the salinity of 10 ppt enter the Caspian sea through volga canal by water balast of ships , it passes the seven salinity changes . These salinity differences caused high changes in osmotic pressure. In this case most of the parasites particularly unicellular which forms dominant parasites among fauna parasite destroys. In fact the comb fish devoid of any parasite. On the other side comb fish invasion the Caspian sea some years ago ,so in this connection it is possible for some local Caspian sea fauna parasites to adapt themselves to the physiological and anatomical condition of comb fish tissues and start the new life generation as a parasites in the animal body as a host. For example Marmara *Beroe* was highly infected to *Tricodina* parasites but during its adaptation process to Caspian sea it passed through several different salinity to reach Caspian sea. At this time the final salinity in Caspian sea was estimated less than 14 ppt which resulted in high reduction of *tericodinae* parasites but in salinity of 12.6 ppt the *tricodinae* parasites were going to be destroyed. It means that if even the *Beroe* adapts itself to Caspian sea water its faunae parasites due to high reduction of salinity can not adapt to ecological condition of Caspian sea. in other words if *Beroe* adapts themselves to Caspian sea they certainly *M.leidy* as a host for the purpose of feeding.This method can be an important factor for the biological control of *M.leidy* which finally causes reduction of *M.leidy* stocks.

Some species like *T. meridionalis* and *T. Caspiolosa* are common in black sea and Caspian sea (Bykhouskii 1989). Some larva of *Baccigerand Hemiurida* have already been reported in *B.ovata* and *M.mccradyi* (Sergio 2001) . In this connection the adult forms of these larva are observed in *inclupeonida* of Caspian sea (Bykhouskii 1989) more over their larval stages can select *acartia* zooplankton as an second intermediate host in Caspian sea.

In bacteria flora of *B.ovata* and black sea about five genus gram negative bacille, or genus gram positive coccus and one genus gram positive bacille have been recognized (table 1).

In comparison to microbial flora *V.harveyi*, *B. linens*, *Agromobacterium*, *Chromobacterium* and *Shewanella* were not seen in *M.leidy* but *Aeromonas*, *Micrococcus* and *B.coagulans* were observed in both the ctenophorae. Of course *Agrobacterium* and *chromobacterium* were presently reported in Caspian sea (Kia, 1997 and Maosive, 1985) but none of them are pathogen (Austin 1989).

All the observed bacteria are presently called as a natural flora of sea water (Austin, 1989).

Usually bacterial flora can be easily transferred place to place by ballast water of ships, ship body and aquatic migratory birds. In this case each liter of water ballast can transfer about 2400000 bacteria to other places (Percy, 2001).

17- Each M.l of black sea water can carry about 109 to 104 virus through water ballast of ships (Stepanova, 1995).

In a five years study 1995-1999 on water, sediments and Mytiluster Mullusca in black sea, the below pathogen viruses are recognize Cocksackiy B-1, B-2, polyvirus hominin type 2, virus of hepatitis A and rota-reo, adenoviruses (Stepanova).

These groups of viruses has ability to be transfer by ship ballast water if the water ballast dose not get change. Hence for prevention of transferring micro-organisms from black sea to Caspian sea.

SUGGESTION

1- Before transferring B.ovata from black sea to Caspian sea the antibiotic bathing is necessary.

2- Virological assessment on B.ovata should be done for transferring the B.ovata confidently.

3-The number of B.ovata and black sea water sample statistically is not enough. There for the total number of sampling (B. ovata and water sample should be more and this work is provided for the next year summer.

RESOURCES

1-Anthony.G.etal-2001 protistan epibionts of the ctenophore mnemiopsis mccradyi mayer

2- Austin.B.Austin D.A 1987 fish bacterial pathogen in farmed and wild fish.

3-Bumann.D and G.puls 1995 infestation with larva of sea anomene edwardsia lineata affected nutrition and grow of the ctenophore mnemiopsis leidy

4-Crowell.S 1975 on edwardsia larva parasitic in mnemiopsis in mackie

G.O(ed).coelentrate ecology and behaviour phemam publishing crop.new york 247-250

5-Edmiston-1997 the zooplankton of the apatachyola Bay systm dissertation.Florida-university.tall a ha 6600-florida 104pp

6-Esmaelli sari.A .2002 the invasive of ctenophora (M.leidy) and future caspian sea tarbiat modarres university

7-Estes A.M,B.S.Reynolds and G.moss 1997 trichodina ctenophre of the northern coast of the Gulf of Mexico J.euk microbial 44; 420- 424

8-Harbison G R 1993 methods for the control of population of the ctenophore mnemiopsis leidy in black and Azov seas

9-Kinne.O-1990.Disease of marine animals.vol 3 biological institute hdgoland Hamburg.Germany 550 pp

10-Lom.J-1970 observation on trichodinid cilites from fresh water fishes.Arch protistenk.Bd 112 : 153-177

11- Sergio-R.Mortorelli.2001 degenea parasite of jelly fish and ctenophores of the southern Atlantic

12-Stunkard.H.W-1980 the morphology life cycle and taxonomic repation leprocreadium (trematodes Digenea) Biol-Ball 24:69-76

ЧАСТЬ 2. ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ОСОБИ, ПОПУЛЯЦИЙ, СООБЩЕСТВ И ЭКОСИСТЕМ

ХАРАКТЕРИСТИКА ДОННОЙ ФАУНЫ И ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ЭКОСИСТЕМЫ ВОДОЕМА – ОХЛАДИТЕЛЯ БЕРЕЗОВСКОЙ ГРЭС (КРАСНОЯРСКИЙ КРАЙ) ПО ОРГАНИЗМАМ ЗООБЕНТОСА

А.В. Андрианова

Институт вычислительного моделирования СО РАН, Красноярск, Россия,
e-mail: AndrAV@icm.krasn.ru

Водоем-охладитель Березовской ГРЭС-1 (Берешское водохранилище) находится в Шарыповском районе Красноярского края. Водоем создан зарегулированием стока реки Береш в районе впадения в нее рек Базыр и Кадат и частично на месте Кадатского водохранилища. Наполнение водохранилища началось в 1986 г.

В ложе затоплено торфяное месторождение объемом 30,7 млн. м³. В верховьях бассейна расположены очистные сооружения населенных пунктов, промышленные и коммунальные ливневых сточных вод БГРЭС. Водоем расположен в зоне добычи бурого угля, который используется БГРЭС. Полная емкость водоема – охладителя 193 млн. м³, площадь водной поверхности при НПУ 282,0 м – 33,4 км²; средняя глубина – 5,8 м, максимальная – 15 м. Площадь мелководий с глубиной до 3 м не превышает 19 км².

В связи с температурной неоднородностью водоем можно условно разделить на температурные зоны:

1 – зона мелководья, включающая районы влияния рек Базыр, Береш и Кадат. Наибольшая температура воды летом не превышает 20 °С.

2 – центральная зона. Вода прогревается до 23 °С, проявляется температурная неоднородность водной толщи: разность температуры «поверхность-дно» достигает 2,0-3,5 °С. Гомотермия водных масс устанавливается в октябре при температуре 5 °С.

3 – приплотинная зона. Летом прогрева относительно равномерно, в пределах 17-24 °С. Разность температур «поверхность-дно» – 1-2 °С;

4 – зона влияния сбросных теплых вод ГРЭС. Повышение температуры воды в этой зоне над температурой в остальной части водоема наиболее заметно осенью, когда из сбросного канала поступает вода, подогретая от 13 до 27 °С.

В целом по водоему тепловой сброс вызывает повышение температуры воды в более ранние сроки весной и в более поздние сроки осенью.

Химический состав воды формируется под влиянием притока вод рек Береш, Базыр, Кадат. По содержанию главных ионов вода относится к гидрокарбонатному классу кальциевой группы. Общая минерализация воды колеблется от 261 мг/л весной до 598 мг/л зимой. Неблагоприятный кислородный режим складывается в районе затопления торфов. В июле-начале сентября содержание кислорода наименьшее: в поверхностных слоях – 4-5 мг/л. На других участках водоема содержание растворенного кислорода не опускается ниже 6 мг/л. Активная реакция воды щелочная (рН ~ 7,0-8,8). В придонных горизонтах центральной части водоема-охладителя и в районе основной торфяной залежи высоки концентрации Mn, Zn, Mo: устьях рек Береш и Кадат в донных отложениях аккумулируются Al, V, Cu, Mo, Ni.

Дно водохранилища неоднородно, в глубинной части отмечены илесто-глинистые отложения, а в приплотинной части и у водозаборов – коренные породы, покрытые наносным торфом. Остальная часть дна – это заболоченная кочкарная дерновина: кустарниками и пнями, под которой расположены торфяники. В канале водоема представлено каменистыми грунтами с локальными включениями макрофитов на берегах. В литоральной зоне у плотины выявлены песчано – галечные грунты.

Материалом для данного сообщения послужили пробы зообентоса, отобранные в Берешском водохранилище в весеннее – осенние периоды 2003 - 2006 гг. Сбор и обработка материала проводились по общепринятым методикам [6].

Видовой состав донной фауны в Берешском водохранилище включает 109 видов и форм беспозвоночных животных. Наибольшее видовое разнообразие выявлено в группе личинок хирономид – 52 вида. Моллюски представлены 17 видами, олигохеты – 15, остальные таксономические группы включали 1 – 3 вида. Количество видов в различные годы исследований варьировало от 61 до 65. Основу зообентоса составляли хирономиды и олигохеты, в частности, виды, наиболее распространенные во внутренних водоемах средних широт, которые выносились к органическому и химическому загрязнению, а также воздействию повышенных 1 воды. Специфических термофильных форм зообентоса в районе исследований не обнаружено.

Видовой состав донной фауны на различных участках Берешского водохранилища неоднороден. Главными условиями, определяющими видовой состав и количественное развитие донной фауны, являлись характер грунта, состав и обилие высшей водной растительности, а так же глубины отдельных участков водоема.

Наименьшее число видов (9) зафиксировано в центральной части водоема (зона 2). Население илистой профундали однородно и представлено олигохетами *Tubifex tubifex* O.F.Müller и *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparede и личинками мотыля *Chironomus plumosus* Linne. Постоянными обитателями глубоководных участков водоема являлись представители планктобентоса – личинки перистоусого комара *Chaoborus crystallinus* De Geer. Низкое видовое разнообразие в глубинной зоне объясняется тем, что в районе зачатых торфяных месторождений у дна уже с середины июля наблюдается дефицит растворенного в воде кислорода. Существовать в подобных условиях могут только эвриксибионтные, экологически пластичные виды.

Наибольшее видовое разнообразие (40 видов) зообентоса выявлено в устьях рек Береш и Базыр (зона 1). Присутствие макрофитов в зоне мелководья положительно влияет на развитие фитофильного биоценоза донных беспозвоночных. Доминирующий комплекс хирономид в различное время представляли *Endochironomus albipennis* Meigen, *Cricotopus sylvestris* Fabricius, *Procladius ferrugineus* Kieffer, *Glyptotendipes glaucus* Meigen, *G. paripes* Edwards, *Limnochironomus lobiger* Kieffer. Среди олигохет летом наибольшее значение имели наидиды *Stylaria lacustris* Linnaeus и виды р. *Nais*, а осенью – тубифициды. В этой зоне в массе развивались моллюски, преимущественно *Valvata piscinalis* Müller.

Видовой состав донной фауны в устье р. Кадат значительно беднее (10 видов), чем в устьях рек Базыр и Береш. Доминировали олигохеты – тубифициды.

В приплотинном районе (зона 3) выявлено 20 таксонов донных беспозвоночных, причем большинство из них зафиксировано в литоральной зоне. Основу зообентоса здесь составляли хирономидные сообщества, в различные периоды доминировали *G. glaucus*, *G. paripes*, *P. tetracrenatum*, *Cryptochironomus defectus* Kieffer, *C. viridula*, *Cladotanytarsus* гр. *tancus*. В глубинной части приплотинного района видовой состав зообентоса так же беден, как в основной части водоема (зона 2).

В зоне влияния сбросных теплых вод (зона 4) зафиксировано 23 вида беспозвоночных, большинство которых сосредоточено по берегам сбросного канала на каменисто-галечном грунте с локальными включениями макрофитов. Здесь массовыми видами хирономид являлись *G. glaucus*, *C. sylvestris*, *C. dizoniae* Meigen. Олигохеты представлены, в основном, наидидами. В массе развивались поденки *Caenis horaria* Linne. На выходе из канала в илистом грунте состав бентоса значительно беднее, чем непосредственно в канале - всего 5 видов; основу составляли олигохеты – тубифициды.

Анализ видового состава зообентоса в различных зонах водоема показал высокую степень сходства между глубинными участками в центре водоема (зона 2) и у плотины (зона 3), а так же между устьями рек Базыр и Береш (зона 1). Значения индекса обитности Чекановского [4] превышали 0,5. Наиболее богато представлен зообентос устьях рек Береш и Базыр; средний индекс Шеннона [7] составил 3,2 и 2,6 бит соответственно. Несколько слабее развиты литоральные сообщества в канале плотины (2,0 бит/экз.). Профундаль водохранилища, устье р. Кадат и выход из канала характеризуются наименьшим видовым разнообразием (0,9 – 1,6 бит/экз.).

Исследованные зоны водоема характеризовались неоднородностью количественных показателей зообентоса (табл. 1). Хируномиды преобладали на мелководьях; максимальной биомассы достигали в центре водоема и у плотины в личинок мотыля. Олигохеты в массе зафиксированы в зоне мелководья, преимущественно в устье р. Кадат. Остальные представители донной фауны в большей степени приурочены к мелководной зоне. Общая численность зообентоса была значительно выше в зоне мелководья и у плотины. Максимум биомассы зарегистрирован на мелководье, а минимум в канале.

Таблица 1 – Численность (тыс.экз./м², в числителе) и биомасса (г/м², в знаменателе) основных групп зообентоса в Берешском вдхр., 2003 - 2006 г.

Зоны водоема	Хируномиды	Олигохеты	Прочие	Общие
1 - мелководье	<u>2,0 ± 0,4</u>	<u>4,5 ± 1,0</u>	<u>0,6 ± 0,1</u>	<u>7,2 ± 1,2</u>
	4,9 ± 1,1	5,4 ± 1,2	4,8 ± 2,1	15,1 ± 2,5
2 – центр	<u>0,5 ± 0,1</u>	<u>1,3 ± 0,3</u>	<u>0,2 ± 0,1</u>	<u>2,0 ± 0,1</u>
	8,2 ± 2,0	1,7 ± 0,4	1,0 ± 0,2	10,8 ± 2,1
3 – плотина	<u>2,5 ± 0,8</u>	<u>3,0 ± 1,0</u>	<u>0,2 ± 0,1</u>	<u>5,7 ± 1,4</u>
	7,2 ± 2,0	2,3 ± 0,7	0,8 ± 0,3	10,4 ± 2,1
4 - канал	<u>1,0 ± 0,2</u>	<u>1,9 ± 0,8</u>	<u>0,2 ± 0,1</u>	<u>3,1 ± 0,7</u>
	1,9 ± 0,4	4,1 ± 1,6	0,6 ± 0,2	6,6 ± 1,6

Таблица 2 – Межгодовая динамика численности (экз./м², в числителе) и биомассы (г/м², в знаменателе) основных групп зообентоса в Берешском вдхр.

Группы животных	2003 г.		2004 г.		2005 г.		2006 г.	
	Хируномиды	<u>1460 ± 285</u>	<u>1388 ± 435</u>	<u>2467 ± 797</u>	<u>713 ± 15</u>	<u>9,98 ± 2,42</u>	<u>3,73 ± 0,75</u>	<u>6,00 ± 1,97</u>
Олигохеты	<u>406 ± 125</u>	<u>4282 ± 1308</u>	<u>2911 ± 819</u>	<u>3274 ± 64</u>	0,51 ± 0,14	4,54 ± 1,15	2,94 ± 0,77	5,27 ± 1,1
	<u>172 ± 52</u>	<u>288 ± 97</u>	<u>344 ± 99</u>	<u>499 ± 12</u>	Прочие	<u>0,57 ± 0,14</u>	<u>1,82 ± 0,64</u>	<u>2,95 ± 2,04</u>
Общие	<u>2038 ± 401</u>	<u>5983 ± 1508</u>	<u>5723 ± 1223</u>	<u>4486 ± 67</u>		11,1 ± 2,41	9,99 ± 1,75	11,9 ± 2,92

Межгодовая динамика развития зообентоса (табл. 2) характеризуется минимальными показателями численности в 2003 г. – 2 тыс.экз./м², в последующий наблюдался подъем до 6 тыс.экз./м² и некоторый спад к 2006 г. до 4,5 тыс.экз./м². Общая биомасса донной фауны находилась примерно на одном уровне во все время исследования – 10-12 г/м².

Для оценки качества вод Берешского водохранилища по организмам зообентоса использовали несколько индексов (табл. 3), выбор которых основывался, прежде всего, на количественном и качественном составе донных сообществ исследуемого водоема.

Значения индексов сапробности [1], Гуднайта – Уитлея [7] и Балушкина [8] значительно колебались на различных участках водоема. Не все использованные индексы показали сходные результаты при оценке качества воды. Наиболее высокие

олигохетный индекс Гуднайта – Уитлея. В целом, с учетом всех использованных показателей качество воды в Берешском водохранилище можно оценить как IV класса “Загрязненная” (α-мезосапробная зона). Тенденция к ухудшению проявляется в устье р. Кадата, в профундали водохранилища и на выходе из канала.

Таблица 3 - Значения индексов сапробности (S, балл), Гуднайта – Уитлея (G, %) и Балушкиной (K) для зообентоса Берешского вдхр., 2003 – 2006 гг.

Зоны водоема	S		G		K	
1 - мелководье:						
р. Базыр	2.5 ± 0.2	III	42 ± 16	III	3.9 ± 1.2	III
р. Береш	2.4 ± 0.1	III	31 ± 20	II	5.5 ± 2.7	III
р. Кадат	3.6 ± 0.1	V	95 ± 2	VI	6.5 ± 0.0	IV
2 - центр	3.5 ± 0.1	IV	61 ± 9	IV	6.5 ± 0.01	IV
3 - плотина:						
профундаль	3.6 ± 0.04	V	70 ± 7	V	6.5 ± 0.0	IV
литораль	2.4 ± 0.2	III	26 ± 8	II	3.7 ± 1.1	III
4 - канал:						
по берегам канала	2.3 ± 0.1	III	42 ± 31	III	1.3 ± 0.6	III
выход из канала	3.5 ± 0.04	IV	94 ± 3	VI	6.5 ± 0.0	IV
Среднее по водосму	3.1 ± 0.1	IV	60 ± 5	IV	5.2 ± 0.4	III

Примечание: римские цифры – класс качества вод по [3]

Трофический статус водоема по средним значениям биомассы зообентоса (табл. 2) во все годы исследования находился на границе между “Средним” β-мезотрофным и “Повышенным” α-евтрофным [5].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Апробация систем биологической индикации качества вод на базе водного управления рек Севери и Трент Великобритании / Абакумов В.А., Свирская Н.Л. // Научные основы контроля качества поверхностных вод по гидробиологическим показателям: Труды II советско-английского семинара. Л.: Гидрометеоиздат, 1981.-С.71-80.
2. Балушкина Е.В. Хирономиды как индикаторы степени загрязнения воды // Методы биологического анализа пресных вод Л.: Зоологический институт АН СССР, 1976.С.106-118.
3. ГОСТ 17.1.3.07-82. Охрана природы. Гидросфера. Правила контроля качества воды водосмов и водотоков. - М.: Изд-во стандартов, 1982. - 14 с.
4. Зайцев Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1984. С. 339.
5. Китаев С.П. Экологические основы биопродуктивности озер разных природных зон. - М.: Наука, 1984. - 204 с.
6. Методики изучения биоценозов внутренних водосмов. М.: Наука, 1975.240с.
7. Оценка степени загрязнения вод по составу донных животных/Финогнова Н.П., Ашмов А.Ф.//Методы биологического анализа пресных вод. Л.: Зоологический ин-т АН СССР, 1976. С.95-106.

CHARACTERISTICS OF THE BENTHIC FAUNA AND ASSESSMENT OF THE STATE OF COOLING-BASIN ECOSYSTEM AT THE BEREZOVSKAYA STATE REGIONAL POWER PLANT (KRASNOYARSK TERRITORY) BASED ON ZOOBENTHOS ORGANISMS

A.V.Andrianova

Results of benthic investigation in a cooling reservoir of Berezovskaya State District Power Plant in the vegetation period of 2003 – 2006 are presented. The benthic fauna of the Beresh Reservoir was found to include 109 species and taxa of invertebrates. The most abundant in the benthic communities are chironomids larvae and oligochaeta, in particular, species, that are most widespread in the inland water bodies of the middle latitudes, which are most tolerant to organic and chemical pollution, as well as to the influence of higher water temperature. The distribution of benthic invertebrates over the reservoir was controlled by their preference for certain biotopes rather than by the temperature. Various indices were used for the estimation of water quality by benthic organisms. The final estimate based on benthic invertebrate community characterizes water quality for the reservoir as a whole as polluted, of the IV class (α-mesosaprobic zone). The trophic status of the reservoir corresponds to the mesotrophic class with passing to the eutrophic class.

**ПЕРВЫЕ СВЕДЕНИЯ ОБ ЭПИБИОНТНЫХ ОРГАНИЗМАХ,
НАЙДЕННЫХ НА КАЛЯНИДАХ *ARCTODIAPTOMUS SALINUS* (DADAY,
В МИНЕРАЛИЗОВАННЫХ ОЗЕРАХ ХАКАСИИ**

Т.Н. Ануфриева

Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия, e-mail: tat@lan.krasu.ru

Эпибионты, ассоциированные с *Arctodiaptomus salinus* (Copepoda, Calanoida), исследованные в солоноватых озерах Ширы и Шунет (Хакасия) в летний период 2004-2006 гг. и в подледный период 2007 г. Протозойные эпибионты идентифицированы как *Epistylis* sp. (Protozoa, Ciliophora, Peritrichida), изучены структурные показатели эпибиозиса *Epistylis* sp. / *A. salinus*. В составе эпибионтов-водорослей в оз. Ширы зарегистрирован *Colacium* sp., в оз. Шунет - *Chlorogametea epizootica* (Korsch.) Korsch., *Colacium* sp., диатомы *Synedra* sp.

В современной литературе встречается довольно много публикаций, посвященных эпибиозису и различным эффектам, связанным с ним (Wahl, 1989; Green, 1979; Henebry, Ridgeway, 1979; Threlkeld, Willey, 1993; Stimadel, Ebert, 1997; Willey et al., 1990; Allen et al., 1993; Sawyer, McLean, 1978; Nagasawa, 1987; Kankaala, Eloranta, 1997; Dubovskaya et al., 2005). Carman and Dobbs (1997) отмечают, что большинство эпибиотических исследований проводятся в пресных водах, морские и солоноватоводные экосистемы изучены в данном аспекте не достаточно полно и вообще не изучены.

Прикрепленные перитрихи-эпибионты играют важную роль как эктокомменсалы на поверхности тела водных беспозвоночных (Bierhof, Roos, 1977; Corliss, 1979; Valbonesi, Guglielmo, 1988; Song, 1991a, 1991b; Song, Warren, 2000; Laura Roberts, 1997; Utz, 2003). Идентификация эпибионтов, изучение их структурных характеристик и успешности в водоемах - важный инструмент для лучшего понимания возникновения и функционирования эпибиозиса. Протозойные эпибионты были зарегистрированы в различных водоемах и описаны во многих работах, но природа отношений между эпибионтными организмами и ракообразными так удовлетворительно и не полно (Carman, Dobbs, 1997; Ferná'ndez-Leborans et al., 1997).

В солоноватоводных озерах Хакасии протозойные эпибионты на доминируют в зоопланктонном сообществе калянидах *Arctodiaptomus salinus* были обнаружены недавно и до настоящего времени, несмотря на очень высокую интенсивность заселения рачков эпибионтными перитрихами, инфузории остаются неотъемлемым компонентом в фауне водоемов. Исследования протозойных эпибионтов р. *Epistylis* ассоциированных с калянидами, проводились в 2004-2007 гг. в озерах Ширы и Шунет, характеризующихся наличием сероводородного слоя и упрощенной трофической цепью - безрыбных.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Озеро Ширы находится в северной части Республики Хакасия (N 54°30'22.50" 90°11'46.32" E), средняя глубина озера - 11 м, площадь зеркальной поверхности - 1,1 км². Питание водоема происходит за счет реки Сон, подземных и антропогенных поступлений, атмосферных осадков. Максимальные значения температур воды приходятся на июль-начало августа. Вода по химическому составу сульфатно-хлоридно-натриево-магниевая с минерализацией 17,4 г/л. Характерной особенностью воды является отсутствие катионов кальция (Жемчужина Хакасии..., 1997; Ратникова, Degemendzhy, 2002).

Озеро Шунет (54°25'9.00" N 90°13'40.08" E) расположено в 19 км юго-западнее озера Ширы. Площадь водного зеркала озера составляет 0,47 км², средняя глубина около 3 м. Озеро бессточное, на южном берегу в него впадает небольшой водный ключ. Питание происходит за счет атмосферных осадков и грунтовых вод.

озера характерен крайне неустойчивый гидрологический режим. Вода среднеминерализованная (22,55 г/л), сульфатно-хлоридная натриево-магниевая.

Отбор зоопланктона осуществлялся сетью Джеди (размер ячеи планктонного газа 78 мкм). Пробы отбирались в трех повторностях – одну оставляли без фиксации (для изучения физиологических, морфологических особенностей организмов и фотосъемки), вторую фиксировали 4% раствором формальдегида (для изучения количественных структурных показателей калянид), третью фиксировали первоначально раствором Люголя, затем 4% раствором формальдегида (для изучения автотрофных и протозойных эпibiонтных организмов). Камеральную обработку проб зоопланктона проводили по стандартной счетно-весовой методике в камере Богорова. Идентификация, изучение морфологических особенностей эпibiонтов, фотосъемка проводилась с помощью светового микроскопа с цифровой камерой Lutetega INFINITY (x 600). Фиксированные пробы просматривались при помощи бинокулярного микроскопа МБС-10 (x 56). Определяли отношение количества обросших особей к количеству просмотренных (%), интенсивность заселения эпibiонтами различных возрастных стадий *A. salinus*, число колоний на одной особи из количества заселенных жемчужков в выборке, число зооидов в колонии, число зооидов на одной особи, место расположения колоний.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Эпibiонты, ассоциированные с *A. salinus* (численность калянид в озере Шира 54,1 тыс. экз/м³, в озере Шунет - 105,9 экз/м³), изучались в летний период 2004-2006 гг. и в подледный период марта 2007 г. Идентификация эпibiонтов была затруднена из-за отсутствия специальных определителей, информационных систематических статей, подробных описаний организмов. Без использования исследований с анализом ДНК и электронной микроскопии практически невозможно определить таксономическую принадлежность до вида, поэтому эпibiонты часто характеризуются только до рода.

Протозойные перитрихи, заселяющие калянид в озерах Шира и Шунет, идентифицированы как:

Сем. Epistylidae Kahl, 1933

Род Epistylis Ehrenberg, 1838

Epistylis sp.

Эпibiонты были зарегистрированы на всех возрастных стадиях калянид, отмечены различия в их распространенности, плотности и морфометрических характеристиках в зависимости от стадии развития хозяина и местообитания (табл. 1).

В озере Шира зооиды имели следующие размеры: длина 37,8±1,3 мкм, ширина 24,8±1,0 мкм, размеры колоний 150 мкм, колонии содержат 2-15 особей (среднее число зооидов в колонии – 1,4-3,7 в зависимости от стадии развития хозяина). Перитрихи в озере Шунет имели длину 39,1±1,6 мкм, ширину 26,7±1,5 мкм, размер колонии 120 мкм, колонии содержали 2-24 особи (среднее количество особей в колонии – 3,3-4,7). Тело зооидов овальное или короткогрушевидное, макронуклеус подковообразный, лежит в верхней части тела, стебли колоний средней толщины.

Отмечались единичные случаи заселения перитрихами гарпактицид и ветвистых ракообразных рода *Moina*.

Степень заселения рачков эпibiонтами-перитрихами была велика в течение всего года (как в период открытой воды, так и в подледный период): в озере Шира в июле были заселены 18,4% науплиусов, 53,4% копепоидов, 54,2-66,7% взрослых калянид, в подледный период (в марте) – 39,3% копепоидов, 16,7-34,2% половозрелых рачков. В озере Шунет в июле были заселены 52,6% науплиусов, 82% копепоидов, 80-87,5% половозрелых особей, в зимний период зарегистрированы 98-100% калянид с эпibiонтами.

Структурные показатели эпibiозиса *Epistylis* sp. / *A. salinus* озер Ши́ра и Шунет, Табл. 2006 г.

Показатель	Среднее число колоний на одном хозяине	Среднее число зооидов на одном хозяине	Среднее число зооидов в колонии
Озеро Ши́ра (n=55)			
Взрослые	5,0±0,5	19,2±2,4	3,7±0,3
Копеподиты	2,7±0,6	10,5±3,1	3,3±0,7
Науплии	1,3±0,2	1,8±0,3	1,4±0,2
Озеро Шунет (n=32)			
Взрослые	5,9±0,9	26,9±4,5	4,7±0,6
Копеподиты	5,9±0,5	20,4±3,0	3,3±0,4
Науплии	0	0	0

В литературе, в качестве наиболее предпочтительных мест заселения указываются цефалоторакс и абдомен, где инфузории могут легко колонизировать наименее активные части хозяина. Некоторые исследователи (Henebry, Ridgeway, 1977) предполагают, что перитрихам безразлично местоположение на теле хозяина, т.е. располагаются хаотично. Для эпibiонтов озер Ши́ра и Шунет в качестве наиболее предпочтительных мест локализации отмечены (в порядке убывания) торакс, абдоменторакс, антенны I, плавательные конечности, головной отдел, фуркальные ветви, V пара ног взрослых рачков по сравнению с неполовозрелыми увеличивался процент встречаемости зооидов на антеннах I, фуркальных ветвях и V паре ног. В озере Ши́ра перитрихи заселяли только вентральную и боковую сторону калянид, в Шунете эпibiонты наблюдались по всей поверхности тела *A. salinus*. Было отмечено, что в значительном уровне инфицирования и очень высокой плотности эпibiонтов их расположение на хозяине приближается к хаотичному, в то время при более низких соответствующих величинах можно выделить предпочтительные места локализации перитрих.

Помимо протозойных, на калянидах были зарегистрированы водорослевые эпibiонты: в Ши́ра встречались *Colacium* sp., в Шунете разнообразных видов хлорофиллсодержащих эпibiонтов было выше - *Chlorangiopsis epizootica*, *Colacium* и диатомеи *Synedra* sp.

Таким образом, в ходе исследований были решены определенные задачи, касающиеся, в основном, идентификации и структуры протозойных эпibiонтов и эпibiонтов в целом. Дальнейшая работа будет продолжаться в направлении изучения как эпibiонтов, так и взаимоотношений эпibiонт/хозяин, роли инфузورий в трофической цепи, возможности использования эпibiозиса как биоиндикатора качества воды.

Автор признателен коллегам Кравчук Е.С. и Ивановой Е.А. за определение таксономической принадлежности водорослевых эпibiонтов.

Исследования поддержаны грантом РФФИ № 07-04-10180-к

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Жемчужина Хакасии (Природный комплекс Ширинского района) / В.П. Паричев, Балахчин, А.Я. Березовский и др. Абакан; изд-во Хакасского государственного университета, 1997. - 180 с.
2. Allen Y. C., De Stasio B. T., Ramcharan C. W. Individual and population level consequences of an algal epibiont on *Daphnia* // Limnol. Oceanogr. 1993. №38 P. 592-601.
3. Bierhof M. J., Roos P. J. Sedentary ciliates from two Dutch freshwater Gammarus species // Tot Dierk. - 1977. №46 P. 151-170.

4. Carman K. R., Dobbs F. C. Epibiotic microorganisms on copepods and other marine crustaceans // *Microscopy Research and Technique*. – 1977. №37 P. 116–135.
5. Corliss, J. O. *The Ciliated Protozoa. Characterization, Classification and Guide to the Literature. Second Edition.* Pergamon Press. Oxford, 1979. 455 p.
6. Green J. Parasites and epibionts of Cladocera // *Trans. Zool. Soc. Lond* 1974. №32 P. 417–515.
7. Ferns Ndez-Leborans G., Cordoba M. J. H., Arco P. G. Distribution of ciliate epibionts on the portunid crab *Liocarcinus depurator* (Decapoda: Brachyura) // *American Microscopy Society*. – 1997. - №116 – P. 171–177.
8. Henebry M. S., Ridgeway B. T. Epizoic ciliated protozoa of planktonic copepods and cladocerans and their possible use as indicators of organic pollution // *Trans. Am. Microsc. Soc.* – 1979. - №98 – P. 495–508.
9. Kankaala P., Eloranta P. Epizoic ciliates (*Vorticella* sp.) compete for food with their host *Daphnia longispina* in a small polyhumic lake // *Oecologia* (Berlin). 1987. №73 P. 203–206.
10. Laura Roberta Pinto Utz. Identification, life history, and ecology of peritrich ciliates as epibionts on calanoid copepods in the Chesapeake Bay. Diss... for the degree of Doctor of Philosophy. – Maryland, 2003. – 175 p.
11. Nagasawa S. Exoskeletal scars caused by bacterial attachment to copepods // *J. Plankton. Res.* – 1987. - №9 – P. 749–753.
12. Parnachev V.P., Degermendzhy A.G. Geographical, geological and hydrochemical distribution of saline lakes in Khakasia, Southern Siberia // *Aquatic Ecology*, 2002. - Vol. 36, №2. P. 107–122.
13. Sawyer T. K., McLean S. A. Some protozoan diseases of decapod crustaceans // *Mar. Fish. Rev.* – 1978. - №1342 – P. 32–35.
14. Seasonal dynamic of phototrophic epibionts on crustacean zooplankton in a eutrophic reservoir with cyanobacterial bloom / O.P. Dubovskaya, E.P. Klimova, V.I. Kolmakov and ct. // *Aquatic Ecology*. – 2005. – V.39; № 2. – P. 167–180.
15. Song W. Contribution to the commensal ciliates on *Penaeus orientalis*. I. (Ciliophora, Peritrichida) // *J. Ocean Univ. Qingdao*. - 1991a. - №21 – P. 119–128.
16. Song W. Contribution to the commensal ciliates on *Penaeus orientalis*. II. (Ciliophora, Peritrichida) // *J. Ocean Univ. Qingdao*. - 1991b. - №21 – P. 45–55.
17. Song W., Warren A. A redescription of *Pseudovorticella patellina* (O. F. Müller, 1776) nov. comb., a peritrichous ciliate (Protozoa: Ciliophora: Peritrichida) isolated from mariculture biotopes in North China // *Acta Protozool.* – 2000. - №39 – P. 43–50.
18. Stumadel H. A., Ebert D. Prevalence, host specificity and impact on host fecundity of microparasites and epibionts in three sympatric *Daphnia* species // *J. Animal Ecol.* – 1997. - №66 – P. 212–222.
19. Threlkeld S. T., Willey R. L. Colonization, interaction, and organization of cladoceran epibiont communities // *Limnol. Oceanogr.* – 1993. - №38 – P. 584–591.
20. Valbonesi A., Guglielmo L. Infestation of a lagoon zooplanktonic community with the epizoic peritrich *Zoothamnium intermedium* Precht (Peritrichia, Zoothamniidae) // *Boll. Zool.* – 1988. - №3 – P. 179–183.
21. Wahl M. Marine epibiosis. 1. Fouling and antifouling: some basic aspects // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* – 1989. - №58 – P. 175–189.
22. Willey R.L., Cantrell P.A., Threlkeld S.T. Epibiotic euglenoid flagellates increase the susceptibility of some zooplankton to fish predation // *Limnol. Oceanogr.* – 1990. - №35 – P. 952–959.

**THE FIRST RECORDS ABOUT EPIBIONT ORGANISMS ON CALANOID COPEPODS
ARCTODIAPTOMUS SALINUS (DADAY) FROM BRACKISH LAKES IN KHAKASIA**
T.N. Anufrieva

Epibionts associated with calanoid copepods *Arctodiaptomus salinus* were investigated in brackish lakes Shira and Shunet (Khakasia) in 2004–2006 and in subglacial period 2007. Protozoan epibionts were identified as *Epistylis* sp. (Protozoa, Ciliophora, Peritrichida). Structural parameters of epibiosis *Epistylis* sp. *A. salinus* have been examined. The phototrophic epibionts *Colacium* sp. is registered in lake Shira, *Chlorangiopsis epizootica* (Korsch.) Korsch., *Colacium* sp., pennate diatoms *Synedra* sp. were registered in lake Shunet.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СТРУКТУРЫ ПАРАЗИТАРНЫХ СООБЩЕСТВ И ПОКАЗАТЕЛЕЙ СТАБИЛЬНОСТИ РАЗВИТИЯ ЗОЛОТОГО КАРАСЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ МАЛЫХ ВОДОЕМОВ БАССЕЙНА Р. ВЫЧЕГДА

Э.И. Бознак, Е.А. Голикова, Л.Р. Макарова

Сыктывкарский государственный университет, Сыктывкар, Россия
e-mail: boznak06@rambler.ru

Деятельность человека неизбежно сказывается на состоянии водоемов в процессе функционирования как популяции отдельных видов гидробионтов, так и их сообществ. В этой ситуации возрастает необходимость адекватной оценки степени антропогенного воздействия на водоем и прогнозирования возможных направлений изменений водных экосистем. Особое значение в этой связи приобретает исследование состояния водоемов, не испытывающих значительной антропогенной нагрузки, т.е. состоящих из которых приближено к естественному.

В работе проанализированы сборы карася из малых водоемов бассейна р. Вычегда: оз. Дилья-ты (31 экз.), оз. у Плотины (25 экз.), оз. Карьерное (20 экз.), оз. Торфяное (26 экз.) и оз. Кофейное (30 экз.). Описание структуры компонентных сообществ паразитов проведено по О.Н. Пугачеву (1999) и Г.Н. Доровских (2001, 2003). В качестве показателей стабильности индивидуального карася использованы среднее значение частота асимметричного проявления на признак (ЧАПП) и среднее число мелких форм девиантов (ЧФ) (Захаров, 1987; Захаров, Крысанов, Пронин, 1996; Захаров и др., 2000).

Озера Дилья-ты и у Плотины являются естественными водоемами, во время половодья сообщаются с рекой. Дно озер илистое, богато представлена высшая водная растительность. Озеро Карьерное – это система водоемов, недавно возникшая на месте песчаного карьера. Дно здесь практически лишено наилка, водная растительность отсутствует, а рыба питается искусственным кормом. Озеро Торфяное, по-видимому, образовалось на месте старого торфяного карьера и характеризуется сильным развитием высшей водной растительности. Оз. Кофейное также сформировалось на месте карьера, дно этого водоема илистое, имеется высшая водная растительность. Антропогенная нагрузка на данные водоемы невелика и ограничивается лишь незначительным потребительским рыболовством и рекреационным использованием. Кроме того, в искусственные водоемы происходит поступление небольшого количества загрязняющих веществ с расположенных поблизости автомобильных дорог и жилых строений.

Замечено, что в условиях антропопрессии на водоемы происходит изменение структуры компонентных сообществ ихтиопаразитов идет в сторону уменьшения видового разнообразия и, иногда, увеличения численности и биомассы отдельных групп паразитов. При длительных стрессовых воздействиях структура сообщества паразитов приходит в равновесное состояние, сходное по своим характеристикам с сформированным сообществом паразитов. Различия касаются только числа групп паразитов в структуре описываемой вариационными кривыми условных биомасс видов (Доровских, 2001; Голикова, 2005). Анализ структуры компонентных сообществ паразитов проводили в период сформированного состояния, когда оно наиболее сбалансировано (Доровских, Голикова, 2001; Голикова, Макарова, Степанов, 2003 и др.).

Паразитофауна золотого карася из исследованных озер включает в себя 20 видов паразитов (табл.). В большинстве водоемов сообщества характеризуются наличием 13 видов паразитов. Наименьшее количество видов паразитов обнаружено у карася оз. Карьерное (3 вида). Среди паразитов карася наибольшее видовое разнообразие и высокий уровень заражения имеют микроспоридии и моногенеи. Инвазивность рыб трематодами не значительна. Прослеживается определенная закономерность

распределении видов в компонентных сообществах паразитов карася. В естественных водоемах (оз. Дилья-ты, оз. у Плотины) доминируют автогенные генералисты со сложным циклом развития (р. *Myxobolus* и *Allocreadium isoporum*). В давно существующих искусственных водоемах (оз. Торфяное, оз. Кофейное) также преобладают автогенные генералисты р. *Myxobolus*, в молодых водоемах (оз. Карьерное) – автогенные генералисты с простым жизненным циклом (р. *Dactylogyrus*).

Таблица
Паразитофауна золотого карася из малых водоемов бассейна р. Вычегды

Вид паразита	оз. Дилья-ты	оз. у Плотины	оз. Карьерное	оз. Торфяное	оз. Кофейное
<i>Myxidium rhodci</i>	60 (8.1)	50 (5.5)	-	87 (9.9)	70 (12.1)
<i>Spaerospora carassii</i>	-	-	-	-	6 (0.4)
<i>Trichodina reticulata</i>	100	100	-	-	-
<i>Myxobolus ellipsoides</i>	60 (6.6)	80 (21.9)	20 (0.6)	47 (6.9)	6 (0.2)
<i>M. carassii</i>	10 (0.2)	-	-	-	6 (0.1)
<i>M. dispar</i>	30 (8.6)	10 (0.1)	-	27 (0.9)	-
<i>M. thelochancellus</i>	-	-	-	7 (0.1)	-
<i>M. macrocapsularis</i>	40 (10.9)	30 (40.2)	-	-	-
<i>Dactylogyrus wegneri</i>	100 (12.1)	80 (6.0)	100 (15.8)	7 (0.1)	29 (0.5)
<i>D. vastator</i>	10 (0.1)	-	-	33 (0.5)	35 (0.8)
<i>D. intermedius</i>	90 (16.2)	90 (32.2)	-	33 (0.6)	65 (3.8)
<i>D. formosus</i>	90 (6.2)	90 (4.8)	100 (22.6)	93 (8.0)	59 (1.1)
<i>D. anchoratus</i>	-	-	-	53 (2.2)	76.5 (2.4)
<i>Gyrodactylus carassii</i>	-	-	-	67 (28.5)	-
<i>Allocreadium isoporum</i>	70 (26.5)	10 (0.4)	-	-	-
<i>Philometroides sanguinea</i>	-	-	-	13 (0.1)	29 (0.3)
<i>Ichthyocotylurus variegatus</i>	30 (1.7)	30 (1.5)	-	-	-
<i>Diplostomum paracaudatum</i>	-	-	-	27 (0.4)	-
<i>Paracoogonimus ovatus</i>	-	-	-	27 (0.7)	-
<i>Lernaea cyprinacea</i>	-	10 (0.1)	-	-	-

Примечание. Первое значение – экстенсивность заражения (%), в скобках – индекс обилия (экз.).

Расчитанные значения параметров (индекс доминирования – d; индекс выравненности видов – E; индекс разнообразия Шеннона - H'), характеризующих компонентные сообщества паразитов карася из естественных и искусственных водоемов, значительно варьируют. Сбалансированными являются паразитарные сообщества карася из естественных водоемов, отличающиеся низкими значениями индекса доминирования (d=0.272-0.357), высокими – индексов выравненности видов (E=0.699-0.846) и Шеннона (H'=1.677-2.028). Сходными значениями индексов характеризуется сообщество паразитов карася из оз. Торфяное (d=0.329; E=0.632; H'=1.623).

Структура сообществ паразитов карася этих водоемов образованы тремя группами видов, выделенных по соотношению их условных биомасс; точки биомасс видов каждого структурного уровня хорошо сгруппированы (рис. 1а, б).

Интересно, что сообщество паразитов карася из оз. Кофейное при значении показателей биоразнообразия близких к естественным водоемам ($d=0.557$; $E=0.170$; $H'=1.170$) характеризуется упрощенной "графической структурой". Действительно, виды, составляющие данное сообщество, на графике образуют лишь две группы (рис. 1 в). Такое упрощение структуры паразитарного сообщества, по-видимому связано с обеднением фауны моллюсков – промежуточных хозяев трематод.

Компонентное сообщество паразитов карася оз. Карьерное характеризуется более высокими индексом доминирования ($d=0.582$) и низкими значениями выравненности видов ($E=0.662$) и индекса разнообразия ($H'=0.728$). На графике соответствующие условным биомассам видов, образуют всего одну группу (рис. 1 б). Отмеченное обеднение паразитофауны и сильное упрощение структуры компонентного сообщества связано, очевидно, с практически полным отсутствием промежуточных хозяев большинства видов паразитов со сложным циклом развития.

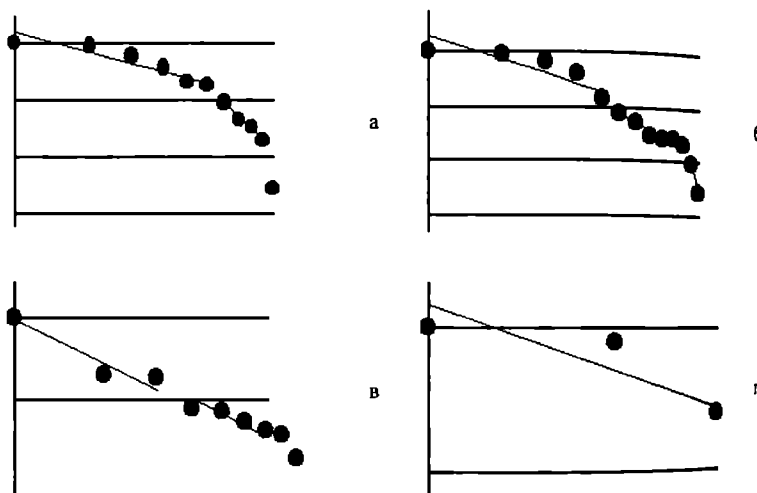


Рис. 1. Вариационные кривые условных биомасс паразитов карася из оз. Дильята (а), оз. Торфяное (б), оз. Кофейное (в), оз. Карьерное-1 (г).

Известно, что стрессорирующие воздействия различной природы способны вызывать нарушения стабильности развития организма. В благоприятных условиях уровень отклонений минимален, но при любых стрессорирующих воздействиях происходит увеличение показателей, характеризующих симметричность парных морфологических структур (Захаров, 1987; Последствия ..., 1996).

Нами проанализирована частота отклонения от билатеральной симметрии парных морфологических структур (число чешуй в боку тела, количество лучей грудных и брюшных плавников, число жаберных тычинок и число глоточных зубов).

Среди использованных морфологических признаков самым стабильным является число глоточных зубов (показатели асимметрии равны нулю). Наибольшая частота асимметричных проявлений отмечена для числа чешуй в боковой линии и количества жаберных тычинок. Отметим, что не смотря на довольно широкий разброс значений, число жаберных тычинок проявляет большую стабильность по сравнению

числом чешуй в боковой линии, а количество лучей в брюшных плавниках более стабильно по сравнению с грудными плавниками.

Полученные значения ЧАП/П в большинстве случаев соответствуют условной норме (ЧАП/П 0,23 – 0,29; ЧФ 1,15 - 1,45), т.е. свидетельствуют об относительно благополучном состоянии среды исследованных водоемов (Последствия..., 1996; Здоровье среды..., 2000). Показатели стабильности индивидуального развития карася, обитающего в естественных (оз. Дилья-ты и оз. у Плотины) и давно существующих искусственных водоемах (оз. Кофейное и оз. Торфяное) существенно не различаются (рис. 2).

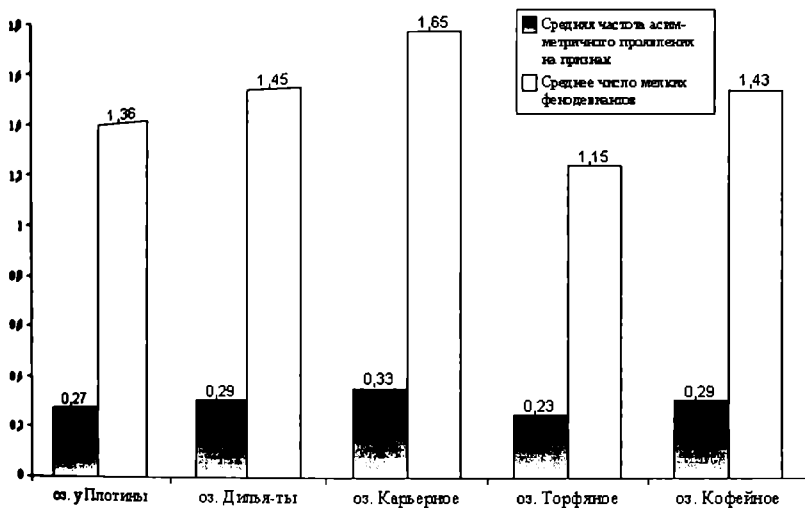


Рис. 2. Средняя частота асимметричного проявления на признак и количество мелких фенотипов у карася исследованных водоемов.

Обращает на себя внимание некоторое увеличение показателей асимметрии у рыб, обитающих в оз. Карьерное. Как уже отмечалось выше, условия обитания в этом водоеме (практически полное отсутствие водной растительности и слабое развитие естественной кормовой базы) явно неблагоприятны для карася. Действительно, рыбы из данного водоема отличаются замедленным ростом и прерывистой боковой линией, что характерно для "карликовых" популяций этого вида рыб (Szczerbowski *et al.*, 1998).

Итак, анализ структуры паразитарных сообществ и показателей стабильности золотого карася позволяет оценить состояние большинства исследованных малых озер как достаточно благополучное, следов существенного антропогенного воздействия не обнаружено. Карась, обитающий в молодых искусственных водоемах со слабо развитой водной растительностью и обедненным населением водных беспозвоночных характеризуется упрощенной структурой сообщества паразитов, индивидуальное развитие рыб в таких водоемах протекает менее стабильно.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Голикова Е.А. Экология паразитов голяна обыкновенного и их сообществ в условиях малых рек бассейна Вычегды. Автореф. дисс... канд. биол. наук. - Сыктывкар, 2005. - 22 с.

Голикова Е.А., Макарова Л.Р., Степанов В.Г. Структура зрелых компонент сообществ паразитов // Междунар. конф. и III съезда Рос. паразит. общ-ва «Проблемы современной паразитологии». - Петрозаводск, 2003. - С. 126-127.

Доровских Г.Н. Теоретические и методические подходы к изучению компонентных сообществ паразитов пресноводных рыб // Междунар. конф. «Биоразнообразии Европейского Севера». - Петрозаводск, 2001. - С. 57-58.

Доровских Г.Н. Паразиты пресноводных рыб северо-востока Европейской России (фауна, экология паразитарных сообществ, зоогеография). Автореф. докт. биол. наук. - С-Пб, 2002. - 69 с.

Доровских Г.Н., Голикова Е.А. Сезонная динамика структуры сообщества ихтиопаразитов // Междунар. конф. «Биологические эффекты малых ионизирующей радиации и радиоактивное загрязнение среды». Сыктывкар, 2001. С. 105

Захаров В.М. Асимметрия животных. - М.: Наука, 1987. - 161 с.

Здоровье среды: методика оценки /Захаров В.М., Баранов А.С., Борисов В.В., Валецкий А.В., Кряжева Н.Г., Чистякова Е.К., Чубинишвили А.Т./ - М.: ЦК экологической политики России, 2000. - 68 с.

Последствия Чернобыльской катастрофы: здоровье среды /Захаров В.М., Крысанов Е.Ю./ - М.: Центр экологической политики России, 1996. - 170 с.

Пугачев О.Н. О возможном природном очаге филометраза османа (*Syphim Oreoleusciscus humilis*) гобийском озере Бон-Цаган-Нур // Проблемы природооочаговости. - С-Пб, 1999. - С. 207-221.

Szczerbowski A., Zakes Z., Lusinski M., Szkudler M. Variability of meristic biometric features of crucian carp *Carassius carassius* (Linnaeus, 1758) // Archives of Fisheries. - 1998. - Vol. 6., Fasc. 1. - P. 67-81.

USE OF THE PARASITE COMMUNITY STRUCTURE AND DEVELOPMENTAL STABILITY INDEXES OF THE GOLDEN CRUCIAN FOR ESTIMATION OF THE STATE OF SMALL RESERVOIRS OF THE VYCHEGDA RIVER BASIN.

Bosnak E.I., Golikova E.A., Makarova L.R.

Syktvykar State University, Petrozavodskaya st.120, Syktvykar, Russia, e-mail: bosnak06@rambler.ru, tel. (8212)22-23-02.

The analysis of the parasite community structure and developmental stability indexes of the golden crucian from the small reservoirs of the Vychegda River basin was done. The state of the researched reservoirs may be estimated as normal, the anthropogenic influence features were not found. The crucian from the new formed artificial reservoirs with scanty developed aquatic vegetation characterizes with simple structure of the parasite community and less developmental stability.

ВЛИЯНИЕ ДОЛГОВРЕМЕННОГО АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА БЕЛКОВЫЙ СОСТАВ СЫВОРОТКИ КРОВИ БЫЧКА-КРУГЛЯКА (*NEOGOBIVUS MELANOSTOMUS*), ОБИТАЮЩЕГО В ПРИБРЕЖНОЙ ЧАСТИ ЧЕРНОГО МОРЯ

Т. Б. Вахтина, И. И. Руднева

Институт биологии южных морей НАНУ пр. Нахимова 2, Севастополь, 99011, Украина e-mail: vaht.tb@rambler.ru

Хозяйственная деятельность человека может приводить к крайне негативным последствиям для природных экосистем. При этом особенно страдают водные сообщества, так как в них сбрасывается значительная часть загрязнителей, пагубно влияющих на морские организмы [1]. Это выражается в снижении биоразнообразия, смене доминирующих видов рыб, сокращении запасов и численности популяций, вымываниях в развитии икры, личинок и молоди, ухудшении здоровья [2,3].

Попадая в организм гидробионтов, ксенобиотики воздействуют на молекулярный статус организма, активируют процессы свободнорадикального окисления (СРО), ковалентно связываются с тканевыми белками, ферментами и ДНК, изменяя их структуру и свойства, нарушают основные реакции обмена, приводят к некрозу тканей, воспалением, канцерогенезу [4]. Помимо этого токсиканты повреждают систему репродукции, что искажает процесс размножения, вызывают отклонение в развитии и появление нежизнеспособного потомства [5,6]. В связи с этим изучение механизмов модифицирующего действия ксенобиотиков на биомолекулы и биохимические процессы, а также анализ адаптационных реакций рыб на антропогенное воздействие является одной из актуальных задач.

Целью настоящей работы явилось исследование белкового состава сыворотки крови бычка-кругляка (*Neogobius melanostomus* Pallas, 1814), обитающего в прибрежной части Севастополя в условиях длительного антропогенного загрязнения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования служила сыворотка крови бычка кругляка (*Neogobius melanostomus* Pallas), отловленного в прибрежной зоне Севастополя в периоды 1984-1986 гг., 1990-1994 гг., 1998-1999 и 2003 г., характеризующиеся разным уровнем антропогенной нагрузки.

Кровь у рыб брали из хвостовой артерии, сыворотку получали путем отстаивания на холоду. Фракционный состав сывороточных белков рыб изучали методом диск-электрофореза в 7% полиакриламидном геле [7]. Распределение белковых фракций учитывали по коэффициенту относительной электрофоретической подвижности (Кэф), рассчитанному по отношению расстояния от старта до центра белковой полосы, к расстоянию, пройденному в геле свидетелем. На основании Кэф были определены стандартные электрофоретические спектры белков [8].

Помимо этого анализировали статистические параметры ЭФ-спектров: пределы числа фракций в ЭФ-спектрах, среднее число фракций $M_{\pm t}$, коэффициент вариации CV% [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Стандартные ЭФ-спектры белков сыворотки крови бычка-кругляка за двадцатилетний период претерпели определенные изменения, которые выражались в изменении общего числа белковых компонентов, количества фракций в пределах белковых зон и в сдвигах их относительной ЭФ-подвижности (Рис.1, Табл. 1).

Наиболее гетерогенен по числу белковых компонентов стандартный ЭФ-сывороточных белков рыб, отловленных в 80-е годы.

Существенные сдвиги в ЭФ-спектре сыворотки рыб происходят в преальбуминовой области. К началу 90-х годов количество компонентов в этой зоне уменьшилось в 2 раза, а к концу 90-х и в 2003 г - в 6 раз по сравнению с 80-ми. Так, компоненты этой зоны с разными Кэф присутствовали у 3-40% особей в спектрах 80-х годов, но были отнесены к «редким» компонентам, так как частота их встречаемости не превысила 50%. Альбумин представлен одной фракцией, Кэф которой увеличивается в спектрах рыб в 90-х и 2003-го годов по сравнению с таковым у рыб в 80-х (Рис. 1, Табл. 1).

Таблица 1. Сравнительная характеристика стандартных ЭФ-спектров белков сыворотки крови бычка-кругляка, отловленного в разные периоды времени в прибрежной зоне Севастополя

Зоны белковых фракций	Год							
	1984-1986		1990-1994		1998-1999		2003	
	А	В	А	В	А	В	А	В
Преальбуминовая	6	0,77-1,14	3	0,86-0,99	1	0,87-0,89	1	0,84-0,86
Альбуминовая	1	0,72-0,75	1	0,75-0,80	1	0,75-0,79	1	0,75-0,79
Постальбуминовая	10	0,33-0,68	8	0,32-0,71	10	0,32-0,72	9	0,38-0,72
Трансферриновая	3	0,23-0,31	2	0,24-0,27	2	0,22-0,28	3	0,24-0,28
Посттрансферриновая	5	0,1-0,2	3	0,1-0,2	2	0,12-0,23	3	0,11-0,2
Предстартовая	3	0,0-0,08	2	0,0-0,06	2	0,0-0,04	2	0,0-0,06
Всего компонентов	28		19		18		19	

А – количество белковых компонентов в белковой зоне

В – пределы электрофоретической подвижности (Кэф) белковой зоны

Для остальных ЭФ-зон характерно уменьшение количества белковых компонентов в ЭФ-спектре у рыб в начале 90-х годов по сравнению с ЭФ-спектрами 80-х: в постальбуминовой и посттрансферриновой зонах на 2 и на 1 в трансферриновой и предстартовой. В ЭФ-спектре бычков в конце 90-х продолжается снижение числа фракций в посттрансферриновой, но увеличение на 2 компонента в постальбуминовой зоне. К 2003 году количество фракций вновь возрастает на 1 компонент в трансферриновой и посттрансферриновой зонах (Рис.1, Табл.1).

Сравнение статистических показателей числа белковых фракций в ЭФ-спектрах белков сыворотки крови кругляка, отловленного в разные годы, позволило заключить, что со временем в ЭФ-спектрах прослеживается четкая тенденция уменьшения среднего количества фракций ($M \pm m$) и снижения нижних и верхних пределов их числа в ЭФ-спектрах (Табл. 2). К 2000-м годам данные параметры несколько увеличиваются.

Коэффициент вариации (CV, %) белковых фракций в ЭФ-спектрах рыб в 80-е годы в 2,5 раза меньше, чем значение данного показателя у рыб в начале 90-х годов, к концу 90-х и 2000-м годам он снижается.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о модифицирующем влиянии антропогенного воздействия на белковый состав сыворотки крови рыб. Следует отметить общее снижение числа компонентов в стандартных ЭФ-спектрах 90-е – 2000-е годы по сравнению с 80-ми, в наибольшей степени выраженное в преальбуминовой. Известно, что эти белки транспортируют гормоны и, в частности тироксин, играющий важную роль в поддержании обменных процессов и репродукции [10, 11]. Можно предположить, что снижение числа фракций преальбуминовой зоны и их полного исчезновения у большинства особей обусловлено как постсинтетическими модификациями этих компонентов и «переходом» их в альбуминовую зону, так и

нарушением генетических структур, ответственных за синтез этих белков. В обоих случаях это может быть следствием попадания в организм избыточных количеств микробактериальных из воды, уровень загрязнения которой в 90-е годы достиг максимальных значений [12, 13]. В этот же период у многих видов рыб, отловленных в Севастопольских бухтах, наблюдались значительные аномалии в развитии гонад и процессах оогенеза, связанные с высокой антропогенной нагрузкой и, как следствие, нарушениями репродуктивных процессов [6]. Сходные тенденции были обнаружены и для других видов рыб, обитающих в сильно загрязненных акваториях [5]. По-видимому, изменение фракционного состава преальбуминов может косвенно отражать нарушение гормонального статуса организма и деструкцию нормального размножения.

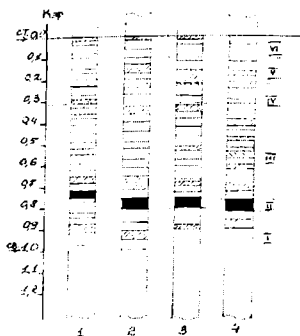


Рис. 1. Стандартные ЭФ-спектры белков сыворотки крови бычка-кругляка, отловленного в разные периоды времени в прибрежной зоне Севастополя: 1 - 1984-1986 гг., 2 - 1990-1994 гг., 3 - 1998-1999 гг., 4 - 2003 г.; I - преальбуминовая, II - альбуминовая, III - постальбуминовая, IV - трансферриновая, V - посттрансферриновая и VI - предстартовая зоны.

Таблица 2. Статистические показатели числа фракций в ЭФ-спектрах белков сыворотки крови бычка-кругляка, отловленного в разные периоды времени в прибрежной зоне Севастополя

Параметры	Год			
	1984-1986	1990-1994	1998-1999	2003
Количество, n	n=74	n=35	n=28	N=84
Пределы числа фракций в ЭФ-спектрах	16-29 (13)*	10-23 (13)*	7-16 (9)*	7-22 (15)*
Среднее число фракций в ЭФ-спектрах, $M \pm m$	23,1 \pm 0,3	16,0 \pm 0,4	11,7 \pm 0,45	14,9 \pm 0,3
Пределы ЭФ-подвижности	0,0-1,23	0,0-1,31	0,0-1,04	0,0-1,33
Коэффициент вариации, cv, %	10,8	27,6	20,2	18,7

* - размах числа фракций в ЭФ-спектрах указан в скобках

В 2000-е годы, с улучшением экологической ситуации в прибрежной части Севастополя, происходит «восстановление» числа фракций в остальных зонах ЭФ-спектра, но не в преальбуминовой. Это свидетельствует о глубоких механизмах перестройки данных компонентов и (или) их генетических структур. Белки остальных зон являются комплексными и транспортируют углеводы, липиды, ионы металлов и другие метаболиты [14]. Увеличение диффузных фракций в ЭФ-спектрах рыб в 90-х годах и особенно в 2003, может свидетельствовать об усилении синтеза данных белков как неспецифической ответной реакции на токсический стресс, связанной с нарушением функции клеток печени, синтезирующих сывороточные белки. Обращает

на себя внимание четкая тенденция увеличения подвижности альбуминовой фракции, что также свидетельствует об изменениях свойств этого белка, вызванных дополнительным транспортом ксенобиотиков.

Дальнейшим подтверждением модификации ЭФ-спектра сывороточных белков рыб являются его статистические показатели. При общей тенденции снижения числа фракций, их верхних и нижних пределов, расширения пределов в ЭФ-спектрах, размах их числа возрастает к 2000-м, также как и коэффициент вариации. Можно предположить, что в результате массированного антропогенного воздействия, отмеченного в 90-е годы, движущая форма отбора была направлена на повышение многообразия сывороточных компонентов и их модифицированных форм адаптивной реакции на стресс, вызванной избытком ксенобиотиков в среде. В 2000-е годы, когда уровень антропогенного воздействия снизился, стабилизации ЭФ-спектров сывороточных белков не произошло, что подтверждают повышенные значения размахов пределов числа фракций в ЭФ-спектрах.

На основании проведенных исследований можно заключить, что изменения стандартных ЭФ-спектров и статистических показателей числа фракций свидетельствуют о важной роли сывороточных белков в неспецифической адаптации организмов на действие токсикантов и возможности использования этих параметров в качестве биоиндикаторов в системах долговременного мониторинга акваторий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Красновид И.И., Озюменко Б.А. // Сб. науч. работ специалистов санит.-эпидем. стан. Севастополя. 2002. вып. 7. С. 26-33.
2. Ихтиофауна черноморских бухт в условиях антропогенного загрязнения / Под ред. Л. Овсн. Киев: Наук. думка. 1993. 144 с.
3. Современное состояние ихтиофауны Черного моря / Под ред. С.М. Ковалева. Севастополь: СО «ЭКОСИ - Гидрофизика». 1996. 214 с.
4. Залевская И.Н., Руднева И.И. Опорные конспекты лекций к спецкурсу «Экотоксикология» «Биохимические механизмы действия токсических веществ на живые организмы». Симферополь: Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского. 2004. 214 с.
5. Лукин А.А., Шарова Ю.Н. // Вопросы ихтиологии. 2002. 42, № 1. С. 114-120.
6. Овен Л.С. // Вопросы ихтиологии. 2004. 44, № 1. С. 124-129.
7. Davis B.Y. // Ann. New York Acad. Sci. 1964. 121. P. 404.
8. Соркина Д.А., Руднева И.И. // Молекулярная биология и медицинская генетика. Харьков: Из-во Хартковского университета. 1975. 66, № 1. С. 61-63.
9. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа. 1973. 373 с.
10. Бакл Дж. Гормоны животных. М.: Мир. 1986. 70 с.
11. Лавровская Н.Ф. Современные исследования по биохимии рыб. Москва. 1973. 99 с.
12. Павлова Е.В., Овсянный Е.И., Гордина А.Д. и др. // В кн. Акватория и берега Севастополя: экосистемные процессы и услуги обществу. Севастополь: Аквавита. 1999. С. 74.
13. Жерко Н.В., Егоров В.Н., Гулин С.Б., Малахова Л.В. // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное исследование ресурсов шельфа. 2001. С. 21-27.
14. Соркина Д.А., Залевская И.И. Структурно-функциональные свойства белков. Киев: Высшая школа. 1990. 210 с.

INFLUENCE OF LONG-TERM ANTHROPOGENIC POLLUTION ON BLOOD SERUM PROTEINS COMPOSITION OF THE ROUND GOBE (*NEOGOBIOUS MELANOSTOMUS*) INHABITED THE BLACK SEA COASTAL REGION

T. B. Vahtina, I. I. Rudneva

Electrophoretic composition of blood serum proteins of the round goby inhabited the long-term polluted coastal area of Sevastopol was studied. The changes in standard EP-spectra and statistical parameters of fractions number are the evidence of the modification of blood serum proteins composition under the anthropogenic impact and the important role of serum proteins in adaptive mechanisms to toxic effects.

ВЛИЯНИЕ РАЗНОРАЗМЕРНЫХ ОСОБЕЙ В ПОПУЛЯЦИИ CLARIAS GARIEPINUS НА РЕЗУЛЬТАТЫ ИХ ВЫРАЩИВАНИЯ.

В.А. Власов, В.В. Дернаков

Российский Государственный Аграрный Университет - Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева, кафедра аквакультуры, Москва, Россия, e-mail: mik-com@yandex.ru

В настоящее время экономически целесообразно выращивание в УЗВ либо посадочного материала рыб, либо товарной продукции рыб ценных пород (осетровые, лососевые, угри, тилапии, ванальный и клариевый сом и т. д.). Сом *Clarias gariepinus* и другие представители семейства Clariidae благодаря быстрому росту, устойчивости к неблагоприятным факторам среды обитания и высокому качеству мяса стали одними из самых распространенных объектов выращивания во многих странах мира. Наиболее часто в аквакультуре используются *Clarias gariepinus*, *C. lazera* и *C. fuscus*. Если два последних вида получили распространение главным образом в рыбодоводстве тропических стран, то *C. gariepinus*, будучи интродуцирован в хозяйства Европы, быстро стал одним из важных объектов индустриального культивирования.

Биологические особенности клариевого сома делают его одним из перспективных объектов культивирования в установках замкнутого водоснабжения. Он имеет высокую скорость роста (время выращивания от личинки до товарной массы 1200 г составляет 6 месяцев), может выращиваться при очень высоких плотностях посадки (в отдельных случаях до 500 кг/м³), отличается высокой устойчивостью к заболеваниям. Эта рыба эффективно использует корм, затраты которого, как правило, составляют 0,8–1,2 кг на 1 кг продукции. Кроме того, стоимость кормов, используемых при выращивании клариевого сома примерно в полтора раза ниже, чем кормов, применяемых при выращивании осетровых и форели. Способность сома использовать для дыхания атмосферный воздух позволяет отказаться от использования в составе УЗВ кислородного оборудования, что снижает капитальные затраты на строительство установок на 25–40%.

Клариевый сом обладает крайне неравномерным ростом и у мальков в первые месяцы жизни различия в размерах становятся такими, что крупные особи поедают мелких. Каннибализм может увеличить потери рыбы на 20–25 %. Для предотвращения этого молодь сома рекомендуется сортировать несколько раз за период выращивания. Однако сведения о том, на каком этапе развития, при достижении какой средней массы у сома начинает проявляться каннибализм в литературе отсутствуют. А в практике выращивания клариевого сома еще не установилось единого отношения к срокам проведения сортировок. Проведение сортировок сома для предотвращения каннибализма подразумевает дальнейшее выращивание рыбы с различной начальной массой. В связи с перспективностью выращивания данного объекта в условиях аквакультуры России, и прежде всего в УЗВ, был проведен эксперимент по изучению особенностей выращивания сома в бассейнах УЗВ в связи с неравномерностью его роста.

Были поставлены следующие задачи:

- изучить динамику изменчивости массы клариевого сома при выращивании в УЗВ;
- изучить рыбоводные показатели клариевого сома с различной скоростью роста, выращиваемого в УЗВ;
- изучить экстерьерные и интерьерные показатели сома с различной скоростью роста, а также товарные качества продукции;
- изучить потребление и эффективность использования корма рыбой с различной их скоростью роста;

Исследования проводились в аквариальной кафедры аквакультуры ФГОУ ВПО РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева. Сомы выращивались в установке замкнутого цикла водоснабжения объемом 3,5 м³, в рыбоводных емкостях объемом 250 л при плотности посадки – 200 шт./ м³. В эксперименте предусмотрено два варианта опыта. В первом варианте сомы выращивались без сортировок на всем протяжении опыта. Во втором варианте, где сомы были разделены на три весовые группы, ежемесячно проводились сортировки.



Рис. 1. Схема исследований

В качестве объекта исследования использовали молодь клариевого сома (*Clarias fahaka*) массой от 64 до 170 гр. Рыбу выращивали при плотностях посадки 200 шт./ до товарной массы 400-600 гр. Кормление рыбы проводили форелевым гранулированным кормом фирмы Kraft 5 раз сутки в период с 10 до 18 час. Корм сома проводили по потребности, разовую дачу корма подбирали из расчета его поедаемости рыбой не более, чем за 5 мин. Необходимая температура поддерживалась терморегуляторами, различия между опытными бассейнами не превышали 0,2-0,3. Значения pH на протяжении всего эксперимента оставались стабильными во всех опытных бассейнах - на уровне 6,6-6,8. Контроль за ростом рыб вели путем проведения еженедельных контрольных обловов, для контрольного взвешивания использовали 10% от численности рыбы. По окончании эксперимента был проведен анализ морфометрических и морфофизиологических показателей сомов, а так же анализ пластических признаков.

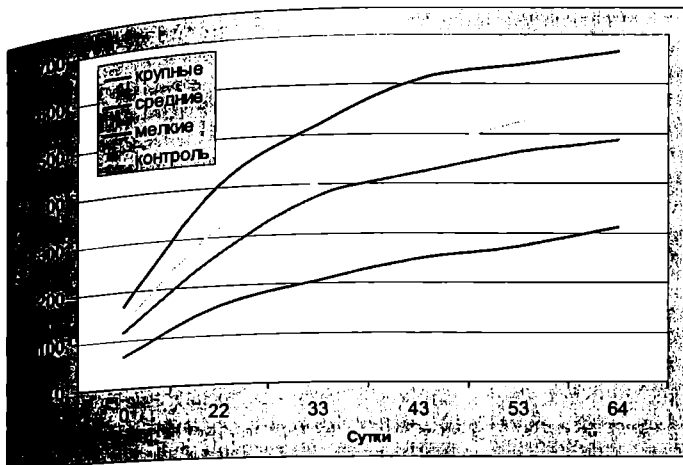


Рис. 2. Рост клариевого сома.

Табл. 1. Скорость роста рыбы

Показатели	крупные	средние	мелкие	контроль
Начальная масса рыбы, г	168	116	64,5	136,7
Конечная масса рыбы, г	665,8	487,6	312,4	562,3
Абсолютный прирост, г/шт.	497,6	371,4	247,9	426,3
Среднесуточный прирост, г/шт.	7,78	5,8	3,87	6,66
Км	0,15	0,14	0,13	0,145
Прирост удельной массы, г/м ³ сут.	1248,38	1462,8	1054,35	1511,18

Табл. 2. Величина рационов и эффективность использования корма

Показатели	крупные	средние	мелкие	контроль
Суточный рацион, г	8,11	4,63	3,49	6,39
Суточный рацион, %	1,94	1,53	1,85	1,83
Затраты корма, кг/кг прироста	0,78	0,61	0,72	0,73
Затраты сырого протеина, г/кг прироста	374	293	346	350

На основании полученных данных были сделаны следующие выводы:

1. Раздельное выращивание разноразмерных сомов не оказало значительного влияния на рыбоводные показатели по сравнению с контрольной группой.
2. При раздельном выращивании мелких, средних и крупных клариевых сомов наибольшая скорость роста отмечена у рыб из крупной группы. Средне- и мелкосомеры уступали крупным рыбам на 7%, а мелкие – на 15%.
3. Наименьшая величина суточных рационов и максимальная эффективность использования корма получена у сомов средней группы. Максимальное потребление корма и наиболее низкая эффективность его использования отмечены у крупной группы сомов.
4. Достоверных различий по экстерьерным показателям между сомами контрольной и опытных групп отмечено не было.
5. Достоверных различий по товарным качествам у сомов с разной скоростью роста отмечено не было, за исключением относительной массы осевого скелета, которая была наибольшей у мелких рыб.
6. У рыбы с разной скоростью роста отмечены различия по некоторым морфофизиологическим индикаторам. Количество внутреннего жира и относительная масса почек у мелких рыб были достоверно ниже, чем у крупных. Относительная масса кишечника у рыб контрольной группы была достоверно выше, чем у сомов опытных групп.

INFLUENCE DIFFERENTLY SIZE OBJECTS CLARIAS GARIEPINUS OF POPULATION TO THE RESULTS THEIR GROWING.

V.A. Vlasov, V.V. Dernakov

**ПАТОЛОГИИ И ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ КЕТЫ, ЗАРАЖЕННОЙ
МИКСОСПОРИДИЯМИ *MUXOSOMA DERMATOBIA***
Г. П. Вялова, Т. М. Сергеевко

Сахалинский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (СахНИРО), Южно-Сахалинск, Россия. E-mail: vyalova@sakhniro.ru

На Дальнем Востоке *M. dermatobia* зарегистрирована как паразит кеты и кижуча в бассейне р. Амур и водоемах Камчатки, а также в Японии (Определитель паразитов пресноводных рыб, 1984). В доступной литературе находки *M. dermatobia* для Сахалина не указаны. Эти микроспоридии были обнаружены впервые на Сахалине в 1988 г. у кеты из промысловых уловов в устье р. Тымь и Ныйском заливе (Вялова, 1996). Показатели зараженности кеты из разных рек Сахалина представлены в таблице 1.

Muxosoma dermatobia – паразит кожи. Исключительно тканевый паразит, имеющий обычно вегетативную форму в виде многочисленных цист. Цисты окружены соединительной тканью хозяина. Как указывал С. С. Шульман (1966), «строго говоря, такие плазмодии нельзя назвать цистами. С последними их сближает только чисто внешнее сходство...». В наших исследованиях вегетативные формы паразита – округлые цисты молочно-белого цвета, неправильной формы локализовались в коже чешуйных кармашков. Эти цисты достигали крупных размеров, были окрашены и хорошо заметны (рис. 1А). Цисты содержали огромное количество спор. Споры чечевицеобразной формы в плоскости, перпендикулярной шву, и округлой или близкой к ней в плоскости шва (рис. 1Б).

У кеты из моря без признаков брачного наряда («серебрянок») цисты, локализованные в чешуйных кармашках, как правило, не были еще вскрыты, чешуйки над ними приподнимались, становились почти перпендикулярно поверхности кожи, и у рыбы наблюдалось «ерошение» чешуи. Чем больше была инвазирована рыба, тем более ярко был выражен у нее этот признак. Такая «лохматая» рыба выделялась в уловах среди менее зараженных и незараженных и легко диагностировалась.

Таблица 1 – Показатели зараженности осенней кеты *M. dermatobia* в реках Сахалина

Имя реки	Год	Число исследованных рыб, экз.	Экстенсивность, %	Амплитуда интенсивности, цист/рыбу	Индекс обилия, цист/рыбу
Тымь	1988	174	91,0	1–100	29,0
	1989	198	96,0	3–125	42,0
Пороний	1989	1000	1,6	14–505	2,0
	1989	138	42,0	3–211	18,0
	1990	100	26,0	1–50	3,0
Найба	1991	100	8,6	1–48	1,3
	1989	300	3,0	1–36	0,4
	1990	100	17,0	1–32	1,2
Удуринца	2005	40	25	1–90	4,0
	2005	40	44	2–203	17,0

У рыбы, которая побывала в пресной воде, часть цист была вскрыта, на их местах образовывались язвочки диаметром 3–5 мм (прободение кожи до мышечного слоя), и наблюдалось выпадение чешуи. Распределение паразита в коже по отдельным участкам тела было неравномерным. Наиболее сильно была заражена кожа брюшка со смещением максимальной инвазии к хвостовой части (табл. 2).



А
Рис. 1 – Цисты (А) и споры (Б) *Myxosoma dermatobia* в коже кеты

Таблица 2 – Распределение *M. dermatobia* в коже отдельных частей тела кеты

Название реки	Число обследованных рыб, экз.	Брюшко		Спинка	
		амплитуда интенсивности, экз.	индекс обилия, экз./рыбу	амплитуда интенсивности, экз.	индекс обилия, экз./рыб.
Поронай	1000	14–339	4,9	13–166	2,0
Найба	138	4–175	17,0	3–36	5,5
Ударница	300	2–32	0,4	1–4	0,22

Споры миксозома попадали в водоем частично еще при жизни рыбы, оставаясь, видимо, – после разложения ее трупов. Молодь заражается следующей весной в период ее перехода на внешнее питание и катадромной миграции. Высокая степень поражения кеты (до 96%), по-видимому, была обусловлена первоначальным накоплением огромного количества спор в реке, где молодь питается в период ската, и выносом их в море, где молодь кеты нагуливается достаточно долго в предустьевых участках. По мнению А. В. Успенской (1984), дальнейшее накопление паразита в организме хозяина происходит в период их вегетативного размножения (плазмодиальных стадий миксозома, и патогенность паразита продолжается в период перехода в стадию спорообразования. В связи с этим можно предположить, что сильноинвазированные особи подвергаются в море значительной элиминации.

В нерестовый период происходят глубокие физиологические изменения в организме рыбы, и поражения, связанные с инвазией простейшими, являются дополнительной нагрузкой для иммунной системы и приводят к снижению резистентности организма. Кроме того, выход спор из цист сопряжен с разрывом кожных покровов (прободением), открывает ворота инфекции и может стать причиной вторичных заражений (Шульман, 1966). Потомство от ослабленной и больной рыбы дает высокую смертность на всех этапах выращивания, начиная с инкубационного периода. Поэтому оценка физиологического состояния производителей лососевых является в рыбном хозяйстве актуальной задачей исследований, так как цель заводского выращивания заключается в получении жизнестойкой молоди, которая даст высокий возврат.

В наших исследованиях физиологическое состояние производителей оценивалось по гематологическим показателям. Исследовались производители кеты с базовых рыбных заводов, то есть та рыба, которая побывала в пресной воде. Цисты, в основном, были вскрыты. На месте их прикрепления наблюдались прободения вплоть до мышечного слоя и выпадение чешуи (рис. 2). На пораженных участках

гематома и кровоизлияния обнаружены не были. Экстенсивность заражения на исследованных рыбоводных заводах колебалась от 25 до 44%, с различным уровнем инвазии: от единичных поражений (2–4 экз.) до массовых (90–203 экз.).



Рис. 2 – Патологические проявления, вызываемые паразитированием *Myxosoma dermatobia*

В таблице 3 представлены показатели крови производителей кеты, пораженной *M. dermatobia*. В качестве сравнения исследовали кровь у кеты без признаков заражения.

Из результатов исследований, представленных в таблице, следует, что в красной крови достоверное снижение произошло только в показателе числа эритроцитов – $0,8 \pm 0,05$ млн./мкл против $1,3 \pm 0,06$ млн./мкл у здоровых рыб. Кроме того, в эритроцитарной картине зараженной рыбы наблюдался анизоцитоз (разноразмерность), который является показателем функциональной недостаточности кроветворных органов (Житенева и др., 1989). Отсутствие в периферической крови малодифференцированных форм эритроцитов, способных к размножению, говорит о том, что регенерации клеток красной крови не происходило. Показатель концентрации гемоглобина у больной рыбы не изменился относительно аналогичного показателя в контроле, несмотря на снижение количества эритроцитов. Это происходит в очень редких случаях, но в литературе описываются патологические изменения красной крови, когда содержание гемоглобина не изменялось параллельно изменению числа эритроцитов (Кудрявцев, 1969). Поэтому определение качества эритроцитов по насыщенности их гемоглобином (цветной показатель) в этом случае имеет важное диагностическое значение. Результаты наших исследований показали достоверное снижение значения цветного показателя с 2,7 у здоровой до 1,9 у инвазированной рыбы, что соответствовало 30%-ному отклонению, которое считается патологическим. Все эти изменения, обнаруженные нами в красной крови зараженной рыбы, говорят о подавлении функции эритропоэза. Причиной такого состояния, по всей видимости, стала длительно развивающаяся патология, вызванная паразитированием миксоспоридий.

Значения показателей числа лейкоцитов, тромбоцитов в крови у пораженной рыбы были ниже аналогичных у здоровой, однако достоверных различий не было (табл. 3). По нашему мнению, это связано с тем, что уровень инвазии исследуемой кеты был различным: от единичного до сильного поражения кожного покрова, что сказалось на разбросе значений.

Наиболее информативным показателем физиологического состояния оказалась лейкоцитарная система. Лейкоциты являются иммунокомпетентными клетками, и воздействие на рыб неблагоприятных факторов вызывает состояние дисбаланса между отдельными группами лейкоцитарных клеток. Результаты наших исследований показали достоверное изменение соотношения групп лейкоцитов в лейкоцитарной формуле. Это выразилось в снижении доли лимфоцитов ($38,2 \pm 1,4$ у зараженной рыбы и $44,2 \pm 1,6\%$ у здоровой) и увеличении количества гранулоцитов, особенно палочкоядерных ($57,6 \pm 2,8\%$ против $47,8\%$ соответственно).

Таблица 3 – Показатели крови производителей кеты

Показатели	Инвазированная рыба	Здоровая рыба
Эритроциты, млн./мкл	$0,8 \pm 0,05^*$ (7,1)	$1,3 \pm 0,06$
Гемоглобин, г%	$10,9 \pm 0,6$	$11,6 \pm 0,5$
Цветной показатель	$1,9 \pm 0,08^*$ (8)	$2,7 \pm 0,07$
Лейкоциты, тыс./мкл	$15,6 \pm 2,8$	$21,6 \pm 6,8$
Тромбоциты, тыс./мкл	$9,7 \pm 3,2$	$15,5 \pm 7,9$
Лимфоциты, тыс./мкл	$5,6 \pm 0,9$	$8,5 \pm 2,0$
Нейтрофилы, тыс./мкл	$10,3 \pm 2,2$	$13,1 \pm 5,8$
	Лейкоцитарная формула	
Лимфоциты, %	$38,2 \pm 1,4^*$ (3)	$44,2 \pm 1,6$
Палочкоядерные нейтрофилы, %	$57,6 \pm 2,8^*$ (2,6)	$47,8 \pm 2,7$
Сегментоядерные нейтрофилы, %	$4,9 \pm 1,7$	$9,1 \pm 2,9$
Нейтрофилы, всего, %	$61,3 \pm 1,3^*$ (3,9)	$55,5 \pm 0,7$
Моноциты, %	$0,5 \pm 0,3$	$0,3 \pm 0,3$

Примечание: * – различия достоверны.

** – в скобках – значения критерия Стьюдента.

Рыбы как в естественных, так и в искусственных условиях часто подвержены воздействию разных по происхождению стресс-факторов. В нашем случае на рыб было оказано воздействие сразу нескольких стрессовых факторов: нерестовое поведение, инвазированность, нарушение кожного покрова, переуплотнение накопителей. Стрессовая реакция сопровождается активацией синтеза гормонов стресса и вызванных ими нарушений метаболических иммунологических функций. Вследствие этого – депрессия иммунной системы. Мишенью гормона стресса вызывающего депрессию иммунной защиты на клеточном уровне, является лимфоциты (Микряков и др., 2005). Наблюдаемое нами снижение доли лимфоцитов сопровождается увеличением нейтрофилов, свидетельствовало о снижении клеточного иммунитета.

Аналогичные изменения в лейкоцитарной формуле крови наблюдались и в результате воздействия других стресс-факторов (токсическом, гормональном, транспортировке рыбы) (Микряков и др., 2005а).

Таким образом, при оценке физиологического состояния производителей кеты были обнаружены изменения в картине крови кеты, зараженной *Mухомота dermatitis*. Изменения в лейкоцитарной формуле указывали на отклонения в защитных системах организма больных рыб. Снижение числа эритроцитов, патологические изменения морфологии эритроцитов (анизоцитоз) свидетельствовали о функциональной недостаточности кроветворных органов, причиной которой являлся длительный патологический процесс, связанный с паразитированием миксосом.



СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вялова Г. П. Обнаружение *Myxosoma dermatobia* (тип Cnidosporidia, класс Myxosporidia) у кеты Сахалина // Рыбохоз. исслед. в Сах.-Курил. р-не и сопред. акваториях : Сб. науч. тр. СахНИРО. – Ю-Сах. : Сах. обл. книж. изд-во, 1996. – Т. 1. – С. 104–107.
2. Житенева Л. Д., Полтавцева Т. Г., Рудницкая О. А. Атлас нормальных и патологических изменений клеток крови рыб. – Ростов-на-Дону, 1989. – 112 с.
3. Кудрявцев А. А., Кудрявцева И. А., Привольнев Т. И. Гематология животных и рыб. – Колос, 1969. – 320 с.
4. Микряков В. Р., Микряков Д. В., Балабанова Л. В. Использование показателей изменения состава лейкоцитов при оценке последствий транспортировки на иммунный статус рыб // Эпизоотологический мониторинг в аквакультуре: состояние и перспективы : Расширенные материалы Всерос. науч.-практ. конф.-семинара (М., 13–14 сент. 2005 г.). – М., 2005. – С. 70–73.
5. Микряков В. Р., Микряков Д. В., Балабанова Л. В. Оценка последствий влияния гормона стресса на лейкопоэтическую функцию карпа *Cyprinus carpio* L. // Эпизоотологический мониторинг в аквакультуре: состояние и перспективы: Расширенные материалы Всерос. науч.-практ. конф.-семинара (М., 13–14 сент. 2005 г.). – М., 2005а. – С. 73–77.
6. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР : В 3-х т. – Л. : Наука, 1984. – Т. 1. – 430 с.
7. Успенская А. В. Цитология микоспоридий. – Л.: Наука, 1984. – 112 с.
8. Шульман С. С. Микоспоридии фауны СССР. – Л.: Наука, 1966. – 507 с.

PATHOLOGICAL AND HEMATOLOGICAL INDICES OF CHUM SALMON INFECTED WITH MYXOSPORIDIANS *MYXOSOMA DERMATOBIA*

G.P. Vyalova, T.M. Sergeenko

Sakhalin Scientific Research Institute of Fisheries & Oceanography (SakhNIRO), Yuzhno-Sakhalinsk, Russia. E-mail: vyalova@sakhniro.ru

Myxosoma dermatobia is widely distributed in rivers of Sakhalin Island as a parasite of chum salmon. Under the high level of invasion it causes pathological changes in skin: disruption of skin covers or perforated ulcers as well as deep physiological changes in fish organism related with the pathological deviations in chum salmon's blood. Hematological tests revealed some pathological changes in blood. There was a reliable change in the percentage ratio between groups of leukocytes. A proportion of lymphocytes was lower ($38,2 \pm 1,4$ in infected fish and $44,2 \pm 1,6\%$ in healthy fish) and that of granulocytes higher, especially stab neutrophils ($57,6 \pm 2,8\%$ and $47,8 \pm 2,7\%$, respectively). The number of erythrocytes was low; pathological changes were observed in erythrocyte morphology (anisocytosis) that characterized a functional deficiency of hemopoietic organs.

СТРУКТУРА И ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НЕРЕСТОВОЙ ПОПУЛЯЦИИ КАМБАЛЫ КАЛКАН КАК ПОКАЗАТЕЛИ ИНТЕНСИВНОГО ПРОМЫСЛА И СОСТОЯНИЯ ЭКОСИСТЕМЫ ЧЕРНОГО МОРЯ

В.Е. Гирагосов, А.Н. Хапайченко, Д.В. Ельников, Т.В. Шишкина

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАН Украины, Севастополь, Украина, E-mail: vitaly.giragosov@gmail.com

Камбала калкан *Psetta maxima maeotica* (L., 1758) – один из наиболее ценных видов черноморских рыб, запас и структура популяции которого характеризуются значительной неустойчивостью в результате интенсивного промысла и изменением условий обитания.

Стада калкана приурочены к определенным регионам, т.е. относительно оседлым. Подтверждением этому могут служить данные по различному влиянию промысла на состояние стад калкана в отдельных регионах, а также отличия в сезонной и межгодовой динамике жирности рыб из северо-западной и северо-восточной зон (Попова, 1969). Оседлый образ жизни калкана подтвержден результатами мечено-согласно которым в большинстве случаев районы выпуска рыб и вторичной их поимки совпадали (Попова, 1954). Калкан образует оседлые группировки, которые совершают нерестовые и нагульные миграции, направленные практически перпендикулярно берегу (Караеткова, 1964). Соответственно, есть основания предполагать, что особи, которые добываются камбальными сетями в период весенней нерестовой и осенней нагульной миграций в прибрежных водах Севастополя, характеризуются относительно стабильным генофондом.

С целью оценки современного состояния нерестовой популяции камбалы калкан в районе Севастополя исследовали размерно-возрастную и половую структуру этого вида рыб по материалу, собранному ИнБЮМ и местными рыболюбительскими организациями с помощью камбальных сетей (ячей 180-200 мм) в период нерестовой миграции калкана в апреле-июне 2006 г. на глубинах 80-90 м при температуре поверхностного слоя в 10-18° С. При анализе уловов помимо стандартных биологических характеристик фиксировали также отклонения в пигментации и миграции глаза особей.

Общая длина тела особей (TL) составила 32,7-70,5, в среднем 50,8 см, стандартная длина (SL) – 26,0-57,0, в среднем 40,9 см, масса тела общая (W_{total}) – 0,50-7,51, в среднем 2,55 кг. Самцы заметно мельче самок (рис. 1). Данные по самцам: TL – 32,7-65,3, в среднем 49,4 см, SL – 26,0-53,3, в среднем 39,7 см, W_{total} – 0,50-5,65, в среднем 2,28 кг; по самкам: TL – 43,0-70,5, в среднем 57,1 см, SL – 34,6-57,0, в среднем 46,4 см, W_{total} – 1,10-7,51, в среднем 3,69 кг. Отсутствие выраженного пика на графике веса самок (рис. 1) связано с тем, что общая масса тела самки в значительной степени зависит от стадии зрелости и, соответственно, массы яичников.

В уловах численно преобладали особи длиной (SL) 35-45 см (72,5 % от общего количества особей). Количество особей, длина которых ниже установленной промысловой меры 35 см, составило 8,5 %.

Соотношение полов в нерестовом стаде калкана в значительной степени зависит от размерного состава особей. В размерной группе до 45 см (SL) преобладали самцы, более 45 см – самки (рис. 2). Данная тенденция является следствием более высокой скорости роста и большей продолжительности жизни самок сравнительно с самцами. Общее соотношение самцов и самок в уловах – 4,6:1.

Все особи калкана в уловах камбальных сетей в 2006 г. были половозрелыми. Основу нерестового стада составили особи возрастом от 5 до 8 лет (генерации 1997-2001 гг.). Нерест калкана происходил в течение длительного периода – со второй половины апреля до середины июня. Массовый нерест отмечен в мае-месяце.

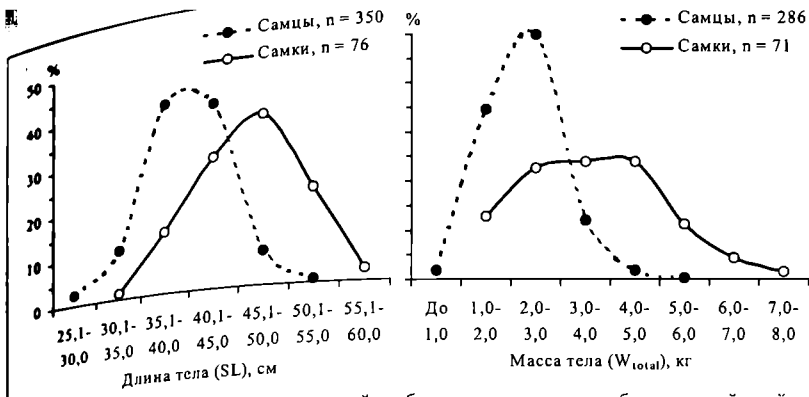


Рис. 1. Размерно-весовой состав черноморской камбалы калкан в уловах камбальных сетей в районе Севастополя в апреле-июне 2006 г.

До настоящего времени в литературе не были описаны аномалии пигментации и миграции глаза у черноморского калкана из природных популяций. В образцах калкана из сетных и траловых уловов в 80-90-х годах подобные аномалии развития не встречались. Впервые они были обнаружены нами в нерестовом стаде калкана Севастопольского района в 2005 г. и составили 2,5 % общего количества исследованных особей. В нерестовом стаде 2006 г. количество аномалий удвоилось. Признаки аномалий пигментации были обнаружены только на правой («слепой») стороне тела особей. У всех аномальных особей присутствовало частичное (пятнами) (рис. 3 А) или полное (рис. 3 Б) окрашивание правой («слепой») стороны тела. У максимально пигментированных с правой стороны особей калкана отмечены также неполная миграция правого глаза на левую сторону и/или неполная трансформация черепа, т.е. наличие выемки между головой и спинным плавником (рис.3 Б). Все аномальные особи калкана, пойманные в 2005 и 2006 гг., были представлены генерациями 1999-2001 гг.

Согласно результатам наших экспериментальных работ (неопубл.) аномалии пигментации формируются у личинок калкана в течение первых 2-3 недель жизни, а аномалии миграции глаза – в период от 3 до 4 недель (в зависимости от температуры воды). После прохождения особями пика метаморфоза (4-5 недель после выклева) тип их пигментации, как и степень миграции глаза, закрепляются, т.е. являются необратимыми.

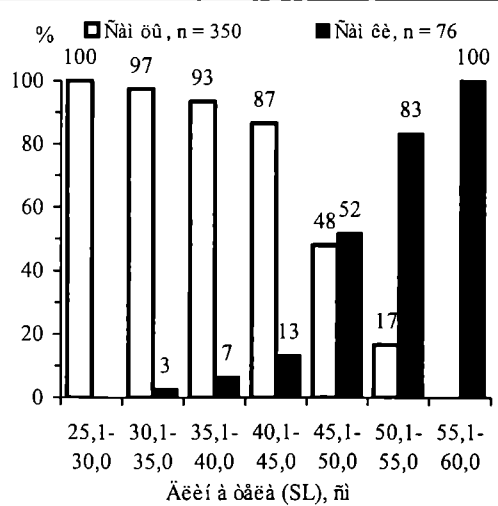


Рис. 2. Количественное соотношение самцов и самок в нерестовой популяции камбалы калкан в районе Севастополя в апреле-июне 2006 г.

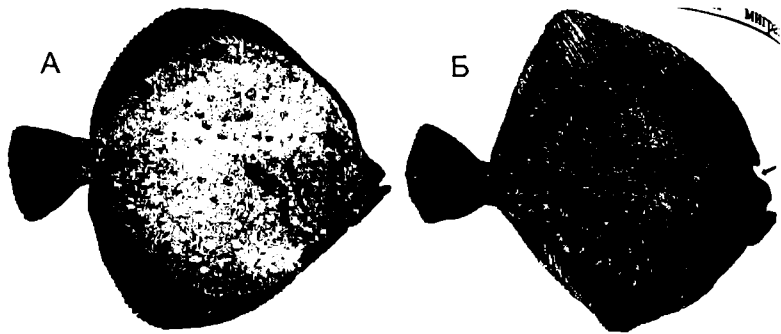


Рис. 3. Правая («слепая») сторона тела камбалы калкан с аномальной пигментацией и миграцией глаза. Стрелкой на рис. 3 Б обозначена аномалия миграции глаза, выемка между

глаза камбалообразных являются результатом несбалансированного питания личинок в начале метаморфоза.

Личинки калкана в период раннего метаморфоза обитают в пелагиали и питаются зоопланктоном. Можно предположить, что в природных условиях в апреле–мае 1999–2001 гг. планктонное сообщество находилось в состоянии депрессии, что и привело к увеличению доли аномальных особей в постметаморфозный период.

Результаты анализа материала, собранного в 2006 г., подтверждают сведения (Битюкова и др. 2005) о негативных изменениях в структуре нерестовой популяции камбалы калкан в районе юго-западного шельфа Крыма, происходящих в период с 1999 г. по настоящее время. Основными признаками ухудшения состояния нерестовой популяции калкана являются: снижение средних размеров и возраста особей, снижение относительного количества самок в уловах, увеличение количества особей с аномалиями пигментации и остификации.

Тот факт, что все мелкие особи в уловах 2006 г., включая трехлетних самок и четырех-пятилетних самок, были половозрелыми, свидетельствует о закреплении тенденции снижения возраста наступления половой зрелости и измельчания производителей. Популяция камбалы калкан последовательно подвергается искусственному (промысловому) отбору по этому признаку – отлавливаются в первую очередь быстрорастущие особи, что приводит не только к негативным временным структурным изменениям, но и к формированию устойчивого генотипа определяющего медленный рост особей. При этом сравнительно быстрое наступление половой зрелости не компенсирует измельчание самок и их низкую плодовитость, что соответственно, определяет и низкую скорость воспроизводства популяции. Стрессовому состоянию нерестовой популяции камбалы калкан способствует очевидно, не только перелов, но и изменения в экосистеме юго-западного шельфа Крыма, приведшие к изменениям в планктонном сообществе и, как следствие, к ухудшению кормовой базы личинок калкана в 1999–2001 гг. Вероятно, молодь калкана с крайними аномалиями пигментации (частичным отсутствием пигментации на правой стороне) и/или миграции глаза (задержкой правого глаза на профиле головы) наблюдаемые в экспериментальных условиях, элиминирует в природных условиях первую очередь. Очевидно, что из генераций с повышенной долей аномальных особей формируется сравнительно малочисленное пополнение популяции. В слу

закрепления такой тенденции следует ожидать ухудшения количественных и качественных показателей состояния нерестовой популяции калкана.

Очевидно, что без надлежащих мер по ограничению квотированного промысла и радикального пресечения браконьерского вылова в ближайшие годы может произойти снижение промыслового запаса камбалы калкан. С целью выявления связи аномалий морфологических характеристик (пигментация, миграция глаза и др.) калкана с экологическими условиями в период раннего онтогенеза необходимы дополнительные экспериментальные и полевые исследования и наблюдение за состоянием природной популяции камбалы калкан.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Попова В.П. Распределение камбалы в Черном море // Тр. ВНИРО. – 1954.-Т. 28-С.151-158.

Попова В.П. Некоторые особенности динамики жирности камбалы-калкана Черного и Азовского морей// Тр. ВНИРО. – 1969.-Вып. 26-С.69-79.

Современное состояние нерестовой популяции камбалы-калкан (*Psetta maeutica*) на юго-западном шельфе Крыма / Битюкова Ю.Е., Зуев Г.В., Данилюк О.Н., Болтачев А.Р., Ткаченко Н.К., Белоиваненко Т.Г., Владимирцев В.Б.// Проблемы и решения в современном рыбном хозяйстве на Азовском бассейне: Материалы Юбилейной научно-практической конференции, посвященной 30-летию основания в г. Бердянске рыбохозяйственной науки. – Мариуполь: Издательство «Рената», 2005. – С. 14-17.

Карпеткова М. Върху разпределението и миграциите на калкана по българското крайбрежие // Рибно стопанство. – 1964. -№ 7 (3)-С.18-22.

THE STRUCTURE AND PHENOTYPIC CHARACTERISTICS OF THE SPAWNING POPULATION OF PSETTA MAXIMA MAEOTICA AS INDEXES OF FISHERY ACTIVITY AND THE STATE OF ECOSYSTEM OF THE BLACK SEA.

Giragosov V.Ye., Khanaychenko A.N., Yelnikov D.V., Shishkina T.V.

Analysis of spawning population of the Black Sea turbot, *Psetta maxima maeotica*, based on the gill-net catches in 2006, revealed the drastic changes in the size-age population structure in Sevastopol region of the Ukrainian Black Sea coastal zone: decrease of the mean size and age at first maturity. Besides, the anomalies in pigmentation and eye migration were observed for the first time in 2.5% of the population of *P. maxima maeotica*, in the specimens of generations from 1999-2001. The abnormalities were assumed the result of unfavorable feeding conditions during the pelagic phase of development of the Black Sea turbot larvae, as a consequence of ecological changes and zooplankton abundance and composition in the same region.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МОЛОДИ КЕТЫ ОТ ЕСТЕСТВЕННОГО НЕРЕСТА И ПРИ ПОЛУЧЕНИИ И ПОДРАЩИВАНИИ НА ЛОСОСЕВЫХ РЫБОВОДНЫХ ЗАВОДАХ МАГАДАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Головин П.П., Головина Н.А., Романова Н.Н., * Изергина Е.Е.**

* ФГУП "Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного рыбного хозяйства", Россия, 141821, Московская обл., Дмитровский район, с/пос. Рыбное, тел. (495) 587-27-16, E-mail VNIPRH@mail.ru

** ФГУП "Магаданский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Россия, 685000, г. Магадан, ул. Портовая, 36/10, тел. (41322) 97-415
E-mail: magadanniro@magnir.ru

Искусственное воспроизводство тихоокеанских лососей – одно из важнейших направлений рыбохозяйственной деятельности дальневосточного региона России. Одним из основных объектов воспроизводства относится кета (*Oncorhynchus keta*, Wald).

Биотехника выращивания тихоокеанских лососей постоянно совершенствуется, направлена на получение жизнеспособной молоди, физиологическое состояние которой полностью соответствовало бы молоди от естественного нереста. Её качество зависит от ряда абиотических и биотических факторов, таких, как содержание кислорода в воде, плотность посадки, форма и размеры выростных бассейнов, рационов, режимов кормления. Однако определяющим фактором обычно является температура воды. Создание оптимального температурного режима позволяет сократить сроки инкубации икры и подращивания молоди в пресной воде, а также получать посадочный материал, значительно превосходящий по своим весовым и физиологическим характеристикам природные смолты.

Однако действующие рыболовные заводы, как правило, выпускают недостаточную жизнеспособную молодь кеты. В итоге промысловый возврат по кете обычно составляет 0,5% против 2% по нормативу, что негативно влияет на всю популяцию этого вида рыбы в целом (Валова, 1999).

Целью данной работы было провести сравнительную характеристику гематологических показателей молоди кеты от естественного нереста и при получении на рыболовных заводах.

Объектом исследования служила молодь кеты, полученная в условиях Арманского, Янского лососевых заводов (ЛРЗ) и Ольской экспериментальной производственной акклиматизационной базы (ЭПАБ), относящихся к ФГУП «Охотскрибвод». Рыба подращивалась на стартовом корме Sorpens (Голландия). Для сравнения использовали показатели крови дикой молоди, отловленной из лимана река Ола в местах с различной соленостью (от 0 до 20,6‰).

Работы проводили по общепринятым в ихтиогематологии методам исследования (Лабораторный практикум..., 1983). В число определяемых показателей крови были включены эритропоз и лейкоцитарная формула. Статистическую обработку полученных данных проводили на персональном компьютере по пакету прикладных программ Statistic.

На Ольской ЭПАБ гематологические исследования молоди кеты были проведены в середине июня 2006 г. Результаты показали незавершенность её физиологической перестройки в период полного перехода на внешнее питание. В крови отмечен сдвиг лейкоцитарной формулы в сторону нейтрофилов (табл. 1), что указывает на недостаточную сформированность иммунной системы. Вероятно, это связано с условиями водоснабжения ЭПАБ, которое осуществляется подрусловой водой температурой в зимний период и до конца апреля ниже или около 1°C, а в середине

температура не превышает 2,5°C. Все это значительно замедляет подъем личинок на плав и перевод их на внешнее питание, который еще продолжался в период первого исследования молоди кеты в середине июня. В результате понижается пищевая активность, и средняя масса молоди кеты в это время не превышала 300 мг. Биологический анализ молоди в тот период показал, что даже среди наиболее крупной группы кеты корм в большинстве был лишь у 60% рыб с наполнением до 40%.

На Арманский лососевый рыболовный завод, как и Ольская ЭПАБ, в период выращивания икры и раннего подращивания молоди использует подрусловую воду (глубина скважины до 20 м), температура которой к середине июня составляет только 2,5°C. Поэтому с середины июня на рыбзаводе подают речную воду с температурой 3,3-3,6°C. В лейкоцитарной формуле у подращиваемой молоди также отмечено преобладание нейтрофилов, хотя при переходе на внешнее питание кровь должна уже была приобрести лимфоидный характер.

Таблица 1. - Гематологические показатели молоди кеты, выращиваемой на ЛРЗ (июнь, 2006 г.)

Показатели	Арманский ЛРЗ	Янский ЛРЗ	Ольская ЭПАБ
Масса, мг	180	335	320
Эритропоэз, %:			
эритроциты	0,3 ±0,2	0,1±0,06	0,1± 0,04
базофильные эритроциты	1,0 ±0,6	3,7 ±1,8	2,6± 0,9
полицхроматофильныэритроциты	1,7±0,8	6,7±4,7	16,3±1,08
всего молодых эритроцитов	3,0± 1,2	10,5±6,5	19,0±1,7
Гемоглобины, %	0,3	0	1,0±0,6
Миелоциты, %	2,0±1,1	0	7,0±0,6
Промиеоциты, %	0,8±0,5	1	0
Нейтрофилы, %	51,5±11,1	7	49,0± 4,7
Моноциты, %	2,5±0,5	1	4,3 ±2,3
Лимфоциты, %	43,0±11,5	91	38,3± 2,9

Янский ЛРЗ отличается от двух первых по условиям водообеспечения. Этот завод находится на артезианской воде с круглогодичной температурой 4-5°C, а также располагает возможностью подачи летом в рыболовные бассейны более теплой воды непосредственно из реки, что позволяет оптимизировать температурный режим как для выращивания икры, так и для подращивания молоди рыб. Результаты гематологического анализа кеты, подращиваемой на Янском ЛРЗ, показали, что молодь активно готовится к севу. Количество молодых эритроцитов составляло 10,5% (табл. 1), что свидетельствует о задержке эритропоэза в связи изменением в организме водно-солевого баланса. Белая кровь приобрела уже лимфоидный характер - число лимфоцитов составляло 91%.

Оценка гематологических показателей дикой молоди кеты (средней массой 0,6 г) из водоема реки Ола показала, что достоверных отличий между молодью из воды с различной соленостью не отмечено (табл. 2). У рыб всех групп наблюдается активно протекающий эритропоэз, а белая кровь уже имеет выраженный лимфоидный характер. Это указывает на то, что молодь перешла на активное экзотенное питание.

Сравнительная характеристика гематологических показателей подращиваемой молоди кеты на ЛРЗ показала, что рыбы с Янского завода имеют наиболее высокие показатели физиологического состояния перед выпуском в реку. На Арманском ЛРЗ и

Ольской ЭПАБ у молоди отмечена незавершенность физиологической адаптации организма к периоду перехода на внешнее питание, что связано с неблагоприятным температурным режимом на этих предприятиях. Результатом выпуска такой молоди будет низкий процент выживаемости в условиях естественной среды, поэтому необходимо доращивать молодь при более благоприятном температурном режиме.

Таблица 2. – Гематологические показатели дикой молоди кеты, обитающей в лимане реки Ола при различной солености воды (июль, 2006 г.)

Показатели	Место отбора проб; соленость воды		
	станция «г. 019» устье реки; 0‰	станция «Протока»*; 13,4‰	станция «Остров»; 20,6‰
Эритропоз, %:			
эритробласты	0,06 ± 0,02	0,05 ± 0,02	0,09 ± 0,03
+ нормобласты	0 - 0,3	0-0,2	0-0,5
базофильные эритроциты	9,9 ± 1,6	6,9 ± 0,9	7,5 ± 0,9
полихроматофильные эритроциты	0,2-19,3	0,5-11,7	1,2-12
	22,6 ± 1,9	24,4 ± 1,9	19,6 ± 1,5
	5-38,9	1,2-37,2	8,5-29,2
всего молодых эритроцитов	32,5 ± 2,8	31,3 ± 2,1	27,1 ± 1,8
	5,2-44,5	1,7-42,2	14,6-37,2
Лейкоцитарная формула, %:			
нейтрофилы	7,0 ± 3,8	6,4 ± 1,7	10,4 ± 1,1
	2-26	1-13	3-24
моноциты	2,8 ± 0,95	0,6 ± 0,2	1,1 ± 0,3
	0-6	0-1	0-3
лимфоциты	89,8 ± 3,5	93,0 ± 1,8	88,5 ± 1,9
	74-97	86-99	73-95

Примечание:

- * переменная соленость от 0 до 14‰, в момент отбора проб составила 13,4‰;
- над чертой среднее значение ± статистическая ошибка, под чертой разброс показателей

Таблица 3 - Встречаемость внутриэритроцитарных включений у молоди кеты.

Место сбора материала	СЭТВ	ВНЭ
Молодь, подращиваемая на ЛРЗ		
Арманский	0	40
Янский	0	33
Ольская ЭПАБ	25	75
Дикая молодь из лимана р. Ола		
- станция «Остров» (20,6‰);	0	64
- станция «г. 019» устье реки (0‰);	0	71
- станция «Протока» (0-13,4‰)	0	76

При исследовании мазков крови у молоди кеты были отмечены порции эритроцитов тельцами-включениями - возбудителями вирусного некроза эритроцитов (ВНЭ, Viral erythrocytic necrosis) и синдром внутриэритроцитарных телец включения (СЭТВ, Erythrocytic inclusion body syndrome) (табл. 3). В последнее время заболевания приобрели массовый характер для лососевых, но значительного ущерба на состояние здоровья рыб не оказывают, так как протекают в легкой форме.

всего были поражена молодь на Янском и Арманском ЛРЗ, где у сеголетков кеты выявлялись включения только по типу ВНЭ. На ЭПАБ отмечено носительство возбуждителей обоих заболеваний.

У дикой молоди кеты был обнаружен только ВНЭ. Процент пораженных особей составил от 64 до 76 (табл. 3). Наименьшая доля эритроцитов (0,1-0,2%) с включениями отмечена у рыб, отловленных на станции «Остров» при солености 20,6‰. Тельца в эритроцитах (рис.) имели более крупные размеры, чем у молоди с ЛРЗ.

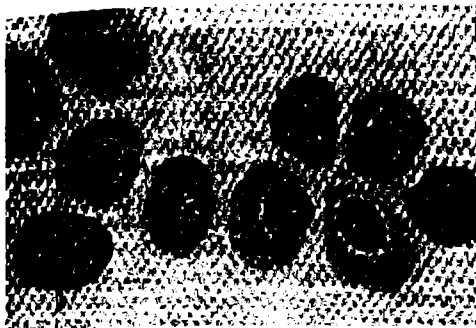


Рис. – Эритроциты, пораженные ВЭН, у молоди дикой кеты.

ЛИТЕРАТУРА

Валова В.Н. Проблема качественной оценки заводских популяций тихоокеанских лососей // Вопросы взаимодействия естественных и искусственных популяций лососей / Сб. науч. тр. – Хабаровск, 1999. – С. 107-110.

Лабораторный практикум по болезням рыб // Мусселиус В.А., Ванятинский В.Ф., Васильев А.А. и др. / Под ред. В.А. Мусселиус. М.: Легкая и пищ. пром-сть, 1983. – 269 с.

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF HEMATOLOGIC INDICES FOR CALICO SALMON FROM THE NATURAL SPAWNING AND AT ITS HATCHING AND REARING IN SALMON FISHCULTURAL PLANTS OF THE MAGADAN AREA

P.P. Golovin, N.A. Golovina, N.N. Romanova, E.E. Izergina

The hematological analysis of calico salmon fry in three salmon fishcultural plants of the Magadan area has been carried out. The quality and weight of young fish produced depend on a number of factors, but water temperature seems to be the most important one. For comparison, the blood indices of wild young fish caught in the estuary of the Ola River from the sites of different salinity were used. As a result, it was found that only the fry from Yansk plant possessed the most optimum physiological condition before being released into the river. It has been noted that fry from the Armansk salmon fishcultural plant and from the Olsk experimental-production acclimatization base had an incompleting physiological organism's change at the beginning external feeding which was caused by low water temperatures at these enterprises.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ
СИГА-ПЫЖЬЯНА В ПРЕДНЕРЕСТОВЫЙ ПЕРИОД В РЕКЕ КЕТА-ИРЬЗ
(НОРИЛО-ПЯСИНСКАЯ СИСТЕМА ОЗЕР)

Головин П.П., Головина Н.А., Романова Н.Н., * Юдина Н.А. **

* ФГУП "Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного
рыбного хозяйства", Россия, 141821, Московская обл., Дмитровский район, пос.
Рыбное, тел. (495) 587-27-16, E-mail VNIPRH@mail.ru

** Норильский рыбоводно-инкубационный завод, 663330, г. Норильск, а/я 128

В связи с возрастающей антропогенной нагрузкой на речные экосистемы (загрязнение, промысел и др.) нарушается структура популяций рыб, снижается воспроизводительная способность (Михайличенко, 1996). В настоящее время поднимается вопрос о физиологическом состоянии производителей, участвующих в нересте, особенно особей, которых используют для отбора половых продуктов в искусственном воспроизводстве. От качества получаемой икры зависит в дальнейшем выход личинок после инкубации и жизнеспособность будущего поколения.

На протяжении уже нескольких лет выход личинок сига-пыжьяна из икры на сигово-лососевом Норильском рыбоводно-инкубационном заводе (НРИЗ) «Енисейрыбвода» не превышает 30%, а их выживаемость при последующем подрощивании – 40-50%. Завод расположен в зоне крупного промышленного комплекса - Норильского горно-металлургического комбината, который даже в использовании современных технологий производит выброс в атмосферу огромного количества загрязнителей. Чтобы исключить наложение негативного фактора на физиологическое состояние преднерестовых сигов, мы провели комплекс исследований, который включал оценку морфологических характеристик и показателей крови. Эти параметры являются одними из важнейших тестов, характеризующих качественный состав особей в популяции, кроме того, изменение гематологических показателей важно для оценки степени воздействия как отдельных экологических факторов, так и их комплекса.

Материал отбирали на протяжении трех лет (2004-2006 гг.) от производителей сига-пыжьяна (*Coregonus lavaretus pidschian*), которых отлавливали в реке Кета-Ирбз для НРИЗ. Отлов рыб осуществляли в период их массового хода на нерест – с середины сентября при температуре воды 5-6°C. Производителей сортировали по полу и рассаживали в отдельные русловые садки на 1-2 недели для созревания.

Из заготовленных рыб в 2006 г. для биологического анализа было взято 63 экземпляра (31 самка и 30 самцов). Из морфобиологических параметров определяли: массу рыбы, длину (по Смитту), коэффициент упитанности (по Фультону), массу по абсолютную и относительную плодовитость. Оценку физиологического состояния проводили по гематологическим показателям: концентрации гемоглобина, общему числу эритроцитов, количеству лейкоцитов и лейкоцитарной формуле. В работе использованы общепринятые в ихтиогематологии методы исследований (Лабораторный практикум....., 1983). Статистическую обработку полученных данных проводили на персональном компьютере по пакету прикладных программ Statistic.

Возрастная структура производителей сига-пыжьяна из реки Кета-Ирбз представлена самками 7+ - 14+ (более 70% - особи 8+-10+) и самцами 6+-10+ (более 90% - особи 7+-9+).

Самки сига-пыжьяна имели массу от 575 до 1800 г (в среднем – 770 г), коэффициент упитанности – 1,32. Абсолютная масса гонад достигала 420 г (в среднем – 169,3 г) и составляла 16-22% от общей массы рыб. Размер икринок (до оплодотворения) у самок в возрасте 10+ был около 3 мм и масса их составляла 12,0-13,2 мг. Абсолютная

плодовитость колебалась в широком диапазоне - от 6,7 до 32 тыс. икринок, относительная - от 11 до 19,2 шт./г массы самки. В сравнении с 2005 г. биологические показатели оказались выше.

Самцы сига-пыжьяна были представлены в основном особями в возрасте от 7+ до 9+. Этот факт подтверждает более раннее созревание самцов и их участие в нересте по сравнению с самками. Размеры самцов в преднерестовом состоянии оказались заметно меньше, чем у самок. Их средняя масса составила 554 г при индивидуальном разбросе от 435 до 730 г, коэффициент упитанности в пределах 1,2-1,26.

Оценка физиологического состояния производителей сига – пыжьяна показала, что у них достаточно высокие показатели красной крови (величина гемоглобина 90-103 г/л и число эритроцитов 942-961 тыс./мкл.). Эти величины оказались сопоставимы с таковыми в 2004-2005 гг. (табл. 1) и были несколько ниже физиологической нормы (рис.). При этом у самок отмечена более низкая обеспеченность организма гемоглобином в нерестовый период (табл. 2). Это является характерной физиологической особенностью производителей, т.к. у самок значительно больший расход питательных веществ идет на формирование гонад, что также подтверждается данными и других исследователей (Лугаськова, 2003).

Таблица 1. Гематологические показатели производителей сига-пыжьяна (сентябрь 2004-2006 гг.)

Показатели	2006 г.	2005 г.	2004 г.
Гемоглобин, г/л	96±3,4	108±8,0 *	92,5±6
		76-122	76-110
Эритроциты, тыс./мкл	951±4,0	742±21	786,0±3,1
		440-1095	540-1119
Молодые эритроциты, %	2,28±0,5	2,0±1,2	6,53±0,4
		2,0-8,0	2,0-28,0
Лейкоциты, шт./мкл	10600±210	3142±42	4149 ± 43
		1520-12990	650 – 13620
Нейтрофилы, % шт./мкл	41,2±4,1	35,3 ± 1,3	17,5 ± 0,8
		30-60	10, 0 – 50
Моноциты, % шт./мкл	7,3±0,9	1108±234	726 ± 21
		1740-4566	65 – 4590
Лимфоциты, % шт./мкл	51,4±4,6	10,2 ± 0,7	21,0 ± 1,7
		2-30	2,0 – 40,0
	5448±480	314 ± 79	871 ± 48
		540-1209	65 – 2310
		52,8 ± 3,8	61,5±0,3
		33-75	40,0-83,0
		1658 ± 178	2552±134
		945-6005	396-4911

Примечание: *) -над чертой - ср. значние, под чертой - разброс значений показателя.

Общее число лейкоцитов у производителей в 2006 г. составило 10,6 тыс. шт./мкл и оказалось выше, чем в 2004 и 2005 гг. (в 2,5 и 3,5 раза соответственно). Возможно, это связано с аномально повышенной температурой воды в реке и озере и, как следствие, более высокой пищевой активностью рыб (питание и заполнение кишечника у рыб было заметно выше, чем в прошлые годы) и высоким уровнем обмена веществ в организме.

Таблица 2. - Рыбоводно-физиологические показатели самцов и самок сига-
пыжьяна из реки Кета-Ирбэ

Показатели	Самцы	Самки
Масса, г	548,8+16,8 (410-705)	693,9+25,2 (495-960)
Гемоглобин, г/л	103,0+6,0 (65-130)	90+2,7 (78-106)
Эритроциты, млн/мкл	0,942+0,06 (0,560-1,16)	0,961+0,06 (0,660-1,460)
Эритропоз, %:		
базофильные эритроциты	0,14+0,1 (0-0,8)	0,04+0,02 (0-0,2)
полихроматофильные эритроциты	3,5+0,7 (1,2-6,2)	1,2+0,59 (0-4,8)
всего молодых эритроцитов	3,6+0,7 (1,2-6,4)	1,2+0,61 (0-5,0)
Лейкоциты, тыс./мкл	10,2+3,0 (1,72-29,1)	11,0+3,0 (2,02-28,1)
Мислобласти, %	0	0,38
Нейтрофилы, %	38,7+6,5 (5-57)	43,7+5,2 (24-64)
-//-/-, тыс./мкл	3,9	4,8
Моноциты, %	7,1+1,6 (1-14)	7,4+0,92 (4-10)
-//-/-, тыс./мкл	0,724	0,814
Лимфоциты, %	54,3+7,7 (34-94)	48,4+5,3 (26-68)
-//-/-, тыс./мкл	5,539	5,324
Эритроцитарные включения:		
мелкие	у 62,5% рыб	у 50% рыб
крупные	у 25% рыб	у 8,3% рыб

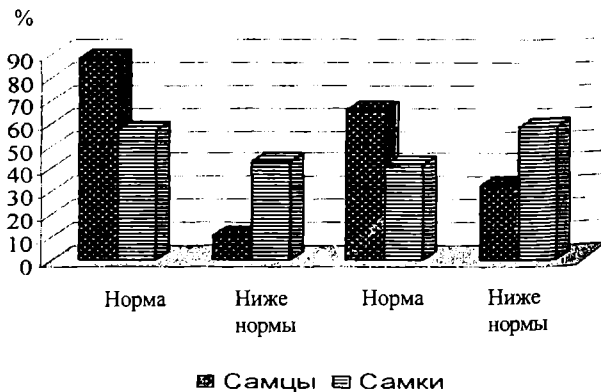


Рис. Соотношение физиологически полноценных и ослабленных производителей сига-
пыжьяна по гематологическим показателям (2006 г.)

В целом морфология клеток крови не имела выраженных патологических изменений. Следует только отметить наличие в эритроцитах крупных и мелких внутриклеточных включений. Особенно часто встречаются мелкие включения (у 61 % рыб с поражением от 15 до 100% эритроцитов). Точная этиология таких включений устанавливается при электронно-микроскопических исследованиях, но по морфологии они напоминают вирусные тельца включения. Их появление в эритроцитах связывают с часто протекающей вирусной инфекцией синдром внутриэритроцитарных телец включений СЭТВ (Erythrocytic inclusion body syndrome, EIBS), имеющей место у многих лососевых рыб.

ЛИТЕРАТУРА

- Лабораторный практикум по болезням рыб // Мусселиус В.А., Ванятинский В.Ф., Вихман А.А. и др. / Под ред. В.А. Мусселиус. - М.: Легкая и пищ. пром-сть, 1983. - 269 с.
- Михайличенко Л.В. Биологический анализ и состояние репродуктивной системы сига-пыжьяна *Coregonus lavaretus pidschian* реки Войкар (бассейн Оби) во время нерестовой миграции // Вопросы ихтиологии. - 1996. Т. 36, №6. - С. 817-820.
- Лугаськова Н.В. Эколого-физиологические особенности крови сиговых рыб в период нагула в субарктической зоне бассейна реки Оби // Вопросы ихтиологии. - 2003. Т. 43, №6. - С. 835-841.

MORPHOPHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF POLLAN BREEDERS IN THE PRE-SPAWNING PERIOD ON THE KETA-IRBE RIVER (NORIL-PYASINSK LAKE SYSTEM)

P.P. Golovin, N.A. Golovina, N.N. Romanova, N.A. Yudina

Morphophysiological and hematological investigations of pollan (*Coregonus lavaretus pidschian*) breeders in the pre-spawning period have been carried out. The age structure of breeders from the Keta-Irbe River was presented by 7+ to 14+ aged females and 6+ to 10+ aged males. As the result of the investigations, fish weight, length (after Smith), coefficient of fatness (after Fulton), gonads weight, absolute and relative fecundity were determined. The evaluation of the physiological state for pollan breeders showed sufficiently high indices of red blood, but they were a little lower than physiologically normal ones. A total leukocyte number turned to be high enough what could be dependent on a good feeding activity of fish as well as on a high lever of metabolism in fish organism.

ОЦЕНКА УСЛОВИЙ ОБИТАНИЯ АРКТИЧЕСКОГО ГОЛЬЦА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ СТОКОВ АПАТИТОВЫХ РУДНИКОВ

Д.Б. Денисов, П.М. Терентьев, Н.А. Кашулин

Институт проблем промышленной экологии Севера КНЦ РАН, Апатиты, Россия
e-mail: denisow@inep.ksc.ru

В настоящее время большое внимание уделяется исследованию экологии водоемов, длительное время находящихся под влиянием неблагоприятных факторов. Высокий интерес вызывают проблемы антропогенного воздействия на структуру функционирования основных звеньев водной экосистемы.

Оз. Большой Вудъявр (Хибинский горный массив, Кольский полуостров) расположено в месте интенсивной добычи и переработки апатитового сырья, и с 70 лет находится под воздействием целого комплекса неблагоприятных факторов, включая промышленное загрязнение стоками рудников и обогатительной фабрики, нарушение ландшафтов территории водосбора, изменение береговой линии и в настоящее время на его берегах расположен г. Кировск, промышленные сооружения, транспортные и другие коммуникации. По результатам исследований 1930 г. в озере обитало 6 видов рыб, включая *Salmo trutta*, *Salvelinus alpinus*, *Coregonus lavaretus*, *Thymallus thymallus*, *Lota lota* и *Pingitius pungitius* (Материалы, 1940). В последующие годы исследований рыбной фауны водоема не проводилось, в настоящее время считается, что единственным обитателем озера является *P. pungitius*.

В рамках комплексных исследований ИППЭС КНЦ РАН водоемов Хибинского полуострова проведена палеоэкологическая реконструкция развития озера методом диагонального анализа донных отложений, выявившая полную структурно-функциональную перестройку экосистемы оз. Б.Вудъявр в связи с длительным интенсивным загрязнением; было показано, что закрытие в 1992 г. обогатительной фабрики АНОС на берегу озера не привело к улучшению состояния водоема (Денисов и др., 2006). В ходе исследования современного состояния озера были проведены ихтиологические исследования, которые позволили установить, что в водоеме обитает популяция арктического гольца *S. alpinus*, со значительными для горного субарктического водоема размерами отдельных особей. Данный вид рыб обитает в олиготрофных водах с высоким содержанием кислорода и является чувствительным к загрязнению. Этот факт заставляет по-новому взглянуть на современное состояние водоема и требует детальных исследований с привлечением новой информации.

Целью настоящей работы явилось: оценить состояние экосистемы оз. Б.Вудъявр как места обитания *S. alpinus*. Для реализации поставленной цели анализировались данные о состоянии первого трофического звена, включая количественные и качественные пробы фитопланктона и перифитона, содержание в воде хлорофиллов и гидрохимические данные.

Материалом для анализа послужили пробы воды, отобранные в период с 2006 г. Отбор проб производился в различных частях водоема: на стоке для получения интегральной характеристики, в центре и по периферии водоема, включая место поступления рудничных вод – отстойник (рис. 1). В качестве реперного водоема для проведения сравнительного анализа было выбрано оз. Малый Вудъявр. Характеризующееся фоновыми гидрохимическими характеристиками (табл. 2). Помимо проб для изучения содержания хлорофиллов и видового состава водорослей параллельно отбирались пробы для гидрохимического анализа. Отбор в летние месяцы проводился еженедельно, в июле 2006 – ежедневно. Камеральная обработка проб (объемом 1 л.) для определения концентрации хлорофиллов проводилась по методу

описанной ранее (Шаров, 2004). Концентрация хлорофиллов рассчитывалась по формуле Джеффри и Хамфри (Jeffrey, Humphrey, 1975). Для оценки биомассы фитопланктона на основе концентрации хлорофилла «а», была использована формула $B_{chl-a} = 302.6 \cdot a^{1.26}$ (Шаров, 2004). Полученные результаты сопоставлялись с данными гидрохимического анализа, выполненного в химико-аналитической лаборатории ИПХС КНЦ РАН. Для оценки обилия видов была использована шкала частоты встречаемости (Барина, Медведев, 1996).

Таксономическая идентификация видового состава была проведена с использованием определителей (Диаомовые водоросли, 1974; Определитель..., 1982; Tikkanen, 1986; Барина, Медведев, 1996). Для выделения факторов, определяющих развитие сообществ фитопланктона оз. Бол. Вудъявр был применен факторный анализ с использованием программы Statistica 7.0.



Рис. 1. Карта-схема изучаемых водосмов: точки отбора проб воды и места отлова рыбы, основные зоны акватории оз. Б. Вудъявр, выделенные в результате анализа I – зона отстойника рудничных вод, II – загрязняемая зона, III – «условно чистая» зона, VI – зона смешивания вод.

Некоторые гидрохимические показатели различных зон акватории оз. Б. Вудъявр.

Таблица 1.

	pH	Щелочность, (мек/л)	P(общ) мгP/л	N(общ.) мгN/л	Ca(мг/л)	SO ₄ (мг/л)
I	8.25	851	1520	3974	4.17	22.1
II	8.21	763	790	3588	4.46	19.8
III	7.57	750	597	2687	4.0	15.5
VI	8.0	744	726	3129	4.23	19.0

На основе гидрохимических данных было выполнено зонирование акватории водоема, в ходе которого выделено 4 зоны (рис. 1, табл. 1). Зона I – отстойник рудничных вод, образованный отделением части акватории водоема дамбой,

характеризуется повышенными значениями фосфора, азота, pH, щелочностью. Зона II – была определена, как загрязняемая зона водоема: концентрация загрязнителей определяется недостаточно эффективным функционированием отстаивателя. Локализация загрязняющих веществ в этой части водоема определяется в летние месяцы эту зону можно определить визуально по цвету воды четкой границей. Зона III - «условно чистая» представляет собой часть водоема с наиболее низкими по водоему средними концентрациями загрязнителей. Гидрохимические показатели этой части озера во многом определяются влиянием Вудъяврйок с фоновыми гидрохимическими показателями (табл. 2). Зона VI – представляет смешивания вод, где были получены интегральные гидрохимические показатели (табл. 1). Таким образом, эта зона наиболее предпочтительна для отбора проб для получения средних по водоему значений. Во многом сходные результаты были получены сотрудниками МГУ (Анисимова и др., 2006). Границы зон меняются в зависимости от картины течений и направления и силы ветра.

Таблица 2
Некоторые гидрохимические показатели оз. М. Вудъявр и рек, питающих оз. Б. Вудъявр (средние значения за 2005-2006 гг.)

	pH	Щелочность, (μeq/l)	P(общ) мгP/л	N(общ.) мгN/л	Ca(мг/л)	SO ₄ (мг/л)
М.Вудъявр	7.17	240.9	5.2	148.43	0.72	1.76
р. Саамка	8.27	1038	1903	7014	9.74	35.5
р. Юкспоррйок	8.42	2126	2087	13110	14.74	94.8
р. Вудъяврйок	7.49	322	3	47	1.05	1.9

В водоемах доминирующими по числу видов, общему обилию и уровню биомассы являются диатомовые водоросли. Наибольшее число видов обнаружено в оз. Вудъявр. Уровень биомассы оз. Бол. Вудъявр в десятки раз превосходит фоновые значения оз. М.Вудъявр (рис. 2). Показано, что к концу лета преобладают диатомовыми, увеличивается доля в общем обилии зеленых водорослей, для которых большое значение имеет достаточно высокая температура воды и продолжительный фотопериод.

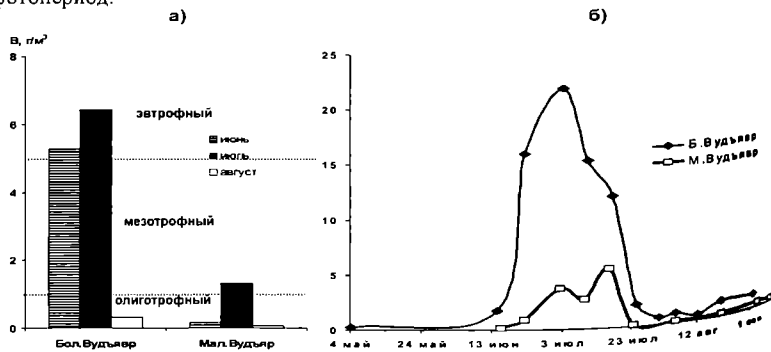


Рис. 2. а) - среднесуточная биомасса; б) - сезонная динамика хлорофилла «а».

В оз. Б.Вудъявр основу обилия водорослей составляли индифферентные, различным факторам космополитные виды, обладающие высокой устойчивостью.

органическому загрязнению, кроме того, развивались водоросли, характерные для эвтрофных вод умеренной зоны.

Среднее содержание хлорофиллов в оз. М. Вудъявр находится в пределах фоновых значений, в то время как для оз. Б. Вудъявр характерны экстремально высокие значения содержания хлорофиллов «а» и «b», связанные с массовым развитием водорослей (рис. 2). На основе соотношения содержания хлорофиллов «с» и «а» была проведена оценка процессов эвтрофирования изучаемых водоемов, подтверждающих развитие процессов эвтрофирования оз. Б. Вудъявр. Сезонные изменения содержания хлорофилла «а» характеризуются одним ярко выраженным максимумом, приходящимся на конец июня-июль.

Определяющее значение для развития водорослевых сообществ имеет комплекс метеорологических факторов, кратковременное изменение которых может повлечь за собой изменения видового состава, концентрации хлорофиллов, уровня биомассы, а также изменить время наступления массового развития водорослей. Большое значение имеет также комплекс гидрохимических условий водной среды. Путем факторного анализа были выделены руководящие факторы, включающие комплекс гидрохимических параметров, определяющие динамику развития сообществ водорослей в водоеме. Один из факторов – градиент рН, связанный с концентрацией Si – необходимого элемента для развития доминирующих диатомовых водорослей. Второй фактор определяет динамику и преобразование органического вещества в экосистеме водоема и тесно связан с количеством доступных для водорослей биогенных элементов, в частности, фосфатов.

Трофический статус водоемов определяется уровнем загрязнения биогенными элементами. На основе видового состава водорослевых сообществ, уровня биомассы и содержания хлорофилла «а» оз. Бол. Вудъявр можно определить как мезотрофный водоем с признаками эвтрофного, оз. Мал. Вудъявр – олиготрофный. Эти данные совпадают с полученными сотрудниками МГУ (Анисимова и др., 2006), где оз. Б. Вудъявр характеризуется олиготрофными условиями.

Высокий уровень биомассы водорослей планктона и перифитона в оз. Б. Вудъявр обеспечивает развитие последующих трофических уровней, в том числе и основных пищевых объектов *S. alpinus*. Этим объясняются достоверно более крупные размеры рыб по сравнению с оз. М. Вудъявр.

Показатели	Б. Вудъявр	М. Вудъявр
Масса, г	200±14	50±3
Длина, см	23.3±0.6	15.2±0.2

В ходе анализа не было выявлено патологий развития рыб, а также повышенного содержания элементов-загрязнителей в органах и тканях. Полученные результаты позволяют предположить, что основная масса популяции *S. alpinus* сосредоточена в пределах зоны III, как наиболее чистой. Таким образом, несмотря на интенсивное загрязнение апатитовыми стоками, условия обитания *S. alpinus* в оз. Б. Вудъявр можно считать удовлетворительными. Состояние рыб определяется обилием кормовых объектов и постоянным поступлением незагрязняемых вод с током р. Вудъявр. Кроме того, численность популяции гольца оз. Б. Вудъявр, вероятно, поддерживается за счет мигрантов из оз. М. Вудъявр. Необходимы дальнейшие исследования процессов миграции рыб, а также иктиологическое обследование других участков водоема.

ЛИТЕРАТУРА

1. Оценка гидроэкологического состояния водных объектов Хибинского полуострова. МГУ./Анисимова Л.А., Ефимов Л.Е., Тананаев Н.И./«Современные экологические проблемы Севера (к 100-летию со дня рождения О.И. Семенова-Тян-Шанского). Материалы международной конференции (Апатиты 10-12 ноября 2006). Апатиты: Изд. Кольского научного центра РАН, 2006. С. 140-142.
2. Баринаева, С.С., Медведева, Л.А., Анисимова, О.В. Биоразнообразие водорослей индикаторов окружающей среды. - Тель Авив, PiliesStudio, 2006. - 498 стр.
3. Диатомовые водоросли СССР. Л., 1974. -Т.1. - 403 с.
4. Долговременные изменения состояния субарктических водоемов в условиях антропогенной нагрузки (по данным диатомового анализа)/Денюков В.А., Даувальтер В.А., Кашулин Н.А., Каган Л.Я. // Биология внутренних вод. - № 1. - С. 24-30.
5. Материалы к изучению вод Кольского пол-ва. Собрание 1. издательство Академии наук СССР. Кольская Научно-исследовательская база. Архив КНЦ РАН. 1940 г.
6. Определитель пресноводных водорослей СССР. Выпуск 11(2) «Синезеленые водоросли». Л.: Наука, 1982. - 620 с.
7. Трифонова И.С. Экология и сукцессия озерного фитопланктона. Л., 1990. -164 с.
8. Шаров А.Н. Фитопланктон водоемов Кольского полуострова. Петрозаводск: Карельский НЦ РАН, 2004. -113 с.
9. Экология городского водоема. /М.Ц. Итигилова, А.П. Чечель, Л.В. Замана и др. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 1998. - 260 с.
10. Jeffrey W., Humphrey G. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c and O₂ in higher plants, algae and natural phytoplankton // *Biochim. Biophys. Acta*. 1975. Vol. 167. P. 191-194.
11. Tikkanen T. Kasviplanktonopas. Suomen Luonnonsuojelun Tuki Oy. Helsinki, 1986. 77 с.

ESTIMATION OF *SALVELINUS ALPINUS* HABITAT UNDER THE APATITE MINING SEWERS IMPACT

The complex analyses of the ecosystem of Bolshoy Vud'yavr Lake was made to estimate the *alpinus* habitat under the apatite mining sewers impact. The season dynamic of chlorophyll concentrations, phytoplankton species composition and hydrochemical parameters are demonstrate eutrophication processes in the Lake. Based on hydrochemical parameters 4 zones were single out within the area of a Lake water. The current state of the *S. alpinus* population was mark as satisfactorily because of good forage reserve and specific conditions in the Lake near the fresh water estuary.

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОКАТНЫХ ЛИЧИНОК БАЙКАЛЬСКОГО ОМУЛЯ (рр. СЕЛЕНГА, БОЛЬШАЯ РЕЧКА)

Е.Г. Екимова¹, А.В. Базов¹, Н.В. Базова²

¹ - ОАО Восточносибирский центр рыбного хозяйства, Улан-Удэ, Россия

² - Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ, Россия
e-mail: selengan@yandex.ru

Байкальский омуль - основной промысловый вид в оз. Байкал. Для поддержания численности омуля успешно разводится на рыбопроизводных заводах: Большереченском (р. Большая Речка), Селенгинском экспериментальном (р. Селенга) и Баргузинском (р. Баргузин). Завершающий этап инкубации икры - выпуск покатной молоди в естественные водоемы. Для обеспечения эффективной деятельности рыбоводных заводов необходимо наблюдение за состоянием заводской молоди в природной среде. Цель настоящей работы - представить морфометрическую характеристику покатных личинок омуля, полученных при естественном и искусственном нересте.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА.

Лов личинок, скатывающихся с естественных нерестилищ р. Селенга, осуществлен в период покатной миграции 14 апреля - 25 апреля (середина ската) - 04 мая 2000 г. на 120 км от устья (с. Бурдуково, естественные личинки (ЕС)).

Лов личинок из смешанной покатной миграции в р. Селенга произведен 14-17 апреля - 03-08 мая 1999, 2000 и 2003 гг. на 35 км от устья (с. Колосово, смешанные личинки (СМ)). Середина ската отмечена 27, 26, 24 апреля соответственно по годам. Для лова личинок использована сеть Раса, площадью входного отверстия 0,264 м².

Искусственно инкубированные личинки отобраны в период выклева на Селенгинском экспериментальном рыбоводном заводе (с. Татаурово, 113 км от устья р. Селенга, личинки СЭРЗ) 15 апреля - 28 апреля (середина выклева) - 11 мая 1999 г., а также на Большереченском рыбоводном заводе 09 мая - 19 мая (середина выклева) - 28 мая 1999 гг. (25 км от устья р. Большая Речка, личинки БРЗ). В измерениях личинок использовали схему Н.О. Ланге и Е.Н. Дмитриевой (1981) с некоторым сокращением числа исследуемых признаков (перечень последних см. в табл. 1). Личинок измеряли с помощью окуляра-микрометра под биноклем МБС-10 и взвешивали на торсионных весах (ВТ). Всего промерено 70 - 201 - 75 - 75 экз. личинок ЕС, СМ, СЭРЗ, БРЗ, соответственно. Этапы развития личинок даны по Ж.А. Черняеву (1968). Статистическая обработка выполнена с помощью программы Statistica 6. Для сравнения морфометрических признаков личинок использован непараметрический тест (the Kruskal-Wallis ANOVA Test).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.

Личинки ЕС в начале ската встречались на этапе предличинки (УШ этап). В это время они имели большой желточный мешок, были слабо пигментированы и отличались от заводской молоди меньшей длиной тела. Сравнение морфометрических показателей личинок ЕС в начале и конце ската в 2000 г. не выявило значимых различий практически по всем параметрам ($p > 0,05$) за исключением длины желточного мешка ($t_g, p = 0,023$). Наиболее изменчивый признак у этих личинок - длина рыла, наименее изменчивые - длина тела и головы (табл. 1).

Личинки СМ в начале ската находились на IX-X этапе. У этих личинок от начала и концу ската 1999 г. все параметры тела (пластические признаки) значительно отличались ($p < 0,05$): отмечено увеличение длины тела (L), головы (L_c), рыла (r), нижней челюсти (m), длины до заднего края глаза (r₀), зафиксирован также рост массы тела (W). Напротив, уменьшилась наибольшая высота тела (H). В конце ската личинки имели рассосавшийся желточный мешок с сохранением жировой капли (XI этап, табл.

1). В последующие годы у личинок СМ наблюдались те же изменения в параметрах тела за исключением недостоверных различий по L_c , m , $г$, $г_0$ в 2000 г. и по $г_0$, lg - в 2002 г.

Морфометрические характеристики личинок байкальского омуля разного происхождения в начале и конце ската (апрель-май 1999-2000 гг.)

Параметры тела, мм	Личинка с естественных нерестилищ (ЕС) 2000 г.						уровень значимости (p)
	начало ската (n=20)			конец ската (n=25)			
L	11,39±0,10 (10,5-12,20)	0,43	3,8	11,36±0,11 (10,20-12,60)	0,55	4,8	0,894
H	1,98±0,03 (1,75-2,20)	0,12	6,1	1,94±0,02 (1,75-2,25)	0,12	6,2	0,134
г	0,38±0,02 (0,15-0,50)	0,10	26,3	0,35±0,02 (0,20-0,50)	0,09	25,7	0,502
г ₀	1,20±0,02 (1,00-1,35)	0,09	7,5	1,18±0,02 (1,00-1,35)	0,10	8,5	0,371
L _c	1,99±0,01 (1,90-2,10)	0,05	2,5	1,95±0,01 (1,80-2,05)	0,07	3,6	0,769
m	1,24±0,02 (1,05-1,40)	0,10	8,1	1,30±0,02 (1,15-1,50)	0,09	6,9	0,286
lg	2,20±0,04 (1,75-2,55)	0,19	8,6	2,34±0,04 (1,90-2,70)	0,20	8,5	0,023
h	1,37±0,04 (1,15-1,75)	0,16	11,7	1,32±0,02 (1,00-1,70)	0,16	12,1	0,345
W	9,95±0,18 (9,00-12,00)	0,83	8,3	9,40±0,23 (8,00-11,00)	1,15	12,2	1,000
Личинка с естественных нерестилищ + заводская (СМ) 1999 г.							
начало ската (n=24)			конец ската (n=25)				
L	12,59±0,09 (11,30-13,20)	0,45	3,6	13,75±0,09 (12,60-14,40)	0,47	3,4	0,000
H	1,95±0,03 (1,70-2,20)	0,14	7,2	1,63±0,04 (1,40-2,00)	0,18	11,0	0,000
г	0,30±0,02 (0,20-0,50)	0,09	30,0	0,39±0,02 (0,20-0,50)	0,09	23,1	0,032
г ₀	1,10±0,03 (0,90-1,30)	0,12	10,9	1,32±0,02 (1,00-1,50)	0,11	8,3	0,000
L _c	1,96±0,02 (1,70-2,10)	0,11	5,6	2,13±0,03 (2,00-2,50)	0,14	6,6	0,000
m	1,09±0,03 (0,80-1,30)	0,14	12,8	1,47±0,02 (1,30-1,60)	0,09	6,1	0,000
lg	2,25±0,03 (1,80-2,40)	0,15	6,7	2,14±0,05 (1,80-2,80)	0,26	12,1	0,007
h	1,41±0,05 (0,90-1,80)	0,24	17,0	0,80±0,06 (0,50-1,50)	0,29	36,2	0,000
W	9,19±0,18 (8,00-11,00)	0,89	9,7	10,36±0,20 (8,00-12,00)	0,98	9,5	0,001
Личинка заводская СЭРЗ 1999 г.							
начало выклева (n=25)			конец выклева (n=25)				
L	13,10±0,09 (12,20-14,10)	0,44	3,4	13,18±0,10 (12,10-14,00)	0,48	3,6	0,396
H	2,15±0,02 (2,00-2,35)	0,12	5,6	2,01±0,03 (1,75-2,35)	0,14	7,0	0,005
г	0,38±0,02 (0,20-0,50)	0,09	23,7	0,41±0,02 (0,20-0,55)	0,10	24,4	0,004
г ₀	1,30±0,02 (1,10-1,40)	0,09	6,9	1,39±0,02 (1,20-1,50)	0,10	7,2	0,027
L _c	2,08±0,01 (1,95-2,25)	0,07	3,4	2,08±0,01 (1,85-2,20)	0,07	3,4	0,768
m	1,26±0,01 (1,10-1,40)	0,07	5,6	1,43±0,02 (1,25-1,55)	0,08	5,6	0,000
lg	2,24±0,02 (1,95-2,50)	0,12	5,4	2,13±0,03 (1,75-2,45)	0,17	8,0	0,029
h	1,45±0,01 (1,30-1,55)	0,07	4,8	1,13±0,03 (0,85-1,50)	0,16	14,2	0,000
W	11,24±0,2 (9,00-14,00)	1,05	9,3	10,80±0,2 (9,00-12,00)	1,00	9,3	0,544
Личинка заводская БРЗ 1999 г.							
начало выклева (n=25)			конец выклева (n=25)				
L	12,74±0,10 (11,80-13,60)	0,49	3,8	12,61±0,09 (11,90-13,40)	0,44	3,5	0,248
H	1,83±0,03 (1,60-2,10)	0,15	8,2	1,52±0,03 (1,20-1,85)	0,13	8,6	0,000
г	0,37±0,02 (0,15-0,50)	0,09	24,3	0,34±0,01 (0,25-0,50)	0,06	17,6	0,023
г ₀	1,29±0,02 (1,10-1,40)	0,08	6,2	1,29±0,01 (1,20-1,40)	0,06	4,6	0,239
L _c	2,04±0,01 (1,90-2,10)	0,04	1,9	2,02±0,01 (1,90-2,10)	0,05	2,5	0,440
m	1,31±0,01 (1,25-1,40)	0,04	3,1	1,36±0,01 (1,25-1,45)	0,05	3,6	0,000
lg	2,06±0,03 (1,75-2,25)	0,13	6,3	1,96±0,03 (1,70-2,25)	0,13	6,6	0,004
h	1,11±0,03 (0,85-1,50)	0,16	14,4	0,86±0,02 (0,70-1,20)	0,12	13,9	0,000
W	9,66±0,20 (8,00-11,00)	1,00	10,4	9,00±0,17 (7,00-10,50)	0,87	9,7	0,011

Примечание. L-длина тела, H-наибольшая высота тела, г-длина рыла, г₀-длина до заднего края глаза, L_c-длина головы, m-длина нижней челюсти, lg-длина желточного мешка, h-высота желточного мешка, W-веса (мг)

Личинки в условиях заводской инкубации СЭРЗ в начале выклева 1999 г. встречались на IX-X этапе развития. Они хорошо пигментированы: меланофоры тянутся вдоль спинной плавниковой складки и кишечной трубки, покрывают голову и желточный мешок. В этот период личинки еще имели достаточный запас желтины.

крупную жировую каплю. К концу выклева у личинок СЭРЗ увеличивались показатели г, т, γ ($p < 0,05$), снижались значения Н и h ($p < 0,05$) и не изменялись остальные параметры тела ($p > 0,05$) (табл. 1). Большинство личинок СЭРЗ к концу выклева находилось на XI этапе развития с хорошо заметным сгущением мезенхимы в спинном отделе плавниковой каймы.

Личинки БРЗ в начале выклева 1999 г. находились на IX-X этапе. Замечены личинки, перешедшие на XI этап. К концу выклева у личинок БРЗ увеличивалась только длина тела ($p < 0,05$), такие показатели как г, W, Н, lg и h снижались ($p < 0,05$), уменьшалась в размерах и жировая капля, у некоторых личинок она была полностью резорбирована (XI этап). Остальные параметры тела личинок БРЗ не изменялись.

Наиболее изменчивыми признаками заводской молоди (СЭРЗ и БРЗ) являются длина рыла и высота желточного мешка, наименее изменчивыми – длина тела и головы.

Сравнение морфометрических признаков личинок разного происхождения в среднем за двадцатидневный период выклева и ската показало, что в заводских условиях личинки к концу инкубации теряют желточный мешок, находятся на более высоком этапе развития, что было показано и ранее (Семенченко, 2001) и объяснимо, главным образом, условиями среды. Так, например, температура воды на нерестилищах в р. Селенга составляет $0,2^{\circ}\text{C}$ (Ресурсы ..., 1973). В заводских же условиях (СЭРЗ и БРЗ) температура воды при инкубации выше (по наблюдаемым данным 1999-2000 гг. средняя температура воды на СЭРЗ составила $+2,2^{\circ}\text{C}$, на БРЗ - $+1,03^{\circ}\text{C}$). В инкубационном режиме более благоприятны и кислородные условия ($\text{O}_2 = 10,3$ и $11,6$ мг/л, соответственно). Насыщение воды кислородом в р. Селенга в период ледостава составляет 44-63%, на СЭРЗ - 71-78% (Ресурсы ... 1973, Семенченко, 2001).

После выхода из оболочки эмбрионы омуля в р. Селенга поднимаются в толщу воды и дрейфуют по направлению к Байкалу со скоростью до $0,4$ м/с (Афанасьев и др., 1981). Личинки обладают положительным фототаксисом и стремятся держаться против течения (Черняев, 1968). Питание личинок в этот период эндогенное, однако, замечено, что заводские личинки в это время начинают потреблять в основном личинок хирономид и веслоногих ракообразных (Семенченко, Семенченко, 1988). В период массового выклева степень развития личинок на СЭРЗ выше, чем на естественных нерестилищах (Семенченко, 2001). В опытных условиях автором было замечено, что заводские личинки омуля по способности переносить гипоксию и уровню термолабильности существенно не отличаются от личинок других сиговых рыб. Кроме того, показано, что X этап развития является наиболее оптимальным для выклева личинок. Сразу после отсадки в опытных условиях личинки переходили на активное питание при благоприятной температуре и в период массового выклева были способны к длительному голоданию (до 17 суток). В оценке физиологического состояния молоди вольской популяции омуля было также показано, что личинки искусственного разведения на БРЗ не уступают в жизнестойкости личинкам с естественных нерестилищ (Покровский, Балданова, 1989).

Часть личинок селенгинской популяции омуля сразу после выклева выносятся течением на Селенгинское мелководье оз. Байкал. Другая часть остается в ямах и войменных озерах дельты и с прогревом воды до 18°C мигрирует в Байкал. В дельте молодь попадает в холодную воду с температурой $+1$ - $+2^{\circ}\text{C}$ (конец апреля). Здесь она находится в мае ($+10^{\circ}\text{C}$) - до середины июня ($+18^{\circ}\text{C}$). Низкие температуры ($0,2$ - $4,0^{\circ}\text{C}$) обуславливают слабую интенсивность питания молоди, при которой у личинок осуществляется только поддерживающий обмен (преобладание энергетического обмена над пластическим). Наиболее эффективно пища используется молодь омуля при температуре 16 - 17°C . Рост и развитие личинок ограничены при низких температурах даже при избытке корма (Сорокин, Сорокина, 1988). Крайне низкие

показатели роста личинок омуля БРЗ в Посольском соре оз. Байкал были обусловлены низкой температурой воды вследствие холодной, затяжной весны и низким уровнем развития зоопланктона (Бобков, Павлицкая, 1998).

Таким образом, морфометрическими измерениями личинок сестеринки р. Селенга авторами настоящей работы показано, что от начала к концу ската личинки имеют практически полностью сохраняющийся желточный мешок, необходимый для поддержания жизнедеятельности организма в неблагоприятных условиях среды, длительность которого может составлять 40-60 суток. Личинки же заводской инкубации (СЭРЗ и БРЗ) от начала к концу ската практически полностью теряют желточный мешок и лишены эндогенного питания, что неблагоприятно отразилось на их дальнейшем развитии. Однако последнее утверждение нуждается в дополнительных исследованиях.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 05-05-97279 р. Байкал.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

Афанасьев Г.А., Сорокин В.Н., Сорокина А.А. Экология ската личинок омуля р. Селенга // Экология, болезни и разведение байкальского омуля. Новосибирск: Наука, 1981. С. 44-55.

Бобков А.И., Павлицкая В.П. Питание и рост личинок омуля в Посольском соре оз. Байкал // Состояние водных экосистем Сибири и перспективы их использования. Материалы научных чтений, посвященных памяти проф. Б.Г. Иоганзена, 22-23 мая 1998 г. – Томск, 1998. – С. 273-274.

Ланге Н.О., Дмитриева Е.Н. Методика эколого-морфологических исследований развития молоди рыб // Исследования размножения и развития рыб (методическое пособие). – М.: Наука, 1981. – С. 67-88.

Мишарин К.И. Естественное размножение и искусственное разведение посольского омуля на Байкале // Известия БГНИИ, Иркутск, 1953, т. XIV, вып. 14. С. 104-108.

Покровский В.С., Балданова Д.Р. Оценка физиологического состояния молоди омуля посольской популяции // Биопродуктивность, охрана и рациональное использование сырьевых ресурсов рыбохозяйственных водоемов Восточной Сибири. Тез. докл. регион. конф., Улан-Удэ, март 1989.- Улан-Удэ, 1989.- С. 53-54.

Ресурсы поверхностных вод СССР. Л.: Гидрометеиздат, 1973. Т. 16, вып. 3. С. 63-64.

Семенченко С.М., Семенченко И.В. Питание личинок Баргузинской популяции байкальского омуля в период ската // Тез. Докладов III Всесоюзной конференции «Проблемы экологии Прибайкалья». - Иркутск, 1988, ч. III. - С. 141.

Семенченко С.М. Роль искусственного воспроизводства в формировании ската байкальского омуля // Состояние и проблемы искусственного воспроизводства байкальского омуля. - Санкт-Петербург, 2001. - С. 80-88.

Сорокин В.И., Сорокина А.А. Биология молоди промысловых рыб Байкала. Новосибирск: Наука, 1988. - 212 с.

Черняев Ж.А. Эмбриология развития байкальского омуля М.: Наука, 1968. 90 с.

MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS OF BAIKAL OMLEV AFLOATING DOWNSTREAM SELENGA RIVER AND BOLSHAYA RECHKA RIVER).

E.G. Ekimova, A.V. Bazov, N.V. Bazova.

Materials on morphometry were received for alevin from natural and artificial spawning, migration downstream Selenga River and Bolshaya Rechka River (basin of Baikal Lake) in April-May, 1998-2003. During all the period of migration parameters of alevin body from natural spawning areas of Selenga River practically did not change. Parameters of alevin body from artificial breeding areas of Selenginsky experimental hatchery and Bolsherechensky hatchery changed at an authentic level during migration. It was observed decreasing and even disappearing of yolk sac of artificial fry to the end of this period.

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ПОПУЛЯЦИИ ЯЗЯ (LEUCISCUS IDUS) ИЗ Р. ОБЬ В РАЙОНЕ НЕФТЕДОБЫЧИ

Жигилева О. Н., Безух Н.И.

Тюменский государственный университет, Тюмень, Россия, e-mail:
-higileva@mail.ru

Интенсивное нефтегазопромысловое освоение Западной Сибири привело к существенному изменению состояния всех компонентов экосистем региона. Негативные изменения состояния водных объектов связаны, в первую очередь, с загрязнением тяжелыми металлами и нефтепродуктами, которые, поступая в водоемы, включаются в круговорот веществ, могут длительно сохраняться в воде, концентрироваться в донных отложениях, мигрировать по пищевой цепи вплоть до рыб и их паразитов. Последний факт имеет особое значение, поскольку Обь-Иртышский бассейн является высоко эндемичным очагом описторхоза.

Возможность получить интегральную характеристику качества среды, выходящей под действием всего многообразия физических, химических и других факторов, дают только биологические методы, так как именно живые организмы несут наибольшее количество информации об окружающей их среде обитания. Для выявления чувствительных индикаторов состояния популяций необходимо комплексное предварительное исследование с привлечением большого количества параметров. Цель данной работы - дать комплексную морфо-экологическую и паразитологическую характеристику язя, обитающего в реке Обь в нефтепромысловом районе.

Материалом исследования служил язь, отловленный в 2004-2006 гг. в трех пунктах реки Обь в Сургутском районе Тюменской области: в черте г. Сургута, в районе пос. Локосово, который расположен выше города по течению на 200 км, и в пос. Барсово, расположенном ниже по течению от города на 40 км. На 80 км выше города по течению располагается крупное Федоровское нефтяное месторождение. В пос. Барсово предприятия нет, но загрязнение реки значительное за счет расположенных выше по течению реки города и месторождения. Интенсивное загрязнение Оби начинается еще в пределах исследуемого региона в верхнем течении. В среднем течении главным источником загрязнения являются объекты Западно-Сибирского нефтегазового комплекса. Основная масса загрязняющих веществ поступает в р. Обь с поверхностным и подземным стоком с буровых и технологических площадок, с водами притоков, пересекающих районы нефтедобычи, а также со сточными водами крупных городов, в том числе и Сургута. Попавшая в реку нефть растекается по поверхности, теряя свои летучие и водорастворимые компоненты. До 15% углеводородов может переходить в растворимое состояние. Определенной закономерности в изменении уровня загрязнения воды р. Оби по периодам года практически не наблюдается (Богачев, 1998). В р. Оби ниже города Сургута фиксируется локальное загрязнение СПАВ (2 ПДК). Вода в р. Оби в районе г. Сургута по содержанию ртути и кадмия является «очистой», по содержанию свинца, марганца, цинка – «умеренно загрязненной», по содержанию меди и никеля – «умеренно загрязненной». Для исследуемого района характерно повышенное содержание железа (Уварова, 2003). В р. Обь отмечается повышенное содержание магния (9 ПДК), алюминия (2 ПДК), цинка (1,7 ПДК), меди (9 ПДК), железа (109 ПДК).

Выборка составила 171 особь, из них 62 – в п. Локосово, 50 – в черте города Сургута и 59 – в п. Барсово. У всех язей определяли массу тела, возраст по чешуе, средние значения и вариабельность 22 морфометрических признаков в соответствии с руководством И.Ф. Правдина (1966). Для изучения флуктуирующей асимметрии учитывали значения 7 билатеральных признаков: число ветвистых лучей в грудных и

брюшных плавников, число чешуй боковой линии, а также число отверстий сенсорной системы на покровных костях черепа, которое соответствует числу невромастов: число отверстий надглазничного канала на темных костях, число отверстий канала затылочной комиссуры на темных костях, число отверстий на наружной поверхности переднего отростка жаберной (Яковлев и др., 1981; Чеботарева, Изюмов, 2001). Уровень флукутирующей асимметрии оценивали по дисперсии (Захаров, 1980) и ряду других показателей (Романов, 2004). Зараженность рыб метацеркариями *O. felineus* устанавливалась компрессометром.

Основу выборки язей, отловленных в районе г. Сургута, составляют особи 6 лет (табл. 1). Численность рыб старших возрастов невелика (8-9%). В п. Локозово достоверно больше трехгодовалых особей (30% от числа выловленных рыб) по сравнению с другими пунктами (10-14 %). Омоложение популяции указывает на значительный отлов язя в местных водоемах. Особенно возрос отлов язя в последние годы, так как промысел других рыб стал затруднен из-за введения ограниченного лова и существенное снижение количества таких видов как нельма, муксун. Еще несколько лет назад эти, более ценные виды рыб отлавливались на больших количествах, а язя местные жители считали «сорной» рыбой и для нее практически не использовали из-за дешевизны. Обычно специально язя не отлавливали, но он всегда составлял значительную часть улова, так как попадался на расставленные для других видов, поэтому часто использовался как дешевая подкормка для скота. В настоящее время ситуация значительно изменилась. Язь стал промысловым видом.

Таблица 1. Соотношение возрастных группировок язей, отловленных в реке (в районе г. Сургута)

Водоем	Частота встречаемости особей разного возраста, %				
	3+	4+	5+	6+	7+
п. Локозово	30,1±4,2	23,2±4,0	20,3±3,8	16,4±3,5	6,0±2,7
г. Сургут	14,2±3,5*	18,6±3,8	30,2±4,6	19,7±4,0	9,3±3,0
п. Барсово	10,3±2,8*	20,2±3,7	30,8±4,4	20,2±3,9	11,3±3,5

Примечание здесь и далее: * - различия достоверны по сравнению с Локозово, ** - по сравнению с Сургутом ($P < 0,05$).

Существенных различий в соотношении самцов и самок язя в разных местах отлова не выявлено. Тем не менее, в п. Локозово можно отметить тенденцию к увеличению количества самцов (в соотношении 1,4:1), а в городе – количества самок (в соотношении 1:1,3), что может быть связано с различием возрастного состава многих видов рыб в первые годы жизни преобладают самцы, в старшем возрасте соотношение полов близко к 1:1, в старшем возрасте преобладают самки, в возрасте (более 15 лет) – самцы почти совсем отсутствуют (Захаров, 1989). Плотность и зависимость соотношения полов от возраста рыб была отмечена у окуня, плотва и карпа. Некоторые авторы связывают такую закономерность с меньшей устойчивостью самцов к неблагоприятным факторам среды, более низкой по сравнению с самками адаптационной способностью, большей восприимчивостью к стрессу, что зависит от их индекса, чем у самок, гормонального статуса (Митрохин, 1991).

При оценке веса язей разных возрастных групп выявлено, что язи в возрасте 2 лет, отловленные в п. Локозово, весят больше по сравнению с язями из Сургута и Барсово и города. По всем возрастным группам отмечается тенденция к увеличению веса с возрастом.

заметна тенденция к увеличению уровня асимметрии по этим двум показателям в порядке: в Сургуте количество асимметричных особей больше (95%), и на Оби здесь приходится в среднем больше случаев асимметрии (1,8), несколько меньше показатели в Барсово, 90% асимметричных особей и 1,7 случаев асимметрии на рыбу, наименее асимметричны по этим признакам особи в п. Локосово, 85% случаев асимметрии на рыбу. Кроме того, в п. Локосово особи, как правило, асимметричны по одному или двум признакам, а в г. Сургуте и п. Барсово же особи, асимметричные по трем и четырем признакам. Это согласуется с данными о загрязнении водоемов. По данным В. Уваровой (2003), содержание нефтепродуктов в реке Обь в черте города больше, составляет 8 ПДК, в то время как в п. Локосово ПДК, в п. Барсово – 4 ПДК.

Таблица 3. Доля асимметричных особей язя из реки Оби в районе г. Сургут

Район исследования	Доля асимметричных особей, %	Доля асимметричных особей по разному числу признаков, %				Среднее число случаев асимметрии на особь
		1	2	3	4	
п. Локосово	85±5,65	44±7,85	50±3,76	6±3,8	-	1,54
г. Сургут	95±3,45	42±11,40	21±6,44*	32±7,4*	5±3,45	1,84
п. Барсово	90±4,74	29±7,18	47±7,9**	18±6,1	5±3,45	1,74

Перспективность и необходимость использования паразитов как биоиндикаторов при решении ряда проблем экологии не вызывает сомнения. Резкое возрастание инвазивности хозяев специфическим паразитом является поводом к критическому состоянию популяции хозяина, маркером его неблагополучия. Зараженность язев метацеркариями *O. felineus* в Сургутском районе Тюменской области высока и варьирует от 95% в г. Сургуте до 90% в п. Барсово и 85% в п. Локосово. Показатели интенсивности инвазии варьируют аналогичным образом. Максимальное количество личинок на особь (153-400 при средней интенсивности инвазии 313,3±15,7) наблюдается в городе и ниже по течению, в п. Барсово (от 160 до 340, в среднем 280,2±12,4). Это достоверно превышает аналогичные показатели отловленного выше по течению (120-343, в среднем 229,6±14,1). Это можно объяснить высоким уровнем зараженности местного населения. При этом зараженность населения поселках не меньше, чем в городе, но здесь имеет значение разница в количестве населения в исследованных пунктах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Язь из реки Обь, отловленный в районе г. Сургута в зоне влияния Федоровского нефтяного месторождения, характеризуется невысокой численностью особей старшего возраста и преобладанием младшевозрастных группировок, что указывает на высокое промысловое давление. Закономерное снижение веса язя в следующем порядке: Локосово - п. Барсово - г. Сургут свидетельствует о наименее благоприятных условиях питания для данного вида в черте города. Специфика морфологического облика отловленного в городе Сургуте выражается в меньшей длине по Смиуту и меньших размерах плавников. Язь, отловленный в городе Сургуте и ниже по течению, отличается более высокой вариабельностью ряда морфологических признаков. Характеризуется большей долей асимметричных особей, большим числом асимметричных признаков у каждой особи, большим числом случаев асимметрии на особь. Уровень асимметрии язя близок показателям асимметрии аналогичных признаков других видов карповых рыб из загрязненных водоемов. Язь из реки Обь

оме города Сургута имеет высокие показатели инвазированности личинками *O. leuciscus* (до 95 % со средним значением интенсивности инвазии до 313 личинок на *бь*) и сильнее инвазирован описторхисами, чем язь, отловленный выше города по *ению*. В целом, экологическое состояние язя, обитающего в р. Обь в районе г. *гута* можно оценить как напряженное в связи с интенсивным загрязнением и *мыслом*.

ЛИТЕРАТУРА

- Богачев В. Пресноводная плиоценовая фауна Западной Сибири // Экология. 1998. № 25. С. 18-21.
- Захаров В.М. К оценке симметрии билатеральных признаков как популяционной характеристики // Экология. – 1980. – №1. – С. 10-16.
- Захаров В.М. Современное состояние ихтиофауны р. Вымь в районе разработки бокситовых месторождений. – М.: Наука, 1989. – 92 с.
- Карасев С.Г. Экология и морфологические особенности рыб бассейна нижнего Тобола: Дисс ... канд. биол. наук. – Сургут, 2003. – С. 3-54.
- Митрохин Ю. Гормоны и проблема пола // Рыбное хозяйство. 1991. № 11. С. 87-89.
- Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. М.: Пищевая промышленность, 1966. 376 с.
- Романов Н.С. Морфологическая изменчивость некоторых лососевых рыб Камчатки // Вопросы ихтиологии. – 2003. – Т. 36. – С. 75-88.
- Романов Н.С., Ковалев М.Ю. Флуктуирующая асимметрия серебряного караса *Carassius auratus gibelio* (Cyprinidae) из некоторых водоемов Дальнего Востока // Вопросы ихтиологии. – 2004. – Т. 44, № 1. – С. 109-117.
- Уварова В.И. Современное состояние качества воды реки Обь в пределах Тюменской области / Под ред. С.П. Арефьева // Вестник экологии, лесоведения и ландшафтоведения. Тюмень: Институт проблем освоения Севера СО РАН, 2003. Вып. 1. С. 18-26.
- Чеботарева Ю.В., Изюмов Ю.Г. Морфологическая изменчивость, флуктуирующая асимметрия и частота микроядер в эритроцитах периферической крови у серебряного караса *Carassius auratus gibelio* из пруда - отстойника бытовых стоков // Вопросы ихтиологии. 2001. Т. 41, № 2 С. 283-285.
- Яковлев В.Н., Изюмов Ю.Г., Касьянов А.Н. Фенетический метод исследования популяций карповых рыб // Биологические науки. – 1981. - № 2. – С. 98-100.

ASSESSMENT OF THE STATE OF THE POPULATION OF THE IDE (*LEUCISCUS IDUS*) FROM THE OB RIVER IN THE AREA OF OIL EXTRACTION

O.N. Zhigileva, N.I. Bezuch

The article present data on age-sex composition, morphological variability, indexes of developmental stability and invasion by metacercarias *Opisthorchis felincus* of the ide (*Leuciscus idus*) from the Ob river in the area of oil extraction. The results of investigation point to substantial anthropogenic load upon the population of the ide.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ДДВФ НА СООТНОШЕНИЕ ЛЕЙКОЦИТОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ ОРГАНАХ СЕГОЛЕТОК РЕЧНОГО ОКУНЯ, *PERCA FLUVIATILIS L.*

Заботкина Е.А.*, Чуйко Г.М.*, Назарова Е.А.*, Сазонова С.В.**

* - Институт биологии внутренних вод им. И.Д.Пананина РАН, п. Борок Ярославской обл. E-mail: abel@ibiw.yaroslavl.ru;

** - Международный университет природы, общества и человека «Дубно»

Исследовано влияние 96 час экспозиции различных концентраций ДДВФ (0,1; 0,3; 0,6; 0,8 мг/л) на состав лейкоцитов в периферической крови, головной и туловищной почках, селезенке и печени сеголеток речного окуня. Выявлено, что динамика разрушения ДДВФ в воде напрямую зависит от количества вносимого токсиканта. Значение LC_{50} составило 0,8250 мг/л. Все исследуемые концентрации оказали угнетающее действие на процессы лейкоцитоза. Соотношение лейкоцитов в периферической крови и почках изменялось сходным образом тогда как в селезенке и печени характер сдвига отличался. Выявленные изменения свидетельствуют о развитии воспалительных процессов в селезенке и печени.

ДДВФ относится к группе фосфорорганических пестицидов, очень токсичен согласно Перечню рыбохозяйственных нормативов (Перечень..., 1999) присутствие его в воде недопустимо даже в минимальных количествах.

Известно, что ДДВФ необратимо ингибирует активность холинэстеразы разрушающих медиатор холинергических синапсов ацетилхолин. Увеличение содержания сопровождается дистрофическими изменениями и гибелью нервных клеток, гипоксией, нарушением проницаемости клеточных мембран, нарушением внутриклеточного обмена калия, натрия, цинка и проч. (Крылов, 1973). Помимо этого отмечено угнетение клеточного иммунитета, показателей красной и белой крови (Балабанова, Степанова, 2000).

Патогистологические исследования иммунокомпетентных органов также показали, что острые и хронические отравления данным пестицидом вызывают застойную гиперемия сосудов и дистрофические и некробиотические изменения в печени и гемопозитической ткани почек (Балабанова, 1997а, б).

Вместе с тем, действие данного пестицида на молодь рыб практически не исследовано. В связи с этим, целью данной работы - изучить чувствительность сеголеток речного окуня к различным концентрациям ДДВФ, определить LC_{50} для различных возрастных группы и выявить характер изменения у них соотношения лейкоцитов периферической крови и иммунокомпетентных органов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа была выполнена на 60 окунях (*Perca fluviatilis L.*) массой 1-2г, длиной 5см, выловленных мальковой волокушей в июле 2006 г. в районе п. Борок (р. Суна). До начала эксперимента рыб содержали в аквариумах объемом 20л (по 10 особей в каждом аквариуме) с постоянной аэрацией при температуре 21,5-22°C и средним значением pH 7,68±0,02 в течение 14 суток. Затем в аквариумы добавили токсикант - технический ДДВФ (О,О-диметил-О-(2,2-дихлорвинил)фосфат), синтезированный в лаборатории физиологии и токсикологии водных животных ИБВВ, содержащий 30% действующего вещества.

Значения LC_{50} определяли «методом одной точки» (Flumin, Chuike, 1999). Содержание ДДВФ в воде определяли энзиматическим методом антихолинэстеразной активности. Использовали ДДВФ (99% ч.д.а препарат, С. SERVICE, USA) в качестве стандарта, бутирилхолинэстеразу (БуХЭ; К.Ф. 3.1.1.1) сыворотки крови леща и иодид бутирилтиохолина (БуТХ) (Sigma Chem., U.S.A.).

Активность БУХЭ измеряли спектрофотометрическим методом (Ellman et al., 1961) в линейной модификации (Козловская, Чуйко и др., 1996). Концентрацию ДДВФ рассчитывали по калибровочному графику зависимости степени угнетения активности фермента от концентрации пестицида в пробит-логорифмической шкале (Коросов, 2003). Пределы обнаружения ДДВФ - $2 \cdot 10^{-3}$ - 10^{-11} мг/л по действующему веществу Козловская, Чуйко и др., 1996).

В аквариумы ДДВФ вносили в спиртовом растворе в количествах, необходимых для получения концентраций 0,1; 0,3; 0,6; 0,8 и 1 мг/л. Конечная концентрация спирта в воде составила 0,01%, эквивалентный объем спирта был внесен в контрольный аквариум. Каждые сутки в течение эксперимента производилось измерение содержания ДДВФ в воде.

После 96 час экспозиции рыб в токсиканте по 5 рыб из каждого варианта опыта ловили и приготавливали мазки периферической крови и мазки-отпечатки головной капсулы почек, селезенки и печени, которые окрашивали по Романовскому-Гимазю. Идентификацию лейкоцитов проводили согласно классификации Н.Т. Ивановой (1983). Результаты анализа представляли в виде средних и стандартных ошибок ($\bar{x} \pm SE$). Достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента при $p=0.05$. Статистическую обработку проводили с помощью программы Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Динамика разложения ДДВФ в ходе острого опыта представлена в таблице 1. Как известно из исследования, продолжительность определения содержания ДДВФ напрямую зависит от вносимой концентрации: чем она выше, тем больше ДДВФ сохраняется в воде (Рисунок). Исчезновение ДДВФ из воды, по всей видимости, обусловлено двумя факторами: 1) поглощением его рыбой через кожные покровы и жабры; 2) разложением ДДВФ до нетоксичных метаболитов.

Таблица 1.

Содержание ДДВФ в ходе эксперимента

Сутки	1				2				3				3 ¹				4								
Вносимая концентрация ДДВФ, мг/л	0,1	0,3	0,6	0,8	0,1	0,3	0,6	0,8	0,1	0,3	0,6	0,8	0,1	0,3	0,6	0,8	0,1	0,3	0,6	0,8					
Резиальная концентрация ДДВФ, мг/л	0,117	0,227	0,611	0,643	0,933	0,0379	0,0908	0,3138	0,4978	0,9055	0	0,014	0,2489	0,1893	0,585	0,1214	0,2489	0,6657	0,7632	0,0341	0,1569	0,4729	0,4729	0,4729	0,7007

Примечание: ¹ - внесли дополнительный объем ДДВФ для доведения концентрации до заданных значений.

Для получения LC_{50} методом одной точки использовали данные по трем концентрациям, в которых наблюдалась гибель окуня: 0,6; 0,8 и 1 мг/л, в которых гибло 2, 5, 4 особи соответственно за 96 часов. Находили значения LC_{50} для каждой из этих концентраций, затем рассчитали среднее значение за 96 часов экспозиции и получили следующее значение $LC_{50}=0.82 \pm 0.05$ мг/л.

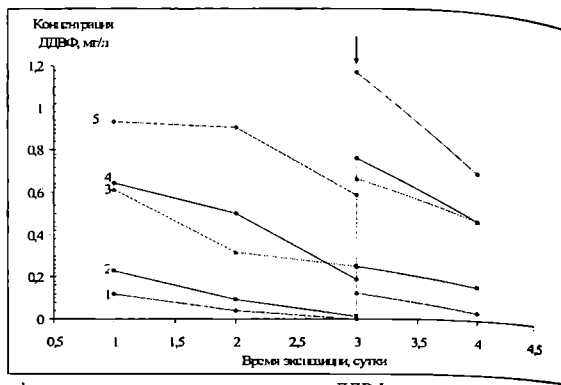


Рис. График зависимости времени разложения ДДВФ от времени экспозиции
Концентрации ДДВФ: 1 - 0,1, 2 - 0,3, 3 - 0,6, 4 - 0,8 и 5 - 1 мг/л; стрелкой обозначено повторное внесение ДДВФ.

Как показали результаты исследований, экспозиция рыб в различных концентрациях ДДВФ во всех вариантах эксперимента оказала угнетающее действие на показатели белой крови. Однако действие ДДВФ в зависимости от концентрации его не было линейным. Так, доля тромбоцитов в периферической крови была снижена только при действии наименьшей и наибольшей из исследуемых концентраций (Табл. 2).

Таблица:

ДДВФ (мг/л)	0	0,1	0,3	0,6	0,8	1
Доля тромбоцитов, %	50,81±0,88	44,12±0,64*	46,93±2,38	49,71±2,00	54,60±6,47	44,13±0,87

Примечание к табл. 2-7: * отмечены значения, достоверно отличающиеся от контроля

Как показал анализ относительного количества лейкоцитов в периферической крови, ДДВФ вызвал слабую лимфопению и выраженную нейтрофилию, наиболее ярко проявившиеся при больших концентрациях пестицида (Табл. 3). Исключением составляет концентрация 1 мг/л, и реакция клеток крови, скорее всего, отражает гибель либо миграцию зрелых нейтрофилов из сосудистого русла в органы.

Таблица:

Изменение соотношения лейкоцитов в периферической крови

ДДВФ, мг/л	0	0,1	0,3	0,6	0,8	1
лимфоциты	66,23±9,82	66,84±6,19	56,77±5,56	58,90±9,47	52,70±6,56	50,00±1,00
моноциты	8,11±5,51	2,73±0,68	4,91±3,27	8,58±2,96	2,40±1,08	6,00±0,00
гемоцитобласты	3,41±1,53	2,23±0,58	4,81±2,09	3,73±1,24	2,90±1,08	15,00±0,00
мислоциты	4,31±1,15	2,12±0,70	3,81±1,03	3,47±2,06	2,30±1,56	11,00±0,00
мстамислоциты	10,63±2,75	13,66±3,39	14,78±3,16	8,12±1,28	18,00±6,80	15,00±0,00
палочкоядерные нейтрофилы	7,12±4,14	11,41±3,48	10,92±3,38	16,13±6,89	16,90±3,72*	0,00±0,00
сегментоядерные нейтрофилы	0,20±0,24	1,02±0,42*	3,70±2,56*	0,87±0,70	4,80±0,52*	0
эозинофилы	0	0	0,29±0,47*	0,20±0,32*	0	0

В головной и туловищной почках, так же отмечены лимфопения и нейтрофилия, и реакция носит более линейный характер (Табл. 4, 5).

Таблица 4

Изменение соотношения лейкоцитов в головной почке

	0	0,1	0,3	0,6	0,8	1
ДДВФ, мг/л	50,00±2,00	50,96±1,58	48,20±1,36	46,90±2,72	43,09±0,87*	36,10±2,68*
лимфоциты	2,63±1,19	1,51±0,50	1,41±0,52	3,10±0,52	4,71±0,43*	4,50±0,60*
макрофаги	1,75±0,63	1,38±0,19	1,71±0,24	2,10±0,32	1,60±0,16	1,60±0,36
Плазматические клетки						
гематоциты	20,00±4,75	4,15±0,87*	6,82±1,14*	7,40±1,12*	4,91±0,87*	5,90±0,52*
нейтрофилы	9,25±2,00	13,33±2,96	11,64±1,09	10,30±1,24	7,92±0,87	10,00±0,80
моноциты	8,13±2,94	17,99±2,57*	15,68±1,41*	14,10±1,52*	18,54±2,17*	17,20±1,84*
эозинофильные нейтрофилы	6,13±0,69	6,04±0,78	9,64±1,89	9,80±1,04	13,73±1,08*	18,60±0,96*
сегментоядерные нейтрофилы	1,50±0,25	2,14±0,39	3,01±0,59*	1,90±0,32	3,40±0,72*	3,20±0,44*
базофилы	0,63±0,38	2,51±0,99*	1,91±0,33*	4,40±0,72*	2,10±0,32*	2,90±0,68*

Таблица 5

Изменение соотношения лейкоцитов в туловищной почке

ДДВФ, мг/л	0	0,1	0,3	0,6	0,8	1
лимфоциты	66,70±1,44	58,75±2,75*	53,80±1,76*	47,20±1,88*	32,67±0,79*	34,50±2,00*
макрофаги	1,70±0,36	1,38±0,63	2,80±0,56	4,60±0,52*	5,68±0,46*	5,90±0,52*
Плазматические клетки	2,30±0,44	1,50±0,50	2,30±0,56	2,60±0,32	1,79±0,23	2,00±0,40
гематоциты	6,70±0,84	3,88±0,44*	2,30±0,76*	2,00±0,60*	2,98±0,39*	3,70±1,24*
нейтрофилы	5,20±0,44	7,00±1,75	6,10±0,72	10,90±0,92*	9,67±1,27*	10,50±1,00*
моноциты	8,50±1,20	14,00±1,75*	15,00±0,60*	14,70±1,16*	17,03±1,23*	15,60±0,88*
эозинофильные нейтрофилы	4,40±0,48	8,88±0,63*	10,90±1,28*	10,70±0,76*	20,71±1,37*	19,80±0,76*
сегментоядерные нейтрофилы	1,30±0,24	2,00±0,00*	2,80±0,84	2,10±0,32*	3,98±0,61*	2,80±0,44*
базофилы	3,20±0,76	2,63±1,13	4,00±0,60	5,20±0,64*	5,48±0,62*	5,20±0,56*

Картина изменений в соотношении лейкоцитов под действием ДДВФ в селезенке и почках носит иной характер. Выделяется двухфазное изменение показателей: – от 0.1 до 0.3, и от 0.6 до 1.0 мг/л ДДВФ (Табл. 6, 7)

В отличие от периферической крови и почек, в этих органах, напротив, наблюдается повышение доли лимфоцитов и нейтрофилов, тогда как доля макрофагов резко снижается.

Выявленные изменения свидетельствуют о разном вкладе изучаемых органов в процессы лейкопоэза. Сдвиг лейкоцитарной формулы в периферической крови и почках имеет сходную тенденцию, тогда как селезенка и печень отличаются по характеру изменения соотношения долей различных типов клеток. Уменьшение количества макрофагов и повышение доли нейтрофилов свидетельствует о развитии воспалительных явлений в этих органах. В целом можно считать, что все исследуемые концентрации оказали резкое угнетающее действие на процессы лейкопоэза.

Изменение соотношения лейкоцитов в селезенке

ДДВФ, мг/л	0	0,1	0,3	0,6	0,8	1
лимфоциты	52,10±3,59	53,02±5,98	66,26±2,17*	53,87±0,70	79,03±5,43*	55,40±1,11
макрофаги	27,44±5,89	9,76±1,83*	12,87±1,65*	12,24±1,21*	9,25±2,54*	13,70±1,11
Плазматические клетки	0,87±0,37	0,50±0,40	0,27±0,32	0,50±0,21	0,91±0,73	0,90±0,11
гемоцитобласты	3,23±1,48	2,17±0,61	1,83±0,38	1,88±0,31	3,42±0,73	5,20±1,11
мислоциты	4,83±2,02	4,24±0,42	2,00±0,46	6,86±0,40	4,89±1,85	5,00±1,11
метамислоциты	5,21±0,51	10,75±4,03	6,17±2,20	10,83±0,47*	1,32±0,76*	14,90±1,11
палочкоядерные нейтрофилы	4,96±1,49	12,83±4,77	7,59±2,49	6,55±0,86	1,08±0,46*	3,10±1,11
сегментоядерные нейтрофилы	0,37±0,19	4,34±1,87*	2,56±1,40	6,47±0,47*	0,69±0,68	2,50±1,11
эозинофилы	0,99±0,25	2,38±1,69	0,45±0,18	0,79±0,24	0,00*	0,70±1,11

Изменение соотношения лейкоцитов в печени

ДДВФ, мг/л	0	0,1	0,3	0,6	0,8	1
лимфоциты	52,13±0,38	51,01±5,16	66,12±4,54*	75,20±1,60*	47,17±4,40	50,70±1,11
макрофаги	19,88±4,38	9,62±4,14	8,66±2,42*	8,73±1,91*	11,95±2,00	13,95±1,11
Плазматические клетки	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
гемоцитобласты	1,00±0,25	1,48±1,02	0,22±0,26	0,60±0,36	1,88±2,25	2,20±1,11
мислоциты	1,00±0,50	1,57±0,70	0,48±0,39	3,28±2,75	2,65±1,88	0,80±1,11
метамислоциты	13,75±2,38	13,13±4,05	8,49±2,44	6,74±2,01*	13,09±2,15	11,00±1,11
палочкоядерные нейтрофилы	8,88±1,63	14,22±5,38	11,80±1,77	3,37±0,90*	15,42±1,84*	8,20±1,11
сегментоядерные нейтрофилы	2,25±1,88	7,58±3,66	3,82±2,47	1,69±0,51	6,36±2,41	9,80±1,11
эозинофилы	1,13±0,63	1,40±1,44	0,41±0,65	0,40±0,32	1,48±1,78	2,40±1,11

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, динамика разрушения ДДВФ напрямую зависит от количества вносимого токсиканта, чем концентрация выше, тем дольше ДДВФ сохраняется и поддается возможности определения. Полученное значение LC_{50} по доверительный интервал 769 – 1199 мкг/л, и анализ литературных данных позволяют заключить, что значения концентраций LC_{50} , полученные разными методами, достоверны. Все исследуемые концентрации оказали действие на процессы лейкоцитоза. Соотношение лейкоцитов в периферической крови и почках изменялось следующим образом, тогда как в селезенке и печени характер сдвига отличался. Выявленные изменения свидетельствуют о развитии воспалительных процессов в селезенке и печени.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Балабанова Л.В. Воздействие дихлофоса на ультраструктуру иммунокомпетентных клеток мозамбикской тилапии // Итоги научно-практических работ по актиопатологии. 1997.М., С.39.
2. Балабанова Л.В. Действие некоторых токсических веществ на ультраструктуру иммунокомпетентных клеток рыб // I Конгресс ихтиол. России: тез. докл. Астрахань. 1997. С.210.
3. Балабанова Л.В., Степанова В.М. Хроническое действие нафталина и дихлофоса на иммунокомпетентные клетки мозамбикской тилапии (*Oreochromis mossambicus* P.

Рестерс)/Биол. внутр. вод. 2000. № 4. С. 146.

Козлова В.И., Чуйко Г.М., Мензикова О.В., Подгорная В.А. Энзиматический метод определения в воде фосфорорганических пестицидов и их метаболитов. Биология внутренних вод: информационный бюллетень №100. С. Пб., «Наука», 1996.

Коросов А.В., Каликина Н.М. Количественные методы экологической токсикологии: Учебно-методическое пособие. ПетрГУ, КНЦ. – Петрозаводск, 2003.

Крылов О.Н. Изменение некоторых физиологических показателей рыб, икры и личинок под влиянием хлорофоса, энтеробактерина и вируса ядерного полиэдроза чешуекрылых //Экспериментальная водная токсикология. Рига: Зинатне, 1973. Вып.5. С. 97-116.

Перечень рыбохозяйственных нормативов: предельно допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды, водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. М.: ВНИРО, 1999. 304 с.

Чуйко Г.М. Биохимические и физиологические механизмы различной устойчивости пресноводных костистых рыб к действию хлорофоса и дихлофоса. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. – Борок, 1986, 112с.

Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholin-esterase activity // Biochem. Pharmacol. 1961. V.7. P. 88-95.

Frumin G.T., Chuiko G.M., Pavlov D.F., Menzikova O.V. New rapid method to evaluate median effect concentrations of xenobiotics in hydrobionts// Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1992. V.49. No 3. P.361-367

THE EFFECT OF DIFFERENT CONCENTRATIONS OF DDVP ON THE LEUKOCYTE COMPOSITION OF PERIPHERAL BLOOD AND IMMUNOCOMPETENCE ORGANS OF PERCH YEARLING *PERCA FLUVIATILIS* L.

Zabotkina E.A.*, Nazarova E.A.*, Chuiko G.M.*, Sazonova S.**

* - Institute for biology of inland waters of RAS, Borok Yaroslavl district, zabel@ibiw.yaroslavl.ru;
** - International university of nature, society and man, Dubna

The effects of 96 hours exposure of different concentrations of DDVP (0.1; 0.3; 0.6; 0.8 and 1 mg/l) on the leukocyte composition of peripheral blood, head and trunk kidney, spleen and liver were investigated. It was noted, the dynamic of DDVP destruction in water was directly depended on a amount of toxicant. Value of LC₅₀ was 821±52 µg/l. All concentrations influenced on leukopoiesis. The character of changes of the leukocyte composition was similar in blood and kidneys, but it was different in spleen and liver. The alterations showed the development of inflammation in spleen and liver.

КОНТРОЛЬ СОСТОЯНИЯ ПРЭСНОВОДНЫХ РЫБ ПО ИОННОМУ СОСТАВУ ВОДЫ

Запруднова Р.А.

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок, Россия
e-mail: rimma@ibiv.yaroslavl.ru

Трудно переоценить значимость методов прижизненного определения состояния животных, не сопровождающихся вмешательством в организм. Для рыб, как водных животных, диагностика возможна по характеристикам окружающей их водной среды. Ранее нами предложен метод определения стрессоустойчивости рыб по скорости потери ионов натрия и калия в небольшом объеме слабоминерализованной воды (концентрация ионов которой не выше, чем в открытых пресных водоемах (Запруднова, 2004)). Однако в научных лабораториях и в рыбных хозяйствах (Запруднова, 2004) содержатся в воде более высокой минерализации, например, в отстоянной (грунтовой) воде. Поэтому значительный интерес представляет определение состояния рыб непосредственно в воде этого состава. Кроме того, вместе с индивидуальными наблюдениями за рыбой, содержащейся в отдельной емкости, всегда будет потребность в менее точных, но более простых методах, позволяющих в результате разового анализа проб воды произвести оценку состояния целой группы особей, содержащихся в одном резервуаре. Ранее исследовались голодающие рыбы, однако диагностика состояния накормленных рыб представляет не меньшую (если не большую) ценность. В настоящей работе мы и попытались решить поставленные задачи.

Ионный обмен изучали у 15 видов пресноводных рыб разного возраста. Эксперименты проводили в отстоянной грунтовой (водопроводной) воде. Диапазон колебаний содержания ионов натрия и калия в чистой грунтовой воде представлен на рис. 1. Концентрация кальция и магния в воде составляла, соответственно, 2,1-2,5 ммоль/л и 0,83-1 ммоль/л. Таким образом, содержание основных ионов (натрия, калия, кальция и магния) в исследуемой воде примерно в 5 раз выше, чем в Рыбинском водохранилище. Содержание ионов определяли на приборах Flapho-4 в воздушно-пропановом анализаторе (натрий, калий) и ААС-1 в воздушно-ацетиленовом (кальций, магний).

В первой части работы исследовали ионный обмен у голодающих рыб: двукорый карася (*Carassius auratus*), искусственно разводимых на экспериментальной базе (Борок, 1), половозрелом и близком к половозрелости леще (*Abramis brama*), отловленном в Рыбинском водохранилище, а также половозрелых особях щуки (*Esox lucius*) и плотвы (*Rutilus rutilus*) из Рыбинского водохранилища. Ранее по характеристикам ионного обмена и продолжительности жизни рыб в одинаковых стрессовых условиях состояние высокоустойчивых, среднеустойчивых и не устойчивых к стрессу особей приравнивалось, соответственно, к хроническому, подострому и острому стрессу с летальным исходом (Запруднова, 2004). В настоящей работе рыбам оказывали различной силы нагрузки, которые вызывали, соответственно, острый, подострый и хронический стресс с летальным исходом, а по полученным данным судили о состоянии, соответственно, неустойчивых, средне- и высокоустойчивых особей.

Острый стресс с летальным исходом (продолжительностью 5-72 ч) вызывали содержанием рыб в ограниченном объеме грунтовой (водопроводной) воды в условиях аутогенной гипоксии (уровень кислорода снижался до 2,5-3 мг/л). Для карася в качестве дополнительного стрессора, применялись механические раздражения в виде сильной принудительной аэрации, когда сотрясался весь объем воды, в котором содержались рыбы. Подострый стресс с летальным исходом продолжительностью от 5 до 20 дней (главным образом, до 2 недель) вызывали содержанием рыб в маленьких аквариумах

грунтовой водой (соотношение массы тела и воды 1:10, концентрация кислорода в воде 5 мг/л и повышающееся содержание ионов аммония до 80 мг/л). Хронический стресс с летальным исходом (продолжительностью 1-2 мес) вызывали содержанием рыб в небольшом объеме грунтовой воды при соотношении массы тела и воды 1:50, концентрация кислорода близка к 100% насыщению. Температура воды составляла 16-18°C. Леща и карася и изучали до момента гибели, щуку и плотву - в течение 1-2 суток. В первые двое суток исследовалось до 30 проб воды, в дальнейшем - от 3 до 16. Рыбы, продолжительность жизни которых составляла от нескольких часов до 2 суток (неустойчивые к стрессу), непрерывно теряли ионы натрия и калия. При этом в начале потери натрия значительно превышали таковые калия. В результате величина потери натрия перед гибелью составляла 12-15 ммоль/кг, а калия 2.5-8 ммоль/кг. Небольшие потери ионов калия в первые часы стресса, по-видимому, обусловлены использованием организмом в энергетических целях небелковых субстратов. Рыбы, погибающие через 5-30 и более суток (средне- и высокоустойчивые) в одинаковых температурных условиях примерно одинаковое количество ионов калия теряли (7-9 ммоль/кг), а натрия - поглощали (7-10 ммоль/кг). При этом интенсивность процессов потери калия и поглощения натрия связана обратной зависимостью с продолжительностью жизни рыб, т.е. у высокоустойчивых к стрессу рыб эти процессы начинаются позже и протекают с меньшей скоростью. Кроме того, потери калия продолжают до конца жизни, однако поглощать натрий рыбы прекращают за несколько дней до гибели: за 2-20 сут в зависимости от продолжительности жизни. В результате устанавливалось равновесие абсорбции и диффузии ионов на новом, более низком уровне натрия в воде. Это соответствовало времени, когда количество потерянного калия еще не достигало и половины. Проведенные исследования не выявили межвидовых различий в ионном обмене у четырех видов рыб. У всех рыб через сутки исследования не наблюдали изменений ионного состава воды при хроническом стрессе (т.е. у высокоустойчивых к стрессу особей), а при подостром стрессе (у среднеустойчивых особей) потери калия (чуть менее 1 ммоль/кг) и поглощение натрия (чуть более 1 ммоль/кг) были близкими или равными по величине.

Если в слабоминерализованной воде показателем неблагополучия являлась, главным образом, величина ионных потерь (Запруднова, 2004), то настоящими исследованиями впервые показано, что в неблагоприятных условиях в минерализованной воде у голодающих рыб усиливается абсорбция ионов натрия из воды. Поглощение натрия из воды имеет важное значение для поддержания жизнеспособности рыб при стрессе в связи с тем, что натрий является основной энергетической валютой на наружной мембране клеток. Проведенный нами расчет показал, что насыщение натрием организма рыб (до 10 ммоль/кг) возможно в воде описанного выше ионного состава начиная с соотношения массы тела и воды 1:50. Эти расчеты согласуются с наблюдениями сотрудников лаборатории ихтиологии (А.М. Самарский, личное сообщение), которые эмпирически установили, что соотношение массы тела рыб и воды 1:60 является предельно низким, при котором возможно длительное содержание рыб в лаборатории в непроточной грунтовой воде. При содержании рыб в меньших объемах воды потребность организма рыб в ионах натрия не обеспечивается полностью. Например, при соотношении массы тела и воды 1:5 рыбы могут абсорбировать натрия менее 2 ммоль/кг. Становится понятной целесообразность добавления солей натрия в резервуары с водой при транспортировке пресноводных рыб.

Во второй части работы определяли состояние сразу целой группы рыб, содержащихся в одном аквариуме с непроточной грунтовой водой, в результате

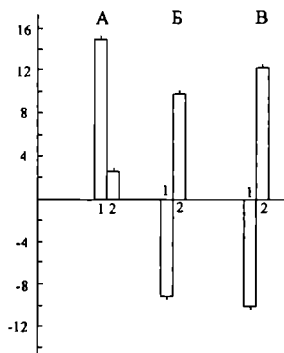


Рис. 1. Обмен ионами натрия (1) и калия (2) у карася в грунтовой воде перед гибелью. А,Б и В - продолжительность жизни рыб соответственно 5-8 ч, 5-9 сут и 28-32 сут. По оси ординат - потери (над чертой) и поглощение (под чертой) ионов за период наблюдения, мкмоль/(л.г). Каждая точка представлена данными от 4-9 рыб.

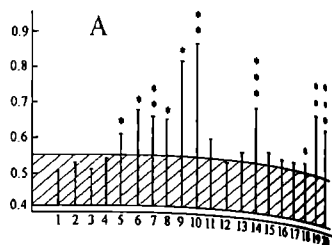
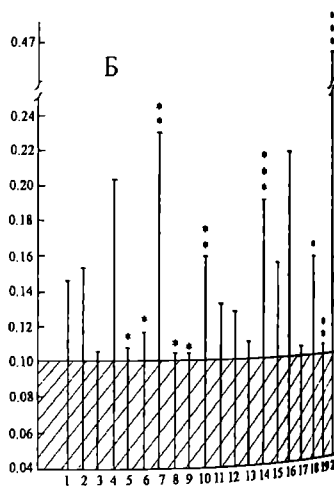


Рис. 2. Содержание натрия (А) и калия (Б) в воде (ммоль/л) аквариумов с рыбами в лаборатории.

1-20 - номера проб воды; 3→4, 9→10, 17→18, 19→20 - повторное взятие проб из одного аквариума

1. карась (1,5, 1:200, 14)³. 2. карась (1, 1:200, 14-16). 3. карась (1,1:150,14). 4. карась (1,5, 1:150,14). 5. карась (1,5,1:400,10-12) 6. карась (1,1:180,14). 7. карась, карп (3,1:100,14-18). 8. карп (1,1:200,16-18). 9. плотва - годовики (0,75, 1:150,14-16). 10 плотва - годовики (1,1:150,16). 11. плотва - половозрелая (4,1:400,14-18). 12. язь (4,1:400,14-18). 13. сруш (4,1:400,14-18).14. ротан-головешка (6,1:400,14-18). 15.стерлядь, русский осетр, угорь европейский (1,5,1:100,14-18). 16. стерлядь, осетр, угорь (1,5, 1:100, 14-18). 17. окунь (1,1:170,14). 18. окунь (1,5, 1:170, 14-16). 19. налим (6,1:400,14-17). 20. налим (6,3, 1:400, 17).

³ - в скобках через запятую: время (мес) после последней смены воды в аквариуме, соотношение массы тела рыб и воды, температура воды °С; заштриховано - диапазон колебания содержания ионов в отстоянной грунтовой воде; 1- голодающие, остальные накормлены: сухим кормом (2-11), мясом рыбы (12-16, 19,20) и живой рыбой (17,18). * - гибель через 2-5 недель, ** - гибель через 4-10 дней, *** - начало массовой гибели; в аквариумах 1,2,11,12,13,15,16 в дальнейшем провели смену воды.



разового отбора проб воды. Проводили анализ ионного состава воды из аквариумов с рыбами нескольких видов: карась (*Carassius auratus*), карп (*Cyprinus carpio*), плотва (*Rutilus rutilus*) – годовики и половозрелые особи, язь (*Leuciscus idus*), ерш (*Acerina setosa*), ротан-головешка (*Percottus glehni*), стерлядь (*Acipenser ruthenus*), русский осетр (*Acipenser guldentadti*), угорь европейский (*Anguilla anguilla*), окунь (*Perca fluviatilis*), налим (*Lota lota*) (Рис.2). К неполовозрелым относились караси, карпы, лавашки. Все рыбы, за исключением карася в первом аквариуме (проба воды 1) получали пищу. Налим перед гибелью (проба 20) не принимал пищу. Концентрация ионов натрия, калия (иногда и кальция) в воде сопоставлялась с продолжительностью жизни рыб. Информация о характере корма, плотности посадки и времени содержания рыб в аквариумах содержится в подписи к рисунку. Количество рыб в одном аквариуме варьировало от 6 до 70. Установлено, что более чем 1 мес содержание рыб в пероточной воде при низкой плотности посадки (соотношение массы тела и воды 1:150 и более) приводит к увеличению в воде не только ионов калия, но и натрия и кальция. Полученные данные позволяют заключить, что превышение верхнего уровня чистой отстоянной грунтовой воды по содержанию натрия в воде аквариумов с взрослыми накармливаемыми рыбами на 4-6% уже является показателем неблагополучия. Превышение этого показателя на 15-20% - сигнал о возможной гибели в течение месяца. У рыб младшего возраста величина потерь на 40-50% выше, чем у взрослых (пробы 9,10). Индикатором неблагополучия у питающихся рыб является также превышение концентрации калия в воде в 1.5-2 раза верхнего уровня концентрации чистой грунтовой воды. Большие потери калия питающимися карасями (пробы воды 2 и 4) без одновременных потерь ионов натрия указывают на непродолжительный (обратимый) острый стресс. При этом причины этих потерь могли быть в введении кортикостероидных гормонов (проба 2), и более чем четырехсуточном присутствии в аквариуме дохлой рыбы (проба 4). В аквариумах с осетровыми рыбами (пробы 15 и 16) разлагались остатки пищи - куски мяса рыбы. У рыб голодающих (проба 1) в сравнении с накармливаемыми потери ионов калия - выше, а натрия - ниже. Вероятно, величина диффузии ионов калия является показателем интенсивности катаболических процессов в организме, связанных с расщеплением мышечного белка и высвобождением связанных с белком ионов. Усиление абсорбции ионов натрия и увеличение потерь калия наблюдали также перед гибелью у налима, который перестал питаться (сравним пробы воды 19 и 20). Ионный состав воды, представленной пробами 11,15,16,13,17, указывает на неблагополучие рыб (особенно это относится к первым трем аквариумам), но своевременная смена воды предотвратила вероятную гибель рыб. Содержание кальция в воде аквариумов с питающимися рыбами почти в 2 раза выше, чем у голодающих.

В настоящее время для диагностики состояния рыб из показателей системы водно-солевого равновесия предлагают, главным образом, характеристики внутренней среды организма. На наш взгляд, оценка стрессоустойчивости рыб с использованием ионного обмена превосходит их информативностью и простотой. Диапазоны колебания содержания ионов калия и натрия в плазме крови у взрослого леща, совместимые с жизнью, составляют соответственно 0.5(0.2) - 6(8) и 90 - 142(151) ммоль/л. При этом самые большие (относящиеся к крайним значениям указанных диапазонов), но непродолжительные во времени изменения в системе водно-солевого равновесия отмечаются при сильном остром обратимом стрессе. Однако гибель рыб при хроническом стрессе наблюдается при значительно более узком диапазоне концентрации ионов калия и натрия в плазме крови, соответственно: 2 - 5 и 115 - 128 ммоль/л (Запруднова, 1999, 2004). Поэтому при диагностике состояния рыб по показателям внутренней среды необходимо учитывать не только величину отклонения

ионных показателей от нормы, но и устойчивость во времени. Прижизненное взятие проб крови от рыб требует от исследователя профессионализма, к тому же всегда сохраняется вероятность эффектов и изменения состояния животных во время этой процедуры. Пробы тканей рыб в отличие от воды перед анализом их на ионный состав нуждаются в предварительной обработке.

Таким образом, на неблагополучие рыб, содержащихся в непроточной воде, указывают:

1) непрерывное повышение концентрации ионов натрия и калия в воде (при неустойчивых к стрессу особей или острого летального стресса у голодающих и накормленных рыб);

2) уменьшение концентрации натрия и повышение калия, при этом интенсивность процессов связана обратной зависимостью с продолжительностью жизни (подострый и хронический стресс у голодающих рыб или средне- и высокоустойчивых к стрессу особи);

3) увеличение содержания в воде натрия, калия и кальция при длительном содержании питающихся рыб, при этом величина повышения концентрации ионов натрия, прямо связана с ухудшением состояния рыб;

Необходимо помнить, что у рыб младшего возраста потери ионов выше, чем старшевозрастных особей, а у сеголетков скорость ионных потерь превышает таковую у взрослых особей в десятки раз.

Метод определения состояния рыб по ионному составу воды основан на результатах исследования каждой рыбы отдельно в небольшом объеме воды и отбора проб воды из аквариумов с несколькими рыбами питающимися и голодающими. Рекомендуется к применению в лабораториях и рыбных хозяйствах, где рыбы содержатся в резервуарах с непроточной водой более высокой минерализации, чем в открытых водоемах.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 06-04-48282).

Список литературы

Запруднова Р.А. Изменения поведения и ионной регуляции у пресноводных рыб при стрессе. // Успехи соврем. биол.- 1999.- Т.119.- N3.- С.265-270.

Запруднова Р.А. Стресс и болезни: изменения в системе водно-солевого равновесия у пресноводных рыб // Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб. -Мат-лы Всерос. науч.-практ. конф. -М. -2004. - С.192-210

THE CONDITION CONTROL OF FRESH-WATER FISHES OVER THE IONIC STRUCTURE OF WATER

Zaprudnova R.A.

The method of definition of a fresh-water fishes condition on concentration of sodium, potassium (and calcium partly) ions in surrounding standing water with higher mineralization than in the open reservoirs is offered. Distinctions in ionic exchange at the starving and fed fishes are shown.



СРАВНИТЕЛЬНАЯ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДВУХ ФОРМ ФОРЕЛИ.

Золотова А.В., Панов В.П., Есавкин Ю.И.

ФГОУ ВПО РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева, г. Москва, Россия
e-mail: AVZOLOTOVA@mail.ru

Использование сбросных теплых вод для целей рыбного хозяйства является резервом повышения эффективности товарного рыбоводства. Это обеспечивает создание высоко интенсивных индустриальных хозяйств с относительно короткими сроками получения товарной продукции, в частности различных форм форели. Однако комплексного изучения физиолого-биохимических показателей крови белой и золотистой форели, выращенных в условиях теплых вод не проводилось. Такие объективно и быстро оценить физиологическое состояние рыб позволяют гематологические показатели.

В связи с этим целью данной работы является сравнительное изучение гематологических и биохимических особенностей радужной форели и нового объекта культуры – золотистой форели, в условиях теплых вод Смоленской АЭС (крупнейшее рыбноводное хозяйство «Велисто»). Золотистая форель в отличие от радужной имеет янтарно-желтую окраску, на спинной части тела отмечаются светло-черные пятнышки, преимущественно они бывают сосредоточены в хвостовой части. Плавники полупрозрачные с белыми кончиками. Золотистая форель скрещивается, образуя жизнестойкие гибриды с радужной форелью и лососем река и др., 2001).

Опыт проводился с октября 2006 г. по февраль 2007 г. в производственных садках в четырех садках, в двух из которых выращивалась молодь золотистой форели, а в двух других – форели дикой окраски, масса рыб в период опыта составляла 0 г. Площадь каждого садка составляет 10 м², глубина – 2 м. Температура воды в садках была 11-15 °С, а содержание кислорода не менее 90 % насыщения. Рыбы кормились кормами Крафт, содержащими 44% белка и 18% жира. Для анализа бралась из хвостовой артерии. Для клинических исследований крови отбирались три раза, а для биохимических – 2 раза в течение опыта.

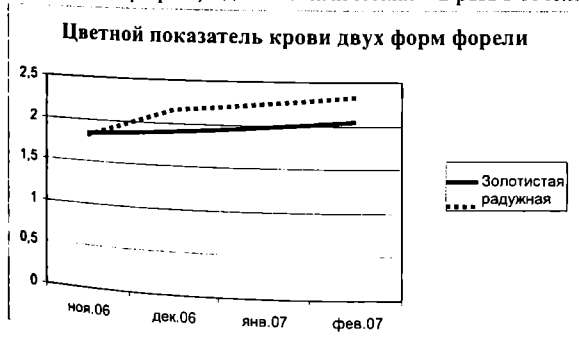


Рисунок 1

В процессе выращивания количество гемоглобина и эритроцитов у разных форм форели оставалось достаточно постоянным и находилось в норме. Однако, начиная с декабря опыта значение цветного показателя, который характеризует содержание гемоглобина в эритроцитах, оказалось достоверно большим у радужной форели, чем у

золотистой (рис. 1), что связано по-видимому с различным размером эритроцитов исследованных рыб: у золотистой форели эритроциты крупнее, чем у радужной. Содержание лейкоцитов в крови у радужной форели на протяжении всего периода исследований несколько выше, чем у золотистой, причем в конце периода разницы в величине этого показателя достоверны. Это может быть объяснено резистентностью золотистой форели. В начале опыта значительно превышало количество тромбоцитов в крови обеих форм форели (рис 3). Возможно, тромбоциты частично взяли на себя роль лимфоцитов. По наблюдениям, у рыб помимо тромбоцитов помимо дыхательной и ангиотрофической функции, способных на своей мембране циркулирующие иммунные комплексы, таким образом способствуют обеспечению иммунитета. Также они участвуют в развитии неполноценных эритроцитов (Житенева и др, 2003). Выяснено, что эти элементы могут быть участниками иммунных реакций, в том числе аллергических. Тромбоциты способны фагоцитировать у всех групп позвоночных животных (Житенева и др. 2003). Поскольку существует тенденция к увеличению содержания тромбоцитов у золотистой форели по сравнению с радужной, можно сделать заключение, что или золотистая форель несколько хуже переносит условия содержания, чем радужная, или быстрее растет. Надо отметить, что к концу периода выращивания количество тромбоцитов достоверно уменьшилось до нормы по сравнению с началом. Это говорит о высокой адаптационных качествах исследуемых форм форели.

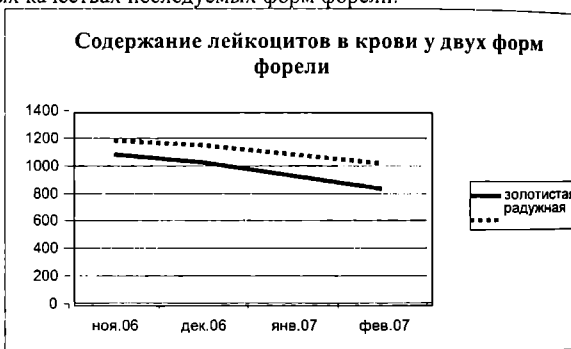


Рисунок 2

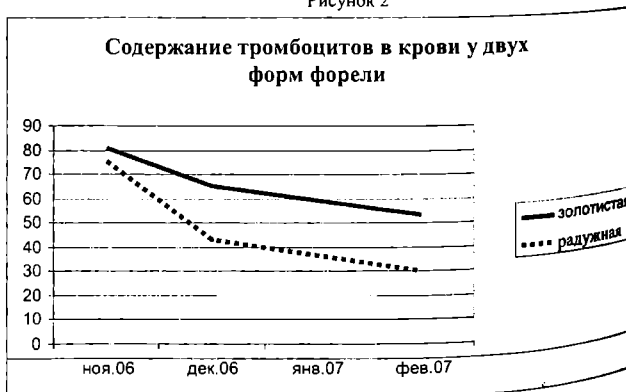


Рисунок 3

Исходно опыта характеризовалось интенсивным белковым обменом. Содержание о белка в крови превышало 70 г/л, что выше общепринятых норм (таблица). о это легко объясняется повышенной температурой воды, когда рыба гчески не затрачивает энергии на поддержание температуры внутренней среды и использовать ее для более быстрого роста. Интенсификация роста приводит к снижению содержания не только общего белка, но и мочевины за счет повышенного обмена белков тела.

Кислородный обмен находится также на высоком уровне, о чем свидетельствует повышенное содержание холестерина в крови обеих форм форели.

Активности аспартатаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы являются внутриклеточными ферментами, находящимися во всех тканях организма. Активность АЛТ в опыте находилась в норме и не имела достоверных различий у исследуемых.

Что касается АСТ, на ранней стадии выращивания его активность была выше нормы. Увеличение активности АСТ в плазме указывает скорее на повреждение клеток, чем на нарушение функции органа. В конце опыта наблюдается снижение активности АСТ до нормальных значений, принятых для форели.

Таблица Биохимические показатели крови двух форм форели

показатель	Золотистая		Радужная	
	26.дек	03.фев	26.дек	03.фев
белок, г/л	74,62±2,337	46,07±2,349	70,37±5,038	42,97±1,625
сахар, ммоль/л	5,65±0,067	2,9±0,137	5,65±0,076	2,61±0,06
холестерин, ммоль/л	413,93±49,68	506,67±43,79	380,35±17,7	551,67±14,47
г, св/л	130,0±10,0	114±5,36	110,0±3,0	118±5,87
г, св/л	835±4,2	301,67±13,3	790±3,25	525±11,1
АЛТ, Е/л	2784,5±590,078	-	3064,8±423,77	-
моч. фосфатаза,	382,5±41,48	374,5±41,86	319,2±43,509	292,5±43,40
мочевина, ммоль/л	2,23±0,266	8,62±0,663	3,05±0,348	8,08±0,4798

Низкая активность лактатдегидрогеназы является результатом быстрого роста. Этим же объясняется повышенная активность щелочной фосфатазы в крови, которая может являться индикатором интенсивности роста рыб.

Глюкоза является основным энергетическим субстратом организма. Основным ответственным за утилизацию глюкозы и регуляцию гомеостаза глюкозы, является инсулин. В регуляции энергетических изменений принимают также участие стероидные гормоны: глюкагон, кортизол, адреналин, гормон роста, тироксин. Инсулин понижает концентрацию глюкозы в крови, а под влиянием остальных гормонов она повышается.

На завершающем этапе исследований содержание глюкозы в крови рыб резко снизилось: в 3,8 раза у золотистой и в 2,6 раза у радужной форели по сравнению с началом опыта. На концентрацию глюкозы в крови оказывают большое влияние кормление рыб. Можно предположить, что наблюдается снижение работы печени у форели, однако это требует дальнейших исследований.

Таким образом, выявленные особенности клинических и биохимических показателей крови двух форм форели показали, что золотистая форель в условиях эксперимента характеризуется повышенным содержанием тромбоцитов, ряда ферментов, что свидетельствует о более высокой ее скорости роста.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.

1. Житенева Л.Д., Макаров Э.В., Рудницкая О.А. Эволюция крови. - Ростов-на-Дону: Изд-во СКНЦ ВШ, 2001 г.
2. Житенева Л.Д., Макаров Э.В., Рудницкая О.А. Тромбоциты рыб и других позвоночных. Ростов-на-Дону: Изд-во СКНЦ ВШ, 2003 г.
3. Лиманский В.В. и др. Инструкция по физиолого-биохимическим анализам. М.: ВНИИПРХ, 1984 г.
4. Титарев Е.Ф., Маслбойщиков В.С., Хлунов Е.Г. Рыбоводно-биологическая характеристика золотой форели *ONCORHYNCHUS MYKISS AGUABONITA* и ее гибридов в первом году жизни //Сб. науч. тр. М.: ВНИИПРХ. 2001 г. Вып. 77.

COMPARATIVE PHYSIOLOGY-BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF TWO FORMS OF TROUT

Zolotova A.V., Panov V.P., Yesavkin U.I.

The paper contains data about clinical and biochemical features of two forms of a trout. Research shows, that the number of pyloric caeca and length of intestines at a golden trout is a little bit less than at a rainbow. Also at a rainbow trout the degree of development of muscles authentically is higher.

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ЗООПЕРИФИТОНА В УСЛОВИЯХ ВОДОЕМА-ОХЛАДИТЕЛЯ ТЭЦ

М.Л.Калайда, Т.П.Синютина, М.Хамитова

Казанский государственный энергетический университет, г.Казань, Россия
kalavda@mi.ru

На Казанской ТЭЦ-1 в роли водоема-охладителя выступает озеро Средний Кабан. Забор ТЭЦ составляет 29245000 м³/год [4]. Объем озера – 7988076 м³. За год воды три раза проходят через систему охлаждения ТЭЦ. Интенсивное использование забора вод и сброс теплых вод Казанской ТЭЦ-1, оказывают значительное влияние на экосистему озера Средний Кабан.

Уже в первых работах об оз.Кабан [3] указывалось, что происхождение озерной системы несомненно связано с Волгой. Оз.Верхний, Средний и Нижний Кабан относятся к русловым карстовым озерам [7]. Они являются остатками древнего русла расширенного и углубленного карстовыми провалами. Считается, что Волга здесь 30-40 тысяч лет назад в период таяния ледников. Затем Волга прорыла новое русло и ушла на несколько километров западнее, оставив в старом русле озерную систему. Возраст озерной системы Кабан оценивается в 25-30 тысяч лет. Длина озера Средний Кабан составляет 3,3 км, ширина колеблется от 170 до 580 м. Площадь водной поверхности озера, по разным данным, колеблется от 110 до 119 га. Средняя глубина озера – 23 -24 м. Глубина озера достигает 23-24 м, в среднем колеблется 6,6 м.

Для стабильной работы ТЭЦ необходимо высокое качество воды. При выборе места строительства для Казанской ТЭЦ-1 решающую роль сыграло то, что вода в озере была не только чистой, но и мягкой. В 1866г. известный русский химик Бутлеров рекомендовал воду озера в силу ее высоких природных качеств для водоснабжения г.Казани.

Среди методов биологического анализа важное значение имеет изучение перифитона. По своему составу и развитию перифитон отвечает средним условиям, в которых существовало сообщество до момента исследования. Характер биоценозов перифитона позволяет судить о среднем загрязнении воды за определенный промежуток времени. Многие специалисты [11, 12, 13, 14,] считают, что истинные перифитоны являются хорошим индикатором степени загрязнения воды, другие [6, 10] - что перифитон не всегда может служить критерием качества воды, поскольку его биомасса в чистых водах и загрязненных может быть одинаково большой.

Вместе с тем, биологические обрастания значительно снижают эффективность работы на объектах энергетики систем оборотного водоснабжения вследствие накопления различного рода отложений и обрастаний в теплообменных аппаратах, в трубопроводах и на градирнях. В теплообменных аппаратах при наличии утечки в систему воды органических продуктов наблюдается такое интенсивное образование биологических обрастаний, что их приходится выключать из работы через каждые 2-3 недели и подвергать механической чистке [9]. В последний период ежегодный ущерб от биологических обрастаний на ТЭС и АЭС в России превышал 11 млрд. руб. Эта проблема существует сегодня на Казанской ТЭЦ-1.

Нами было проведено экспериментальное исследование состояния перифитона и фитопланктона в процессе формирования биообрастаний на искусственном водозаборе в районе водозабора Казанской ТЭЦ-1 – оз.С.Кабан. Наблюдения проводились с мая по сентябрь 2006 года. Пробы перифитона отбирались 2 раза в месяц. Также проводился контроль абиотических факторов среды. В дальнейшем биологический материал обрабатывался по стандартным методикам [5].

Субстратом служили горизонтальные и вертикальные площадки размером 17,5х из оргстекла и древесно-стружечной плиты.

В пресных водоемах в состав перифитона входят представители микробе бактерии, водоросли, простейшие, коловратки; мезо- и макробентоса - м хирономид, нематоды, олигохеты, мшанки, губки, моллюски и другие 1 организмов. Для сообщества перифитона характерно преобладание сессильных Между видами, способными прикрепляться, развиваются неприкреплю подвижные организмы.

Проведенное изучение перифитона экспериментального субстрата в оз.С выявило в его составе 25 видов и форм организмов зообентоса (табл.1).

Состав перифитона экспериментального субстрата в оз.С.Кабан. Таб

№ вид а	Группы бентоса	Состав зооперифитона	Частота встречаемост и, %	Средняя биомасса, г/м ²	Инд плот
1	Hirudinea	Helobdella stagnalis L.	57,14	11,86	18
2		Hemiclepsis marginata Mull.	14,28	7,76	3
3		Herpobdella octoculata L.	85,71	21,90	35
4		Glossiphonia complanata L.	28,57	3,07	4
5	Mollusca	Dreissena polymorpha Pall.	100	343,38	17
6		Bithynia tentaculata L.	57,14	21,71	21
7		Lymnaea ovata Draparnaud	85,71	95,81	66
8		Lymnaea auricularia L.	14,28	47,57	9
9	Crustacea	Asellus aquaticus L.	28,57	4,38	5
10	Chironominae	Ch.f.l.semireductus Lenz.	14,28	0,09	0
11		Endochironomus albipennis Meigen	57,14	1,85	6
12		Parachironomus vitiosus Goetg.	57,14	0,66	4
13		P. gr.pararostratus Lenz.	100	7,25	24
14		Glyptotendipes gr.gripekoveni Kieff.	57,14	1,85	6
15		Polypedilum gr.nubeculosum Mg.	14,28	0,06	0
16		P. gr.convictum Walker	14,28	0,17	0
17		Limnochironomus gr.nervosus St.	14,28	0,09	0
18		L. gr.tritonus Kieff	14,28	0,05	0
19		Cricotopus gr. silvestris Fabr.	71,42	1,34	7
20		Cr.fridmanae Tshernovskij, sp.n.	14,28	0,10	0
21		Procladius ferrugineus Kieff.	14,28	0,05	0
22	Bryozoa	Plumatella fungosa	100	1640	33
23	Oligochaeta	Stylaria lacustris	100	10,14	34
24	Nematoda	Nematoda sp.	14,28	0,05	0
25	Ephemeroptera	Heptagenia sulphurea Mull.	14,28	0,07	0

Первыми в составе макрозооперифитона искусственного субстрата появились клочья мшанки *Plumatella fungosa* – в начале июня. Затем субстрат активно заселялся охотами, личинками хирономид и моллюсками. Наибольшим разнообразием в составе перифитона отличаются личинки хирономид – их встречено 12 видов и форм. В течение всего периода наблюдений отмечалась *Stylaria lacustris*. В пробах перифитона встречались и пиявки - *Helobdella stagnalis* L., *Hemiclepsis marginata* Mull., *Helobdella octoculata* L., *Glossosiphonia complanata* L., их частота встречаемости составляет соответственно 57,14%; 14,28%; 85,71%; 28,57%. Из моллюсков наиболее часто встречались *Dreissena polymorpha* Pall. (100% частота встречаемости) и *Lymnaea ovata* (1%). С меньшей частотой встречаемости в составе перифитона были отмечены моллюски *Bithynia tentaculata* и *Lymnaea auricularia* (табл.1). В начале июня, начале и конце августа были отмечены кладки выше перечисленных моллюсков. Наибольшую среднюю биомассу за весь период наблюдений имели клубчатые мшанки *Plumatella fungosa* – 1640 г/м².

В различные периоды исследований указывался разный видовой состав фауны озер оз.Кабан. В. Мейснером в 90-х годах 19 столетия приведен список 190 видов животных организмов, обитавших в озерах Кабан. В.В. Нечкиной в 60-х годах 20 столетия было обнаружено 140 прежних и 63 новых вида зоопланктона. В настоящее время в фауне исследуемых водоемов отмечено 114 видов (16 коловраток, 9 видов охот, 2 вида пиявок, 37 видов ракообразных, 14 видов водных насекомых, 22 вида моллюсков, 11 видов рыб и 5 видов амфибий), из них отмечено новых 55 видов, ранее не встречаемых [4].

Индексы плотности ($\sqrt{\text{Биомасса} \cdot \text{Частота встречаемости}}$) и частота встречаемости зообентонтов в составе перифитона экспериментальных пластин представлены на рис. 1.

Среди доминант в составе обрастаний выделяются мшанки (*Plumatella fungosa*), моллюски (*D.polymorpha*, *L.ovata*) пиявки (*H.octoculata*) и олигохеты (*S.lacustris*). Максимальные индексы плотности были отмечены у мшанок *Plumatella fungosa* (332,79), *D.polymorpha* (174,92) и *L.ovata* (69,99). Таким образом, преобладающими организмами перифитона экспериментального субстрата являются sessильные формы. Остальные виды и формы, встречающиеся в составе перифитона, имеют меньший индекс плотности. Значительная часть индекса плотности дрейссены свидетельствует о ее высокой роли в биоценозе озера. В свою очередь, создает серьезные проблемы в работе ТЭЦ.

Для объектов энергетики особую значимость среди биообрастателей имеет моллюск дрейссена [2]. Так при толщине отложений солей 3 мм уменьшение коэффициента теплопередачи равно 40%, а среднегодовая производительность функции снижается на 12%. При толщине слизи 0,5 мм на трубках теплообменника коэффициент теплопередачи уменьшается на 30%, что приводит к снижению производительности примерно на 30% [8].

При толщине обрастания 0,5 мм на трубках теплообменника Казанской ТЭЦ-1 средняя мощность 744 гкал/час) снижение теплопередачи составляет 5356,8 гкал/сут.

Среди моллюсков в составе перифитона на экспериментальных пластинах преобладающей формой являлась *D.polymorpha*. Среднесезонная биомасса дрейссены составила 343,38 г/м². Если в Волжском и Камском плесах Куйбышевского водохранилища моллюски дрейссены встречались с длиной раковины от 2 до 27 мм, то в составе перифитона на установленных в оз.С.Кабан пластинах - от 4 до 20 мм. Моллюски, осевшие на пластины в мае, к июню имели размер 10 - 15 мм, а в сентябре

большинство моллюсков (74%) имели длину створок от 4 до 9 мм. В отличие от Куйбышевского водохранилища, где моллюски-годовики имели массу от 39 до 95 мг [1] при длине раковины 6-7 мм, масса моллюсков *D. polymorpha* в оз.С.Кабан варьировала от 4 до 780 мг. Необходимо отметить, что поскольку все моллюски были собраны с экспериментального субстрата, то все они имели возраст менее 4 месяцев (май- сентябрь). Анализ размерно-весовых характеристик моллюсков показал, что в условиях водоема-охладителя они имели значительно большие скорости роста линейного роста.

Особую значимость имеет вопрос о возможных сроках оседания дрейссены на субстрат. Это связано, в первую очередь, с наличием планктонной личинки дрейссены – велигера, который из-за малых размеров (до 2 мм) способен проникать сквозь ячейки решетки фильтров. При работе тепловой электростанции в системе теплообмена конденсаторных трубках турбин складываются гидродинамические и гидротермические условия, способствующие не только существованию в них моллюсков дрейссены, что отрицательно сказывается на экономических и производственных показателях работы ТЭС, но и высокой скорости роста.

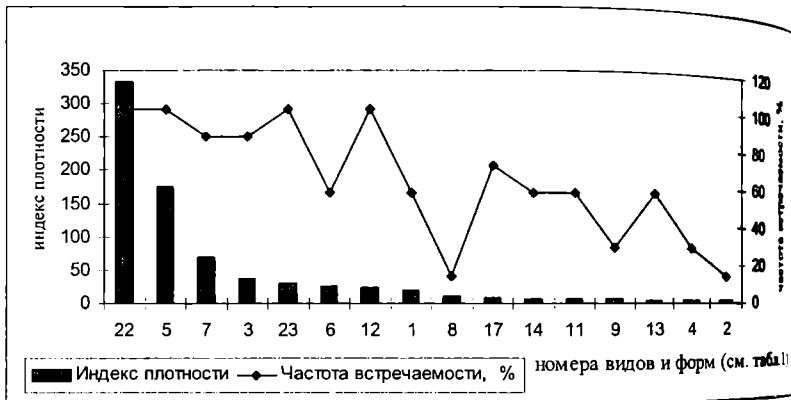


Рис. 1. Индекс плотности и частота встречаемости некоторых форм перифитона на экспериментальном субстрате в оз.С.Кабан.

Осенью в составе зообентоса возрастает доля мелких моллюсков (до 21,4% длиной около 3-4 мм и массой около 4 мг. Максимальное количество особей размером до 10 мм отмечается в конце августа, и они встречаются в составе зообентоса до начала октября.

Таким образом, исследование динамики численности моллюсков на искусственном субстрате в оз.С.Кабан, их размерно-весовых характеристик позволило выявить несколько периодов оседания велигеров: в конце мая, середине июня и конце августа.

Исследование перифитона экспериментального субстрата в условиях водоема-охладителя Казанской ТЭЦ-1 оз.С.Кабан выявило, что по составу видов и форм соответствует составу перифитона пресного водоема региона Среднего Поволжья. Преобладающими формами в составе перифитона искусственного субстрата являются sessильные организмы. Максимальные индексы плотности отмечены у клубнички мшанки и дрейссены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Калайда М. Л., Зиганшина А. А. Значение интродукции дрейссены в
сохранении при работе тепловой электростанции //Ресурсосберегающие, водо-
охранные биотехнологии, основанные на использовании живых экосистем

2. Калинин Е.К. Влияние моллюска *Dreissena polymorpha pallas* на сообщество
озера Плещеево / VIII съезд Гидробиологического общества РАН, тезисы
сов. т.3, Калининград, 2001. – 102 с.

3. Полянин Ф.П. Гидрологический очерк озер Ближнего, Среднего и Дальнего
в г. Казани – Казань: Татполиграф, 1931. – 8 с.

4. Производственное энергетическое объединение «Татэнерго». Оценка
влияния на окружающую среду предприятия Казанская ТЭЦ-1. МКС
«Софарм», Казань, 1998. – С.10-15.

5. Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и
осаждений – Ленинград: Гидрометеиздат – 1983. – 240с.

6. Скальская И.А. О возможности использования перифитона при организации
горинга на Рыбинском водохранилище. – Водные сообщества и биология
бионтов. Л.: Наука, 1985. – 241 с.

7. Ступишин А.В., Лаптева Н.Н. Генезис озерных котловин / Озера Среднего
Кавказа. - Л.: Изд-во «Наука», 1976. – С.15-18.

8. Трибунский В.В., Никулин В.А., Николаева А.В. Эффективность использования
механической обработки воды в водооборотных охлаждающих системах
теплоэнергетического оборудования. /Научно-производственная фирма «Химвириал» 2004.

9. Фарберов В.Г., Чионов В.Г., Леонов С.В., Зеленина Е.С., Попов А.В. Способы
борьбы с биологическими загрязнениями прудов-охладителей ТЭС и АЭС //
Энергетика. 2004. №6. С.45-48.

10. Backhaus D. Ökologische Untersuchungen an den Aufwuchsalgen der obersten
Stufen und ihrer Quellflüsse. V. Biomassenbestimmung und Driftmessungen. – Arch.
Hydrobiol., 1969, suppl. 36, Bd 4, H. 1, S. 1-26.

11. Dickson K. L., Cairns J. J. The relationship of fresh-water macroinvertebrate
communities collected by floating artificial substrates to the Mac Arthur-Wilson equilibrium
theory. - Amer. Midland Natur., 1978, vol. 88, N 1, p. 68-75.

12. Golwin S. Indicator value of bioseston and periphyton for evaluation of pollution
in flowing waters. – Pol. arch. hydrobiol., 1971, vol. 18, N 4, p. 367-379.

13. Kralik U. Untersuchungen über den Bewuchs von peritrichen Ciliaten in einigen
Gewässern bei Leipzig. – Math-naturwiss. Reihe, 1957-1958, Bd 7, H. 2-3, S. 309-328.

14. Meier P. G., Penrose D.L., Polak L. The rate of colonization by macro-invertebrate
artificial substrate samplers. – Freshwater Biol., 1979, vol. 9, N 4, p. 381-392.

**A CONDITION OF ZOOPERIFITON IN RESERVOIR-COOLER OF THERMAL POWER
STATION**

M.L.Kalayda, T.P.Siniutina, M.Khamitova

The data on the characteristic zooperiphyton experimental substrate in a reservoir - cooler
thermal Power Station №1 - lake Middle Kaban are resulted. The role fastened of the forms in
periphyton artificial substrate is shown. The data on indexes of density of the basic kinds and forms
of periphyton are given. The special significance among periphyton for work of object of power there is a

molluscum *Dreissena polymorpha* Pall. Three basic forms of a sedimentation *Dreissena*
substrate are distinguished. The high rate weight and linear growth *Dreissena* on a
reservoir - cooler Thermal Power Station is shown.

ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ ПО БАКТЕРИАЛЬНЫМ ПОКАЗАТЕЛЯМ

И. Ю. Киреева

Национальный аграрный университет Украины, г. Киев, Украина,
e-mail: cde@hwin.nauu.kiev.ua

Оценка эколого-санитарного состояния рыбохозяйственных водоемов по турбидиметрическим и морфологическим показателям тотального бактериопланктона имеет целью выявить закономерности их формирования и особенности эволюции во времени, что являются неотъемлемой частью характеристики водных экосистем.

Анализ полученных результатов помогает отличить цикличность естественных биологических процессов от направленных изменений формирования качества воды, вызванных воздействием антропогенного фактора, так как структурно-функциональные и морфологические характеристики бактериопланктона не являются постоянными.

Определение общего количества бактерий и его морфологического состава в водоемах дают возможность судить о концентрации органического вещества и степени минерализации, продуктивности водоема и его эколого-санитарном состоянии.

Индекс чистоты воды (К) и индекс трофности (I) являются интегрированными показателями функциональной активности бактериопланктона и эколого-санитарного состояния рыбохозяйственных водоемов. Оба этих показателя рассчитывались по турбидиметрическим характеристикам бактериопланктона - его общей численности, числу сапрофитных (сапрофитных) бактерий и числу олигокарбофилов.

Коэффициент К, по С.И.Кузнецову, представляет собой отношение общего числа бактерий к числу гетеротрофов [1].

Индекс трофности (I), по Н. А. Гавришиной [2], представляет собой отношение количества олигокарбофильных бактерий, растущих на разбавленном МПА (1:10), к числу фитов, растущих на МПА.

Изучение сезонной динамики тотального бактериопланктона, его биологического состава, численности сапрофитных, в том числе и олиготрофных бактерий в прудах с интенсивной технологией выращивания рыбы (культура, уплотненные посадки, удобрение, интенсивное кормление) Чаганского лимана Астраханской области (табл.), показало, что общая численность микроорганизмов варьировала от 0,7 до 19,8 млн. кл/мл и зависела от интенсивности внесения кормов и температуры воды.

Морфологический состав бактериопланктона был представлен кокками и палочками. Средние размеры палочек - 0,2-2,0 мкм, кокков - 0,6 мкм. За период исследования доля кокковых форм составляла - 76,3%, палочковидных - 11,5%, спор - 12,2%.

В составе бактериопланктона отмечалось наличие железобактерий (*Galionella*) в количестве 0,1% от общего числа. Обнаружены они в 1-ый год эксплуатации водоемов и в дальнейшем отсутствовали.

По мере эксплуатации водоемов размеры палочковидных клеток возрастали, а палочковидных - уменьшались. Подобные изменения в морфологической структуре бактериопланктона, регистрируемые в сезонной и многолетней динамике, могут быть косвенным показателем внутриводоемных процессов и антропогенного воздействия на них.

Анализ численности сапрофитных бактерий в воде обследованных водоемов показал широкий диапазон их колебаний - от 1,0 до 950 тыс. кл./мл. Во всех водоемах отмечалось характерное увеличение количества этих микроорганизмов от начала

периода вегетации к его середине (август) с дальнейшим снижением. Динамика численности сапрофитов повторила динамику общей численности бактериопланктона. Пики их количества совпали с максимальными величинами перманганатной окисляемости воды (пруд № 1 - 12,8 мгО/л; пруд № 2 - 19,4 мгО/л; пруд № 3 - 31 мгО/л). Наблюдаемое явление закономерно, поскольку перманганатная окисляемость характеризует наличие легкоразлагаемого органического вещества, а сапрофитные бактерии играют основную роль в его трансформации [3,4].

Рассчитанный нами коэффициент К, указывает на относительно равную степень чистоты воды всех опытных водоемов в начале лета (К= 156-180), наличие достаточного количества лабильного органического вещества и принадлежности воды этих водоемов к β-мезосапробной. С увеличением интенсивности рыбоводного процесса и прогревания воды (июль—август) анализируемый показатель снижался в 3-6 раз, что могло указывать на переход водоемов в категорию полисапробных. В конце вегетационного периода значения коэффициента К достигали минимальных показателей, поскольку в водоемах образовалось много органического вещества в виде экскрементов рыб, остатков несъеденных кормов и отмирающего фитопланктона. Выявленная закономерность свидетельствует о значительном накоплении органического вещества в водоемах в результате антропогенной нагрузки. Увеличение сапробности в дальнейшем может привести к возникновению в водоемах заморных ситуаций.

Таблица 1. Интегрированные показатели санитарного состояния рыбохозяйственных водоемов (среднегоголетние)

Месяцы	Бактерии, тыс. кл./мл			К (по С. И. Кузнецову)	Индекс трофности (I) (по Н. А. Гавришовой)
	Общес число	МПА	МПА 1:10		
Пруд № 1					
Июнь	900,0	5,0	13,5	180,0	2,7
Июль	9 995,0	127,0	320,0	78,7	2,5
Август	15 975,0	450,0	770,0	35,5	1,7
Сентябрь	8 009,0	285,0	390,0	28,1	1,4
Среднис	8 720,0	216,7	360,0	80,5	2,0
Пруд № 2					
Июнь	700,0	4,2	9,9	166,4	2,4
Июль	11291,1	183,0	430,0	61,7	2,3
Август	15001,0	560,0	730,0	26,8	1,3
Сентябрь	7 650,0	300,0	360,0	25,5	1,2
Среднис	8 660,5	261,8	382,3	70,1	1,4
Пруд № 3					
Июнь	858,0	5,5	12,0	156,0	2,2
Июль	14 184,0	360,0	580,0	39,4	1,6
Август	19802,0	870,0	770,5	21,1	0,9
Сентябрь	16443,0	870,0	670,0	18,9	0,7
Среднис	12 821,8	476,0	508,0	58,2	1,4

Это подтверждается и оценкой санитарного состояния воды прудов, которое рассчитывалось по индексу трофности.

Сравнительный анализ обследованных водоемов по численности олиготрофных бактерий показал, что хотя их абсолютное число и возрастало по мере увеличения интенсивности кормления рыбы, их доля в общем количестве сапрофитов снижалась. В пруду № 3 в конце вегетационного периода отмечалось снижение числа сапрофитных бактерий, что является косвенным показателем увеличения общего содержания органических веществ.

Оценка экологического состояния водоемов проводилась по индексу трофности (I), который также уменьшался с увеличением в воде численности сапрофитов, достигая минимальных показателей (0,7) к концу периода выращивания рыбы. Фактор снижения индекса трофности необходимо учитывать при планировании плотностей посадки рыбы и расходов кормов на ее выращивание.

Таким образом, мы согласны с тем, что пруд, как замкнутая непроточная система, обладает определенной, но ограниченной способностью к самоочищению [1,4, 5, 7], а оценка состояния рыбохозяйственных водоемов по микробиологическим показателям позволяет выявить их пограничное состояние в экологическом аспекте, требующее принятия срочных мер по нормализации гидрохимического режима и условий выращивания рыбы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кузнецов С. И. Применение микроскопических методов к изучению органического вещества в водоемах // Микробиология. - 1940. - ХУ111,3. - С. 203—214.

2. Гавришова Н. А. Распространение гетеротрофных и олигокарбофильных бактерий в водоемах и водотоках Украины // Структура и функционирование сообществ водных микроорганизмов. Новосибирск: Сиб. отд. АН СССР, 1986. С. 211-215.

3. Винберг Г. Г. Биологические процессы и самоочищение на загрязненных участках реки (на примере верхнего Днепра). - Минск: Изд-во Белорус, ун-та, 1973. - С. 12-13.

4. Разумов А. С., Корш Л. Е. Применение фазово-контрастной микроскопии для подсчета бактерий прямым методом при изучении качества воды // Микробиология. - 1962. - № 2. - С. 257-361.

5. Антипчук А. Ф. Микробиология рыбоводных прудов. М.: Легкая и пищ. пром-сть, 1983.

6. Корш Л. Ж. Прямой метод определения бактерий при санитарном изучении водоемов // Гигиена и санитария. - 1969. - № 9. - С. 85-87.

7. Романенко В. И., Кузнецов С. И. Экология микроорганизмов пресных водоемов. - Л.: Наука, 1974.

ESTIMATION OF THE ECOLOGICAL STATE OF WATERS EKOSYSTEM ON BACTERIAL INDEXES

Kireeva I.U.

The analysis of morphological structure of microorganisms has shown, that basic weight of bacterioplankton is submitted cocccs (76.63 of %), their share grew in process of operation of reservoirs. Thus the sizes cocccsmorpha of craters decreased, and batonmorpha – griv.

ХАРАКТЕРИСТИКА ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ РЫБ ОЗЕР СЕВЕРНОЙ ФЕННОСКАНДИИ

И.М. Королева, П.М. Терентьев, Н.А. Кашулин

Институт проблем промышленной экологии Севера Кольского научного центра РАН,
Апатиты, Россия

e-mail: koroleva@inep.ksc.ru, p_terentjev@inep.ksc.ru

Использование патолого-анатомических характеристик состояния гидробионтов в условиях разнотипного загрязнения широко применяется в токсикологических исследованиях. Рыбы в силу своих биологических особенностей, являются одним из наиболее показательных объектов изучения (Аршаница, Лесников 1987; Канаев, 1985; Кашулин, 1999; Чинарева, 1988; Teh et al., 1997).

В многочисленных озерах Северной Фенноскандии, подверженных процессам воздушного загрязнения, широко распространены сиг, окунь и щука. Кроме того, многочисленны виды, имеющие ценное промысловое значение (кумжа, голец). В 2005 г в ходе выполнения программы мониторинга на территории Финляндии, Норвегии и России проводились комплексные исследования по оценке состояния рыбной части сообществ водоемов данного региона. Было определено состояние популяций и организмов рыб четырех озер, расположенных как в непосредственной близости от предприятия КГМК «Печенганикель» (оз. Куэтсьярви, Россия), так и на различном удалении от него (оз. Айттоярви, Меллаломпола, Финляндии и оз. Стуораярви, Норвегия).

Диагностика патологических изменений рыб заключалась в визуальной оценке изменений органов и тканей. Особое внимание уделялось состоянию кожных покровов, позвоночника, жабр, гонад, печени, почек, окраске мышечной ткани.

В озерах Куэтсьярви и Стуораярви сига были представлены мало- и среднетычинковой формами. В озерах лесной зоны (Айттоярви, Меллаломпола) была отмечена лишь малотычинковая форма. Средние размерно-весовые показатели рыб исследованных водоемов представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Средние размерно-весовые показатели рыб

Объект	оз. Куэтсьярви вблизи комбината		оз. Айттоярви 70 км от комбината		оз. Меллаломпола 75 км		оз. Стуораярви 300 км	
	масса, г	длина, см	масса, г	длина, см	масса, г	длина, см	масса, г	длина, см
среднетыч. сиг	28±2	12.4±0.2	-	-	-	-	143±61	25.1±1.5
малотыч. сиг	39±2	14.7±0.3	144±14	23.5±0.9	325±221	28.6±1.0	347±28	31.3±1.8
щука	333±71	37.6±5.6	1581±505	64.0±8.9	518±264	67.3±17.2	523±121	49.6±7.7

Результаты ихтиопатологического вскрытия показали, что у рыб из оз. Куэтсьярви были зарегистрированы наиболее значительные отклонения в состоянии органов и тканей рыб. Практически у всех особей наблюдалась депигментация кожных покровов и снижение тургора мышц. На фоне высоких показателей снижения интенсивности окраски печени (70%) и поражений почек (100%), количество рыб с патологиями органов репродуктивной системы также было наибольшим (90%). У каждого десятого сига выявлялась почечно-каменная болезнь. У щук окраска печени изменялась от песочно-серой до темно-зеленой.

У сегов, обитающих в лесных озерах Финляндии наиболее часто наблюдались изменения печени, определяемые как бледная окраска, «мозаичность» и появление

«лопасти» (более 70% в оз. Меллаломпола, 50% в оз. Айттоярви). Наличие соединительно-тканых тяжей в почках выявлено у половины особей в оз. Меллаломпола и 78% в оз. Айттояви. Искривление жаберных тычинок встречалось с равной частотой: у сигов из оз. Меллаломпола -12%, в оз. Айттояви – 11%. Перетяжки семенников или асимметрия яичников обнаружены примерно у каждой пятой рыбы в обоих озерах.

Щуки исследованных озер имели зеленоватый оттенок мышечной ткани и ротовой полости. В единичных случаях бледно-зеленый цвет отмечался для печени.

Ихтиопатологическое вскрытие сигов самого удаленного водоема (оз. Стуораярви) выявило, что наиболее часто диагностировались начальные стадии образования соединительно-тканых тяжей в почках и визуально определяемая неоднородность структуры органа, условно названная «зернистостью». Такие отклонения встречались у 90% особей. Изменение окраски печени, «мозаичность» органа отмечены более чем в 50% случаев. Асинхронное и асимметричное развитие гонад выявлено у 6% рыб. Неровный ряд и искривления жаберных тычинок наблюдались у каждого четвертого сига.

У двух экземпляров щук отмечался зеленоватый оттенок печени.

Анализ патологических изменений в организме сигов показал, что частота встречаемости депигментации чешуи варьировала от 0% (удаленные озера) до 100% (оз. Куэтсьярви). На искривление жаберных тычинок уровень техногенной нагрузки влиял слабо – в финских озерах процент сигов с данным отклонением был равен –11-12%, наибольшее количество рыб с измененными тычинками отмечено в оз. Стуораярви.

Отклонения в состоянии печени и почек рыб регистрировались значительно чаще. Депигментация печени и соединительно-тканые разрастания в почках отмечались не менее чем у половины просмотренных рыб.

Высокая частота встречаемости патологий была отмечена как для расположенных вблизи, так и для наиболее удаленных от источника загрязнения водоемов. Очевидно, что в настоящее время специфика и интенсивность патологических изменений рыб исследованных водоемов, испытывающих разноуровневую азротехногенную нагрузку, приобретают аналогичный характер. Для наиболее удаленного от комбината оз. Стуораярви и лесных озер (Айттояви, Меллаломпола) также как и для оз. Куэтсьярви, расположенного вблизи источника азротехногенного загрязнения, была характерна высокая встречаемость изменений отдельных органов. Следует уточнить, что в загрязненном озере чаще регистрировалась наибольшая степень выраженности патологии. Для сигов исследованных озер была зарегистрирована взаимозависимость частоты встречаемости патологий печени и почек, а также гонад и жабр.

В значительно удаленных от источников загрязнения водоемах у щуки отмечались начальные стадии патологий и сравнительно низкая частота их встречаемости. По мере приближения к источнику азротехногенного загрязнения их интенсивность закономерно увеличивалась.

Гистопатологические исследования

Одновременно с визуальным осмотром проводился отбор жабр, печени и почек для дальнейшего гистологического анализа. Органы фиксировались жидкостью Буэна. Препараты готовились по методу Роскина (парафиновая заливка, резка на санном микротоме, окраска гематоксилин-эозином). Все выявленные нарушения были разделены на 6 групп: прогрессивные (пролиферативные), циркуляторные, воспалительные, структурные, цитоплазматические и дегенеративные. Наиболее тяжелыми считаются дегенеративные изменения, например, обширные очаги некроза, менее опасными и в

ряде случаев обратимыми считаются циркуляторные и цитоплазматические нарушения (изменения объема клеток, отложения продуктов обмена).

В жабрах сигов мы наблюдали слушивание жаберного эпителия (дегенеративное изменение), отек вторичных ламелл (результат воспалительного процесса), булавовидные образования на апикальных концах вторичных ламелл и гиперплазию вставочного и ламеллярного эпителия, в конечном итоге приводящий к сращиванию ламелл (пример пролиферативной активности клеток).

У сигов из оз. Стуораярви выявлялся отек жаберных ламелл, вакуольная дегенерация и гиперплазия эпителия. В озерах Айттояви и Меллаломпола у рыб чаще наблюдались сильно выраженная гиперплазия вставочного эпителия и утолщение вторичных ламелл, отслаивание респираторного эпителия, вызванное отеком. Булавовидные образования на ламеллах были обнаружены в единичных случаях в оз. Меллаломпола. В оз. Куэтсьярви между вторичными ламеллами отмечались кровоизлияния, слушенные клетки респираторного эпителия и отек ламелл.

В печени были выявлены очаги некробиоза и некроза (дегенеративные изменения), вакуольная дистрофия, клеточный детрит в просветах кровеносных сосудов, кровоизлияния и стазы кровеносных сосудов (циркуляторные и цитоплазматические нарушения). Из пролиферативных изменений наблюдались гранулемы и склеротические разрастания вокруг кровеносных сосудов. Наиболее часто диагностировался отек печени.

В оз. Стуораярви в печени сигов выявлялся многочисленные очаги некробиоза, циркуляторные нарушения – стазы, разрывы кровеносных сосудов. В озерах Айттояви и Меллаломпола у рыб также были обнаружены очаги некробиоза, склеротирование сосудов. В ряде случаев замечены скопления разрушенных эритроцитов внутри кровеносных сосудов. В оз. Куэтсьярви в печени сигов мы наблюдали отеки, вакуольную жировую дистрофию, многочисленные гранулемы.

В почках были обнаружены очаги некроза гемопоэтической ткани, специфические и неспецифические гранулемы. Из циркуляторных нарушений выявлялись очаговые кровоизлияния, выход эритроцитов в полость Боуменовых капсул (следствие нарушения проницаемости капилляров). Многочисленными были случаи отложения гемосидерина.

В оз. Стуораярви в почках сигов встречались кровоизлияния и очаги некроза в гемопоэтической ткани, неспецифические гранулемы. У отдельных экземпляров диагностировалась вакуольная дистрофия канальцевого и гломерулярного эпителия. В озерах Айттояви и Меллаломпола у сигов можно было наблюдать кровоизлияния в межканальцевой ткани, отдельные немногочисленные очаги некроза в ней. В оз. Куэтсьярви на срезах почек обнаружены клетки с липоидной дегенерацией, кровоизлияния и пролиферация малодифференцированных клеток, возможно опухоли.

Установлено, что в оз. Куэтсьярви у рыб чаще регистрировались дегенеративные изменения, в условно фоновых водоемах, находящихся в отдалении от комбината «Печенганикель», преобладали пролиферативные, циркуляторные и цитоплазматические изменения.

Достаточно часто гистопатологические методы оказывались более чувствительными и выявляли нарушения в тех случаях, когда визуальный анализ не показывал заметных отклонений в состоянии внутренних органов. Таким образом, только комплексное использование обоих методов (иктиопатологического вскрытия и гистологического) может надежно и успешно применяться для оценки состояния качества водной среды.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Аршаница Н.М., Лесников Л.А. Патологоморфологический анализ состояния рыб в полевых и экспериментальных токсикологических исследованиях//Методы ихтиотокси-кологических исследований. Л.: ГосНИОРХ НПО Промрыбвод. 1987. С. 7-9.
- Канаев А. И. Ветеринарная санитария в рыбоводстве. М.: Агропромиздат. 1985. 280 с.
- Кашулин Н. А., Лукин А. А., Амундсен П.-А. Рыбы пресных вод субарктики как биоиндикаторы техногенного загрязнения. Апатиты: Изд. КНЦ РАН. 1999. 142 с.
- Чинарева И. Д. Патогистологические изменения, встречающиеся у рыб бассейна Ладожского озера // Сб. Научн. трудов ГосНИОРХ. 1988. С. 24 – 32.
- Teh S.J, Adams S.M., Hinton D.E. Hystopathologic biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress // Aquat. Toxcol. 37. 1997. P. 51-57.

THE CHARACTERISTIC OF FISH PATHOLOGIES IN NORTHERN FENNOSCANDIA LAKES.

Many fish species acquire pathologies of variable degrees after poisonous action of different materials. Whitefish is exactly suitable for pathologic studies on account of their sensitivity to environmental conditions, wide spread occurrence, mass character and ecological flexibility of species. The method of pathological study in field conditions allows for highly informative data on disorders in vitally important organs of fish. Also a wide range of histo-cytological alterations in fish have been developed and recommended as biomarkers for monitoring the effects of pollution. In this study histopathological alterations of three primary target organs, the gill, liver and kidney, were examined. In all investigated locations examined fish has proliferative, degenerative, structural and inflammatory alterations in different degree. Toxicopathic lesions generally quantified as more severe in the fish, collected in polluted locations. Pollutants caused gills lamella to swell and fuse, and necrotic epithelial cells with pyknotic nuclei were sloughed from the lamellae. We observed a wide range of liver lesions (i.e. edema, foci of cellular alteration, hepatocellular nuclear pleomorphism, proliferative lesions, non-specific necrotic lesions. Non specific kidney histopathological lesions (e.g. degenerative changes in tubular epithelium, dilation of tubular lumina, proteinaceous of cellular cast within tubular lumina, tubular necrosis and/or epithelial desquamation, and necrosis of interstitial hematopoietic tissues) have been observed following exposure of fish to pollution. Histopathological indices are most sensitive and showing pathological changes which were not detected by visual observation. This study indicates that only complex application of the clinical, pathologo-anatomical signs and histopathological method may be successful for assessment of levels of pollution in the water environment.

ВЛИЯНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА АКТИВНОСТЬ ЛИЗОЦИМА СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕРНОМОРСКИХ РЫБ

Н.С. Кузьмина*, С.О. Омельченко**

*Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАНУ, Севастополь
Украина

**Государственное предприятие «Крымский региональный научно-производственный центр стандартизации, метрологии и сертификации»,
Симферополь, Украина
e-mail: kunast@rambler.ru

Под загрязнением водной среды понимают превышение допустимых уровней веществ различной химической природы, а также патогенных организмов. Большая часть токсикологических исследований посвящена изучению влияния химических элементов и соединений на гидробионтов, а вопросы о воздействии биологического загрязнения освещены слабо. В то же время эта сторона исследований весьма важна, так как с появлением в водной среде болезнетворных микробов может ухудшиться не только здоровье гидробионтов, но и человека, потребляющего морепродукты. Изучение ответных, особенно адаптационных, реакций гидробионтов позволяет оценить как уровень биологического загрязнения, так и степень его опасности для водных обитателей.

Одним из защитных антибактериальных механизмов является лизоцим – фермент, функция которого заключается в лизисе бактерий за счет разрушения их стенок (Лукьяненко, 1989).

Цель настоящей работы – определить связь между параметрами микробиологического загрязнения тканей и активностью фермента лизоцима сыворотки крови некоторых видов черноморских рыб.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

Объектами исследований служили следующие виды пелагических рыб – ставрида *Trachurus mediterraneus* (Staindachner, 1956), темный горбыль *Sciaena umbra* (L., 1758), зеленушка *Symphodus tinca* (L., 1758), кефаль-сингиль *Lisa aurata* (Risso, 1810); придонно-пелагических – мерланг *Merlangus merlangus euxinus* (Nordmann, 1758), смарида *Spicara flexuosa* (Rafinesque, 1758); придонных – султанка *Mullus barbatus ponticus* (Essipov, 1927), морской налим *Gaidropsarus mediterraneus* (L., 1758); донных – звездочет *Uranoscopus scaber* (L., 1758), бычок-кругляк *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1811), бычок-мартовик *Mesogobius batrachocephalus* (Pallas, 1811), морской ерш *Scorpaena porcus* (L., 1758).

Исследования были проведены на рыбах, обитавших в бухтах Карантинной и Мартыновой (г. Севастополь) в 2005 – 2006 гг. Материалом исследований служила сыворотка крови. Кровь отбирали пастеровской пипеткой из хвостовой артерии рыб. Сыворотку получали путем отстаивания. Определение активности лизоцима проводили согласно общепринятому методу (Иммунология..., 1989).

Биохимические исследования проводили на индивидуальных и суммарных образцах сыворотки рыб, принадлежащих к одному виду и отловленных в одинаковые периоды года.

Определение параметров биологического загрязнения морской воды: мезофильные аэробные и факультативные анаэробные микроорганизмы (МАФАМ), бактериальные группы кишечной палочки (БГКП), стафилококк (*Staphylococcus aureus*) и сальмонелла (*Salmonella*) проводили согласно (Инструкция..., 1901).

Результаты и обсуждение. Стафилококк и сальмонелла не выявлены в тканях исследованных видов рыб (табл. 1). В летний период бактерии группы кишечной

палочки обнаружены у ерша, зеленушки и смариды. У отмеченных видов содержание МАФАМ также было высоким (для смариды этот параметр превышал ПДК). Активность лизоцима у типичного донного обитателя, ерша, была невысокой в сравнении с другими видами, что, на наш взгляд, связано с фазностью реагирования на неблагоприятное воздействие. У донных видов, по-видимому, со временем этот параметр снижается. У зеленушки и смариды, напротив, активность лизоцима была высокой, что свидетельствует о высоких антибактерицидных свойствах исследованного фермента.

Сопоставляя величины МАФАМ в тканях и концентрации лизоцима в сыворотке крови рыб, можно отметить, что при большем содержании микроорганизмов в тканях у пелагических (ставриды и зеленушки) и придонно-пелагических (смариды, налим) рыб активность лизоцима достаточно высокая, в то время как у всех донных значения активности низкие, хотя уровень микробиологического загрязнения их тканей был сопоставим с таковым у пелагических и придонно-пелагических видов (табл. 1).

Таблица 1. Активность лизоцима (мкг/мл) в сыворотке крови и содержание патогенных микроорганизмов в тканях рыб, относящихся к разным экологическим группам

№	Вид	Активность лизоцима	МАФАМ	БГКП	Salmonella	Staphylococcus aureus
			ПДК=5 x 10 ⁴		ПДК – не допускается	
1	ставрида	103,95	4,2 x 10 ³	–	–	–
2	тёмный горбыль	79,88	7,1 x 10 ²	–	–	–
3	зеленушка	83,28	1,2 x 10 ⁴	+, летом	–	–
4	кефаль-сингиль	24,17	400	–	–	–
5	мсрланг	46,10	4,3 x 10 ³	–	–	–
6	смариды	112,05	5,6 x 10 ⁴	+, летом	–	–
7	султанка	52,18	2,5 x 10 ³	–	–	–
8	морской налим	102,26	9,4 x 10 ³	–	–	–
9	звездочет	33,59	3,1 x 10 ³	–	–	–
10	бычок-кругляк	66,77	5,6 x 10 ³	–	–	–
11	бычок-мартовик	26,9	5,4 x 10 ³	–	–	–
12	морской ерш	42,39	1 x 10 ⁴	+, летом	–	–

При оценке влияния сезона года на величину активности лизоцима сыворотки крови не было установлено четкой связи: величина этого показателя колебалась в течение всего года (табл. 2). Осенью были отмечены максимальные значения лизоцима у ставриды, зеленушки, смариды, что, по-видимому, связано с интенсивными процессами разложения органических веществ природного и антропогенного происхождения. Интересно, что максимальные значения активности сывороточного лизоцима в осенний период получены и другим исследователем (Сукачева Г.А.) для судака. В период с весны к лету у него происходило повышение активности фермента, а к зиме – снижение (Лукияненко, 1989).

Не исключено, что в период размножения исследованных рыб (весна-лето), когда многие физиологические функции активизированы, антибактериальными свойствами

наделены ферменты, активность которых также возрастает в это время, то происходит перераспределение их функций. Осенью же лизоцим имеет наибольшую активность, так как выполняет основную функцию по обезвреживанию болезнетворных бактерий. Это предположение может быть подкреплено данными о том, что в период нерестовой миграции осетра из моря в реку, активность лизоцима низкая именно во время нереста, то есть в момент нахождения рыб в реке (Лукияненко, 1989).

Наше предположение о том, что повышение активности лизоцима до определенного предела подтверждается исследованиями влияния сезонности и на микробиологическое загрязнение рыб, и реакцию иммунной системы. У ставриды при максимальном загрязнении летом активность лизоцима не была высокой (табл. 2), при меньшей зараженности бактериями отклик фермента был больше. Аналогичная тенденция установлена и для зеленушки. У придонной султанки активность лизоцима была низкой летом и осенью, в то время как уровень МАФАМ был максимален. У смарида, напротив, величина активности лизоцима, по-видимому, зависела от содержания бактерий в тканях (табл. 2).

Таблица 2. Активность лизоцима (мкг/мл) в сыворотке крови массовых видов черноморских рыб и уровень МАФАМ в их тканях

№	Вид	Сезон	Лизоцим	МАФАМ
1	ставрида	зима	49,15	$1,5 \times 10^3$
		весна	72,38	$2,5 \times 10^3$
		лето	54,83	$5,8 \times 10^3$
		осень	159,86	$3,9 \times 10^3$
2	зеленушка	зима	76,90	800
		весна	96,64	$1,8 \times 10^3$
		лето	81,15	$2,5 \times 10^4$
		осень	101,2	$2,3 \times 10^3$
3	смарида	зима	109,91	$1,2 \times 10^3$
		весна	33,83	3×10^3
		лето	199,5	$1,5 \times 10^5$
		осень	190,86	$6,4 \times 10^4$
4	султанка	зима	77,14	400
		весна	83,16	800
		лето	41,89	$5,9 \times 10^3$
		осень	31,85	$1,9 \times 10^3$

Такая неоднозначная реакция фермента лизоцима в ответ на зараженность тканей рыб бактериями может быть связана, во-первых, с тканевой спецификой реагирования, то есть синхронной, в ответ на загрязнение тканей, реакцией тканевого лизоцима, а не сывороточного (Лукияненко, 1989). Во-вторых, известно, что лизоцим – фермент, подверженный влиянию многих факторов биологической и физической природы (Лукияненко, 1989; Кондратьева и др., 2004), что, по-видимому, вызывает сильную вариабельность его активности не только в зависимости от сезона, но и от других экологических факторов.

ВЫВОДЫ.

1. У донных видов активность лизоцима была ниже, чем у представителей других экологических групп. Уровень микробиологического загрязнения тканей рыб (МАФАМ) превышал ПДК у промыслового вида, смарида.

2. Не установлено четких сезонных отличий активности лизоцима. В то же время осенью уровень фермента у ставриды, зеленушки, смариды был максимальным; а содержание МАФАМ в тканях рыб было наибольшим летом.
3. Не установлено связи между уровнем загрязнения тканей рыб и активностью сывороточного лизоцима как у представителей разных экологических групп, так и у отдельных видов рыб в зависимости от сезона.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Иммунология: Практикум /Е.У.Пастер., В.В. Овод, В.К. Позур, Н.Е. Вихоть. – К.: Вища шк. Изд-во при Киев. ун-те, 1989. – 304 с.
2. Инструкция по санитарно-микробиологическому контролю производства пищевой продукции из рыбы и морских беспозвоночных № 5319-91. – Ленинград: Минздрав СССР, Мин. рыб. Хоз. СССР, Гос. орден «Знак почета» ГИПРОРЫБФЛОТ. – 1901. – 95 с.
3. Кондратьева И.А., Киташов А.В., Киташова А.А., Криксунов Е.А. Иммуный статус гидробионтов Белого моря в норме и при стрессе // Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб: Расширенные материалы Всерос. научно-практ. конф. (16 – 18 июля 2003, Борок). – М., 2004. - С. 30 – 49.
4. Лукьяненко В.И. Иммунобиология рыб: врожденный иммунитет. – М.: Агропромиздат, 1989. – 271 с.

THE INFLUENCE OF MICROBIOLOGICAL POLLUTION ON ACTIVITY OF LYSOZIME OF BLOOD SERUM OF BLACK SEA FISH

N.S. Kuzminova, S.O. Omelchenko

Data of study of microbiological pollution influence on lysozime activity of blood serum of Black Sea fish are presented. It was showed that the bottom species have lower values of lysozime than fish of another ecological groups. The level of microbiological contamination of fish was more than legal level in high-body pickerel tissue. It was not established season differences, but maximal values of lysozime activity were noted for Mediterranean scad, long-striped wrasse and high-body pickerel in autumn; and microbiological contamination of tissues was highest in summer. The correlation between level of biological contamination of tissues and activity of serum lysozime of fish of different ecological groups and for different season was not obtained.

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ЗООПЛАНКТОННОГО СООБЩЕСТВА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОКАЗАТЕЛЯ СТАБИЛЬНОСТИ

С.А. Курбатова

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок, Россия
e-mail: kurb@ibiw.yaroslavl.ru

Для оценки стабильности и устойчивости водных экосистем В.Д. Федоровым и С.А. Соколовой (1973) был предложен показатель стабильности. Он основан на представлении, что устойчивость системы – это ее способность поддерживать во времени постоянство характеристик, отражающих особенности ее структурно-функциональной организации. Для живых систем сохранение постоянства характеристик во времени свидетельствует о динамической сбалансированности процессов, осуществляющихся в системе, между собой и с окружающей средой, которая обеспечивает систему энергией и веществом. Стабильность всей системы может быть оценена путем усреднения ряда показателей стабильности отдельных характеристик. Чем большее количество характеристик использовано, тем объективнее будет обобщающий для всей системы показатель. Показатель стабильности определенной характеристики оценивает амплитуду изменений ее значений относительно средней величины:

$$S_i = \left(\sum_j^n | \sum k_j / n - k_j | \right) / \sum k_j,$$

где k_j – значение переменной в момент измерения ($k_j \geq 0$), а n – число измерений. Максимальная стабильность при $S_i = 0$. Чем больше значение S_i , тем сильнее размах колебаний оцениваемой характеристики, тем, следовательно, она менее стабильна.

Этот простой в расчетах индекс не получил широкого распространения в гидробиологии. Хотя те исследования, в которых его применяли, показали возрастание его величины при нарушении сбалансированности отдельных элементов водных экосистем в результате внешних воздействий (Макарцева, 1986).

Изменения показателя стабильности зоопланктона были изучены в семи сериях длительных (58–111 сут) опытов. Экспериментальные экосистемы (микро- и мезокоосмы) были организованы в пластиковых лотках объемом 1.5 м³ и бетонных бассейнах (16 м³) (Курбатова, 2006). Исследовали влияние факторов различной природы и силы: снижения минерализации, закисления, поступления смеси тяжелых металлов, пестицида хлорпирифоса, интродукции дрейссены *Dreissena polymorpha* (Pall.) и молоди рыб – личинок леща *Abramis brama* (L.), окуня *Perca fluviatilis* (L.) и годовиков окуня. Пробы отбирали каждые 7, 10 или 14 сут. Каждый вариант опытов повторяли 3–4 раза. Обобщенный показатель стабильности (S) рассчитывали как усредненную величину показателей стабильности общей численности зоопланктона ($N_{\text{общ}}$), отношения численностей Cladocera и Copepoda ($N_{\text{Clad.}}/N_{\text{Cop.}}$), количества видов (КВ), индекса видового разнообразия Шеннона (ИВР) и общей биомассы ($B_{\text{общ}}$) (таблица).

Зоопланктонное сообщество – динамичная система, которая благодаря высокой чувствительности отдельных компонентов, обусловленной в первую очередь фильтрационным типом питания, а также относительно короткому жизненному циклу зоопланктеров, быстро откликается на изменение условий обитания. Это выражается в перестраивании структуры и изменении функциональных показателей. Поскольку на большинство типов воздействий реакция зоопланктона неспецифична, то его индикаторная роль заключается не в определении природы и силы влияющего фактора, а в выявлении степени нарушенности водной экосистемы, что можно оценить, используя показатель стабильности.

Таблица. Значения показателей стабильности отдельных характеристик и всего зоопланктонного сообщества (I, II – две серии экспериментов с одинаковыми вариантами, «-» – биомассу зоопланктона в опытах не определяли)

Вариант	$N_{\text{общ}}$	$N_{\text{Clad}}/N_{\text{Соп}}$	КВ	ИВР	$B_{\text{общ}}$	S
Закисление и снижение минерализации воды						
(I) Речная вода	0.24	0.46	0.26	0.11	-	0.27
(I) Разведенная вода	0.29	0.66	0.28	0.20	-	0.36
(I) рН 5–6	0.64	0.70	0.26	0.18	-	0.44
(I) рН 4–5	0.81	0.88	0.39	0.36	-	0.61
(I) рН 3–4	1.13	0.61	0.39	0.36	-	0.62
(II) Речная вода	0.28	1.20	0.36	0.32	-	0.54
(II) Разведенная	0.35	0.48	0.24	0.14	-	0.30
(II) рН 5–6	0.42	0.31	0.16	0.08	-	0.24
(II) рН 4–5	1.02	0.47	0.34	0.19	-	0.60
(II) рН 3–4	0.55	0.65	0.43	0.25	-	0.47
Действие токсикантов						
<u>Контроль</u>	<u>0.36</u>	<u>0.58</u>	<u>0.12</u>	<u>0.12</u>	<u>0.32</u>	<u>0.30</u>
Тяжелые металлы (Hg, Cd, Cu, Zn)	0.71	0.46	0.15	0.24	0.43	0.40
Хлорпирифос	0.23	0.35	0.16	0.15	0.1	0.20
Хлорпирифос + тяжелые металлы	0.38	1.03	0.17	0.32	0.59	0.50
Действие биотических факторов						
<u>(I) Контроль</u>	<u>0.43</u>	<u>0.95</u>	<u>0.14</u>	<u>0.18</u>	-	<u>0.43</u>
(I) 0.5 кг/м ² дрейссены	0.43	0.42	0.14	0.12	-	0.28
(I) 1.5 кг/м ² дрейссены	0.39	0.62	0.16	0.14	-	0.33
(I) личинки леща	0.32	1.54	0.17	0.18	-	0.55
(I) 0.5 кг/м ² дрейссены + личинки	0.26	1.31	0.26	0.39	-	0.56
(I) 1.5 кг/м ² дрейссены + личинки	0.33	1.46	0.30	0.30	-	0.60
<u>(II) Контроль</u>	<u>0.80</u>	<u>0.84</u>	<u>0.39</u>	<u>0.16</u>	-	<u>0.55</u>
(II) 0.5 кг/м ² дрейссены	0.83	0.98	0.31	0.15	-	0.57
(II) 1.5 кг/м ² дрейссены	0.97	0.86	0.18	0.17	-	0.55
(II) личинки леща	0.76	1.17	0.20	0.14	-	0.57
(II) 0.5 кг/м ² дрейссены + личинки	1.18	0.85	0.40	0.49	-	0.73
(II) 1.5 кг/м ² дрейссены + личинки	0.65	1.40	0.28	0.35	-	0.67
<u>Контроль</u>	<u>0.92</u>	<u>0.42</u>	<u>0.14</u>	<u>0.09</u>	<u>0.37</u>	<u>0.39</u>
Личинки окуня	0.56	0.53	0.18	0.10	0.87	0.45
Личинки окуня + дрейссена	0.83	0.60	0.16	0.06	0.64	0.46
Годовики окуня	0.74	0.94	0.16	0.10	0.72	0.53
Годовики окуня + дрейссена	0.46	0.61	0.16	0.12	0.27	0.32
<u>Контроль</u>	<u>0.69</u>	<u>0.72</u>	<u>0.21</u>	<u>0.07</u>	<u>0.60</u>	<u>0.46</u>
Личинки окуня	0.52	0.44	0.17	0.14	0.46	0.35
Дрейссена	0.54	0.73	0.27	0.19	0.61	0.47
Личинки окуня + дрейссена	0.67	0.56	0.28	0.11	0.67	0.46

Структурно-функциональные характеристики зоопланктона претерпевают закономерные сезонные изменения, определенные жизненным циклом отдельных видов, сменой доминирующих форм кормовых организмов, погодными и гидрологическими условиями. Нельзя ожидать, что при осуществлении расчетов по данным сезонной динамики какой-то характеристики, показатель стабильности окажется близким к нулю. Преимущество экспериментальной работы перед натурными наблюдениями заключается в том, что исследователь может сравнивать развитие контрольных экосистем и экосистем, подвергшихся воздействию, находящихся при прочих равных условиях, создаваемых самим экспериментатором, и оценить эффект.

В проведенных исследованиях сила действующих факторов была относительно невелика: концентрации тяжелых металлов (1 Hg, 5 Cu, 10 Cd, 100 Zn (мкг/л)) и хлорпирифоса (0.1 мкг/л) реально регистрируются в современных водоемах (Перевозников, Богданова, 1999; Werner et al., 2000), плотности дрейссены (0.5–1.5 кг/м²) и молоди рыб (по 16 экз. личинок леща на микрокосм, по 1100 экз. личинок окуня и по 10 экз. годовиков на мезокосм) также не являются экстремальными и часто отмечаются в природе (Чикова, 1966; Архипцева, 1980; Дрейссена *Dreissena* ..., 1994), гидробионты приспособлены к жизни в воде с различным уровнем pH (Лазарева, 1994). Изменения в структуре зоопланктона наблюдали при любых воздействиях, но показатель стабильности во многих случаях менялся незначительно (таблица). Это свидетельствует о наличии механизмов, регулирующих соотношение основных характеристик зоопланктона, и позволяющих сообществу сохранять относительную стабильность при небольших нарушениях.

Заметное отклонение сообщества от равновесного состояния происходило при закислении воды ниже pH 5 и при одновременном поступлении в экосистему пестицида и смеси тяжелых металлов. Максимальные отличия от контрольных показателей в результате влияния биотических факторов наблюдали в тех микрокосмах, в которых зоопланктон в наибольшей степени испытывал последствия конкуренции и выедания (при совместном присутствии в экспериментальных экосистемах дрейссены и личинок леща).

Чаще всего значения показателя стабильности не превышает 1 (Федоров, Соколова, 1973; Макарцева 1986). В проведенных исследованиях показатель стабильности некоторых структурных характеристик зоопланктона, в частности соотношения численностей Cladocera и Copepoda, был больше 1: в вариантах с личинками леща и в одном случае при оценке изменения общей численности в результате экстремально сильного закисления до pH 3–4. Это происходило потому, что расчет шел по данным временного ряда, захватывающим начальный период воздействия, в который активно протекали дестабилизирующие процессы. Впоследствии колебания показателя были уже не столь значительными. Руководствуясь этими наблюдениями, можно предположить, что в случае, если значения показателя стабильности природных сообществ > 1 – происходит разбалансировка системы, которая может закончиться ее разрушением. Это должно означать, что на систему оказывает влияние фактор довольно большой силы.

Таким образом, экспериментальные данные подтверждают применимость рассматриваемого показателя для оценки состояния отдельных звеньев водных экосистем.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Архипцева Н.Т. Ихтиофауна и численность рыб озера Красного // Питание рыб и использование ими кормовой базы в разнотипных водоемах. Тр. ГосНИОРХ.– Вып. 158.– Л., 1980.– С. 94–99.

Дрейссена *Dreissena polymorpha* (Pall.) (Bivalvia, Dreissenidae). Систематика, экология, практическое значение.– М.: Наука, 1994. – 240 с.

Курбатова С.А. Реакция зоопланктонных сообществ микро- и мезокосмов на действие природных и антропогенных факторов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.– Борок, 2006.– 24 с.

Лазарева В.И. Трансформация сообществ зоопланктона малых озер при закислении // Структура и функционирование экосистем кислых озер. Тр ИБВВ РАН.– Вып. 70 (73).– СПб: Наука, 1994.– С. 150–169.

Макарцева Е.С. Оценка общей стабильности зоопланктонного сообщества и его отдельных показателей при антропогенном евтрофировании водоемов // Гидробиол. журн.– 1986.– Т. 22, № 5.– С. 33–37.

Перевозников М.А., Богданова Е.А. Тяжелые металлы в пресноводных экосистемах.– СПб: ГосНИОРХ, 1999.– 228 с.

Федоров В.Д., Соколова С.А. Опыт оценки устойчивости водной экосистемы // Гидробиол. журн.– 1973.– Т. 9, № 2.– С. 11–14.

Чикова В.М. Состояние нерестовых стад и размножение рыб в Черемшанском и Сусканском заливах Куйбышевского водохранилища // Биология рыб Волжских водохранилищ. Тр. ИБВВ РАН.– Вып. 10 (13).– М.-Л.: Наука, 1966.– С. 29–45.

Werner I., Deanovic L.A., Connor V. et al. Insecticide-caused toxicity to *Ceriodaphnia dubia* (Cladocera) in the Sacramento-San Joaquin river delta, California, USA // Environ. Toxicol. Chem.– 2000.– V. 19, № 1.– P. 215–227.

EVALUATION OF ZOOPLANKTON COMMUNITY STATE USING INDEX OF STABILITY S.A. Kurbatova

The index of stability (Fedorov, Sokolova, 1973) for zooplankton was counted on the base of experimental data. The influence of different abiotic and biotic factors was studied using micro- and mesocosms. All factors caused the changes in structural characteristics of zooplankton, but the values of index of stability increased insignificantly in many cases. The maximum deviations from control indices were obtained in the case of acidification lower pH 5, under the joint effect of heavy metals and chlorpyrifos and when zooplankton was grazed by young fish and competed with zebra mussel. The indices of stability more than 1 reflect a strong destabilization of the processes in the ecosystems.

МОНИТОРИНГОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ РЫБ КРАСНОЯРСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

Г.В. Макарская, С.В. Тарских

Институт вычислительного моделирования СО РАН, Международным научный центр исследования экстремальных состояний организма при Президиуме Красноярского научного центра СО РАН, г. Красноярск, Россия, mgv@icm.krasn.ru

Адаптивные возможности организма рыб во многом определяются гомеостатическими свойствами системы гемоиммуногенеза. По изменению количественных и биохимических параметров этой системы и функционального состояния ее звеньев можно судить об уровне адаптированности организма и степени неблагоприятного воздействия факторов окружающей среды на него [6, 8, 9]. Одним из основных показателей, отражающих состояние иммунного статуса рыб, является оценка функциональной активности фагоцитирующих клеток крови. В компетенцию этих клеток входит выполнение функций неспецифической резистентности организма как первичной реакции на вторжение антигенных агентов, а также важная роль в кооперативных взаимодействиях специализированных иммунокомпетентных клеток организма в процессе специфического иммунного ответа [1, 11]. Генерация активных форм кислорода (АФК): супероксиданиона, гидроперекиси, гидроксила, гипохлоританиона является обязательным эффектом активации и функционирования клеток в процессе фагоцитоза в норме, и в то же время антигендеструктурирующим свойством противомикробного, противовирусного, противопаразитарного иммунитета [1, 2, 11]. Кинетика продукции АФК в системе клеток не фракционированной крови при антигенной активации *in vitro* отражает не только потенциал активации кислородного метаболизма фагоцитирующих клеток, но и функционирование кооперативно взаимодействующих с ними про- и антиоксидантных факторов плазмы крови и других клеточных субпопуляций [10, 12]. Т.е. регистрируемая кинетика активированного *in vitro* респираторного взрыва в образце крови представляет собой интегральную характеристику кислородзависимой неспецифической реакции системы крови на антиген.

Мониторинговые исследования функциональной активности клеток крови рыб: плотва (*Rutilus rutilus* L.), лещ (*Abramis brama* L.), окунь (*Perca fluviatilis*) и щука (*Esox lucius*) на среднем участке Красноярского водохранилища проводили в течение летнего периода (июня –30 августа) 2000-2006 гг.. Функциональную активность клеток крови рыб, полученной из жаберной вены, при антигенной стимуляции *in vitro* оценивали по кинетике генерации АФК, регистрируемой микрометодом люминолуциферной хемилюминесценции с использованием аппаратно-программного комплекса «Хемилюциметр CL-3604» - ПЭВМ [3, 7,12]. Время записи хемилюминесцентной кривой составляло 120 минут при температуре в регистрационной камере +22°C. Реакционная смесь регистрационной кюветы состояла из 200 мкл 2,2x10⁻⁴ М люминола (Sigma) в растворе Хенкса (рН 7,2), 100 мкл разведенной в два раза крови рыбы, 50 мкл суспензии частиц латекса (ВНИИСК, С-Петербург) (5x10⁸ част./мл), опсонизированных белками пуловой сыворотки крови рыб разных видов. О кинетике генерации АФК в системе клеток цельной крови рыб судили по параметрам хемилюминесцентной кривой, принимая во внимание наиболее информативные: амплитуду максимальной активности хемилюминесцентной реакции (I_{max} - имп./с), время достижения максимума (T_{max} - мин.) и площадь под кривой хемилюминесценции (S - имп. за 120 мин.), определяющей общее количество АФК, генерируемых клетками за время записи хемилюминесцентной кривой.

Определение количества эритроцитов и лейкоцитов в периферической крови рыб выполняли методом счета в камере Горяева при окрашивании нейтральным красным и кристаллическим фиолетовым [4]. Кроме оценки функциональной активности фагоцитирующих клеток крови определяли половую принадлежность рыб, длину тела (промысловую), возраст (по склеритам чешуи и жаберных крышек).

В указанный период геохимический состав воды не имел заметных отклонений [5], в конце мая – начале июня 9 – 12°C до глубины в 30 м, со второй половины июня по сентябрь средняя температура в метровом слое воды изменялась в пределах 17–20°C.

Сравнение среднегодовых показателей параметров кинетики продукции АФК, оцениваемым по хемиллюминесцентным кривым, выявили межгодовую динамику изменения кислородного метаболизма клеток крови в антигенактивированном *in vitro* состоянии. Для рыб семейства карповых (лещ и плотва), АФК-продукционная активность клеток которых в 5-10 раз выше, чем у хищных рыб [ДАН1], характерны максимальные значения общего объема генерации АФК (S) при фагоцитозе, превышающие среднее межгодовое значение, для 2000 и 2005 гг. (табл.1), наименьшей эта величина была для леща в 2002 и 2006, а для плотвы в 2003 году. У окуня и щуки уровень продукции АФК достаточно стабилен, за исключением 2005 года, когда как и у мирных рыб зафиксирован эффект активации.

На фоне выявленной видовой специфичности кинетики респираторного взрыва в системе не фракционированной крови при антигенной стимуляции *in vitro* у рыб Красноярского водохранилища выявлена ее внутрисезонная ежегодно повторяющаяся динамика (рис. 1), характерная для всех обследованных видов. Ее особенностью является достоверно ($P < 0.01$) низкий уровень продукции АФК клетками крови в первой половине июня, совпадающий с наиболее низким температурным периодом летнего сезона [5] и периодом нереста. В конце июня – начале июля (2-й период) наблюдалось 2-3-кратное увеличение продукции АФК, у плотвы и окуня приближающееся к уровню среднелетнего межгодового значения, а у леща превышая его. Увеличение продолжалось в течение июля, а у плотвы и августа, с характерным смещением кривой у карповых рыб влево к концу лета, что свидетельствует об увеличении активности

Таблица 1 Межгодовая динамика величины параметра общей продукции АФК (S, имп. за 120 минут) клетками крови рыб при антигенной активации *in vitro*

Год Обследования	Окунь	Лещ	Плотва	Щука
Среднее многолетнее	3,84 ± 0,25 n=1086	34,98 ± 1,88 n=414	11,00 ± 2,30 n=296	1,06 ± 0,22 n=156
2000	2,06 ± 0,23 n=260	51,64 ± 4,06 n=139	23,44 ± 3,04 n=59	0,42 ± 0,07 n=46
2001	2,62 ± 0,31 n=201	31,28 ± 3,08 n=86	10,13 ± 2,05 n=43	1,240 ± 0,26 n=33
2002	1,44 ± 1,00 n=182	19,35 ± 2,18 n=106	5,21 ± 1,14 n=43	0,41 ± 0,03 n=59
2003	2,16 ± 0,74 n=90	27,89 ± 7,10 n=35	3,98 ± 1,02 n=78	0,29 ± 0,12 n=8
2004	3,8 ± 0,54 n=113	26,64 ± 9,70 n=7	5,64 ± 2,32 n=14	4,46 ± 2,00 n=3
2005	19,59 ± 2,00 n=77	40,18 ± 4,27 n=24	32,25 ± 7,91 n=4	9,35 ± 1,92 n=7
2006	6,83 ± 0,90 n=163	18,87 ± 4,70 n=12	12,62 ± 3,99 n=55	

прооксидантных факторов клеток крови. Подобные изменения отмечены и для лизосомальных ферментов рыб [8]. По количественному содержанию лейкоцитарных клеток в периферической крови выраженной динамики в летний период не выявлено.

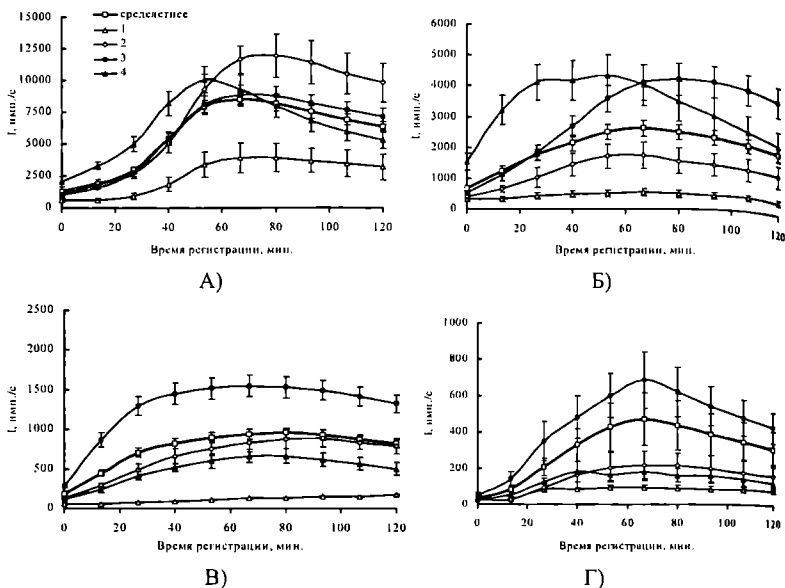


Рис. 1. Люминолуцилентная хемилюминисцентная кинетика генерации АФК клетками крови леща (А), плотвы (Б), окуня (В) и щуки (Г) среднего участка Красноярского водохранилища в летний период 2000-2006 гг.

1 – период 06.06-13.06; 2 – период 17.06-05.07; 3 – период 25.07 – 05.08; 4 – период 22.08 – 29.08.

Аналогичное изменение кинетики генерации АФК в летний период зафиксированы и у лещей-носителей плероциркоидов *Ligula intestinalis*. При этом, в 1-й, 3-й и 4-й временной периоды летнего сезона уровень продукции АФК зараженных особей был достоверно ($P < 0.05$) в 2 раза ниже, чем у не зараженных.

Хемилюминисцентная оценка функциональной активности клеток крови рыб обнаружила возрастное изменение активности продукции АФК клетками. Наиболее высокий уровень продукции АФК в условиях природного водоема характерен для леща в возрасте 8-10 лет, окуня – 3-4, плотвы – 5-8 лет. Закономерны отличия уровня кислородного метаболизма клеток крови рыб одного вида из различных биотопов (территориально отдаленных заливов водохранилища [7]).

Таким образом, использование хемилюминисцентного метода регистрации кислородного метаболизма фагоцитирующих клеток при антигенной стимуляции *in vitro* позволило выявить отличительные особенности функциональной активности клеток крови рыб разных видов, обитающих в условиях природного водоема, на протяжении летнего сезона на фоне изменяющегося температурного фактора и физиологического состояния рыб. Судя по особо низкому уровню продукции АФК клетками, в начале летнего периода и нереста рыбы являются наиболее подверженными паразитарно-антигенному воздействию из-за снижения их неспецифической резистентности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бахов Н.И., Майчук Ю.Ф., Корнев А.В. Механизмы защиты организма от вирусных инфекций: нейтрофильные лейкоциты //Успехи современной биологии. – 2000. – Т.130. - № 1. – С.23-35.
2. Белова Л.А. Биохимия процессов воспаления и поражения сосудов. Роль нейтрофилов //Биохимия. – 1997. – Т.62. – Вып.6. – С.659-668.
3. Гриневич Ю.А., Барабой В.А., Орел В.Э. Хемилюминесцентный метод в иммунологии //ЖМЭИ. – 1986. - № 1. – С.91-97.
4. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб (сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб). М.: Легкая и пищевая пр-сть, 1982. 184 с.
5. Красноярское водохранилище //А.А. Вышегородцев, И.В. Космаков, Т.А. Ануфриева, О.А. Кузнецова. Новосибирск: Наука, 2005. – 212с.
6. Лукьяненко В.И. Иммунология рыб. М.: “Пищевая пр-сть”, 1971. - 154 с.
7. Макарская Г.В., Лопатин В.Н., Тарских С.В. Хемилюминесцентный анализ функциональной активности фагоцитирующих клеток крови рыб //Доклады АН. – 2003. – т.390, № 3. – С.420-422.
8. Немова Н.Н., Высоцкая Р.У. Биохимическая индикация состояния. – М.: Наука, 2004. – 215 с.
9. Микряков В.Р., Балабанова Л.В., Заботкина Е.А. и др. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление среды. М.: Наука, 2001. 126 с.
10. Functional states of polymorphonuclear leucocytes determined by chemiluminescent analysis /M.Y. Magrisso, M.L. Aleksandrova, V.I. Markova et.al. //Luminescence. – 2000.- V.15. – P.143-151.
11. Stasiak S.A., Baumann P.C. Neutrophilic activity as a potential bioindicator for contaminant analysis //Fish & Shellfish Immunology. – 1996. – v.6. – P.537-539.
12. Tono-Oka, Norihito V., Takohide M. Chemiluminescence of whole blood: 1. A simple method for the estimation of phagocytic function of granulocytes and opsonic activity in whole blood //Clin. Immunol. Immunopathol. – 1983. – V.26, N 1. – P.66-75.

MONITORING RESEARCH OF A NONSPECIFIC RESISTANCE OF FISHES OF KRASNOYARSK WATER STORAGE BASIN G.V. Makarskaya, S.V. Tarskikh

The monitoring of an oxygenous metabolism of blood cells, activated by antigen in vitro, of fishes of Krasnoyarsk water storage basin in the summer season 2000-2006 years was conducted by a method of luminol chemiluminescent analysis. The distinctive features of functional activity of blood cells of fishes of different sorts are detected during a summer season on a background of a changing thermal factor and physiological state of fishes. The low level of production reactive oxygen species by fish blood cells in a start of the summer season and spawning predetermines, that the fishes are most subject to parasitosis-antigenic effect because of lowering their nonspecific resistance in this term.

ВЛИЯНИЕ РТУТЬОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА ПЛАНАРИЙ И ОЛИГОХЕТ

И. В. Медведев

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанова РАН, Борок, Россия e-mail: medigo@biv.voroslavl.ru

Тяжелые металлы являются одним из наиболее распространенных компонентов токсического воздействия на гидросферу. В эту группу входят химические элементы с плотностью больше 5 г/см^3 . Все тяжелые металлы обладают одним общим свойством – при попадании в природные среды в результате антропогенной деятельности, они начинают мигрировать и при определенных биогеохимических условиях и концентрациях начинают оказывать токсическое воздействие на живые организмы (Сухенко, 1995).

В ряду тяжелых металлов ртуть занимает особое положение. В результате антропогенной эмиссии в атмосферу попадает количество ртути, соизмеримое с участвующим в природном глобальном цикле (около 4000 т) (Fitzgerald, 1995).

Важнейшее свойство этого металла – метилирование, происходящее в водоемах с образованием токсичного для организмов соединения – метилртути, накапливающейся в тканях и органах водных животных (Bloom *et al.*, 1991).

Работы, посвященные изучению токсичности ртутьорганических соединений и метилртути, проводятся в основном на млекопитающих и птицах с наиболее развитой в животном мире нервной системой. Они находятся на вершине пищевой пирамиды и подвержены действию самых высоких концентраций метилртути (Wolfe *et al.*, 1998). После гибели рыб ртуть, накопленная в их органах и тканях, представляет угрозу и для питающихся этой рыбой беспозвоночных животных, которые являются постоянным компонентом биоценозов большинства водоемов (Порфирьева, Дыганова 1987).

В токсикологических исследованиях в качестве индикатора воздействия различного рода веществ используют уникальное свойство планарий и олигохет – способность регенерировать любую часть тела после повреждения или удаления. Течение этого процесса является крайне чувствительным к различного рода воздействиям (Pionteck, 1999).

Целью данного исследования было изучение регенерации у планарий и олигохет под влиянием метилированных соединений ртути, прошедших по отдельным звеньям трофической цепи.

Для экспериментов использовали олигохет *Lumbriculus variegatus* (Müller, 1773) и планарий *Dugesia tigrina* (Girard, 1850) (половая и бесполовая расы), *D. lugubris* (O. Schmidt, 1861) и *Polycelis tenuis* (Ijima, 1884).

Олигохет *Lumbriculus variegatus* содержали в пластиковых емкостях объемом 1 л с кусочками гигроскопичной бумаги в качестве искусственного субстрата в отстоянной водопроводной воде при температуре 23°C (Drewes, 1996). Раз в неделю в емкости с червями добавляли по 1 г фарша, приготовленного из мышечной ткани рыб *Solea solea* (низкое содержание ртути – 0.2 мкг/г сухой массы) и *Anaploptoma fimbria* (высокое содержание – 0.7 мкг/г сухой массы), выловленных в бухте Монтерей (Калифорния, США).

Для выращивания хирономид (*Chironomus riparius* Meigen, 1804) использовали кристаллизаторы емкостью 2 л с отстоянной водопроводной водой. В них помещали по 3-5 кладок. Каждую неделю в кристаллизаторы добавляли по 2 г фарша, полученного из мышечной ткани рыб с высокой концентрацией ртути (0.30-0.50 мкг/г сырой массы) и с низкой (0.02-0.07 мкг/г сырой массы). Рыбу отлавливали в Рыбинском водохранилище. Хирономиды питались бактериями, развивающимися на фарше.

Культивирование олигохет *Enchytraeus albidus* (Henle, 1837) проводили по стандартной методике (Грудцин, Ильина, 1977). Червей кормили фаршем из рыбы, помещенным в почву с червями на глубину 3-4 см.

Планарий содержали в пластиковых пятилитровых емкостях при температуре 19-22°C в затененных условиях. Животных кормили два раза в неделю: *Dugesia tigrina* и *D. lugubris* - личинками лабораторной культуры хирономид, *Polycelis tenuis* - олигохетами *Enchytraeus albidus*.

Таким образом, в эксперименте формировали пищевую цепь: фарш из мышечной ткани рыб - микроорганизмы - личинки хирономид или олигохеты - плоские черви. Накопление ртути хирономидами и олигохетами до уровней, определенных в фарше, происходило за 2-4 нед.

Регенерация головного и хвостового участков тела у олигохет. Животным отсекали головной и хвостовой участки тела. Оставшуюся часть тела, состоящую из 30 сегментов, использовали для экспериментов (по 50 в каждой группе с высоким и низким содержанием соединений ртути). Восстановление головных и хвостовых сегментов регистрировали два раза в неделю в течение 41 сут.

У половой расы *Dugesia tigrina* (3, 12 и 24 мес), бесполой расы *D. tigrina* (3 и 9 мес), *D. lugubris* (9 мес) и *Polycelis tenuis* (3, 6 и 9 мес выращивания на ртутьсодержащем корме) подсчитывали количество восстановленных фоторецепторных органов после поперечного рассечения животных перед глоткой.

У *Lumbriculus variegatus* уровни накопления ртути в организме уже через месяц были сопоставимы с концентрациями металла в рыбном фарше, на котором животных культивировали (табл. 1). У олигохет *Enchytraeus albidus*, обитающих в почве, накопление уровней ртути аналогичных таковым в корме, проходило в те же сроки что и у *Lumbriculus variegatus*, обитающих в водоемах. Таким образом, процесс накопления соединений ртути у олигохет не зависел от среды обитания.

Уровни накопления ртути планариями в экспериментах варьировали в широких пределах (0.08-15.97 мкг/г сырой массы). Одни виды (*Dugesia tigrina*, половая раса) планарий накапливали высокие уровни ртути после 3 мес содержания на корме с ее низкими концентрациями, тогда как другие (*D. lugubris*) даже спустя 9 мес имели концентрации, соизмеримые с таковыми в корме.

Таблица 1.

Содержание ртути в мышечной ткани рыб и олигохет *Lumbriculus variegatus*.

Объект	Концентрация ртути, мкг/г сухой массы	
	низкая	высокая
Мышечная ткань рыб	0.23±0.01 ^a	0.71±0.01 ^a
<i>Lumbriculus variegatus</i>	0.32±0.01 ^a	0.51±0.01 ^b

Приведены средние значения и их стандартные ошибки ($\bar{x} \pm m_x$); величины внутри каждой строки, имеющие разные буквенные надстрочные индексы достоверно различаются при уровне значимости $p=0.05$ (t-Стьюдента).

У использованных в экспериментах планарий отмечено накопление соединений ртути, которое происходило с разной динамикой. При высоком содержании ртути в корме, ее накопление интенсивнее проходило у половой расы планарий *D. tigrina* и *Polycelis tenuis*, по сравнению с бесполой расой *Dugesia tigrina* и *D. lugubris*. У бесполой расы планарий *D. tigrina* концентрация ртути даже снижалась с течением времени. При низком содержании ртути в корме, ее уровни в организме планарий *D. tigrina* (половая раса) постепенно уменьшались в течение двух лет, у планарий *Polycelis tenuis* - после 6 мес выращивания на корме с соединениями ртути было

зарегистрировано их увеличение (6 мес) и в дальнейшем после 9 мес снижение (табл. 2). Планарии вероятно имеют эффективный механизм выведения соединений ртути, но это предположение требует дополнительного исследования.

Таблица 2.
Динамика накопления ртути в теле планарий в зависимости от времени содержания в культуре.

Время содержания в культуре, мес	Концентрация ртути, мкг/г сырой массы	
	низкое содержание в корме	высокое содержание в корме
<i>Dugesia tigrina</i> (половая раса)		
3	1.23±0.01 ^a	4.80±0.04 ^b
12	1.01±0.003 ^a	7.71±0.09 ^b
24	0.74±0.01 ^a	10.30±0.06 ^b
<i>Dugesia tigrina</i> (бесполовая раса)		
3	0.08±0.003 ^a	2.95±0.05 ^b
9	-	0.95±0.03 ^b
12	-	0.64±0.004
<i>Dugesia lugubris</i>		
9	0.48±0.003 ^a	0.51±0.01 ^b
<i>Polycelis tenuis</i>		
3	0.85±0.02 ^a	4.59±0.12 ^b
6	3.93±0.07 ^a	15.97±0.24 ^b
9	1.09±0.01 ^a	9.27±0.03 ^b

Примечание, как в табл. 1.

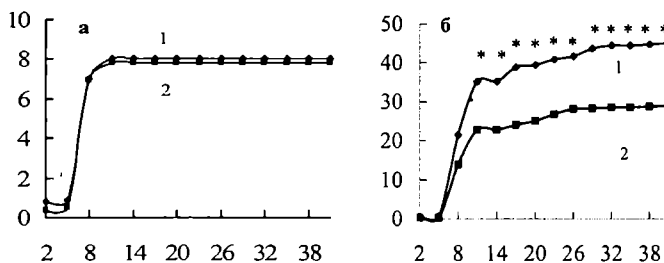


Рис. 1. Формирование головных (а) и хвостовых (б) сегментов у *Lumbriculus variegatus* с низким (1) и высоким (2) содержанием соединений ртути. По оси абсцисс – время регенерации, сут., по оси ординат – количество сегментов. * различия между вариантами эксперимента статистически достоверны при $p=0.05$ (*t*-критерий Стьюдента).

Восстановление головных сегментов, количество которых у этого вида постоянно (7-8), проходило интенсивнее первые 5 сут. у червей с низким содержанием ртути (рис. 1, а). Через 11 сут. у червей в обеих экспериментальных группах количество головных сегментов достигло первоначальных значений. Различия в числе восстановленных хвостовых сегментов носили достоверный характер на протяжении всего времени наблюдения (рис. 1, б)

Глазки у планарий начинают восстанавливаться вслед за ганглием, который регенерирует за 5 сут (Шейман, 1984), поскольку каждый фоторецепторный орган турбеллярный соединяется с головным ганглием специальным зрительным нервом (Иванов и др., 1981).

После 3 мес выращивания на корме с высокими и низкими уровнями содержания ртути у *Dugesia tigrina* (половая раса) глазки появлялись на 5-6 сут, после 12 мес - на 4-7 сут и 24 мес - на 4-6 сут после препарирования. У планарий с высоким содержанием ртути в организме, формирование глазков после 3, 12 и 24 мес выращивания на ртутьсодержащем корме начиналось на 1-2 сут позже, чем у червей с низким. Минимальные отличия по времени восстановления глазков между группами планарий с высоким и низким содержанием ртути в организме отмечены через 3 мес, а максимальные и статистически достоверные - 12 и 24 мес, когда различия в уровнях накопления ртути были максимальными.

После 3 мес выращивания планарий *D. tigrina* (бесполая раса) на корме с разным содержанием соединений ртути глазки появлялись на 6-е сут после продольного рассечения червей. Статистически достоверную разницу в количестве фоторецепторных органов наблюдали на 7-е сут после операции. В последующие сроки (9 мес) эффект торможения формирования фоторецепторных органов наблюдали даже при низком уровне накопления ртути в организме планарий этой расы.

Различия в количестве глазков у *D. lugubris* с низким и высоким содержанием ртути в организме были достоверными только на 10 сут после рассечения животных.

У планарий *P. tenuis* с низкой концентрацией ртути в организме после 3 мес выращивания на ртутьсодержащем корме (0.85 мкг/г сырой массы) глаза появлялись на 4-е сут после операции, с высокой (4.59 мкг/г сырой массы) - на 7-е сут. У последних, начиная с 10-х и по 17-е сут, количество фоторецепторных органов было достоверно ниже по сравнению с животными, накопившими низкие уровни металла. Впоследствии эти различия сохранялись, но были статистически недостоверными.

После 6 мес выращивания на ртутьсодержащем корме у *P. tenuis* восстановление глазков на хвостовых фрагментах червей обеих групп начиналось на 8-9 сут после операции. В последующие 10 сут интенсивность восстановления фоторецепторных органов у планарий с низкими концентрациями ртути была выше, чем у планарий с высокой концентрацией ртути. Далее (19-27 сут) количество глазков и скорость регенерации у животных из обеих групп были одинаковы.

Спустя 9 мес выращивания на ртутьсодержащем корме появление глазков у *P. tenuis* (единичные случаи) наблюдали на 6-8 сут после операции. Темпы формирования глазков были низкими в обеих группах планарий. До 14-х сут различия между регенерантами с низким и высоким содержанием соединений ртути (1.09 и 9.27 мкг/г сырой массы соответственно) носили достоверный характер. В дальнейшем появление глазков проходило фактически с одинаковой интенсивностью, различия между группами были незначительны.

Среди изученных видов планарий с низким содержанием ртути наиболее раннее формирование глазков отмечено у *P. tenuis*, более позднее - у *Dugesia lugubris*. *D. tigrina* по этому показателю занимала промежуточное положение. Высокое накопление ртути в организме планарий задерживало восстановление глазков: у *Polycelis tenuis* - в большей степени, у *Dugesia tigrina* и *D. lugubris* - в меньшей.

Планарии способны накапливать в своем организме высокие концентрации ртути, которые крайне редко встречаются как у других беспозвоночных так и у позвоночных животных в естественных условиях. Зарегистрированные уровни ртути не приводят к гибели червей. Это подтверждает предположение, что токсичность ртутьорганических соединений возрастает с развитием нервной системы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Иванов А. В. Большой практикум по зоологии беспозвоночных.-М.: Высш. шк., 1981.-504 с.
2. Порфирьева Н.А., Дыганова Р. Я. Планарии Европейской части СССР.-Казань: Из-во Казанск. ун-та.,-1987.-190 с.
3. Сухенко С. А. Ртуть в водохранилищах: новый аспект антропогенного загрязнения биосферы.-Новосибирск,-1995.-53 с.
4. Шейман И. М. Регуляторы морфогенеза и их адаптивная роль.-М.: Наука, 1984. 174 с.
5. Bloom N.S., Watras C.J., Hurley J.P. Impact of acidification on the methyl mercury cycle of remote seepage lakes // Water Air Soil Pollution.-1991.-Vol. 56.-P. 477- 491.
6. Drewes C. D. Those Wonderful Worms. Carolina Tips.-1996.-Vol. 59.-P. 17-20.
7. Fitzgerald W.F. Is mercury increasing in the atmosphere? The need for an atmospheric mercury network (AMNET) // Water Air Soil Pollution.-1995.-V. 85.-P. 245-254.
8. Pionteck M. Use of a planarian *Dugesia tigrina* Girard in the studies of acute intoxication // Pol. arch. Hydrobiol.-1999.-Vol. 46.-№ 1.-P. 41-48.
9. Wolfe M.F., Schwarzbach S., Sulaiman, R.A. The effects of mercury on wildlife: a comprehensive review // Environ Toxicol Chem.-1998.-Vol. 17.-P. 146-160.

THE EFFECT OF METHYL MERCURY COMPOUNDS OF NATURAL ORIGIN ON PLANARIANS AND OLIGOCHAETES I.V. Medvedev

This study was conducted to determine the effect of methylmercury of natural origin on formation of photoreceptor organs of the planarians *Polycelis tenuis*, *Dugesia lugubris* and *Dugesia tigrina*. Accumulation of methyl mercury in the planarian body leads to delay in regeneration of planarians *P. tenuis* with a numerous of photoreceptor organs in comparison with the species which have only two eyes. High concentrations inhibited the formation of photoreceptor organs in asexual and sexual races of planarians *D. tigrina*.

ПАРАЗИТЫ ТИХООКЕАНСКИХ ЛОСОСЕЙ, ПРИВОДЯЩИЕ К УХУДШЕНИЮ ТОВАРНОГО КАЧЕСТВА РЫБНОЙ ПРОДУКЦИИ

Надеева О.А., Сергеевко Н.В.

Камчатский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Петропавловск-Камчатский, Россия
e-mail: kamniroe@mail.kamchatka.ru

Рыбодобывающая отрасль — основная составляющая экономики Камчатки, а тихоокеанские лососи являются главным объектом промысла на полуострове. Качество рыбной продукции зависит от исходного сырья, поэтому инспектирование партий свежей рыбы и рыбы-сырца проводится в обязательном порядке, а также в период освоения новых объектов или новых районов промысла. В результате таких исследований выясняется необходимость дальнейшего определения зараженности рыб путем выборочного инспектирования.

Паразитические организмы являются обычными составляющими биоценозов. Некоторые из них не причиняют рыбам вреда и не представляют опасности для человека. Такие паразиты не влияют на качество рыбного сырья и продукции, они незаметны и большей частью выявляются только при специальном исследовании. Поэтому сам по себе факт нахождения в рыбе подобных организмов не может быть основанием для выбраковки или снижения сортности. Однако могут встречаться и такие, которые имеют эпидемиологическое значение для здоровья человека и эпизоотическое — для животных, и те, которые способны изменять физико-химические свойства рыбного сырья или портить товарный вид рыбы и рыбной продукции. Например, миксоспоридия *Heneguya zschokkei* размягчает мускулатуру рыб, что приводит к большим экономическим потерям из-за невозможности получить из большой рыбы доброкачественную продукцию при любых способах ее переработки, а шисты *Myxosoma dermatobia* значительно ухудшают товарный вид рыбы (Методика..., 1989). Гельминты родов *Anisakis* и *Diphyllbothrium* вызывают заболевания человека и некоторых теплокровных животных (Медицинская паразитология, 2002).

Определение степени зараженности лососей вышеуказанными паразитами имеет большое значение для последующего решения вопроса о возможности пищевого или иного использования рыбного сырья или продукции.

Материалом для настоящих исследований послужили тихоокеанские лососи, выловленные в бассейнах рек Авача, Паратунка и Большая в 1997-2004 гг. Всего обследовали 903 экз., из них горбуши (*Oncorhynchus gorbuscha*) — 214, кеты (*O. keta*) — 215, нерки (*O. nerka*) — 198, кижуча (*O. kisutch*) — 276 экз. Отбор проб от рыб производили не позднее двух — трех часов после вылова.

С поверхностей кожного покрова, плавников, жабр, стенок брюшной полости и внутренних органов собирали паразитов и помещали их в 70% этиловый спирт. При осмотре скелетной мускулатуры отмечали цвет, консистенцию, наличие кровонезлияний. Для определения зараженности рыб личинками лентецов и нематод мышцы разрезали на пластинки в поперечном направлении, толщиной 5 мм и просматривали. Паразитов исследовали с использованием светового микроскопа Olimpus BH-2, бинокулярного микроскопа МБС-10, их видовую принадлежность устанавливали с помощью отечественных и зарубежных определителей (Fagerholm, 1982; Определитель..., 1984, 1985, 1987; Blue book, 1994). Статистическую обработку проводили общепринятым методом (Ройтман, Лобанов, 1985).

Плероцеркоиды цестод *Diphyllbothrium sp.* находили у всех видов рыб в том или ином году во всех обследованных водоемах. Самые высокие показатели зараженности отмечали у кеты в 2001 г в р. Авача (экстенсивность инвазии (э.и.) — 66,7%,

интенсивность инвазии (и.и.) — 6 экз.), самые низкие — у кижуча в 2004 г. в реках Авача и Паратунка (э.и. — 6,7%, и.и. — 2 экз.).

Личинок дифиллоботриид у камчатских лососей обнаруживали на поверхности пищевода, желудка, пилорических придатков, кишечника, печени, гонад и в мускулатуре. Причем найдены капсулы двух видов: с плотной прикрепленной непрозрачной оболочкой, в которой нередко находилось по 2-3 плероцеркоида и с тонкой полупрозрачной оболочкой, иногда почти не прикрепленной к органам. До настоящего времени видовая принадлежность плероцеркоидов, выделенных от камчатских лососей, не определена, поэтому они объединены под названием *Diphyllobothrium sp.* По данным И.В. Фрезе с соавторами (1991), они обладают значительной модификационной изменчивостью, поэтому установление видовой принадлежности дифиллоботриид на личиночной стадии затруднено и возможно только с помощью методов электронной микроскопии (Andersen, Gibson, 1989). Молодь лососей заражается ими в пресноводный период жизни через промежуточных хозяев — планктонных ракообразных, преимущественно *Cyclops scutifer*. В связи с тем, что на Камчатке вблизи озер и рек гнездится большое количество чаек, которые являются definitive хозяевами цестод рода *Diphyllobothrium*, вероятно, что именно они в основном распространяют чаечных лентецов: *D. dendriticum* и *D. ditremum* (Карманова, 1998). Первый вид способен вызывать у человека заболевание дифиллоботриоз, которое характеризуется симптомами нарушения работы желудочно-кишечного тракта, тошнотой, головокружением, слабостью, анемией. В кишечнике человека лентец может вырастать до 5-7 м длиной. Удаляется из организма с помощью медикаментозных средств в стационарном лечебном учреждении (Астафьев и др., 1989).

Анизакидных личинок встречали у всех тихоокеанских лососей в 1997-2004 гг. во всех обследованных водоемах, причем в значительно большем количестве, чем дифиллоботриидных. Самой зараженной этим гельминтом была кета с 1997 г. по 2004 г. в реках Авача и Паратунка (э.и. — 95,9%, и.и. — 23,9 экз.) и нерка в 1997 г., 2003 г. в р. Большая (э.и. — 100%, и.и. — 15 экз.), в 2004 г. — в Авача (э.и. — 100%, и.и. — 6,7 экз.). Менее всех был заражен кижуч в 2002 г. в р. Авача (э.и. — 6,7%, и.и. — 3 экз.), в 2003 г. — в р. Паратунка (э.и. — 6,7%, и.и. — 3 экз.).

По мнению И.В. Кармановой (2002) степень инвазии рыб личинками *Anisakis sp.* определяют несколько причин. Первая — количество лет, проведенных рыбой в море, и способность личинок нематод накапливаться с возрастом. Среди обследованных рыб, по количеству лет дольше всех пробыла в море кета (4-5 лет). Вторая — предпочтительность питания кеты, нерки, горбуши, особенно неполовозрелых, амфиподами и копеподами — промежуточными хозяевами нематод.

По нашим наблюдениям, основным местом локализации личинок *Anisakis sp.* у рыб является мускулатура, преимущественно наружная и внутренняя косая мышца брюшка, реже — мышцы спины, а также поверхность печени. Чаще всего личинки закручены в спираль и имеют полупрозрачную капсулу независимо от локализации. При удалении нематод из мышц рыбы, на их месте образуются небольшие кровоподтеки от лопнувших капилляров, которые могут стать причиной проникновения вторичной инфекции. Такая рыба быстрее портится, у нее появляется неприятный запах, товарные качества снижаются (Карманова, 1998). Как правило, обнаруженные у рыб нематоды, были на III стадии развития, поэтому в настоящих исследованиях их видовое название не указывается. В цикле развития анизакид участвуют мелкие ракообразные и рыбы, а также морские млекопитающие: китообразные (киты, дельфины, касатки) и ластоногие (тюлени, нерпы, белухи). Из всего семейства лососевых рыб заражение ими происходит только у проходных и полупроходных видов. Начинается инвазия в прибрежье (Буторина, 1976), а

продолжается в морской и океанической зонах нагула за счет питания рыб представителями различных групп пелагических и бентосных беспозвоночных (Вальтер, Полова, 1974). Кроме этого, лососи могут приобретать личинок при питании зараженной молодью других видов рыб (минтая, сельди, терпуга, корюшки, бычков, мойвы), а также молодью кальмаров (Margolis, 1972).

Заражение человека живыми личинками анизакид и дифиллоботриид может происходить при употреблении в пищу сырой, слабосоленой или недостаточно обработанной каким-либо термическим способом рыбы, что связано с относительно высокой устойчивостью этих паразитов к воздействию температуры и солевых растворов (Гаевская, Ковалева, 1975).

Опасность инвазии людей этими паразитами на полуострове существует постоянно, поскольку, по нашим наблюдениям, экстенсивность заражения ими лососей достаточно высока. Первый случай заражения человека личинкой *Anisakis sp.* на Камчатке был зафиксирован в 1996 г. в г. Петропавловске-Камчатском (Медицинская паразитология, 2002). Заболевание, которое вызывают живые личинки нематод рода *Anisakis* у человека, — анизакидоз — характеризуется специфическим синдромом, известным под названием «visceral larva migrans». Попадая в пищеварительный тракт, они внедряются в стенку желудка или кишечника, вызывая эозинофильную гранулему (Jacobsen, Berland, 1969). Нематоды, для которых человек является неспецифическим хозяином, гибнут. Затем в стенке желудка или кишечника происходит их разложение. Развивающееся воспаление и отечность слизистой оболочки желудка, похожи на симптомы острого гастрита. Воспаление в кишечнике может повлечь за собой непроходимость его тонкого отдела (Awakura, 1980). Нематод из организма человека, чаще всего, удаляют хирургическим путем.

По Санитарным правилам и нормам (Профилактика паразитарных болезней..., 2003), зараженная данными гельминтами рыба, считается «условно годной» и для нее обязателен режим обработки, гарантирующий обезвреживание от возбудителей. Промышленные способы переработки рыбы (консервирование, засолка, копчение) полностью уничтожают личинок. Кроме того, они гибнут в условиях заморозки при – 20 °С в течение 1-2 суток; в морозильной камере бытового холодильника при – 4 °С – через 25-30 дней; при домашнем способе посола в холодильнике – не раньше, чем через 15 дней.

Микроспоридию *M. dermatobia* встречали ежегодно (кроме 2001-2003 гг.) только у кижуча во всех обследованных водоемах. Самые высокие показатели зараженности были в 1997 г. в р. Авача (э.и. — 33,3%, и.и. — >50 экз.), самые низкие — в 1998 г. в р. Большая (э.и. — 5%, и.и. — 25 экз.).

Цисты *M. dermatobia* располагались на коже рыб в виде бугорков, содержащих большое количество спор. При их вскрытии отмечали потерю чешуи. Заражение этим видом микроспоридии происходит у молоди рыб в пресноводный период жизни, когда в реках накапливается большое количество спор от инвазированных взрослых особей (Вялова, 2003).

Споры микроспоридии *H. zschokkei* отмечали у кижуча в 1997-2004 гг. во всех обследованных водоемах и у кеты в 2001 г., 2003 г. в р. Авача. В каждом случае показатели зараженности были незначительными.

Заражение рыб *H. zschokkei* предварительно определяли по изменению консистенции мускулатуры. Этот паразит относится к пресноводному комплексу, то есть поражает покатную молодь в период миграции к морю. Заражение происходит в пресной воде, а развитие вегетативных цист и спорообразование — в морской, причем их размеры, как правило, зависят от продолжительности морского периода жизни рыб (Margolis, 1972). Масса спор, вышедших из цист, рассеивается и, чем больше их

количество, тем сильнее проявляется разжижение мускулатуры. При сильной инвазии рыбы и расположении вегетативных цист под кожей на ней могут образовываться язвы от разрыва последних, где впоследствии развивается вторичная инфекция.

У лососей во всех обследованных водоемах обнаружили личинок нематод *Anisakis sp.* и плероцеркоиды цестод *Diphyllobothrium sp.*, вызывающих гельминтозы человека. Наибольшее эпидемиологическое значение для распространения дифиллоботриоза на полуострове, по нашим наблюдениям, имеет кета, для анизакидоза — кета и нерка. Инвазии простейшими *H. zschokkei* и *M. dermatobia*, влияющими на качество рыбной продукции, наиболее подвержен кижуч.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Астафьев Б.А., Яроцкий Л.С., Лебедсва М.Н. Экспериментальные модели паразитов в биологии и медицине. – М.: Наука. 1989. 279 с.

Беляков В.Д., Яфаев Р.Х. Эпидемиология. – М.: Медицина. 1989. 416 с.

Вялова Г.П. Паразитозы кеты (*O. keta*) и горбуши (*O. gorbuscha*) Сахалина. – СахНИРО. Южно-Сахалинск. 2003. 192 с.

Гаевская А.В., Ковалева А.А. Болезни промысловых рыб Атлантического океана. – Калининград. 1975. 124 с.

Карманова И.В. Паразиты тихоокеанских лососей в эпизоотической обстановке паразитозов в бассейне р. Паратунки (Камчатка). Автореф. дис. канд. биол. наук. – ИНПА РАН. Петропавловск-Камчатский. 1998. 23 с.

Карманова И.В., Плашкова В.В., Нечаева О.Ю., Губина В.В. Случай анизакидоза у человека на Камчатке // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – М.: С-Инфо. 2002. № 2. С. 32-33.

Карманова И.В., Линева Г.П. О зараженности лососевых рыб водоемов Камчатки нематодами рода *Anisakis* // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – М.: С-Инфо. 2002. № 3. С. 19-21.

Методика паразитологического инспектирования морской рыбы и рыбной продукции (морская рыба-сырец, рыба охлажденная и мороженая). – М.: 1989. 44 с.

Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. Паразитические простейшие. Под ред. О.Н. Бауера. Л.: Наука. 1984. Т. 1. 428 с.

Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. Паразитические многоклеточные. Под ред. О.Н. Бауера. Л.: Наука. 1985. Т. 2. Часть 1. 424 с.

Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. Паразитические многоклеточные. Под ред. О.Н. Бауера. Л.: Наука. 1987. Т. 3. Часть 2. 580 с.

Профилактика паразитарных болезней на территории Российской Федерации. СанПиН 3.2.1333–03. МЗ РФ. – М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2003. 67 с.

Ройтман В.А., Лобанов А.А. Метод оценки численности гемипопуляций паразитов в популяции хозяина // Исследования по морфологии, таксономии и биологии гельминтов птиц. Тр. Гельминтол. лаб. АН СССР. 1985. Т. 33. С. 102-123.

Фрезе В.И., Викгрэн Б.Ю., Билунд Й. Модификационная изменчивость плероцеркоидов лентецов (род *Diphyllobothrium*) в связи с особенностями структуры их видовых экологических ниш // Тр. Гельмин. Лабор. АН СССР. 1991. Т. 5. 538 с.

Andersen K.J., Gibson D.I. A key to three species of larval *Diphyllobothrium* Cobbold, 1858 (*Cestoda: Pseudophyllidea*) occurring in European and North American freshwater fishes // *Sestenic Parasitology*. 1989. V. 13 № 1. P. 3-9.

Awakura T. On the parasites and parasitic diseases of salmonid fish in Hokkaido // *Fish Pathology*. 1980. № 14. P. 207-209.

Blue book. Suggested procedures for the detection and identification of certain finfish and shellfish pathogens. Ed. J.C. Thoesen // 4th ed. Ver. I. Fish Health Sec. Am. Fish. Soc., 1994. 294 p.

Fagerholm H.P. Parasites of fish in Finland. VI *Nematodes* // Inst. of. Abo Akademi, 1982. 128 p.

Margolis L. Parasitology of Pacific salmon – an overview // Aspects of Parasitology. Ed. E. Meerovitch McGill. Univ. Montreal. 1982. P. 135–226.

The parasites of Pacific salmon bringing to deterioration of the marketable quality of fish production.

Nadeeva O.A., Sergeenko N.V.

The parasitologic analysis of invasion of Pacific salmon pathogens, influencing on their commodity quality and having epidemiological value by results of researches of 1997-2004 is carried out. The kinds of salmon having the greatest epidemiological value for distribution of the anisakiosis and difillobothriosis on Kamchatka peninsula are determined.

ЭКОЛОГО-ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ РЫБОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ВОДОЕМОВ В УСЛОВИЯХ ИНТЕГРИРОВАННЫХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Наумова А.М., Домбровская Л.В., Наумова А.Ю., Тарапова Л.А., Матвеева Е.И.,
Белякова В.И., Шахпендерян Е.Н.

*ГНУ «ВНИИ ирригационного рыбоводства», Россия, 142460, Московская обл.,
Гогинский район, п. Воробьего*

В условиях интегрированных сельскохозяйственных технологий при рыбохозяйственном использовании водоемов существует опасность возникновения биологического и химического загрязнения водоемов в связи с их расположением в зоне сельскохозяйственного производства. Неконтролируемое попадание в водоем навозных стоков с ферм, помета от водоплавающей птицы и околородных животных, пестицидов и удобрений с сельскохозяйственных угодий при недостаточном самоочищении водоемов приводит к отрицательному воздействию на рыб факторов риска.

Современное развитие интегрированных сельскохозяйственных технологий, предусматривающих выращивание рыбы в интеграции с другими сельскохозяйственными объектами, требует для успешного производства экологически чистой рыбной продукции максимального обеспечения оптимальных условий содержания рыб, разработки средств и методов соответствующего контроля за качеством среды и здоровьем рыб и предупреждения возможного загрязнения рыбоводного водоема химическими и биологическими загрязнителями своевременным проведением оптимизационных мероприятий.

В этой связи актуальным является проведение постоянного эколого-эпизоотологического мониторинга в рыбохозяйственных водоемах зоны сельскохозяйственного производства в условиях интегрированных технологий.

Проведенные ранее исследования по изучению экологического и ветеринарно-санитарного состояния рыбоводного водоема в условиях совместного выращивания рыбы и водоплавающей птицы позволили разработать схемы факторов риска и экологического мониторинга для ВКН в целях контроля выращивания рыбы, производства экологически чистой продукции и охраны окружающей среды.

В соответствии с разработанными схемами был проведен контроль факторов риска в условиях интегрированных технологий модельного хозяйства ОПХ ВНИИР с учетом возможного биологического и химического загрязнения опытного водоема. На опытном водоеме выращивали в основном карповых (карпа, растительноядных и др.) рыб, на водно-прибрежных угодьях - водоплавающую птицу (утки, гуси) и околородных животных (нутрии).

При оценке биологических факторов загрязнения принимали во внимание следующее:

- возможный завоз патогенов с рыбопосадочным материалом и их наличие у рыб в период выращивания, а также у аборигенной ихтиофауны;
- наличие патогенов и возбудителей зоонозов в помете или навозе выращиваемых сельскохозяйственных объектов на водно-прибрежных угодьях опытного пруда;
- бактериальную обсемененность (по ОМЧ и энтеробактериям) воды и донных отложений водоема, а также результаты ветеринарно-санитарной экспертизы рыбы.

При завозе рыбопосадочного материала из условно благополучных рыбопитомников было получено ветеринарно-санитарное свидетельство, что позволило

считать завозимых рыб благополучными, а также сделать вывод о том, что наличие незначительного количества паразитов (единичных инфузорий рода *Trichodina*, гельминтов моногеней родов *Dactylogyrus* и *Gyrodactylus* – на коже и жабрах, метасцеркарий трематод р. *Diplostomum* - в хрусталиках глаз), обнаруженных у рыб (карпа и растительноядных) в вегетационный период, соответствует местному происхождению, а их количество (экстенсивность и интенсивность инвазии) свидетельствует об экологически безопасном уровне биологического загрязнения, что не оказывает существенного влияния на их выращивание.

Одновременно были проведены бактериологические исследования помета птицы (гуси, утки) и околородных животных (нутрии). Водоплавающие птицы и околородные животные могут быть источниками патогенов, опасных для человека. Это вирус гриппа птиц, возбудители сальмонеллеза, листериоза и др. Именно на эти патогены следовало обратить особое внимание. Результаты исследований показали, что в выделенной микрофлоре не выявлено существенных отклонений от нормы. Однако в помете исследуемых объектов обнаружены энтеробактерии (*E.coli*, *Streptococcus faecalis*), которые, попадая в воду, увеличивают их накопление в воде и почве (донных отложениях), что может приводить к постепенному биологическому загрязнению водоема и требует проведения оптимизационных экологических и противоэпизоотических мероприятий (дезинфекции). Выявленные бактерии *Staphylococcus intermedius* у нутрий и *Vibrio* sp. у утки оказались специфичными и не опасными для рыб. Антропозоонозных бактерий – сальмонелл, сульфит редуцирующих клостридий и нерсиний не выделено.

Бактериальная обсемененность воды и донных отложений, оцененная по показателям ОМЧ и наличию энтеробактерий, увеличивалась в воде к середине вегетационного периода с $3,3 \cdot 10^3$ до $2,2 \cdot 10^5$ КОЕ/мл в районе водного птичьего вольера, что в сущности лишь в два раза превышало показатели контрольного участка, свободного от присутствия водоплавающей птицы. Повышенному количеству микрофлоры в воде соответствовало и большее содержание микрофлоры в почве (донных отложениях) (10^6 против $1,05 \cdot 10^5$ КОЕ/г в контроле). Одновременно в районе птичьего вольера и в воде и в донных отложениях выявлено увеличенное количество энтеробактерий ($1,2 \cdot 10^4$ КОЕ/мл, $2,1 \cdot 10^3$ КОЕ/г), что оказалось выше по сравнению с контролем на порядок в воде и на два порядка в донных отложениях. К осени к концу августа общее микробное число и количество энтеробактерий и в воде и в донных отложениях в водной части птичьего вольера и в контрольном участке существенно снизилось и отражало относительное благополучие водоема. Следует отметить, что в районе кормовых мест показатель ОМЧ и количество энтеробактерий было повышенным, в особенности в почве (донных отложениях). Для уменьшения численности энтеробактерий, являющихся показателем загрязнения водоема, необходимо проведение оптимизационных мероприятий: дезинфекции по воде и ложу по периметру пруда в связи с тем, что кормовые места были расположены по периферической части акватории пруда.

СХЕМА ФАКТОРОВ РИСКА в ВКН
(к модели экологического мониторинга)

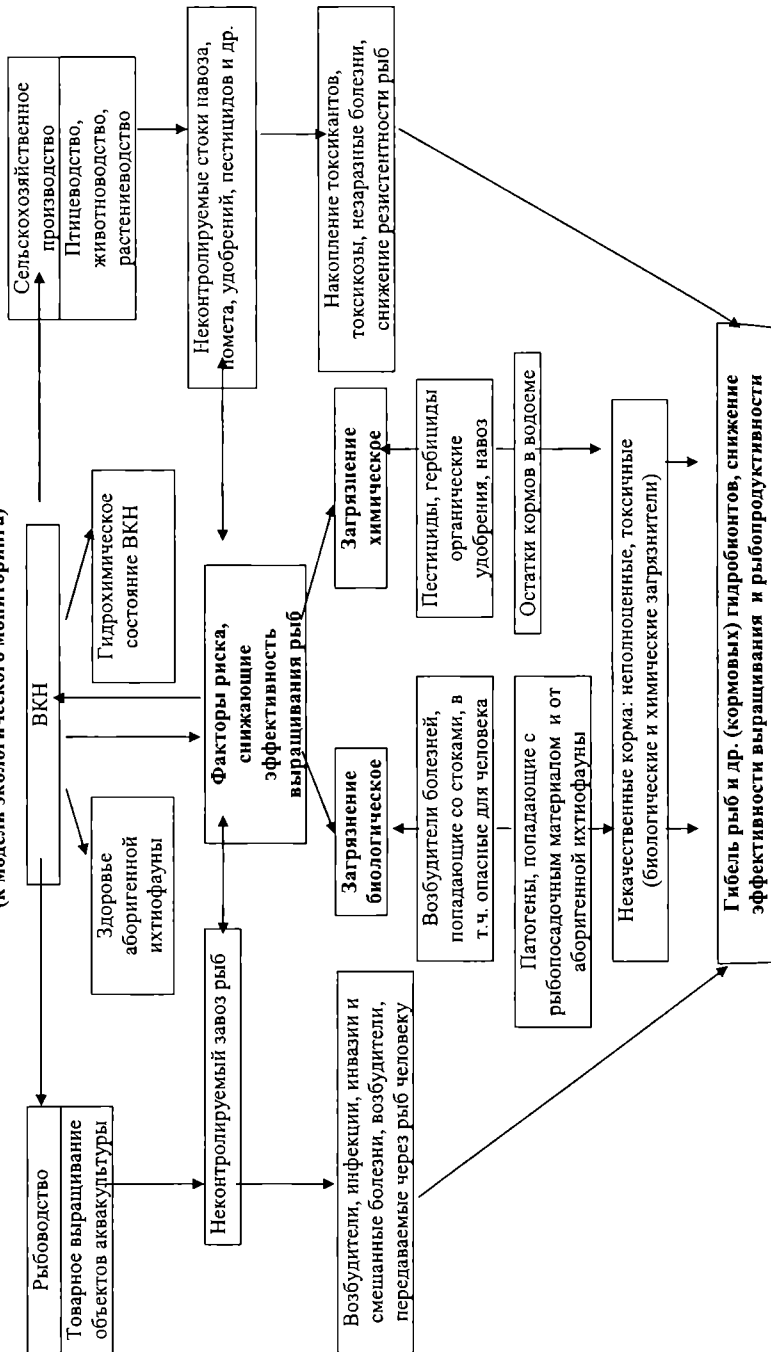
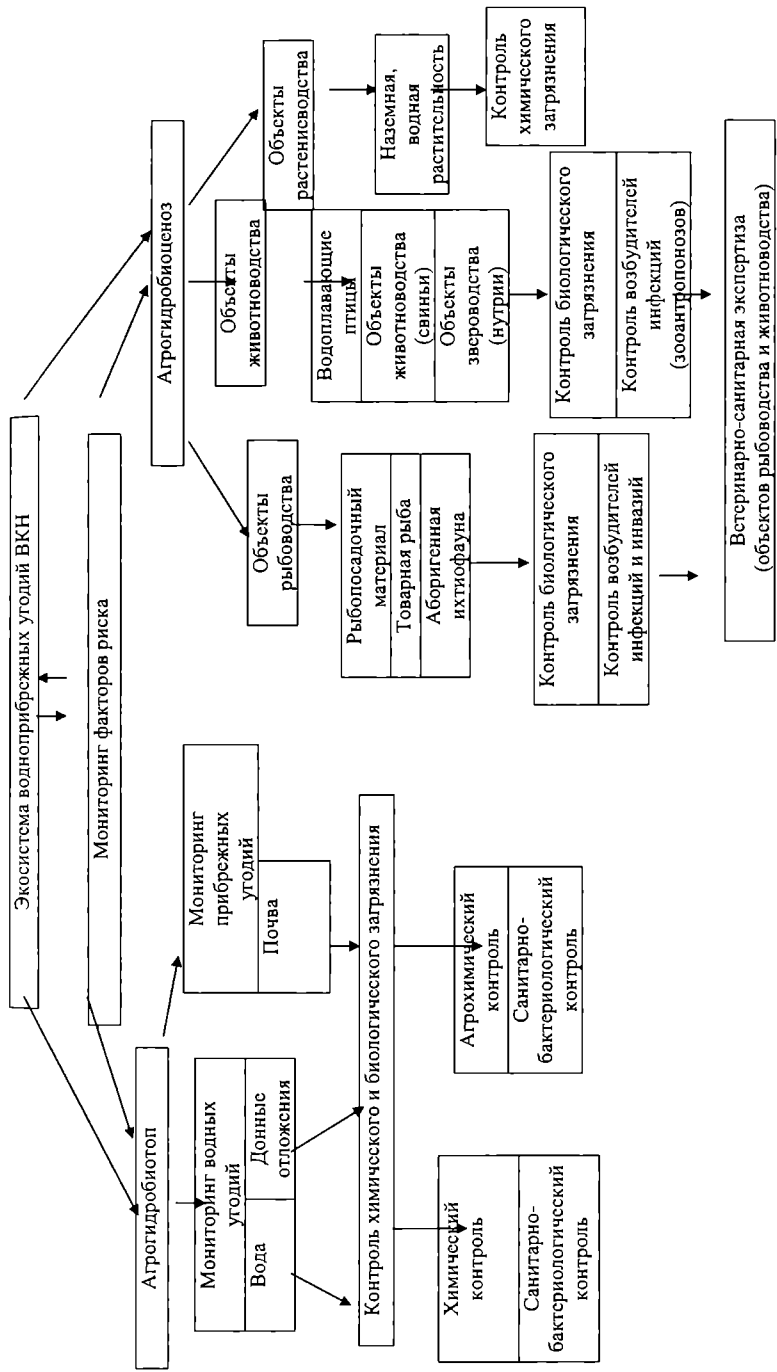


Рис. 1

Схема экологического мониторинга ВКН при выращивании рыбы в интеграции с объектами с/х производства (рис. 2)



Контроль химического загрязнения водоема включал оценку результатов химических исследований воды и почвы (донных отложений).

Наиболее критическими в отдельные периоды оказались следующие показатели качества воды: содержание кислорода (понижалось до 1,6 мг/л), перманганатная окисляемость (повышалась до 35,4 мгО₂/л), уровень аммонийного азота (повышался до 2,5-3,0 мг/л). Причем эти неблагоприятные значения, отмеченные не только на опытных, но и на контрольном участках, существенно не различались. В сравнении с предыдущими годами эти показатели на опытом участке постепенно улучшались, что нельзя было сказать о контрольном участке, на котором отсутствовали сельскохозяйственные объекты. Именно эти показатели можно отнести к факторам риска в условиях интегрированной технологии на модельном хозяйстве ОПХ ВНИИР.

Контроль химического загрязнения почвы (донных отложений) водоема включал оценку результатов химических исследований содержания азота, фосфора, калия, органического углерода. В донных отложениях происходило накопление соединений нитратного азота, фосфора и калия. В текущем году по сравнению с предыдущими годами в донных отложениях водной части вольера с водоплавающей птицей уменьшилось содержание фосфора, калия и азота, что может быть вызвано существенными изменениями структуры агрогидробиоценоза при полном скашивании макрофитов в водоеме и выносом водо-растворимых элементов из донных отложений.

Ветеринарно-санитарная экспертиза выращенной рыбы свидетельствовала о её благополучии (и соответствии требованиям сертификации на выращенную рыбу на продукцию).

Анализ полученных результатов эколого-эпизоотологического мониторинга позволил выявить факторы риска в условиях интегрированных технологий модельного хозяйства оказывающих отрицательное влияние на рыб, и дать положительную оценку разработанной схеме мониторинга.

Для обеспечения здоровья объектов интегрированной сельскохозяйственной технологии необходимо соблюдение экологических и ветеринарно-санитарных требований по качественным и количественным показателям эколого-эпизоотологического мониторинга и их своевременная оптимизация. Оптимизационные мероприятия (в период рыбоводной эксплуатации водоема в условиях интегрированной технологии) должны быть комплексными, экологически безопасными, обеспечивать производство экологически чистой продукции и охрану окружающей среды.

ECOLOGICAL AND EPIZOOTOLOGICAL MONITORING IN FISH POND IN CONDITIONS OF INTEGRATED AGRICULTURAL TECHNOLOGY

Naumova A. M., Domrbovkaya L.V., Naumova A.Y, Taranova L.A., Matveeva E.I., Belyakova V.I., Shachpenderyan E.A.

Worked out schemes factors of risk and ecological monitoring for pools wich located in zone agricultural production. Carry out ecological monitoring during fish-breeding together with agricultural objects.

МЕТОД ЭКСПЕРТНОЙ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ РЫБ

Ю.С.Решетников, О.А.Попова

*Институт проблем эволюции и экологии им. А.Н.Северцова РАН
Москва, Россия, e-mail: reshetnikov@sevin.ru*

В связи с усилением влияния хозяйственной деятельности человека на наземные и пресноводные экосистемы насущными проблемами во всем мире стали загрязнение больших территорий промышленными, сельскохозяйственными и бытовыми стоками, атмосферный перенос загрязнений на большие расстояния, "кислотные дожди", радиоактивное загрязнение, потеря биологического разнообразия. Во многих пресноводных экосистемах наблюдаются сукцессионные изменения в структуре рыбной части сообщества (Решетников, 1994, 2004).

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. Загрязнение самой воды и обитателей водоемов ставит под вопрос возможность хозяйственного использования последних.

Первоочередная задача научных исследований - обнаружение зон экологического кризиса и экологического бедствия. Есть несколько методов выявления таких зон, прежде всего - химические методы определения вредных веществ в окружающей среде, расчет критических нагрузок и ПДК. Однако оценка качества среды путем определения концентрации каждого загрязнителя и его токсичности является крайне дорогостоящей и дает мало сведений для понимания патогенного влияния на популяции и сообщества. Между тем хорошо известно, что само состояние водных гидробионтов и интегральная биологическая оценка "здоровья" экосистем может служить обобщенным показателем степени экологического благополучия водоема (Решетников и др., 1999; Попова и др., 1997; Adams, 1990; Meyer and Barclay, 1990). Рыбы, как последнее звено в трофической цепи водоемов, в ряде случаев представляют собой хорошие тест-объекты. Есть несколько подходов к оценке воздействия токсикантов на рыб (Лукинянко, 1987; Флеров, 1989; Кашулин, Решетников, 1995; Решетников, 1995; Решетников, Попова, 1995; Amundsen et al., 1997; Решетников и др., 1999; Reshetnikov et al., 2002 и др.).

Наши исследования проводились на водоемах Кольского п-ова, для которых наибольшую опасность представляют комбинаты "Северо-никель", "Печенганикель" и "Апатит". Мониторинговые работы проводились с 1991 по 2005 гг в районе российско-норвежской границы на ряде озер и водохранилищ системы реки Пасвик, расположенных на разном расстоянии от источника загрязнения.

Для оценки влияния промышленных загрязнения на рыб нами был предложен новый метод экспертной оценки состояния особи, популяции и всей рыбной части сообщества водоема на основе патолого-анатомических и экологических показателей рыб. Это интегрированный индекс неблагоприятного состояния (ИНС), который в виде одного числа выражает состояние особи. Метод объединяет в себе патолого-анатомические, морфометрические, экологические и некоторые физиологические показатели рыб. Предлагаемый метод прост и может быть широко использован в обычных ихтиологических исследованиях при контроле за изменениями в естественных экосистемах при любых видах антропогенного воздействия. Показано, что самцы и самки различных видов рыб (сиг, окунь, щука) по этому показателю практически не различаются, но он выше у старых рыб, поскольку с возрастом происходит накопление в организме рыб вредных веществ и разного рода аномалий. ИНС отдельных популяций различается в зависимости от степени загрязнения водоема и хорошо коррелирует с содержанием тяжелых металлов в теле рыб.

Как показали наши исследования, в первую очередь при сильном загрязнении страдают жабры, печень и почки (Кашулин, Решетников, 1995; Решетников, Попова, 1995). Прежде всего резко меняется цвет **жабр** у рыб. Жабры у свежеспойманных рыб в норме имеют равномерную темно-вишневую окраску. В начальной стадии токсикоза их цвет меняется до бледно-розового, увеличивается количество слизи. Более глубокие поражения вызывают гиперемию, ярко выраженную синюшность, ослизнение, на лепестках вдоль жаберной дуги появляется голубое анемичное кольцо; ярко выраженное анемичное кольцо в дальнейшем сопровождается некрозом жабр. Со временем меняется и форма **жаберных тычинок**: некоторые из них раздваиваются, другие загибаются на конце, отмечен также неровный ряд тычинок и их укороченные; при сильном поражении рыб часть тычинок редуцируется, а в ряду тычинок появляются пропуски.

Печень у сегов и окуня в норме имеет темно-вишневый цвет с небольшими вариациями в оттенках. Аномалии печени проявляются в изменении ее цвета, размера, формы и структуры. На ранних стадиях токсикоза печень становится пятнистой или мозаичной. Гамма оттенков - от красного до песочного и рыжего. Размер печени и ее форма также претерпевают сильные изменения. У сегов и шуки печень уменьшается, укорачивается и истончается, изредка образуются отдельные доли. У окуня печень по форме напоминает перчатку, она истончается до такой степени, что превращается в тонкую полупрозрачную пластинку с несколькими лепестками, внутри которых четко видна сеть сосудов. Часто обнаруживаются признаки цирроза печени, в этом случае печень приобретает рыжий цвет и зернистую структуру. На последних стадиях поражения печень становится очень дряблой по консистенции и легко размазывается при надавливании.

Почки на загрязнение среды прежде всего реагируют изменением цвета, они становятся сине-зелеными или бурыми, затем появляются соединительно-тканые разрастания, прежде всего в хвостовой части, почечная ткань приобретает зернистую структуру. В дальнейшем они теряют свою однородность, поражение охватывает весь орган. При надавливании на почку под пальцами ощущаются мелкие песчинки, что свидетельствует о начальной стадии нефрокальцитоза. Нефрокальцитоз - наиболее часто встречаемое заболевание почек рыб в районе воздействия стоков медно-никелевого производства (поражено до 80% сегов). При развитии этой болезни в среднем и заднем отделах почки наблюдается значительное расширение протоков и в них обнаруживаются камни диаметром до 5 мм. Камней может быть много, а объем почки при этом соответственно увеличивается. При сильной закупорке протоков наблюдается водянка почки.

В сильно загрязненных водоемах (Куетсиявр) нами наблюдались многочисленные случаи аномального развития плавников, костей черепа, позвонков (изгибы и срастания позвонков). У рыб наблюдается снижение мышечного тургора за счет разложения соединительно-тканых перегородок между сегментами мускулатуры (миопатия). Подобное явление отмечали у всех видов рыб в районе г.Никеля. На первых стадиях заболевания тело становится дряблым даже у живых рыб. При более глубоком поражении организма при слабом надавливании на теле остаются вмятины, а при максимальном токсикозе мышцы легко отделяются от костей и распадаются на отдельные миосепты. Иногда в мышцах встречаются свищи и пустоты. У шуки и окуня в наиболее загрязненных водоемах мышцы бывают окрашены в голубой или зеленоватый цвета.

Аномалии, связанные с миопатией, отмечались у рыб разного возраста. Они могли появляться и в последние годы жизни рыбы. Срастание же и разрушение отдельных позвонков, скорее всего, обусловлены воздействием токсикантов на этапах эмбрионального развития.

Воспроизводительная система также имеет целый ряд патологических изменений, которые диагностируются визуально и при гистологическом исследовании. Основные аномалии в системе воспроизводства у рыб могут быть суммированы следующим образом:

1) Изменялась форма гонад (асимметрия гонад, крайний вариант - наличие лишь одной гонады; гонады у самцов с перетяжками, у самок - дольчатые или с перетяжками; гонады срастаются между собой или прирастают к кишечнику; гонады не имеют выходного отверстия из полости тела).

2) Менялся цвет гонад и половых клеток.

3) Отмечены нарушения в структуре ткани гонад (жировое перерождение ткани гонад; появление новообразований в ткани гонад; замена части гонад соединительно-тканными образованиями).

4) Визуально регистрировались нарушения в синхронности развития гонад (семенник в передней части на II стадии, в средней части - на III-IV, в конце - на V стадии развития; гонады у созревающих самцов на III-IV стадии в 2-4 раза меньше нормы; частичная или полная резорбция яйцеклеток; после окончания нереста в гонадах остается много невыветанных половых продуктов).

4) Появление интерсексуальных особей (даже визуально отмечены гермафродиты у сига и налима, а в районе Норильского комбината - и у других видов рыб: ряпушки, муксуна, чира и гольца. Гистологический анализ показал увеличение количества гермафродитных особей на порядок по сравнению с визуальной оценкой) (Чеботарева и др., 1997; Решетников и др., 2000).

На основании оценки состояния рыб в водоемах системы р.Пасвик и данных о концентрации никеля в среде и в рыбах выделены три экологические зоны, которые имеют следующие характеристики.

1). ЗОНА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО КРИЗИСА. Содержание никеля в воде достигает 30-35 мкг/л (вдвое выше критической) и в седиментах - более 10 мкг/л. Здесь наблюдаются максимальные концентрации тяжелых металлов в органах рыб и максимальные отклонения от нормы по всем морфо-патологическим показателям у рыб. Особенно сильно и практически у всех особей поражены печень и почки, отмечены случаи гибели рыб. Значения ИНС у сига в этой зоне колеблются от 5 до 20, составляя в среднем 10-15 для разных популяций; у окуня - 12-17 и у щуки - 15-19. Этот район в виде кольца радиусом 10-15 км охватывает источник загрязнения. Интересно подчеркнуть, что рыбы в зоне экологического кризиса имеют минимальное количество паразитов (последние тоже погибают в плохих условиях обитания). Из водосомов этой зоны рыбу нельзя употреблять в пищу (как грибы и ягоды), особенно в летние и осенние месяцы, возможны случаи отравления рыбой. В этих водоемах следует вообще запретить лов рыбы.

2) ЗОНА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО БЕДСТВИЯ охватывает район, находящийся на расстоянии от 10 до 30 км от источника загрязнения, здесь концентрация никеля в воде достигает 5-30 мкг/л и в седиментах - 5-10 мкг/л. Значения ИНС колеблются от 5 до 13 и составляют в среднем 5-7 у сига, 8-13 - у хищников. Рыбы ослаблены, обильно заражены паразитами, часто нарушена система детоксикации (жабры, почка, печень) и воспроизводительная система. Здесь происходит накопление тяжелых металлов во внутренних органах рыб, и минимальные концентрации наблюдаются в мышцах, поэтому рыбу можно употреблять в пищу только в виде филе, тщательно удаляя чешую, кожу, жабры и все внутренние органы. Промысел рыбы желательно перенести на весенние месяцы.

3). ЗОНА ОТНОСИТЕЛЬНОГО ЭКОЛОГИЧЕСКОГО БЛАГОПОЛУЧИЯ располагается более чем в 30 км от источника загрязнения, концентрации никеля в воде и в седиментах не превышают 5 мкг/л. Аномалии встречаются, но не у всех рыб и не во всех органах. Значения ИНС колеблются от 0 до 10, составляя в среднем 0-3 у сига и 0-

8 - у хищников. Зараженность паразитами обычная. В относительно чистых районах возможно употребление рыбы в пищу, но только в виде филе; здесь может существовать нормальный промысел рыбы.

Наши исследования последних лет (2002-2005 гг) на водоемах реки Пасвик в загрязненном районе около Никеля и Печенги показали, что по сравнению с началом 1990-х годов значительно снизилась пораженность рыб в результате токсикации тяжелыми металлами. Исчезли явные признаки миопатии, совсем не встречается нефрокальцитоз (отложение камней в почках рыб). По-прежнему сохраняются многие другие виды поражений, свидетельствующие о неблагоприятном состоянии рыб, но степень поражения органов и тканей стала значительно меньше. По сравнению с максимально плохой экологической ситуацией в 1990-1993 гг отмечается некоторое улучшение общей экологической ситуацией в 2002-2005 гг (Решетников, 2004). Прежде всего это связано со снижением промышленной нагрузки на водоемы бассейна р.Пасвик, в частности с улучшением системы очистки промышленных стоков от тяжелых металлов и переходом медно-никелиевого комбината на обработку только своей руды, в которой гораздо меньше серы, чем в руде, привозимой ранее из Норильска.

ЛИТЕРАТУРА

Захаров В.М., Кларк Д.М. (ред.). 1993. Биотест: интегральная оценка здоровья экосистем и отдельных видов. М.:Моск. Отд-ние междунар. фонда "Биотест". 68 с.

Лукьяненко В.И. 1987. Экологические аспекты ихтиотоксикологии. М.: Пищепром-издат. 240 с.

Кашулин Н.А. Решетников Ю.С. 1995. Накопление и распределение никеля, меди и цинка в органах и тканях рыб в Субарктическом водоеме // Вопр. ихтиол. Т. 35, вып. 5. С. 687-697.

Попова О.А., Решетников Ю.С., Терещенко В.Г. 1997. Новые подходы к мониторингу биоразнообразия водных экосистем. //Мониторинг биоразнообразия. М.: ИПЭЭ РАН. С. 269-277.

Решетников Ю.С. 1995. Современные проблемы изучения сиговых рыб // Вопр. ихтиол. Т. 35, № 2. С. 156-174.

Решетников Ю.С. 2004. Проблема ре-олиготрофирования водоемов //Вопр. ихтиологии. Т. 44, № 5. С. 709-711.

Решетников Ю.С., Акимова Н.В., Попова О.А. 2000. Аномалии в системе воспроизводства рыб при антропогенном воздействии //Изв. Самарского НЦ РАН. Т. 2, № 2. С. 274-282.

Решетников Ю.С., Попова О.А. 1995. Оценка состояния пресноводных экосистем по состоянию рыбной части сообщества. //Проблемы экологии и рационального природопользования Северо-Запада России и Псковской области. Псков: ПГПИ, С. 41-52.

Решетников Ю.С., Попова О.А., Кашулин Н.А., Лукин А.А., Амундсен Пер-Арне, Сталдвик Фруде. 1999. Оценка благополучия рыбной части водного сообщества по результатам морфо-патологического анализа рыб. //Успехи соврем. Биологии. Т.119 № 2. С. 165-177.

Флеров Б.А. 1989. Эколого-физиологические аспекты токсикологии пресноводных животных. Л.: Наука. 138 с.

Чеботарева Ю.В., Савоскул С.П., Савваитова К.А. 1997. Аномалии в строении воспроизводительной системы самок рыб норило-пясинских водоемов Таймыра // Вопр. ихтиол. Т.37. № 2. С. 217-223.

Adams S.M. (ed.) 1990. Biological indicators of stress in fish. American Fisher. Soc. Symposium 8. Bethesda, Maryland, USA. 1990. 200 p.

- Amundsen P.-A., Frode J. Staldvik, A.A. Lukin, N.A. Kashulin, O.A. Popova and Yu.S. Reshetnikov. 1997. Heavy metal contamination in freshwater fish from the border region between Norway and Russia. //The Science of the Total Environment, V. 201. P. 211-224.
- Meyer F.P. and Barclay L.A. (ed.) 1990. Field manual for the investigation of fish kills. //USA. La Crosse. Fish & Wildlife Serv. Resource Publ. № 177. 108 p.
- Yu.S. Reshetnikov, O.A. Popova, N.A. Kashulin, A.A. Lukin and Per-Arne Amundsen. 2002. Development of an index to assess heavy metal pollution on fish populations. //Advances in Limnology 57 Biology and Management of Coregonid Fishes-1999. (Arch. Hydrobiol.). V. 57. P. 221-231.

METHOD OF EXPERT ASSESSMENT OF THE FISH HEALTH

Yu.S. Reshetnikov, O.F. Popova

A new method, based on morphological and pathological anatomical characters, the Index of Unfavourable State (IUS) has been proposed for the expert assessment of fish health at the individual and population levels. Intensive pollution of waterbodies initially affects reproductive characteristics such as gonadal asymmetry and deterioration in the quality of sexual products, but then several other specific impacts also appear as anomalies in the fins, structure of fin spines and rays, vertebrae, kidney stones, and accumulation of toxic substances. Analysis of data from eight European whitefish (*Coregonus lavaretus*) populations and three predatory fish species (*Perca fluviatilis*, *Esox lucius* and *Lota lota*) in the Pasvik River basin revealed that the IUS index increased with the fish age and during the summer-autumn season. The index differed between waterbodies, depending on the level of pollution, and was also correlated with the concentration of heavy metals in fish tissues. Three zones based on IUS values were delineated in the Pasvik River basin including zone of ecological crisis, ecological disturbance, and relatively good condition.

АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТОЧНЫХ АлАТ И АсАТ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ЗДОРОВЬЯ РЫБ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

О.В. Рошина

Институт биологии южных морей НАН Украины, пр. Нахимова, 2, Севастополь,
99011, Украина
e-mail: roshina_olga@mail.ru

В последнее время в связи с постоянным увеличением загрязнения водных акваторий необходимо более глубоко и детально исследовать адаптационные возможности рыб. Одним из важных этапов является оценка их физиологического статуса. Так как существует строгая зависимость между уровнем метаболизма и активностью ферментов, то последняя позволяет охарактеризовать физиологическое состояние рыб, выступая в качестве биохимического индикатора.

Аланинаминотрансфераза (АлАТ), аспаргатаминотрансфераза (АсАТ) играют ключевую роль в белковом обмене. [2]. Аминотрансферазы, обладая высокой чувствительностью к воздействию различных экологических факторов, все чаще применяются в экотоксикологии в качестве индикаторов [4,8,9]. Особый интерес представляет анализ с помощью данных ферментов физиологического статуса биомониторных видов. В качестве биомонитора может выступать морской ерш *Scorpaena porcus* (широко распространен в прибрежной части, биология и жизненный цикл хорошо изучен, доступен для исследований) [5].

В связи с этим целью данной работы явилось изучение активности ферментов АлАТ и АсАТ сыворотки крови морского ерша в условиях антропогенного загрязнения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом исследования служила сыворотка крови морского ерша *Scorpaena porcus* L., отловленного в акватории г. Севастополя (в бухтах Карантинной и Мартыновой). Кровь у рыб брали из хвостовой артерии пастеровской пипеткой. Сыворотку получали путем отстаивания на холоду. В сыворотке крови рыб определяли активность следующих ферментов аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспаргатаминотрансферазы (АсАТ) [2]. Результаты обрабатывали статистически [3].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В данных исследованиях объектом изучения служила скорпена, обитающая в акватории г. Севастополя, а именно в бухтах Мартынова и Карантинная. Согласно данным предоставленным Государственной инспекции охраны Черного моря, экологическая ситуация в этих районах исследования следующая (табл. 1).

Таблица 1

Экологическая характеристика бухт Карантинная и Мартынова (данные предоставлены Государственной инспекцией охраны Черного моря)

Бухты	Мартынова	Карантинная
Кол-во выбросов сточных вод, м ³ /сут.	Аварийный выпуск КНС № 1	50
Нефтеуглеводороды, мг/л	0,03-0,01	0,07-0,05
СПАВ, мг/л	0,002	0,003
БПК ₅ , мг/л	2,1	2,5
Взвешенные вещества, мг/л	1,9	2,4
NH ₃ , мг/л	0,03	0,04

Карантинная бухта характеризуется большим загрязнением, так как расположен коллектор, ежедневно сбрасывающий в акваторию 50 м³ сточных вод. В Мартыновой бухте антропогенная нагрузка ниже, здесь находится аварийный выпуск, функционирующий в случае аварий на очистных сооружениях города.

В результате исследований проанализирована активность ферментов сыворотки крови морского ерша, обитающего в бухтах с различной антропогенной нагрузкой

(б.Мартынова и б.Карантинная), в течение годового цикла. Полученные результаты представлены в табл. 2 и 3.

Таблица 2

Активность ферментов в сыворотке крови скорпены из б. Мартыновой в течение годового цикла, n=30.

Сезон	АлАТ, мкмоль/мл час	АсАТ, мкмоль/мл час
Зима	2,37 ± 0,51	1,08 ± 0,46
Весна	1,72 ± 0,52	1,68 ± 0,11
Лето	2,67 ± 0,48	4,45 ± 0,35
Осень	1,72 ± 0,43	2,42 ± 0,37

Таблица 3

Активность ферментов в сыворотке крови скорпены из б. Карантинной в течение годового цикла, n=30.

Сезон	АлАТ, мкмоль/мл час	АсАТ, мкмоль/мл час
Зима	2,49 ± 0,44	2,44 ± 0,37
Весна	1,22 ± 0,22	1,03 ± 0,35
Лето	1,42 ± 0,30	4,88 ± 0,37
Осень	1,96 ± 0,35	2,21 ± 0,37

В летний период отмечено достоверное увеличение активности АсАТ в сыворотке крови скорпены, обитающей в исследуемых бухтах ($p < 0,05$). Данный факт соотносится с активацией общего метаболизма у рыб в период нереста, характеризующийся значительными энергетическими тратами и усилением пластического обмена [6]. Зимой наблюдалось снижение активности фермента, но ее значения в крови рыб из Карантинной бухты оказались в два раза более высоким по сравнению с рыбами из Мартыновой ($p < 0,05$). Активность АлАТ превалирует зимой, затем снижается в весенний период и вновь увеличивается летом, причем у рыб из Мартыновой бухты в большей степени, чем у рыб из Карантинной. Достоверных различий в активности этого фермента у морского ерша из исследуемых акваторий не установлено. В данном случае повышение активности АлАТ в зимний период может быть связано с интенсивным соматическим ростом морского ерша, приходящегося на холодные месяцы, тогда как увеличение активности фермента летом обусловлено общей активацией метаболизма в связи с нерестом [6].

Для большей информативности был подсчитан коэффициент де Ритиса (АсАТ/АлАТ) [1] в течение годового цикла (табл. 4).

Таблица 4

Коэффициент де Ритиса для скорпены из бухт Карантинной и Мартыновой в различные периоды годового цикла

Сезон	б. Мартынова	б. Карантинная
Зима	0,45	0,97
Весна	0,97	0,84
Лето	1,60	3,44
Осень	1,40	1,13

В период нереста скорпены (летом) наблюдается увеличение данного показателя. Это свидетельствует о том, что при повышении интенсивности обмена веществ во время нереста значительная функциональная нагрузка приходится на печень как на основное место синтеза и энергетических запасов, особенно у “тощих” рыб, к которым

относится скорпена [7]. Необходимо отметить, что данный показатель для скорпены из Карантинной бухты (3,44) в этот период в 2 раза выше по сравнению с особями из Мартыновой бухты (1,60).

В результате исследований установлены некоторые отличия в активности ферментов в сыворотке морского ерша из бухт с различной антропогенной нагрузкой. Отмечено увеличение активности АсАТ у рыб из Карантинной бухты по сравнению с Мартыновой в зимний период. Обращает на себя внимание и тот факт, что коэффициент де Ритиса для скорпены из данной бухты также выше в этот период. Очевидно, выявленные различия связаны с хроническими токсическими нагрузками на печень, как на важнейший орган ключевых метаболических процессов и детоксикации ксенобиотиков, у особей из более загрязненных районов обитания, то есть из Карантинной бухты.

Таким образом, сывороточные ферменты АсАТ и АлАТ могут быть использованы в качестве биомаркеров для оценки физиологического состояния рыб при влиянии различных экологических факторов (естественных и антропогенных) и их адаптационных возможностей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Данилова Л.А. Анализ крови и мочи. – С-Пб., 2002. -- 56 с.
2. Иванов И.И., Коровкин Б.Ф., Манкелов И.М. Введение в клиническую энзимологию.— Л.: Медицина, 1972.—277с.
3. Лакин. Биометрия.— М.: Высш. шкл., 1989.—340с.
4. Малярская А.А. Обмен веществ у рыб в условиях антропогенного эвтрофирования водоемов.— Киев: Наук. думка, 1979.—345с.
5. Овен А.С., Руднева И.И., Шевченко Н.Ф. Ответные реакции морского ерша (*Scorpaena porcus*) на антропогенное воздействие.-- Вопросы ихтиологии, 2000, т.40, №1, с.75-78
6. Шульман Г.Е. Физиолого-биохимические особенности годовых циклов рыб.– М.: Пищевая пром., 1972.– 368с.
7. Шульман Г.Е., Финенко Г.А., Аннинский Б.Е. и др. Биоэнергетика гидробионтов.- Киев: Наук. думка, 1990.– 248с.
8. Basaglia F., Cucchi C. Phenylhydrazine- induced changes in fructose-bisphosphate aldolase and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in *Ictalurus melas* (Siluriformes, Ictaluridae).– Cytobios, 1996, vol. 85, no. 342, p. 137-154.
9. Oluah N.S. Plasma aspartate aminotransferase activity in the Catfish *Clarias albopunctatus* exposed to sublethal zinc and mercury. Bull.Environ. Contam. Toxicol., 1999, p. 343-349.

ACTIVITY OF AST AND ALT IN BLOOD SERUM FOR EVALUATING THE HEALTH OF FISH UNDER ANTHROPOGENIC PRESSURE

Roshina O. V.

Institute of Biology of Southern Seas, Ukraine

90011, ave. Nakhimov, 2, Sevastopol, Ukraine. E-mail: roshinc_olga@mail.ru

The activity of enzymes ALT and AST in blood serum of scorpionfish (*Scorpaena porcus* Linnaeus) under anthropogenic pressure was studied. Certain dependence between activity of enzymes and pollution of water areas was revealed. Also activity of enzymes depended on seasons and was connected to process of reproduction. Thus, examined parameters (activity of AST and ALT), could be used for evaluating the physiological state of fish under the impact of various ecological factors.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ВИРУСА ИНФЕКЦИОННОГО НЕКРОЗА ГЕМОПОЭТИЧЕСКОЙ ТКАНИ В ПОПУЛЯЦИИ НЕРКИ

С.Л. Рудакова

Камчатский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и
океанографии (КамчатНИРО), г. Петропавловск-Камчатский, Россия,
e-mail: kanniroe@mail.kamchatka.ru

Возбудителем инфекционного некроза гемопозитической ткани является рабдовирус (сем. *Rhabdoviridae*) рода *Lyssavirus* (Bootland, Leong, 1999). Впервые болезнь описана в 50-х годах у нерки на рыбоводных заводах в штатах Вашингтон и Орегон на западном побережье США (Rucker et al., 1953). В 2001 г. вирус впервые был выделен на Камчатке у половозрелой нерки бассейна р. Большая (Рудакова, 2003). В последующие годы вирус регулярно выделяли у этого вида рыб в бассейнах рек Большая, Камчатка и Озерная.

К вирусу чувствительны нерка (*Oncorhynchus nerka*), чавыча (*O. tshawytscha*), кета (*O. keta*), радужная форель (*O. mykiss*) и атлантический лосось (*Salmo salar*) (Bootland, Leong, 1999). На рыбоводных заводах эпизоотии часто приводят к 100% гибели личинок и мальков. В естественных условиях у молоди лососевых рыб очень трудно зарегистрировать и оценить масштабы смертности в результате вспышки вирусного заболевания: погибшие, больные и ослабленные мальки сносятся течением или становятся легкой добычей хищников. В литературе встречается четыре упоминания об эпизоотиях ИHN в природе. В Канаде заболевание зарегистрировано у молоди нерки в озере Чилко (Williams, Amend, 1976) и в притоке р. Фрезер (Traxler, Rankin, 1989), у двухлетней нерки-кокани в озере Ковичен (Traxler, 1986) и в США – у смолтов нерки в устье р. Хидден на Аляске (Burke, Grischkowsky, 1984). На Камчатке в оз. Начикинское также зарегистрировали гибель сеголеток нерки от воздействия ИHNV (Бочкова, Рудакова, 2004).

Учитывая влияние паразитических организмов (в частности вирусов) на структуру и численность популяций партнеров по паразитарным цепям, можно предположить их воздействие на состояние экосистемы в целом. Это влияние совсем не обязательно отрицательное, но оно может становиться таковым при наличии дестабилизирующих факторов, связанных с нерациональными действиями человека в условиях осуществляемой им хозяйственной деятельности (например, в аквакультуре, при акклиматизации, регулировании промысла).

Сложная структура естественных экосистем затрудняет понимание и прогнозирование развития болезни и ее влияния на численность рыб в популяциях. Взаимодействия между хозяином, патогеном и некоторыми факторами окружающей среды определяют течение болезни у диких и культивируемых рыб. Лучший способ понять и оценить воздействие вируса инфекционного некроза гемопозитической ткани на численность популяций нерки — это математическое моделирование динамики развития болезни. На данном этапе наша задача представить биологическую модель системы вирус инфекционного некроза гемопозитической ткани — нерка. Эта модель не содержит информации о том, как функционирует система вирус-хозяин при воздействии на нее разных факторов, но позволяет конкретизировать проблему, намечает алгоритм действий и указывает на элементы, уточнение или изменение которых желательно при применении модели в конкретной популяции.

В 2006 г. провели вирусологическое обследование 156 экз. половозрелой нерки на северных литоральных нерестилищах оз. Курильского (у рек Северная 1-3) и в исток р. Озерной.

Для выделения и идентификации вирусных агентов использовали линию клеток ЕРС и традиционные вирусологические методы: реакцию титрования и реакцию нейтрализации (Сборник инструкций..., 1998; Лабораторный практикум..., 1983).

При изучении болезней в популяции ключевыми являются понятия превалентность и инцидентность. Инцидентность — число (частота) новых случаев болезни или других интересующих событий в данной популяции за определенный промежуток времени. Превалентность — число или доля случаев/событий/состояний в данной популяции безотносительно к их давности (вновь возникшие и имевшиеся ранее случаи), выражается в долях от единицы или процентах (Дудников, 2004). Превалентность (P) рассчитывали по формуле (Власов, 2004):

$$P = D/n,$$

где D — число больных особей, n — число обследованных.

Среднее значение, стандартную ошибку и доверительный интервал превалентности IHNV определяли при помощи программного обеспечения STATISTICA 6.0 (модуль общие статистики).

Тестирование половозрелой нерки проводили с конца августа до середины октября, так как по литературным данным ее нерест в бассейне оз. Курильское растянут во времени (Бугаев, 1995). В истоке р. Озерной распространение IHNV во времени подтверждает теорию увеличения доли пораженных вирусом особей к концу нереста, выдвинутую ранее американскими учеными. Превалентность IHNV на нерестилищах у устья рр. Северная 1-ая и 3-ая находилась на уровне 20% с 01.08 по 03.09, в то время как в истоке р. Озерной 02.09 она не превышала 3,3%, но уже 14.10 достигла 72,1%. Мы предполагаем, что это обусловлено волнообразным заходом и «исключительной длительностью отстаивания нерки в пелагиали озера и постепенным выходом ее на нерестилища (с конца июля по февраль)» (Остроумов, 1970). В рр. Северная 1-3 рыба нерестится в более ранние сроки.

При построении биологической модели системы вирус-хозяин в цикле воспроизводства нерки мы использовали данные о биологии нерки (Бугаев, 1995), эпидемиологии IHNV (Bootland, Leong, 1999) и о составляющих подгруппах популяции в эпидемиологических моделях болезней рыб, предложенных Валтманом (Waltman, 1995):

- а) нерка мигрирует в море, в основном, в виде двухгодовиков;
- б) после одной зимовки в море небольшая часть рыб мигрирует на нерест. После второй зимы доля рыб, мигрирующих на нерест, значительно возрастает. Из рыб проживших три зимы в море, почти все мигрируют на нерест, и только небольшая часть остается на четвертую зиму;
- в) доказана передача IHNV от родителей потомству и от рыбы к рыбе в период нереста и эпизоотии;
- г) показана возможность заражения личинок и сеголеток на нерестилище от половозрелых рыб;
- д) существует вероятность развития эпизоотии IIN и гибели икры, личинок и сеголеток. Молодь старших возрастных групп (начиная с двухгодовиков) болеет реже и гибель ее незначительна;
- е) IHNV — это высоко контагиозный патоген;
- ж) существует три подгруппы популяции в соответствии со статусом болезни: чувствительные (S) — особи, которые не являются инфицированными, но могут стать таковыми; инфицированные (I) — особи, инфицированные патогеном и способные передать инфекцию другим; «удаленные» (R) — особи, которые погибли в результате болезни или приобрели иммунитет;
- з) половозрелая нерка является носителем IHNV, рыбы не погибают от инфекции;
- и) вопрос об иммунитете половозрелых особей остается открытым, до сих пор нет научно обоснованных доказательств его наличия.

Обобщив всю имеющуюся информацию, выделили три основных составляющих (критические моменты) инфекционного процесса, важных для понимания динамики распространения IHNV и его влияния на численность популяции:

— вероятность и закономерности распространения вируса от инфицированных к чувствительным половозрелым рыбам на нерестилище (горизонтальная передача);

— вероятность и закономерности заражения и гибели икры и личинок в гнезде (вертикальная передача);

— вероятность и закономерности заражения, гибели молоди (предыдущей генерации) от половозрелых особей в период нереста (горизонтальная передача).

Эти критические моменты повторяются каждый год, и их исход будет зависеть от ряда факторов.

Составляющая 1 — половозрелые особи. Изменение соотношения чувствительных (S) и инфицированных (I) половозрелых рыб на нерестилище в ходе нереста будет зависеть от:

— доли инфицированных половозрелых рыб в начале нереста;

— вирулентности IHNV;

— плотности скоплений половозрелых рыб на нерестилище

Составляющая 2 — молодь генерации прошлого года. Вероятность горизонтальной передачи вируса на нерестилище от половозрелых рыб сеголеткам будет зависеть от:

— доли инфицированных половозрелых рыб;

— концентрации вируса в воде;

— плотности скоплений чувствительной молоди.

Составляющая 3 — потомство (икра/личинки) от родителей текущего года. Вероятность вертикальной передачи вируса от родителей потомству будет зависеть от:

— доли инфицированных половозрелых рыб;

— титра вируса у половозрелых рыб;

— плотности кладок икры.

Распространение патогена в популяции зависит от коэффициента передачи (β) — показателя скорости перехода рыб от чувствительных к инфицированным, относительные его колебания будут определять скорость распространения патогена во времени. В свою очередь β тесно связан с плотностью популяции.

Для расчета коэффициента передачи (β) IHNV на нерестилище у половозрелых рыб использовали метод расчета β , предложенный Х. Огутом (Ogut, 2001).

По данным А.Г. Остроумова (1970), общая площадь нерестилищ в оз. Курильское (включая реки, ключи и исток р. Озерная) составляет 1010 тыс. м². Так как нерка нерестится в исследуемом водоеме на протяжении длительного промежутка времени, отстываясь после захода в озеро в пелагиали, то рассчитать плотность рыб на определенном нерестилище в конкретный момент времени, не представляется возможным. Поэтому для расчета использовали общую численность всей популяции.

Несколько допущений:

— популяция однородно перемешивается во времени и у каждой особи есть шанс вступить в контакт с инфицированной и перейти из разряда чувствительных к инфицированным.

— специфической смертности от вируса у половозрелых рыб нет, также они не приобретают иммунитет.

Значения коэффициента передачи IHNV, выявленные у половозрелой нерки, свидетельствуют о невысокой скорости передачи патогена и растянутом во времени переходе чувствительных особей в разряд инфицированных. Динамика перехода особей из разряда «чувствительные» в разряд «инфицированные» прямо пропорциональна коэффициенту передачи.

В случае хронического заболевания нарастанию превалентности противостоит смертность. Если больные особи быстро умирают, то превалентность болезни невелика. Наоборот, при болезнях, не сопровождающихся смертностью, превалентность может быть высокой. Поэтому высокая превалентность болезни (патогена) не означает ее опасности (Власов, 2004). Как уже упоминалось выше, половозрелые особи являются носителями IHNV и не погибают от болезни и высокий показатель превалентности патогена в середине октября (72,1%) обусловлен именно этим обстоятельством.

Проанализировав динамику распространения IHNV у половозрелой нерки на нерестилище истока р. Озерная в 2006 г. можно сделать предположение об эндемичности патогена в этой популяции. Это означает, что данный вирус циркулирует в данной популяции на протяжении длительного промежутка времени, в результате чего сложился баланс между микроорганизмом и хозяином, о чем свидетельствуют невысокие значения коэффициента передачи и постепенное увеличение превалентности IHNV во время нереста. В дальнейшем необходимо проверить достоверность наших предположений и провести вирусологическое обследование половозрелой нерки модельной популяции 7-10 раз через равные промежутки времени на протяжении всего нереста, что даст возможность более точно описать динамику распространения IHNV и его характер.

Учитывая высокие показатели превалентности вируса у половозрелых рыб, существует вероятность его горизонтальной и вертикальной передачи и гибели икры/личинок и сеголеток от ИHN. Для количественной оценки и дальнейшего моделирования смертности молоди от болезни необходимо провести работы по выявлению динамики горизонтальной передачи IHNV от половозрелых рыб сеголеткам предыдущей генерации и вертикальной передачи от родителей потомству.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Бочкова Е.В., Рудакова С.Л. Инфекционный некроз гемопоэтической ткани в популяции нерки *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) озера Начикинское (Камчатка) // Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб. Расширенные материалы Всероссийской научно-практ. конф., Борок, М. - 2004, с. 404-416.

Бугаев В.Ф. Азиатская нерка (пресноводный период жизни, структура локальных стад, динамика численности). М.: Колос. -1995. – 464 с.

Власов В.В. Эпидемиология: Учеб. пос. для вузов. М.: ГЭОТАР-МЕД. 2004. 464 с.

Дудников С.А. Количественная эпизоотология: основы прикладной эпидемиологии и биостатистики. — Владимир: Демиург. - 2004. — 460 с.

Лабораторный практикум по болезням рыб. Под редакцией В.А. Мусселиус. М.: Лег. и пищ. пром-сть.- 1983. 294 с.

Остроумов А.Г. Результаты аэровизуального учета и аэрофотосъемки красной и ее нерестилищ в бассейне озера Курильского // Изв. ТИНРО. Т. 78. 1970. - С. 17-32.

Рудакова С.Л. Некроз гемопоэтической ткани у производителей нерки и предполагаемые источники инфекции // Вопр. рыболовства. - 2003. Т. 4. № 1 (13). С. 93-102.

Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб. Ч. 1. М.: Отдел маркетинга АМБагро. 1998. - 310 с.

Bootland L.M., Leong J.C. Infectious hematopoietic necrosis virus. // Woo P.T.K. and Bruno D.W. (eds.). Fish diseases and disorders. Vol. 3: Viral, bacterial and fungal infectious CAB International. 1999. - P. 57-112.

Burke J., Grischowsky R. An epizootic caused by infectious hematopoietic necrosis virus in an enhanced population of sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka* (Walbaum), smolts at Hidden Creek, Alaska // J. Fish Dis. 7. 1984. - P. 421-429.

- Ogut H. Modeling of disease dynamics: a new approach to old problem // Turkish J. Fish Aquat. Sci. - 2001. № 1. P. 67-74.
- Rucker R.R., Whipple W.J., Parvin J.R., Evans C.A. A contagious disease of sockeye salmon possibly of virus origin // Fish Wild. Serv. Fish. Bull. 54. - 1953. P. 35-46.
- Traxler G.S., Rankin J.B. An infectious hematopoietic necrosis epizootic in sockeye salmon *Oncorhynchus nerka* in Weaver Creek spawning channel, Fraser River system, B.C., Canada // J. Dis. Aquat. Org. 6. - 1989. P. 221-226.
- Traxler G.S. An epizootic of infectious hematopoietic necrosis in 2-year-old kokanee, *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) at Lake Cowichan, British Columbia // J. Fish Dis. 9. - 1986. P. 545-549.
- Waltman P. Lecture notes in biomathematics, deterministic threshold models in the theory of epidemics. Springer-Verlag, New York. - 1987. 234 p.
- Williams I.V., Amend D.F. A natural epizootic of infectious hematopoietic necrosis in fry of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) at Chilko Lake, British Columbia // J. Fish. Res. Board Can. 33. - 1976. P. 1564-1567.

BIOLOGICAL MODEL OF DISTRIBUTION OF INFECTIOUS HEMATOPOIETIC NECROSIS VIRUS IN SOCKEYE POPULATION.

Rudakova S.L.

A total of 156 wild spawning sockeye watershed of River Ozernaja (Lake Kurilskoe, Kamchatka) were examined by common virologic methods during 2006. Prevalence and individual fish virus titers of IHNV were initially low and increased with time during the spawning season from 3,3% to 72,1% (from beginning of September to the middle of October). Descriptive modeling of dynamics of IHNV distribution in sockeye populations has allowed allocating three critical moments of infectious process, important for understanding of distribution IHNV and its influence on number of a population. First, it is law of distribution of IHNV from an infectious individual spawning sockeye (I) to a susceptible one (S) during spawning. Second, it is probability and law of infection and mortality from IHNV of eggs and fry in a sockeye nests (vertical transmission). Third, it is probability and law of infection/mortality of fry and fingerlings (previous generation of fish) from adult infectious IHNV individuals during spawning (horizontal transmission). These three critical moments have repeated on spawning ground every year. It is very important to know how many eggs and fry will be able to die from IHNV in nature and that factors have involve in this process.

ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА СЫВОРОТОЧНЫХ ПРЕАЛЬБУМИНОВ РЫБ КАК ОТВЕТНАЯ РЕАКЦИЯ НА ХРОНИЧЕСКОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ МОРСКОЙ СРЕДЫ

*Руднева И.И., *Вахтина Т.Б., **Залевская И.Н.

*Институт биологии южных морей НАН Украины, Севастополь, Украина, e-mail: svg@bios.iuf.net

** Таврический национальный университет, Симферополь, Украина

Загрязнение морской среды приобрело в настоящее время катастрофические масштабы, что крайне негативно отражается на биоте и, прежде всего, на рыбах как наиболее уязвимом звене экосистемы. Антропогенный прессинг приводит к насыщению морской среды и грунтов ксенобиотиками, вызывающими стресс у морских обитателей и пагубно влияющими на их жизнедеятельность. Одновременно стресс мобилизует защитные реакции организма, что позволяет ему приспособиться к изменяющимся условиям и выжить в экстремальных ситуациях. В связи с этим все большее внимание уделяется проблемам адекватной оценки состояния гидробионтов и качества среды их обитания.

Совершенно очевидно, что для решения подобных задач следует рассматривать достаточное количество параметров, но это не всегда возможно по многим причинам и представляет практические трудности. В этом отношении электрофоретический анализ белков сыворотки крови – компонентов многофункциональной и многокомпонентной системы позволяет получить существенную информацию о состоянии организма. Структура белков сыворотки крови непосредственно отражает структуру генетического материала особи. Сывороточные белки обеспечивают такие важнейшие функции как транспортная, защитная, экскреторная, осморегулирующая, резервная (Андреева, 1999, 2001). На состав и свойства этих компонентов оказывает влияние загрязнение среды обитания, так как они обладают способностью комплексировать с ксенобиотиками и переносить их в места утилизации, аккумуляции, трансформации и экскреции (Лукьяненко, Хабаров, 2005). В сыворотке крови находятся компоненты, обладающие иммунной и антиоксидантной активностью. Все это дает основание рассматривать белки сыворотки крови как информативную систему для оценки последствий действия антропогенных факторов на организм рыб.

На этом основании целью настоящей работы явилось исследование электрофоретического состава альбуминов и преальбуминов сыворотки крови двух массовых прибрежных видов черноморских рыб бычка-кругляка *Neogobius melanostomus Pallas* и морского ерша *Scorpaena porcus L.*

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом исследования служила сыворотка крови черноморского бычка-кругляка *Neogobius melanostomus Pallas* и морского ерша *Scorpaena porcus L.* Рыб отлавливали в акватории Севастопольской бухты (Черное море) в периоды 1984-1986гг, 1990-1994 гг., и 1999-2003 гг. Всего было исследовано 223 бычка-кругляка 50 морских ершей. Кровь у рыб брали из хвостовой артерии пастеровской пипеткой, сыворотку получали путем отстаивания на холоду.

Фракционный состав сывороточных белков изучали методом электрофореза в 7 %-ном полиакриламидном геле (Davis, 1964). Белковые фракции окрашивали 1%-ным раствором амидочерного в 7%-ной уксусной кислоте. Электрофоретическую подвижность белковых фракций определяли по отношению к подвижности маркера, в качестве которого использовали 1%-ный раствор бромфенолового синего. Распределение белковых фракций оценивали по коэффициенту относительной электрофоретической подвижности $K_{\text{эф}}$, рассчитанному по отношению расстояния от старта до центра белковой полосы к расстоянию, пройденному в геле маркером. На основании $K_{\text{эф}}$ определяли «стандартное» положение преальбуминовых компонентов.

встречаемость которых была более, чем 50%. Если встречаемость фракций составляла менее 50%, они были отнесены к «редким» вариантам (Соркина, Руднева, 1975).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты исследований позволили установить в сыворотке крови исследуемых видов несколько фракций преальбуминов, $K_{эф}$ которых заключен в пределах 0.73-1.31. Выявлены определенные различия в числе «стандартных» спектров преальбуминов рыб в различные периоды исследования (Табл. 1).

Таблица 1. $K_{эф}$ преальбуминов в сыворотке крови рыб, отловленных в различные периоды в Севастопольской бухте

1984-1986 гг	1990-1994 гг Бычок-кругляк	1998-2003 гг.
0.73 - 0.75	0.75 - 0.80	0.75 - 0.79
0.77	-	-
0.82	-	-
0.84	0.86	-
0.87 - 0.91	0.90 - 0.94	0.85 - 0.88
0.97	0.99	-
1.04	-	-
	Морской ерш	
	0.81 - 0.85	0.77 - 0.81
	0.89	-
	0.92	0.92
	0.97	-
	1.02 - 1.05	-
	1.13	-

Из приведенных данных видно, что у обоих исследуемых видов рыб число фракций преальбуминов в сыворотке крови сокращается в более поздний период в основном за счет компонентов с высокими значениями $K_{эф}$. У бычка-кругляка снижение количества фракций преальбуминов происходит последовательно в течение двадцати лет с 1984 по 2003 год. При этом в 1990-е годы в ЭФ-спектре не обнаружены компоненты с $K_{эф}$ 0.77, 0.82 и 1.04, тогда как в 2000-е годы исчезают полосы с $K_{эф}$ 0.86 и 0.99 и сохраняются только диффузные фракции с $K_{эф}$ 0.77-0.79 и 0.85-0.88. Если в 1990-е годы отмечено увеличение электрофоретической подвижности этих компонентов, то в 2000-е годы их $K_{эф}$ снижается.

Фракционный состав преальбуминов сыворотки крови морского ерша изучали в период 1990-х и 2000-х годов. В этом случае также обнаружено сокращение числа фракций за счет компонентов с высокими значениями $K_{эф}$ 0.89, 0.97, 1.02-1.05 и 1.13.

Особо следует отметить характер изменения «редких» белковых компонентов в преальбуминовой зоне, встречаемость которых не превышала 50% (Табл. 2). В сыворотке обоих видов рыб число «редких» компонентов преальбуминов сокращается в 1990-х годах и затем возрастает в 2000-е годы в 2-4 раза.

Установленная динамика «редких» компонентов может характеризовать интенсивность процессов модификации белков, происходящих в организме под действием изменяющихся условий среды.

Таблица 2. Число «редких» фракций преальбуминов в сыворотке крови рыб, отловленных в различные периоды в Севастопольской бухте

Вид	1984-1986 гг	1990-1994 гг	1998-2003 гг
Бычок-крутляк	5	2	8
Морской ерш	-	2	4

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

На основании полученных данных можно заключить, что электрофоретический состав преальбуминов в сыворотке крови двух донных видов черноморских рыб подвержен существенным колебаниям в исследуемый двадцатилетний период. При этом динамика изменений одинакова в обоих случаях и характеризуется сокращением общего числа преальбуминов в 2000-е годы по сравнению с более ранними периодами, сдвигами их электрофоретической подвижности и увеличением числа «редких» компонентов.

В настоящее время изучению сывороточных белков различных животных продолжают уделять значительное внимание с целью определения их структурно-функциональных свойств, полиморфизма, роли в эволюции и адаптации организма. Однако информация о модификации сывороточных белков под действием антропогенного прессинга в значительной степени ограничена. Ранее нами было показано, что увеличение концентрации ксенобиотиков в среде способно модифицировать электрофоретический состав сыворотки крови, по крайней мере, в результате трех взаимосвязанных процессов: изменения соответствующих генетических структур, постсинтетических модификаций и совокупности обоих процессов (Руднева, 1996). В экспериментальных условиях нами было показано, что при действии различных концентраций ПХБ на морского ерша происходят существенные сдвиги в составе и соотношении сывороточных белков (Руднева, Жерко, 1993). Установлены различия в белковых спектрах сыворотки крови морского ерша, обитающего в бухтах с разным уровнем антропогенной нагрузки (Руднева и др., 2005).

Известно, что преальбумины сыворотки крови транспортируют гормоны, в частности, тироксин, секретируемый щитовидной железой и играющий важную роль в регуляции метаболизма и репродукции (Бакл, 1986). Выраженное снижение числа фракций преальбуминов в сыворотке крови двух исследуемых видов рыб свидетельствует о серьезных нарушениях обменных процессов, вызванных избыточным содержанием ксенобиотиков в среде. Следует отметить при этом, что уровень загрязнения Севастопольской бухты достиг максимальных величин в 1990-е годы (Исследование ..., 1989). В этот же период значительно сократилась численность и биоразнообразие рыб в этой акватории, были обнаружены особи с аномалиями развития и различными патологиями, что свидетельствовало о негативных последствиях интенсивного антропогенного прессинга на здоровье гидробионтов.

К концу 1990-х и к началу 2000-х годов экологическая ситуация в Севастопольской бухте улучшилась в связи с сокращением интенсивной хозяйственной деятельности и судоходства (Павлова и др., 1999). Это в значительной степени отразилось и на белковом составе сывороточных белков исследуемых видов рыб, который проявлял тенденцию к восстановлению картины, характерной для 1980-х годов. Однако для фракционного состава преальбуминов такой тенденции не выявлено, что свидетельствует о глубоких повреждениях преальбуминовой системы, происшедших в результате хронического негативного воздействия комплексного загрязнения среды на рыб. Можно предположить, что изменение электрофоретического состава этих компонентов связано с нарушениями функций

клеток печени, где происходит их синтез. Известно, что печень в наибольшей степени страдает от действия ксенобиотиков, которые поступают туда с током крови, и затем в гепатоцитах осуществляется их детоксикация посредством системы МОГ. В то же время образующиеся при этом метаболиты могут обладать большей токсичностью, чем исходные токсиканты и оказывать большее повреждающее действие как на клетки печени, так и на те процессы, в том числе синтез сывороточных белков, которые в них происходят.

Таким образом, фракционный состав преальбуминов сыворотки крови является информативным индикатором оценки состояния здоровья рыб, подверженных длительному воздействию неблагоприятных факторов среды, и может быть использован в мониторинговых исследованиях при анализе последствий хронического антропогенного воздействия на морские экосистемы.

ЛИТЕРАТУРА

Андреева А.М. Структурно-функциональная организация альбуминовой системы крови рыб // Вопросы ихтиологии. 1999. Т. 39, № 6. С. 835-832.

Андреева А.М. Сывороточные пероксидазы рыб. // Вопросы ихтиологии. 2001. Т. 41, № 1. С. 113-121.

Бакл Д. Гормоны животных. М.: Мир. 1986. 70 с.

Исследование и моделирование гидрофизических процессов в Черном море / Под ред. С.П. Левикова. М.: Московское отделение Гидрометеоиздата. 1989. 140 с.

Лукьяненко В.И., Хабаров М.В. Альбуминовая система сыворотки крови разных по экологии видов осетровых рыб. Ярославль. 2005. С. 6-42

Павлова Е.В., Овсяный Е.И., Гордина А.Д., Романов А.С., Кемп Р.Е. Современное состояние и тенденции изменения экосистемы Севастопольской бухты / В кн. Акватории и берега Севастополя: экосистемные процессы и услуги обществу. Севастополь: Аквавита. 1999. С. 70-95.

Руднева И.И., Жерко Н. В. Влияние полихлорированных бифенилов на белковый и липидный обмен сыворотки крови черноморской скорпены // ДАН Украины. 1993. № 11. С. 157 – 161.

Руднева И.И. Влияние антропогенного загрязнения на биохимические показатели черноморских рыб./ В кн. Современное состояние и загрязнение ихтиофауны Черного моря. Севастополь: СО «ЭКОСИ-Гидрофизика». 1996. С. 168-181.

Руднева И.И., Шевченко Н.Ф. Залевская И.Н., Жерко Н.В. Биомониторинг прибрежных вод Черного моря // Водные ресурсы. 2005. Т.32, №2. С. 238-246

Соркина Д.А., Руднева И.И. Сравнительная характеристика белковых и липопротеидных спектров сыворотки крови черноморских рыб // Молекулярная биология и медицинская генетика. Харьков: Из-во Харьковского университета. 1975. Т. 66, № 1. С. 61-63.

Davis B.J. Disc electrophoresis – II. Method and application to human serum proteins. Ann. New York Academic Sciences. 1964. V. 121, N 2. P. 404-427.

CHANGES OF FISH BLOOD SERUM PREALBUMINES COMPOSITION AS THE RESPONSE ON LONG-TERM POLLUTION OF MARINE ENVIRONMENT

*Rudneva I.I., *Vahtina T.B., **Zallevskaya I.N.

*Institute of the biology of the Southern Seas National Ukrainian Academy of sciences, Sevastopol, Ukraine, e-mail: svy@bios.iuf.net

** Tavrisheski National University, Simpheropol, Ukraine

Electrophoretic composition of blood serum prealbumins in two Black Sea fish species caught in Sevastopol Bay was studied in the periods of 1980s, 1990s and 2000s. The obtained results showed the decrease of number of prealbumins in both fish species in 1990s-2000s as compared with the 1980s. The changes of electrophoretic mobility and fractions distribution were demonstrated also. The consequences of anthropogenic impact on prealbumins in fish blood serum prealbumins and the challengers of the using these indicators in biomonitoring of aquatic ecosystems are discussed.

ПРИМЕНЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЗДОРОВЬЯ РЫБ

Руднева И.И.,

*Институт биологии южных морей НАН Украины, Севастополь, Украина, e-mail: svg@bios.iuf.net

Прибрежные морские экосистемы подвержены массивированному антропогенному прессингу, так как в них происходит сброс сточных вод промышленных, сельскохозяйственных и коммунальных предприятий. В прибойной зоне концентрируется множество различных загрязнителей, в том числе нефтепродуктов, попадающих в морскую среду в результате слива с кораблей и береговых систем. В то же время прибрежная зона является наиболее продуктивной, где сосредоточены основные запасы водорослей, беспозвоночных и рыб. Здесь же происходит размножение гидробионтов, их рост, развитие, благополучие которых в основном определяется качеством среды.

В настоящее время большое внимание уделяется экологическому состоянию морской среды, от чего в конечном итоге зависит качество и количество добываемых морепродуктов. Известно, что загрязнение прибрежных районов Черного моря привело к значительному сокращению биоресурсов, прежде всего запасов промысловых рыб. Так, у берегов Крыма за тридцатилетний период изменилось и уменьшилось видовое разнообразие ихтиофауны и произошла смена доминирующих видов в пользу малоценных рыб. Сходные процессы были отмечены и для севастопольских бухт в период 1986-1990 гг.: число видов сократилось почти в два раза по сравнению с таковым в предыдущем пятилетии, а их численность уменьшилась в сотни раз по сравнению с 1950-ми годами (Овен и др., 1995). Аналогичные тенденции наблюдаются и в других районах Черного моря. В связи с этим возникает необходимость разработки соответствующих методов тестирования здоровья рыб в экологически неблагоприятных акваториях для оценки состояния популяций и составления прогноза на будущее.

С этой целью применяются многие критерии, показатели различного биологического уровня (биохимические, физиологические, морфологические, популяционные), которые в настоящее время представлены тремя группами (Adams, 2005). *Первая группа* включает *прямые индикаторы (биомаркеры) присутствия неблагоприятных факторов (стрессоров)* в среде обитания организма. *Вторая группа* представлена *прямыми индикаторами (биоиндикаторы) действия* этих стрессоров на организмы. *В третью группу* входят *непрямые индикаторы присутствия/действия* стрессоров (Табл. 1).

Эффективность системы детоксикации ксенобiotиков определяет устойчивость организмов к неблагоприятным факторам среды. Молекулярные механизмы, лежащие в основе ее функционирования, разделяются на две группы (Narbonne, 1991): специфические, реагирующие на определенные вещества, и неспецифические, реагирующие на любые воздействия, включая химическое загрязнение, биогены, физические и биологические факторы. Первую группу реакций (окисление, восстановление, гидролиз и конъюгация ксенобiotиков и их метаболитов) осуществляют ферменты микро-сомальных фракций (МОГ), которые наиболее активны в клетках печени. В современной экотоксикологической литературе существует множество публикаций, в которых приведены данные об активации системы МОГ у гидробионтов, находящихся в неблагоприятных экологических условиях (Stegeman et al., 1998).

В процессе биотрансформации токсикантов образуются свободные радикалы, оказывающие повреждающее действие на биомолекулы и клеточные компоненты. Генерация свободных радикалов и стимулированное ими перекисное окисление липидов (ПОЛ) относятся к нормальным физиологическим процессам, необходимым для

реакций фагоцитоза, сперматогенеза, пиноцитоза, регуляции проницаемости мембран, проведения нервного возбуждения, механизмов зрения, образования простагландинов, лейкотриенов, тромбоксанов. Но при действии липофильных ксенобиотиков и активных форм кислорода происходит интенсификация ПОЛ, усугубляющая интоксикацию организма. Усиление ПОЛ приводит к деструкции цитохрома P-450 и снижению активности МОГ. Повреждение структуры цитохрома P-450 нарушает трансформацию ксенобиотиков, в результате тормозятся процессы детоксикации и развивается тяжелое отравление организма. Помимо этого, за счет перекисного окисления фосфолипидов происходит нарушение мембранной проницаемости и мембранного транспорта (Бурлакова, Храпова, 2005).

Таблица 1. Категории ответных реакций организма на присутствие/действие стрессоров в среде обитания (Adams, 2005)

Прямые индикаторы присутствия (биомаркеры)	Прямые индикаторы действия (биоиндикаторы)	Непрямые индикаторы присутствия/действия
Ферменты детоксикации Повреждение ДНК	Обмен липидов Изменение активности ферментов, свидетельствующее о поражении органов	Пища и питание Ожирение
Антиоксидантные ферменты Металлотионеины Стрессовые белки	Иммунитет Гистопатологии Стероидные гормоны	Рост Репродукция Поведение

Для защиты организма от пагубного действия ПОЛ существует антирадикальная и антиперекисная защита. При этом на первом этапе активируются ферменты супероксиддисмутазы (СОД), каталаза, глутатионредуктаза, миелопероксидаза, лактопероксидаза, восстановленный глутатион, аскорбиновая кислота, таурин, мочевая кислота, хелаторы металлов (Fe, Cu) - трансферрин, лактофлавин, ферритин, церулоплазмин, на втором этапе - глутатионпероксидаза, глутатион-S-трансфераза, восстановленный глутатион, токоферолы, витамин К, бета-каротин, билирубин. Отмечают также существование третьего этапа, включающего фосфолипиды клеточных мембран. Первичная защита функционирует на стадии образования активных радикалов и перекиси водорода, вторичная - при образовании органических перекисей, третичная - при атаке свободными радикалами ненасыщенных углеводородных цепей фосфолипидов мембран (Parke, 1988). В экспериментальных условиях нами было показано, что при действии наиболее распространенных в водной среде загрязнителей (тяжелых металлов, нефтепродуктов, ПХБ, пестицидов) происходит повышение активности ключевых антиоксидантных ферментов в тканях гидробионтов. Такие же эффекты были отмечены у рыб, обитающих в севастопольских бухтах с разным уровнем антропогенной нагрузки (Руднева, 2000). Однако при этом реакции ферментной антиоксидантной системы были неоднозначны и зависели от концентрации ксенобиотиков в среде и времени их действия.

Биомаркером, свидетельствующим о наличии в воде повышенных концентраций металлов, является содержание металлотионеинов в тканях гидробионтов. Они вырабатываются у некоторых видов морских животных для детоксикации тяжелых металлов путем их связывания и выведения из организма. Однако не все металлы могут образовывать комплексы с металлотионеиновыми белками. В то же время по содержанию этих компонентов у гидробионтов можно судить об уровне загрязнения

среды этими компонентами и использовать эти показатели в мониторинговых программах.

В последнее время пристальное внимание уделяется модифицированным формам белков, являющихся следствием нарушений биосинтеза и последующих постсинтетических реакций. При этом целый ряд ферментов подвергаются окислительной модификации, сопровождающейся потерей их активности. Модифицированные неактивные формы белков лучше атакуются различными протеазами. Окислительная модификация белков происходит только в присутствии кислорода, ионов переходных металлов, доноров электронов и комплексообразователей, способных связывать ионы металлов. Высокая специфичность модификации обеспечивает возможность использования ее с целью «маркировки» инактивированных белков для протеаз. Следует отметить, что оксидазные системы клетки и, прежде всего, цитохром P-450 могут генерировать активный кислород и вызывать инактивацию многих ферментов. При действии синглетного кислорода происходит агрегация мембранных белков клеток и, таким образом, существенно нарушаются свойства и функции мембран (Арчаков, Мохосев, 1989).

Одной из насущных проблем загрязнения водоемов является попадание в них больших количеств естественных гормонов, содержащихся в сточных водах животноводческих, птицеводческих хозяйств и коммунальных предприятий. Особенно опасны эстрогены, играющие важную роль в дифференциации пола, формировании и развитии гонад, гаметогенезе и, в конечном итоге, в успешном размножении организмов и поддержании численности популяций и видов. Насыщение водной среды гормонами и их искусственными аналогами (ДДТ, пестициды, ПХБ и другие компоненты) приводит к деструкции процессов размножения, инверсии пола, снижению численности и сокращению видов (Gagne et al., 2001). Более того, попадая в организм человека, они могут вызвать различные гормональные расстройства и опухолевые заболевания. Индикаторами репродуктивного здоровья рыб служат такие показатели как морфологические характеристики гонад, гонадосоматический индекс (ГСИ) и уровень вителлогенина (VTG) - белка желтка икры в сыворотке крови. Были отмечены аномалии развития гонад, изменение физиологических индексов у морского ерша, обитающего в наиболее загрязненных бухтах Севастополя (Овен и др., 2000).

Существенный интерес представляет определение активности фермента глутаматпируватаминотрансферазы (ГПТ), которая в нормальном состоянии определяется в гепатоцитах. При поражении печени, в том числе ксенобиотиками, происходит разрушение клеток, и фермент появляется в сыворотке крови. Таким образом, идентификация активности ГПТ в сыворотке крови свидетельствует о патологических изменениях в печени. Перспективным индикатором патологического состояния рыб является азот мочевины, увеличение уровня которого в крови отражает нарушение жаберной функции или дыхания. Если жабры функционируют нормально, то через них, также как через почки, выводятся продукты азотистого обмена. В то же время жабры и почки чувствительны к повышенным концентрациям металлов в среде, которые могут вызывать их патологии. Одним из индикаторов неблагоприятного состояния организма и, в частности, снижения его скорости роста, может быть соотношение ДНК/РНК. Этот параметр ниже у рыб, обитающих в загрязненных акваториях (Adams, 2005).

В настоящее время наметилась определенная тенденция оценивать состояние организма и среды его обитания по комплексу биомаркеров, характеризующих патологические изменения в результате действия неблагоприятных факторов среды. В этом плане показателем класс среднемолекулярных продуктов протеолиза или молекул средней массы (МСМ), которые могут служить интегральным показателем метаболических нарушений. При этом содержание МСМ в крови зависит от интенсивности их образования в организме и от состояния органов и систем,

участвующих в их выведении и метаболизме, в основном от детоксикационной функции почек (Карякина, Белова, 2004).

Состояние популяций гидробионтов, в том числе рыб, отражает качество водной среды, в которой они обитают. В связи с этим популяционные параметры рыб широко используются для оценки уровня загрязнения акваторий и статуса водных экосистем, в течение длительного времени испытывающих антропогенное воздействие. Информативными параметрами являются размер и структура популяции, плодовитость, средний возраст и скорость роста, отражающие условия существования организмов в течение достаточно длительного времени. Хотя изменения в структуре популяции и являются чувствительными к стрессовым воздействиям, время, качество и степень ответной реакции зависят от действующих факторов. При этом ответные реакции популяции, как правило, неспецифичны и проявляются в ограниченном наборе откликов, в частности, в гибели икринок и личинок, их аномальном развитии, увеличении смертности взрослых рыб, снижении выживаемости ювенильных особей, снижении среднего возраста особей в популяции, уменьшении численности популяции. Было отмечено, что в загрязненных акваториях видовое разнообразие рыб, их численность и плотность значительно ниже, чем в относительно чистых водоемах, а также нарушена возрастная и половая структура популяций (Munkittrick, Dixon, 1989).

Совершенно очевидно, что при исследовании множества параметров организма, находящегося в условиях стресса, вызванного антропогенным загрязнением, необходима интегральная оценка их вариаций. Н.Н. Немовой и сотруд. (2004) предложены два набора биохимических тестов- минимальный и оптимальный. Первый состоял из 10-15 параметров, определяемых в 3-4 органах и характеризующих несколько биохимических функций (общий гомеостаз, состояние мембран, внутриклеточное пищеварение, детоксикация поврежденных молекул и ксенобиотиков, состояние системы ПОЛ-АОА, функционирование соединительных тканей). Оптимальный вариант включал 35-45 тестов, а в отдельных случаях - до 150-200, отражающих специфику белкового, углеводного и липидного обмена рыб. На основании определения тестов был предложен «интегральный биохимический индекс» (ИБИ) или «биохимический индекс стресса», адекватно отражающий состояние рыб в условиях действия неблагоприятных факторов, и его изменения соответствовали закономерности «доза-эффект».

Нами также был предложен интегральный показатель антиоксидантной активности (ИП АОА), рассчитанный как арифметическая сумма активностей антиоксидантных ферментов исследуемой ткани гидробионтов. Было показано, что чем выше уровень загрязнения среды, тем выше ИП АОА. Однако в сильно загрязненных районах он может снижаться вследствие истощения защитных свойств организма, уменьшения уровня антиоксидантов и активности антиоксидантных ферментов (Руднева и др., 2005).

Таким образом, можно заключить, что в будущем основные направления оценки здоровья рыб и качества среды их обитания будут связаны с 1. поиском новых индикаторов разного биологического уровня, 2. установлением как неспецифических, так и специфических, то есть реагирующих на определенные ксенобиотики, биомаркеров, 3. разработкой интегральных систем, включающих несколько тест-объектов, биомаркеров и биоиндикаторов разного уровня. Совершенно очевидно, что применение комплекса биоиндикаторов позволит получить более полную информацию о состоянии популяций рыб, планировать их промысел и совершенствовать условия культивирования.

ЛИТЕРАТУРА

Арчаков А.И., Мохосев И.М. Модификация белков активным кислородом и их распад // Биохимия. 1989. Т.54, № 2. С. 179 - 186.

Карякина Е.В., Белова С.В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (Обзор литературы)// Биохимия и клиническая лабораторная диагностика. 2004. № 3. С. 3 - 7.

Бурлакова Е.Б., Храпова Н.Г. Системы, регулирующие интенсивность свободно-радикального окисления липидов биомембран / В кн.: Химическая и биологическая кинетика, новые горизонты. М.: Химия, 2005. Т. 2. С. 46-65.

Немова Н.Н., Высоцкая Р.У., Сидоров В.С. Биохимическая индикация токсического воздействия на рыб. / В кн.: Актуальные проблемы водной токсикологии. Борок, 2004. С. 81 - 98.

Овен Л.С., Шевченко Н.Ф., Володин С.В. Распределение, динамика размерно-возрастного состава и спектра питания мерланга и шпрота в разных районах Черного моря (1978-1992). / В кн.: Современное состояние ихтиофауны Черного моря. (Ред. С.М. Коновалов). Севастополь, 1996. С. 9-38.

Овен Л.С., Руднева И.И., Шевченко Н.Ф. Ответные реакции черноморского ерша *Scorpaena porcus* на антропогенное воздействие // Вопросы ихтиологии. 2000. Т. 40, № 1. С. 75 - 78.

Руднева И.И. Ответные реакции морских животных на антропогенное загрязнение Черного моря: Автореф. дис. д-ра биол. наук.: 03.00.29 / МГУ. М., 2000. 55 с.

Руднева И.И., Залевская И.Н., Мельникова Е.Б. Оценка уровня антропогенного влияния на прибрежные морские акватории с помощью биомаркеров рыб / В кн.: Заповедники Крыма: заповедное дело, биоразнообразие, экообразование. Материалы 3 научной конференции, 22 апреля 2005 г, Симферополь. С. 217 - 223.

Adams S.M. Assessing cause and effect of multiple stressors on marine systems. // Marine pollution Bulletin. 2005. V. 51, № 8-12. P. 649-657.

Gagne F., Macrogliese D.J., Blaise C., Gendron A.D. Occurrence of compounds estrogenic to freshwater mussels in surface waters in an urban area // Environ. Toxicol. 2001. V. 16, № 3. P. 260 - 268.

Munkittrick K.R., Dixon D.G. A holistic approach to ecosystem health assessment using fish population characteristics // Hydrobiologia. 1989. V. 188/189. P. 123 - 135.

Narbonne J.F. Mechanisms de biotransformation des polutants organiques chez les animaux marines // Oceanis. 1991. V. 17, fasc. 4. P. 449 - 458.

Parke D.V., Molecular mechanisms of chemical toxicity // Polish J. F Occupational Medicine. 1988. V.1, № 1. P. 18.

Stegeman J.J., Miller C.A., Beyer J., Moor M.J., Goksoyr A. Cytochrome P450 1A expression and localization in organs of the Mink whale (*Balaenoptera citorostrata*) // Mar. Environ. Res. 1998. V. 46, № 1 - 5. P. 128.

BIOINDICATORS APPLICATION FOR THE EVALUATION OF FISII HEALTH

Rudneva I.I.,

*Institute of the biology of the Southern Seas National Ukrainian Academy of sciences, Sevastopol, Ukraine, e-mail: svgl@bios.iuf.net

The application of biomarkers, direct and inderict indicators for the evaluation of fish health is demonstrated. The importance of complex analysis of fish monitoring development id discussed.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ И ИММУННЫЙ СТАТУС ГИДРОБИОНТОВ ЗАЛИВА НЯЧАНГ (ВЬЕТНАМ)

В.Б. Рябов¹, И.А. Кондратьева², А.В. Смуров³, Д.Т. Хуонг⁴

1 – Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия,
e-mail: vbyabov@mail.ru

2 – Международный биотехнологический центр МГУ, Москва, Россия

3 – Экоцентр МГУ, Москва, Россия

4 – Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и
технологический центр, Приморское отделение, Нячанг, Вьетнам,

Иммунный и физиологический статус гидробионтов является важным критерием оценки благополучия окружающей среды. Антропогенное загрязнение водоемов тяжелыми металлами, хлорорганическими соединениями, бытовыми детергентами оказывает иммуномодулирующий эффект, воздействуя как на клеточное, так и на гуморальное звено иммунитета (Кондратьева и др., 2002; Coteur et al., 2003). Последствием иммунных дисфункций может быть повышение восприимчивости гидробионтов к условно-патогенным видам микроорганизмов, а также нарушение стабильности симбиотических сообществ (Рябов и др., 2005).

Залив Нячанг Южно-Китайского моря является популярным курортом Вьетнама, а также крупным портовым районом. Вдоль рек, впадающих в залив, расположены предприятия промышленности, несущие потенциальную экологическую опасность. В связи с этим необходим постоянный мониторинг состояния биоты залива, одним из направлений которого является изучение и наблюдение за состоянием иммунного статуса гидробионтов. В настоящее время иммунологические характеристики рыб и беспозвоночных залива Нячанг не исследованы. Однако, подобные исследования являются перспективными с точки зрения поиска биомаркеров антропогенного загрязнения. На основе данных о динамике иммунных параметров выбранных тест-объектов может быть создана система мониторинга для оценки степени экологической опасности вод залива Нячанг и Южно-Китайского моря.

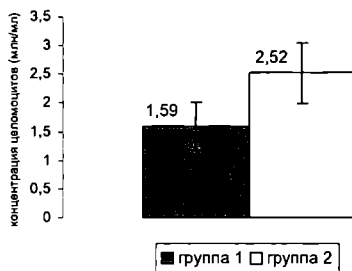
В настоящей работе проведены исследования динамики иммунных и физиологических показателей морской звезды *Culcita Novaeguineae* из нескольких районов залива Нячанг, включавшие определение некоторых клеточных и гуморальных факторов иммунитета, а также оценку степени зараженности морских звезд симбиотическими организмами.

Особи *C. Novaeguineae* были отловлены в мае-июне 2006 года в двух районах залива, отличающихся по степени антропогенной нагрузки. Экспериментальную группу 1 составили морские звезды с мыса Муй Нам (район с высокой антропогенной нагрузкой), группу 2 – морские звезды побережья о-ва Нок (район с низкой антропогенной нагрузкой). Каждая группа состояла из 20 особей. У животных были определены следующие параметры: концентрация целомических клеток и общего белка в гемолимфе, агглютинирующая активность гемолимфы, степень зараженности рыбой-комменсалом *Sagarus* sp. и паразитическими моллюсками семейства *Eulimidae*.

Концентрация целомочитов

Полученные данные свидетельствуют о том, что особи *C. Novaeguineae* достаточно сильно различаются между собой по концентрации целомочитов в пределах одной экспериментальной группы. В группе 1 колебания концентрации составили от 0,3 млн/мл до 3,85 млн/мл. В группе 2 – от 0,4 млн/мл до 7,05 млн/мл. Однако, в среднем животные в группе 2 характеризуются более высокой концентрацией целомочитов по сравнению с группой 1 (средние значения 2,52 млн/мл и 1,59 млн/мл соответственно, $\alpha < 0,05$, рис.1).

Рис.1 Средняя концентрация целомоцитов в гемолимфе *C. Novaeguineae*



Агглютинирующая активность гемолимфы

Данные РГА показали, что титр агглютининов у большинства исследованных особей *C. Novaeguineae* достаточно высок. При этом, как и в случае клеточных факторов, наблюдаются значительные колебания титра агглютининов между особями, что, по-видимому, обусловлено различием индивидуального физиологического статуса животных. Средний титр агглютининов между экспериментальными группами достоверно не различается (в группе 1 он составляет 6, в группе 2 – 5,65; $\alpha < 0,05$). Однако, в группе 1 отмечены особи с очень высоким титром агглютининов. В группе 2, напротив, отмечены особи с низким титром агглютининов. Литической активности в гемолимфе всех исследованных особей *C. Novaeguineae* не обнаружено.

Концентрация общего белка

Гемолимфа *C. Novaeguineae* содержит очень мало белка (от 0,006 до 0,6 мг/мл у исследованных особей). Статистический анализ указывает на то, что средняя концентрация белка в гемолимфе группы 2 достоверно превышает аналогичный показатель в группе 1 (0,16 мг/мл и 0,027 мг/мл соответственно, $\alpha < 0,05$; рис.2). Однако, по результатам концентрация белка в гемолимфе морских звезд также зависит от времени отлова. Пик концентрации белка у особей *C. Novaeguineae* наблюдался в конце мая и почти не зависел от экспериментального района (рис.3).

Рис.2 Концентрация общего белка в гемолимфе *C. Novaeguineae*

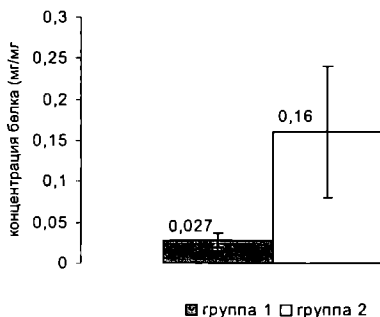
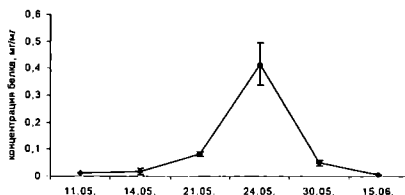


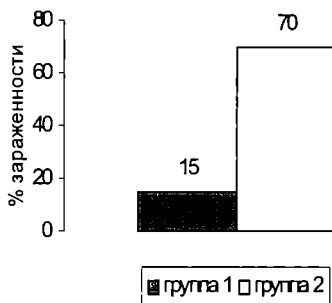
рис.3 Зависимость концентрации белка в гемолимфе *C. Novaeguineae* от даты отлова



Экстенсивность заражения *C. Novaeguineae* рыбой-комменсалом *Carapus sp.*

Зараженность *Carapus sp.* в группе 1 составляет 15%, в группе 2 – 70%. При этом средний радиус луча морской звезды в группе 1 равен 10,9 см, а в группе 2 – 15,5 см. Корреляции степени зараженности *Carapus sp.* с измеренными биохимическими параметрами гемолимфы *C. Novaeguineae* не обнаружено (рис. 4)

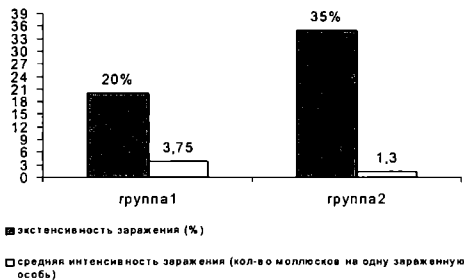
Рис.4 Экстенсивность заражения *C. Novaeguineae* рыбой-комменсалом *Carapus sp.*



Экстенсивность и интенсивность заражения *C. Novaeguineae* моллюсками семейства Eulimidae

По результатам анализа экстенсивность заражения моллюсками различается между экспериментальными группами. Она составляет 20% в группе 1 и 35% в группе 2. При этом средняя интенсивность заражения выше в группе 1 (3,75 моллюска на особь) и ниже в группе 2 (1,3 моллюска на особь, рис.5). Корреляции степени заражения моллюсками с измеренными биохимическими параметрами гемолимфы *C. Novaeguineae* не обнаружено.

Рис.5 Экстенсивность и интенсивность зараженности *C. Novaeguineae* моллюсками рода *Eulimidae*



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У исследованных групп *C. Novaeguineae* не выявлено внешних признаков заражения бактериальными, вирусными или грибковыми инфекциями. Однако, по данным экспериментов некоторые иммуно-физиологические параметры морских звезд из различных районов залива Нячанг достоверно различаются. Среди определенных показателей необходимо обратить особое внимание на экстенсивность и интенсивность заражения *C. Novaeguineae* паразитическими моллюсками и рыбами-комменсалами, постоянно обитающими в ее целомической полости. Стабильность этого симбиоза обеспечивается взаимной иммунной толерантностью входящих в него видов. Модулирующее воздействие антропогенного загрязнения может приводить к изменению физиологии и иммунного статуса организма-хозяина или симбионтов. Следствием этого может быть нарушение толерантности, приводящее к повышенному заселению симбиотическими организмами или их элиминации. По результатам работы животные в группе 1 из неблагоприятного по уровню загрязнения района существенно отличаются по экстенсивности заражения моллюсками и рыбами от животных группы 2. Причем в группе 2 зараженность обеими видами симбионтов выше (в 4,7 раза в случае рыбы-комменсала и в 1,75 раза в случае моллюсков). Однако, интенсивность заражения моллюсками выше в группе 1. Это говорит о том, что условия среды в районе м. Муй Нам могут быть неблагоприятными для развития моллюсков и личинок карапуса или вызывать их гибель. Возможно, какие-либо не отмеченные особенности физиологии или биохимии морских звезд на Муй Наме препятствуют проникновению симбионтов в организм. При этом сниженное число целомоцитов и возможная супрессия клеточного ответа могут способствовать снижению резистентности к заражению моллюсками при проникновении одного из них в организм, что обуславливает большую интенсивность заражения в группе 1. Тем не менее, на данный момент нельзя сделать вывод о том, что полученные различия являются исключительно последствиями антропогенного загрязнения. В заливе Нячанг на *C. Novaeguineae* влияют многочисленные абиогенные и биогенные факторы среды, каждый из которых потенциально способен вызывать иммуномодулирующие эффекты. В связи с этим, для определения причин различий иммуно-физиологического статуса гидробионтов в дальнейшем необходим постоянный и длительный мониторинг выбранных биомаркеров, а также увеличение их числа.

ЛИТЕРАТУРА:

Параметры врожденного иммунитета *Asterias rubens* и *Mytilus edulis* L. после различных воздействий / И.А.Кондратьева, А.В.Киташов, А.А.Киташова и др.// Труды

Беломорской биологической станции им. Н.А. Перцова МГУ. Русский университет-М., 2002.- Том VIII-С. 89-108.

Неблагоприятные условия среды обитания как фактор возникновения массовых инфекций у гидробионтов в естественных условиях и в аквакультуре/ В.Б.Рябов, А.В.Киташов, И.А.Кондратьева// Мат. Всеросс. Науч-практ. конфер.-семин. «Эпизоотологический мониторинг в аквакультуре: состояние и перспективы». Россельхозакадемия-М., 2005.- С. 104-107.

Echinoderms as bioindicators, bioassays, and impact assessment tools of sediment-associated metals and PCBs in the NorthSea/ G.Coteur, P.Gosselin, P.Wantier et al.// Arch.Environ.Contam.Toxicol., 2003.-Vol.45.-P.190-202.

PHYSIOLOGICAL AND IMMUNE STATUS OF HYDROBIONTS OF NHA TRANG BAY (VIETNAM)

V.B. Ryabov, I.A. Kondratieva, A.V. Smurov, D.T. Huong

Immune and physiological status of water animals is an effective tool for diagnostics of environmental pollution. Among immune parameters of hydrobionts there are suitable biomarkers of anthropogenic toxicants. In the present work some rapid tests were applied to appreciate physiological status of *Culcita Novaeguineae* from Nha Trang Bay. Concentration of coelomic cells, a degree of contamination by parasitic mollusks Eulimidae and commensal fish *Carapus sp.*, and also general protein and agglutinating activity of hemolymph were measured in two groups of starfishes from locations with different anthropogenic impact. Differences between the groups were found in all parameters except agglutinating activity. We conclude that some of investigated parameters can be suitable biomarkers of anthropogenic pollution. But further prolonged research on immunophysiological functions of Nha Trang Bay hydrobionts is necessary.

**ВЛИЯНИЯ ПАРТЕНИТ ТРЕМАТОД НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ
ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЕРВЫХ ПРОМЕЖУТОЧНЫХ ХОЗЯЕВ
МОЛЛЮСКОВ СЕМЕЙСТВА BITHYNIIDAE**

Е.А. Сербина

Институт систематики и экологии животных СО РАН, 630091 Россия
Новосибирск, ул. Фрунзе, 11 e-mail: Serbina@ngs.ru; serbina_elen_an@mail.ru

Форма раковины моллюсков характеризуется значительной внутривидовой пластичностью и ее изменчивость определяется комплексным влиянием различных экологических факторов. Влияние паразитов на морфологические характеристики раковины моллюсков отмечены ранее для различных систем моллюски-партениты трематод. Один из наглядных примеров такого влияния трематод – существенная деформация раковин у морских переднежаберных моллюсков литорин зараженных трематодами на стадии партенит (Панова и др., 1999; Калибердина, Гранович, 2003)

С 1994 года по настоящее время мы изучаем распространение пресноводных переднежаберных моллюсков семейства Bithyniidae в водоемах Новосибирской области, а так же исследуем их зараженность трематодами (на разных стадиях развития: партениты, метацеркарии и мариты). В результате наших исследований обнаружено, что в экосистемах юга Западной Сибири у моллюсков семейства Bithyniidae паразитируют трематоды 38 видов 14 семейств (Сербина, 2001а, 2002а, 2004). Обследование более пятидесяти водоемов в Новосибирской области, выявило моллюсков семейства Bithyniidae (*Bithynia tentaculata* (L., 1758) и *Bithynia troscheli*¹ (Paasch, 1842)) только в двенадцати из них (Сербина, 2002 б, 2005, и др.). В наших предыдущих работах было показано, что раковины самцов и самок *B. troscheli* одинаковых размерных классов достоверно различаются по ряду морфометрических признаков и индексов (Сербина, 2001 б, 2002 а).

В настоящем исследовании мы сравнили морфометрические параметры раковины самцов и самок *B. troscheli* зараженных партенитами трематод и свободных от инвазии с учетом возраста. Для выполнения поставленной цели были определены следующие задачи. 1. Выяснить различаются ли самцы и самки *B. troscheli* одного возраста по изученным морфометрическим параметрам раковин. 2. Сравнить раковины *B. troscheli* зараженных партенитами трематод (редидионных и споронистидных видов) с не зараженными особями, с учетом возраста и пола.

Поскольку популяции, обитающие в различных условиях среды, могут иметь различия в морфометрических характеристиках раковины (Charpan, 1995; Johannesson, Johannesson, 1996), то для настоящего анализа взяты моллюски *B. troscheli* одной популяции (из устья реки Каргат, бассейн озера Чаны, юг Западной Сибири). Такой выбор позволяет нам исключить влияния абиотических факторов на морфометрические параметры раковин. Сборы проведены 1-2 раза в декаду с мая по сентябрь в 1995- 2005 г.г. Моллюсков промеряли по пяти абсолютным признакам: высота и ширина раковины, высота завитка, высота и ширина устья (согласно Жадину, 1952). Возраст моллюсков определяли по "годовым валикам" на раковине (Безр, и др. 1969). Моллюски-сеголетки обозначены (0+), годовики - (1+), а двух-, трех- и четырехлетние особи, соответственно (2+), (3+) и (4+). В условиях водоемов юга Западной Сибири максимальная продолжительность жизни *B. troscheli* пять лет (5+), но поскольку они встречались единично, то они включены в группу (<4+). Зараженность моллюсков партенитами трематод исследовали, как прижизненно, так и компрессорно. Прижизненное обследование моллюсков необходимо для видовой идентификации партенит трематод, а компрессорное обследование проводили с целью определения пола, а также выявления зараженности моллюсков трематодами на более

¹ вид относили к родам *Codiella* (Старобогатов, Затравкин, 1987) и *Opisthorchophorus* (Старобогатов, Прозорова и др. 2004).

ранних стадиях развития – рении и спороцисты. Для анализа морфометрических параметров раковин зараженных партенитами трематод использовали только данные тех моллюсков, у которых трематоды были определены до семейства, моллюски зараженные партенитами на более ранних стадиях развития были исключены из анализа. Всего в анализе были использованы данные по 4953 раковинам (4343 от моллюсков свободных от инвазии и 610 от зараженных моллюсков). Рассмотрены данные по 10 особям у которых зарегистрировано одновременное заражение двумя видами трематод в одной особи хозяина или другими словами «двойные заражения». Статистический анализ выполнен с использованием пакета программы STATISTICA.

Таблица 1

Сравнение морфометрических характеристик раковин самцов и самок *Bithynia troscheli* с учетом возраста

Возраст	Пол	n	Абсолютные признаки ($\bar{X} \pm t$)				
			Высота раковины	Ширина раковины	Высота завитка	Высота устья	Ширина устья
0+	самки	275	4,28±0,82	4,05±0,80	2,97±0,41	2,38±0,48	1,88±0,46
	самцы	208	4,44±0,79	3,74±0,55	3,19±0,45	2,51±0,32	1,76±0,25
1+	самки	706	6,62±0,89	5,61±0,70***	4,33±0,62***	3,45±0,46***	2,74±0,43**
	самцы	624	6,53±0,99	5,26±0,46***	4,03±0,44***	3,14±0,30***	2,57±0,30**
2+	самки	928	7,93±0,72***	6,36±0,51***	4,87±0,49***	3,92±0,29***	3,28±0,30***
	самцы	721	7,27±0,62***	5,70±0,44***	4,43±0,45***	3,59±0,37***	2,95±0,24***
3+	самки	524	8,64±0,60***	6,75±0,43***	5,34±0,42***	4,13±0,24***	3,43±0,22***
	самцы	238	7,81±0,60***	6,01±0,44***	4,88±0,51	3,80±0,31***	3,15±0,24***
<4+	самки	74	9,04±0,59	7,01±0,49*	5,63±0,43	4,28±0,27	3,62±0,29
	самцы	45	9,04±0,91	6,73±0,59*	5,85±0,82	4,22±0,32	3,49±0,29

n - количество исследованных
* - значимость различий $p < 0.05$

** - значимость различий $p < 0.01$
*** - значимость различий $p < 0.001$

Морфометрические параметры самок и самцов свободных от инвазии партенит трематод приведены в таблице №1. Следует отметить, что у сеголеток (0+) разного пола достоверных различий не выявлено, ни по одному из изученных признаков, однако у самцов параметры высот (раковины, завитка и устья) были несколько больше, чем у самок, которые превышали их по параметрам ширин (раковины и устья). Параметры раковин самок (1+), (2+) и (3+) в большинстве случаев были достоверно больше, чем параметры раковин самцов соответствующих возрастов (табл.1). Параметры раковин самок и самцов самых взрослых (<4+), были практически одинаковы, исключая ширину раковины, которая также у самок была достоверно больше, чем у самцов. Таким образом, анализ 4343 моллюсков *B. troscheli* не зараженных партенитами трематод пяти возрастных классов, по пяти морфометрическим параметрам показал, что, в любом возрасте раковина у самок шире, чем у самцов. По другим изученным признакам выявленные различия самок и самок носят достоверный характер в средних возрастных классах.

Поскольку одновозрастные самцы и самки различаются по обследованным признакам, то при сравнении морфометрических параметров раковин зараженных партенитами трематод мы данные приведенные в таблице №1 приняли за 100%. У моллюсков *B. troscheli* из изучаемой популяции обнаружены партениты трематод 10 семейств: Monorchidae, Odhner, 1911; Opisthorchidae Lass, 1899; Psilostomatidae Odhner, 1913; Echinochasmidae Odhner, 1911 Echinostomatidae Dietz, 1909; Cyclocoliidae

Kossack, 1911; Notocotylidae Lühe, 1909; Cyathocotylidae Poche, 1925; Prosthogonimidae Lühe, 1909; Lecithodendriidae Odhner, 1911. У представителей семи первых семейств партеногенетические поколения представлены материнскими спороцистами и редиями, последние способны отраждать как дочерние редии, так и церкарий, в зависимости от физиологического состояния хозяина-моллюска, т.е. относятся к «редиидным». Представители трех семейств Cyathocotylidae, Prosthogonimidae, Lecithodendriidae у которых партеногенетические поколения представлены только спороцистами (материнской и дочерними) относятся ко второй группе – «спороцистоидных». Как у самцов, так и у самок обнаружены трематоды редиидных (53 экз. и 54 экз., соответственно) и спороцистоидных (235 экз. и 258 экз.) видов трематод. Однако следует отметить, что если представители спороцистоидных видов трематод (СВТ) обнаружены у моллюсков всех возрастов, то трематоды группы редиидных видов (РВТ) не обнаружены у самых молодых моллюсков-сеголеток и самых взрослых (5+). Сравнение морфометрических параметров *B. troscheli*, зараженных партенитами трематод, с параметрами среднестатистических моллюсков соответствующего возраста и пола было замечено, что как правило, зараженные особи имели бо́льшие размеры раковины, чем незараженные. Однако при заражении (РВТ) и (СВТ) отмечены некоторые отличия. Так, средняя высота раковины молодых самок (1+) и (2+) при заражении (РВТ) практически не изменяется, по сравнению с контролем, а у самок (3+) и (4+) увеличивался на 14% ($df=21$; $p<0,001$) и 7%, соответственно. При заражении (СВТ), отмечено резкое увеличение высоты раковины у самок-сеголеток (до 24%); у самок (1+) и (2+) отмечено увеличение до 5%, а у трехлетних и четырехлетних самок – до 7% и 11%, соответственно. Следует заметить, что достоверное превышение высоты раковины обнаружено у двухлетних ($df=76$; $p=0,02$) и четырехлетних ($df=63$; $p=0,004$) самок. При заражении как (СВТ), так и (РВТ) отмечено, что ширина раковины самок увеличивается на 1-6% или на 1-10%, соответственно. У трехлетних самок достоверные различия выявлены как при заражении редиидными ($df=19$; $p<0,001$), так и спороцистоидными видами ($df=70$; $p<0,001$), а у четырехлетних ($df=66$; $p=0,002$) только при заражении (СВТ). При заражении (РВТ) высота завитка раковины самок у молодых моллюсков превышала норму на 14-18% и приближалась к контролю у взрослых (4+). Достоверные различия выявлены только у трехлетних самок ($df=14$; $p=0,002$). Высота завитка раковины самок при заражении (СВТ) увеличивалась у годовиков на 2%, у двухлетних на 7% ($df=56$; $p=0,007$), у трехлетних на 11% ($df=61$; $p<0,001$) и четырехлетних на 15% ($df=51$; $p<0,001$), по сравнению с незараженными. Высота устья самок увеличивалась при заражении (СВТ) на 1%, 3%, 5% ($df=67$; $p=0,001$) и 6% ($df=42$; $p<0,007$) с каждым годом жизни, соответственно. При заражении (РВТ) отмечено уменьшение высоты устья на 3% у самок (2+); увеличение на 10% у самок (3+) ($df=16$; $p<0,001$) и близкое к норме у самок (4+). Ширина устья самок зараженных как (СВТ) так и (РВТ) соответствовала норме или в редких случаях превышала ее на 3-4%. Достоверные различия обнаружены только у трехлетних самок ($df=61$; $p<0,001$) зараженных (СВТ).

Сравнение морфометрических параметров раковин самцов *B. troscheli* зараженных партенитами трематод показало, что высота раковины самцов, как правило, была выше, чем у незараженных моллюсков соответствующего возраста. При заражении (РВТ) высота раковины самцов увеличивалась от 2% до 22% в разных возрастах. Однако достоверные различия выявлены у трехлетних ($df=18$; $p<0,001$) и четырехлетних ($df=18$; $p=0,03$) самцов. При заражении (СВТ), самое резкое увеличение раковины отмечено у самцов-сеголеток (до 27%). У самцов (1+), так же как и у самок аналогичной группы отмечено увеличение высоты раковины до 5%. Высота раковины у самцов (2+) и (3+) превышала норму на 13-11%, соответственно, а у самцов старше (4+) превышение составило 4%. Высота раковины у двухлетних ($df=81$; $p<0,001$), трехлетних ($df=83$; $p<0,001$) и четырехлетних ($df=67$; $p=0,03$) самцов было достоверно

выше, чем у незараженных. Ширина раковины самцов (1+) и (2+) зараженных (PBT) выявлялись на 5-3%, а у самцов (3+) и (4+) на 16-14%. Однако достоверные различия выявлены только у трехлетних самцов ($df=17$; $p<0,001$). При заражении (CBT) ширина раковины самцов (1+) и (4+) увеличивается на 4%, а у двухлетних ($df=74$; $p<0,001$) и трехлетних ($df=63$; $p=0,008$) на 9%. Высота завитка раковины самцов увеличивалась при заражении (CBT) на 14%; 18% ($df=19$; $p<0,001$), 13% ($df=66$; $p<0,001$) и 2% с каждым годом жизни, соответственно. При заражении (PBT) высота завитка раковины у молодых самцов (1+) и (2+) превышала норму на 4% и резко увеличивалась у взрослых моллюсков: у трехлетних ($df=15$; $p<0,001$) на 29%; у четырехлетних ($df=3$; $p=0,002$) на 23%. При заражении (PBT) отмечено увеличение высоты устья на 6%, 2%, у самцов (1+) и (2+), соответственно, и на 10% у самцов старших возрастов (у трехлетних ($df=16$; $p=0,004$) и четырехлетних ($df=5$; $p<0,001$) самцов). Высота устья самцов увеличивалась при заражении (CBT) у годовиков ($df=32$; $p=0,004$) на 10%, у двухлетних ($df=65$; $p<0,001$) на 7% и у трехлетних ($df=67$; $p=0,008$) на 6%, а для четырехлетних особей соответствовало контролю. При заражении (PBT) ширина устья соответствовала норме у самцов (1+) или была увеличена на 3-27% у самцов других возрастов. Однако достоверные различия выявлены только у трехлетних самцов ($df=9$; $p=0,004$). Ширина устья самцов зараженных (CBT) увеличена на 5-8% по сравнению с контролем. При этом у годовиков ($df=56$; $p=0,007$) и трехлетних ($df=61$; $p<0,001$) ширина устья самцов была достоверно выше, чем у незараженных.

Проведенное исследование показало, что трематоды у которых партеногенетические поколения представлены только спороцистами и трематоды у которых в процессе онтогенеза формируются редии оказывают разное влияние на рост раковины хозяина *B. troscheli*. Так при заражении (PBT) у самок (1+) и (2+) отмечены более низкие показатели, по отдельным параметрам или значения равные среднестатистическим. У самцов-годовиков зараженных (PBT), также выявлены более низкие морфометрические показатели, а размеры двухлетних особей равны среднестатистическим или незначительно превышают их (на 1-4%). Трехлетние *B. troscheli* как самцы, так и самки зараженные (PBT) достоверно больше среднестатистических. Если четырехлетние самки зараженные (PBT), практически не отличались от нормы, то самцы превышали среднестатистические значения, при этом высотные параметры, были достоверно выше. При заражении (CBT) у самок-годовиков значения равны среднестатистическим для соответствующего возраста, (превышения на 1-4%). Размеры двухлетних самок также близки к норме однако, по высотным параметрам (раковины и завитка) они достоверно превышают среднестатистические. Взрослые самки (3+) и (4+) достоверно больше незараженных по всем обследованным параметрам (исключая ширину устья у четырехлетних). У самцов (1+) зараженных (CBT) отмечено увеличения раковины по всем исследованным параметрам (на 4-14%), однако достоверные различия выявлены только по размерам устья. Двух-трехлетние самцы были достоверно больше нормы по всем обследованным параметрам, а четырехлетние имели среднестатистические параметры или незначительно превышали их (на 1-4%).

По имеющимся у нас в распоряжении сведениям по двойным заражениям моллюсков можно сказать, что они зарегистрированы у самцов (1+), (2+) и (3+) и один раз у самки (4+). Отмечено, что высота раковины годовиков и двухлеток была значительно ниже (до 12%) нормы. Промеры моллюсков трех-четырёхлетнего возраста превышали норму по некоторым параметрам или соответствовали ей.

Настоящая работа выполнена при частичной поддержке Междисциплинарного интеграционного проекта СО РАН 19 (2) и РФФИ (07-04-01416).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Безр С.А., Королева В.М., Лифшиц А.В. Определение возраста *Bithynia leachi* (Mollusca, Gastropoda). // Зоол. журн., 1969. Том XLVIII - Вып. 9 - С.1401-1404.

Жадин В.И. Моллюски пресных и солоноватых вод СССР. - М.-Л. 1952.-376 С.
Калибердина М.В., Гранович А. И., Зараженность парthenитами трематод в
воздействие паразитов на форму раковины брюхоногих моллюсков *Littorina saxatilis*:
анализ популяций, обитающих на скалистой литорали Белого моря // Паразитология.
2003. Т. 37, вып. 1. С. 69—86.

Панова М.В., Сергиевский С. О., Гранович А.И. Изменение формы раковины
литоральных моллюсков *Littorina saxatilis* и *L. obtusata* при зараженности парthenитами
трематод // Паразитология. 1999. Т. 33, вып. 1. С. 13—25.

Сербина Е.А. Видовой состав трематод паразитирующих в моллюсках *Bithynia
tentaculata* (Gastropoda: Prosobranchia: Bithyniidae) из водоемов Новосибирской области
(юг Западной Сибири). // Биоразнообразии и биоресурсы Урала и сопредельных
территорий. Материалы международной конференции - Оренбург, 2001 а.- С. 241-242.

Сербина Е.А. Характеристика конхиологических признаков самцов и самок
Opisthorchophorus troscheli (GASTROPODA, PROSOBRANCHIA, BITHYNIIDAE). //
Биолог. наука и образование в педагогических вузах. Новосибирск, 2001б. С.48-53.

Сербина Е.А. Моллюски сем. Bithyniidae в водоемах юга Западной Сибири и их
роль в жизненных циклах трематод. Автореферат канд. дисс. Новосибирск 2002 а.- 22с.

Сербина Е. А. Систематическое положение моллюсков семейства Bithyniidae
(Gastropoda: Prosobranchia) и их распространение в водоемах Новосибирской области.
// Биологич.наука и образование в педагогических вузах. Новосибирск, 2002 б. С.119.
123.

Сербина Е. А. Церкарии трематод в моллюсках семейства Bithyniidae (Gastropoda:
Prosobranchia) из бассейна оз. Малые Чаны (юг Западной Сибири). *Сибирский
экологический журнал*, 2004, № 4 с. 457-462

Сербина Е.А. Распространение трематод семейства Prosthogonimidae в речных и
озерных экосистемах юга Западной Сибири. *Паразитология*, 2005, № 39, с.50-65.

Старобогатов Я. И., Затравкин М. И. Bithyniidae (Gastropoda, Prosobranchia) фауны
СССР // Моллюски: результаты и перспективы их исследований. Л. 1987. с. 150-153.

Старобогатов Я.И., Прозорова Л.А., Богатов В.В. Саенко Е.М. Определитель
пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий. Наука СПб 2004,
Т.6 с.6-491

Chapman M. G. Spatial patterns of shell shape of three species of co-existing littorinid
snails in New South Wales, Australia//J. Moll. Stud. 1995. Vol.1. P. 141 — 162.

Johannesson B., Johannesson K. Population differences in behavior and
morphology in the snail *Littorina saxatilis*: phenotypic plasticity or genetic differentiation?
// J. Zool., London, 1996. Vol. 240. P. 475-493.

**INFLUENCE OF TREMATOD IN PARTHENITES STAGE
ON MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS OF SHELL OF THE MOLLUSC
BITHYNIIDAE (GASTROPODA, PECTINIBRANCHIA)**

E.A. Serbina

Institute for systematics and ecology of animals SB RAS, Novosibirsk, Frynze 11 st.
Phone:170826, Fax (383-2) 170973, Email:Serbina@ngs.ru; serbina_elena_an@mail.ru

Molluscs *Bithynia troscheli* (Paasch, 1842) of one population from The Kargat river (basin of Chany
lake, of South of Western Siberia) have been researched. Parthenities of trematod of ten families
(Cyathocotylidae Poche, 1925; Prosthogonimidae Lühe, 1909; Lecithodendriidae Odhner, 1911;
Monorchidae, Odhner, 1911; Opisthorchidae Lass, 1899; Psilostomatidae Odhner, 1913;
Echinochasmidae Odhner, 1911 Echinostomatidae Dietz, 1909; Cyclocliidae Kossack, 1911;
Notocotylidae Lühe, 1909,) have been found. 4343 uninfected shells with 610 infected ones have been
compared in 5 measurements. As a rule infected shells of mollusks were bigger than uninfected ones.

ХАРАКТЕРИСТИКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ МОЛОДИ КЕТЫ, ЗАРАЖЕННОЙ БАКТЕРИЯМИ *PSEUDOMONAS FLUORESCENS*

Т. М. Сергеевко, В. А. Принцевская

Сахалинский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (СахНИРО), Южно-Сахалинск, Россия. E-mail: sergeenko@sakhniro.ru

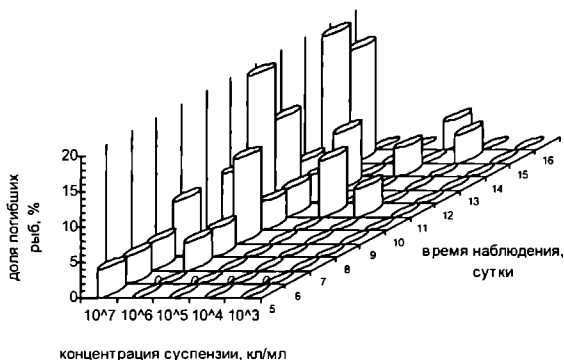
Одной из опасных бактериальных болезней для молоди лососевых является псевдомоноз, вызываемый бактериями р. *Pseudomonas* (*Ps. fluorescens*, *Ps. putida* и др.). Так, на Малкинском ЛРЗ (п-ов Камчатка) псевдомоноз возникал практически ежегодно с 1984 по 1994 г., при этом гибель молоди лососевых рыб в отдельные годы достигала 100% (Вялова, Шкурина, 1995; Шкурина, Полтева, 2000). На Сахалине псевдомоноз регистрировали в 1995 г. у молоди кеты Охотского, а в 1997 г. – у молоди кижуча Буюкловского рыбноводных заводов (Шкурина и др., 1999). На сахалинских ЛРЗ в микрофлоре выращиваемой молоди лососевых доминируют условно-патогенные бактерии р. *Pseudomonas* (36–55%) (Вялова, Шкурина, 2005). В связи с этим возникла необходимость исследований, целью которых явились определение патогенности и штамма *Pseudomonas fluorescens*, изучение диагностики и течения псевдомоноза, а также оценка физиологического состояния больной молоди.

Патогенность выделенных бактериальных культур определяли методом искусственного заражения молоди кеты (поколение 2004 г.), взятой с относительно благополучного по псевдомонозу Березняковского рыбноводного завода (Восточный Сахалин). Молодь выдерживали с целью адаптации в течение 14 суток в аквариальной СахНИРО (объем аквариума – 700 л, t – 9–10°C, O_2 – 11,3 мг/л, pH – 7,1; замкнутая система водоснабжения). После адаптации молодь кеты была поделена на шесть групп, по 25 экземпляров в каждой. Бактериальную суспензию, содержащую *Pseudomonas fluorescens*, вводили внутривентриально, объемом 0,05 мл в концентрациях: 1×10^7 , 1×10^6 , 1×10^5 , 1×10^4 , 1×10^3 кл./мл. В качестве контроля была использована группа рыб, которым вводился стерильный изотонический раствор хлорида натрия. Параллельно с микробиологическими исследованиями рыб проводили оценку физиологического состояния молоди гематологическим методом, который заключался в определении количества гемоглобина, общего количества эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов и лейкоцитарной формулы (Мусселиус и др., 1983). Идентификацию ферментных элементов проводили по классификации, предложенной Н. Т. Ивановой (1983).

Наблюдение за развитием инфекционного процесса показало, что у молоди кеты в зависимости от концентрации введенной микробной суспензии, течение заболевания было различным: острая форма (1×10^7 кл./мл), подострая (1×10^6 кл./мл), хроническая (1×10^5 кл./мл, 1×10^4 кл./мл) и форма «здорового» микробноносительства (1×10^3 кл./мл). Скорость течения бактериальной инфекции и уровень смертности кеты также зависели от концентрации введенных микробов. В группе, где молоди ввели бактериальную суспензию концентрацией 1×10^3 кл./мл, летальных исходов не наблюдалось (рис. 1). В опыте с концентрацией микроорганизмов 1×10^4 кл./мл гибель молоди отмечалась на 15-й день и составляла 4% от общего числа зараженных рыб. Максимальное количество погибших рыб (8%) при введении бактериальной суспензии 1×10^5 кл./мл было зарегистрировано на 11-й день. При введении бактериальной взвеси в концентрации 1×10^6 кл./мл пики гибели рыб приходились на 9-е и 13-е сутки (12 и 8% соответственно).

Наиболее скоротечно и остро инфекционный процесс протекал у рыбы с максимальной концентрацией микробов – 1×10^7 кл./мл. Рыбы погибали практически ежедневно, начиная с 5-х суток. На графике рисунка 1 можно видеть три пика летальных исходов. Первый пик характеризует гибель на 8-е сутки от начала эксперимента (гибель – 8% от общего числа зараженных рыб данной концентрацией).

Следующие два пика – на 11-й и 14-й день наблюдений (20%). Завершилась болезнь 100%-ной гибелью молоди кеты.



исунок 1 – Динамика смертности молоди кеты, зараженной *Pseudomonas fluorescens*

Р

В динамике острого течения заболевания можно выделить два периода: латентный и клинический период с летальным исходом.

Латентный период в эксперименте длился четверо суток, с полным отсутствием характерных клинических признаков. Молодь активно двигалась и охотно брала корм. Однако картина крови характеризовалась изменением количественных показателей. В красной крови наблюдались незначительное увеличение числа эритроцитов и усиление эритропоза. В белой крови число тромбоцитов и лейкоцитов было достоверно ниже по сравнению с контрольными показателями (табл. 1). Изменения в лейкоцитарной формуле были незначительными, но пересчет клеток на абсолютные значения показал, что изменения произошли в основном за счет снижения числа лимфоцитов, т. е. лимфопении. Возможно, помимо мощного бактериального прессинга на изменение количественных показателей белой крови оказали влияние также стресс-факторы (хэндлинг и инъекции), которые воздействовали на молодь кеты в первые сутки эксперимента. По литературным данным, снижение абсолютных значений тромбоцитов и лейкоцитов является характерной реакцией крови при стрессе (Головин, Головина, 1982; Головина, 1996). Однако, по нашим наблюдениям, кроме количественных изменений в морфологии клеток наблюдались и качественные: разноразмерность (анизоцитоз), цитоплазматические выросты у эритроцитов, вакуолизирующая цитоплазма и комковатое грубоязистое ядро у лимфоцитов. В мазках крови были обнаружены бактерии.

Клинический период характеризовался наличием признаков заболевания: на кожных покровах, особенно в области хвостового плавника, отмечались точечные и «размытые» гемorragии, воспаление ануса. Местами отсутствовала чешуя и была депигментирована кожа. Наблюдалась анемичность и небольшая ослизненность жабр. Со стороны внутренних органов у этих рыб наблюдались следующие изменения: анемичная и увеличенная печень, вздутие почки и т. д. Характерной особенностью являлось отсутствие пищи в желудочно-кишечном тракте рыб. Одновременно с этим в брюшной полости отмечались большое количество асцитной жидкости и воспаление стенки брюшной полости. Такие рыбы вели себя пассивно, плавали отдельно, держались у поверхности воды, тяжело заглатывая воздух.

По гематологическим показателям в клиническом периоде можно выделить две стадии: начальный период и полное развитие болезни. В начале клинического периода

при появлении первых признаков заболевания в крови молоди кеты опытной группы произошло достоверное снижение общего числа эритроцитов ($0,8 \pm 0,1$ млн./мкл) и интенсивности кроветворения, выражающейся в снижении процента юных эритроцитарных клеток ($20,5 \pm 0,02\%$) (см. табл. 1). В то же время общее число лейкоцитов увеличилось до контрольных значений. Изменения в лейкоцитарной формуле произошли за счет процентного увеличения бластных клеток и юных нейтрофилов – метамиелоцитов. Увеличение абсолютного числа лимфоцитов в этот период ($4,7 \pm 0,8$ тыс./мкл) можно объяснить функциональной активностью этих клеток. Отмечалось резкое снижение зрелых форм нейтрофилов в крови ($1,0 \pm 0,01\%$). Резкая нейтропения у кеты могла быть вызвана миграцией нейтрофилов старших возрастных групп к пораженным участкам тела для участия в фагоцитозе (Головина, Тромбицкий, 1989). В морфологии клеток наблюдались патологические изменения в виде вакуолизации цитоплазмы и анизоцитоза клеток красной крови.

В период полного развития болезни снижение показателей красной крови прогрессировало. Молодые формы эритроцитов составляли всего $3,5 \pm 0,1\%$ (см. табл. 1). В белой крови также произошло изменение в значениях показателей. Количество лейкоцитов уменьшилось ($4,4 \pm 0,1$ тыс./мкл) за счет снижения абсолютных значений лимфоцитов и нейтрофилов. В лейкоцитарной формуле произошло перераспределение клеточных форм в сторону снижения нейтрофильных метамиелоцитов и бластных клеток. Наблюдаемая эритро- и лейкопения указывает на угнетение органов гемопоэза. Результатом такого угнетения явилась 100%-ная гибель молоди.

Таблица 1 – Гематологические показатели кеты при остром течении заболевания

Показатели крови	Контроль	Опыт (группа 1×10^7 кл./мл)		
		латентный период	клинический период	
			начальный период	полное развитие
Эритроциты, млн./мкл	$1,0 \pm 0,1$	$1,3 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,1^*$	$0,8 \pm 0,1^*$
Юные эритроциты, %	$19,6 \pm 0,1$	$22,4 \pm 0,2$	$20,5 \pm 0,02^*$	$3,5 \pm 0,1^{**}$
Лейкоциты, тыс./мкл	$5,0 \pm 0,7$	$2,6 \pm 0,6$	$5,7 \pm 0,2^*$	$4,4 \pm 0,1^{**}$
Лимфоциты, %	$74,8 \pm 6,9$	$57,2 \pm 0,1$	$82,0 \pm 0,5^*$	$87,5 \pm 0,5^*$
Лимфоциты, тыс./мкл	$3,7 \pm 0,6$	$1,5 \pm 0,5$	$4,7 \pm 0,8^*$	$3,9 \pm 0,6^*$
Метамиелоцит нейтрофильный, %	–	–	$14,0 \pm 1,0$	$1,5 \pm 0,5$
Зрелые нейтрофилы, %	$25 \pm 6,9$	$42,0 \pm 1,7$	$1,0 \pm 0,1^*$	$10,5 \pm 0,2^{**}$
Нейтрофилы, всего тыс./мкл	$1,3 \pm 0,5$	$1,1 \pm 1,0$	$0,8 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,04^{**}$
Бластные клетки, %	$0,2 \pm 0,2$	$0,8 \pm 0,4$	$3,0 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,01$
Тромбоциты, тыс./мкл	$4,5 \pm 1,3$	$1,5 \pm 0,5$	$2,5 \pm 0,1^*$	$2,8 \pm 0,1^*$

*Различия с латентным периодом достоверны по 5%-ному уровню значимости.

**Различия периода полного развития болезни с начальным – достоверны по 5%-ному уровню значимости.

Экспериментальным заражением молоди кеты была показана патогенность бактерий *Pseudomonas fluorescens*, результаты которой отражены в таблице 2.

Выделенный штамм *Pseudomonas fluorescens* являлся патогенным, вызывая 100%-ную гибель молоди в концентрации микробов 1×10^7 кл./мл. С уменьшением микробной концентрации в опытных группах уменьшалась и гибель рыб. В группе рыб, получивших 1×10^6 кл./мл, гибель составляла 40%, а у получивших бактериальную суспензию в концентрации 1×10^3 кл./мл летальных исходов не наблюдалось.

Таблица 2 – Характеристика патогенности бактерий *Pseudomonas fluorescens*

Концентрация исходной взвеси, кл./мл	Число зараженных рыб, экз.	Число погибших рыб, экз.	Доля погибших рыб, %
1×10^7	25	25	100
1×10^6	25	10	40
1×10^5	25	4	16
1×10^4	25	2	8
1×10^3	25	0	0

Таким образом, при экспериментальном заражении молоди кеты бактериальной суспензией, содержащей *Pseudomonas fluorescens*, возникало заболевание псевдомонозом с характерной клиникой и отклонениями в физиологическом состоянии. В зависимости от введенной концентрации течение болезни было острым (1×10^7 кл./мл), подострым (1×10^6 кл./мл), хроническим ($1 \times 10^5 - 10^4$ кл./мл) и в форме «здорового» микроносительства (1×10^3 кл./мл). Манifestация болезни составляла 16–20 суток.

Выделенный штамм *Pseudomonas fluorescens* явился патогенным, способным вызывать острую форму псевдомоноза с проявлением характерных клинических признаков и 100%-ной гибелью молоди кеты. В картине крови произошли как качественные изменения: разноразмерность (анизоцитоз), цитоплазматические выросты у эритроцитов, вакуолизация цитоплазмы и комковатое груботяжистое ядро у лимфоцитов, так и количественные: снизилось число эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов, а в лейкоцитарной формуле уменьшилась доля нейтрофилов. Эритро- и лейкопения указывали на угнетение органов гемопоэза.

Патологические изменения в крови рыб при бактериальной инфекции начинаются уже в инкубационный период, т. е. у еще внешне здоровых рыб. Выявление таких изменений задолго до появления клинических признаков позволит предварительно диагностировать болезнь и своевременно принять меры по профилактике и лечению.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Вялова Г. П., Шкурина З. К. Псевдомоноз молоди лососевых на Малкинском рыбободном заводе Камчатки // Сб. докл. Всерос. совещ. (Мурманск, 1–4 авг. 1995 г.). – Мурманск, 1995. – С. 79–84.
- Шкурина З. К., Вялова Г. П. Бактериальные болезни лососей Сахалина // Информ. пакет ВНИЭРХ «Рыб. хоз-во». Сер. «Аквакультура». – 2000. – Вып. 2. – С. 6–16.
- Шкурина З. К., Полтева А. В., Букина И. Ю. Бактериальная инфекция псевдомонодной этиологии у молоди кижуча (*Oncorhynchus kisutch*) // Тр. междунар. науч. конф. (Владивосток, 27–29 сент. 1999 г.). – Владивосток, 1999. – Т. 1. – С. 175–176.
- Вялова Г. П., Шкурина З. К. Микрофлора и бактериальные болезни тихоокеанских лососей естественных популяций и в аквакультуре на Сахалине. Ю-Сах.: СахНИРО, 2005. 120 с.
- Мусселиус В. А., Ванятинский В. Ф., Вихман А. А. Лабораторный практикум по болезням рыб. – М.: Легкая и пищ. пром-ть, 1983. – 296 с.
- Иванова Н. Т. Атлас клеток крови рыб. М.: Легкая и пищ. пром-ть, 1983. 320 с.
- Головина Н. А., Тромбицкий И. Д. Гематология прудовых рыб. – Кишинев: Штиинца, 1989. – 156 с.
- Головина Н. А. Морфофункциональная характеристика крови рыб – объектов марикультуры: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – М.: ВНИИПРХ, 1996. – 53 с.

Головин П. П., Головина Н. А. Влияние стресс-факторов на гематологические показатели и зараженность карпа ихтиофтириусами // Информ. пакет ЦНИИТИЭРХ «Рыб. хоз-во». Сер. «Рыбохозяйственное использование внутренних водоемов». – 1982. – Вып. 4. – С. 1–5.

**CHARACTERISTIC OF PHYSIOLOGICAL STATE OF JUVENILE CHUM SALMON
INFECTED WITH BACTERIA *PSEUDOMONAS FLUORESCENS***

Sergeenko T.M., Printsevskaya V.A.

Sakhalin Scientific Research Institute of Fisheries & Oceanography (SakhNIRO), Yuzhno-Sakhalinsk, Russia, e-mail: sergeenko@sakhniro.ru

Pseudomonas disease with characteristic signs and physiological deviation appeared during experimental infecting of juvenile chum salmon with bacterial suspension containing *Pseudomonas fluorescens*. Due to the concentration introduced, a disease was acute (1×10^7 cell/ml), subacute (1×10^6 cell/ml), chronic (1×10^5 – 10^4 cell/ml) and in a form of “healthy” microbe carrier (1×10^3 cell/ml). Disease manifestation was 16–20 days.

The isolated strain *Pseudomonas fluorescens* appeared to be pathogenic and able to cause an acute form of *Pseudomonas* disease with the characteristic clinical signs and 100% mortality of chum salmon juveniles. Both qualitative (different sizes (anisocytosis), cytoplasmic excrescences in erythrocytes, vacuolization of cytoplasm and lumpy coarse-load nucleous in lymphocytes) and quantitative (decrease in erythrocyte, thrombocyte and leukocyte umbers, and reduce in neutrophil portion in the leukocytic formula) changes took place in the blood picture. Erythro- and leukopenia indicated a depression of hemopoiesis organs.

Pathological changes in fish blood under the bacterial infection begin as early as in the incubation period, i.e. in externally healthy fishes. Revealing such changes long before the appearance of clinical signs will allow preliminary diagnosing a disease and taking measures for prevention and medical treatment.

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ СЕГОЛЕТКОВ КАРПА, ВЫРАЩЕННЫХ ПРИ РАЗНОМ ФОРМИРОВАНИИ КОРМОВОЙ БАЗЫ ВЫРОСТНЫХ ПРУДОВ

Г.Г.Серпунин, С.Н. Аль-Дарвиш

ФГОУ ВПО «Калининградский государственный технический университет»,
г.Калининград, Россия, e-mail: serpunin@kgtu.ru

Исследования проводились на учебно-опытном хозяйстве (УОХ) ФГОУ ВПО «Калининградский государственный технический университет» (ФГОУ ВПО «КГТУ») в 2004 г. Сеголетков карпа выращивали в трех опытных выростных прудах, в которых применялось направленное формирование кормовой базы благодаря применению зеленых и минеральных удобрений, интродукции *Daphnia magna*, и контрольному выростному пруду, где интенсификационные мероприятия не проводились (табл. 1). Перед посадкой личинок проводили через профилактическую ванну (5% водный раствор NaCl₂ при экспозиции 5 мин), определяли их среднюю массу. Зарыбили выростные пруды личинками карпа 10.06.04 после облова нерестового пруда из расчёта 40 тыс. шт./га (контрольный пруд 5(к) и опытные пруды 4, 6 и 7). Обловили выростные пруды 14.10.04.

Таблица 1 - Мероприятия по направленному формированию кормовой базы выростных прудов УОХ ФГОУ ВПО «КГТУ» в 2004 г.

Дата	Пруд 5к	Пруд 4	Пруд 6	Пруд 7
20.05.2004				Зелёные удобрения 40 кг/га
15.06.2004				<i>Daphnia magna</i> 4 кг/га
25.06.2004		Зелёные удобрения 40 кг/га	Суперфосфат 1,4 кг/га Аммиачная селитра 0,56 кг/га	Суперфосфат 0,9 кг/га Аммиачная селитра 0,32 кг/га
30.07.2004		<i>Daphnia magna</i> 4 кг/га		Зелёные удобрения 40 кг/га
10.08.2004		Зелёные удобрения 40 кг/га	Суперфосфат 0,73 кг/г Аммиачная селитра 0,4 кг/га	Суперфосфат 1,6 кг/га Аммиачная селитра 0,4 кг/га
10.09.2004		<i>Daphnia magna</i> 4 кг/га		Зелёные удобрения 40 кг/га

Гематологические исследования карпа выполняли во время осенних обловов максимально быстро для уменьшения асфиксии и стресса, искажающих истинную картину крови. Концентрацию гемоглобина определяли гемиглобинцианидным методом на ФЭК с использованием ацетонциангидрина, концентрацию эритроцитов - пробирочным методом, используя камеру Горяева, концентрацию лейкоцитов - косвенным методом; общий белок в сыворотке крови – рефрактометрически. Подсчет лейкоцитарной формулы производили на сухих мазках, окрашенных по Паппенгейму. Клетки крови идентифицировали по классификации Н.Т.Ивановой [1]. Для выражения концентрационных показателей крови использовали международную систему единиц. Статистическую обработку материала выполняли по общепринятым методикам, используя программный пакет "Microsoft Exel 7.0" и подтверждая достоверность различий по критерию Стьюдента [2].

Оценка рыбоводно-биологических характеристик сеголетков карпа. Сеголетки карпа в контрольном и опытных прудах достигли различной массы при

разной выживаемости (табл. 2). Средняя масса сеголетков карпа во всех опытных прудах достоверно ($p < 0,001$) превышала аналогичный показатель в контрольном пруду. Причем максимальные средняя масса, выживаемость, прирост и коэффициент массонакопления отмечены у сеголетков из пруда 7, в который вносили зеленые и минеральные удобрения, а также дафний (табл. 1, 2). Для этого пруда отмечена и максимальная рыбопродуктивность, составившая 763,40 кг/га.

Таблица 2. Показатели продуктивности и крови сеголетков карпа при выращивании в выростных прудах УОРХ ФГОУ ВПО «КГТУ» в конце вегетационного сезона 2004 г.

Показатель	Пруд 5к	Пруд 4	Пруд 6	Пруд 7
Средняя масса в конце выращивания, г	16,6±0,8 ³	30,2±1,7 ³	33,1±2,6 ³	35,0±2,8 ³
Выживаемость, %	55,5	56,2	57,9	66,0
Коэффициент массонакопления	0,044	0,057	0,059	0,061
Рыбопродуктивность, кг/га	361,86	672,75	752,26	763,40
Гемоглобин, г · л ⁻¹	89,64±5,43	91,33±2,25	91,95±3,41	92,77±2,09
Эритроциты, Т · л ⁻¹	1,173±0,048 ¹	1,185±0,050	1,238±0,084	1,420±0,074 ¹
Лейкоциты, Г · л ⁻¹	69,00±3,88 ^{1,2}	81,39±3,97 ¹	82,26±4,45 ¹	85,20±3,73 ²
Общий белок в сыворотке крови, г · л ⁻¹	31,10±1,38 ¹	33,50±1,64	33,20±1,95	34,80±1,04 ¹

^{1,2} – показатель достоверно отличается от контроля соответственно при $p < 0,05$ и $0,01$.

Известно, что во второй зоне рыбоводства, к которой относится Калининградская область, естественная рыбопродуктивность по карпу с применением минеральных удобрений и учетом исходной в выростных прудах составляет 240 кг/га [3]. Таким образом, в нашем эксперименте внесение зеленых и минеральных удобрений вместе с культурой *Daphnia magna* способствовало повышению рыбопродуктивности в 3,18 раза по сравнению с нормативными показателями и в 2,11 раза по сравнению с контрольным прудом 5к.

Сеголетки карпа из пруда 4, в который вносили зеленые удобрения и культуру дафнии, превосходили контрольных сеголетков по всем показателям, но уступали по всем показателям кроме упитанности сеголеткам из пруда 6, в который вносили минеральные удобрения (табл. 1, 2). Рыбопродуктивность пруда 4 оказалась в 1,86 раза выше, чем в контрольном пруду и в 2,80 раза выше нормативной. Рыбопродуктивность пруда 6 была в 2,08 раза выше, чем в контрольном пруду и в 3,13 раза выше нормативной.

Оценка физиологического состояния сеголетков карпа по гематологическим показателям. Концентрация гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов и общего белка в сыворотке крови у исследованных сеголетков карпа свидетельствует о хорошем их физиологическом состоянии (табл. 2). Причем у сеголетков из опытных прудов все отмеченные показатели крови оказались на более высоком уровне, что подтверждает их более высокую продуктивность. Особенно это относится к сеголеткам из пруда 7. У них три показателя из четырех были достоверно выше в сравнении с сеголетками из контрольного пруда: концентрация эритроцитов, лейкоцитов и общего белка в сыворотке крови. Эти показатели подтвердили их максимальные прирост, уровень обмена и накопление резервных веществ к периоду зимовки. У сеголетков из прудов 4 и 6 достоверно выше, чем в контроле была только концентрация лейкоцитов, которая также свидетельствует о более высоком уровне метаболизма у них.

Максимальный уровень метаболизма у сеголетков карпа из пруда 7 подтверждает также их лейкоцитарная формула, в которой процент эозинофилов, базофилов и моноцитов был достоверно больше в сравнении с сеголетками из контрольного пруда (табл. 3).

Таблица 3 - Лейкоцитарная формула сеголетков карпа при выращивании в выростных прудах УОРХ ФГОУ ВПО «КГТУ» в конце вегетационного сезона 2004 г.

Клетки	Пруд 5 (К)	Пруд 4	Пруд 6	Пруд 7
	M ± m	M ± m	M ± m	M ± m
Миелобласты	0,50 ± 0,17	0,50 ± 0,17	0,60 ± 0,16	0,20 ± 0,13
Промиелоциты	0,80 ± 0,25	0,80 ± 0,25	0,90 ± 0,23	0,10 ± 0,10
Миелоциты нейтрофильные	0,70 ± 0,21 ¹	1,30 ± 0,15 ¹	0,70 ± 0,21	0,30 ± 0,15
Метамиелоциты нейтрофильные	0,50 ± 0,17	0,60 ± 0,16	0,50 ± 0,22	0,20 ± 0,13
Палочкоядерные нейтрофилы	0,30 ± 0,15	0,30 ± 0,15	0,20 ± 0,13	0,40 ± 0,16
Сегментоядерные нейтрофилы	0,30 ± 0,15	0,40 ± 0,16	0,30 ± 0,15	0,60 ± 0,16
Общее число нейтрофилов	1,80 ± 0,49	2,60 ± 0,40	1,70 ± 0,42	1,50 ± 0,40
Эозинофилы	0,50 ± 0,17 ¹	0,40 ± 0,16	0,50 ± 0,17	0,90 ± 0,10 ¹
Псевдоэозинофилы	1,30 ± 0,30	1,20 ± 0,25	1,00 ± 0,26	0,50 ± 0,22
Базофилы	0,50 ± 0,17 ¹	0,50 ± 0,17	0,50 ± 0,17	1,00 ± 0,15 ¹
Псевдобазофилы	1,50 ± 0,22	0,70 ± 0,21	1,00 ± 0,30	0,80 ± 0,33
Моноциты	0,60 ± 0,16 ¹	0,50 ± 0,17	0,60 ± 0,16	1,20 ± 0,20 ¹
Лимфоциты	92,50 ± 1,34	92,80 ± 1,31	93,30 ± 1,24	93,80 ± 0,84

¹ – показатель достоверно отличается от контроля при p < 0,05.

Таким образом, наилучшие рыбоводно-биологические и гематологические показатели установлены нами у сеголетков карпа, которые выращивались в выростных прудах при внесении зеленых и минеральных удобрений, а также *Daphnia magna*.

ВЫВОДЫ

1. Внесение в выростные пруды минеральных удобрений, а также зеленых удобрений и культуры дафнии увеличивает кормовую базу прудов, улучшает физиологическое состояние сеголетков карпа, их рыбоводно-биологические показатели и повышает рыбопродуктивность в сравнении с контрольными прудами повышает рыбопродуктивность соответственно в 2,08 и 1,86 раза.

2. Максимальную эффективность обеспечивает внесение в выростные и нагульные пруды зеленых, минеральных удобрений и культуры *Daphnia magna*, которое значительно увеличивает среднесезонную биомассу зоопланктона и зообентоса, существенно улучшает физиологическое состояние сеголетков карпа, их выживаемость, прирост, коэффициент массонакопления, упитанность и повышает рыбопродуктивность выростных прудов в сравнении с контрольными прудами в 2,11 раза.

3. Использование местных ресурсов (высшей водной, прибрежной растительности, листьев деревьев и культуры *Daphnia magna*) даже без использования минеральных удобрений и комбикормов позволяет получать физиологически полноценных сеголетков карпа высоких весовых кондиций, существенно повышает рыбопродуктивность выростных прудов и увеличивает, таким образом, рентабельность рыбоводного хозяйства.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб / Н.Т.Иванова. – М., 1983. – 110 с.
2. Плохинский Н.А. Биометрия / Н.А. Плохинский.- М., 1970.- 367 с.

3. Федорченко В. И. Товарное рыбоводство / В.П.Федорченко, Н.П.Новоженин В. Ф. Зайцев. - М., 1992. – С. 15.

**ESTIMATION OF ONE YEAR OLD CARPS CONDITION BROUGHT UP AT A
DIFFERENT RATE OF PONDS FORAGE FORMATION
G.G.Serpunin, S.N.Al-Darvish**

Research for hematological and biological parameters fingerlings carp, and also fish production have allowed to establish, that the most effective reception for high quality fingerlings is to use green and mineral fertilizers together with entering into ponds culture *Daphnia magna*.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ФЕНОЛА И КАРБОФОСА НА ПОКАЗАТЕЛИ РОСТА И ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ МОЛОДИ КАРПА *CYPRINUS CARPIO L.*

Н.И. Силкина, А.Н. Жарикова

Институт биологии внутренних вод им. И.Д.Папанова РАН, Россия E-mail: snl@ibiw.voroslavl.ru

Распространенными токсикантами, поступающими в водные экосистемы техногенным путем, являются фенолы и фосфорорганические соединения. Группа фенольных соединений антропогенного происхождения, относящаяся к одним из самых часто встречающимся загрязняющим гидросферу веществам, отличается высокой токсичностью и обладает интенсивными запахами при хлорировании воды. Фенольные соединения, попадающие в водные экосистемы, по происхождению принято в настоящее время разделять на 3 группы: компоненты промышленных сточных вод и поверхностного стока, поступающие в результате первичного загрязнения; продукты, образующиеся в ходе процессов вторичного загрязнения; биогенные фенольные соединения, образуемые гидробионтами. Фенолы антропогенного происхождения образуются также при аварийных разливах нефтепродуктов и сырой нефти. Различные источники и пути поступления определяют качественное разнообразие фенолов в водной среде. Характер деструктивных преобразований фенольных соединений в воде зависит от их структуры и химического состава. Накопление в воде фенолов приводит к снижению РН и содержанию в воде кислорода, увеличению окисляемости, уменьшению видового разнообразия гидробионтов и биомассы. Токсичность ядов фенольного происхождения для рыб проявляется в поражении многих функциональных систем организма, нарушениях деятельности центральной нервной системы, нейромускульного аппарата, двигательной активности, подавлении метаболических процессов, приводит к изменению биохимических процессов в организме и др. (Лукьяненко, 1983; Флеров, 1989; Елин, 2001; Sloff et al., 1983; Jenev, Jenev, 1986; Saha et al., 1999).

Карбофос (или малатион), повсеместно применяемый для борьбы с сельскохозяйственными вредителями в качестве инсектицида, а в рыбоводстве - при лечении эктопаразитарных болезней, относится к числу фосфорорганических соединений (ФОС). Основным источником поступления ФОС в водоемы - сельскохозяйственное производство, попадают они также со стоками. В большом количестве ФОС локализуются во внутренних органах рыб. Многие ФОС обладают мутагенными, канцерогенными и цитотоксическими свойствами, влияют на обмен веществ, в частности на липидный, снижают гуморальный и клеточный иммунные ответы, подавляют общую резистентность организма рыб, повышают восприимчивость к патогенным организмам. Токсичность ФОС обусловлена их способностью ингибировать холинэстеразы и, в первую очередь ацетилхолинэстеразу мозга. В литературе имеются сведения о том, что при хроническом действии пестицидов у рыб нарушаются процессы роста, наблюдаются морфофункциональные изменения внутренних органов, угнетается дыхательная и защитная функции крови и др. (Гантверг и др., 1988; Павлов и др., 2000; Микряков и др., 2001; Shukla et al., 1987; Areeschon, Plamb, 1990).

Материалов по хроническому воздействию этих ксенобиотиков в невысоких (сублетальных) концентрациях на молодь рыб в естественных водоемах и при искусственном выращивании в аквакультуре мало. Между тем, изучение этого вопроса представляется весьма важным при оценке последствий влияния на темпы роста и физиолого-биохимическое состояние организма растущих карпов, в частности, на показатели липидного обмена. Выяснение этого вопроса позволит понять

механизмы воздействия этих токсических веществ на характер течения метаболических процессов, рост и развитие, физиолого-биохимическое состояние и адаптивный потенциал организма рыб.

Целью настоящей работы было сравнительное изучение хронического влияния сублетальных концентраций фенола, карбофоса и их смеси на показатели роста и развития а также биохимическое состояние молоди карпа.

Материалом для исследования служила молодь карпа *Cyprinus carpio* L. Предварительно рыб в течение 15 дней адаптировали к условиям эксперимента, для чего их помещали в 250-ти литровые принудительно аэрируемые аквариумы. Опытных рыб содержали при температуре воды 18-20°C, содержании растворенного кислорода 8.0-8.3 мг/л, рН 8.4, жесткости воды 7.7 мг экв/л. Смена растворов токсикантов проводилась 1 раз в двое суток. Токсические растворы готовили непосредственно перед добавлением в аквариумы на дистиллированной воде. Исходный раствор фенола предварительно растворяли в воде, а карбофоса - в ацетоне. Смесь фенола и карбофоса составлялась из расчета 1:1. Конечные концентрации токсикантов, рассчитанные по действующему веществу, составили для фенола 0.1 мг/л, для карбофоса - 0.45 мг/л, для смеси 0.23 мг/л, что соответствовало 1/15 LC₅₀ при 96-часовой экспозиции. Кормление рыб осуществляли ежедневно сухим гранулированным кормом РГМ-5 из расчета 5% от веса рыб, согласно инструкции по проведению токсикологических опытов. Нормы кормления корректировались ежедневно на основании контрольных взвешиваний. Опытных рыб содержали в растворах токсических веществ, а контрольных - в аналогичных условиях в чистой воде. Отбирали пробы через каждые 30 дней - на 1, 30 и 60 и 90 сут по 10 экземпляров. Подачу токсических веществ прекращали на 60 сутки, затем опытные рыбы на протяжении 30 сут находились в чистой воде («отмывка»). В течение всего эксперимента фиксировали выживаемость, а также реакции рыб на корм и поведение.

Особей карпов подвергали полному биологическому анализу. Об интенсивности роста рыб судили по массе, а также абсолютному и относительному приросту массы. Определяли общий вес 10 рыб и среднюю массу 1 особи. Абсолютный прирост массы рассчитывали как разность масс между конечным (на 30, 60 и 90 сут) и начальным взвешиванием (1 сут). Относительный прирост массы, характеризующий в % прирост массы за определенный отрезок времени, определяли как отношение прироста массы за 30 дней к начальной массе. Морфофизиологическое состояние организма оценивали по коэффициенту упитанности по Фултону и соматическому индексу печени, который рассчитывали по процентному отношению массы печени к массе рыбы. В печени определяли уровень общих липидов (ОЛ), интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) и общую антиокислительную активность (ОАА). Липиды из гомогенатов тканей печени экстрагировали и определяли общепринятым способом по Фолчу (Folch et al., 1957). Об интенсивности ПОЛ судили по накоплению малонового диальдегида (МДА) (Андреева и др., 1988). Общую антиокислительную активность (ОАА), отражающую содержание антиоксидантов, устанавливали по методике Семенова и Яроша (1985). Результаты исследований подвергали статистической обработке при помощи стандартного пакета программ (Microsoft Office 98, приложение Statistica).

Анализ полученных данных свидетельствует, что у опытной молоди карпа в условиях загрязнения воды токсическими веществами происходило изменение всех изученных показателей. Результаты опыта показали, что длительное пребывание карпов в воде с токсическими веществами привело не только к угнетению их роста (табл.1), но и к изменению интенсивности протекания физиолого-биохимических процессов в организме (табл.2). У опытных рыб, по сравнению с контролем, выявлены отличия по абсолютному и относительному приросту массы, общему весу; в печени

отмечено изменение показателя емкости органа, интенсивности липидного обмена (ОЛ), процессов перекисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной защиты (ОАА).

Наблюдение за ростом и развитием молоди карпа выявило особенности в выживаемости и поведении опытных рыб. Гибели контрольных рыб в ходе опыта не было, поведение не менялось, при вскрытии отмечалось хорошее наполнение кишечника пищей, не было зафиксировано патологических изменений внутренних органов. При экспозиции карпов в воде, содержащей фенол, выживаемость составила 100%, но, начиная с 52 сут от момента «затравки», выявлены изменения в поведенческих реакциях. Рыбы находились в состоянии «опьянения», движения были замедленными, реакция на корм вялой. На 60 сутки у 25% опытных рыб наполнение кишечника стало слабым. В то же время патологии внутренних органов не было отмечено. В период «отмывки» поведение опытных рыб стабилизировалось, а корм стал хорошо поедаться. Пребывание карпов в воде, содержащей карбофос, не изменило поведения рыб, но отразилось на выживаемости. Была зафиксирована гибель рыб к 60 сут (3.3%) и после отмены токсиканта к 90 сут (10%). У погибших рыб зафиксирована выраженная гиперемия жаберной ткани с отечностью, наблюдались изменения консистенции внутренних органов (селезенки и печени). Во все сроки отбора проб у всех живых рыб, находящихся в воде с карбофосом, вскрытие показало хорошее наполнение пищей кишечника, отсутствие патологии во внутренних органах, однако у 50% карпов на 60 и 90 сут отмечено изменение окраски печени до грязно бурого оттенка. При содержании рыб в воде со смесью токсикантов гибели не было, поведение не изменилось, рыба питалась, но на 60 и 90 сут зафиксированы глубокие патологические изменения внутренних органов (печени, почек, селезенки).

Экспозиция молоди рыб в воде, содержащей токсические вещества, во всех вариантах опыта не отразилась на их упитанности, но привела к снижению показателей роста: абсолютного и относительного прироста и уменьшению их массы. Снижение показателей прироста у всех опытных рыб отмечены уже через 30 дней после «затравки», через 60 дней отставание прироста было наиболее сильным в воде, содержащей смесь фенола с карбофосом. Последующая «отмывка» опытных рыб в чистой воде на протяжении 30 дней показала, что адаптация рыб была наиболее успешной после содержания в карбофосе - показатели роста даже превысили контрольный уровень.

Важным доказательством негативного воздействия исследованных токсикантов на физиолого-биохимическое состояние рыб является состояние печени - одного из важнейших полифункциональных органов. В печени происходят основные процессы трансформации липидов. У карповых рыб печень принимает активное участие в пищеварительных процессах, выработке оовителлина, обмене веществ, реализации синтеза и деградации гликогена, белков, липидов, а также в процессах их неогенеза, детоксикации, нейтрализации, разрушении и элиминации чужеродных тел из организма, в реализации иммунологических реакций и другие (Микряков и др., 2001). На 60 сут соматический индекс опытных рыб во всех вариантах достоверно превысил контрольный уровень, но и после «отмывки» индекс печени оставался повышенным. Увеличение емкости печени в опыте может быть результатом развития в ней воспалительного процесса при воздействии токсических стресс-факторов.

Печень опытных рыб на воздействие токсических веществ разной природы реагировала также изменением интенсивности липидного обмена. Повышенное содержание ОЛ отмечено во всех вариантах опыта, но максимальный уровень зафиксирован при воздействии смесью фенола с карбофосом. Накопление липидов печенью опытных рыб отражает усиление метаболических и энергетических процессов в организме молоди и является ответной реакцией на загрязнение воды. После «отмывки» на протяжении 30 сут количество ОЛ в опыте снизилось, но осталось повышенным, особенно после воздействия смесью токсикантов и карбофосом.

Таблица 1. Показатели роста и физиологического состояния молоди карпа при экспозиции в воде, содержащей фенол и карбофос.

Показатели	Условия опыта	Сроки отбора проб, сут							
		1сут		30 сут		60 сут		90 сут	
			% от конт. роля		% от конт. роля		% от конт. роля		% от конт. роля
Масса 1 особи, г	контроль	2.5	100	8.4	100	17.2	100	27.5	100
	фенол	2.5	100	7.7	91.6	13.9	80.8	25.1	91.3
	карбофос	2.6	104	7.4	88.1	13.5	78.5	30.3	110.2
	смесь	2.5	100	7.7	91.6	12.9	75.0	23.0	83.6
Абсолютный прирост, г	контроль	-	-	5.9	100	8.8	100	10.3	100
	фенол	-	-	5.2	88.1	6.2	91.6	11.2	80.8
	карбофос	-	-	4.8	81.3	6.1	88.1	16.8	78.5
	смесь	-	-	5.2	88.1	5.2	91.6	10.1	75.0
Относительный прирост, %	контроль	-	-	236.0	100	104.8	100	59.9	100
	фенол	-	-	208.0	88.1	80.9	77.2	80.5	134.4
	карбофос	-	-	184.6	78.2	82.4	78.6	124.4	207.6
	смесь	-	-	208.0	88.1	67.5	64.4	78.3	130.7
Коэффициент упитанности	контроль	1.42	100	1.42	100	1.43	100	1.43	100
	фенол	1.41	99.3	1.42	100	1.42	99.3	1.42	99.3
	карбофос	1.42	100	1.41	99.3	1.43	100	1.42	99.3
	смесь	1.42	100	1.42	100	1.41	98.6	1.43	100
Индекс печени	контроль	1.5	100	1.5	100	1.5	100	1.6	100
	фенол	1.5	100	1.4	93.3	1.6	106.6	1.7	106.2
	карбофос	1.5	100	1.6	106.6	1.6	106.6	1.8	112.5
	смесь	1.5	100	1.5	100	1.6	106.6	1.8	112.5

Повышенный липидный обмен в печени сопровождался интенсификацией процессов ПОЛ, о чем свидетельствует накопление одного из конечных продуктов перекисления липидов - МДА. Наибольший уровень МДА в печени отмечен при содержании рыб в воде с карбофосом и смесью токсикантов. Избыточное содержание МДА в тканях печени показывает, что хроническое воздействие изученных токсических веществ нарушает регуляцию перекисления липидов и способствует возникновению окислительного стресса. Неконтролируемое нарастание ПОЛ в организме рыб сдерживается многоуровневой системой антиокислительной защиты, в частности физиологическим уровнем антиоксидантов. Интенсификация процессов перекисления липидов в организме опытных рыб ведет к сдвигу соотношения системы ПОЛ - антиокислительная защита в сторону усиления ПОЛ, нарушая оптимальный окислительно-восстановительный баланс. При воздействии экстремальных факторов, как известно, равновесие в системе ПОЛ – ОАА смещается в сторону усиления ПОЛ (Барабой и др., 1992; Грубинко, Леус, 2001; Winston, 1999). Одной из основных причин активации окислительного стресса, вызывающего нарушение баланса в системе активированные кислородные метаболиты-антиоксиданты, является супрессия образования и снижения активности ферментативных антиоксидантов: глутатионпероксидазы, каталазы, супероксиддисмутазы и др. Это явление подтверждается в нашем опыте также изменением интегрального показателя ОАА. Наиболее сильные отклонения данного параметра от нормы выявлены при содержании рыб в смеси загрязнителей. Повышенный уровень ОАА у опытных рыб отражает снижение в организме опытных рыб структур, обладающих свойствами антиоксидантов, обеспечивающих, как эффективную детоксикацию продуктов ПОЛ, так и индуцирующих

свободнорадикальные и липидоперекислительные процессы. В целом наблюдаемых изменений показателей липидного обмена в опыте неспецифический характер и соответствовала реакции организма на стресс. картина носила

Таблица 2. Биохимические показатели печени молоди карпа при экспозиции в воде, содержащей токсические вещества

Показатели	Условия опыта	Сроки отбора проб, сут			
		1 сут	30 сут	60 сут	90 сут
ОЛ, мг%	контроль	1200	1165	1180	1120
	фенол	1190	1370*	1320*	1155
	карбофос	1215	1485*	1475*	1290*
	смесь	1185	1510*	1565*	1295*
МДА, нмоль/г	контроль	6.885	6.303	6.912	6.765
	фенол	6.713	8.259*	12.013*	8.437*
	карбофос	6.921	12.563*	15.482*	9.879*
	смесь	6.699	12.234*	18.391*	11.363*
ОАА, л / мл х мин	контроль	15.027	14.322	14.875	14.693
	фенол	14.983	18.367*	19.531*	15.923*
	карбофос	15.057	18.922*	19.086*	16.786*
	смесь	15.789	19.057*	21.011*	15.984*

Примечание: * - достоверно относительно контроля при $P \leq 0.05$.

Таким образом, характер изменения гепатосоматического индекса и особенности липидного обмена, установленные в печени опытных особей, свидетельствует об ответной реакции клеток этого органа на воздействие поллютантов. Во всех вариантах опыта соматический индекс печени превысил контрольный уровень; в печени отмечена интенсификация процессов ПОЛ и ОАА. Хроническое воздействие низких концентраций карбофоса, фенола и их смеси привело к угнетению роста и развития рыб, а также к изменению интенсивности физиолого-биохимических процессов в организме рыб. У опытных рыб, по сравнению с контролем, выявлено отставание по абсолютному и относительному приросту массы, по общему весу. Реакция молоди на воздействие смесью токсикантов и карбофосом была выражена сильнее, чем при феноле. Накопление продуктов перекисления липидов и снижение уровня антиоксидантов в организме могут стать причиной нарушения гомеостаза и снижения адаптационного потенциала рыб к патогенным организмам. Установленные изменения отражают ответную адаптивную реакцию организма рыб на токсическое стрессорное воздействие.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.

- Андрева Л.И., Кожемякин Н.А., Кишкун А.А. Модификация методов определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. 1988. № 11. С.41-43.
- Барабой В.А., Брехман И.И. и др. Перекисное окисление и стресс. СПб.: Наука, 1992. –148 с.
- Гантверг А.И, Перевозчиков М.А. и др. Особенности резистентности некоторых пресноводных рыб к карбофосу // Вопросы ихтиологии. 1988. Т.28. Вып.2. С.289-294.
- Грубинко В.В., Леус Ю.В. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита у рыб (обзор) // Гидробиол. журн. 2001. Т.37, № 1. С.64-78.
- Елин Е.С. Фенольные соединения в биосфере. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2001. – 329 с.
- Лукьяненко В.И. Общая ихтиотоксикология. М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983. – 320 с.

- Микряков В.Р., Балабанова Л.В., Заботкина Е.А., Лапирова Т.Б., Попов А.В., Силкина Н.И. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление среды. М.: Наука. 2001. 126 с.
- Павлов Д.Ф., Чуйко Г.М. и др. Рост мозамбикской тилляпии (*Oreochromis mossambicus* Peters) при действии токсических веществ // Проблемы гидробиологии на рубеже веков. Тез. докл. Всерос. конф. СПб. 2000. С.135-136.
- Семенов В.Л., Ярош А.М. Метод определения антокислительной активности биологического материала // Укр. биохим. журн. 1985. Т.57, № 3. С.50-52.
- Флеров Б.А. Эколого-физиологические аспекты токсикологии пресноводных животных. Л.: Наука. 1989. – 138 с.
- Ateechon N., Plamb J.A. Sublethal effects of malation on channel catfish *Ictalurus punctatus* // Bull. Contam., Toxicol. 1990. V. 44. P.435-442.
- Folch J., Lees M., Stanley G.N. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animals tissues // J.Biol. Chem. 1957. V.226, № 3. P.497-509.
- Jeney Z., Jeney G. Studies on the effect of trichlorophon on different biochemical and physiological parameters of common carp // Aquacult. Hungarica. 1986. V. 5. P. 79-89.
- Saha N.C., Bhunia F., Kaviraj A. Toxicity of phenol to fish and aquatic ecosystems // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. – 1999. - 63, № 2. P.195-202.
- Shukla J.P., Yusoff F.M. et al. Deleterious effects of malation on survivality and growth of the fingerling of *Chana punctatus* a freshwater murrel // Acta Hydrochimica et Hydrobiologia, 1987, № 15, B 6. P.653-657.
- Sloff W., Van Kreijl C.F., Bacrs A.I. Relative liver weights and xenobioticmetabolizing enzymes of fish from polluted surface waters in the Netherlaunds // Aquat. Toxicol. 1983. V.4, № 1. P.1-14.
- Winston G.W. Oxidants and antioxidants in aquatic animals // Compar.biochem. and Physiol. 1991. V.100. № 1-2. P.173-176.

**ESTIMATION OF INFLUENCE OF PHENOL AND KARBOFOS ON PARAMETERS
GROWTH AND THE PHYSIOLOGI-BIOCHEMICAL CONDITION YOUTH CARP
CYPRINUS CARPIO L.
N.I. Silkina, A.N. Zharikova**

Results of researches of influence of phenol, karbofos (malation) and their mixes (1:1) on parameters of growth and lipid an exchange youth carp *Cyprinus carpio* L are brought. Long stay of fishes in the water containing toxic substances in sublethal concentration is shown, that, has led to oppression of their growth and change of intensity of course of physiologi-biochemical processes in an organism. Reaction youth on influence karbofos and toxic has been expressed by a mix more strongly, than phenol. At skilled fishes, in comparison with the control, backlog on an absolute and relative gain of weight, on gross weight is revealed. In all variants of experience the somatic index of a liver has exceeded a test objective level; in a liver strengthening intensity of course of processes the POL and OAA is noted. The established changes reflect reciprocal adaptive reaction of an organism of fishes on toxic stress influence.

ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ КРОВИ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ЧЕРНОМОРСКИХ РЫБ

Скуратовская Е. Н.

*Институт биологии южных морей НАН Украины, г. Севастополь, Украина,
sevastopol_katva@mail.ru*

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия морские экосистемы подвергаются усиленному влиянию антропогенных факторов. Это приводит к снижению видового разнообразия и численности гидробионтов. Так, Черное море претерпевает массивное антропогенное воздействие, которое крайне негативно отразилось на ихтиоценозах. В настоящее время в районе Севастополя число видов рыб сократилось в два раза, а их численность – в 100 раз по сравнению с 50-ми годами прошлого века [1]. В связи с этим возникает проблема оценки состояния ихтиоценозов в условиях интенсивного антропогенного прессинга, а также выяснения адаптивных механизмов, лежащих в основе устойчивости рыб к неблагоприятным факторам. В то же время представляет интерес оценить качество среды обитания по ответным реакциям рыб на загрязнение. С этой целью используются индикаторы различного уровня, позволяющие по реакциям организма установить степень воздействия на них вредных факторов [2]. Биомаркеры все чаще применяются в различных системах биотестирования и составляют основу биологического мониторинга [3]. Наиболее информативным является использование биохимических маркеров, позволяющих в достаточно краткие сроки установить ответные реакции организма на загрязнение. В качестве таких биомаркеров используют активность антиоксидантных ферментов [4, 5]. Целью настоящей работы явилось исследование активности антиоксидантных ферментов крови некоторых видов черноморских рыб разных экологических групп, отловленных в бухтах Севастополя с различным уровнем антропогенной нагрузки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследований служили три вида черноморских рыб – морской ерш *Scorpaena porcus* (придонный вид), султанка *Mullus barbatus ponticus* (придонно-пелагический вид), ставрида *Trachurus mediterraneus* (пелагический вид), отловленные в 2001 – 2004 годах в севастопольских бухтах Мартыновой, Карантинной и Стрелецкой (бухты перечислены в порядке увеличения уровня антропогенной нагрузки). Кровь рыб брали из хвостовой артерии, гемолизаты получили по методу Троицкой [6]. В гемолизатах крови определяли активность антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, пероксидазы, глутатион-S-трансферазы и глутатионредуктазы согласно методам, описанным ранее [7]. Статистическую обработку данных проводили по Лакину [8]. Сравнительный анализ данных осуществляли с использованием t-критерия Стьюдента. Результаты считали достоверными в случае, если $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В таблице 1 представлена экологическая характеристика бухт. Как можно видеть, основным источником загрязнения Стрелецкой и Карантинной бухт являются канализационные коллекторы, ежедневно выбрасывающие в акваторию 350 м^3 и 50 м^3 очищенных сточных вод соответственно. В Мартыновой бухте расположен аварийный выпуск, который функционирует в случае аварий на очистных сооружениях города. При этом неочищенные стоки непосредственно попадают в море. Вследствие хронического слива большого количества стоков в Стрелецкую бухту показатели загрязнения воды в ней превышают таковые в Карантинной и Мартыновой бухтах (табл. 1).

Таблица 1

Содержание основных загрязнителей (мг/л) в бухтах Севастополя (по данным Государственной инспекции охраны Черного моря)

Бухта	Кол-во выбросов сточ. вод м ³ /сут	Нефте-продукты	СПАВ	БПК ₅	Взвеш. в-ва	Fe	NH ₃ ⁺ -N	NO ₃
Стрелецкая	350	0,15-0,08	0,009	2,9	3,4	0,07	0,03	0,004
Карантинная	50	0,07-0,05	0,003	2,5	2,4	0,03	0,04	0,003
Мартынова	аварийный выпуск КНС №1	0,003-0,01	0,002	2,1	1,9	0,02	0,03	0,003

Различная антропогенная нагрузка определенным образом повлияла на активность антиоксидантных ферментов крови рыб, обитающих в исследуемых бухтах (табл. 2).

Из представленных в таблице данных можно видеть, что активность каталазы в крови султанки и ставриды увеличивается с ростом антропогенной нагрузки. Максимальные значения установлены у особей из Стрелецкой бухты. Активность данного фермента выше в крови морского ерша из Карантинной бухты. Активность СОД не имеет достоверных различий у морского ерша и ставриды из трех бухт, но достоверно снижена в крови султанки из Стрелецкой бухты по сравнению с показателями у рыб из Карантинной бухты. Активность пероксидазы достоверно снижена у ершей из Стрелецкой бухты по сравнению с Мартыновой бухтой. Активность глутатионредуктазы в крови ерша, обитающего в Мартыновой бухте, более высокая ($p \leq 0,01$) по сравнению с показателями рыб из Карантинной и Стрелецкой бухт. Не обнаружено достоверных отличий активности данного фермента у ставриды и султанки из разных бухт. У всех исследуемых видов рыб из Стрелецкой бухты отмечено резкое снижение активности глутатион-S-трансферазы.

Установлены видовые различия активности ферментов. Активность СОД в крови султанки почти в два раза выше по сравнению со ставридой и в три раза – по сравнению с морским ершом. Активность пероксидазы в крови морского ерша почти в два раза выше по сравнению со ставридой и более чем в четыре раза по сравнению с султанкой. При этом активность глутатионредуктазы в крови султанки в два раза выше по сравнению со ставридой и более чем в три раза превышает соответствующие показатели морского ерша. Активность глутатион-S-трансферазы в крови султанки в шесть раз выше по сравнению с морским ершом и более чем в два раза превышает значения ставриды.

Таким образом, результаты проведенных исследований позволили установить, что экологическое состояние морских акваторий оказывает существенное влияние на активность антиоксидантных ферментов крови рыб. Кроме того, антиоксидантная система крови рыб имеет выраженные видовые особенности. Если активность каталазы, СОД, глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы в крови султанки значительно превышают соответствующие показатели ставриды и морского ерша, то активность пероксидазы имеет более высокие значения в крови морского ерша по сравнению со ставридой и султанкой. Эти отличия, вероятно, обусловлены различным образом жизни, так как исследуемые виды рыб относятся к разным экологическим группам.

Обращает на себя внимание снижение активности основных антиоксидантных ферментов каталазы, пероксидазы, глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы в крови морского ерша из Стрелецкой бухты, подверженной хроническому

антропогенному воздействию. Так как морской ерш является придонным видом и ведет оседлый образ жизни, не совершая значительных миграций, то в данном случае имеет место токсическое действие на организм рыб повышенного содержания ксенобиотиков в среде. Результатом явилось истощение антиоксидантной ферментной системы. Активность каталазы в крови ставриды и султанки повышается с ростом антропогенной нагрузки, достигая максимальных значений у рыб из Стрелецкой бухты. Такая тенденция, возможно, связана с тем, что данные виды рыб относятся к придонно-пелагической и пелагической группам соответственно, которым свойственны миграции. Попадая в условия повышенного антропогенного загрязнения, у рыб происходит активация ферментной антиоксидантной системы, проявляющаяся в повышении активности ферментов, в частности каталазы.

Таблица 2

Активность антиоксидантных ферментов крови рыб из трех севастопольских бухт

Фермент (на мг Нв/мин)	Мартынова бухта	Карантинная бухта	Стрелецкая бухта
Морской ерш			
Каталаза, мг H ₂ O ₂	0,38 ± 0,01	0,48 ± 0,02	0,38 ± 0,02
СОД, условные единицы	157,6 ± 8,2	133,5 ± 6,5	140,0 ± 28,1
Пероксидаза, опг. ед.	30,2 ± 1,1	28,2 ± 1,1	23,3 ± 2,4
Глутатионредуктаза, нмоль НАДФН	3,2 ± 0,4	1,6 ± 0,2	1,5 ± 0,3
Глутатион-S-трансфераза, нмоль конъюгата	11,0 ± 0,9	11,1 ± 1,0	4,7 ± 0,5
Султанка			
Каталаза, мг H ₂ O ₂	0,42 ± 0,04	0,56 ± 0,04	0,81 ± 0,09
СОД, условные единицы	489,5 ± 114,0	694,4 ± 181,6	243,1 ± 121,0
Пероксидаза, опг. ед.	6,2 ± 1,3	6,2 ± 1,2	4,0 ± 0,9
Глутатионредуктаза, нмоль НАДФН	9,6 ± 2,6	8,5 ± 2,3	8,2 ± 3,3
Глутатион-S-трансфераза, нмоль конъюгата	71,1 ± 20,0	68,3 ± 23,6	27,6 ± 8,1
Ставрида			
Каталаза, мг H ₂ O ₂	0,25 ± 0,02	0,31 ± 0,01	0,39 ± 0,06
СОД, условные единицы	250,2 ± 44,2	215,4 ± 18,7	198,0 ± 8,2
Пероксидаза, опг. ед.	9,5 ± 1,5	19,0 ± 1,6	18,9 ± 9,0
Глутатионредуктаза, нмоль НАДФН	4,0 ± 0,7	4,5 ± 0,7	3,3 ± 1,4
Глутатион-S-трансфераза, нмоль конъюгата	31,6 ± 8,4	25,8 ± 3,8	5,9 ± 1,9

В то же время отмечено снижение активности глутатион-S-трансферазы в крови всех исследуемых видов рыб из Стрелецкой бухты, что, вероятно, связано с ингибированием активности фермента высокими концентрациями ксенобиотиков.

Таким образом, активность ферментов антиоксидантной системы позволяет оценить влияние антропогенной нагрузки на акватории, и эти показатели могут быть использованы в мониторинговых системах.

ВЫВОДЫ:

1. Активность антиоксидантных ферментов имеет выраженные видовые особенности.
2. На активность антиоксидантных ферментов крови рыб наряду с генетическими различиями может влиять уровень загрязнения акваторий.
3. Исследованные параметры ферментной антиоксидантной системы могут быть использованы в качестве биомаркеров для оценки состояния рыб и среды их обитания.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Ихтиофауна черноморских рыб в условиях антропогенного воздействия. – К.: Наукова думка, 1993. – 144 с.
2. *Goksoyer A. et. al.* Evaluation of biochemical responses to environmental contaminants in flatfish from the Hvaler Archipelago in Norway // *Marin Environ. Res.* – 1989. – V. 28. – P. 52 – 55.
3. *Бурдин И. С.* Основы биологического мониторинга. М.: МГУ, 1985. – 158 с.
4. *Овен Л. С., Руднева И. И., Шевченко Л. Ф.* Ответные реакции черноморского ерша на антропогенное воздействие // *Вопросы ихтиологии.* – 2000. – Т. 40. - № 1. – С. 75 – 78.
5. *Руднева И. И., Скуратовская Е. Н., Вахтина Т. Б.* Влияние антропогенного загрязнения на активность антиоксидантных ферментов крови некоторых видов черноморских рыб // *Вестник ОГУ.* – 2004. Т. 9, вып. 2. – С. 116 – 120.
6. *Троицкая О. В.* Электрофорез гемоглобинов на ацетатцеллюлозе // *Современные методы в биохимии.* – М.: Медицина, 1977. – С. 241 – 248.
7. *Rudneva I. I.* Blood antioxidant system of Black Sea elasmobranch and teleosts // *Comp. Biochem. Physiol.* – 1997. – V. 118 – №2. – P. 225 – 230.
8. *Лакин Г. Ф.* Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.

EFFECT OF ANTHROPOGENIC IMPACT ON ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITIES IN BLOOD OF SOME BLACK SEA FISHES

Skuratovskaya E. N.

Institute of biology of South Seas, Sevastopol, Ukraine,

sevastopol_katva@mail.ru

Summary

Antioxidant enzyme activities in blood of scorpion fish, mediterranean scad and red mullet collected in three Sevastopol bays with different anthropogenic impact were studied. The changes of key antioxidant enzyme activities in the blood of fish caught in polluted areas were demonstrated. The possibility of examined parameters as biomarkers of fish status and environment is discussed.

ФАУНА ПАЗАРИТОВ САЗАНА *CYPRINUS CARPIO L.* ВОДОЕМОМ НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ

Соусь С.М., Ростовцев А.А.

*Институт систематики и экологии животных СО РАН. Западно-сибирский
научно-исследовательский институт водных биоресурсов и аквакультуры
Госрыбцентра*, г.Новосибирск, Россия, e-mail: 'skarpenko@ngs.ru,
email:sibribniiproekt@mail.ru**

Интродукция сазана в крупные Барабинские озера Новосибирской области начата в 1927 г. (Иоганзен, Петкевич, 1968). В разные годы (1927-1961) производители и сеголетки сазана были завезены в Барабинские озера и оз. Хорошее бассейна р. Бурла из р. Белой (Урал) и оз. Балхаш. Однако, хозяйственный эффект был достигнут после создания в 1970-е г. на этих озерах рыбоводных хозяйств-Сартланского, Чановского, Убинского, а также в бассейне р. Карасук - Карасукского и в озере Хорошее после зарегулирования его стока. Выращивается сазан и в прудах - охладителях Барабинской ТЭЦ, пополняемых водой из р. Оми-притока Иртыша. Вселение рыбопосадочного материала в крупные озера (Сартлан, Чаны, Убинское), используемые как нагульные водоемы, производится из искусственных прудов и спутников- малых озер (Сартланчик, Урюм бассейна Малые Чаны), используемых для подращивания молоди. Рыбопосадочный материал выращивается в Новосибирском рыбопитомнике, и вместе с карпом, в (ЗАО) рыбхозе «Зеркальный». Максимальный вылов сазана в озерах Чаны и Сартлан составлял в 1990-е годы 275,7-288,7 т в год, в оз. Убинское - 3,7 т, затем уловы сазана в последнем озере сократились в связи с обменением водоема (Ростовцев и др., 1999).

Цель наших исследований - дать обзор паразитологических исследований сазана за 80-летний период его вселения в водоемы Новосибирской области по нашим и литературным данным и оценить его санитарное и эпидемиологическое значение.

Первые исследования паразитофауны сазана проведены С.Д.Титовой в 1954 г. на оз. Хорошее (Титова, 1965), в 1969 г. - В.В. Кашковским (Кашковский и др., 1974) и нами в 1968 и 2006 г.г. Наиболее полно изучена паразитофауна сазана Сартланского озера хозяйства В 1969 г. исследования сазана проведены В.В.Кашковским (Кашковский и др., 1974), с 1973 по 1983 г. Г.И. Шаповаловой (1984) и в 2005-нами. На оз. Малые Чаны исследования проведены в 1982-1984 г. Т.А.Бочаровой и др. (Бочарова и др., 1986), в 1982 г. и 2006 г. - нами. На Карасукских озерах исследован карп, вселенный в 1968 г в оз. Титово и в последующие годы - сазан (1969, 1970), в 1977 г. из оз. Кротовая Ляга исследован сазан на наличие метацеркарий рода *Diplostomum*, в 1989 и 2006 г. карп из племенного рыбного хозяйства «Приволье», 1989 г. обследованы сеголетки и годовики сазана из прудов - охладителей Барабинской ТЭЦ. Паразиты сазана в Новосибирском рыбопитомнике и рыбхозе Зеркальный изучены Э.Г. Скрипченко (1972), Г.И. Шаповаловой (1980) и в 1989 -нами (Соусь, Ростовцев, 2006).

Методом полного паразитологического анализа (Быховская-Павловская, 1955) нами изучено 148 экз. сазана и 71 карп. Всеми исследователями у сазана и карпа обнаружен 61 вид паразита из 9 систематических групп. Подцарство Protozoa представлено 20 видами, подцарство Metazoa- 41 видом. Многоклеточные паразиты представлены классами: Monogenea-12, Cestoda-6, Trematoda-12 видов, круглые черви - Nematoda- 3 вида, скребни *Acanthocephala*-2, пиявки - *Hirudina* и двусторчатые моллюски-*Bivalvia*- по 1 виду, ракообразные *Crustacea*-4 видами. Список видов паразитов сазана (карпа) за все годы исследования по отдельным водоемам представлен в таблице.

Таблица. Видовой состав паразитов сазана и карпа в водоемах Новосибирской области.

Вид паразита	Малый Чан	Сартлан	Убинское	Хорошее	Карасукские водоемы	Новосиб. рыбопитомник	Рыбхоз «Зеркальный»	Барбинская ТЭЦ
Protozoa								
<i>Eimeria carpelli</i> Leger et Stankovitch, 1921	-	+	-	+	-	+	+	+
<i>Sphaerospora cyprini</i> (Fujita, 1912)	-	+	-	-	-	+	-	-
<i>S. sp. (S. branchialis)</i> (по Э.Г.Скрипченко, 1972)	-	+	-	-	-	-	-	+
<i>Myxidium rhodei</i> Leger, 1905	-	+	-	-	-	+"*	+	-
<i>Myxobolus dispar</i> Thelohan, 1895	-	-	-	+	-	-	+	-
<i>M. muelleri</i> Butschli, 1882	-	+	-	+	-	-	-	-
<i>M. ellipsoides</i> (Thelohan, 1892)	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>M. carassii</i> Klokaceva, 1914	-	-	-	-	-	+	-	+
<i>Thelohanellus pyriformis</i> (Thelohan, 1892)	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Chilodonella piscicola</i> (C. cyprini) (Zacharias, 1894) Jankovski, 1980	+	+	-	-	+	+	+	-
<i>Ichthyophthirius multifiliis</i> Fouquet, 1876	-	+"	-	-	+	+	+	-
<i>Epistylus lwoffii</i> Faure Fremiet, 1943	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Apiosoma piscicolum</i> Branchard, 1885	-	+	-	+	+	+	+	+
<i>A. campanulatum</i> (Timofeev, 1962)	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Trichodina nigra</i> Dogiel, 1940	-	+"	-	-	-	-	-	-
<i>Trichodina acuta</i> (Lom, 1961) (<i>T. domerguei</i> f. <i>acuta</i>)	-	+	-	+	-	-	+	+
<i>T. subtilis</i> (Lom, 1959)	-	+	-	-	-	+	+	-
<i>T. sp.</i>	-	-	-	+"	+	-	-	-
<i>Trichodinella epizootica</i> (Rabe, 1950)	-	-	-	+	-	+	-	-
<i>Tripartiella bulbosa</i> (Davis, 1947)	-	-	-	-	-	-	+	-
Monogenea								
<i>Dactylogyrus anchoratus</i> (Dujrdin, 1845)	+	+"	-	+	+	+	+	+
<i>D. extensus</i> Mueller et Van Cleave, 1932	+	+"	+	+"	+"	-	+	+
<i>D. vastator</i> (Nybelin, 924)	-	+	-	+	-	-	+	+
<i>D. wegneri</i> Kulwicz, 1927	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>Gyrodactylus khatharineri</i> Malberg, 1964	-	+"	+	-	-	+	+	-

G. medius Khathariner, 1893	+	+"	-	+	-	+
G. longoacuminatus Zitnan, 1964	+	-	-	-	-	-
G. sp.	+	-	-	-	-	-
Eudiplozoon nipponicum (Loto, 1932)	+	+	+	+	-	-
Diplozoon paradoxum, Nordmann, 1891	-	+	-	+	-	-
Paradiplozoon sp.	-	-	+	-	-	-
Pseudacolpenteron pavlovskii Bychowsky et Gussev, 1955	-	-	-	-	-	+
Cestoda						
Khawia sinensis Hsu, 1935	-	+	-	-	+	+
Trienophorus nodulosus (Pallas, 1781)	-	+	-	-	-	-
Bothriocephalus acheilognathi Yamaguti, 1934	-	+	-	-	+	-
B. opsariichthydis Yamaguti, 1934	-	+	-	-	-	-
Ligula intestinalis (Linnaeus, 1758)	-	-	-	+	-	-
Caryophyllaeus fimbriceps Annencova-Chlopina, 1919	-	-	-	+	-	-
Trematoda						
Diplostomum chromathophorum (Brown, 1931); comb.n.	+	+	-	-	+	-
D. spathaceum (Rud., 1819) (s.l.)	+"	+	+	+"	+	-
D. gobiorum Shigin, 1965	+	-	-	-	-	-
D. paraspathaceum Shigin, 1965	-	+	-	-	-	+
D. helveticum Dubois, 1929	+	+	-	-	-	-
Posthodiplostomum cuticola (Nordmann, 1832)	-	+"	-	-	-	-
Tylodelphys clavata (Nordmann, 1832)	-	+	+	-	-	-
Ichthyocotylurus pileatus (Rudolphi, 1802)	+	-	-	-	-	-
I. platycephalus (Creplin, 1852)	-	-	-	+	-	-
Sphaerostomum bramae (Muller, 1776)	-	-	-	-	-	+
Allocreadium isoporum (Loos, 1894)	-	-	-	+	-	+
Metorchis bilis (Braun, 1890)	-	-	-	-	+	-
Nematoda						
Philometroides lusiana (Vismanis, 1966)	-	-	+	-	-	-
Porrocoecum reticulatum (Linstow, 1890)	-	-	-	-	+	-
Contracoecum Railliet et Henry, 1912, sp. (Ascaridata gen.sp.)	+	-	-	+	-	-

Acanthocephala	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Pomphorhynchus laevis (Muller, 1776)	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Polymorphus minutus (Goeze, 1782)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hirudina	-	+	-	-	-	+	+	-	-
Piscicola geometra (Linnaeus, 1761)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mollusca	-	-	-	+	-	-	-	-	+
Anodonta sygnea (Linnaeus, 1758)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Crustacea	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Lernaea cyprinacea Linnaeus, 1758 (L. elegans?)	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Ergasilus sieboldi Nordmann, 1832	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Paraergasilus rylovi Markewitsch, 1937	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Argulus foliaceus (Linnaeus, 1758)	+	+	-	+	-	+	-	-	-
Всего видов	14	32	7	20	13	22	19	14	

Примечание - "+"* - экстенсивность инвазии рыб в отдельные годы была выше 50 %, +- менее 50%.

В озерных хозяйствах у сазана найдено от 7 до 32 видов паразитов, в прудовых 14-22. Во всех типах водоемов у сазана преобладали паразиты с прямым жизненным циклом. В искусственно созданных водоемах (Новосибирский рыбопитомник, рыбхоз «Зеркальный», пруды-охладители Барабинской ТЭЦ) число видов с прямым жизненным циклом (12-18) было наибольшим и от общей фауны паразитов составляло 84,2-86,7%. В естественных нагульных водоемах число этих видов снижается до 46,2-71,4% из-за разреженности стада рыб и повышения солености воды. Среди паразитов с прямым жизненным циклом значительное число видов относится к моногенам. Их число в водоемах колеблется от 2 до 7 видов. Из остальных паразитов с прямым жизненным циклом наиболее часто встречаются в водоемах ракообразные - до 3 видов (Сартлан, Новосибирский рыбопитомник). Остальные представители класса пиявок, моллюсков встречены по 1 виду лишь в некоторых водоемах (Хорошее, Сартлан, рыбхоз Зеркальный, Барабинская ТЭЦ). Среди паразитов со сложным жизненным циклом в нагульных водоемах преобладали трематоды (3-5 видов), которые составляли от 18,8 до 35% паразитофауны сазана, в искусственных водоемах их меньше (1-4 вида или 5,5-18,2%), т.к. происходит гибель моллюсков-промежуточных хозяев трематод при спуске прудов. Цестоды в водоемах представлены от 1 - 4 видами. Это патогенные паразиты рода *Khawia*, *Bothrioccephalus*, завезенные при акклиматизации сазана из других регионов, при слабой интенсивности инвазии не вызывали отхода рыб. Патогенные простейшие рода *Ichthyophthirius Trichodina*, моногенеи *D. extensus* достигающие высокой численности в прудах до 80-100%, при пересадке рыб в нагульные водоемы снижают свою численность уже к осени до 46% (оз.Титово) и не представляют опасности для сазана. Скребень *P.laevis*, патогенный для рыб, не встречается в оз. Сартлан с 1983 г. в связи с резким снижением численности промежуточного хозяина-гаммаруса. Сазана из-за слабой зараженности большей частью видов, можно считать паразитоносителем, способным передавать инвазию другим видам рыб. В целом, выращиваемого в озерных хозяйствах сазана, можно считать благополучным в санитарном отношении, за исключением Карасукских озер, где у сеголетка сазана, вселенного в оз. Титово мальком, однажды была найдена личинка трематоды *Methorchis bilis*, опасная для человека и млекопитающих. У сазанов старшего возраста меторхи не встречены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Бочарова Т.А., Головки Г.И., Гундризер А.Н., Соусь С.М. Фауна и экология паразитов рыб оз. Чаны. Экология оз. Чаны.-Новосибирск: Наука, 1986.-С.147-158.

Иоганзен Б.Г., Петкевич А.Н. Итоги и перспективы акклиматизационных работ в водоемах Западной Сибири./Акклиматизация рыб и беспозвоночных в водоемах СССР.М.: Наука. 1968.-С.208-216.

Кашковский В.В., Размашкин Д.А., Скрипченко Э.Г./ Болезни и паразиты рыб рыбоводных хозяйств Сибири и Урала. Свердловск. Средне-Урал. кн. изд-во. 1974. 150 с.

Ростовцев А.А., Трифонова О.В., Воскобойников В.А. Современное состояние рыбных ресурсов Новосибирской области / Матер. науч.-произв. конфер. «Проблемы и перспективы использования рыбных ресурсов Сибири. Красноярск. 1999. С.80-85.

Скрипченко Э.Г. Паразиты и болезни прудовых рыб в рыбхозах Западной Сибири / Прудовое рыбоводство Западной Сибири.-Новосиб.: Новосибир. кн. изд-во. 1972. С.66-88.

Соусь С.М., Ростовцев А.А./Паразиты рыб Новосибирской области. Тюмень. 2006. Ч.1 194 с. Ч 2. 166 с.

Титова С.Д./ Паразиты рыб Западной Сибири. Томск. Изд-во Том. ун-та, 1965. 170 с.

Шаповалова Г.И. Паразитофауна и болезни рыб, разводимых в Сартланском озерном хозяйстве/Изв. Всесоюз. НИИ озер. и реч. Рыб. хоз-ва. 1984.-Вып.22. С.70-75.

THE PARASITE FAUNA FROM SAZAN *CYPRINUS CARPIO* L. OF THE RESERVOIRS OF NOVOSIBIRSK REGION S.M.Sous, A. A. Rostovtsev

Present data about parasitofauna of established sazan *Cyprinus carpio* from 8 trade reservoirs of Novosibirsk region are represented in the article. In 1 reservoirs parasitae *Metorchis bilis* (Trematoda) is discovered which is dangerous for people and animals.

ВВЕДЕНИЕ.

Вирусы играют значительную роль в патологии гидробионтов, в т.ч. и в патологии рыб (Степанова, 2004; Munn, 2006). Среди иктивирусов описаны герпес-, приодо-, рабдо-, рео-, адено-, калици-, лейко- и другие вирусы, в т.ч. и вирусы гриппа. Нанося значительный экономический ущерб хозяйствам по выращиванию рыб, вирусные инфекции приводят к ощутимому сокращению биоразнообразия, часто являясь причиной резкого снижения численности популяций этих гидробионтов вплоть до исчезновения отдельных видов. Вне всякого сомнения, что загрязнения водоемов приводят к снижению физиологического статуса рыб, что в свою очередь потенцирует вирусные инфекции среди представителей этих популяций (Springman et al., 2005). В настоящее время, когда наблюдается «взрывообразная эволюция вирусов» (Кордюм, 2001), когда происходят изменения в их вирулентности и в переносе-передаче вирусов между экосистемами (Munn, 2006) можно ожидать появления «новых» вирусов в любых биоценозах, в т.ч. и среди популяций рыб. Поэтому в целях сохранения их биоразнообразия необходимо владеть информацией не только о фоне вирусных патологий этих гидробионтов, но и об их загрязнении аллохтонными и неспецифическими автохтонными вирусами гидросферы, поскольку такие сведения будут сигнализировать о состоянии физиологического и иммунологического статуса, а следовательно и благополучия этих животных.

Информация о вирусной контаминации рыб Черного моря крайне ограничена, хотя и является весьма актуальной с учетом распространения и опасности птичьего вирусного гриппа, циркулирующего как среди водоплавающих птиц, так и среди черноморских дельфинов (Ильичева и др., 2006). Ранее нами было выявлено загрязнение черноморских рыб аллохтонными вирусами (Степанова, 2004; 2005) и вирусами микроводорослей (Степанова, Кузьмина, 2006). С целью определения роли сезонного фактора в контаминации рыб Черного моря альговирuсами и была проведена настоящая работа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

С декабря 2005 по январь 2007 гг. проводили отлов рыб из различных бухт Севастополя, сведения об этом представлены в таблице. Отлов рыб осуществляла бригада рыбаков Малого флота ИнБЮМ с помощью донных ставников из бухт Севастополя, отличающихся различной степенью экологического неблагополучия, которое учитывали по (Красновид, Озюменко, 2002). Вид морских рыб, от которых брали материал, определяли по (Световидов, 1964). Материалом от морских рыб являлись жабры, которые были получены от сотрудников научной группы отдела ихтиологии ИнБЮМ, за что автор приносит им и руководителю этой группы вед. н.с., д.б.н. И.И. Рудневой свою благодарность. Из жабр морских рыб путем растирания в ступках со стерильным стеклом, готовили 10-30% суспензии с использованием стерильной морской воды. После центрифугирования (20 мин при 2000 об/мин) надосадочную жидкость в количестве 0,2 мл использовали для изоляции альговирuсов путем заражения 2,0 мл (в пробирке) индикаторных культур микроводорослей *Tetraselmis viridis* (*T.viridis*) и *Phaeodactylum tricornutum* (*P.tricornutum*) по разработанному и запатентованному автором способу (65864А UA, N2003065499).

Сведения о видах рыб, отловленных в различных бухтах Севастополя

Таблица

№	Вид рыб (количество особей)	Дата Отлова Рыб	Место отлова бухта)	Изолированные к индикаторным микроводорослям альговирусы (с соответствующим номером)	
				<i>T.viridis</i>	<i>P.tricornutum</i>
1	2	3	4	5	6
1	Кефаль-синиль (3)	26.12.2006	Мартынова	-	-
2	Спикара (2)			TvV-SR2	-
3	Зеленушка-тинка (2)			TvV-SR3	-
4	Бычок-мартовик (2)			TvV-SR4	-
5	Налим (2)			-	-
6	Скорпена (7)			TvV-SR6	-
7	Бычок-кругляк (1)			TvV-SR7	-
8	Ставрида (2)	-«-	Карантинная	TvV-SR8	-
9	Спикара(5)			TvV-SR9	-
10	Барабуля (1)			-	-
11	Кефаль (1)			-	-
12	Скорпена (2)			-	-
13	Морская лисица (1)			-	-
14	Кефаль (2)	13.02	Мартынова	-	-
15	Бычок-кругляк (1)			-	-
16	Бычок-мартовик (1)			-	-
17	Налим (2)			-	-
18	Морской ерш (2)			-	-
19	Атерина (7)	10.04	Карантинная	-	-
20	Бычок-кругляк (4)			-	-
21	Ставрида (11)			-	-
22	Спикара-Смаида(20)			-	-
23	Налим (2)			-	-
24	Скорпена (6)			-	-
25	Зеленушка (1)			-	-
26	Мерланг (живые) (7)	17.04	-«-	-	-
27	-«- (мертвые) (2)			-	-
28	Бычок-мартовик (1)			-	-
29	Бычок-кругляк (10)			-	-
30	Морская лиса (1)			-	-
31	Глосса (1)			-	-
32	Ставрида (1)			-	-
33	Спикара-Смаида(20)			-	-
34	-«- (мертвые) (2)			-	-
35	Зеленушка greseus (1)			-	-
36	Камбала-калкан (1)			-	-
37	Скорпена (1)			-	-
38	Мерланг (пикша) (7)	22.05.	Мартынова	-	-
39	Барабуля (10)			-	-
40	Бычок-кругляк (1)			-	-
41	Сельдь черноморская (2)			-	-
42	Спикара (12)	22.05.	Мартынова	-	-
43	Ошибень (1)			-	-
44	Ласкирь (1)			-	-
45	Ставрида (7)			-	-
46	Скорпена (живые)(15)			-	-
47	-«- (мертвые) (2)			-	-

48	Барабуля (17)	24.07	-«-	-	-		
49	Ставрида (13)			-	-		
50	Сельдь (12)			-	-		
51	Темный горбыль (1)			-	-		
52	Бычок-мартовик (2)			-	-		
53	Бычок-кругляк (1)			-	-		
54	Зеленушка тинка (2)			-	-		
55	Спикара (3)			-	-		
56-65	Скорпена (по 1 в 10 пробах)			-	-		
66	Ставрида (23)			31.07	-«-	-	-
67	Барабуля (7)	-	-				
68	Сельдь (4)	-	-				
69	Спикара (4)	-	-				
70	Темный горбыль (2)	-	-				
71	Бычок-травяник (1)	-	-				
72	Бычок-мартовик (1)	-	-				
73	Зеленушка-тинка (3)	-	-				
74	Ласкирь (1)	-	-				
75	Ошибень (1)	-	-				
76-82	Скорпена (по 1 в 7 пробах)	-	-				
83	Барабуля (4)	7.08.	-«-			-	-
84	Ставрида (10)					-	-
85	Сельдь (1)			-	-		
85	Спикара (6)			-	-		
87	Зеленушка-тинка (3)			-	-		
88-95	Скорпена (по 1 в 8 пробах)			-	-		
95	Морской карась			-	-		
96				-	-		
97	Ставрида (30)	20.11	Карантинная	-	-		
98	Султанка (35)			-	-		
99	Мерланг (2)			-	-		
100	Зеленушка-рябчик (1)			TvV-SR4 ¹	-		
101	Звездочет (1)			-	-		
102	Налим (1)			-	-		
103	Бычок-мартовик (1)			-	-		
104	Спикара (5)			-	-		
105	Скат-хвостокол (1)			-	-		
106	Скорпена (5)			-	-		
107	Луфарь (1)	-«-	Балаклавская	-	-		
108	Ставрида (5)	9.01.2007	Карантинная	-	-		
109	Спикара (4)			-	-		
110	Султанка (4)			-	-		
111	Сельдь черноморская (1)			-	-		
112	Мерланг (13)			-	-		
113	Бычок-кругляк (4)			-	-		
114	Бычок-мартовик (1)			-	-		
115	Камбала-гlossa (1)			-	-		

Примечание: (-) – отрицательный результат.

Всего было изучено 115 проб из жабр разных видов черноморских рыб, обитающих в Мартыновой (71 проба), Карантинной (43 пробы) и Балаклавской (1

проба) бухтах. Из 115 проб в 7 % случаев были изолированы альговирусы к микроводоросли *T. viridis* (8 TvV) и ни одного вируса к *P. tricornutum*, что, вероятно, связано с преимущественным распространением *T. viridis* по сравнению с *P. tricornutum* в экологически неблагоприятных бухтах и, как следствие этого, большим распределением альговирусов к этой водоросли (Степанова, 2004). Хотя закрытая Мартынова бухта и является более неблагоприятной по отношению к открытой Карантинной бухте, тем не менее обе бухты экологически неблагоприятны и в каждой из них процент изоляции вирусов не превышал 7 %. Материал, использованный для изоляции альговирусов, был взят от рыб, отлов которых проводили 6 раз из Мартыновой (зимой, весной и летом) и 5 раз из Карантинной (зимой, весной и поздней осенью) бухты (см. табл.). Итак, поиск вирусов из жабр черноморских рыб был проведен в общей сложности во все четыре сезона года. Однако изоляция альговирусов (TvV) происходила только в зимний и поздний осенний периоды, т.е. в холодное время года. По нашим предыдущим исследованиям (Степанова, 2004) было установлено, что TvV действительно определялись в воде одной из экологически неблагоприятных бухт в январе и в ноябре, но также их изолировали в марте, апреле, июне и июле. Мы предполагаем, что в загрязнении черноморских рыб автохтонными альговирусами решающую роль играет не сезонная численность фитопланктона, в частности сезонные пики микроводоросли *T. viridis*, сопровождающиеся увеличением альговирусов (TvV). По нашему мнению, в установленном факте важное значение имеет сезонное снижения физиологического (и иммунологического) статуса рыб, которое, вероятно, происходит при резком похолодании после относительно теплого осеннего сезона и при значительном снижении продолжительности светового дня (в ноябре-январе). Наличие в жабрах, обильно снабжающихся кровью, неспецифических для рыб альговирусов (как и любых других чужеродных вирусов), которые должны восприниматься факторами иммунитета как чужеродный белок (антиген), свидетельствует о понижении защитных функций организма. Исходя из вышеизложенного, мы предполагаем, что альговирусы, контаминирующие жабры рыб, могут быть рассмотрены в качестве биомаркеров при оценке физиологического состояния представителей ихтиофауны. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о возможности использования поиска альговирусов в жабрах рыб как теста при оценке благополучия популяций этих гидробионтов в Черном море. Работы в этом плане будут продолжены и расширены, а изоляция альговирусов из жабр рыб будет проводиться с учетом иных показателей (биомаркеров), свидетельствующих о физиологическом статусе этих гидробионтов. Надеемся, что представленные данные и проведенный анализ наших результатов будут интересны для широкого круга специалистов.

ВЫВОДЫ. Изучение сезонности изоляции альговирусов из материала от черноморских рыб выявило, что контаминация жабр вирусами наблюдается только в холодный период при сокращении продолжительности светового дня и, по всей видимости, связана со снижением иммунологического статуса организма этих гидробионтов. Поскольку изоляция альговирусов из жабр черноморских рыб, по нашему мнению, свидетельствует о понижении их физиологического статуса, она может быть предложена в качестве теста (биомаркера) при изучении благополучия популяций представителей ихтиофауны.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ильичева Т.Н., Розанова Е.И., Дурыманов А.Г., Шестопалов А.М. Антитела против вируса птичьего гриппа H5N1 в сыворотках морских млекопитающих // *Морские млекопитающие Голарктики: Сб. науч. трудов по материалам четвертой международной конференции*. Санкт-Петербург, Россия, 10-14 сентября 2006 г. - СПб., 2006. - С.515-519.

2. Кордюм В.А. Эволюция вирусов – попытка нелинейного прогноза // Тези III Міжнародної конференції «Біоресурси та віруси» 11-15 Вересня 2001, Київ, Україна. – Київ: Фітосоціоцентр, 2001. – С.13.
3. Красновид И.И., Озюменко Б.А. Экологическое состояние внутренних морских вод г.Севастополя // Сборник научных работ специалистов санитарно-эпидемиологической службы г.Севастополя. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2002. - Вып.7. - С.26-33.
4. Световидов А.Н. Рыбы Черного моря. – М.-Л.: Изд-во «Наука», 1964. – 552 с.
5. Степанова О.А. Экология аллохтонных и автохтонных вирусов Черного моря. – Севастополь: Мир, 2004. – 308 с.
6. Степанова О.А. Морские придонные рыбы как индикатор загрязнения бухт Севастополя (Черное море) // Современные проблемы водной токсикологии. Междунар. конф. памяти д.б.н., проф. Б.А.Флерова (2.04.1937 – 18.01.2005), Борок. 20-24 сентября 2005. – Борок. – 2005. – С.136-137.
7. Степанова О.А., Кузьминова Н.С. Контаминация морских рыб альговирусами // Рыбное хозяйство Украины. – 2006. - №1. – С.26-27.
8. Munn C.B. Viruses as pathogens of marine organisms – from bacteria to whales // J. Mar. Biol. Ass. U. K. – 2006. – 86, N3. – P.453-467.
9. Springman K.R., Kurath G., Anderson J.J., Emlen J.M. Contamination as viral cofactors: assessing indirect population effects // Aquatic Toxicology. – 2005. – 71, N1. – P.13-23.

SEASONAL CONTAMINATION OF FISHES BY ALGAE VIRUSES (BLACK SEA)

O. A. Stepanova

The study of contamination of Black sea fishes by algae viruses has revealed, that *Tetraselmis viridis* Virus were isolated from samples of gills of fishes in 7%. We fixed, that during all seasons of the year, the isolation of algae viruses from gills of marine fishes were only in November, December and January. This fact, in our opinion, is connected with decrease of the physiological status of fishes in the cold season at reduction of duration of solar illumination. Thus we offered to use algae viruses presence in a material from fishes as bio marker of indicating decrease of immunity and physiological status of fishes.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ГОРМОНА СТРЕССА И ТРАНСПОРТИРОВКИ НА СТРУКТУРНУЮ ОРГАНИЗАЦИЮ ЛЕЙКОЦИТОВ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ РЫБ

В.Г. Терещенко, Л.В. Балабанова, В.Р. Микряков
Институт биологии внутренних вод РАН, Россия, Борок,
E-mail: tervlad@ibiw.yaroslavl.ru

Общезвестно, что рыбы на воздействие различных стресс-факторов реагируют изменением структурного разнообразия, количественных характеристик отдельных типов лейкоцитов и соотношением между ними (Иванова, 1983; Головина, Тромбицкий, 1989; Микряков, Лапирова, 1997; Микряков и др., 2001; Серпунин, 2002; Степанова, 2003). Наблюдаемые в составе лейкоцитов дестабилизационные процессы у стрессированных рыб коррелируют с нарушениями иммунологических функций, обеспечивающих иммунитет и адаптацию рыб к паразитам, вызывающим эпизоотии инфекционных и инвазионных болезней (Вихман, 1996; Лапирова и др., 2000; Микряков и др., 2001). Одним из таких факторов, вызывающих дисбаланс состава лейкоцитов, снижения иммунореактивности и появления эпизоотий в рыбоводных хозяйствах является транспортировка рыб.

Ранее нами показана принципиальная возможность оценки последствий разных по природе стресс-факторов: транспортировки, токсикантов (соли тяжелых металлов, фенол, полиароматические углеводороды, пестициды) и гормона стресса на характер течения дестабилизационных процессов и степень разбалансировки состава лейкоцитов в организме карповых рыб на основании информационных индексов (Микряков и др., 2002; Терещенко и др., 2004). Проведенные исследования позволили установить связь изменения индексов разнообразия и относительной организации с природой воздействующего фактора (Микряков и др., 2005).

Известно, что уже у низших рыб появляется иммунная система. По мере их развития совершенствуется и иммунная система. Поэтому сравнительный анализ изменений структурного разнообразия лейкоцитов различных по систематическому положению видов рыб на действие одних и тех же стресс факторов позволит получить дополнительную информацию об эволюции иммунной системы рыб.

Цель настоящей работы – сравнительная оценка влияния транспортировки и гормона стресса на динамику структурной организации лейкоцитов карпа *Cyprinus carpio* L. и стерляди *Acipenser ruthenus* L. на основе использования интегральных индексов изменения содержания в крови отдельных форм клеток.

Влияние гормона стресса при транспортировке изучали на 60 карпах *Cyprinus carpio* L. в возрасте 2+ после внутрибрюшинной инъекции дексаметазон-фосфата в дозе 2.0 мг на особь. Отбор проб проводили через 1,3, 7, 14, 21 и 34 сут с момента начала перевозки рыб.

Изучение влияния транспортного стресса на лейкоциты крови стерляди *Acipenser ruthenus* L. проводили на 25 особях в возрасте 2+ средней массой 250-300 г. Сбор материала для изучения изменений соотношения различных форм лейкоцитов осуществляли через 1, 3, 7, 14 и 21 сут после перевозки рыб.

Карпов перевозили в пластиковых ваннах объемом 1 м³ в течение 10 часов, а стерлядь - в оцинкованных каннах в течение 7 часов из тепловодного рыбоводного хозяйства ОАО РТФ «Диана» поселка Калудь Вологодской области до экспериментальной базы «Сунога» ИБВВ им. И.Д. Папанина РАН. Далее рыб содержали в принудительно аэрируемых бассейнах при температуре воды 16-18°C.

Изменения в лейкоцитарной формуле крови могут затрагивать как число форм лейкоцитов, так и их относительное обилие. В качестве показателя при описании сходных процессов в экологии широко используют индекс биологического разнообразия, основанный на функции Шеннона (Pielou, 1977; Джиллер, 1988:

Терещенко и др., 1994). Концентрируя информацию о видовой структуре сообщества, он позволяет выявить общую тенденцию развития системы. Таким образом, для описания изменений, как числа форм лейкоцитов, так и их относительного обилия предлагается индекс биологического разнообразия или формула Шеннона:

$$H = - \sum (n_i/N) \text{Log}_2 (n_i/N)$$

где n_i - численность i -й формы лейкоцитов,
 N - суммарная численность лейкоцитов всех форм.

Иногда при сравнительном анализе удобно использовать относительный показатель, изменяющийся от 0 до 1. Г. Ферстер (Антомонов, 1977) предложил использовать показатель R , который основан на функции Шеннона и называется "относительная организация". В смысловом отношении данный показатель является индексом доминирования. Относительная организация структуры лейкоцитов определяется по формуле:

$$R = 1 - H/(\text{Log}_2 K),$$

где K - число форм лейкоцитов.

Для детерминированной системы, состоящей из одной доминирующей формы лейкоцитов, а остальных представленных единичными клетками, этот показатель приближается к 1. Показатель полностью дезорганизованной системы при равном вкладе всех форм лейкоцитов равен 0.

Влияние гормона стресса и транспортировки на карпа.

Анализ реакции лейкоцитов крови карпов на гормональное воздействие при транспортировке позволил установить сходный характер реагирования их с таковым, полученным на карасях (Микряков и др., 2005). Транспортный стресс и введение дексаметазона приводят к изменениям количественных характеристик всех типов лейкоцитов: лимфоцитов, моноцитов, палочкоядерных, сегментоядерных нейтрофилов, эозинофилов, базофилов и бластных форм клеток. Транспортировка рыб приводит к разбалансировке в структуре клеток иммунной системы, которая максимальна на 3 сутки после их перевозки, а в дальнейшем через 3 недели отмечалась стабилизация обоих интегральных индексов структуры лейкоцитов.

Максимальные различия в индексах Шеннона выявлено через 1 и 14 суток после введения гормона и начала транспортировки рыб. При этом второй пик различий в три раза больше, чем первый. У карпов, подвергнутых обработке аналогом кортизона, дестабилизационные процессы, происходящие в составе лейкоцитов, носили более выраженный характер, чем влияние транспортного стресса. Лейкоцитарная функция рыб на фоне транспортного стресса после экзогенного введения гормонов к исходному уровню возвращается по времени позже, чем у контрольных групп карпов (рис. 1).

Следует отметить, что оба предложенных индекса дают сходную информацию об относительной силе воздействия и характере реагирования клеток иммунной системы рыб на транспортировку (рис. 1). Наибольшая разбалансировка в структуре клеток иммунной системы рыб отмечена на 1 сутки после их перевозки. Наблюдался рост индекса разнообразия и уменьшение индекса относительной организации (доминирования), а в дальнейшем через 3 недели отмечалась стабилизация обоих индексов структуры лейкоцитов.

Интересно отметить, что и по результатам исследований В.В. Хлебовича (1981) время адаптации рыб к солености укладывается в срок 1-3 недели. Более того, существует множество примеров, показывающих, что вспышки инфекционных болезней в прудах отмечаются через неделю после проведения различных рыбоводных работ в них.

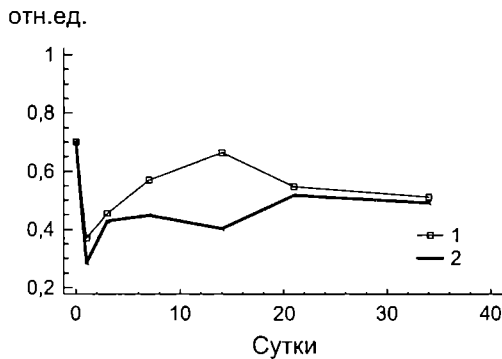
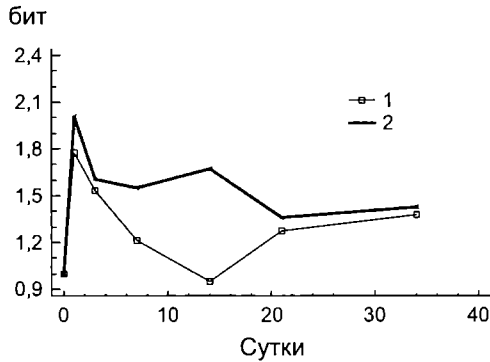


Рис. 1. Динамика разнообразия H (а) и доминирования (относительной организации) R (б) лейкоцитов крови карпа после транспортировки рыб и гормональной инъекции. Рыбы 1 – после транспортировки; 2 – после инъекции гормона

Влияние гормона стресса и транспортировки на стерлядь.

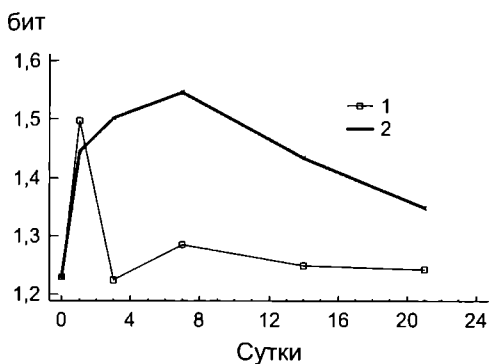
Из материалов исследований видно, что лейкоциты стерляди подобно таковым карпа представлены разными по структуре и функциям клетками: лимфоцитами, моноцитами, палочкоядерными, сегментоядерными нейтрофилами, эозинофилами, базофилами и бластными формами.

Установлено, что индекс разнообразия структуры лейкоцитов стерляди у опытных рыб на протяжении всего периода наблюдения отличалась от таковых особей до транспортировки (рис. 2).

Первые сутки отмечено увеличение разнообразия структуры лейкоцитов у всех особей стерляди. На третьи сутки разнообразие лейкоцитов у инъектированных рыб продолжает возрастать, тогда как у остальных особей резко уменьшилось практически до исходного уровня и в дальнейшем изменения невелики. В результате,

структурных показателях лейкоцитов крови рыб максимальна на третьи сутки опыта, а в дальнейшем уменьшается

а



б

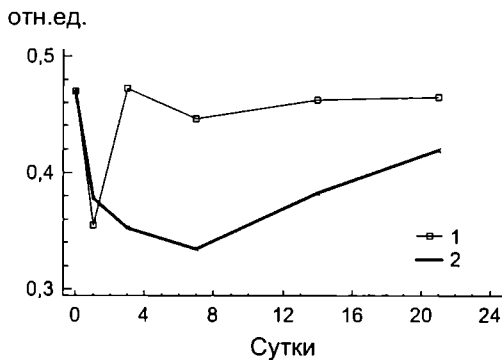


Рис. 2. Динамика разнообразия Н (а) и доминирования (относительной организации) R (б) лейкоцитов крови стерляди после транспортировки рыб и гормональной инъекции рыбы 1 – после транспортировки; 2 – после инъекции гормона

Максимальная разбалансировка структуры лейкоцитов у опытных рыб наблюдалась на третьи сутки после перевозки рыб. В последующие сроки наблюдения отмечено постепенное выравнивание показателей индексов разнообразия и относительной организации клеток, что, вероятно, связано со стабилизацией функционального состояния иммунной и кровяной систем.

Сравнительная оценка влияния транспортировки и гормона стресса на карпа и стерляди показала, что различие реакции карповых и осетровых рыб проявляется в разной динамике структурной организации лейкоцитов крови рыб. У карпа отмечались два максимума индекса разнообразия структуры лейкоцитов (минимума относительной организации) на 1 и 14 сутки, а у стерляди только один - на третьи

сутки. При этом максимальные наблюдаемые значения индекса разнообразия у карпов соответствовали величине 2 бит, а у стерляди не превышали 1.55 бит. Хотя в норме для карпов индекс разнообразия ниже, чем для стерляди, соответственно 1 и 1.2 бит. Величина ответной реакции (степень разбалансировки стрессированных рыб от нормы) свидетельствует о более совершенной иммунной системы карповых видов рыб по сравнению с осетровыми. Наличие двух пиков в реакции иммунной системы карпа может свидетельствовать о наличии у карповых видов не только древних, присутщих и осетровым видам, но и новых иммунорезистентных механизмов, которые, судя по различиям в структуре лейкоцитов, существенно эффективнее древних.

Выявленное различие в индексах разнообразия лейкоцитов исследуемых видов, видимо, обусловлено долей содержания отдельных типов клеток в лейкограмме рыб. Лейкограмма стерляди отличалась от таковой карпов более высокими величинами содержания нейтрофилов и бластных форм: у стерляди выявлено 12 ± 2 % нейтрофилов, 9 ± 1 % бластных клеток, тогда как у карпа 5 ± 0.8 и 5 ± 0.9 % соответственно (Микряков и др., 2005; 2007).

Максимальные различия у карпов в индексах Шеннона выявлены через 1 и 14 суток после введения гормона и начала транспортировки рыб, тогда как у стерляди – на 3 сутки. Это говорит о различии инерции иммунной системы карповых и осетровых видов рыб. У карповых видов время включения древних иммунорезистентных механизмов меньше, чем у осетровых, а время вступления новых иммунорезистентных механизмов больше, чем время реагирования древних.

Таким образом, предложенные индексы позволяют визуализировать изменения в функционировании иммунной системы и могут быть использованы при мониторинге последствий влияния стресс факторов на иммунный статус рыб.

Проведенные исследования позволили получить новую информацию об индексе разнообразия у стерляди и карпа в норме и после воздействия на рыб гормона стресса и транспортировки. Оба данные стресс факторы приводят к разбалансировке в структуре клеток иммунной системы рыб. Выявленная закономерность динамики индекса разнообразия лейкоцитов стерляди и карпа аналогична тем, которая установлена нами на других видах, подвергнутых воздействию разных по природе стрессоров, и отражает развитие общего адаптационного синдрома по Селье.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 06-04-48812).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Антомонов Ю.Г. Системы, сложность, динамика. Киев: Наукова думка, 1969. 124 с. Моделирование биологических систем. - Киев: Наукова думка. 1977. 248 с.
- Вихман А.А. Системный анализ иммунологической реактивности рыб в условиях аквакультуры. М.: Экспедитор, 1996. 176 с.
- Головина Н.А., Тромбицкий И.Д. Гематология прудовых рыб. Кишинев: Штиинца. 1989. 156 с.
- Джиллер П. Структура сообществ и экологическая ниша. М.: Мир. 1988. 188 с.
- Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. М.: Лег. и пищ. пром-сть, 1983, 184 с.
- Лапирова Т.Б. Изменения показателей белой крови карпа под влиянием карбофоса и иммунизации // Биология внутренних вод, №3, 2000. С. 102-106.
- Микряков Д.В. Влияние некоторых кортикостероидных гормонов на структуру и функцию иммунной системы рыб : Автореф. дис. кандидата биол. наук. Москва, 2004. 24 с.
- Микряков В.Р., Лапирова Т.Б. Влияние солей некоторых тяжелых металлов на состав белой крови молоди ленского осетра *Acipenser baeri* // Вopr. ихтиологии. Т.37 №4. 1997. С. 538-542.
- Микряков В.Р., Балабанова Л.В., Заботкина Е.А. и др. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление воды. М.: Наука. 2001. 126 с.

Микряков В.Р., Терещенко В.Г., Микряков Д.В., Балабанова Л.В. Опыт применения интегральных показателей структуры лейкоцитов для анализа динамики реакции иммунной системы рыб на токсиканты. 2002. Биология внутренних вод, 4. С. 84-88.

Микряков В.Р., Терещенко В.Г., Микряков Д.В. Использование индекса Шеннона для оценки последствий влияния стресс – фактора на структурную организацию состава лейкоцитов // Вопросы рыболовства. 2005. Т.6. № 3(23). С. 518-532.

Серпунин Г.Г. Гематологические показатели адаптаций рыб: Автореф. дис. ...д-ра биол. наук. Калининград, 2002. 49 с.

Степанова В.М. Влияние экологических факторов различной природы на клеточное звено иммунной системы рыб: Автореф. дис. ...кандидата биол. наук. Борок., 2003. 22 с.

Терещенко В.Г., Терещенко Л.И., Сметанин М.М. Оценка различных индексов для выражения биологического разнообразия сообщества // Биоразнообразие: Степень таксономической изученности. М. 1994. С. 86-98.

Терещенко В.Г., Микряков В.Р., Микряков Д.В. Опыт применения индекса Шеннона для оценки дестабилизационных процессов в иммунной системе рыб. Сб. Инфекционная паталогия и иммунология. М. 2004. С. 168 – 182.

Микряков В.Р., Микряков Д.В., Терещенко В.Г., Балабанова Л.В. Изменение индексов разнообразия и относительной организации лейкоцитов карпа *Cyprinus carpio* L. под влиянием транспортного стресса // Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского Севера. 2005. Часть. 2. С. 18 – 20.

Микряков В.Р., Терещенко В.Г., Микряков Д.В., Балабанова Л.В. Мониторинг последствий транспортировки на структурную организацию лейкоцитов стерляди *Acipenser ruthenus* L. по Шеннону // Тепловодная аквакультура и биологическая продуктивность водоемов аридного климата. Мат. межд. симпозиума. Астрахань.

Хлебович В.В. Аклимация животных организмов. Л. Наука. 1981. 136 с.

Pielou E.C. Mathematical Ecology. 1977. New York. John Wiley & Sons, 385 p.

THE COMPARATIVE ANALYSIS OF INFLUENCE OF THE HORMONE OF THE STRESS AND TRANSPORTATION ON THE STRUCTURAL ORGANIZATION OF LEUCOCYTES OF VARIOUS FISH SPECIES

V.G. Tereshchenko, L.V. Balabanova, V.R. Mikryakov

Research of dynamics of indexes of "diversity" and «the relative organization» structure of leucocytes of a carp and a sterlet is carried out at influence of a hormone of a stress - Cortisonum and transportations. It fixed, that distinction of reaction cypriniformes and sturgeon fishes shows in different dynamics of the structural organization of leucocytes of blood of fishes. At a carp two maximums of diversity index of structure of leucocytes for 1 and 14 day after the beginning of experience, and at a sterlet only one - for the third day were marked. Thus the maximal observable values of diversity index at carps corresponded to magnitude of 2 bits, and at a sterlet did not exceed 1.6 bits.

ОСОБЕННОСТИ ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ ОКРАСКИ ОКУНЯ (*PERCA FLUVIATILIS L.*) В ВОДОЕМАХ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ.

Н. Ю. Тропин

Вологодская лаборатория ФГНУ ГосНИОРХ, Вологда, Россия
e-mail: gosniorch@vologda.ru

Речной окунь (*Perca fluviatilis L.*) – один из наиболее распространенных видов рыб, населяющих большинство водоемов Вологодской области. Его высокая численность в водных экосистемах обуславливает большую роль, которую играет окунь в реках и озерах. В небольших по размерам водоемах данный вид часто является доминирующим в ихтиоценозе и поэтому занимает важное место в пищевых взаимосвязях водных экосистем, занимая при этом несколько звеньев в трофической цепочке. Для окуня также весьма характерна высокая пластичность и широкий спектр морфологической, внутри- и межпопуляционной изменчивости, связанные с такими факторами как географическая удаленность популяций, условия обитания, половой диморфизм, размерно-возрастные отличия (Зеленецкий, 1994).

Особенностью окуня является наличие хорошо различимых и визуально обнаруживаемых внешних признаков, отражающих локальные особенности морфологии рыб в различных по типам водоемах. К одним из таких признаков относится фенотипическая (криптическая) окраска тела окуня, представленная поперечными полосами различной формы – фенами. Совокупность фенотипической окраски всех особей, отражает фенотип популяции, что является внешним выражением особенностей генотипической структуры популяции. Исследуя окуня, взятого из различных водоемов, можно выявить их фенотипические (внешние) различия.

Целью настоящей работы является изучение особенностей криптической окраски речного окуня различных водоемов Вологодской области. Для выполнения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Дать краткую гидрологическую характеристику выбранных для изучения водоемов: р.р. Лежа и Вожега;
2. Выявить особенности криптической окраски тела популяций окуня рек Вожеги и Лежи;
3. Сравнить криптическую окраску окуня рек Вологодской области и озер Хотавецкого и Дубровского Дарвинского заповедника.

Объектом исследований являются популяции окуня рек Вожеги и Лежи Вологодской области. Всего проанализировано около 350 экземпляров, которые были отловлены удочкой, сетями и бреднем в 2002–2006 г.г. У каждой особи изучались пластические и меристические признаки, определялся возраст и пол (Правдин, 1966). Для оценки фенотипической изменчивости применялась методика изучения криптической окраски окуня (Зеленецкий, 1992). Каждая особь просматривалась с левой и правой стороны тела, фиксирование фенов велось по 4 зонам, на которые было разделено тело рыб. По результатам учета фенов рассчитывался индекс пигментации особи (I_p), среднезональный индекс пигментации (I_z) и коэффициент вариации (K_v). Внутрипопуляционное разнообразие оценивали по встречаемости фенов, среднему числу морф (μ), доле редких морф (h). Сходство в распределении частот морф между популяциями определялось по показателю сходства (r) и критерию идентичности (I) (Животовский, 1982). Для сопоставления и сравнения различных популяций окуня были использованы данные Н. М. Зеленецкого (1994) по результатам изучения криптической окраски окуня озер Дубровское и Хотавецкое Дарвинского заповедника.

Река Вожега располагается на севере Вологодской области и является одним из крупных притоков озера Воже. Она протекает большей частью по волнистой моренной равнине с чередованием низких и возвышенных участков. Ширина речной долины изменяется от 50 до 100 метров, скорость течения колеблется в пределах 0,5–1,0 м/сек.

Данные отложения представлены преимущественно песками и гравием (Гидрология озер..., 1979). В химическом составе вод реки преобладают гидрокарбонаты и ионы кальция, соотношения которых почти не изменяется в силу высокой буферности почвообразующих пород водосбора реки Вожеги (Борисов, Тропин, 2005).

Река Лежа расположена в южной части Вологодской области в подзоне южной тайги. Она относится к бассейну реки Сухоны и является ее правым притоком. Река протекает по разнообразным типам ландшафтов, однако доминирующим является озерно-ледниковый ландшафт с небольшим колебанием высот (Природные условия..., 1970). Скорость течения реки достаточно низкая (0,2–0,5 м/сек), что обуславливает образование меандр и наличие большого количества заиленных донных грунтов. Для реки Лежи характерны значительные межсезонные изменения ионного состава вод, связанное с низкой кислотнейтрализующей способностью водосбора.

В ходе анализа криптической окраски окуня рек Вожеги и Лежи выделены преобладающие фены: L, V и Y. Данные фены являются наиболее распространенными у окуня и процент их встречаемости достаточно высокий (табл. 1).

Таблица 1

Встречаемость фенов в популяции речного окуня (%)

Фены	Вожега	Лежа
L	100	90
L1	1	5
V	98	85
V1,2	2	20
Y	32	35
W	6	5
D	2,5	0

К редко встречающимся элементам фенетической окраски относятся фены D, W, V1,2, L1. Они обнаруживаются у небольшого числа особей и являются достаточно редкими, поэтому присутствие этих фенов может говорить о фенотипических различиях между разными популяциями. Для популяций окуня исследованных рек характерна практически равная встречаемость редких фенов D и W.

Расчитанный индекс пигментации и среднезональный индекс варьировал в популяции окуня из реки Вожеги от 8,0 до 14,5, а из Лежи – 6,8–12,5 (табл. 2). Эти показатели выше в р. Вожеге, так как для окуней этой реки была характерна частая встречаемость 2–3 фенов в одной из 4 просматриваемых зон, что может свидетельствовать о большем разнообразии условий внешней среды. Наибольший коэффициент вариации ($K_v-12,1$) характерен также для р. Вожеги.

Таблица 2

Показатели пигментации окуня рек Вожеги и Лежи.

Река	I_p	I_z	K_v
Вожега	11,1 (8,0-14,5)	1,4 (1,0-1,8)	12,1
Лежа	10,2 (6,8-12,5)	1,3(0,8-1,6)	11,7

В ходе изучения структуры фенотипов было выделено 115 морф, при этом только 10 из них встречались в популяциях окуня изучаемых рек. Большая часть морф является индивидуальной, то есть, отмечена на одной особи из выборки и связана с появлением в фенотипе редких фенов (W и D). Среднее число морф наибольшее в реке Вожеге, но при этом большее количество редких морф характерно для выборки из реки Лежи (табл. 3). Сравнительный анализ фенотипического разнообразия показал значимые отличия между исследуемыми популяциями (табл. 4)

Показатели внутривидового разнообразия окуня рек Вожеги и Лежи

Таблица 3

Река	μ	h
Вожега	60,1±2,2	0,25±0,04
Лежа	36,9±2,5	0,31±0,05

Показатель сходства (H) и уровень значимости различий (p) популяций окуня рек Вожеги и Лежи

Таблица 4

Река	Вожега	Лежа
Вожега		<0,001 (p)
Лежа	0,4±0,01 (H)	

Выявленные отличия в популяциях окуня рек Вожеги и Лежи связаны с особенностями внешних условий обитания. В результате изучения криптической окраски окуня установлено высокое внутривидовое разнообразие р.р. Вожега и Лежа. Сравнительный анализ фенотипического разнообразия показал достоверные отличия между двумя исследуемыми популяциями.

Сравнение фенотипической окраски окуня рек Вологодской области и двух озёр Дарвинского заповедника свидетельствует о различии, как в наборе фенов, так и в частоте их встречаемости во внешней окраске рыб (рис. 1).

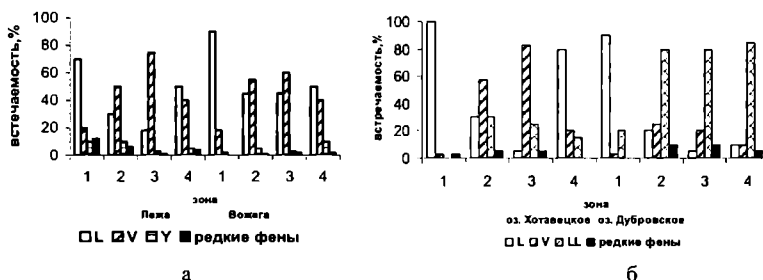


Рисунок 1. Частота встречаемости основных фенов окуня р.р. Лежи и Вожеги и озер Хатавецкое и Дубровское

Так, для окуня из озер характерно наличие часто повторяющегося сложного фена LL, что для речного окуня было не характерно. Кроме того, частота встречаемости наиболее редких фенов также сильно различается не только между реками и озерами, но и между разными озерами. Это свидетельствует о наличии в каждом из водных объектов сугубо специфических условий, влияющих на особенности криптической окраски тела окуня.

Таким образом, оценка криптической окраски популяций окуня различных водоемов позволяет выделить его внешние отличительные особенности, формирующиеся под влиянием внешних условий среды. Данные исследования показывают специфичность фенотипа окуня, как в водоемах Вологодской области, так и выявляют различия в криптической окраске между популяциями окуня, взятого из географически удаленных и различающихся по гидрологическому режиму водоемов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Борисов М. Я., Тропин Н. Ю., Подольский А. Н. Сравнительная характеристика популяций *Perca fluviatilis* рек Вожеги, Лежи и Кипшенги Вологодской области // Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского Севера. – Вологда, 2005. – С. 80–82.
2. Гидрология озер Воже и Лача. – Л.: Наука, 1979. – 288 с.
3. Животовский Л. А. Показатели популяционной изменчивости по полиморфным признакам // Фенетика популяций. – М.: Наука, 1982. – С. 38-45.
4. Зеленецкий Н. М. Изменчивость обыкновенного окуня (*Perca fluviatilis* L.) в разнотипных озерах Дарвинского заповедника // Структура и функционирование экосистем кислых озер. - СПб.: «Наука», 1994. – С. 202-212.
5. Зеленецкий Н. М. Методические основы изучения изменчивости криптической окраски тела окуня в ареале // Биологические науки, 1992. – № 11, 12.
6. Зеленецкий Н. М., Изюмов Ю. Г. Предварительные данные по наследованию поперечно-полосатой пигментации тела у обыкновенного окуня (*Perca fluviatilis* L.) // Биология внутренних вод. – СПб.: «Наука», 1994. – Вып. 96. – С. 54-58.
7. Правдин И. Ф. Руководство по изучению рыб. М.: Пищ. пром-ть, 1966. – 376 с.
8. Природные условия и ресурсы юга Центральной части Вологодской области. – Вологда, 1970. – 336 с.

THE ESPECIALLY OF FENOTIPYCAL COLOUR OF PERCH (*PERCA FLUVIATILIS* L.) IN THE BASINS OF VOLOGDA REGION

Tropin N. Y.

The article is devoted the problem study of especially of fenotipycal colour of perch in the basins of Vologda Region. Represented the characteristics of fenotipycal colour of perch of Lega and Vogeга rivers. Compare is meet the fens in the rivers of Vologda Region and lakes of the reservation of Darwin.

ЭПИЗООТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ФОРЕЛЕВОДЧЕСКИХ ХОЗЯЙСТВ ЮЖНОГО РЕГИОНА РОССИИ

Хотева Г.М., Моисеева Е.В.

Северо-Кавказский филиал ФГУП «Центральная производственная станция по акклиматизации и борьбе с болезнями рыб», г. Краснодар, Россия, e-mail: skfgupcps@mail.kubtelecom.ru, elenavkn@mail.ru

В условиях индустриальных товарных хозяйств Юга значительный ущерб отмечается от алиментарных заболеваний, связанных с использованием некачественных комбикормов, несбалансированных по основным питательным веществам и витаминам, окисленных, обсемененных спорами плесневых грибов, токсичных.

Наибольший экономический ущерб из бактериальных заболеваний наносят миксобактериозы (флавобактериозы), бактериальная геморрагическая септицемия (вызываемая вирулентными штаммами *Aeromonas hydrophila*), стрептококкоз.

Из микозов в южном регионе России зарегистрированы сапролегниоз, размягчение оболочек икры лососевых, глубокие висцеральные микозы, вызываемые грибами из родов *Phoma* и *Exophiala*.

На Юге России были зарегистрированы вспышки эпизоотий таких паразитарных заболеваний лососевых как костноз (ихтиободоз), триходиноз, ихтиофтириоз, гидроактилез (*Gyrodactylus thimaly*), протеоцефалез (*Proteocephalus neglectus*), помфоринхоз (*Pomphorhynchus laevis*).

В последние десятилетия в связи со стабилизацией экономической ситуации в Российской Федерации стало оправдано вложение капитала в товарное рыбоводство. Южный регион России обладает комплексом оптимальных природно-климатических и рекреационных условий для финансовых вложений в аквакультуру, в частности, в форелеводство. В результате, начало XXI века ознаменовало для товарного форелеводства южного региона не только расширение производственных мощностей и увеличение объемов получаемой продукции для хозяйств, построенных в «советский» период, но и появление новых перспективных предприятий с проектными объемами производства до 200 тонн товарной форели в год.

Товарное лососеводство юга России базируется на бассейновом методе выращивания форели с использованием воды глубинных скважин. Также функционируют хозяйства садкового типа и бассейнового с системой оборотного водоснабжения. Из разводимых видов лососевых рыб для товарного выращивания в основном используются разнопородные группы радужной форели («Камлоопс», «Адлер», «Августин», «Дональдсона», «Янтарная») с незначительной долей черноморского лосося и белорыбицы.

Уровень интенсификации производственных процессов и объем производства напрямую связаны как с количеством и чистотой воды, качеством кормов, так и в значительной мере обусловлены эпизоотическим благополучием хозяйства и его водоисточника.

На протяжении многих лет в южном регионе России сотрудниками Северо-Кавказского филиала ФГУП «Центральная производственная станция по акклиматизации и борьбе с болезнями рыб» проводится эпизоотический мониторинг большинства форелеводческих хозяйств Юга России и их водоисточников.

Отличаясь по структуре организации и условиям водозабора, рыбоводные предприятия сталкиваются с различными бактериальными, паразитарными и алиментарными заболеваниями рыб. Характерным отличием для рыбоводных хозяйств южного региона от северных районов являются проблемы связанные с дефицитом чистой воды, низким содержанием растворенного кислорода, интенсивным развитием условно-патогенной микрофлоры в воде, быстрым окислением комбикормов.

В условиях индустриальных товарных хозяйств Юга существенный ущерб отмечается от алиментарных заболеваний, вызываемых использованием некачественных комбикормов.

твенных комбикормов – несбалансированных по основным питательным веществам и витаминам, окисленных, обсемененных спорами плесневых грибов, токсичных.

Комбикорма для лососеводства отличаются большим содержанием жира с высокой долей полиненасыщенных жирных кислот, окисление которых приводит к образованию агрессивных перекисных соединений. Последние в свою очередь разрушают содержащиеся в комбикормах витамины, аминокислоты. При высоких летних температурах воздуха в складах, необорудованных системой кондиционирования, процесс окисления комбикорма ускоряется в 2-3 раза, что приводит к уменьшению гарантированных сроков хранения корма. Также повышенные температуры воздуха и влажность способствуют быстрому развитию в складах плесневых грибов, выделяющих в процессе жизнедеятельности токсичные для рыб вещества.

Кормление рыбы недоброкачественными комбикормами приводит, помимо острых кормовых токсикозов, к авитаминозу, снижению общей резистентности выращиваемых рыб и их большей восприимчивости к возбудителям инфекционных и инвазионных болезней. Особенно значительный ущерб некачественные комбикорма наносят молоди форели.

В настоящее время ни на одном из хозяйств южного региона в складах комбикормов не установлена система охлаждения воздуха и поддержания его в пределах 2-12 °С согласно ветеринарно-санитарных правил [1], что необходимо для гарантированного срока хранения комбикормов.

Из незаразных заболеваний, наносящих значительный экономический ущерб, следует выделить газопузырьковую болезнь и солнечный ожог, которые в основном представляют опасность для молоди рыб.

На фоне длительного воздействия на рыб стресс-факторов, таких как сильное органическое загрязнение, недостаток растворенного в воде кислорода, кормление окисленным или токсичным комбикормом, высокие плотности посадки, хэндлинг, разноразмерное содержания рыб, развиваются вторичные инфекции. В летний период с повышением температуры воды и возрастом пресинга условно-патогенной микрофлоры опасность инфекционных заболеваний в хозяйствах резко возрастает. Наибольший экономический ущерб из бактериальных заболеваний наносят миксобактериозы (флавобактериозы), бактериальная геморрагическая септицемия (вызываемая вирулентными штаммами *Aeromonas hydrophila*), стрептококкоз.

Стрептококкоз вызывает массовую гибель молоди черноморского лосося. Острые вспышки болезни регистрировались у сеголеток при температуре воды 9-10 °С. С ростом рыбы отход значительно уменьшается, зачастую прекращается.

Из грибковых заболеваний в южном регионе России зарегистрированы сапролегниоз, размягчение оболочек икры лососевых, глубокие висцеральные микозы, вызываемые грибами из родов *Phoma* и *Exophiala*. Первым двум заболеваниям подвержена икра всех видов лососевых рыб, факторами передачи для которых служит погибшая икра и недостаток растворенного в воде кислорода. С завозом на Кисловодское форелевое хозяйство белорыбицы возникло новое для региона заболевание – экзафиалез, вызываемый грибом рода *Exophiala*. Длительные наблюдения показали, что данный гриб не представляет опасности для радужной форели. Микроскопическим грибом из рода *Phoma* поражается молодь в основном янтарной форели, что, по нашему мнению, связано с преимущественным питанием этой породной группы радужной форели со дна бассейнов, где скапливаются споры грибов.

Вспышки эпизоотий паразитарных заболеваний характерны для форелеводческих хозяйств с водоснабжением поверхностными водами или функционировании на оборотной воде. На таких предприятиях были зарегистрированы костииоз (ихтиободоз), триходиниоз, ихтиофтириоз, гиродактилез, протеоцефалез радужной форели, помфоринхоз. Вспышки костииоза (ихтиободоз), триходиниоза, ихтиофтириоза регист-

рировались у молоди рыб. Гиродактилез, вызываемый *Gyrodactylus thimally*, регистрировался на всех возрастных группах радужной форели отдельных предприятий, имеющих контакт с форелью из естественных водоемов. Наличие оборотной системы водоснабжения в бассейнах создало условия для вспышки протеоцефалеза радужной форели, возбудителем которого явилась цестода *Proteocephalus neglectus*. Водоподача в выростные пруды из пруда-отстойника, где обитают гаммарусы, привело к возникновению помфоринхоза радужной форели, вызываемого скребены *Pomphorhynchus laevis*.

В южном регионе изучение вирусных инфекций проводилось только в племенном форелеводческом заводе «Адлер» (самом крупном поставщике икры и посадочного материала по России), где вирусных патогенов не выявлено. В остальных форелеводческих хозяйствах Юга России исследования на вирусоносительство не проводилось ввиду отсутствия клинических признаков, характерных для вирусных болезней.

Таким образом, необходимо отметить, что для повышения эффективности работы индустриальных форелевых хозяйств, расположенных на территории южного региона Российской Федерации требуется особо обращать внимание на:

- ухудшение качества воды в летний период в связи с усиленным кормлением рыбы;
- возрастание агрессивности условно-патогенной микрофлоры в воде с повышением температуры;
- сведение к минимуму стрессовых ситуаций для рыб при рыбоводных процессах;
- регулярный контроль за качеством воды и комбикормов;
- поддержание температурных границ воздуха в складских помещениях на уровне 2-12 °С. При невозможности - не допускать закупок комбикормов на срок более 3 месяцев.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб в 2-х томах. Т. 1. 310 с.

EPIZOOTIC MONITORING OF TROUT FARMING OF SOUTHERN REGION OF RUSSIA

Khoteva G.M., Moiseyeva E.V.

North-Caucasian affiliate of FSUE «Central production station on acclimatization and fish disease control», Krasnodar, skfeupcps@mail.kubtelecom.ru, elenavkn@mail.ru

In conditions of industrial fish-farming of Southern region of Russia the significant damage is marked from the alimentary diseases connected with use of poor-quality mixed fodders - unbalanced on the basic nutrients and the vitamins, oxidized, contamination by balls mold fungi, toxic.

Bacterial diseases mixobacteriosis, bacterial hemorrhagic septicaemia (caused virulent strain *Aeromonas hydrophila*), streptococcosis doing the greatest economic damage.

From mycosis in southern region are registered saprolegniosis, a softening of membranes of caviar salmon, deep the mycosises caused by fungi from genus *Phoma* and *Exophiala*

In the south of Russia have been registered eruption such parasitic diseases salmon as ichthyobodosis, trichodinosis, ichthyophthiriosis, gyrodactylosis (*Gyrodactylus thimally*), proteocephaljsis (*Proteocephalus neglectus*), pomphorhynchosis (*Pomphorhynchus laevis*).

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИХТИОПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЛЕЩА (*ABRAMIS BRAMA L.*) В РОССИЙСКОЙ АКВАТОРИИ КУРШСКОГО ЗАЛИВА БАЛТИЙСКОГО МОРЯ В 2004- 2006 ГГ

Н.Н. Чукалова

Атлантический научно- исследовательский институт рыбного хозяйства и
океанографии (АтлантНИРО), Калининград, Россия
e-mail: chuk_nn@rambler.ru

ВВЕДЕНИЕ

Куршский залив (юго- восточная часть Балтийского моря) служит важным рыбохозяйственным водоемом Калининградской области. Мониторинг болезней рыб в Куршском заливе проводится в АтлантНИРО с 1997 года. В данной работе представлены результаты ихтиопатологических исследований основного промышленного объекта водоема- леща (*Abramis brama L.*).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Отбор проб проводили в южной части Куршского залива в районе п. Лесное в разные сезоны 2004- 2006 годов. Рыба для исследований была взята из научных траловых и сетных уловов.

Бактериологический анализ кожи, раневого содержимого язв, жабр, крови, печени, почек, селезенки и содержимого заднего отдела кишечника рыб проводили методом десятикратных разведений по стандартным методикам [1]. Всего было обследовано 25 экз. клинически здоровых рыб и 25 особей леща с кожными язвами.

Паразитологический анализ осуществляли методом полного паразитологического вскрытия [2]. Видовая идентификация моногеней рода *Dactylogytus* не проводилась. Всего были исследованы 260 экз. леща, размерами 30,0- 60,0 см, весом 559- 1254 г. Для количественной оценки зараженности рыб были использованы следующие показатели: ЭИ (экстенсивность инвазии) – % зараженных рыб; ИИ ср. (средняя интенсивность инвазии)– среднее число паразитов у зараженных рыб; ИО (индекс обилия) – среднее число паразитов у обследованных рыб.

Визуальный осмотр как поверхности тела, так и внутренних органов рыб проводили непосредственно после вылова рыбы [3]. Всего были обследованы 4015 экз. леща. При внешнем осмотре рыб обращали внимание на окраску кожи, целостность покровов и плавников, количество слизи, состояние чешуйного покрова и глаз рыбы. При обследовании жабр учитывали их цвет, количество слизи, целостность и однородность жаберных лепестков, присутствие кровоизлияний, инородных включений, цист. При визуальном осмотре печени, селезенки и почек рыб обращали внимание на размер исследуемых органов, их цвет, консистенцию, однородность структуры, присутствие включений, цист. Отбор проб для гистологических исследований и дальнейший гистологический анализ проводили стандартными методами [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Микрофлора леща Куршского залива в 2004- 2006 гг была представлена 31 видом бактерий, принадлежащих к 12 родам: *Aeromonas* (3 вида), *Pseudomonas* (4), *Alcaligenes* (1), *Acinetobacter* (1), *Proteus* (3), *Enterobacter* (2), *Klebsiella* (1), *Esherichia* (1), *Citrobacter* (2), *Staphylococcus* (6), *Micrococcus* (3), *Bacillus* (4). Качественный и количественный состав микрофлоры рыб изменялся в зависимости от сезона исследований. В весенний сезон доминировали сапрофитные бактерии, летом и осенью- условно- патогенные микроорганизмы. Общее количество колониеобразующих мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) максимально осенью, минимально- весной.

У рыб с видимыми кожными повреждениями микроорганизмы были выделены из всех исследуемых органов, тогда как у клинически здоровых рыб- только из кожи,

жабр и кишечника. Качественный состав микробного пейзажа кожи, жабр и кишечника рыб с кожными язвами был сходен с таковым у клинически здоровых особей. Однако, доля сапрофитной микрофлоры в микробном пейзаже клинически здоровых рыб выше (в среднем 62,4% против 38,4%). Численность КМАФАнМ кожи ($1,4 \times 10^3 \pm 2,1 \times 10^1$ КОЕ/г), жабр ($2,2 \times 10^4 \pm 1,0 \times 10^2$ КОЕ/г) и кишечника ($6,0 \times 10^4 \pm 2,8 \times 10^3$ КОЕ/г) рыб с клинически здоровых рыб была ниже, чем у особей с кожными язвами ($3,4 \times 10^2 \pm 1,2 \times 10^1$ КОЕ/г, $2,1 \times 10^3 \pm 1,2 \times 10^2$ КОЕ/г и $3,0 \times 10^5 \pm 1,0 \times 10^2$ КОЕ/г соответственно).

Микрофлора раневого содержимого кожных язв, крови, печени, почек и селезенки леща представлена условно- патогенными бактериями родов *Pseudomonas*, *Aeromonas*, обладавшими патогенными свойствами, и представителями рода *Proteus*. Обнаружение высокопатогенных штаммов аэромонад и псевдомонад у леща с кожными язвами свидетельствует об их этиологической значимости в возникновении язвенных поражений кожи и морфопатологических изменений в печени, почках и селезенке больных рыб. Присутствие бактерий рода *Proteus* в язвах леща объясняется вторичной контаминацией ран этими микроорганизмами.

Фауна паразитов леща Куршского залива в 2004- 2006 году представлена 36 видами паразитов, принадлежащих к следующим систематическим группам: кокцидии (1 вид), микоспоридии (10), моногенеи (3), цестоды (4), трематоды (8), нематоды (5), пиявки (1), копеподы (3), моллюски (1) (таблица 1).

Таблица 1 - Паразитофауна леща Куршского залива в 2004- 2006 гг

№ п/п	Вид	ЭИ, %	ИИ ср., экз.	ИО, экз.
1	<i>Eimeria carpelli</i>	14,6	-	-
2	<i>Myxobolus pseudodispar</i>	19,9	-	-
3	<i>M.dispar</i>	9,3	-	-
4	<i>M.nemachili</i>	1,3	-	-
5	<i>M.bramae</i>	0,9	-	-
6	<i>M.muelleri</i>	1,3	-	-
7	<i>M.macrocapsularis</i>	0,9	-	-
8	<i>Myxidium rhodei</i>	6,2	-	-
9	<i>Thelohanellus pyriformis</i>	1,3	-	-
10	<i>Chloromyxum legeri</i>	1,3	-	-
11	<i>Myxobilatus legeri</i>	2,2	-	-
12	<i>Dactylogyrus sp.</i>	55,3	73,9	40,8
13	<i>Gyrodactylus elegans</i>	5,3	1,7	0,1
14	<i>Diplozoon paradoxum</i>	29,6	3,0	0,9
15	<i>Paradilepis scolecina pl.</i>	60,2	28,7	17,3
16	<i>Caryophyllus laticeps</i>	13,3	28,6	3,8
17	<i>C.fimbriceps</i>	0,4	1	0,004
18	<i>Ligula intestinalis pl.</i>	0,9	3,0	0,01
19	<i>Bucephalus polymorphus mtc.</i>	2,7	2,0	0,1
20	<i>Ichthyocotylurus plathycephalus mtc.</i>	38,9	10,3	4,0
21	<i>Tylodelphys clavata mtc.</i>	7,5	2,6	0,2
22	<i>Diplostomum spathaceum mtc.</i>	6,2	3,2	0,2
23	<i>Paracoenogonimus ovata mtc.</i>	5,3	3,9	0,2
24	<i>Apophalus müchleni mtc.</i>	1,3	11,7	0,2
25	<i>Posthodiplostomum cuticola mtc.</i>	21,7	4,2	0,9
26	<i>Spherostomum bramae</i>	1,3	1,0	0,0
27	<i>Goezia ascaroides l.</i>	14,6	2,5	0,4
28	<i>Hysterothylacium sp. l.</i>	10,2	1,4	0,1
29	<i>Contracaecum rudolphi l.</i>	59,3	14,0	8,3
30	<i>Raphidascaris acus l.</i>	12,8	2,4	0,3

№ п/п	Вид	ЭИ, %	ИИ ср., экз.	ИО, экз.
31	<i>Philometra abdominalis</i>	10,2	4,9	0,6
32	<i>Piscicola geometra</i>	2,7	4,5	0,1
33	<i>Tracheliastes maculatus</i>	7,1	2,6	0,2
34	<i>Argulus foliaceus</i>	0,9	1,0	0,0
35	<i>Ergasilus sieboldi</i>	44,7	5,8	2,6
36	Unionidae gen. sp. (glochidia)	5,3	3,1	0,2

Паразиты со сложным жизненным циклом составляли 70% фауны. Цестоды *Paradilepis scolecina* pl. и *Contracaecum rudolphii* l., впервые найденные в 2004 году, доминировали. У леща Куршского залива нами выявлен один вид, представляющий опасность для здоровья человека- трематоды *Apophalus muehlingi* mtc., однако показатели зараженности рыб этими гельминтами низкие. Выявлено пять видов паразитов, способных отрицательно влиять на товарные качества рыбной продукции: трематоды *Posthodiplostomum cuticola* mtc., цестоды *Ligula intestinalis* pl., нематоды *Philometra ovata*, ракообразные *Argulus foliaceus* и *Tracheliastes maculatus*.

Морфопатологические изменения кожи, позвоночника, глаз, жабр и внутренних органов были найдены у 79,0 % рыб. Из них поражения кожи отмечены у 69,8%, жабр- у 65,8%, печени- у 78,9%, почек- у 57,9% рыб. На коже леща были зарегистрированы покраснения (19,3%), точечные кровоизлияния (17,4%), симптомы «чернопятнистого заболевания» (40,6%), эпидермальные гиперплазии (34,8%), кожные эпителиомы (7,6%), язвенные поражения (7,4%) и ерошение чешуи (2,9%). Встречаемость заболеваний глаз (экзофтальм и катаракта хрусталика) и скелетных деформаций у леща также была невысокой (менее 3,0%). Среди морфопатологических изменений жабр преобладали ослизнение и бледность окраски. В печени рыб отмечены бледность окраски, мозаичность, разжижение консистенции и увеличение размеров органа. В почках рыб зарегистрированы изменения структуры, увеличение или уменьшение размеров и бледность окраски органа.

Гистологические исследования позволили установить присутствие патологических процессов в морфологически измененных жабрах и в паренхиматозных органах леща. В жаберной ткани были отмечены отек, потеря респираторного эпителия и обширная лейкоцитарная инфильтрация. Дистрофические изменения в гепатоцитах, дисконкомплексация печеночных балок и присутствие включений гемосидерина найдены в печени рыб. В почках обнаружены гиалиноз крупных сосудов, разрастание соединительной ткани среди гемопоэтической паренхимы, гиперплазия и дистрофия канальцевого эпителия. При гистологических исследованиях кожных эпителиом и эпидермальных гиперплазий в пораженных тканях были найдены включения вирусной этиологии.

ОБСУЖДЕНИЕ

Микрофлора леща Куршского залива представлена сапрофитными и условно-патогенными микроорганизмами. Представители сапрофитной микрофлоры населяют воду и грунты водоемов и служат обязательными компонентами микробного пейзажа рыб. Присутствие же условно- патогенных микроорганизмов на коже, жабрах и в кишечнике клинически здоровых особей указывает на их потенциальную опасность для рыб. Обнаружение этих микроорганизмов в раневом содержимом кожных язв, а также в крови и паренхиматозных органах леща с кожными язвами подтверждает наше предположение. Выявление бактерий семейства Enterobacteriaceae в микробном пейзаже кожи, жабр и в кишечника клинически здоровых рыб и особей с кожными язвами свидетельствует о неблагоприятной санитарно- микробиологической ситуации в Куршском заливе.

В 50-е годы прошлого века в фауне паразитов леща Куршского залива доминировали моногены *Diplozoon paradoxus* и копеподы *Ergasilus sieboldi* [5]. В

настоящее время наибольшие показатели зараженности рыб отмечены для цестод *Paradilepis scolecina* pl. и нематод *Contracaecum rudolphii* 1, впервые обнаруженных в 2004 году [6]. Появление этих гельминтов у леща Куршского залива, очевидно, связано со значительным увеличением численности бакланов, окончательных хозяев этих паразитов, на побережье водоема [7].

Морфопатологические процессы, обнаруженные нами как на поверхности тела так и в паренхиматозных органах леща Куршского залива могут быть вызваны несколькими причинами. Так, эпидермальные гиперплазии и кожные эпителиомы, очевидно, носят вирусный характер, о чем свидетельствует наличие вирусных включений в пораженных тканях рыб. Бактериальная природа язвенных поражений кожи и морфопатологических изменений в паренхиматозных органах рыб с кожными язвами была установлена. Паразитарная природа «чернопятнистого заболевания» леща и точечных кровоизлияний на коже рыб была подтверждена ранее [8,9]. Однако, этиология покраснений кожи, ерошения чешуи, скелетных деформаций, морфопатологических изменений жабр, печени, почек и селезенки рыб все еще не изучена. Одной из причин появления этих патологических процессов у леща Куршского залива может служить неудовлетворительная экологическая обстановка в водоеме. Известно, что в Куршском заливе наблюдаются ежегодные «цветения» воды, вызванные токсичными синезелеными водорослями *Aphanizomenon flos-aquae* и *Microcystis aeruginosa*, в результате которых значительно ухудшаются гидрохимические показатели воды [10]. С одной стороны, неудовлетворительные параметры воды залива способствуют снижению иммунитета рыб, повышая их восприимчивость к инфекционным и инвазионным заболеваниям. С другой стороны, патогенное влияние токсинов вышеназванных водорослей хорошо известно [11]. Обнаруженные нами макроскопические и гистологические изменения в жабрах и паренхиматозных органах у леща схожи с симптомами поражения рыб альготоксинами, что указывает на возможную токсическую природу морфопатологических изменений в коже, жабрах и паренхиматозных органах рыб. Наше предположение косвенно подтверждает рост заболеваемости леща в годы интенсивного «цветения» водоема [12].

Заключение

Таким образом, исследования, проведенные в 2004- 2006 годах позволили оценить заболеваемость леща в Российской акватории Куршского залива, определить качественный и количественный состав микрофлоры кожи, жабр, крови, паренхиматозных органов рыб, изучить паразитофауну рыб, выявить гельминтов, представляющих опасность для здоровья человека и негативно влияющих на товарные качества рыбной. Полученные данные могут быть использованы для оценки эпизоотологической и экологической обстановки в Куршском заливе.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает глубокую признательность своим коллегам старшему научному сотруднику, к.б.н. О.А. Шухгалтер, инженеру И.А. Гулько за помощь в сборе материала, доценту кафедры ихтиопатологии и гидробиологии, к.б.н. Е.В. Авдесовой- за предоставление материалов и оборудования для проведения микробиологических исследований, врачу межрайонной городской больницы О.И. Ваткевич- за гистологическую обработку материала и заведующей сектора паразитологии АтлантНИРО, к.б.н. Г.Н. Родюк- за обсуждение результатов работы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лабораторный практикум по болезням рыб /В.А. Мусселиус, В.Ф. Ванятинский, А.А. Вихман; под ред. В.А. Мусселиус.- М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983.- 296 с.
2. Быховская-Павловская И.Е. Паразиты рыб. Руководство по изучению.-Л.:Наука, 1985.-118 с.

3. Оценка благополучия рыбной части сообщества по результатам морфопатологического анализа рыб/Ю.С. Решетников, О.А. Попова, Н.А. Кашулин и др. // Успехи современной биологии.-1999.-Т. 119, № 2, с.165-177.
4. Волкова О.В., Елецкий Ю.К. Основы гистологии с гистологической техникой.-Л: Медицина, 1982.-320с.
5. Вершинина К.Б. К изучению паразитофауны основных промысловых рыб Куршского залива // Труды КТИРПиХ: сб. науч. тр.- Калининград, 1968. - Вып. XX. - С. 112-120.
6. Chukalova N. Parasites and parasitic diseases of bream (*Abramis brama* L) from the Curonian Lagoon in 2004//Bull. of the Scandinavian- Baltic Society for Parasitology.-2005.-Vol.14.-P.42-43
7. Нигматуллин И.Ч. Экологическая группа «ГИД». Годовой отчет за январь-декабрь 2005.-Калининград, 2005.-28с.
8. Schukhgalter O. A., Chukalova N.N. Some results of investigation of "black spot" disease of bream (*Abramis brama* L.) from the Curonian Lagoon (the South- East part of the Baltic Sea)//Bull. of the Europ. Assoc. of Fish Pathologists.-2002-V.22(1).-P.218-221.
9. Шухгалтер О.А., Гулько И.А. О зараженности *Tracheliastes maculatus* Kollar, 1836 (Сорепода: Lernaepodidae) леща в Куршском заливе (юго- восточная часть Балтийского моря)//Паразитология и паразитарные системы морских организмов: тезисы докладов 3 Всерос. Школы по морской биологии.-Мурманск, 2004.-С.71-72.
10. Дмитриева, О.А. «Цветение» синезеленых водорослей как показатель эвтрофирования Куршского залива//Озерные экосистемы: биологические процессы, антропогенная трансформация, качество воды: материалы II Междунар. науч. конф., Минск: Изд-во БГУ, 2003.-С.246-249.
11. Swierczynski M., Czerniawska I. Impact of blue- greens from genera of *Microcystis* on some aquatic animals//Acta ichthyologica et piscatoria.-1992.-Vol. XXII, Fasc.2.-P.169-178.
12. Чукалова Н.Н., Шухгалтер О.А., Родюк Г.Н., Старовойтов В.К. Результаты многолетнего мониторинга болезней леща (*Abramis brama* L.) Куршского залива (юго-восточная часть Балтийского моря)//Инновации в науке и образовании: сб. трудов научной конференции.-Калининград, 2006.-Ч.1.-С.137-139.

THE MAIN RESULTS OF ICHTHYOPATHOLOGICAL RESEARCHES OF BREAM (*ABRAMIS BRAMA* L.) IN THE RUSSIAN PART OF THE CURONIAN LAGOON (THE BALTIC SEA) IN 2004-2006

N.N. Chukalova

Atlantic Research Institute of Marine Fisheries and Oceanography (AtlantNIRO), Kaliningrad, Russia, -mail: chuk_nn@rambler.ru

Totally 4015 specimens of bream (*Abramis brama* L.) caught in Russian part of the Curonian Lagoon were examined with standard bacteriological, parasitological and morphopatological methods in different seasons of 2004-2006. Microflora composition and quantitative parameters of skin, skin ulcers, gill, blood, liver, spleen, kidney and intestine of visually healthy fish and bream with skin ulcers were detected in different seasons. Etiological significance of bacteria from *Aeromonas* and *Pseudomonas* genera in appearance of skin lesions was shown. Totally 31 species from 9 systematic groups were found out in bream parasite fauna. Parasites with complex life cycle were dominated. Cestodes *Paradilepis scilecina* pl. and nematodes *Contracaecum rudolphii* l. firstly detected in bream in 2004 were most abundant. Pathogenic for human health trematodes *Apophalis muehlingi* mtc. were marked in bream muscles rare (P=1,3%, A=0,2 sp.). Morphopathological changes were found out on skin (69,8%), in gill (65,8%), liver (78,9%) and kidney (57,9%) of bream. Total prevalence of diseased fish was 79,0%. Etiologies of external and internal damages were discussed. This work is a part of annual monitoring researches of fish diseases in the Curonian Lagoon. The results of these studies can be used for assessment of epizooptical and ecological situations in the reservoir.

ИНТЕГРАЛЬНАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ГИДРОБИОНТОВ МЕТОДОМ МИКРОКАЛОРИМЕТРИИ

Шайда В.Г., Руднева И.И.

Институт биологии южных морей НАН Украины, Севастополь, Украина, e-mail: svgs@biox.iuf.net

Состояние гидробионтов определяется качеством среды их обитания, для оценки которого необходимы быстрые, хорошо воспроизводимые и адекватные методы тестирования. Существующие способы анализа содержания химических, физических и биологических загрязнителей основаны на длительных и дорогостоящих методах, требующих наличия специальной технической базы, состоящей из комплекса приборов и реагентов, специального оборудования и обученного персонала, что не всегда возможно осуществить централизованно. Кроме того, получаемые в этом случае данные, как правило, сравнивают с предельно допустимыми нормативами (ПДК и ПДС), что не отражает истинной опасности среды для живых организмов. В связи с этим все большую популярность приобретают методы биотестирования, то есть исследование ответных реакций различных живых организмов на действие токсических веществ или их смесей.

В биотестировании используются различные биохимические, физиологические, гистологические, морфологические и популяционные показатели, которые, однако, не всегда четко выражены и имеют одинаковую направленность (Руднева и др., 2004б; Goksoy et al., 1996). Их вектор во многом зависит от концентрации действующего фактора, времени и физиологического состояния организма. Следует учитывать также, что большинство указанных параметров возможно определить только после гибели животных, что вносит дополнительный стрессовый фактор. В связи с этим особую значимость приобретают такие тест-системы, которые позволяют оценить среду обитания организма прижизненно в течение достаточно короткого времени, не травмируя тест-объект.

Для этих целей существует ряд способов: респирометрия, анализ поведенческих реакций, выживаемости и т.д. Одним из наиболее чувствительных методов является микрокалориметрия, позволяющая прижизненно с высокой точностью измерить общий метаболизм организма и его изменения при действии неблагоприятных факторов. Однако в этом случае важно подобрать соответствующий тест-объект, который мог бы комфортно существовать в течение заданного времени в небольшом объеме воды и при этом отреагировать на действие стрессора. В качестве тест-объектов в основном используются микроводоросли, ракообразные (артемия, дафния), икра и личинки рыб (Руднева, Шайда 2000; Руднева и др., 2003, 2004а; Penttinen et al., 1996). Нами был предложен способ анализа качества морской среды с помощью микрокалориметрии с использованием в качестве тест-объекта личинок атерины *Atherina hepsetus* – широко распространенного в прибрежной части Черного моря вида (Руднева и др., 2006). В дальнейшем интерес представляло применить данный метод для оценки состояния других гидробионтов, в том числе повсеместно распространенных и используемых в аквакультуре.

На этом основании целью настоящей работы явилось проведение интегральной оценки токсичности водной среды, содержащей широко применяемые в Крыму пестициды купроксат и цифоз в разных концентрациях, с использованием науплиусов артемии в их прижизненном состоянии. Для этого измеряли показатели теплопродукции, отражающей состояние общей метаболической активности организма.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Цисты артемии *Artemia salina*, собранные в Сакском озере (Крым, Украина), в количестве 50-100 экземпляров помещали в ампулы с 2 мл терильной морской воды, содержащей пестициды цифоз и купроксат в концентрациях 0.625, 1.25 и 2.5 мг/л. В контрольном варианте анализировали цисты артемии в тех же количествах в

стерильной морской воде без токсикантов. Исследовали теплопродукцию выклева науплиусов артемии в течение 50 часов при температуре +20⁰ С на Мониторе биологической активности БАМ 2277. В опытных группах измерения проводили против стерильной морской воды с растворенными в ней пестицидами в тех же концентрациях, в контрольной – против воды без пестицидов. Расчет теплопродукции вели в мкВт/науплиус с помощью специально адаптированной компьютерной программы. В каждом случае эксперимент проводили в 3-4 повторностях. Статистическую обработку результатов осуществляли по Лакину (1973). Уравнения регрессии и коэффициенты корреляции r рассчитывали помощью компьютерной программы "CURFVIT".

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты исследований позволили установить существенное снижение теплопродукции выклюнувшихся науплиусов артемии в среде, содержащей пестициды (Табл. 1).

Таблица 1. Теплопродукция выклюнувшихся науплиусов артемии в среде, содержащей купроксат и цифоз ($M \pm m$)

Концентрация пестицидов, мг/л	Купроксат	Цифоз
Контроль	1.05 \pm 0.05	1.05 \pm 0.05
0.625	0.45 \pm 0.05	0.75 \pm 0.04
1.25	0.45 \pm 0.05	0.32 \pm 0.05
2.50	0.25 \pm 0.01	0.38 \pm 0.05

Сравнительный анализ действия двух пестицидов на теплопродукцию личинок позволяет заключить, что при наличии цифоза в среде резкое снижение теплопродукции (в 2 раза по сравнению с предшествующим значением) происходит при концентрации 1.25 мг/л и остается на этом уровне при увеличении уровня токсиканта в 2 раза. Динамика токсического действия купроксата на изменение теплопродукции науплиусов несколько иная и характеризуется достоверным снижением уже при минимальной концентрации, остается без изменения при увеличении содержания пестицида в 2 раза, но резко падает при 2.50 мг/л.

В дальнейшем интерес представляло рассчитать уравнения регрессии зависимости доза-эффект в обоих случаях (Табл. 2). Из приведенных данных можно видеть, что имеется сходство в уравнениях зависимости значений теплопродукции науплиусов артемии от концентрации обоих пестицидов. При этом для двух групп отмечена средняя корреляция с одинаковым значениям $r=0.57$.

Таблица 2. Уравнения зависимости доза-эффект для показателей теплопродукции науплиусов артемии, выклюнувшихся в среде с пестицидами

Пестицид	Уравнение	Коэффициент корреляции r
Купроксат	$Y = 0.85 - 0.27X$	0.57
Цифоз	$Y = 0.92 - 0.27X$	0.57

Полученные данные свидетельствуют о наличии сходного токсического отклика у личинок артемии на действие обоих пестицидов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Таким образом, результаты исследований позволили установить достоверное снижение теплопродукции личинок артемии при действии обоих пестицидов. Следует отметить, что данные агрохимикаты широко применяются на юге России и Украины. Цифоз относится к группе инсектицидов и представляет собой смесь фосфорорганических компонентов, купроксат – фунгицид, состоящий из суспензии мелкозернистого трехосновного сульфата меди. Оба пестицида в исследуемых концентрациях не вызывают в острых токсических эффектов, что было отмечено нами ранее (Руднева и др., 2004 в.г; 2005). В то же время при действии пестицидов происходят определенные сдвиги в активности антиоксидантных ферментов, что в большей степени выражено при действии на личинок артемии цифоза нежели купроксата. Это свидетельствует о развитии интоксикации у гидробионтов, что сопровождается выраженным окислительным стрессом, индуцирующим активность ферментной антиоксидантной системы.

Установленная в наших исследованиях однотипная ответная реакция, выражающаяся в снижении теплопродукции, может характеризовать универсальность отклика личинок на действие токсикантов, содержащихся в среде. В этом случае происходит изменение общего метаболизма организма, обусловленного разобщением процессов генерации и утилизации энергии. Подобные эффекты были обнаружены нами у личинок рыб при действии различных токсикантов, широко распространенных в морской среде и представляющих реальную экологическую опасность для гидробионтов, что легло в основу предложенного способа биотестирования морской среды (Руднева и др., 2006).

Следует особо отметить наличие средней корреляции и одинаковых значений $r=0.57$, характеризующих взаимосвязь доза – эффект. Совершенно очевидно, что увеличение концентрации пестицидов в обоих случаях приводит к подавлению теплопродукции, что свидетельствует о значительных нарушениях общего метаболизма организма. Учитывая широкое распространение артемии, легкость культивирования и содержания в лабораторных условиях, использование метода микрокалориметрии представляется весьма перспективным для оценки качества водной среды с использованием данного тест-объекта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1973. 343 с.
- Руднева И.И., Шайда В.Г. Исследование теплопродукции раннего онтогенеза гидробионтов в норме и при действии токсикантов//Микрокалориметрические исследования в морской биологии. Севастополь. 2000. С. 139-157.
- Руднева И.И., Залевская И.Н., Шайда В.Г. Действие полихлорированных бифенилов на личинок атерины *Atherina hepsetus* // Вопросы ихтиологии. 2003. Т.43, № 2. С. 272-276.
- Руднева И.И., Залевская И.Н. Личинки атерины *Atherina hepsetus* L) как биоиндикаторы загрязнения прибрежных акваторий Черного моря // Экология. 2004а № 2. С. 1-5.
- Руднева И.И., Шевченко Н.Ф., Овен Л.С., Залевская И.Н., Скуратовская Е.Н. Комплексная оценка качества водной среды с помощью биомаркеров разного уровня. В кн.: Актуальные проблемы водной токсикологии. Борок, 2004б. С. 124-148.
- Руднева И.И., Шайда В.Г., Кузьмина Н.С., Куцюруба И.Э. Анализ токсичности цифоза с использованием науплиусов артемии *Artemia salina*. Агроэкологический журнал, 2004в, 3, С. 57-62.
- Руднева И.И., Шайда В.Г., Кузьмина Н.С. Действие фунгицида купроксата на теплопродукцию личинок гидробионтов. Агроэкологический журнал, 2004г, 3, С. 81-82

Руднева И.И., Шайда В.Г., Кузьминова Н.С., Куцюруба И.Э. *Artemia salina* как тест-объект для оценки токсичности фунгицида купроксата // Биология внутренних вод. 2005. № 3. С. 104-109.

Руднева И.И., Шайда В.Г., Кузьминова Н.С. Способ биологической оценки морской среды. Заявка № 2005 03910 от 25.04.2005. Полож. реш. от 27.12.2006

Goksoyut, A., Beyer, J., Egas, E., Grosvik, B.E., Hylland, K., Sandvik, M., Skaare, J.U. Biomarker responses in flounder (*Platichthys flesus*) and their use in pollution monitoring. Marine Pollution Bulletin 1996. V 33. P. 36-45.

Penttinen O.P., Kukkonen J., Pellinen J. Preliminary study to compare body residues and sublethal energetic responses in benthic invertebrates exposed to sediment-bound 2,4,5-trichlorophenol // Environ. Toxicol. Chhem. 1996. V.15, № 2. P. 160-166.

GENERAL EVALUATION OF AQUATIC ORGANISM STATUS BY MICROCALORIMETRIC METHOD

Shaida V.G., Rudneva I.I.,

*Institute of the biology of the Southern Seas National Ukrainian Academy of sciences,
Sevastopol, Ukraine, e-mail: svg@bios.iuf.net

Effects of pesticides cuproksat and cyfoz on heat production of *Artemia salina* nauplia containing from Crimean cyst strain (Lake Sakscoe) were studied. The obtained results showed the significant decrease of heat production in both group. The medium correlation ($r=0.57$) between pesticides concentration (0.625, 1.25 and 2.5 mg per l) and nauplia heat production was demonstrated. The possibilities of the microcalorimetry method application the marine environment evaluation is discussed.

USING ARTEMIA AS BIOLOGICAL CAPSULE FOR AQUACULTURE PURPOSE

A. Eimanifar¹, S. Rezvani², and M. Y. Yahyazadeh³

¹Iranian Artemia Research Center (IARC), P.O. Box: 57135-1367 Urmia, Iran email: amineimanifar@yahoo.com

²Iranian Fisheries Research Organization (IFRO), P.O. Box: 14155-6116 Tehran, Iran

³Iranian Artemia Research Center (IARC), P.O. Box: 57135-368 Urmia, Iran

Urmia Lake, 37° 30' N, 46° 0' E, with a surface area between 4750 and 6100 Km² at its historic high elevation is one of the largest salt lake in the world. It's located at Northwest of Iran which surrounded by mountains around the lake. Urmia lake includes 102 different islands (260 km²) where various wild-animal populations are living their which bring us interesting topic to investigate the life-cycle changes and growth development. Urmia lake with capability of salt production has important role in fisheries management of different aquatic animals due to existence of a valuable tiny filter-feeding animal "*Artemia urmiana*" which is living only at hypersaline environment. It's approved that multiple populations (genetic stocks) are there at the entire of Urmia lake (Eimanifar et al., 2006) which maybe different in term of nutritional value, too. This organism has two mode of reproduction including oviparously and ovoviviparously produces cysts (encysted gastrula embryos) and free-swimming nauplii which both of produced products can be widely used as food source for crustaceans and fish. Nauplii of *Artemia* are an important life feed in the aquaculture of fish and crustaceans. Adults are considered a luxury food on account of their cost (Sorgeloos, 1980). Moreover, decapsulated *Artemia* cysts maybe used as a direct food source to meet the nutritional requirements for marine fish and shrimp larvae (Leger, et al., 1986).

In recent years, considerable progress has been made in improving its value as a larval diet for marine fish larvae. Among investigated improvements, bioencapsulating of specific amounts of Vitamins (Noshirvani, et al., 2006), Antibiotics (Yahyazadeh et al., 2007; Cook & Rust, 2002), Hormones (Stewart et al., 2001), Pigments and other necessary nutritional elements such as n3 HUFAs in the *Artemia* products have provided fundamental requirements of fish-culturing systems for fish-farmers at the world. Additionally, *Artemia* with some manipulation can be utilized as carrier for various nutritional, prophylactic and therapeutic components to cultured predators (Leger et al., 1987). This paper was aimed to express various advantages of *Artemia* as biological capsule called *Artemia* enrichment (boosting) in aquaculture industry near Urmia Lake, Iran. Briefly, we can conclude that, *Artemia* boosting has major impact on larviculture output, with increasing growth, survival, quality and especially stress-resistance ability of fish. Furthermore, it causes to decrease malformation and protection of fish species against different bacterial diseases through vaccination.

REFERENCES

- Eimanifar, A., S. Rezvani, J. Carapetian, 2006. Genetic differentiation of *Artemia urmiana* from various ecological populations of Urmia Lake assessed by PCR amplified RFLP analysis. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 333(2), 275-285.
- Cook, M. A., M. B. Rust, 2002. Bioencapsulation of five forms of erythromycin by adult *Artemia salina* (L.). *Journal of Fish Diseases*, 25: 165-170.
- Leger, P., D. A. Bengtson, P. Sorgeloos, K. L. Simpson, A. D. Beck, 1987. The nutritional value of *Artemia*: a review. In: P. Sorgeloos, D. A. Bengtson, W. Declair, E. Jaspers (eds). *Artemia Research and its Application*, vol. 3. Universa Press, Wetteren, Belgium, 356-372.
- Leger, P., P. A. Bengtson, K. L. Simpson, P. Sorgeloos, 1986. The use and nutritional value of *Artemia* as a food source. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 24: 521-623.
- Noshirvani, M., A. Gh. Takami, A. Rassouli, S. Bokaei, 2006. The stability of ascorbic acid in *Artemia urmiana* following enrichment and subsequent starvation. *J. Appl. Ichthyol.*, 22: 85-88.
- Sorgeloos, P., 1980. The use of brine shrimp *Artemia* in aquaculture. In: *The Brine Shrimp Artemia*. Vol. 3. Ecology, culturing, use in aquaculture. Universa Press. Wetteren, Belgium, 3: 25-46.
- Stewart, A. B., A. V. Spicer, E. K. Inskeep, R. A. Dailey, 2001. Steroid hormone enrichment of *Artemia* nauplii. *Aquaculture*, 202: 177-181.
- Yahyazadeh, M., A. Eimanifar, W. Camargo, M. Soltani, 2007. The Use of Oxolinic Acid to Enrich *Artemia urmiana* (Günther, 1899) from Urmia Lake, Iran. *Research Journal of Biological Sciences* (In press).

ЧАСТЬ 3. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ, ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ, ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПАТОЛОГИИ В ЕСТЕСТВЕННЫХ И УПРАВЛЯЕМЫХ ЭКОСИСТЕМАХ.

ИЗУЧЕНИЕ РЕГЕНЕРАЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ И НЕКОТОРЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ОЛИГОХЕТ ENCHYTRAEUS ALBIDUS ПОД ВЛИЯНИЕМ РТУТЬОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ, ПОСТУПАЮЩИХ С КОРМОМ

Аксенова И.А.

Институт Биологии Внутренних Вод им. Папанина РАН, 152742, п.Борок, Некоузский р-н, Россия, E-mail: aksir@mail.ru.

Среди донных беспозвоночных пресных водоемов олигохеты занимают одно из первых мест по значению в водных экосистемах. Благодаря массовому развитию и частому доминированию в составе бентоса как по численности, так и по образуемой биомассе они играют огромную роль в продукционных процессах водоемов. Обладая ценными питательными свойствами, малощетинковые черви представляют важный кормовой ресурс для многих бентософагов и перспективный объект рыбоводства [1]. В настоящее время в виду развития индустриальной промышленности остается актуальной проблема антропогенного загрязнения водоемов тяжелыми металлами, что негативно сказывается на их обитателях. Среди тяжелых металлов особое место занимает ртуть, обладающая наибольшей токсичностью [2]. Основной путь попадания ртути в водные экосистемы - сбросы сточных вод в виде гомогенных и коллоидных растворов и взвесей. Количество антропогенной ртути, поступающей в поверхностные водные экосистемы, составляет 57 тыс. т., что в 10 раз превышает поступление из природных источников [3]. При ПДК для поверхностных вод 0,0005 мг/л концентрация растворенной ртути в природных водах варьируют от наногаммов до микрограммов в литре (для незагрязненных водных экосистем менее 1 мкг/л). В водоемах неорганические соединения ртути в процессе бактериальной метилирования переходят в органические [4]. Таким образом, основной формой ртути в водоеме являются не минеральные комплексы, а алкилпроизводные. Проходя по трофическим сетям водоема, ртутьорганические соединения накапливаются, оказывая генотоксическое, гонадотропное, тератогенное и нейротоксическое действие. Наиболее опасной является метилированная форма ртути, составляющая более 90% всех ртутьорганических соединений в тканях гидробионтов [2]. Исследования по влиянию ртутьорганических соединений на физиологические функции беспозвоночных немногочисленны. Олигохеты являются удобным объектом для экспериментальных физиологических исследований, обладая высокой регенерационной способностью и неприхотливостью к условиям культивирования. Координирующая роль в восстановительных процессах принадлежит нервной системе [5], наиболее уязвимой токсическому действию метилртути. При формировании регенерационной почки в раневой зоне повышается содержание литических ферментов [6], среди которых наибольший интерес представляет КФ в виду ее широкого спектра функций. Таким образом на молекулярном уровне токсический эффект возможно оценить при помощи исследования ММФ и удельной активности КФ, а также состава белка в экстрактах тел олигохет.

Для эксперимента использовали лабораторную культуру олигохет *Enchytraeus albidus*, которых содержали в емкостях с прокаленной садовой землей. Источником ртути служил фарш с высоким (0,3 - 0,5 мкг/г сырого веса) и низким (0,02 - 0,07

мкг/г) содержанием ртутьорганических соединений, приготовленный из мышечной ткани рыб, отловленных в Рыбинском водохранилище. Два раза в неделю в емкости с червями вносили по два грамма фарша. Кумуляция ртути происходила в цепи: мышечная ткань рыб – бактерии – олигохеты, в течение 1, 6 и 9 месяцев. Для изучения восстановительных процессов у *E. albidus* отсекали передний фрагмент после пояска [6]. Операцию производили стерильным хирургическим лезвием с помощью бинокулярной лупы. Наблюдение за восстановлением недостающих участков у головных и хвостовых фрагментов проводили каждый день с помощью бинокуляра. Анализ ртути проводили методом атомной абсорбции холодного пара с использованием резонансной линии 237,7 нм на анализаторе ртути Юлиа-5К (НПО "Метрология", Казань). Биологический материал со стандартным содержанием ртути Допп-2 был получен из Канадского института биологической химии. Количество общего белка определяли по методу Бредтфорда [7]. Разделение белков вели с помощью электрофореза в ПААГе [8,9]. Удельную активность кислых фосфатаз определяли методом Бессея с *p*-нитрофенилфосфатом [7]. Достоверность различий определяли в соответствии с критерием ANOVA [10].

К началу эксперимента содержание ртути в телах олигохет составило 0.02-0.04 и 0,3-0,5 после 1 месяца экспозиции; 0,03 и 0,35 мкг/г сырого веса после 6 месяцев экспозиции (для групп животных с низким и высоким содержанием металла соответственно). Формирование регенерата у *E. albidus* после 1 месяца экспозиции началось на 3-й день после операции. На данной стадии эксперимента различия в образовании ларвальных и хвостовых сегментов между группами олигохет с низким и высоким содержанием ртути недостоверны. Но если головные фрагменты регенерировали практически с одинаковой интенсивностью, то восстановление хвостовых участков протекало с меньшей интенсивностью у животных с высоким содержанием металла. Формирование регенерата у *E. albidus* после 6 месяцев экспозиции началось также на 3-и сутки после операции. Длина регенерационной почки головных фрагментов на данном этапе эксперимента достоверно отличалась у животных с низким и высоким содержанием ртути. В дальнейшем – различия были не достоверны. Для хвостовых фрагментов достоверные различия наблюдались с 6 по 10-е сутки эксперимента. Появление члеников началось на 6 сутки. Формирование регенерата у *E. albidus* после 9 месяцев экспозиции началось на 5 сутки, как для головных, так и для хвостовых фрагментов. Различия между длиной регенерата у животных с низким и высоким содержанием ртути на данном этапе эксперимента были не достоверны. Появление члеников началось на 8-е сутки у животных из группы с низким содержанием ртутьорганических соединений и на 11-е – с высоким. Формирование фрагментов полностью завершилось на 14-е сутки. Достоверные отличия между длиной регенерата у животных с низким и с высоким содержанием металла наблюдались с 11 по 14 сутки эксперимента. На протяжении всего опыта наблюдалась меньшая интенсивность регенерации в группах животных с высоким содержанием металла по сравнению с животными из группы с низким содержанием ртутьорганических соединений.

При определении общего количества белка методом Бредтфорда наблюдалось его повышение с 7.7 до 9.2 мг/л в экстрактах тел *E. albidus* после 1 мес. кумуляции ртути, снижение концентрации белка с 23.8 до 17.4 мг/л в экстрактах тел *E. albidus* после 6 мес. и с 9.7 до 8.5 мг/л в экстрактах тел *E. albidus* после 9 мес. накопления металла.

При разделении множественных молекулярных форм кислых фосфатаз методом энзимэлектрофореза в ПААГе в экстрактах тел *E. albidus* после 1 мес. экспозиции с низким содержанием ртути обнаружено четыре фракции кислой фосфатазы: две интенсивно окрашенные (ОЭП: 0,04; 0,11) и две – слабо окрашенные (ОЭП: 0,44; 0,73). В опытных вариантах экстрактов тел *E. albidus* в спектре кислой фосфатазы наблюдаются три фракции фермента: две интенсивно окрашенные (ОЭП: 0,06; 0,12) и

одна слабо окрашенная (ОЭП: 0,71). В экстрактах тел *E.albidus* после 6 мес. экспозиции с низким содержанием ртути имеется 3 фракции кислой фосфатазы с ОЭП 0,15, 0,19, 0,32. В экстрактах тел олигохет с высоким содержанием металла наблюдается исчезновение двух последних фракций и наличие первой – более интенсивно выраженной. При разделении кислых фосфатаз в экстрактах тел *E.albidus* после 9 мес. кумуляции ртутьорганических соединений для каждой из групп была обнаружена своя фракция фермента. Для группы с низким содержанием ртути ОЭП фракции равна 0,14, тогда как для группы с высоким содержанием ртути она составила 0,25. При этом интенсивность окраски фракций между группами не различалась.

Согласно полученным данным активность кислой фосфатазы в экстрактах тел *E. albidus* после 1 мес. экспозиции в группе с низким содержанием ртути равна 0,026, а в группе с высоким содержанием – 0,0125. После 6 мес. содержания в культуре *E. albidus* – она составила 0,06 и 0,03 для животных с низким и высоким содержанием ртути соответственно. Активность кислой фосфатазы после 9 мес. экспозиции в экстрактах тел олигохет из группы с низким содержанием ртути почти втрое выше по сравнению с данным показателем для группы с высоким содержанием металла. Значения показателя соответственно равны 0,07 и 0,22.

В ходе регенерации олигохет резервные клетки пролиферируют и мигрируют в область формирования регенерационной почки [6]. На четвертый-пятый день формируется новый ганглий, и включаются нервные механизмы управления морфогенезом [5]. Это проявляется в наиболее выраженном подъеме регенерационной кривой у исследованных олигохет. Под влиянием ртутьорганических соединений описанное выше явление для животных с низким содержанием металла начинается на 9-е и достигает своего максимального значения лишь к 12-м суткам после операции. Отличия скорости регенерации головных и хвостовых фрагментов являются закономерными и соответствуют данным литературы [6]. При кумуляции ртути олигохетами в течение 1-го месяца различия в интенсивности процесса восстановления утраченных фрагментов животными с низким и высоким содержанием ртути незначительны, что можно объяснить низким уровнем накопления металла. После 6-ти и 9-ти месяцев экспозиции данные отличия становятся более существенными и статистически достоверными для хвостовых фрагментов, что говорит об угнетающем воздействии высоких концентраций ртутьорганических соединений на восстановление нервной системы кольчатых червей, которая координирует дальнейшие регенерационные процессы. Как известно, любому физиологическому нарушению нормы предшествуют определенные биохимические процессы, и определение биохимических показателей открывает возможность регистрировать патологию задолго до появления у животного физиологических отклонений [7,11]. Повышение количества общего белка на 16,5 % в экстрактах тел *E. albidus* после 1-го мес. кумуляции ртути закономерно и является одной из неспецифических реакций организма на хроническую интоксикацию, направленных на выживание особи и популяции в целом. Снижение концентрации белка в телах *E. albidus* после 6-ти и 9-ти мес. накопления металла характеризует начало следующего этапа токсического процесса – фазы угнетения, коррелирующего с появлением морфологических изменений в ходе регенерации. В процессах восстановления важную роль играет кислая фосфатаза. В виду широкого спектра действия она, как правило, представлена в организме множественными молекулярными формами (ММФ). Ингибирование форм кислой фосфатазы с ОЭП 0,44 в экстрактах тел *E. albidus* после 1-го мес. и с ОЭП 0,19 и 0,32 после 6-го мес., а также формы с ОЭП 0,14 после 9-го мес. кумуляции с высоким содержанием ртути, является следствием негативного влияния ртутьорганических соединений на протекание ферментативных реакций в ходе морфогенеза. В месте с тем, у олигохет с высоким содержанием ртути наблюдается индукция формы с ОЭП 0,25. При этом на всем протяжении эксперимента наблюдается

снижение удельной активности кислой фосфатазы в телах олигохет с высоким содержанием металла, что говорит об ингибирующем влиянии ртутьорганических соединений на изучаемый энзим. Отмеченные изменения в спектрах кислой фосфатазы можно объяснить изменением конформации фермента под действием ртутьорганических соединений и как следствие – появление низкомолекулярных фракций, что можно объяснить как биохимическую адаптацию на неблагоприятное воздействие среды.

Таким образом, ртутьорганические соединения стимулируют синтез белка в низких концентрациях и непродолжительном воздействии на организм. При более длительном воздействии происходит угнетение синтеза белка и кислых фосфатаз и индукция совершенно новых ММФ фермента – неспецифическая реакция организма на негативное влияние окружающей среды.

Литература

1. Тармо Тимм. Малощетинковые черви (Oligochaeta) водоемов Северо-Запада СССР. Таллин “Валгус”, 1987, -298с.
2. Комов В.Т., Степанова И.К., Гремячих В.А. Актуальные проблемы водной токсикологии. Сборник статей под ред. Проф. Б.А.Флерова. Борок, 2004, С.99-123.
3. Кузубова Л.И., Аношин Г.Н. Метилртуть в окружающей среде (распространение, образование в природе, методы определения): Аналит. обзор/СО РАН. ОИГиГ; ГПНТБ. – Новосибирск, 1998, - 138с.
4. Комов В.Т., Лапкина Л.Н., Степанова И.К., Экспериментальное доказательство реальной опасности метилртути, накопленной в рыбе, для гидробиологии //Современные проблемы водной токсикологии. ИБВВ им. И.Д. Папанина РАН, Борок, 2002.
5. Шейман И.М. Регуляторы морфогенеза и их адаптивная роль. М.: Наука, 1984, - 174с.
6. Короткова Г.С. Регенерация животных: Руководство.- СПб.: Изд-во С. Петербур. ун-та, 1997,-480 с.
7. Цветков И.Л., Зарубин С.Л., Урванцева Г.А., Коничев А.С., Филиппович Ю.Б. Кислая фосфатаза гидробионтов как маркерный фермент токсического воздействия на организм. //Известия АН. Серия биологическая. -1997.-№5.-С.539-545.
8. Казин В.Н., Урванцева Г.А. Физико-химические методы исследования в экологии и биологии: Уч. Пособие.-Ярославль, 2002, -172 с.
9. Практикум по общей биохимии под ред. Ю.Б. Филипповича. М.: “Просвещение”, 1975, - 318с.
10. Sokal R. R., Rohlf F. J. Biometry. The principals and practice of Statistics in biological research. 1995. NY. 887 p.
11. Немова Н.Н., Высоцкая Р.У. Биохимическая индикация рыб. М.: Наука, 2004. 215с.

STUDY OLYGOCHAETES REGENERATION AND CERTAIN BIOCHEMICAL INDEXES UNDER NATURAL METHYLMERCURY INFLUENCE

Aksyonova I. A.

The effects of natural methylmercury on regeneration and maintenance of general protein, spektrums and appanaged activity of acid phosphatase were stadied on olygochaetes *E. albidus*. Accumulation methylmercury in worms inhibited appanaged activity of acid phosphatase and changed enzymes spektrums. High methylmercury concentrations were redunsed speed of regencration and maintanance of general protein.

ОЦЕНКА СМЕРТНОСТИ РЫБ ОТ ПАЗАРИТОВ ПО НАТУРНЫМ НАБЛЮДЕНИЯМ

Л.И. Бисерова

Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и
океанографии (ВНИРО), Москва, Россия
e-mail: biserova_ludmila@mail.ru

В дельте Волги в 80-е годы двадцатого столетия появилось два новых заболевания рыб, характеризующиеся сходными симптомами. Это апофаллез и россикотремоз. Первое заболевание распространилось у молоди карповых, возбудителем его являются трематоды *Apophallus muehlingi*, паразитирующие на стадии метацеркарий у рыб. Второе – у молоди окуневых рыб и вызывается паразитированием у молоди окуневых метацеркарий трематод *Rossicotrema donicum*. Симптомы этих заболеваний – это мелкие черные точки на поверхности тела рыб, особенно часто на хвостовом, спинном и других плавниках. Однако отсутствие внешних признаков не всегда означает, что рыба не заражена апофаллезом или россикотремозом. Во-первых, черный пигмент образуется не сразу, а через некоторое время после заражения, во-вторых, метацеркарии апофаллеуса и россикотремы локализируются не только на плавниках и на поверхности тела. Некоторое их количество обычно встречается в толще мускулатуры и вдоль позвоночника и при внешнем осмотре не видны. При сильном поражении рыбы пигментные пятна могут сливаться в большие черные зоны.

Материалом для настоящей работы послужили сборы молоди рыб, проведенные в дельте Волги в 1986-1997гг и в 2006г. Методом полного паразитологического вскрытия исследовано 5683 экз. молоди воблы *Rutilus rutilus caspicus* (Jak.) и 2570 экз. молоди густеры *Blicca bjoerkna* (L.) в 1986-1997гг, 861 экз. молоди воблы в 2006г.

Мы попытались исследовать патогенность метацеркарий апофаллеуса. Любой паразит, обитающий внутри рыбы, оказывает на нее определенное воздействие. Это воздействие может быть очень незначительным, неуловимым для оценки. С ростом паразита, либо с увеличением их общего количества воздействие возрастает. Воздействие паразитов определяется их активностью: интенсивностью обмена веществ, наличием токсических выделений, миграциями в теле хозяина, а также местом локализации. Очевидно, что церкарии оказывают большее воздействие на организм рыбы, чем метацеркарии. Это подтверждается и экспериментально (Kuris, Waagen, 1980). Во-первых, церкарии своим внедрением наносят механическое повреждение, во-вторых, при внедрении и миграции выделяют вещества, лизирующие ткани хозяина. Эти вещества так или иначе действуют на хозяина. Но длительных миграций личинка апофаллеуса не совершает, она локализуется либо под кожей, либо в мускулатуре, либо в плавниках. Сформированные метацеркарии с их сниженным обменом веществ, ограничением от тканей хозяина оболочкой цисты, механического воздействия не оказывают совсем, а химическое воздействие ограничено значительно меньшим, чем у внедрившихся церкарий, количеством секретов и экскретов. Крайним результатом проявления патогенности является гибель хозяина. Это происходит при превышении суммарной патогенности всех метацеркарий летальной дозы. Строго говоря, гибель хозяина происходит от внедрения церкарий (может быть, даже одного) при условии наличия у хозяина сублетального числа сформированных метацеркарий. В значительной степени это зависит от интенсивности процесса заражения. В литературе патогенность разных стадий обозначают как острое и хроническое воздействие.

Ранее существовало представление о паразите, как о существе, обязательно наносящем вред хозяину (Шульц, Гвоздев, 1972). К настоящему времени сформировалась концепция экологической, адаптивной природы паразитизма. (Гусев, Шульман, 1979; Полянский, 1978; Бауер, 1982). Как писал Ю.И. Полянский: «В

природе очень редки эпизоотии. Они могут возникнуть при встрече хозяина с чуждым им паразитом, либо в самом начале становления его хозяином паразита, или в искусственных условиях. В долго совместно эволюционирующей системе паразит-хозяин патологические изменения скорее исключение, чем правило, кроме случаев превышения обычной степени зараженности или когда гибель хозяина нужна для продолжения цикла развития паразита». В случае с апофаллюсом необходимость гибели хозяина нет, более того, гибель хозяина приводит к элиминации паразита. Ситуация, сложившаяся в дельте Волги, сочетание множества факторов, как то: встреча хозяина (карповые рыбы) с чуждым им паразитом (*A. muehlingi*), высокая численность первых промежуточных хозяев и особенности их распределения, низкая численность элиминаторов яиц привели к чрезвычайно высокой численности апофаллюса. Для карповых рыб дельты Волги *A. muehlingi* – новый паразит и рыбы еще не адаптировались к нему. В результате стал работать механизм обратной связи, то есть апофаллюс достиг той численности, при которой стал причиной гибели наиболее инвазированной части молоди рыб – своих хозяев и, естественно, элиминироваться вместе с ними. Численность апофаллюса таким образом уменьшалась. Привнос паразитов на новые территории ведет к сильной зараженности местных видов этими паразитами и их гибели. (Cohen, 1996). Исследования, проведенные в нижней части дельты Волги, показали, что гибель молоди достигает 80%. Изучалась зараженность молоди воблы в двух районах Гандуринского банка (запад нижней части дельты), находящихся в сорока километрах друг от друга по одному течению. В частичной зоне дельты экстенсивность зараженности всех групп воблы равна 100%, а индекс обилия достигает 204 метацеркарий. Примерно в 40 км ниже этого места в островной зоне авандельты молодь воблы заражена несоизмеримо слабее. Индекс обилия по трем сравнимым размерным группам молоди (21-25, 26-30, 31-35 мм) здесь оказался ниже соответственно в 41, 127 и в 156 раз. Эти цифры заставляют сделать вывод о том, что в процессе ската молоди воблы на юг, к морю, на участке протяженностью около 40 км все сильно зараженные погибают, а выживают только те экземпляры, которые почему-то не заразились или получили небольшую дозу инвазии.

Вопрос количественной оценки степени патогенности паразитов чрезвычайно важен, но слабо разработан. Для решения этого вопроса необходим универсальный показатель степени патогенности. Универсальным показателем для количественной оценки степени патогенности паразитов является показатель массы или числа (для одинаковых по массе паразитов) паразитов на единицу массы хозяина. Такой показатель широко используется в отдельных областях медицины и ветеринарии. В паразитологии этот показатель тоже получает распространение, он используется для оценки пригодности рыбы и рыбной продукции при паразитологическом инспектировании (Шигин, 1980; Курочкин, Бисерова и др., 1989, 1989а). Этот показатель наиболее полно характеризует «паразитарную нагрузку» на организм хозяина, позволяет определить летальную дозу инвазии, а также объективно сравнивать патогенность разных видов паразитов.

К изучению степени патогенности паразитов можно подойти методически двумя путями. Первый путь – экспериментальный (Шигин, 1986; Комарова, 1978, 1980 и др.) позволяющий определить острую патогенность и в гораздо меньшей степени – хроническую. Недостатком этого метода является невозможность полной экстраполяции результатов на естественные условия. Второй путь – статистический, разработанный нами, основан на анализе большого количества естественно зараженной молоди и выделении в каждой возрастной (размерной) группировке максимально инвазированных рыб. Далее рассчитывается максимальное количество метацеркарий, приходящееся на единицу массы.

В дальнейшем, исходя из результатов, можно рассчитать летальную дозу хронического воздействия. В данной работе использовался именно этот метод. Следует

отметить, что предложенным нами методом можно пользоваться при условии доминирования данного вида паразита у определенных хозяев в сочетании с высокой интенсивностью инвазии, что и наблюдалось в исследуемые годы в дельте Волги с метацеркариями апофаллюса. Изучение патогенного воздействия паразитов на рыб в естественных водоемах связано с большими трудностями и проводится редко; как правило, с использованием такого показателя зараженности, как экстенсивность (Титар, 1983, 1987), или изменения степени перерасеянности распределения метацеркарий трематод (Gordon, Rau, 1982).

Был проанализирован материал по зараженной молодежи воблы размером от 9 до 50 мм (4036 экз.). В каждой размерной группе (диапазон – 1 мм) было установлено максимальное число метацеркарий на рыбу, а в дальнейшем это число пересчитано на грамм массы рыбы. Для соотношения длины рыбы и ее массы использовались данные Н.Л. Чугунова (1928) по росту молодежи рыб, и воблы в частности, в дельте Волги. Результаты представлены на рисунке 1.

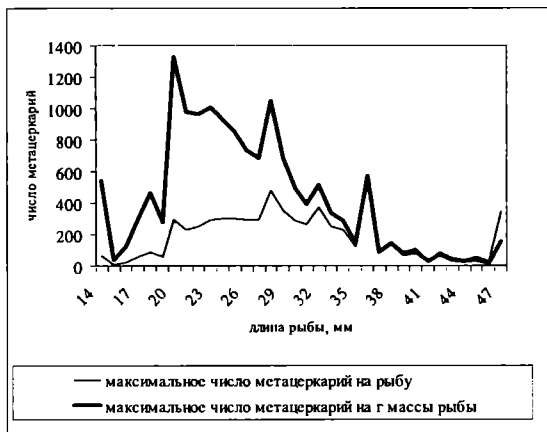


Рис. 1. Максимальная зараженность молодежи воблы.

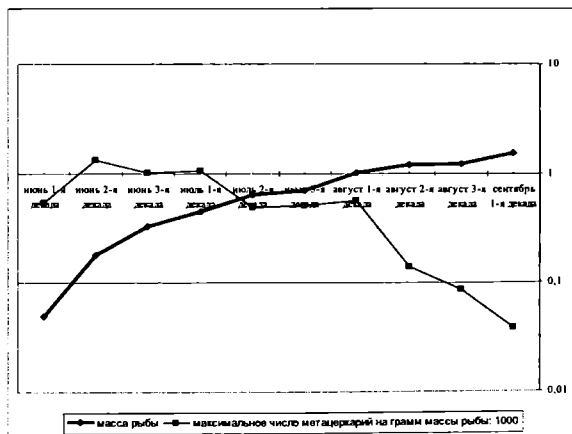


Рис. 2. Динамика максимального числа метацеркарий на грамм массы воблы по мере ее роста (логарифмическая ось).

Максимальное число метацеркарий на рыбу определенного размера очевидно меньше летальной дозы метацеркарий, в пересчете на грамм массы рыбы. Максимальное число – 1332 экз. (для молоди длиной 20 мм) указывает, что летальная доза по крайней мере не меньше этой величины. Из полулогарифмического графика (Рис. 2), видно, что максимальное число метацеркарий на грамм массы рыбы достаточно резко падает с достижением рыбой размера 28 мм (0,45 г). Это происходит приблизительно ко второй декаде июля. В этот период скорость увеличения массы рыбы обгоняет темп накопления паразитов. Из этого можно заключить, что молодь воблы наиболее уязвима для метацеркарий апофаллюса до достижения ею размеров 28 мм и массы 0,45 г. С дальнейшим ростом рыбы, несмотря на возможное увеличение зараженности, патогенное воздействие резко падает. Максимальное число метацеркарий у молоди воблы приходится на вторую декаду июня.

Аналогичные расчеты были проведены и для зараженной молоди густеры в размерной группировке от 13 мм до 42 мм (1530 экз.). Результаты представлены на рис. 3.

Максимальное число метацеркарий апофаллюса зарегистрировано у густеры размером 19 мм (1792 метацеркарии на грамм массы). Густера является более специфичным хозяином для апофаллюса, чем вобла, индекс обилия метацеркарий почти всегда у густеры выше, чем у воблы. Интересно, что у обоих видов рыб максимальное число метацеркарий отмечено у рыб приблизительно одного размера: 19 мм (0,26 г) - густера и 20 мм (0,22 г) - вобла. С дальнейшим ростом густеры происходит резкое падение числа метацеркарий на грамм массы (с 21 мм) и при достижении молоди густеры размеров около 30 мм рост рыбы перегоняет темп накопления паразитов, для воблы характерно более медленное снижение максимального числа метацеркарий. Возможно, это связано с различиями биологии молоди рыб этих видов. Основная часть нерестилищ воблы располагаются в верхней дельте и Волго-Ахтубинской пойме, густера нерестится и в Волго-Ахтубинской пойме и в авандельте (Коблицкая, 2001). Таким образом, молодь воблы в целом значительно больше времени, чем молодь густеры, проводит в верхней и средней дельте, где много зараженных моллюсков. В течение всего лета происходит пассивный и активный скат из нерестилищ в нижнюю дельту и авандельту, где вероятность заражения молоди резко падает вследствие снижения численности зараженных моллюсков или их полного отсутствия.

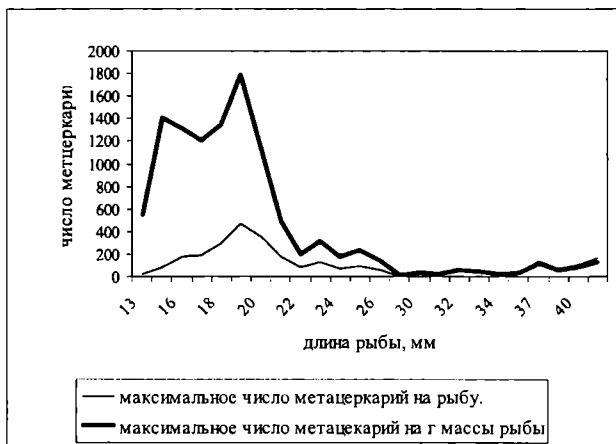


Рис. 3. Максимальная зараженность молоди густеры.

Очевидно, именно поэтому ко второй декаде августа происходит следующее резкое падение зараженности на грамм массы и воблы и густеры.

Более высокая возможная летальная доза метацеркарий для густеры согласуется со степенью специфичности разных видов карповых по отношению к метацеркариям апофаллуса – вобла стоит последней в этом ряду.

Таким образом, летальная доза метацеркарий трематоды *A. muehlingi* для молоди воблы составляет не менее 1300-1400 метацеркарий на грамм массы рыбы, для молоди густеры – не менее 1800 метацеркарий на грамм массы рыбы. В условиях чрезвычайно высокой численности этих трематод в дельте Волги, наиболее уязвима молодь воблы и густеры до достижения ею размеров около 30 мм, после чего темпы роста рыбы перегоняют темп накопления паразитов и метацеркарии уже не оказывают летального воздействия на рыб.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Бауер О.Н. Регуляция численности паразитов в пресноводных экосистемах. // Гельминты в пресноводных экосистемах. М.: Наука, 1982. – С. 4-17.
2. Гусев А.В., Шульман С.С. Паразитизм и патогенность. // 7 всес. совещ. по паразитам и болезням рыб. Тез. докл. Л.: «Наука», 1979. - С. 28-30.
3. Коблицкая А.Ф. Влияние длительного зарегулирования стока реки и колебаний уровня Каспийского моря на естественное размножение промысловых рыб в устьевой области Волги. // Экология молоди и проблемы воспроизводства каспийских рыб. М.: ВНИРО. 2001. – С.139-145.
4. Комарова Т.И. Влияние метацеркарий сем. Diplostomatidae на выживаемость личинок рыб в эксперименте. // Проблемы гидропаразитологии. Киев.: Наукова думка, 1978.- С. 87-92.
5. Комарова Т.И. Роль метацеркарий семейства Diplostomatidae в элиминации личинок рыб // Тез.докл. 9 конф. Укр. паразитол.общ-ва. Ч.2. Киев.: Наукова думка, 1980.- С. 145-146
6. Курочкин Ю.В.(основной автор), Бисерова Л.И., Андреев В.Ю., Тагушев И.А. Методика паразитологического инспектирования морской рыбы и рыбной продукции (морская рыба-сырец, рыба охлажденная и мороженая). М.: ВНИРО. – 1989. – 28 с.
7. Курочкин Ю.В., Бисерова Л.И., Андреев В.Ю., Тагушев И.А. Инструкция по санитарно-паразитологической оценке морской рыбы и рыбной продукции (рыба-сырец, охлажденная и мороженая морская рыба, предназначенная для реализации в торговой сети и на предприятиях общественного питания). М.:ВНИРО. 1989а. 12 с.
8. Полянский Ю.В. Экологическая сущность паразитологии // Вестник ЛГУ. 1978. №3.- С. 5-14.
9. Титар В.М. Опыт анализа влияния паразитов на смертность молоди рыб в естественном водоеме // 2 Всес. съезд паразитологов. Киев: Наукова думка. 1983. – С. 342-343.
10. Титар В.М. К изучению влияния метацеркарий *Posthodiplostomum cuticola* на природные популяции молоди рыб. // Популяц. биол. гельминтов. Тез.докл.смп.- М., 1987.- С. 93-95.
11. Чугунов Н.Л. Биология молоди промысловых рыб Волго-Каспийского района. // Тр. Астраханской научной рыбохоз. станции. 1928. Т. 6. Вып. 4. – 270 с.
12. Шигин А.А. Трематоды фауны СССР. Род *Diplostomum*. Метацеркарии. М.: Наука, 1986.- 254 с.
13. Шульц Р.С., Гвоздев Е.В. Основы общей гельминтологии. М.: Наука. 1972. Ч.2. 515 с.
14. Cohen A.N. Parasites lost? A test of the conventional wisdom regarding host invasions. // Amer. Zool. 1996., 36. #5. – P. 123.
15. Gordon D. M., Rau M. E. Possible evidence for mortality induced by the parasite *Apatemon gracilis* by a population of brook sticklebacks (*Culaea inconstans*) // Parasitology, 1982, 84, № 1, - P. 41-47.
16. Kuris Armand M., Warren Janice Echinostome cercarial penetration and metacercarial encystment as mortality factors for a second intermediate host, *Biomphalaria glabrata* // J. Parasitol., 1980, 66, # 4. - P. 630-635.

THE ESTIMATION MORTALITY OF THE FISH INDUCED BY PARASITES BY NATURE OBSERVATIONS.

The new method of the estimation mortality of the fish induced by parasites by nature observation is offered. The parameter of number of parasites on a mass unit of the host is used.

ЛИПИДЫ РЫБ ПРИ СМЕШАННЫХ ПРОТОЗОЙНЫХ ИНВАЗИЯХ

Богдан В.В., Смирнов Л.П.

Институт биологии Карельского научного центра РАН, г. Петрозаводск, Россия
e-mail: leo@bio.krc.karelia.ru

В пресноводной аквакультуре широкое распространение получили заболевания кожных покровов и жаберного аппарата, вызываемые ресничными инфузориями класса Ciliata, такими как хилодонелла (*Chilodonella sp.*), представителями трех родов сем. Urceolariidae (*Trichodina*, *Trichodinella*, *Tripartiella*), ихтиофтириус (*Ichthyophthirius multifiliis*). Эти простейшие паразитируют у всех видов пресноводных рыб. Установлены предельные показатели этих паразитов для молоди карпа: хилодонелла, триходина – 25 экз. (в поле зрения), апиасома – 30, ихтиофтириус – 1, дактилогирис – 2 (Козлов, Абрамович, 1980). Протозойные инвазии возникают в зимне-весенний период (хилодонеллез), либо являются "всесезонными" (триходиноз, ихтиофтириоз), и, вызывая массовую гибель рыб, наносят рыбоводным хозяйствам очень серьезный экономический урон. Хилодонелла и триходины, как правило, поражают молодь и реже ослабленных взрослых особей, ихтиофтириус паразитирует у рыб всех возрастных групп. Если вспышки хилодонеллеза и триходиноза в естественных водоемах не регистрируются, то ихтиофтириоз наблюдается как в природе, так и при искусственном рыборазведении. Больше всего от ихтиофтириоза страдают мальки и сеголетки, но при большой интенсивности инвазии могут болеть и погибать рыбы старших возрастов (ремонтная группа и даже производители).

Паразитические простейшие различаются по глубине проникновения и, видимо, по степени воздействия на покровные ткани хозяина. Так, ихтиофтириус после прикрепления к поверхности проникает в подкожный слой и там завершает паразитическую фазу своего цикла. Поэтому воспалительный процесс в месте внедрения инфузории захватывает не только кожу, но и подкожную клетчатку, и прилегающую зону мускулатуры. Триходины обитают на поверхности тела, не проникая внутрь, и вызывают раздражение кожи.

Несмотря на большой практический интерес, биохимические аспекты ответных реакций рыб на протозойные инвазии, в частности, изменения в липидном статусе остаются малоизученными. Исследования, проведенные в этом направлении, единичны (Лизенко и др., 1985; Гурьянова, 1987).

В отличие от естественных водоемов, в рыбоводных прудах создаются более благоприятные условия для инвазирования рыбы несколькими видами инфузорий одновременно. При этом численность паразитов часто достигает уровня, когда масштабы их негативного воздействия на организм хозяина могут вызвать существенные изменения метаболизма. Было проведено изучение влияния смешанных протозойных инвазий на тканевые липиды молоди карпа. На поверхности тела у инвазированных рыб, взятых их прудов рыбхоза "Якоть" (Московская область), выявлены инфузории хилодонелла (4 – 56 экз. в поле зрения микроскопа), и триходина (20 – 160 экз.). Кроме того, на жабрах обнаружен моногенетический сосальщик *Dactylogirus sp.* (8 -12 экз.). Данная численность паразитов рассматривается как показатель высокой интенсивности инвазии. Для молоди карпа из прудов Сямозерского рыбзавода (Карелия) было отмечено сильное заражение простейшими трех родов: *Trichodina*, *Chilodonella*, *Apiosoma*. Отход больных рыб достигал 80% по сравнению с 20% в контроле.

В гепатопанкреасе зараженных рыб вне зависимости от региона увеличивалось количество общих липидов. На фоне роста уровня фосфолипидов (ФЛ) в 1,2 - 1,3 раза содержание триацилглицеринов (ТАГ) уменьшалось в 1,3 – 1,6 раза относительно контрольных значений. Вариабельность концентрации стерина различалась в разных

вариантах опыта. В мышцах опытных рыб на фоне неизменного или незначительного увеличения количества суммарных липидов в обоих вариантах происходил рост уровня ФЛ и снижение холестерина по сравнению с контролем. Содержание ТАГ уменьшилось в 1,4 раза по сравнению с контрольными объемами.

Заражение простейшими карпов (Сямозерский рыбзавод), приводило к изменениям в составе индивидуальных фосфолипидов. В гепатопанкреасе концентрация доминирующих фракций – фосфатидилхолина (ФХ) и фосфатидилэтаноламина (ФЭА), а также лизоФХ была выше, чем в контроле. В мышцах опытных рыб также повысилась доля ФХ и его лизоформы, между тем как уровень ФЭА почти не изменился. Величина соотношения ФХ/ФЭА в гепатопанкреасе больных рыб была на 18% ниже, а в мышцах на 16% выше, чем у здоровых.

В фосфолипидах гепатопанкреаса больных карпов оказался ниже уровень полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) по сравнению со здоровыми рыбами. Уровень связанных ПНЖК определяет реакционноспособность, лабильность и метаболическую активность липидов. Уменьшение их концентрации происходило за счет всех кислот, входящих в комплекс ПНЖК, но наиболее существенный вклад в этот процесс внесли две кислоты – эйкозапентаеновая (ЭПК, C_{20:5} n3) и докозагексаеновая (ДГК, C_{22:6} n3). В фосфолипидах мышц инвазированных рыб концентрация полиеновых кислот также снижалась, при этом уровень ДГК понизился в 5 раз, а арахидоновой (АК, C_{20:4} n6) и ЭПК – более, чем в 2 раза по сравнению со здоровыми особями. Такой показатель адаптивной метаболической активности мембран, как соотношение ДГК/ЭПК, в гепатопанкреасе опытных рыб был в 3,6 раза выше, а в мышцах, наоборот, в 2 раза ниже, чем у контрольных.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что ресничные инфузории, паразитируя на кожных покровах рыб, оказывают воздействие и на другие ткани организма. Одной из сторон ответной реакции организма на инвазию является модификация липидного состава клеток. Так, в гепатопанкреасе наблюдается уменьшение содержания ТАГ, что связано с усилением активности триацилглицеринлипаз. У зараженных рыб обнаружено увеличение содержания ФЛ в исследуемых тканях при росте уровня лизопродуктов, более выраженное в гепатопанкреасе, что свидетельствует об усилении их синтеза. В мускулатуре этот процесс выражен слабее. В конце зимовки, при истощении запасных липидов в процессе эндогенного питания, дальнейшее снижение их уровня ухудшает физиологическое состояние рыб. Однако это, как адаптивная реакция организма, может обеспечить повышенную "энерговооруженность" организма, что отмечалось ранее при непродолжительных экологических модуляциях (Богдан и др., 2001).

В функционировании клеточных мембран важную роль играет как содержание мембранных липидов, так и соотношение молекулярных разновидностей фосфолипидов (Hazel et al., 1991). Альтерации состава индивидуальных ФЛ печени и мышц у опытных рыб должны привести к изменению активности мембраносвязанных ферментов, для которых эти ФЛ являются эффекторами (Бурлакова, 1977). Снижение величины ФХ/ФЭА в гепатопанкреасе инвазированных рыб по сравнению с контролем может свидетельствовать об усилении метаболических процессов. В мышцах, напротив, увеличение этого показателя должно приводить к замедлению обменных процессов.

В незначительных количествах лизофосфолипиды всегда присутствуют в клетке, где играют регуляторную роль (Дятловицкая, Безуглов, 1998). Повышение содержания лизофосфолипидов может иметь неблагоприятные последствия для клетки, из-за того, что они способствуют лизису мембранных структур и некрозу тканей. Это определяется тем, что они являются не только промежуточными продуктами метаболизма фосфолипидов, но и обладают физико-химическими свойствами, превращающими их в эндогенные детергенты. При смешанных протозойных инвазиях в тканях рыб повышенный уровень лизофосфатидилхолина, особенно в

гепатопанкреасе зараженных рыб по сравнению с контрольными (6,4 и 2,8%) свидетельствует об усилении активности фосфолипазы А₂. Подобный эффект отмечен ранее при заражении ихтиофтириусом или хилодонеллой. Существует мнение, что бислю, что приводит к неспецифической проницаемости мембран (Проказова и др., 1998). Так, обнаружено, что в мышечной ткани карпа вследствие модификации фосфолипидной структуры мембран происходили изменения в соотношении концентраций натрия в клетках и интерстициальной жидкости, что ухудшало клеточный гомеостаз (Яржомбек, Щербина, 1983), что может быть следствием нарушения проводимости трансмембранных ионных каналов.

В фосфолипидах мышц зараженных рыб наблюдалось более выраженное снижение содержания полиненасыщенных кислот, чем в гепатопанкреасе. Альтерации уровня ПНЖК могут изменять включение и диффузионное перемещение мембранных компонентов, активность мембраносвязанных ферментов, мембранную проницаемость и транспортные свойства (Когтева, Безуглов, 1998). Надо отметить, что вектор изменений компонентов в соотношениях ДГК/ЭПК и ФХ/ФЭА (при увеличении доли ФЭА и ДГК) в гепатопанкреасе инвазированных карпов указывает на активацию метаболизма как адаптивную реакцию организма рыб. Между тем в мышцах происходит замедление обменных процессов, о чем свидетельствует увеличение доли ФХ и ЭПК.

При смешанных инвазиях в гепатопанкреасе и мышцах зараженных рыб обнаружено повышение уровня трудноокисляемых фосфолипидов (ТОФЛ) - фосфатидилхолина, сфингомиелина, лизофосфатидилхолина, которые обычно имеют насыщенные жирные кислоты в углеводородной части молекулы, по сравнению с контролем (9,1 и 7,8%, соответственно). В мышцах зараженных рыб уровень ТОФЛ также увеличился до 5,1% при 4,6% у контрольных. К обогащению фосфолипидов трудноокисляемыми фракциями приводит увеличение скорости ПОЛ. Усиление перекисного окисления фосфолипидов приводит к изменению конформации мембраны, что оказывает влияние на активность ассоциированных с ней белков-ферментов. Дальнейшая окислительная деструкция вызывает накопление лизофосфатидов (Ланкин, 1981), что отмечено нами в мышцах и особенно в гепатопанкреасе зараженных рыб по сравнению с контрольными.

Полученные при смешанных протозойных инвазиях данные свидетельствуют об изменениях в содержании запасных и мембранных фракций липидов гепатопанкреаса и мышц молоди карпа. Эти вариации имеют двоякий характер, с одной стороны, указывают на дестабилизацию метаболических процессов в организме, а, с другой, свидетельствуют о стимуляции адаптивных перестроек. Тем не менее, выявленные модификации в структуре мембранных липидов, одновременно происходящие на уровне индивидуальных фосфолипидов и их жирнокислотных радикалов должны приводить к изменению метаболической и функциональной активности исследуемых тканей и снижению адаптивного потенциала организма рыб, о чем свидетельствует низкая выживаемость зараженных особей.

Работа выполнена при поддержке гранта НШ-4310.2006.4 Программы Президента РФ «Ведущие научные школы».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Богдан В.В., Сидоров В.С., Зекина Л.М. Липиды рыб при адаптации к различным экологическим условиям // Экологические проблемы онтогенеза рыб: физиолого-биохимические аспекты. М.: Изд-во МГУ. 2001. С.188-202.

Бурлакова Е.Б. Влияние липидов на ферментативную активность // Липиды. Структура, биосинтез, превращения и функции. М.: Наука. 1977. С.16-28.

Бурлакова Е.Б., Сторожок Н.М., Храпова Н.Г., Исследование роли функциональных групп в действии фосфолипидов как синергистов окисления // Биол.

мембраны. 1990. Т.7, № 6. С.612-618.

Гурьянова С.Д. Влияние инвазии моногеней *Dactylogyrus* sp. на липидный состав некоторых тканей карпа // Биохимия молоди рыб в зимовальный период. Петрозаводск: Карельский филиал АН СССР. 1987. С. 99-101.

Дятловицкая Э.В., Безуглов В.В. Липиды как биоэффекторы. Введение // Биохимия. 1998. Т.63, вып.1. С. 3-5.

Когтева Г.С., Безуглов В.В. Ненасыщенные жирные кислоты как эндогенные биорегуляторы // Биохимия. 1998. Т.63, вып.1. С. 6-15.

Козлов В.И., Абрамович Л.С. Справочник рыбовода. М.: Россельхозиздат. 1980. 220 с.

Ланкин В.З. Метаболизм липоперекисей в тканях млекопитающих. Биохимия липидов и их роль в обмене веществ. Наука. М. 1981. С. 75-95.

Лизенко Е.И., Лысенко П.В., Клепкина М.Н., Нефедова З.А. Фосфолипидный состав тканей «слабых» и «сильных» годовиков карпа Биохимия молоди пресноводных рыб. Петрозаводск. Карельский филиал АН СССР. 1985. С.14-19.

Проказова Н.В., Звездина Н.Д., Коротаяева А.А. Влияние лизофосфатидилхолина на передачу трансмембранного сигнала внутрь клетки // Биохимия. 1998. Т. 63, вып. 1. С. 38-46.

Яржомбек А.А., Щербина Т.В. Влияние заболевания молоди карпа ихтиофтириозом на натриевый баланс мышечной ткани // Сравнительная биохимия водных животных. Петрозаводск: Карельский филиал АН СССР. 1983. С. 175-179.

Hazel G.K., Williams E.E., Livermore R., Mazingo N. Thermal acclimation in biological membranes: functional significance of changes in phospholipid molecular species composition // *Lipids*. 1991. Vol. 26. P. 277-282.

LIPIDS OF FISHES AT MIXED PROTOZOAN INVASIONS

Bogdan V.V., Smirnov L.P.

Institute of biology Karelian Research Center of RAS, Petrozavodsk, Russia

e-mail: leo@bio.krc.karelia.ru

Changes in reserve and membrane lipid content of hepatopancreas and muscles of juvenile carps were initiated by mixed protozoan invasions. Quantitative modifications of individual phospholipids and their fatty acid radicals lead to transformation of metabolic and functional activity in investigated tissues of fishes.

ЕРГАЗИЛЕЗЫ РЫБ ОЗЕРА БАЙКАЛ И РЕКИ СЕЛЕНГИ: ЭПИЗООТИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

Т.Г. Бурдуковская, Н.М. Пронин, Л.Д. Сондуева

Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ, Россия e-mail:
tburduk@yandex.ru; npron@biol.bsc.buryatia.ru

Эргазилез – паразитарное заболевание пресноводных рыб, вызываемое рачками семейства Ergasilidae. При высокой интенсивности заражения рыбы погибают от эргазилеза (Абросов, Бауер, 1959; Бауер, 1959; Змерзлая, 1972; Бауер и др., 1977). По обобщающим материалам по паразитам рыб бассейна оз. Байкал эргазилезы выявлены у 15 видов рыб: осетр, омуль, сиг, пелядь, хариус, щука, язь, елец, плотва, голядь, сазан, карась, окунь, сом, налим (Пронин и др., 1999, 2004; Дугаров, Пронин, 2006). В данном сообщении приведены материалы по зараженности основных промысловых рыб за 2000 – 2006 гг. и патоморфологических исследований.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.

Для анализа современного эпизоотического состояния рыб озера Байкал и реки Селенги (главный приток Байкала) использованы данные по зараженности паразитическими рачками на основе полных и специальных паразитологических исследований 10 видов рыб проведенные с 2000 по 2006 гг. (табл. 1).

Для выявления гистопатологических изменений в жаберном аппарате карповых рыб (язь, елец, плотва) при заражении рачками жаберные дужки фиксировали 4% формалином, жидкостью Карнуа, смесью Буэна и Шабдаша. Гистопрепараты окрашивали гематоксилином Эрлиха–эозином, для выявления углеводных компонентов – постановкой PAS-реакции, основным коричневым по Шубичу, альциановым синим по Сиддмену (Волкова, Елецкий, 1982).

Таблица 1

Количество исследованных рыб оз. Байкал и р. Селенги (2000 – 2006 гг.)

Вид рыб	Район исследования				Итого
	Оз. Байкал			р. Селенга	
	Чивыркуйский залив	Истоминский сор	Посольский сор		
Омуль	19	16	-	-	35
Хариус	60	3	-	-	63
Щука	30	10	35	61	136
Язь	20	13	4	41	78
Елец	127	30	2	53	212
Плотва	56	88	39	127	310
Карась	1	20	-	-	21
Окунь	67	20	-	8	95
Сом амурский	2	5	-	-	7
Налим	2	-	-	-	2
Итого	384	205	80	290	959

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.

Эпизоотическая ситуация. У исследованных рыб обнаружено три вида рачков семейства Ergasilidae, которые широко распространены в Северной Евразии.

Ergasilus briani Markewitsch, 1932 локализуется на жабрах с внутренней стороны лепестков. Рачки были зарегистрированы только у карповых рыб (язь, елец, плотва) без существенного предпочтения какого-либо вида, хотя наиболее высокая экстенсивность инвазии отмечена у ельца (Истоминский сор - 46,7 %, р. Селенга - 45,4 %) и язя (Истоминский сор - 45,4 %). При низкой средней интенсивности инвазии (1,0 – 3,33 экз.) и индексе обилия (0,04 – 1,27 экз.) реального эпизоотического значения этот вид

рачка в исследованных водоемах не имеет (табл. 2). В целом *E. briani* характеризуется как термофильный лимнофил и специфичный паразит карповых рыб с низким эпизоотическим потенциалом.

Таблица 2
Характеристика зараженности рыб паразитическими рачками семейства Ergasilidae озера Байкал и р. Селенги (2000 – 2006 гг.)

Вид хозяина	Район исследования	<i>Ergasilus briani</i>			<i>Ergasilus sieboldi</i>			<i>Paraergasilus rylovi</i>		
		ЭИ, %	СИИ, экз.	ИО, экз.	ЭИ, %	СИИ, экз.	ИО, экз.	ЭИ, %	СИИ, экз.	ИО, экз.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Омуль	Оз. Байкал: Зал. Чивыркуйский, Монахово				10,5	1,0	0,10	78,9	3,60	2,84
	Истоминский сор				50,0	2,67	0,50			
Хариус	Оз. Байкал: Зал. Чивыркуйский, Монахово				70,0	30,86	21,60			
	Онкогон				68,0	3,35	2,28	65,0	6,61	4,30
	Калтыгей				36,0	2,67	0,96	24,0	3,67	0,88
	Истоминский сор				33,3	1,0	0,33			
Щука	Оз. Байкал: Зал. Чивыркуйский, Монахово				63,3	3,47	2,20	33,3	3,44	1,15
	Истоминский сор							40,0	2,50	1,0
	Посольский сор				80,0	3,62	2,90	16,0	8,50	1,36
	Дельта р. Селенги				20,0	1,0	0,20	21,6	1,27	0,27
Язь	Оз. Байкал: Зал. Чивыркуйский, Монахово	+	3,0	1,5	100	34,10	34,10	95,0	23,26	22,10
	Истоминский сор	45,4	2,20	1,0	54,5	3,17	1,73	69,2	3,44	2,38
	Посольский сор	25,0	1,0	0,25	100	9,50	9,50			
	Дельта р. Селенги	13,6	1,0	0,14	44,4	6,25	2,78	50,0	1,80	0,90
Елец	Оз. Байкал: Зал. Чивыркуйский, Монахово	20,0	2,0	0,40	53,3	2,25	1,20	33,3	2,75	0,92
	Онкогон	30,0	3,33	1,0	40,0	1,0	0,40	53,3	2,62	1,40
	Фертик				53,8	1,86	1,0	58,8	2,30	1,35
	Истоминский сор	46,7	2,71	1,27	40,0	1,67	0,67	46,7	1,86	0,87
	Посольский сор				+	5,0	2,5			
	р. Селенга, г. Улан-Удэ	15,4	2,0	0,31	7,7	3,0	0,23			
	Г. Усть-Кяхта							10,0	1,0	0,10
	Дельта р. Селенги	45,4	2,0	0,91	22,2	2,50	0,55	50,0	1,4	0,7
Плотва	Оз. Байкал: Зал. Чивыркуйский, Монахово	3,7	1,0	0,04	3,7	1,0	0,04	23,1	1,67	0,38
	Онкогон	6,2	12,0	0,75	6,2	2,0	0,12			
	Оз. Арангатуй	26,7	2,25	0,60	30,8	2,0	0,61	6,7	1,0	0,07
	Истоминский сор	8,7	1,25	0,11	4,8	1,0	0,05	6,7	1,0	0,07
	Посольский сор	33,3	1,40	0,47	13,3	2,0	0,27	12,5	1,0	0,12
	р. Селенга, п. Мурзино	5,4	1,0	0,05	13,5	1,80	0,24			
Карась	Дельта р. Селенги	9,3	1,29	0,12	26,7	1,50	0,40	5,4	1,0	0,05
	Оз. Байкал: Зал. Чивыркуйский, Монахово				+	4,0	4,0	+	25,0	25,0
Окунь	Истоминский сор							+	3,0	3,0
	Оз. Байкал: Зал. Чивыркуйский, Монахово				4,0	1,0	0,04	3,7	1,0	0,04

Ergasilus sieboldi Nordmann, 1832 паразитирует на наружной повер, жаберных лепестков. Встречается в обонятельных ямках. Рачок выявлен у исследуемых рыб (табл. 2). Наиболее высокие показатели экстенсивности и характерны для язя (до 54,5 – 100 %), щуки (до 63,3 – 80,0 %) и хариуса (до 68,8 %). Рачок обычен у ельца (40,0 – 53,8 %) и омуля (до 50,0 %). Встречаемость *E. s* у плотвы низкая (3,7 – 30,8 %) и не отличается от зараженности ее *E. briani*. *E. s* является абсолютным доминантом среди паразитов жаберного аппарата язя и ха максимальный индекс обилия рачков у которых (34,1 и 21,6 экз.) на порядок других видов. Максимальная интенсивность инвазии также зарегистрирована видов рыб: до 155 экз. у хариуса и до 86 экз. у язя. Относительная численность *sieboldi* у плотвы практически равна индексу обилия *E. briani* у этого хозяина. *t* гостального и пространственного распределения *E. sieboldi* в исследованных вод характеризует его как термофильного лимнофила с широкой специфичнос отношением высоким эпизоотическим потенциалом.

Paraergasilus rylovi Markewitsch, 1937 - паразит обонятельных ямок. Отм всех исследованных видов рыб кроме акклиматизанта – амурского сома (та Частота встречаемости (ЭИ, в %) *P. rylovi* снижается в ряду: язь (до 95,0 %), ому 78,9 %), хариус (до 65,0 %), елец (до 58,8 %), плотва (до 23,1 %), окунь (до 12, индекс обилия в ряду: язь – хариус – омуль – елец – плотва – окунь. рассматривать конкретную встречаемость как реализованную специфичность, *rylovi* наиболее специфичный для язя. Относительная численность паразита остальных видов рыб снижается с повышением их эврибионтности и термофиле В текущих водах р. Селенги зараженность плотвы и ельца снижается или выпадает из состава паразитофауны. В целом, *P. rylovi* эвритермный лимнс предпочтением холодноводных условий и более глубоководных хозяев.

Патоморфология. Строение жаберного аппарата рыб подробно опис работах В.Е. Матей и Н.А. Мальгиной (1979), D.B. Groman (1982), В.А. Амин А.А. Яржомбек (1984), С.В. Прониной и Ж.Н. Дугарова (1988).

Микроморфологическая картина жаберного аппарата язя, ельца и плотв заражении *E. briani* и *E. sieboldi* проявляется в структурных изменениях жаб лепестков в области прикрепления рачков и в местах соприкосновения с паразита. Первичные лепестки в местах прикрепления рачков деформиров результате сдавливания их антеннами. В этих местах наблюдается уменьшение в вторичных пластинок, а в некоторых случаях их полный некроз. Больш кровеносных капилляров атрофированы, а у сохранившихся наблюдается с стенок. Базальная мембрана кровеносного сосуда рядом с паразитом отчетливо при окраске гематоксилин-эозином. В участках, граничащих с местом прикре паразита, наблюдается запускание капилляров и их частичная атрофия. В капи вторичных лепестков, пораженных рачком, снижается количество эритроци сравнению с жаберными лепестками в норме. Цитоплазма эритроцитов окраши

слабо, что предполагает низкое содержание гемоглобина. Эти факты указывают на снижение интенсивности газообмена в пораженных жаберных лепестках.

Кроме структурных изменений жаберных лепестков, наблюдается разрыхление опорного эпителия основания вторичных лепестков, граничащих с очагом повреждения. Жаберная ткань вокруг паразита представлена детритной массой клеток. Мукозные клетки у всех зараженных рыб гипертрофированы, в результате чего количество слизи в жаберных лепестках увеличено. Это говорит о развитии защитной реакции хозяина на присутствие паразита. Клетки эпителия в местах соприкосновения с телом паразита уплощены. Рачки *E. bryani*, находясь между жаберными лепестками, сдавливают кровеносные сосуды и препятствуют нормальному кровообращению.

В целом, микроморфологические исследования не выявили видовой специфики патологических реакций. При низкой интенсивности заражения зарегистрированы только очаговые изменения в местах прикрепления паразита. В тоже время показатели экстенсивности заражения и индекса обилия трех видов раков отражают их специфичность по отношению к исследованным рыбам. При относительно благополучной ситуации эпизоотический потенциал паразитических рачков повышается в ряду: *E. bryani* – *P. rylovi* – *E. sieboldi*.

Благодарности. Авторы благодарят д.б.н., проф. С.В. Пронину за помощь в проведении гистологических исследований, сотрудников лаборатории паразитологии ИОЭБ СО РАН (к.б.н. М.Д.-Д. Бадмаеву, к.б.н. Е.М. Болоневу, к.б.н. Ж.Н. Дугарову, О.Б. Жепхолову) в разные годы принимавших участие в полевых работах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Абросов В.Н. Эргазилез пеляди в озерах Псковской области / В.Н. Абросов, О.Н. Бауер // Изв. ГосНИОРХ. – Л., 1959. – Т. 49. – С. 213-216.
- Аминова В.А. Физиология рыб / В.А. Аминова, А.А. Яржомбек. – М.: Легкая и пищевая пром-ть, 1984. – 200 с.
- Бауер О.Н. Экология паразитов пресноводных рыб / О.Н. Бауер // Изв. ГосНИОРХ. – Л., 1959. – Т. 49. – С. 5-206.
- Бауер О.Н. Болезни прудовых рыб / О.Н. Бауер, В.А. Мусселиус, Ю.А. Стрелков. – М.: Легкая и пищевая промыш-ть., 1981. – 320 с.
- Волкова О.В. Основы гистологии с гистологической техникой / О.В. Волкова, Ю.К. Елецкий. – М.: Медицина, 1982. – 304 с.
- Дугаров Ж.Н. Паразитофауна сига оз. Байкал и возрастная динамика компонентного сообщества его паразитов в Чивыркуйском заливе / Ж.Н. Дугаров, Н.М. Пронин // История и современность особо охраняемых природных территорий Байкальского региона: Регион. научно-практич. конференция. – Улан-Удэ: Изд-во БГСХА, 2006. – С. 145-151.
- Змерзлая Е.И. *Ergasilus sieboldi* Nordmann, 1832, его развитие, биология и эпизоотическое значение / Е.И. Змерзлая // Паразиты и болезни рыб в озерах северо- запада РСФСР / Изв. ГосНИОРХ. – Л., 1972. – Т. 80. – С. 132-176.
- Матей В.Е. Действие пестицидов на жаберный эпителий карася / В.Е. Матей, Н.А. Мальгина // Физиология и паразитология пресноводных животных / Тр. ИБВВ АН СССР. – Л.: Наука, 1979. – Вып. 38 (41). – С. 68-80.
- Пронин Н.М. Паразитические ракообразные (Crustacea: Copepoda) водоемов бассейна Байкала / Н.М. Пронин, С.В. Пронина, Т.Г. Бурдуковская // Биоразнообразие Байкальской Сибири / В.М. Корсунов, Н.М. Пронин, Г.Г. Гончиков и др. – Новосибирск: Наука, 1999. – С. 141-159.
- Пронин Н.М. Паразитические ракообразные / Н.М. Пронин, С.В. Пронина, Т.Г. Бурдуковская // Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна: В 2 т. – Новосибирск: Наука, 2004. Т. 1: Озеро Байкал, Кн. 2. С. 845-853.
- Пронина С.В. Микроморфологические характеристики некоторых органов рыб из пруда-накопителя / С.В. Пронина, Ж.Н. Дугаров // Гидробиология пруда-

накопителя и морфо-физиологические адаптации рыб. – Улан-Удэ: Бур. филиал
СО РАН СССР, 1988. – С. 79-88.
Groman D.B. Histology of the striped bass /D.B. Groman. Bethesda, Maryland, 1982. 115 p.

**ERGASILLIASIS OF FISH FROM LAKE BAIKAL AND RIVER SELENGA:
EPIZOOTIC SITUATION AND PATHOMORPHIOLOGY**

T.G. Burdukovskaya, N.M. Pronin, L.D. Sondueva

Institute of General and Experimental Biology, SB RAS, 670047, Ulan-Ude, Russia, e-mail:

butan@biol.bsc.burvatia.ru

The hostal and spatial features of infection of 10 fish species with three species of parasitic copepods *Ergasilus briani*, *E. sieboldi*, *Paraergasilus rylovi* (Copepoda: Ergasilidae) were established. The level of the extensity of invasion and the index of abundance reflects the degree of specificity of parasitic copepod species to the studied species of fish. Only the local micromorphological changes in the sites of parasite attachment were marked at the low intensity of invasion.

МОРФОПАТОЛОГИИ И ФЕНОДЕВИАНТЫ СЕГОЛЕТКОВ МАССОВЫХ ВИДОВ РЫБ ВОЛЖСКОГО ПЛЕСА РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

А.С. Васильев

*Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок, Россия
e-mail: vasiliev@ibiw.vologavl.ru*

В связи с ростом антропогенной нагрузки на водоемы, особенно континентальные, рыбы, как конечное звено трофической цепи, подвергаются многофакторным неблагоприятным воздействиям. Это вызывает у рыб многие неспецифические симптомы, которые трудно связать с действием определенных токсикантов. В результате воздействия среды у рыб появляются различные патологии. В числе них и так называемые фенотипы. Фенотипы – своеобразная группа изменений, которая занимает промежуточное место между качественными и количественными признаками. Термин этот предложил Лернер (Lerner, 1954) для обозначения наследственных отклонений от нормы, очень изменчивых по проявлению и частоте встречаемости. Наличие фенотипов в популяции можно рассматривать как своего рода показатель снижения генетического гомеостаза и гомеостаза развития. Среди рыб множественные аномалии (до 5%) отмечены у молоди сазана, лососевых рыб, лабео и ряда других видов (Кирпичников, 1987). Частота проявления фенотипа в большей степени зависит от условий обитания рыб. Легче всего фенотипы обнаруживаются при инбридинге и неблагоприятных условиях обитания рыб. Важнейшими факторами среды, влияющими на частоту и степень проявления фенотипов, является температура, газовый режим водоема, pH воды. Отдельные аберрации (в особенности уродства позвоночника) предложено использовать как чувствительные индикаторы мутагенного действия радиации на рыб (Schröder, 1979).

Среди методов оценки состояния отдельных особей и популяций рыб важное место занимает морфопатологический (патологоанатомический) анализ (Аршаница, 1970; Аршаница, Лесников, 1987; Решетников и др., 1999), поскольку рыбы являются четкими биоиндикаторными организмами при оценке уровня загрязнения водоемов и качества водной среды, так как на всех этапах развития аккумулируют в себе изменения в среде обитания. Морфопатологический метод благодаря экспрессивности, результативности и практической значимости открывает широкие возможности для оценки состояния рыб в естественных водоемах. К тому же морфопатологический метод оценки состояния рыб и среды обладает высокой чувствительностью, в сравнении с рядом методов биологического анализа качества вод (Макушин и др., 1989). Достоинством патологоанатомического метода является и то обстоятельство, что он может использоваться в полевых условиях, так как при этом не требуется специального оборудования.

Ранее нами проведены детальные морфопатологические исследования массовых видов рыб Рыбинского водохранилища в возрасте 2+ и старше (Васильев, 2002, 2005; Васильев, Буйневич, 2004). Выполненные исследования показали, что состояние органов и тканей связано состоянием среды обитания, характером распределения загрязняющих веществ по акватории водохранилища и особенностями экологии рассматриваемых видов.

Цель данного исследования состояла в анализе частоты встречаемости фенотипов и глубины морфологических изменений внутренних органов у сеголетков окуня, плотвы и леща – массовых видов Рыбинского водохранилища. Известно, что в природных условиях наибольшее количество фенотипов обнаруживаются при просмотре молодых особей, и именно с этой целью нами проанализированы сеголетки.

Работа выполнена на сеголетках окуня *Perca fluviatilis L.*, плотвы *Rutilus rutilus L.* и леща *Abramis brama (L.)* Рыбу отлавливали мальковым неводом в Волжском плесе Рыбинского водохранилища в сентябре 2004 и 2005 годов. Проводился внешний осмотр рыбы на предмет обнаружения смещения чешуи, уродств плавников, жаберной крышки, челюстных костей, кожных покровов. Исследовалось состояние органов: жабр, печени, почки, кишечника. После выварки осуществлялся осмотр позвоночника на наличие или отсутствие уродств.

Особое внимание было сделано на выявление аномалий плавников, внешних покровов и аномалий позвоночника, которые можно отнести к числу фенотипов. Объем выборки составил по 100 экземпляров каждого вида.

В ходе анализа у исследованных видов рыб были выявлены те или иные отклонения от нормы. Основные обнаруженные изменения у окуня: отсутствие одного или обоих брюшных плавников (либо брюшные плавники представлены одним единственным лучом), укороченный либо раздвоенный первый луч спинного плавника, недоразвитие 12 луча спинного плавника, недоразвитие луча анального плавника (у 5% от всех просмотренных особей). У плотвы наблюдалось недоразвитие лучей спинного и анального плавников плавника (у 2% от всех просмотренных особей). У сеголетков леща основными изменениями являлись нарушение целостности чешуйного покрова, искривление и оплавление лучей спинного, хвостового и брюшных плавников, аномалии ротового аппарата. Ряд уродств у исследованных видов рыб связан с явно травматическими повреждениями.

Аномалии осевого скелета (искривления позвоночника, раздвоенные и недоразвитые остистые отростки, сращение позвонков) обнаружены у сеголетков окуня в 2 % случаев, у сеголетков плотвы у 4% и леща у 5% от всех просмотренных особей. Из данных литературы (Изюмов и др., 2002) известно, что аномалии осевого скелета у плотвы могут возникать после воздействия токсикантов на спермию родителей. Установлено, что спектр нарушений морфогенеза позвоночника у подопытной молодежи достаточно широк. По результатам исследований данных авторов даже незначительные дозы токсиканта (ниже уровня обнаружения аналитическими методами) вызывали существенные патологии в строении осевого скелета.

Наиболее отчетливо отклонения от нормы в строении и состоянии органов рыб визуально фиксируются при анализе жабр, печени, почек и кишечника, поскольку именно они являются органами, через которые попадают загрязняющие вещества, и которые ответственны за их детоксикацию и выведение из организма. В жабрах сеголетков исследованных видов рыб отмечены следующие изменения: наличие очагов кровоизлияний, поверхностного некроза, отеков, дисконфракции, выраженных в различной степени. Из морфопатологических отклонений у сеголетков в печени зафиксированы: перерождение печени, изменение окраски и консистенции. Наиболее характерными симптомами поражения почки являются изменение цвета и разрастание ткани почки. Исследование состояния кишечника сеголетков позволило зафиксировать как полную норму, так и отклонения от нее: отеки слизистой, гиперемия и кровоизлияния, утолщение стенок кишечника и как следствие сужение его просвета. Однако, описанные отклонения в состоянии внутренних органов сеголетков окуня, плотвы и леща отмечены у единичных особей и индивидуальные значения индекса неблагоприятного состояния (IN) близки к нулевой оценке. В ряде случаев зафиксировано наличие абсцессов и язв на теле рыб.

Таким образом, в ходе исследования у сеголетков окуня, плотвы и леща выявлены нарушения целостности чешуйного покрова, аномалии ротового аппарата и осевого скелета (искривления позвоночника раздвоенные и дополнительные остистые отростки, сращение позвонков), аномалии плавников (отсутствие, недоразвитие, оплавление спинного, анального и брюшного плавников). Состояние органов: жабр.

печени, почки, кишечника у исследованных видов рыб в большинстве случаев находится в пределах нормы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Аршаница Н.М. 1970. Методика патологоанатомических исследований в водной токсикологии // Памятная записка о симпозиуме по водной токсикологии (СЭВ). Л.: ГосНИОРХ. С. 5-9.

Аршаница Н.М., Лесников Л.А. 1987. Патолого-морфологический анализ состояния рыб в полевых и экспериментальных токсикологических исследованиях // Методика токсикологических исследований. Л.: ГосНИОРХ, С. 7-12.

Васильев А.С. 2002. Морфопатологический анализ леща и синца Рыбинского водохранилища // Вопросы рыболовства. Т. 3. №4(12). С. 605-613.

Васильев А.С. 2005. Изменение морфопатологических показателей у массовых видов рыб волжского плеса Рыбинского водохранилища // Актуальные проблемы экологии Ярославской области. Вып. 3. Том 1. Ярославль. С. 147-151.

Васильев А.С., Буйневич А.В. 2004. Морфопатологический анализ состояния органов и тканей массовых видов рыб Рыбинского водохранилища // Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб. М. С. 248-257.

Изьомов Ю.Г., Касьянов А.Н., Таликина М.Г. 2002. Изменчивость числа позвонков и аномалии осевого скелета у подопытных сеголеток плотвы *Rutilus rutilus* после воздействия токсикантов на спермии родителей // Вопросы ихтиологии. Т. 42. № 1. С. 109-113.

Кирпичников В.С. Генетика и селекция рыб. Л.: Наука. 1987, 520 с.

Макрушин А.В., Аршаница Н.М., Мосиенко Т.К., Чинарева И.Д., Сношкина Е.В. 1989. Сопоставление результатов применения разных методов биологического анализа качества вод // Сборник научных трудов ГосНИОРХ. СПб. № 291. С. 117-123.

Решетников Ю.С., Попова О.А., Кашулин Н.А., Лукин А.А., Амундсен П.-А., Сталдвик Ф. 1999. Оценка благополучия рыбной части водного сообщества по результатам морфопатологического анализа рыб // Успехи современной биологии. Т. 119. № 2. С. 165-177.

Lerner I.M. Genetic homeostasis. Edinburgh. 1954. 134 p.

Schröder J. H. Methods of screening radiation induced mutations in fish // Methodology for assessing impacts of radioactivity aquatic ecosystems. Vienna. 1979. P. 381-402.

UNDERYEARLINGS MORPHOPATHOLOGY AND PHENODEVIANTS OF MASS FISH SPECIES IN VOLGA STRETCH OF RYBINSK RESERVOIR

A.S. Vasiliev

Underyearlings phenodeviants and morphopathology of three mass fish species (bream, roach and perch) in Volga stretch of Rybinsk reservoir were analyzed. Injuries of scales integument integrity, anomalies of the mouthparts and axial skeleton (curvature of the spine, the doubled and additional spinous processes, union of dorsals), anomalies of fins (absence and immaturity dorsal, pelvic and abdominal fins) are revealed. The condition of intergals (gills, biliary, kidneys, intestines) in most cases is within the normal range.

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ РЫБ ПО АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ В ВОДОХРАНИЛИЩАХ С РАЗНЫМ ТИПОМ МИНЕРАЛЬНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Р.У. Высоцкая, С.А. Такшеев, В.С. Амелина

Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия
e-mail: rimma@bio.krc.karelia.ru

Изучение процессов трансформации природных комплексов Северной Европы, испытывающих значительную антропогенную нагрузку, является актуальной экологической проблемой. Особенно заметно в этом регионе негативное техногенное воздействие проявляется на пресноводных экосистемах, в которые загрязнение поступает с осадками, аэротехногенным путем, непосредственно с промышленными и хозяйственными стоками. Наибольшую опасность для ультрапресных водных объектов Карелии и Мурманской области представляет химическое загрязнение, приводящее к изменению основных физико-химических условий водной среды, таких как минерализация, ионный состав, прозрачность, рН и др. Промышленные поллютанты оказывают отрицательное влияние на водные экосистемы в целом, но особое значение для оценки их трансформации имеют исследования на рыбной части сообщества. Рыбы часто являются конечным звеном в трофической цепи, в котором накапливаются и отражаются все изменения на предыдущих уровнях (Кашулин и др., 1999). При проведении работ, связанных с биомониторингом и тестированием водоемов, в последнее время все чаще наряду с традиционными биологическими и гидрохимическими методами используют молекулярно-генетические и физиолого-биохимические методы (Яблоков, Остроумов, 1985; Хоружая, 1989; Сидоров и др., 1990; Цветков и др., 2003; Микулин, Микодина, 2004; Немова, Высоцкая, 2004; Такшеев, 2005). Привлечение широкого комплекса биохимических показателей при таком подходе позволяет выявить механизмы воздействия различных поллютантов на конкретные звенья метаболизма, провести раннюю диагностику токсикозов, определить приоритетные загрязнители и их опасность для гидробионтов.

При изучении влияния на обитателей водоемов разнообразных природных и антропогенных факторов, в том числе токсикантов органической и неорганической природы, было показано, что в защитных и приспособительных реакциях, ликвидации аварийных очагов ведущая роль принадлежит лизосомальным, микросомальным и другим ферментным системам (Немова, Высоцкая, 2004; Дудкин, Корниенко, 2005; Морозов и др., 2007; Versteeg, Giesy, 1985; Köhler, 1991).

Целью настоящего исследования являлось сравнительное изучение ответных реакций рыб на разные типы минерального загрязнения среды. Исследования проводили на видах, обитающих в водохранилищах, которые служат приемниками отходов – хвостов обогащения двух крупнейших горно-обогатительных предприятий на северо-западе России.

Объектами исследования служили 4 вида рыб из разных озер Карелии и Кольского полуострова: плотва, щука, сиг и ряпушка. Эти виды были массовыми в сообществах тех водоемов, где проводились исследования. В различных органах рыб определяли активность лизосомальных (кислой фосфатазы, РНКазы, ДНКазы, β -глюкозидазы, β -галактозидазы), цитоплазматических (щелочной фосфатазы и альдолазы) ферментов. Во фракции микросом из печени рыб определяли гидроксиллазную активность цитохрома Р-450 – монооксигеназы, ответственной за биотрансформацию ксенобиотиков. Кроме того, в тканях рыб оценивали содержание белка и накопление тяжелых металлов. Исследование проводили в содружестве с сотрудниками ИБВВ РАН (Борок), Института проблем промышленной экологии Севера РАН (Апатиты), СевНИИРХом (Петрозаводск), ПИНРО (Мурманск).

1) Влияние особого типа загрязнения оценивали в натуральных исследованиях на рыбах, обитающих в Костомукшском хвостохранилище (бывшее оз. Костомукшское –

верхний водоем системы р. Кенти) и в контрольных водоемах, не подвергающихся непосредственному техногенному воздействию – оз. Верхнее Куйто и Кимасозеро.

Химический состав воды хвостохранилища в настоящее время хорошо изучен: для него характерна высокая степень минерализации (500 мг/л), высокие концентрации ионов калия, аномальное соотношение основных ионов, щелочная среда (рН 8,5) и наличие мелкодисперсной минеральной взвеси (Дубровина и др., 1995). Концентрации тяжелых металлов и микроэлементов невелики и не превышают ПДК для рыбохозяйственных водоемов. К настоящему времени в хвостохранилище обитают 2 массовых вида рыб: плотва и щука. Отсутствуют окунь, обязательный компонент ядра всех ихтиоценозов Северо-Запада и ерш, которые обитают в нижележащих озерах системы р. Кенти. Техногенная вода хвостохранилища токсична для икры сига и молоди окуня, что было показано нами в аквариальных экспериментах (Гакшеев, 2005).

О неблагоприятных условиях обитания в Костомукшском хвостохранилище по сравнению с другими озерами региона можно судить по изменению ряда биологических показателей. У рыб из хвостохранилища выявлено снижение темпов роста, изменение соотношения полов в сторону преобладания самок, изменение возрастной структуры популяций рыб.

В органах и тканях рыб из чистых и загрязняемых отходами ГОКа озер изучали накопление цинка, меди, хрома, кобальта, кадмия и ртути. Содержание всех исследованных металлов в мышцах и печени рыб из хвостохранилища не превышало такового в контрольном водоеме, кроме меди в печени (12,0 и 5,4 мкг/г) и ртути в мышцах (0,260 и 0,155 мкг/г сырого веса) щуки. Следует отметить, что эти концентрации существенно ниже тех, которые наблюдаются в загрязняемых тяжелыми металлами регионах (Будников, 1998; Кашулин и др., 1999).

Полученные данные показали, что, несмотря на поступление в хвостохранилище значительных объемов минеральных веществ, накопления изучаемых тяжелых металлов в тканях рыб не наблюдается. Это объясняется наличием геохимического барьера в воде в виде высокого уровня рН, при котором тяжелые металлы имеют очень низкую подвижность, остаются в твердой фазе отходов, не переходя в воду хвостохранилища, или выпадают в осадок. На основании этого можно сделать вывод, что в Костомукшском хвостохранилище тяжелые металлы не являются ведущим фактором токсичности для рыб. Тем не менее, нельзя полностью исключить их вклад в токсичность техногенной воды ГОКа. Определенную опасность для нижележащих водоемов системы может представлять мелкодисперсная взвесь хвостов обогащения, из которой в условиях понижения рН могут выщелачиваться тяжелые металлы. Негативное воздействие техногенной воды Костомукшского ГОКа на водную биоту связывают прежде всего с высоким содержанием калия и аномальным соотношением щелочных и щелочноземельных металлов (Дубровина и др., 1995).

При сравнительном изучении биохимических показателей в органах и тканях плотвы и щуки из Костомукшского хвостохранилища и контрольных водоемов получены следующие результаты.

Сразу отметим, что характер изменения активности ферментов у обоих видов рыб в значительной мере совпадал, что говорит о сходстве механизмов биохимической адаптации к условиям существования в данном техногенном водоеме. Однако у плотвы наблюдались более существенные отклонения изученных показателей от контроля. Активность нуклеаз, кислой и щелочной фосфатазы в органах плотвы из хвостохранилища была повышенной. При этом в почках и жабрах это повышение составляло более 100 %. Гликозидазы в печени и мышцах были угнетены.

У щуки также повышенная активность ферментов была в почках и жабрах, органах осуществляющих обезвреживание, выведение, первыми встречающихся с токсикантами. В отличие от плотвы у щуки в мышцах более, чем в 4 раза по сравнению с нормой была повышена активность гликозидазы, что может быть связано с

необходимостью использования резервных источников углеводов для энергообеспечения в условиях гипоксии.

В целом, можно заключить, что механизмы поддержания гомеостаза, как на уровне тканей и клеток (биохимические), так и на уровне организма (физиологические и поведенческие) позволяют рыбам существовать в данном техногенном водоеме, что свидетельствует об их высоком адаптивном потенциале.

2) Воздействие несколько иного типа техногенного загрязнения на гидробионтов изучено при сравнении тех же биохимических показателей у сига и ряпушки из оз. Ковдор, загрязняемого стоками Ковдорского ГОКа, и из условно чистых водоемов - Нижняя Пиренга и Сямозеро.

В результате многолетнего загрязнения сточными водами ГОКа, занимающегося добычей и обогащением комплексных железных и апатит-баделитовых руд, произошли существенные изменения качества вод водоема-приемника: в несколько раз увеличилась минерализация, возросло значение pH (8,53 – 8,56) за счет увеличения концентраций щелочных (главным образом натрия) и щелочноземельных металлов. С техногенными водами поступает значительное количество взвешенных веществ, гидрокарбонатов и сульфатов, биогенных элементов и микроэлементов, в том числе тяжелых металлов. По сравнению с условно чистыми водоемами в оз. Ковдор в несколько раз превышена концентрация стронция, марганца, кобальта, железа, цинка, никеля и меди. Одним из приоритетных загрязняющих элементов в промышленной зоне Кольского полуострова является алюминий (Кашулин и др., 2005).

Рыбная часть сообщества оз. Ковдор представлена семью видами: кумжей, сигом, ряпушкой, голямом, колюшкой, щукой, налимом. В уловах преобладают ряпушка и сиг. Как и в Костомукшском хвостохранилище в водоеме отсутствует окунь, (Кашулин и др., 2005). В результате биологического и патолого-морфологического анализа у ковдорских сегов и ряпушки на организменном и популяционном уровне были выявлены некоторые отклонения по сравнению с обитателями условно чистых водоемов. Отмечено развитие ряда патологий, снижение темпов роста и продолжительности жизни, раннее созревание и др. В органах рыб накапливаются загрязняющие воду и донные отложения ионы металлов. В опорных органах, состоящих из костной ткани (скелет и жаберы), отмечено высокое содержание стронция. В печени и почках наблюдалось повышенное содержание цинка, марганца, меди и алюминия (Кашулин и др., 2005).

По данным биохимического анализа у сегов из оз. Ковдор активность обеих нуклеаз практически во всех органах была снижена по сравнению с контролем. Активность же других ферментов (кислой фосфатазы, гликозидаз, альдозазы) в условиях загрязнения престоками, напротив, была значительно повышена.

Снижение активности нуклеаз свидетельствует о нарушении метаболизма нуклеиновых кислот, а, следовательно, и таких процессов, как репликация, транскрипция, трансляция, репарация, корректное протекание апоптоза и др. Ингибирование этих ферментов тяжелыми металлами может сказаться, в целом на процессах адаптации к данному типу загрязнения.

В отличие от сига у ряпушки практически во всех органах наблюдался адаптивный всплеск активности изученных ферментов, включая нуклеазы. Это позволяет сделать вывод о меньших адаптивных возможностях сига по сравнению с ряпушкой. Интересно отметить, что к аналогичному выводу пришли исследователи из ИППЭС РАН, использовавшие для оценки состояния рыб патолого-морфологический анализ (Кашулин и др., 2005).

В этих исследованиях также была продемонстрирована большая чувствительность самцов обоих видов к данному типу загрязнения по сравнению с самками. Причем различия на внутриклеточном уровне проявляются значительно

раньше, чем это можно установить по общей картине метаболических отклонений. Это было показано в простом эксперименте *in vitro* на ряпушке.

Из печени самцов и самок ковдорской ряпушки, жившей в условиях хронической интоксикации, выделяли фракцию микросом и инкубировали эти органеллы в пробирках с различными концентрациями сульфата цинка. Реакцию со стороны монооксигеназной системы на ионы цинка оценивали по гидроксилазной активности цитохрома P-450. Было показано, что у самок активность фермента возрастала по мере повышения концентрации цинка в среде. У самцов при высоких концентрациях ионов металла активность уже не обнаруживалась. Следовательно, микросомы у самок и самцов из загрязненной зоны качественно различаются как по проницаемости мембран, так и по активности ферментов. Иными словами, эти внутриклеточные структуры, ответственные за биотрансформацию и обезвреживание эндо- и ксенобиотиков, у самок функционально более активны. У самцов же они не реагируют на повышенные концентрации токсикантов, т. е. не способны обеспечить необходимый уровень адаптаций.

Таким образом, в неспецифической картине биохимических адаптивных изменений, вызванных техногенным воздействием, можно выделить тонкие различия, которые определяются наряду с таксономической и половой принадлежностью рыб, особенностями их экологии, а также качественным составом и биодоступностью приоритетных токсических компонентов отходов горнорудного производства.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ для ведущих научных школ НШ-4310.2006.4, ФЦНТП 2006-Р-И-112.0/001/284 и Программы ОБН РАН «Фундаментальные основы управления биологическими ресурсами».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Будников Г.К. Тяжелые металлы в экологическом мониторинге водных экосистем // Соросовский образовательный журнал. – 1998. - № 5. – 23-29.
2. Дубровина Л.В., Калинин Н.М., Лозовик П.А. Факторы токсичности для гидробионтов техногенных вод Костомужского ГОКа // Влияние техногенных вод горно-обогатительного комбината на водные экосистемы реки Кенти. – Петрозаводск: Карел. науч. центр РАН, 1995. – С. 15-25.
3. Дудкин С.И., Корниенко Г.Г. Физиолого-биохимические параметры бычков как биомаркеры экологической обстановки в юго-восточной части Азовского моря // Наука Кубани. – 2005. - № 1. – С. 58-65.
4. Кашулин Н.А., Лукин А.А., Амундсен П.-А. Рыбы пресных вод Субарктики как биоиндикаторы техногенного загрязнения. – Апатиты: Изд. Кольского науч. центра РАН, 1999. – 142 с.
5. Кашулин Н.А. Антропогенные изменения лотических экосистем Мурманской области / Кашулин Н.А., Даувальтер В.А., Кашулина Т.Г. и др. Часть 1. Ковдорский район. – Апатиты: Изд. Кольского науч. центра РАН, 2005. – 234 с.
6. Микулин А.Е., Микодина Е.В. Энкефалины как эндогенные регуляторы адаптивного ответа на изменения факторов внешней среды // Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб. Расширенные материалы Всероссийск. науч.-практ. конф. – М.: Межвед ихтиол комиссия, 2004. – С. 211-235.
7. Морозов Д.Н. Активность цитохрома P-450 у сига *Coregonus lavaretus* и щуки *Esox lucius* из водоемов Субарктики при воздействии сточных вод горно-перерабатывающих предприятий / Морозов Д.Н., Высоцкая Р.У., Немова Н.Н., Кашулин Н.А. // Вопросы ихтиологии. – 2007. – Т. 47, № 1. – С. 101-106.
8. Немова Н.Н., Высоцкая Р.У. Биохимическая индикация состояния рыб. – М.: Наука, 2004. – 216 с.
9. Сидоров В.С. Принципы и методы эколого-биохимического мониторинга водосмов / Сидоров В.С., Юровицкий Ю.Г., Кириллюк С.Д., Такшеев С.А. // Биохимия

экто- и эндотермных организмов в норме и при патологии. – Петрозаводск: Карел. науч. центр РАН, 1990. – С. 5-27.

10. Такшеев С.А. Состояние рыбной части сообщества Костомукшского хвостохранилища и его оценка биохимическими методами: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Петрозаводск, 2005. – 23 с.

11. Хоружая Т.А. Перспективы использования биохимических функций в биомониторинге пресных вод // Гидробиол. журн. – 1989. – Т. 25, № 5. – С. 47-52.

12. Цветков И.Л., Попов А.П., Коницев А.С. Комплекс кислых фосфатов живородки речной в норме и при интоксикации ионами кадмия // Биохимия. – 2003. – Т. 68, № 12. – С. 1648-1656.

13. Яблоков А.В., Остроумов С.А. Уровни охраны живой природы. – М.: Наука, 1985. – 175 с.

14. Köhler A. Lysosomal perturbations in fish liver as indicators for toxic effects of environmental pollution // Compar. Biochem. and Physiol. C. – 1991. - V. 100, No 1-2. – P. 123-127.

15. Versteeg D.J., Giesy J.P. Lysosomal enzyme release in the bluegill sunfish (*Lepomis macrochirochirus* Rafinesque) exposed to cadmium // Arch. Environ. Contam. Toxicol. – 1985. – V. 14. – P. 631-640.

ESTIMATION OF FISH'S CONDITION IN RESERVOIRS WITH THE DIFFERENT TYPES OF MINERAL POLLUTION BY ENZYMIC ACTIVITY

R.U. Vysotskaya, S.A. Taksheev, V.S. Amelina
The Institute of Biology Karelian Research Center RAS
e-mail: rimma@bio.krc.karelia.ru

Population condition and enzymatic status of fish inhabit in two reservoirs with different types of mineral pollution (reservoir I: predominant pollutant – K^+ ; reservoirs II: heavy metals, microelements) were investigated. Nonspecific adaptive biochemical changes in fish tissues involve some features connected with sex, specie, ecology of studied biological object and the major contaminant of industrial wastewater. 1) Roach and pike successfully adapt to the type I of water pollution by rather similar biochemical mechanisms, whereas such living condition is lethal for perch. 2) Whitefish is more sensitive to heavy metal uptake (type II of water pollution) than vendace. The most drastically changes occur in nucleic acids metabolism. 3) Superiority of female's adaptive abilities was shown both in experiment and *in situ* conditions.

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЗАВОДСКОЙ МОЛОДИ ТИХООКЕАНСКИХ ЛОСОСЕЙ КАМЧАТКИ

Гаврюева Т.В.

Камчатский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии
(КамчатНИРО), Петропавловск-Камчатский, Россия
e-mail: kamniro@mail.kamchatka.ru

В результате гибели от заболеваний аквакультура теряет в среднем до 15–20% продукции и более (Стрелков и др., 2005), поэтому мониторинг за состоянием здоровья рыб в естественных водоемах и на рыбоводных заводах — обязательное условие рационального ведения лососевого хозяйства во всех регионах Дальнего Востока.

От правильной и своевременной постановки диагноза зависит выбор лечебных препаратов и эффективность обработок. Для диагностики инфекционных и инвазионных заболеваний в лаборатории болезней рыб и беспозвоночных ФГУП КамчатНИРО применяются различные методы исследований: вирусологические, бактериологические, паразитологические, гематологические, гистологические и гистохимические. Последние позволяют выявлять болезни на начальной стадии развития и судить о степени воздействия патогенных агентов на организм рыб.

Материалом для настоящих исследований послужили гистологические пробы, отобранные в 2000–2004 гг. от молоди тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus* на 5 ЛРЗ Камчатки: Паратунском (ПЭЛРЗ), Кеткино (КЛРЗ), Озерки (ОЛРЗ), Малкинском (МЛРЗ) и Вилуйском (ВЛРЗ), где воспроизводят кету (*O. keta*), нерку (*O. nerka*), чавычу (*O. tshawytscha*) и кижуча (*O. kisutch*). Исследовано 1219 экз. заводских рыб. Контролем служили пробы от 462 экз. молоди лососей разного возраста из рек Большая, Авача и Паратунка, в бассейнах которых расположены рыбоводные заводы.

При сборе материала использовали биологический и клинический анализы, патологоанатомическое вскрытие, гистологические и гистохимические методы исследования. Отобранные для анализа пробы кожи, жабр, передней и задней почки, печени и желчного пузыря, желудочка сердца, предсердия, плавательного пузыря, селезенки, пищевода, желудка, кишечника, головного мозга, скелетной мускулатуры и хрящевой ткани фиксировали в 10% буферном формалине и в жидкости Дэвидсона (Buscke, 1998). Дальнейшую обработку гистологических проб проводили по общепринятой методике (Austin, Austin, 1989; Bancroft et al., 1990). Препараты окрашивали гематоксилин-эозином по Мейеру, Романовскому-Гимза и железным гематоксилином по Гейденгайну, Циль-Нильсену, ШИК-световым зеленым и по Граму.

В результате проведенных исследований у молоди лососевых рыб из естественных водоемов обнаружены незначительные гистопатологические изменения, которые носили локальный характер. У заводских рыб были выявлены болезни различной этиологии, которые вызывали структурные нарушения органов и тканей особей: инфекционный некроз гемопоэтической ткани, бактериальная жаберная инфекция, ихтиободоз, ихтиофоноз и алиментарный токсикоз (Рудакова и др., 2005).

Наиболее часто встречающимися для камчатских заводских лососей являются алиментарные заболевания, которые, как правило, протекают в хронической форме и связаны с тем, что заводская молодежь получает несбалансированные или недоброкачественные корма. При визуальном осмотре заводских рыб внешние признаки патологии отмечали редко. Лишь у отдельных особей обнаруживали потемнение кожных покровов и нарушение координации движения (рыбы плавали на боку). При патологоанатомическом вскрытии у лососей чаще всего наблюдали анемию жабр, расширение кровеносных сосудов, бледность и пониженный тургор печени и почки, обилие жировых отложений в брюшной полости. Реже регистрировали наличие сгустков крови в полости тела, аспит, высокую вариабельность значений массы тела.

В результате гистологического и гистохимического исследования рыб установили: липоидную и цериодную дегенерацию гепатоцитов; расширение желчного пузыря и переполнение его желчью; фокальный некроз гемопоэтической ткани почки, нефрокальциноз и гиалиново-капельную дегенерацию цилиндрического эпителия почечных канальцев, атрофию поджелудочной ткани и увеличение внутренних жировых отложений, некроз слизистого слоя, деструкцию ворсинок желудка и кишечника.

В большинстве случаев, обнаруженные деструктивные изменения являются обратимыми, хотя существенно ослабляют сопротивляемость организма рыб, и как следствие, оказывают негативное влияние на готовность молодежи к поклатной и океанической миграции, а также повышают их восприимчивость к заболеваниям различной этиологии. Степень тяжести деструктивных изменений варьирует в зависимости от вида рыб, длительности кормления и температуры воды. Патологии алиментарной природы наиболее выражены у чавычи, наименее — у кеты.

Ихтиободоз (костюз) диагностировали у молодежи нерки в 2000, 2002, 2004 гг. на Малкинском и у молодежи кижуча в 2004 г. на Вилуйском ЛРЗ. По результатам паразитологических исследований, экстенсивность (доля зараженных рыб в выборке) инвазии варьировала от 90 до 100%, интенсивность (среднее количество паразитов в органах и тканях одной зараженной рыбы в каждом из 25 полей зрения при увеличении $\times 100$), в основном, — от 10 до 50 экз. Исключение составила эпизоотия ихтиободоза у нерки на МЛРЗ в 2002 г., когда в результате ослабления резистентности рыб под воздействием инфекционного некроза гемопоэтической ткани (ИHN) интенсивность инвазии этим простейшим паразитом достигала 1164 экз.

Визуально у рыб отмечали истощение, потемнение кожных покровов. При патологоанатомическом вскрытии регистрировали отсутствие кормовых масс в желудочно-кишечном тракте, отечность и обильное слизеотделение в жабрах и коже. Гистологическими методами в респираторном эпителии жабр и эпидермальном слое кожи обнаружили увеличение количества слизистых клеток, вакуолизацию цитоплазмы, фокальный некроз, обширную гиперплазию клеток, слипание жаберных ламелл. Свободные и прикрепленные формы *Ichthyobodo necator* отмечали на жаберных ламеллах и коже.

Выявленные деструктивные изменения вызывали нарушения жаберного и кожного дыхания, результатом чего явился повышенный отход рыб. Оптимальная температура для размножения данного паразита в водоемах Камчатки 5–6,5°C (Карманова, 1998), поэтому это заболевание особенно опасно при выращивании мальков на тепловодном Малкинском ЛРЗ и в период подращивания молодежи в летне-осенний период на холодноводных заводах. Жгутиконосцы *I. necator* способны осложнить процесс адаптации рыб к новой среде обитания при миграции к морю. В период перехода поклатников лососей в соленую воду костюз жабр может привести к летальному исходу (Вейдемейер и др., 1981).

Бактериальная жаберная инфекция. В 2004 г. у кижуча и кеты на Вилуйском ЛРЗ отмечали заболевание жабр, вызванное смешанной бактериальной флорой *Flavobacterium psychrophilum* и *Pseudomonas fluorescens* (Устименко, 2006). При отборе проб у заводских мальков кеты и кижуча, показанием к которому был повышенный отход рыб, наблюдали отечность жабр. Гистологически у этих лососей обнаружили: интерстициальный отек, обширную гиперплазию респираторного эпителия и слипание жаберных ламелл. Между жаберными филаментами и на поверхности жаберных ламелл отмечали скопление нитевидных грамотрицательных бактерий длиной до 8 мкм. Пикноз в клетках, гиперплазию и скопление аналогичных бактерий регистрировали на поверхности эпидермиса. У кижуча наблюдали гиперплазию и некроз клеток спинного плавника. В паренхиматозных органах обнаружили обильное кровенаполнение.

У молоди кижуча при развитии заболевания, в одном из бассейнов выявили около 80% рыб с внешними признаками патологии: больные особи держались около поверхности воды, жабры были отечны, жаберные крышки приоткрыты. У рыб отмечали нарушение координации движения, ослизнение жабр и многочисленные ватообразные печени и почки, у 40% особей желудочно-кишечный тракт был заполнен прозрачной слизью.

Кроме деструктивных изменений, выявленных ранее, в этот период отмечали обширный некроз и расплавление жаберной ткани; обильное слизеотделение, гиперплазию, некроз клеток эпителиального слоя глотки, цитоллиз подслизистого слоя и скопление некротизированных клеток в просвете желудка и кишечника; обильное слизеотделение в эпидермальном слое кожи. В этих же органах обнаружили множественное скопление гифов сапролегниевых грибов, частиц ила и бактерий. На жаберных ламеллах и эпидермисе регистрировали множественные скопления простейшего жгутиконосца *I. necator*. Гиперемию и петехиальные (точечные) геморрагии наблюдали в почке и печени. Выявленные деструктивные изменения носили необратимый характер. Смертность молоди кижуча в результате заболевания достигла 20%.

Ихтиофоз выявили в 2004 г. у молоди кижуча второго года выращивания, оставленной на Вилюйском заводе в качестве эксперимента (Гаврюсева, 2007). Это заболевание было вызвано простейшим организмом *Ichthyophonus hoferi*, ранее отнесенным к несовершенным грибам, а теперь — к протозойным жгутиковым (Protozoa, класс Mesomycetozoea; порядок Ichthyophonida) (Mendoza et al., 2002).

Внешних признаков патологии у лососей не отмечали. При патолого-анатомическом вскрытии у 10% особей регистрировали увеличение и переполнение желчного пузыря. Гистологические исследования позволили обнаружить споры гриба *I. hoferi* в просвете кардиального и пилорического отделов желудка у 50% обследованных особей. Выявлено, что более всего у рыб повреждаются васкуляризированные ткани: почка, сердце и печень, в меньшей степени — скелетная мускулатура, поджелудочная железа, соединительная и жировая ткань. В этих тканях обнаружены многоядерные "покоящиеся споры" 50–230 мкм в диаметре. Ответной реакцией организма на внедрение данного паразита явилось образование гранулем, которые часто окружены волокнистой соединительной тканью, иногда — со скоплениями вокруг них меланоцитов, макрофагов или нейтрофилов. Выявленные гистопатологические изменения характерны для хронической формы этого заболевания.

Наиболее опасным заболеванием, выявленным на камчатских ЛРЗ, был инфекционный некроз гемопозитической ткани (ИHN). У молоди нерки на ЛРЗ зафиксировано две вспышки эпизоотии (Рудакова, 2003; 2004; Гаврюсева, 2004). Смертность молоди на Малкинском ЛРЗ в 2002 г. составила 76, на ЛРЗ Озерки в 2004 г. — 48%.

Инфекционный некроз гемопозитической ткани протекал в острой форме. При гистологическом исследовании молоди нерки на двух заводах, а также кеты и нерки, экспериментально зараженных вирусом IHNV, выявили аналогичные внешние признаки патологии и гистопатологические изменения в органах и тканях.

Воротами для данной инфекции являются жабры, желудочно-кишечный тракт и поврежденные кожные покровы. Вирус размножается и распространяется через соединительную ткань органов и гематогенным путем. В результате инфекции, прежде всего, поражается гемопозитическая ткань почки и селезенки. В дальнейшем, деструктивные изменения почечных канальцев и клубочков вызывают нарушение водно-солевого гомеостаза и интоксикацию организма рыб, приводя к жировой и зернистой дегенерации печени. При генерализации инфекции поражаются практически все

органы и ткани. Инфицированные рыбы выделяют вирус с мочой, слизистыми выделениями кишечника, через жабры, кожу и ткани плавников.

Учитывая недостаточное количество диагностических ихтиовирусологических лабораторий в России, наличие некротических изменений в гемопозитической ткани почки и селезенки, компактном слое желудочно-кишечного тракта, жабрах и поджелудочной ткани, наряду с гематологическими исследованиями (Рудакова, 2004), может служить предварительным диагнозом инфекционного некроза гемопозитической ткани.

Для сохранения здоровья и предотвращения возникновения эпизоотий у заводской молодежи тихоокеанских лососей очень важна ранняя диагностика заболеваний. Необходимо строго соблюдать технологические требования, описанные в Инструкции по болезням рыб. Для устранения патологического ожирения печени в рацион заводских рыб следует добавлять свежий корм (Факторович, 1984), но в целях предотвращения заражения рыб патогенами (например, ихтиофенозом) это необходимо подвергать термической обработке. Обязательным также является применение антидотных препаратов: аскорбиновой кислоты (Соколов, Андреев, 1989), протеолитических ферментов (Валова, 1998), мидийного гидролизата (Гамыгин и др., 2001) и др. Чтобы избежать эпизоотии инфекционного некроза гемопозитической ткани у рыб, кроме вышеуказанных мер, предлагаем использовать рекомендации, в "Руководстве по искусственному воспроизводству нерки на Аляске" (Alaska sockeye salmon..., 1994) и работе С.Л. Рудаковой в соавторах (Rudakova et al., 2007).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Валова В.Н. Использование протеолитических ферментов в лососеводстве // Рыбное хоз-во. 1998. № 1. С. 44–45.

Гаврюсева Т.В. Гистопатологические изменения при инфекционном некрозе гемопозитической ткани (ИHN) у мальков нерки *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) на Малкинском ЛРЗ в период эпизоотии // Вопросы рыболовства. 2004. Т. 5. № 1(17). С. 132–146.

Гаврюсева Т.В. Первый случай ихтиофеноза у молодежи кижуча *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum) в условиях аквакультуры на Камчатке // Биология моря. 2007. Т. 33, № 1. С. 49–53.

Гамыгин Е.А., Линник А.В., Пономарев С.В., Абросимова Н.А., Бойков Ю.А. Методические указания по применению мидийного гидролизата в кормах для молодь лососевых и осетровых рыб // Сборник научно-технической и методической документации по аквакультуре. – М.: ВНИРО, 2001. С. 231–236.

Вейдемейер Г.А., Мейер Ф.П., Смит Л. Стресс и болезни рыб. – М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1981. 127 с.

Карманова И.В. Паразиты тихоокеанских лососей в эпизоотической обстановке паразитозов в бассейне реки Паратунки (Камчатка). Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.: Ин-т Паразитол. РАН, 1998. 23 с.

Рудакова С.Л. Некроз гемопозитической ткани у производителей нерки и предлагаемые источники инфекции // Вопр. рыболовства. 2003. Т. 4, № 1(13). С. 93–102.

Рудакова С.Л. Состояние здоровья популяций лососей на Камчатке и воздействие на них вируса инфекционного некроза гемопозитической ткани // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Петрозаводск: Петрозав. гос. ун-т, 2004. 24 с.

Рудакова С.Л., Устищенко Е.А., Гаврюсева Т.В., Сергеев Н.В., Линева Г.П., Корнеева С.А., Бочкова Е.А. Эпизоотическая обстановка на ЛРЗ Камчатки и состояние здоровья производителей, используемых для воспроизводства тихоокеанских лососей в 2004 г. // Эпизоотологический мониторинг в аквакультуре: состояние и перспективы: Материалы Всероссийской научно-практической конференции, Москва, 13–14 сентября 2005 г. – М.: Россельхозакадемия, 2005. С. 101–104.

Устименко Е.А. Признаки бактериальной жаберной болезни у молоди кижуча на Вилюйском рыбноводном заводе (Камчатка) // Вопр. рыболовства. 2006. Т. 7, № 3(27). С. 436–445.

Соколов В.Д., Андреева Н.Л. Фармакологическая коррекция стресса // Ветеринария. 1989. № 5. С. 61–64.

Стрелков Ю.А. Наумова А.М. Щелкунов И.С., Головин П.П., Гробов О.Ф. Эпизоотологический мониторинг в аквакультуре: итоги работы научно-консультативного Совета по болезням рыб Межведомственной ихтиопатологической комиссии и секции Патологии рыб и охраны гидробионтов отделения Ветеринарной медицины Россельхозакадемии // Эпизоотологический мониторинг в аквакультуре: состояние и перспективы: Материалы Всероссийской научно-практической конференции, Москва, 13–14 сентября 2005 г. М.: Россельхозакадемия, 2005. С. 125–128.

Факторович К.А. Алиментарные заболевания рыб // Биологические основы рыбноводства: паразиты и болезни рыб. – М.: Наука, 1984. С. 144–159.

Alaska sockeye salmon culture manual // Special Fish. Rep. V. 6. – Anchorage: Alaska Dep. Fish Game. Div. Commer. Fish. Manag. Develop. Alaska, 1994. P. 1–40.

Austin B., Austin D.A. Bacterial fish pathogens: Disease in farmed and wild fish. – New York; London; Toronto: Ellis Horwood Ltd., 1993. P. 265–278.

Bancroft D., Stevens A., Turner D.R. Theory and practice of histological techniques. – Edinburgh; London; Melbourne; New York: Churchill Livingstone Inc., 1990. 725 p.

Mendoza L, Taylor J.W, Ajello L. The class mesomycetozoa: a heterogeneous group of microorganisms at the animal–fungal boundary // Annu. Rev. Microbiol. 2002. Vol. 56. P. 315–344.

Rudakova S.L., Kurath G., Bochkova E.V. Occurrence and genetic typing of infectious hematopoietic necrosis virus in Kamchatka, Russia // Dis. Aquat. Org. 2007. V. 75. P. 1–11.

PATHOMORPHOLOGICAL ANALYSIS IN ARTIFICIAL REARED JUVENILES OF PACIFIC SALMON IN KAMCHATKA

T. V. Gavrusseva

Results of the histological and histochemical researches of juvenile Pacific salmon *Oncorhynchus* at the 5 salmon hatcheries of Kamchatka have been presented. Researches are carried out in 2000–2004. Destructive changes were revealed by the infectious hematopoietic necrosis, the alimentary toxicosis, the *Ichthyophonus* infection, the ichthyobodosis (costiosis) and by the bacterial gill infection from artificial salmon.

ВЛИЯНИЕ СВЕРХНИЗКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ НИТРОЗОГУАНИДИНА В ПЕРИОД ЭМБРИОГЕНЕЗА НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ КАРБОГИДРАЗ СЕГОЛЕТКОВ ПЛОТВЫ К ДЕЙСТВИЮ БИОГЕННЫХ МЕТАЛЛОВ (Cu И Zn)

И.Л. Голованова, М.Г. Таликина, А.А. Филиппов

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанова РАН, Борок, Россия.
e-mail: golovan@biw.yaroslavl.ru

В результате хозяйственной деятельности человека многие водоемы загрязнены различными токсикантами как органической, так и неорганической природы. Тяжелые металлы, относящиеся к группе приоритетных загрязнителей водной среды, поступают в организм рыб из пищи либо непосредственно из воды. Они аккумулируются в различных органах и тканях и по мере необходимости используются в различных физиолого-биохимических процессах. Чрезмерное поступление ксенобиотиков в организм индуцирует синтез металлоионсиннов, которые образуют комплексы с ионами тяжелых металлов и препятствуют их вовлечению в метаболический цикл. Cu и Zn относятся к числу микроэлементов, необходимых для нормального функционирования организма гидробионтов. Они выполняют важные биологические функции, входят в состав активного центра различных ферментов, являются кофакторами многих ферментативных реакций. В то же время в высоких концентрациях эти металлы могут негативно влиять на различные параметры жизнедеятельности, в том числе и на иммунофизиологический статус рыб (Заботкина, Лапирова, 2003). В настоящее время установлено, что в кишечнике костистых рыб существует достаточно эффективная защита от токсической и аллергической агрессии, включающая структурный и энзиматический барьеры (Кузьмина, 1995). Уменьшение активности пищеварительных ферментов в присутствии ионов Cu и Zn в концентрациях 0.1–25 мг/л (Голованова, 2006; Кузьмина и др., 2004) может снижать эффективность энзиматического барьера, обеспечивающего неспецифическую защиту рыб от аллергической агрессии. Кроме того, различные антропогенные факторы, такие как ацидификация водоемов, повышенный уровень тепловой нагрузки, хроническое действие тяжелых металлов, не только подавляют скорость гидролиза углеводов, но и повышают чувствительность пищеварительных карбогидраз рыб к действию ионов Cu, Zn и Cd (Голованова, 2006).

Для прогнозирования риска воздействия на рыб сверхмалых количеств токсикантов особое значение имеет оценка отдаленных последствий действия токсических агентов в зародышевый период, поскольку у большинства видов рыб все стадии эмбриогенеза протекают во внешней среде, и прямое действие неблагоприятных факторов возможно уже с самых ранних этапов индивидуального развития. В настоящее время экспериментально показана высокая чувствительность плотвы *Rutilus rutilus* L. в период эмбрионального развития к действию ряда физических и химических агентов. Последствия таких воздействий приводят к снижению жизнеспособности и линейно-весового роста развивающегося потомства, нарушению функциональных характеристик репродуктивных желез и пищеварительных гидролаз кишечника, а также к другим онтогенетическим нарушениям с явной патологией (Таликина и др., 2003; Голованова, Таликина, 2006). Установлено, что кратковременное действие электромагнитных волн (500 Гц), а также хлорофоса ($1 \cdot 10^{-4}$ мг/л) и нитрозогуанидина (7.5 мг/л) в период эмбриогенеза изменяет скорость гидролиза углеводов в кишечнике развивающихся сеголетков плотвы и чувствительность пищеварительных карбогидраз к действию солей тяжелых металлов (Котикова и др., 2005). В указанной работе была испытана лишь одна концентрация N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидина (MNNG) – генотоксиканта с прямым влиянием на химическую структуру ДНК, широко используемого в работах по индуцированию

канцерогенеза у рыб (Chen et al., 1996), что затрудняет полноту представления о характере зависимости “доза-эффект”.

В настоящем сообщении приведены результаты эксперимента по кратковременному влиянию широкого ряда сверхмалых и малых концентраций MNNG в период эмбриогенеза на активность пищеварительных карбогидраз и их чувствительность к действию ионов Cu и Zn *in vitro* у 4-месячной молоди плотвы.

Работа выполнена на экспериментальной прудовой базе Института биологии внутренних вод РАН. Для опытов использовали осемененную икру от 6 самцов и 5 самок, выловленных на нерестилище Рыбинского водохранилища в мае 2006 г. Через 7-10 мин после осеменения икру (около 3 тыс. для каждого из вариантов) посеяли в кристаллизаторы и, после набухания и приклеивания, залили равными объемами растворов речной воды, содержащих $3 \cdot 10^{-7}$, $3 \cdot 10^{-6}$, $3 \cdot 10^{-5}$, $3 \cdot 10^{-4}$, $3 \cdot 10^{-3}$, $3 \cdot 10^{-2}$ и $3 \cdot 10^{-1}$ мг/л MNNG. Контролем служила икра, инкубированная в таких же кристаллизаторах с речной водой. Экспозиция зародышей в токсических средах при температуре инкубации 14.5–16°C продолжалось в течение 48 ч. Затем растворы были заменены речной водой. Приготовление растворов и их смену, а также смену воды в контроле проводили дважды в сутки. После рассасывания желточного мешка личинок выпустили в однотипные выростные пруды с естественной кормовой базой, в которых они находились до 4-мес. возраста.

По завершении эксперимента у подопытных сеголетков определяли длину и массу тела, затем изымали желудочно-кишечный тракт и готовили суммарные гомогенаты кишечника от 20 рыб, используя раствор Рингера для холоднокровных животных (110 mM NaCl, 1.9 mM KCl, 1.3 mM CaCl₂, pH 7.4). Растворы субстратов (1.8%-ный крахмал и сахароза в концентрации 50 ммоль/л) готовили на том же растворе Рингера. Растворы ферментативно-активного препарата и субстрата инкубировали в течение 30-60 мин при температуре 20°C, pH 7.4. При изучении влияния ионов Cu и Zn определяли ОАА в гомогенатах слизистой оболочки кишечника, предварительно инкубированных в присутствии сернокислых солей меди (CuSO₄·5H₂O) и цинка (ZnSO₄·7H₂O) в течение 1 часа. Концентрации ионов Cu и Zn, рассчитанные по общему содержанию металла в соли, составляли 0.1–25 мг/л. Общую амилолитическую активность (ОАА), отражающую суммарную активность α-амилазы КФ 3.2.1.1, глюкоамилазы КФ 3.2.1.3 и ферментов группы мальтазы КФ 3.2.1.20, а также активность сахаразы КФ 3.2.1.48 оценивали модифицированным методом Нельсона (Уголев, Иезуитова, 1969). Результаты обработаны статистически с использованием ANOVA и последующей оценкой различий при помощи LSD теста, $p \leq 0.05$.

Выживаемость экспериментальной молоди в контроле и во всех вариантах токсического воздействия не превышала 70% от общего числа посаженных личинок. При эмбриотоксическом действии всех испытанных концентраций MNNG (за исключением $3 \cdot 10^{-3}$ мг/л) отмечено достоверное увеличение длины и массы тела подопытных сеголетков по сравнению с контрольными особями (табл. 1). Зависимость изменения морфометрических показателей от концентрации MNNG носит нелинейный характер. Максимальное увеличение длины на 24% и массы тела на 94% от контроля отмечено при концентрации MNNG $3 \cdot 10^{-4}$ мг/л.

Уровень ОАА и активности сахаразы у сеголетков плотвы (табл. 1) превышает аналогичные показатели у одновозрастной молоди плотвы Рыбинского водохранилища, что свидетельствует об удовлетворительной кормовой базе в выростных прудах и высокой функциональной активности пищеварительной системы у подопытных рыб в конце первого нагульного периода. Статистически значимое снижение уровня ОАА на 9–41% и активности сахаразы на 24–46% при эмбриотоксическом действии MNNG, отмечено у рыб с достоверно большими, по сравнению с контролем, размерно-массовыми показателями, т. е. снижении скорости начальных этапов ассимиляции

углеводных компонентов корма у сеголетков плотвы не оказывает негативного влияния на показатели линейно-массового роста. Поскольку естественная пища личинок и молоди большинства видов рыб (мелкий зоопланктон) богата легкоусвояемыми низкомолекулярными пептидами и свободными аминокислотами (Остроумова, 2003) вполне вероятно, что увеличение линейно-массового роста молоди может быть частично обусловлено увеличением эффективности усвоения белковых компонентов пищи. Кроме того, низкая скорость начальных этапов ассимиляции углеводов может компенсироваться повышением эффективности заключительных этапов их усвоения или снижением энергетических расходов организма на двигательную активность, что нередко наблюдается при обилии корма в условиях токсического воздействия (Глубоков, 1990). Интересно отметить, что крайние из испытанного диапазона концентраций MNNG ($3 \cdot 10^{-7}$ – $3 \cdot 10^{-6}$ и $3 \cdot 10^{-2}$ – $3 \cdot 10^{-1}$ мг/л) снижают активность карбогидраз на 30–46% от контроля. Этот факт свидетельствует о том, что пищеварительные карбогидразы развивающейся молоди проявляют высокую чувствительность к эмбриотоксическому действию не только низких, но и сверхнизких концентраций нитрозогуанидина, а концентрации MNNG, отличающиеся на 5 порядков, могут вызывать равные по величине и направленности эффекты.

Таблица 1. Морфометрические и биохимические показатели 4-х мес. сеголетков плотвы

Концентрация MNNG, мг/л	Показатели			
	Длина тела, см	Масса тела, г	ОАА, мкмоль/г·мин	Активность сахаразы, мкмоль/г·мин
0.0	6.30 ± 0.06	4.30 ± 0.18	52.57 ± 0.69	2.64 ± 0.05
$3 \cdot 10^{-7}$	6.57 ± 0.06**	4.78 ± 0.14*	35.72 ± 0.70***	1.70 ± 0.04***
$3 \cdot 10^{-6}$	7.26 ± 0.06***	6.43 ± 0.19***	30.98 ± 0.49***	1.43 ± 0.03***
$3 \cdot 10^{-5}$	6.96 ± 0.08***	5.60 ± 0.18***	43.81 ± 1.28***	2.01 ± 0.03***
$3 \cdot 10^{-4}$	7.80 ± 0.07***	8.35 ± 0.18***	47.12 ± 1.87	1.79 ± 0.02***
$3 \cdot 10^{-3}$	6.46 ± 0.07	4.48 ± 0.13	39.61 ± 0.71***	1.84 ± 0.03***
$3 \cdot 10^{-2}$	7.26 ± 0.08***	6.92 ± 0.20***	37.02 ± 1.08***	1.83 ± 0.06***
$3 \cdot 10^{-1}$	7.16 ± 0.07***	6.17 ± 0.20***	44.65 ± 1.49***	1.63 ± 0.08***

Примечание. Различия показателей статистически достоверны по сравнению с контролем при * – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$.

На примере ОАА были изучены отдаленные последствия эмбриотоксического действия MNNG на чувствительность пищеварительных карбогидраз плотвы к действию ионов биогенных металлов *in vitro*. У сеголетков контрольной группы отмечено достоверное снижение уровня ОАА в диапазоне концентраций ионов Cu или Zn 1–25 мг/л (табл. 2). При совместном действии ионов Cu и Zn установлено усиление ингибирующего эффекта, причем достоверное снижение ОАА показано и при более низкой (0.1 мг/л) концентрации ионов. Как у контрольных рыб, так и у особей, подвергнутых эмбриотоксическому действию MNNG, зависимость величины тормозящего эффекта от концентрации ионов Cu и Zn в большинстве случаев носит линейный характер. MNNG в ряду испытанных концентраций оказывает неодинаковое по величине и направленности влияние на чувствительность карбогидраз подопытных сеголетков плотвы к действию ионов биогенных металлов. Так, у опытных рыб, по сравнению с контролем, выявлено как ослабление (особенно при сверхнизких концентрациях MNNG), так и усиление тормозящего эффекта ионов Cu или Zn. Интересно также отметить, что в варианте с концентрацией MNNG $3 \cdot 10^{-3}$ мг/л, при отсутствии достоверных различий длины и массы тела опытной молоди с

контрольными сверстниками, наблюдается наибольшее усиление чувствительности кишечных карбогидраз к раздельному и совместному действию ионов Cu и Zn.

Таблица 2. Снижение общей амилолитической активности в гомогенатах слизистой оболочки кишечника сеголетков плотвы в присутствии ионов Cu и Zn в % от контроля (концентрация ионов Cu или Zn 0 мг/л), принятого за 100%, $p < 0.05$.

Концентрация MNNG, мг/л	Величина торможения ОАА в % от контроля				
	Концентрация ионов Cu и Zn, мг/л				
	0.1	1	5	10	25
Cu					
0.0	–	20	25	30	69
$3 \cdot 10^{-7}$	–	–	–	35	35
$3 \cdot 10^{-6}$	–	–	–	36	42
$3 \cdot 10^{-5}$	–	–	28	31	60
$3 \cdot 10^{-4}$	–	–	–	35	38
$3 \cdot 10^{-3}$	25	–	44	41	65
$3 \cdot 10^{-2}$	–	–	27	39	67
$3 \cdot 10^{-1}$	17	–	29	34	47
Zn					
0.0	–	10	20	20	22
$3 \cdot 10^{-7}$	–	–	–	–	39
$3 \cdot 10^{-6}$	–	–	–	–	28
$3 \cdot 10^{-5}$	–	–	–	–	30
$3 \cdot 10^{-4}$	–	–	23	25	17
$3 \cdot 10^{-3}$	33	19	30	32	53
$3 \cdot 10^{-2}$	19	19	26	26	37
$3 \cdot 10^{-1}$	–	19	–	–	27
Cu+Zn					
0.0	18	24	45	54	70
$3 \cdot 10^{-7}$	–	–	27	44	62
$3 \cdot 10^{-6}$	–	–	20	37	30
$3 \cdot 10^{-5}$	–	–	35	40	48
$3 \cdot 10^{-4}$	–	–	23	31	36
$3 \cdot 10^{-3}$	27	26	56	67	77
$3 \cdot 10^{-2}$	–	–	20	30	45
$3 \cdot 10^{-1}$	13	–	40	43	60

Примечание. – отсутствие достоверного эффекта.

При изучении отдаленных последствий кратковременного действия низких доз хлорофоса ($1 \cdot 10^{-6}$ - $1 \cdot 10^{-2}$ мг/л) в период раннего эмбриогенеза у подопытных сеголетков плотвы были установлены разнонаправленные изменения активности карбогидраз и кинетических характеристик гидролиза ди- и полисахаридов (Голованова, Таликина, 2006). При наиболее высокой концентрации испытанного органического яда ОАА слизистой оболочки кишечника плотвы практически не изменялась, в остальных же случаях – достоверно снижалась, причем максимальное ее торможение отмечено в средней точке дозозависимого профиля. Активность сахаразы, напротив, достоверно возрастала, причем наибольший стимулирующий эффект был отмечен в крайних точках испытанного диапазона концентраций. Разнонаправленные эффекты действия хлорофоса в период эмбриогенеза плотвы на ОАА (показатель суммарной активности

панкреатической α -амилазы и собственно-кишечных глюкоамилазы и мальтазы) и активность сахаразы (маркерного фермента щеточной каймы энтероцитов) у сеголетков плотвы, могут быть связаны с неодинаковым влиянием токсиканта на процессы синтеза панкреатических и собственно кишечных ферментов. При изучении отдаленных последствий кратковременного действия сверхнизких доз химического мутагена MNNG ($3 \cdot 10^{-7}$ – $3 \cdot 10^{-1}$ мг/л) в эмбриональный период установлено повышение линейно-массовых размеров рыб и снижение как ОАА, так и активности сахаразы. Зависимость изученных показателей от концентрации токсиканта носит нелинейный характер. При этом отдаленные последствия влияния сверхнизких и самых высоких из испытанных концентраций MNNG совпадают по силе действия, что хорошо согласуется с результатами работ по изучению действия сверхмалых концентраций биологически активных соединений у высших позвоночных (Бурлакова и др., 1990).

В экспериментах *in vitro* были показаны разнонаправленные изменения активности пищеварительных ферментов пресноводных рыб в присутствии различных концентраций ионов Cu и Zn (Кузьмина и др., 2004; Голованова, 2006). Величина эффекта зависела от вида рыб, концентрации ионов металла, структуры фермента и субстрата, а также ряда биотических и абиотических факторов среды. Впервые установлено, что MNNG в широком диапазоне испытанных концентраций не только снижает ОАА и активность сахаразы, но и оказывает как стимулирующее, так и ингибирующее влияние на чувствительность пищеварительных карбогидраз развивающихся сеголетков плотвы к действию биогенных металлов. Неустойчивость величины и знака эффекта также характерна для действия сверхмалых количеств биологически активных соединений (Бурлакова и др., 1990; Гуревич, 2001).

Таким образом, впервые выявлена высокая восприимчивость карбогидраз кишечника молоди плотвы к действию сверхмалых концентраций MNNG в период эмбрионального развития. Показано стимулирующее влияние сверхмалых доз токсиканта на размерно-весовой рост молоди на фоне снижения скорости начальных этапов ассимиляции углеводных компонентов пищи. Зависимость изученных показателей от концентрации токсиканта носит нелинейный характер. MNNG в ряду испытанных концентраций вызывает разнонаправленные изменения чувствительности пищеварительных карбогидраз развивающихся сеголетков плотвы к действию ионов биогенных металлов *in vitro*. Полученные данные важны как для понимания характера влияния химических мутагенов в период эмбриогенеза на гидролитическую функцию пищеварительной системы развивающихся рыб, так и для прогнозирования риска воздействия сверхмалых количеств органических токсикантов на эффективность неспецифической защиты пищеварительного тракта рыб от токсической и аллергической агрессии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бурлакова Е.Б., Конрадов А.А., Худяков И.В. Воздействие химических агентов в сверхмалых дозах на биологические объекты // Известия РАН. Сер. биол. 1990. № 2. С. 184-193.
2. Глубоков А.П. Рост трех видов рыб в ранние периоды онтогенеза в норме и в условиях токсического воздействия // Вопр. ихтиологии. 1990. Т. 39. № 1. С. 137-143.
3. Голованова И.Л. Влияние природных и антропогенных факторов на гидролиз углеводов у рыб и объектов их питания // Автореф. дис. ... докт. биол. наук. СПб: ИЭФб им. И.М. Сеченова РАН. 2006. 43 с.
4. Голованова И.Л., Таликина М.Г. Влияние низких концентраций в период раннего индивидуального развития на пищеварительные карбогидразы сеголетков плотвы *Rutilus rutilus* // Вопр. ихтиологии. 2006. Т. 46. № 3. С. 412-416.
5. Гуревич К.Г. Закономерные и возможные механизмы действия сверхмалых доз биологически активных веществ // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2001. Т. 42. № 2. С. 131-134.

6. Заботкина Е.А., Лапирова Т.Б. Влияние тяжелых металлов на иммунофизиологический статус рыб // Успехи совр. биол. 2003. Т. 123. № 4. С. 411-418.
7. Котикова А.С., Ивченко Е.В., Голованова И.Л., Таликина М.Г., Урванцева Г.А. Влияние физических и химических факторов в период эмбриогенеза на активность пищеварительных карбогидраз плотвы и их чувствительность к действию тяжелых металлов // Совр. проблемы биологии, экологии, химии: Рег. сб. науч. трудов / Под ред. В.Н. Казина и др. Ярославль: ЯрГУ, 2005. С. 103-110.
8. Кузьмина В.В. Защитная функция пищеварительного тракта рыб // Вопр. ихтиологии. 1995. Т. 35. вып. I. С. 86-93.
9. Кузьмина В.В., Шишин М.М., Смирнова Е.С. Влияние тяжелых металлов на функцию неспецифической защиты пищеварительного тракта рыб // Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб. Расширен. матер. Всерос. научно-практич. конф. Москва, 2004. С. 101-111.
10. Остроумова И.Н. Биологические основы кормления рыб. 2001. СПб.: ГосНИОРХ, 372 с.
11. Таликина М.Г., Изюмов Ю.Г., Чеботарева Ю.В. Отдаленные генотоксические ответы у сеголеток плотвы *Rutilus rutilus* после воздействий органических ядов на спермии родителей // Вопр. ихтиологии. 2003. Т. 43. № 3. С. 411-417.
12. Уголев А.М., Иезуитова Н.Н. Определение активности инвертазы и других дисахаридаз // Исследование пищеварительного аппарата у человека. Л.: Наука, 1969. С. 192-196.
13. Chen H.C., Pan I.J., Tu W.J., Lin W.H., Hong C.C., Brittelli M.R. Neoplastic responses in Japanese medaka and channel catfish exposed to N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine // Toxicol. Patol. 1996. V. 24. № 6. P. 696-706.

EFFECT OF LOW CONCENTRATIONS OF MNNG DURING EARLY ONTOGENESIS ON THE SENSITIVITY OF DIGESTIVE CARBOHYDRASES OF ROACH UNDERYEARLINGS TO BIOGENIC METALS (CU, ZN).

I.L. Golovanova, M.G. Talikina, A. A. Philippov

Roach embryos were exposed for 48 h to aqueous solution of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) in concentrations of $3 \cdot 10^{-7}$ – $3 \cdot 10^{-1}$ mg/l. For the first time the high sensitivity of the digestive carbohydrases of roach underyearlings to MNNG exposition during yearly ontogenesis is revealed. A significant increase of underyearling's body length and weight, and a decrease of the intestinal carbohydrases activity in the exposed fish are shown. The exposition of embryos to MNNG significantly changes of digestive carbohydrases sensitivity of roach underyearlings to Cu^{2+} and Zn^{2+} in vitro. The ultra low ($3 \cdot 10^{-7}$ – $3 \cdot 10^{-6}$ mg/l) and low ($3 \cdot 10^{-3}$ – $3 \cdot 10^{-1}$ mg/l) concentrations of MNNG provokes the similar effects on the roach underyearling carbohydrases.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОМЕЖУТОЧНЫХ СТАДИЙ РАЗВИТИЯ ТРЕМАТОД В ГИДРОБИОЦЕНОЗЕ ЯХРОМСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА КАНАЛА ИМ. МОСКВЫ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ИХТИОФАУНУ

Головина Н.А.*, Комаров Н.К.**., Беломестных И.М.*

* - *Дмитровский филиал Астраханского государственного технического университета (Россия, Московская область, Дмитровский район, пос. Рыбное)*
Телефакс: 587-27-12. E-mail: dfagtu@mail.ru, kafyba@mail.ru

** - *Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного рыбного хозяйства (E-mail VNIPRH@mail.ru)*

Исследования, проводимые на Яхромском водохранилище канала им. Москвы, выявили динамику зараженности брюхоногих моллюсков партеногенетическими поколениями трематод в летний период. Из пяти видов, обитающих в водоёме, наиболее поражён *Planorbis planorbis*. У обследованных рыб было обнаружено 10 видов метацеркарий, относящихся к родам: *Tyloodelphys*, *Posthodiplostomum*, *Diplostomum* и *Ichthyocotylurus*.

В условиях антропопрессии происходят существенные изменения паразитарной компоненты экологических сообществ водоемов. Это особо значимо для антропогенно трансформированных водоемов, то есть созданных в результате хозяйственной деятельности человека, к которым относятся водохранилища. Планомерные исследования паразитофауны в таких водоемах позволяют уточнить видовой состав биоты средней полосы России, выявить особенности формирования природных очагов паразитов в естественных водоемах.

В последние годы Яхромское водохранилище стало заметно мелеть, русловая часть всё больше зарастает, мелководье заболачивается. Нами начаты мониторинговые исследования этого водохранилища, в результате которых выяснено, что в нем сформирован устойчивый очаг постдиплостомоза и диплостомоза (Головина, Комаров 2005; Головина, Швец, Комаров, 2004). Отдельные сведения о зараженности рыб метацеркариями трематод нами уже сообщались (Головина, Комаров, 2006), а зараженность моллюсков партеногенетическими поколениями трематод в этом водоеме изучалась впервые.

В связи с этим целью настоящей работы было выяснение распределения личинок трематод в гидробиоценозе (рыбах и брюхоногих моллюсках) Яхромского водохранилища и выяснение их негативного влияния на ихтиофауну.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.

Сбор материала проводили в Яхромском водохранилище, которое расположено в Дмитровском районе Московской области и соединено с каналом им. Москвы. Его общая площадь, не включая заболоченные участки, составляет 127 га. Глубина в русловой части от 2 до 3,5 м, а по всей поверхности зеркала колебание глубины происходит в пределах от 0,5 до 2,5 м.

Для водохранилища характерно не слишком высокое половодье. Уровень водохранилища контролируется периодическими сбросами воды в канал им. Москвы. Колебание уровня не превышает 0,5 м. Осенью уровень в нем также немного повышается из-за затяжных дождей и уменьшения испарения. Зимой наблюдается устойчивая межень.

Ихтиофауна Яхромского водохранилища представлена 23 видами. Преобладающими являются: лещ, плотва, густера, уклейка обыкновенная (уклей), окунь обыкновенный, щука.

Гельминтологическому обследованию было подвергнуто около 900 экз. рыб лещ, плотва, густера, укляя, окунь и щука в возрасте от 1 до 6 лет. Их отлов проводили с мая по август ставными сетями и крочковыми снастями.

Сбор паразитов проводили общепринятыми в ихтиопаразитологии методами (Быховская-Павловская, 1969). Изготовление временных препаратов и идентификацию выявленных трематод осуществляли по "Определителю паразитов пресноводных рыб фауны СССР" (Бауер, 1987) и последним публикациям (Судариков и др., 2002 и др.).

Сбор моллюсков осуществлялся вручную с трех различных точек водохранилища, отражающих наиболее характерные участки биотопов (заражаемость, проточность, грунты, прогреваемость). Площадь каждой точки составляла 1 м². Всего было обследовано 305 экз. моллюсков. Их видовой состав определяли по определителю беспозвоночных Европейской части России (Кутикова, Старобогатов, 1977). Зараженность моллюсков оценивали методом прямого вскрытия и компрессионного обследования внутренних органов, включая пищеварительную (кишечник и гепатопанкреас) и половую системы, на наличие партеногенетических поколений (спороцист и редий) и сформированных церкарий.

Количественный учёт заражённости рыб метацеркариями и моллюсков партеногенетическими поколениями трематод проводили по экстенсивности (Э.И.) и интенсивности инвазии (И.И.) и индексу обилия (И.О.).

СОДЕРЖАНИЕ И РЕЗУЛЬТАТЫ:

В Яхромском водохранилище обитает 5 видов брюхоногих моллюсков. Доминирующими видами являются *Lymnaea stagnalis* и *Planorbis planorbis* (около 37 и 31% в пробах соответственно). Менее распространены *Bithynia inflata* – 16% и *Planorbis corneus* – 14%, *Bithynia troscheli* (2%) является редким видом.

Динамика зараженности этих видов партеногенетическими поколениями трематод в летние месяцы представлена в табл. В *Bithynia inflata* и *Bithynia troscheli* спороцисты и редии выявлены не были. Наиболее поражен ими вид *Planorbis planorbis*, среди популяции которого в течение всего лета обнаруживали зараженные экземпляры моллюсков. *Planorbis corneus* был заражен несколько ниже, а июле этот вид в обследованных участках не найден. Среди *Lymnaea stagnalis* зараженность в июле была несколько ниже, чем в июне, а в августе в отобранных пробах этот вид моллюска отсутствовал.

Таблица - Зараженность разных видов моллюсков Яхромского водохранилища паразитами трематод в летний период

Вид моллюска	Июнь		Июль		Август	
	Обследовано моллюсков, экз.	Зараженность, %	Обследовано моллюсков, экз.	Зараженность, %	Обследовано моллюсков, экз.	Зараженность, %
<i>Lymnaea stagnalis</i>	85	45	23	26	-	-
<i>Planorbis corneus</i>	27	30	-	-	16	69
<i>Planorbis planorbis</i>	62	53	16	31	18	78
<i>Bithynia inflata</i>	49	0	-	-	-	-
<i>Bithynia troscheli</i>	3	0	-	-	-	-

Примечание: - отсутствие моллюска в пробе

При обследовании рыб у них было обнаружено 10 видов метацеркарий, относящихся к родам *Tyloodelphys*, *Posthodiplostomum*, *Diplostomum* и *Ichthyocotylurus*.

Доминирующими были виды, паразитирующие в различных эндостамах глазного яблока (8 видов). Из них у плотвы было выделено 3 вида - *T. clavata* (стекловидное тело), *D. volvens* (внутренние оболочки глаза), *D. commutatum* (хрусталик), у леща 3 вида - *T. clavata* (стекловидное тело), *D. volvens* (внутренние оболочки глаза), *D. chromatophorum* (хрусталик), у щуки 3 вида: - *P. breviceaudatum* (стекловидное тело), *D. volvens* (внутренние оболочки глаза), *D. spathaceum* (хрусталик), а у окуня 5 видов: - *T. clavata* (стекловидное тело), *P. breviceaudatum* (стекловидное тело), *D. spathaceum* (хрусталик), *D. gasterostei* (внутренние оболочки глаза), *Ichthyocotylurus pileatus* и *Posthodiplostomum cuticola* (наружные оболочки глазного яблока). Общими видами, встречающимися у плотвы и леща (мирных рыб), были паразиты стекловидного тела *T. clavata* и внутренних оболочек глаз - *D. volvens*, а у хищников (щуки и окуня) - *P. breviceaudatum* в стекловидном теле и *D. spathaceum* в хрусталике.

Наиболее высокую численность у плотвы достигал *D. commutatum* (Э.И. - 100%, И.О. - 146,6 экз./рыбу), у леща - *D. chromatophorum* (Э.И. - 100%, И.О. - 60,3 экз./рыбу), у окуня - *T. clavata* (Э.И. - 90,9%, И.О. - 55,4 экз./рыбу). Однако выявленные уровни инвазии не вызывали у обследованных видов рыб видимых патологических отклонений в морфологической структуре глаз.

Два вида метацеркарий: *Ichthyocotylurus pileatus*, *I. variegatus* были обнаружены на выстилке брюшной полости у окуня иногда в виде многочисленных мелких цист. Общая зараженность этими видами составляла: Э.И. - 100%, И.О. - 26,8 экз./рыбу.

У всех обследованных видов карповых рыб были обнаружены метацеркарии *Posthodiplostomum cuticola*, зараженность которым рыб старше 2-х лет была 100%. У них было прослежено накопление паразита с возрастом. Так, экстенсивность инвазии сеголетков леща и плотвы составляла 67 и 82%, в то же время у двухлеток и рыб более старшего возраста оно было 100%. Особенно значимы оказались возрастные различия по И.О. У леща наблюдали колебания этого значения от 2,3 экз./рыбу у сеголетков до 266,4 экз./рыбу у четырехлеток. У плотвы - 3,3 до 167,5 экз./рыбу, уклеи - от 9,9 до 29,6 экз./рыбу соответственно. У двухлеток густеры - 80,3, а у трехлеток - 121,3 экз./рыбу.

Выявлены гостальные особенности локализации метацеркарий этого вида на теле рыбы и формы пигментных пятен. У леща, особенно старших возрастных групп, подавляющее количество паразитов находили в ротовой полости и жабрах. Пигментные пятна и цисты были погружены глубоко в мускулатуру, а на поверхности тела имели размытые формы. Часто встречались слияния от 2 до 4 цист с образованием обширного пигментного пятна. Отмечены случаи поражения глазного яблока.

У плотвы черные пятна были расположены глубоко в мускулатуре, обширные по форме, аналогичны с таковыми у леща. В тканях жабр и ротовой полости пигментные пятна были четко обособлены, имели правильную форму. Скопление паразитов отмечали у основания хвостового плавника.

У густеры и уклеи максимально поражено тело. Размер, форма, локализация пигментных пятен сходна. Метацеркарии были расположены как глубоко в мышцах, так и под кожей. Пигментные пятна мелкие, некоторые окружены желтоватым кантом. В основном имели правильную форму. На жабрах и теле некоторые цисты были лишены черного пигмента. Распределение числа постодиплостомид на других участках тела в порядке убывания было следующим: жабры, голова и плавники. В результате заболевания лещ, плотва и густера промысловых размеров теряют свой товарный вид.

Таким образом, в Яхромском водохранилище сложились все условия для протекания жизненного цикла трематод и сформировался природный очаг трематодозов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Хорошо прогреваемые, малопроточные водоемы, в том числе заливы и отроги водохранилищ, являются типичными биотопами для формирования природных очагов трематодозов. В них создаются все условия для циркуляции возбудителей. Нами было выяснено, что в биоценозе Яхромского водохранилища имеются все факторы передачи и циркуляции возбудителей трематодозов рыб. Разнообразные виды птиц, являющиеся дефинитивными хозяевами многих видов трематод, гнездятся в зарослях высшей водной растительности, а рыбаобразные виды привлекаются обилием рыб младших возрастных групп.

Первыми промежуточными хозяевами трематод являются брюхоногие моллюски, которые относятся к наиболее распространенному бентосному компоненту биоценоза водоема. Обитая в прибрежной зоне, они могут выдерживать временное пересыхание, наблюдающиеся во время весеннего сброса воды в водохранилище. Из 5 обследованных видов брюхоногих моллюсков в течение всего летнего сезона зараженным был *Planorbis planorbis*. *Lymnaea stagnalis* играет большую роль в жизненном цикле трематод, чем *Planorbis corneus*, так как его зараженность паренитами выше. *Bithynia inflata* и *Bithynia troscheli* не участвуют в жизненных циклах, выявленных в Яхромском водохранилище трематод.

Из литературы известно, что партеногенетические поколения трематод (спорозисты, редии) приводят к механическому разрушению отдельных органов, нарушениям обмена, сердечно-сосудистой деятельности, изменениям в гепатопанкреасе, снижению продуктивности, паразитарной кастрации и др., то есть нарушаются почти все жизненные функции моллюска-хозяина. Их повреждающее действие может быть обусловлено механическим разрушением тканей хозяина, отнятием пищи и интоксикацией организма моллюска ядовитыми продуктами своего обмена веществ (Гинецинская, 1959; Бээр, 2005). По нашим наблюдениям, значительная гибель моллюсков (особенно рода *Planorbis*) была зимой 2005 - 2006 гг. при максимальном сбросе воды из водохранилища и низких температур в условиях суровой зимы.

Видовую идентификацию трематод проводили на стадии метацеркария, при обнаружении их в рыбе. Из 10 паразитирующих у рыб личинок трематод 8 обнаружались в различных структурах глаза: *Posthodiplostomum cuticola*, *Ichthyocotylurus pileatus*, *Tylodelphus clavata*, *T. attenuata*, *Diplostomum spathaceum*, *D. gasterostei*, *D. volvens*, *Posthodiplostomum brevicaudatum*, а два вида – *Ichthyocotylurus pileatus*, *I. variegatus* - в брюшной полости. Среди них наибольшую численность имеет вид *Posthodiplostomum cuticola*, который вызывает сильное поражение всех внешних покровов тела, включая наружные оболочки глаза, ротовую полость, жаберные дуги. Высокая зараженность карповых видов рыб метацеркарией приводит к потере товарного вида промысловых возрастных групп.

Таким образом, в Яхромском водохранилище канала им. Москвы выявлен устойчивый очаг трематодозов: диплостомозу, постодиплостомозу и ихтиокотилуриозу. Доминирующим видом трематод является *Posthodiplostomum cuticola*, численность которого поддерживается на партеногенетических стадиях *Planorbis planorbis* и *Planorbis corneus*, а на стадии метацеркария представителями карповых видов рыб, среди которых наиболее заражены лещ и плотва.

ЛИТЕРАТУРА

- Бауэр О.Н. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР.- Л.: Наука, 1987.- Т. 3.-С.168-181.
- Быховская-Павловская И.Е. Паразитологическое исследование рыб./ Методы паразитологических исследований.-Л.: Наука, 1969.-108с.
- Гинецинская Т.А. К фауне церкарий моллюсков Рыбинского водохранилища. Влияние экологических факторов на зараженность моллюсков паренитами трематод// Вести Ленинградск. ун-та.-1959.-№ 21.-С.62-67.

Головина Н.А., Швец Н.А., Комаров Н.К. Ассоциации метацеркарий трематод в глазах пресноводных рыб Яхромского водохранилища канала имени Москвы // Основные достижения и перспективы развития паразитологии: Материалы Международной конференции посвященной 125-летию К.И. Скрябина и 60-летию основания лаборатории гельминтологии АН СССР -Института паразитологии РАН М.,2004.-С.76-77.

Головина Н.А., Комаров Н.К. Постодиплостомоз рыб Яхромского водохранилища канала имени Москвы / Н.А.Головина, Н.К.Комаров// Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: Материалы докладов научной конференции.-М.,2005.-Вып.6-С.86-88.

Головина Н.А Структура сообществ трематод окуна (*Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758) в водоемах с различным уровнем антропопрессии / Н.А. Головина, Н.К.Комаров, Н.Н.Романова// Фауна, биология, морфология и систематика паразитов: Материалы международной научной конференции.- М.,2006.-С.94-98.

Кутикова Л.А., Старобогатов Я.И.. Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР.- М.: Гидрометеоиздат,1977.-501с.

Судариков В.Е., Шигин А.А., Курочкин Ю.В. и др. Метацеркарии трематод - паразиты пресноводных гидробионтов Центральной России. - М.: Наука, 2002.– 298 с.

THE DISTRIBUTION OF TREMATODAE DEVELOPMENTAL STAGES IN THE HYDROBIOCENOSIS OF THE YAKHROMA RESERVOIR AT THE MOSCOW CANAL AND THEIR INFLUENCE ON THE ICHTHYOFAUNA.

N.A.Golovina*, N.K. Komarov**, I.M. Belomestnykh*.

Investigations carried out on the Yakhroma reservoir at the Moscow canal revealed the infestation dynamics for molluscan shells by parthenogenetic trematodae generations in summer/Planorbis planorbis were the most strongly affected species the five ones inhabiting the reserboir.

In fish observed 10 metacercaria species have been found which belong to the Tyloodelphys, Posthodiplostomium, Diplostomum and Ichthyocotylunus genera.

*The Astrakhan State University, Dmitrov branch (Russia, Moscow area, Dmitrov Region, p.Rybnoe) Telefax: 587-27-12, e-mail: dfgatu@mail.ru, kafvba@mail.ru)

** -All-Russian Research Institute of Fresh water Fisheries (e-mail VNIIPRH@mail.ru)



ИЗУЧЕНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИОННОЙ ПАТОЛОГИИ ЕВРОПЕЙСКОГО УГРЯ (*ANGUILLA ANGUILLA L.*) КАЛИНИНГРАДСКОГО ЗАЛИВА

Казимирченко О. В.

Калининградский государственный технический университет, Калининград, Россия
okbar@mail.ru

В Калининградском заливе основное промысловое значение имеет европейский угорь. В рыбопромысловых уловах ежегодно ихтиопатологи Калининградского государственного технического университета, специалисты АтлантНИРО и ЗапБалтрыбвода регистрируют особей угря с признаками краснухоподобного заболевания. Массовую гибель угрей с признаками краснухи в Калининградском заливе регистрировали в 50-х – 60-х годах. Мертвых угрей в значительных количествах находили выброшенными на берег залива. Вспышку краснухи отмечали в июле – начале сентября, когда температура воды достигала 18-20⁰ С. Анализ уловов исследовательских тралений показывал, что почти 90% угрей имели признаки краснухи – красные пятна на теле, в особенности у анального отверстия и по краям плавников. Язвы на теле встречали лишь у нескольких экземпляров угрей (Апполова, 1968).

С целью выявления причин поражения кожных покровов угрей в лаборатории ихтиопатологии Калининградского государственного технического университета проводили санитарно-бактериологические исследования угря и среды его обитания в Калининградском заливе. Отбор проб угрей, воды и грунта осуществляли в весенний, летний и осенний сезоны с 2000 по 2006 гг. в различных рыбопромысловых участках залива. Бактериологическое исследование рыбы, воды и грунта проводили по общепринятым в ихтиопатологии, санитарной микробиологии методикам. При клиническом осмотре особей угря отмечали многочисленные кровоизлияния на плавниках, очаговые покраснения на коже, воспаление анального отверстия. У отдельных экземпляров угрей летом и осенью регистрировали наличие язв. Язвы обычно располагались на боку рыбы, выше анального отверстия, также у основания грудных плавников и на хвостовом стебле. При патологоанатомическом вскрытии исследованных особей угря регистрировали увеличение размеров паренхиматозных органов, воспаление кишечника. У большинства исследованных особей угря, особенно у пораженных язвами экземпляров, в брюшной полости регистрировали скопление кровянистого экссудата.

В результате проведенных бактериологических исследований у европейского угря Калининградского залива была выделена грамотрицательная микрофлора, относящаяся к семействам *Vibrionaceae*, *Pseudomonadaceae* и *Enterobacteriaceae*. Микробиоценоз кожи, жабр и внутренних органов рыбы был представлен ассоциациями условно-патогенных бактерий родов *Aeromonas* и *Pseudomonas*. Также в микрофлоре рыбы отмечали присутствие бактерий рода *Vibrio* и бактерий некоторых родов из семейства *Enterobacteriaceae*. Было отмечено, что показатели общей обсемененности органов угря условно-патогенными аэромонадами во все сезоны года были высокими и практически не изменялись. Наиболее часто выявляемыми видами в микрофлоре угря были *A. hydrophila* и *A. schubertii*. Основными биотопами аэромонад служили кожа, жабры, кровь и кишечник угря. Численность условно-патогенных бактерий рода *Pseudomonas* резко возрастала в летний и осенний сезоны исследования. Псевдомонады в микробиоценозе угря имели большое видовое разнообразие, среди них выделяли ферментирующие и неферментирующие виды. В наибольших количествах псевдомонады контаминировали кожу, жабры, желчный пузырь, селезенку и кишечник рыбы. В микробиоценозе угря встречали незначительное число штаммов бактерий рода *Vibrio*. В основном данных бактерий высевали в комплексе с аэромонадами. Наиболее часто вибрионов выделяли из кишечного тракта. В

микрофлоре угря нами также были выделены представители семейства энтеробактерий: кишечные палочки, протеусы, энтеробактеры и цитробактеры. В наибольших количествах энтеробактерии обсеменяли кожу, жабры и кишечник угря. В составе микрофлоры экссудата выявили условно-патогенных бактерий рода *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, санитарно-показательных бактерий рода *Enterobacter* и *Escherichia*. Среди всех выделенных бактерий доминировали аэромонады, которые были представлены *A. schubertii*, *A. sobria* и *A. veronii*. В составе микрофлоры язвенных поражений нами было отмечено доминирование единственного вида бактерий из рода *Aeromonas* - *A. hydrophila*. Кроме того, в микрофлоре язв отмечали пигментообразующих псевдомонад: *P. serasia*, *P. stutzeri* и цитробактеров - *Citrobacter freundii*. В единичных количествах в посевах язв присутствовали энтеробактеры и эшерихии.

Известно, что микробиоценоз рыбы формируется под влиянием количественного и качественного состава микрофлоры воды и грунтов. Вода и грунт часто относятся к факторам передачи заразного начала и используются условно-патогенными бактериями в качестве экологической ниши, в которой они могут длительно сохраняться и выживать. Нашими исследованиями также подтверждено влияние микробного состава воды и грунтов Калининградского залива на формирование микробного фона угря. В микрофлоре воды и грунтов также обнаруживали присутствие в значительных количествах условно-патогенных аэромонад и псевдомонад. Активизация условно-патогенных аэромонад в воде происходила в весенний период, в грунте нарастание их численности отмечали осенью. Пики развития псевдомонад в воде регистрировали в летне-осенние месяцы, в грунте - в весенний и летний сезоны. Вибрионов и кишечные группы бактерий постоянно встречали в микробном пейзаже воды и грунта во все сезоны года.

Для оценки эпизоотической значимости бактерий, выделенных из микрофлоры угря и среды его обитания, нами был проведен анализ их факторов патогенности. Изучение биологических особенностей штаммов микроорганизмов показало, что бактерии обладали гемолитической, протеолитической и лецитиназной активностью. Гемолитическая активность была в основном отмечена у штаммов бактерий, изолированных от угря, которая была наибольшей в весенние сезоны. Высокими показателями лецитиназной активности обладали штаммы бактерий, выделенных как из угря, так и из воды и грунта. По результатам активности дезоксирибонуклеазы условно-патогенных бактерий рода *Aeromonas* было выявлено наличие вирулентных штаммов в рыбе и в среде ее обитания. Высокопатогенные аэромонады были обнаружены в паренхиматозных органах рыбы, экссудате и язвах. Постоянное присутствие вирулентных и высоковирулентных штаммов аэромонад во все сезоны года отмечали в воде и грунте залива.

Таким образом, в результате проведенных бактериологических исследований у европейского угря Калининградского залива была выявлена смешанная бактериальная инфекция по типу геморрагической септицемии. Высокая обсемененность паренхиматозных органов и крови угря условно-патогенными микроорганизмами указывает на развитие септического процесса. По нашему мнению, условно-патогенные бактерии родов *Aeromonas* и *Pseudomonas* играют значительную роль в развитии инфекционного процесса у европейского угря Калининградского залива. Наиболее часто возникновение бактериальных заболеваний, вызванных условно-патогенными бактериями, способствует ухудшение условий окружающей среды (Ведемейер и др., 1981; Конев, 1997). Калининградский залив относится к неблагоприятному в экологическом отношении водному объекту с высокой техногенной нагрузкой (Кропинова, 1997; Краснов, 1999; Богданов и др., 2004). Неблагоприятные условия для обитания гидробионтов, складывающиеся в заливе, несомненно, сказываются и на состоянии популяции угря.

Согласно полученным данным о структуре микрофлоры утря и среды его обитания в Калининградском заливе мы выделили участки, испытывающие постоянную антропогенную нагрузку. По микробиологическим показателям рыбы, воды и грунта наиболее загрязненным является Калининградский район залива (в особенности участки Волочаевское-Ушаково, пос. Комсомольский), Приморская бухта и Калининградский морской канал. Система течений в Калининградском районе залива и районе южной части Приморской бухты создает возможность поступления и загрязнения практически от всех основных источников – населенных пунктов, предприятий. Здесь же в промысловых уловах в летний и осенний сезоны постоянно регистрировали особей утря с язвенными поражениями. Кроме того, в этих районах отмечали наибольшую контаминацию утря санитарно-показательными бактериями семейства Enterobacteriaceae. Кишечные группы бактерий также обнаруживали в воде и грунте. Калининградский морской канал подвержен наиболее сильному антропогенному загрязнению. Загрязнения вносятся рекой Преголей, поступают от поселков, морского транспорта, портов. В летние периоды наших исследований в этом районе по результатам лабораторных тестов фиксировали фекальное загрязнение воды, что указывает о сбросе хозяйственно-бытовых сточных вод. Таким образом, высокая органическая нагрузка на залив приводит к изменению количественной и качественной микробной обсемененности рыбы, воды и грунтов. Рост численности условно-патогенных бактерий в воде, обусловленный загрязнением залива, приводит к контаминации паренхиматозных органов утря и ослаблению его физиологического состояния, при этом подверженность рыбы к заболеваниям возрастает.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Апполова Т. А. Биология и промысел утря Курского и Вислинского заливов Балтийского моря. Дисс. ... канд. биол. наук. – Калининград, 1968. – С. 135-137.
2. Богданов Н. А., Воронцов А. А., Морозова Л. Н. Тенденции химического загрязнения и динамика Калининградского залива // Водные ресурсы. Т. 31, №5, 2004. – С. 576-590.
3. Ведемейер Г. А., Мейер Ф. П., Смит Л. Стресс и болезни рыб: Пер. с англ. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1981. – 128 с.
4. Конев И. В. Нормальная микрофлора рыб и ее роль в возникновении бактериальных заболеваний, вызванных стрессом // Научные тетради. Вып. №4. – СПб: ГосНИОРХ, 1996. – 46 с.
5. Краснов Е. В., Блажчишин А. И., Шкицкий В. А. Экология Калининградской области. – Калининград: Янтарный сказ, 1999. – С. 21-23.
6. Кропинова Е. Г. Зонирование территории Калининградской области для целей охраны природы // Экологические проблемы Калининградской области. Сб. науч. трудов. – Калининград: Калинингр. ун-т, 1997. - С. 47-54.

STUDY OF THE CAUSATIVE AGENTS OF INFECTIOUS PATHOLOGY RECORDED IN EUROPEAN EEL (*ANGUILLA ANGUILLA* L.) FROM KALININGRAD BAY

Kazimirchenko O. V.,

Kaliningrad State Technical University, Kaliningrad, Russia

Annually in the commercial catches of eel in Kaliningrad bay eel specimens with skin damages are recorded. The microbiological analysis of eel and its habitat were carried out. In fish microflora the facultative bacteria of *Aeromonas* and *Pseudomonas* genera predominated in all seasons. Also the presence of *Vibrio* and *Enterobacteriaceae* bacteria were noted. *Aeromonads* and *pseudomonads* contaminated skin, gills and internal organs of fish. In lesions *Aeromonas*, *Pseudomonas* and *Citrobacter* bacteria were found. The complex of *Aeromonas* and *Pseudomonas* bacteria also predominated in water and soil samples. The high quantity of *Aeromonas* – *Pseudomonas* bacteria in fish, water and soil is connected with Vistula bay contamination. Pathogenicity properties of the bacteria groups were determined. High hemolytic, proteolytic, lecithinase activities of *Aeromonas* and *Pseudomonas* bacteria strains, high pathogenic *Aeromonads* with DNA activity pointed out the potential danger of these bacteria groups for European eel.

НЕКОТОРЫЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПАТОЛОГИИ У *ELODEA CANADIENSIS* L. В УСЛОВИЯХ УПРАВЛЯЕМЫХ ЭКОСИСТЕМ

Калайда М.Л., Загустина С.Д.

Казанский государственный энергетический университет, каф. кол. ВБА,
РТ, г.Казань, ул. Красносельская, 51, kalayda@mi.ru

Приводятся данные по содержанию тяжелых металлов в элодее канадской из вод с разной степенью загрязнения. Приведены концентрации некоторых тяжелых металлов в элодее в условиях содержания в волжской воде. Анализируются коэффициенты биологического потребления цинка, меди, железа и марганца элодеей в разных экологических условиях. Показана роль водных растений в очистке воды. Рассмотрена смертность элодеи в условиях разных концентраций тяжелых металлов.

Перераспределение и миграция химических элементов в водных экосистемах теснейшим образом связана с процессами, происходящими в биоте. Антропогенные потоки элементов, в том числе и тяжелых металлов, включаясь в естественные биогеохимические циклы, могут привести к существенным нарушениям экологического равновесия [4]. В этих условиях высшие водные растения, являясь одним из основных водных сообществ, могут вовлекаться в процессы очистки вод, снижать токсичность различных загрязняющих веществ, исключая их прямое воздействие на человека и животных [1; 9].

В настоящее время исследованию накопления тяжелых металлов в клетках водных макрофитов и их токсичности уделяется особенное внимание в связи с их разнообразным воздействием на водные экосистемы. В первую очередь, это связано со значительным антропогенным загрязнением водных экосистем в последний период [2; 3; 6; 7; 10; 12; 14]. Несмотря на активно проводящиеся исследования микроэлементного состава водной растительности [4; 6; 7; 8; 9; 10; 13; 14], многие виды изучены недостаточно. Основными объектами исследований стали прибрежные водно-воздушные высшие растения (гелофиты), такие как рдесты [2; 9; 10], сушак зонтичный [2; 9; 11], частуха подорожниковая [2; 15], тростник [2; 8; 14], сальвиния [3]. Подробные экспериментальные исследования по изучению накопления металлов проведены на водном гиацинте - эйхорнии [3; 5]. Изучались и погруженные водные растения (гидатофиты) такие как роголистник темно-зеленый [2; 4], телорес обыкновенный [11; 15].

Элодея канадская привлекала внимание исследователей с различных позиций: как индикатор состояния водоема [2; 4]; накопитель тяжелых металлов [8] и как поглотитель биогенных элементов [15]. Элодея канадская рассматривалась и как сорный вид [13], занесенный из Канады в первой половине XIX века, буйствовавший в водоемах Восточной Европы в 50-х годах, названная «водяной чумой».

При изучении водоемов и выяснении их трофики [4] элодея канадская использовалась как индикатор эвтрофного состояния водоема. Анализ распространения элодеи позволил авторам сделать вывод о широком поступлении в водоем соединений биогенных элементов. Изучение соотношения поглощения фосфора, азота и углерода элодеей канадской [15] проводилось на основе полунатурных экспериментов в природной воде с добавками простых солей. Изучалась скорость извлечения P, N, C элодеей в расчете 1 г сухого растения за 1 час. Сделан вывод о сложном взаимосвязанном характере поглощения биогенных элементов из водной среды.

Элодея канадская исследовалась и как аккумулятор таких тяжелых металлов как медь, цинк, свинец и кадмий [8]. При этом изучалось содержание металлов в водном растении и определялся коэффициент их биологического потребления. По данным

Можайского Ю.А. и Гусевой Т.М. [8] содержание меди в элодее составило 3,05 мг/кг сухого вещества (КБП-1906).

Учитывая высокую способность к акклиматизации [8; 15], высокую скорость роста элодеи, представляет интерес изучение ее химического состава в условиях содержания в водах с различной степенью загрязнения. Оно позволяет оценить способности элодеи к накоплению и трансформации загрязняющих веществ и потенциальную возможность использования элодеи канадской не только как вида биоиндикатора эвтрофных вод, но и вида, характеризующего тип промышленного загрязнения.

Нами были проведены исследования выживаемости элодеи канадской в загрязненных сточных промышленных водах, и ее способности накапливать тяжелые металлы. Для содержания элодеи в загрязненных водах были использованы воды старого русла реки Казанки из мест сбросов производственных сточных вод и емкости-накопителя смешанных стоков. Старое русло реки Казанки является местом приема сточных вод большого числа промышленных предприятий, таких как кожгалантерейная фабрика, завод по обработке шерсти, завод медицинских инструментов, уксусный завод, пороховой завод, льнокомбинат и т.д. Исследования проводились на базе химической лаборатории промышленного химического предприятия г.Казани.

Проведенный анализ химического состава вод выявил различия в количественных характеристиках взвешенных веществ, сульфатов, нитритов, нитратов, фосфатов, тяжелых металлов на участках реки, принимающих сточные воды промышленных предприятий. Содержание сульфатов составило от 1,8 до ЗПДК в зависимости от места отбора вод, концентрация нитритов соответственно составляет 7-10ПДК, нитратов - 9-14ПДК, концентрация фосфатов превышает ПДК_{рыбохоз.} в 2-13 раз, концентрация цинка превышает ПДК в 5-6 раз, меди составляет 60-90ПДК, железа - 3-6ПДК, марганца - 30-40ПДК, никеля - ЗПДК.

Химический состав элодеи изучался с помощью метода рентгенофлуоресцентной спектроскопии (РФА). Исследовались образцы элодеи, которая содержалась в водах с различной концентрацией загрязняющих веществ. При исследовании тяжелых металлов в элодее были изучены концентрации цинка, меди, железа, марганца и никеля.

Изменение концентрации некоторых тяжелых металлов в элодее в условиях ее содержания в исследуемых водах представлено на Рис.1 и 2.



Рис.1 Концентрация некоторых тяжелых металлов в элодее в условиях содержания в волжской воде

Оно свидетельствует об участии этих элементов в процессах жизнедеятельности элодеи. Избирательность по отношению к отдельным химическим элементам зависит от физиологических особенностей растений, которые определяются видовой спецификой. Дальнейший транспорт и перемещение элементов внутри растения зависит от биологической функции химического элемента, его физиологической активности в процессах метаболизма и от химических свойств самого элемента [9].

Проведенные нами эксперименты показали, что в элодее в условиях чистых волжских вод характерно следующее содержание тяжелых металлов: цинк (1,76 мг/г), медь (0,72 мг/г), железо (0,64 мг/г), марганец (0,32 мг/г) (Рис.1). В эксперименте выявилось, что в элодее в загрязненных водах отмечается увеличение концентрации меди (в 0,2-0,5 раза), марганца (в 0,5 – 3 раза) и железа (в 0,7-2,8 раза) (Рис.2).

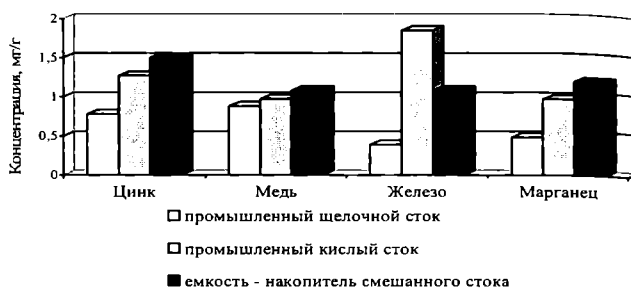


Рис.2. Концентрации тяжелых металлов в элодее в условиях ее содержания в сточных водах

Так если до начала эксперимента содержание меди в элодее составило 0,72 мг/г, то после ее содержания в сточных водах – 0,88 – 1,08 мг/г; марганца соответственно 0,32 мг/г и 0,48-1,2 мг/г. Несколько иная картина отмечена по содержанию цинка в элодее. До начала эксперимента концентрация цинка в элодее составила 1,76 мг/г. В процессе эксперимента концентрация цинка в элодее варьировала от 0,78 (в условиях промышленных щелочных вод) до 1,5 (в условиях смешанного стока). В контрольной элодее отмечено присутствие железа в концентрации 0,64 мг/г. В загрязненных водах концентрация железа в элодее как снижалась до 0,39 мг/г (щелочные промстоки), так и возросла до 1,08 – 1,85 мг/г (промышленные кислые воды и смешанный сток).

Полученные нами экспериментальные данные согласуются с результатами других авторов [11], исследования которых показали, что из 15 изученных видов макрофитов наибольшей аккумулярующей способностью к меди и цинку обладает элодея канадская. По мнению Панина М.С. и Свицерского А.К. [11] элодея по отношению к меди и цинку проявляет свойства группового концентратора.

Концентрации марганца и железа в экспериментальной элодее увеличивается одновременно с уменьшением содержания в исследуемых водах. Для железа и марганца, по исследованиям Т.Ф.Микряковой [10] характерен высокий уровень накопления в тканях водных растений, как для элементов, участвующих в процессах первичной ассимиляции.

Снижение концентраций ряда тяжелых металлов в элодее к концу эксперимента связано с нарастанием ее биомассы. Снижение концентрации ряда тяжелых металлов отмечалось и другими авторами [5]. Опережающее накопление элементов в быстрорастущей ткани приводит также к перераспределению тяжелых металлов в тканях и органах растений. Наибольшая аккумуляция элементов обнаружена в корнях [1; 11]. В пик вегетации, когда растения образуют максимальную биомассу, повышается содержание элементов во всех частях растения. Сезонная миграция каждого элемента имеет свою картину. Например, увеличение концентрации в корнях таких металлов как хром и кобальт, которые медленно перемещаются в растения, вызывает изменение концентрации этих элементов в других частях растений. Легко перемещающиеся металлы, такие как марганец и железо, вызывают резкое колебание уровней содержания металлов не только в корнях, но и в других частях растения [8; 15]. Накопление некоторых тяжелых металлов в элодее представлено в Таблице 1. В

условиях управляемых экосистем химический состав водного растения определяется не только его биологическими особенностями, но и качеством окружающей среды.

Таблица 1.

Аккумуляция тяжелых металлов (мг/г) и коэффициент биологического потребления (КБП) элодеей канадской

Источник сведений	Цинк		Медь		Железо		Марганец	
	мг/г	КБП	мг/г	КБП	мг/г	КБП	мг/г	КБП
Мажайский Ю.А., Гусева Т.М. [8] (река Рязанской области)	0,50	2241	0,03	1906	-	-	-	-
Воробьев В.И. [13] (водосемы Московской области)	0,12	-	0,02	-	0,44	-	0,13	-
Наши данные (вожская вода)	0,32	320	0,41	410	0,1	400	0,1	500
Наши данные (промышленные кислые сточные воды)	1,27	1270	0,88	880	1,7	1700	1,3	3250
Наши данные (промышленные щелочные сточные воды)	0,78	780	0,88	880	0,39	1260	0,48	2600
Наши данные (смешанный сток)	1,08	1080	1,5	1500	1,08	1350	1,2	1200

Как видно из приведенных в таблице 1 данных, концентрация цинка в элодее варьирует от 0,12 до 1,08 мг/г. При этом КБП составляет 320-2241. Концентрация меди в элодее варьирует от 0,02 до 1,5 мг/г. КБП меди составляет 410-1906. Концентрация железа в элодее варьирует от 0,1 до 1,7 мг/г. КБП железа составляет 400-1700. Концентрация марганца в элодее варьирует от 0,1 до 1,2 мг/г. КБП марганца составляет 500-3250. Эти данные свидетельствуют о высокой способности к накоплению цинка, меди, железа, марганца элодеей. Анализ аккумуляции тяжелых металлов и их биологического потребления элодеей канадской показал, что максимальная концентрация этих элементов наблюдается в кислых сточных водах. При экспериментальном содержании элодеи в загрязненных водах максимальная смертность растений отмечена также в кислых сточных водах.

Все исследованные нами тяжелые металлы относятся к микроэлементам. Макро- и микроэлементы - принимают активное участие во многих жизненных процессах, происходящих в растениях на молекулярном уровне. Как показали проведенные исследования, при возрастании концентрации тяжелых металлов при увеличении их концентрации в элодее отмечаются сначала изменения на тканевом уровне, а затем гибель растений. В щелочных сточных водах гибель растений не отмечалась при концентрации металлов менее следующих значений: цинка 0,78 мг/г, меди - 0,88 мг/г, железа - 0,39 мг/г, марганца - 0,48 мг/г. При возрастании содержания тяжелых металлов отмечались изменения во внешнем виде растений. При увеличении концентраций цинка в элодее до 1,5 мг/г, меди - 1,08 мг/г, железа - 1,08 мг/г, марганца - 1,2 мг/г смертность растений увеличилась и составила 23-25% в смешанных производственных стоках. В кислых промышленных сточных водах смертность растений составила 34-36% при концентрации цинка в элодее 1,27 мг/г, меди - 0,97 мг/г, железа - 1,85 мг/г, марганца - 0,97 мг/г.

Проведенные исследования показали высокую способность к накоплению цинка, меди, железа, марганца элодеей в условиях ее содержания в загрязненных водах, с одной стороны, и, с другой стороны, позволили выявить значения данных элементов, при которых отмечалась высокая смертность растений.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Бреховских В.Ф. и другие. Особенности накопления тяжелых металлов в донных отложениях и высшей водной растительности заливов Иваньковского водохранилища // Водные ресурсы, 2001, том 28, №4, с.441-447

2. Власов Б.П., Гигиевич Г.С. Использование высших водных растений для оценки и контроля за состоянием водной среды. Метод. рекомендации. – Мн.: БГУ, 2002 – 84с.
3. Гоготов И.Н. Аккумуляция ионов металлов и деградация поллютантов микроорганизмами и их консорциумами с водными растениями // Экология промышленного производства, 2005, №2 С. 33-37
4. Горлова Р.Н. Макрофиты – индикаторы состояния водоема // Водные ресурсы, №6, 1992. – С.59-73
5. Золотухина Е.Ю., Гавриленко Е.Е. Тяжелые металлы в водных растениях. Аккумуляция и токсичность // Биологические науки, 1989, №9, С. 93-105
6. Калайда М.Л., Загустина С.Д. Возможности использования водной растительности в природоохранных технологиях доочистки сточных вод. КГЭУ, деп. В ВИНИТИ 26.05.2005г. №750-В2005
7. Калайда М.Л., Загустина С.Д. Перспективы использования элодеи канадской в биотехнологии доочистки сточных вод химического предприятия // Ресурсосберегающие, водо- и почвоохранные биотехнологии, основанные на использовании живых экосистем (сборник материалов 1-ой Всероссийской научной конференции). Казань, 2006г.
8. Мажайский Ю.А., Гусева Т.М. Тяжелые металлы в экосистемах водосборных малых рек. – М.: Изд-во МГУ, 2001. – 138с.
9. Микрякова Т.Ф., Папченко В.Г. Накопление тяжелых металлов в сусале зонтичном (*Butomus umbellatus* L.) в Волжском плесе Рыбинского водохранилища // Биология внутренних вод, 2000, №3, С.106-110
10. Микрякова Т.Ф. Накопление тяжелых металлов макрофитами в условиях различного уровня загрязнения водной среды // Водные ресурсы, 2002, том 29, №2, с.253-255
11. Панин М.С., Свицерский А.К. Аккумуляция меди, цинка, кадмия, хрома макрофитами реки Иртыш // Водные биологические ресурсы, 2001, №3, С.67
12. Распопов И.М. Роль высшей водной растительности в мониторинге водоемов // VIII съезд Гидробиологического общества РАН (Калининград, 16-23 сентября 2001 года), тезисы докладов, т-1, Калининград, 2001. – 336с.
13. Роль микроорганизмов в жизни водоема / Отв. ред. В.И.Воробьев. – М.: Наука, 1980. – 138с.
14. Черных Н.А., Сидоренко С.Н. Экологический мониторинг токсикантов в биосфере: Монография. – М.: Изд-во РУДН, 2003. – 403с.
15. Эйвор Л.О. Соотношение поглощения фосфора, азота и углерода водными макрофитами // Водные ресурсы, 1990, №5, с.85-92

This article deals with the presence of heavy metals in one of the plants that is in *Elodea canadensis* L. The data about the presence of heavy metals in *Elodea canadensis* L. taken from water with different degree of pollution are adduced in this article. The concentration of some heavy metals in *Elodea canadensis* L. in conditions of its keeping in the Volga's water are also adduced here. The coefficients of biological consumption of zinc, copper, iron and manganese are analyzed in this article too. The article describes the role of water plants in purifying of water. The mortality of *Elodea canadensis* L. in conditions of different concentration of heavy metals are also scrutinized here.

ВЛИЯНИЕ СИСТЕМАТИЧЕСКОГО «ХЕНДЛИНГА» НА НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МОЛОДИ БЕЛУГИ (*HUSO HUSO*).

Касаева С.Ю., Савенкова Е.Н.

ФГУП ННЦ по осетроводству «БИОС» ул. Володарского, 14а, г. Астрахань, 414000, Россия. E-mail: bios94@mail.ru

Деятельность иммунной системы регулируется общими физиологическими системами, причем ведущая роль принадлежит нейроэндокринной системе и метаболическим тканевым механизмам [1; 2]. Как правило, в относительно постоянных условиях гомеостаз поддерживается физиолого-биохимическими системами организма на определенном, относительно стабильном уровне. Эволюция дала животным организмам, в основном, защитные адаптивные реакции, проверенные в неотложных ситуациях конкуренции, бегства, борьбы и т.п. По необходимости, эти острые адаптивные реакции применяются и при хронических условиях, приводя к рассогласованию стереотипа и реальности, что делает эти ценные реакции высокопатогенными. Если острый стресс переходит в хронический, то наступают обусловленные им расстройства, которые прежде всего касаются инсулинозависимых органов и тканей [3]. При хроническом стрессе нарушаются функции иммунитета за счет увеличения концентрации гормона кортизола, что приводит к атрофии лимфоидной ткани, повреждению лимфоцитов и других структур иммунной системы. Гидрокортизон подавляет антителообразующую функцию и функцию клеточного звена иммунной системы рыб. При этом снижается и хемотоксическая активность иммунокомпетентных клеток [4, 5, 6]. Различные манипуляции с рыбой во время выращивания: измерение, сортировка, а также в период осуществления биотехнических мероприятий (нерестовая кампания, бонитировка, транспортировка) вызывают стресс, сопровождающийся сдвигами биохимических показателей [7].

Однако, несмотря на довольно большое количество исследований в области физиологии стресса, еще остаются малоизученными видовые особенности физиологических реакций характерных для осетровых рыб, в частности для белуги. Многолетние наблюдения свидетельствуют о том, что молодь белуги более восприимчива к возникновению инфекционных заболеваний, связанных с интенсификацией рыбоводных процессов, по сравнению со стерлядью, гибридами: бестер, русско-сибирский осетр и т.д. В связи с этим на производственной базе ФГУП ННЦ «БИОС» была осуществлена экспериментальная работа по изучению физиолого-иммунологического статуса молоди белуги под воздействием «хендлинга».

Экспериментальные работы с молодью белуги были проведены в период с 6.09 по 7.10.2006 г. При этом были сформированы две группы рыб (опыт), (контроль) по 50 экз. в каждой. Масса тела молоди белуги в среднем составляла $120,21 \pm 1,29$ г. В опыте всех рыб, регулярно, раз в 7 дней подвергали хендлингу (облов, измерение, взвешивание, отбор крови). В группе контроль рыб не подвергали стрессу измерения и взвешивания, т.е. контакт с рыбой снижали до минимума. Условия содержания рыб из обеих групп не имели различий.

Отбор проб крови у белуги осуществляли прижизненно, пункцией хвостовой вены. Подсчет форменных элементов крови проводили унифицированным методом в счетной камере Горяева, СОЭ - по методу Панченкова. Мазки крови фиксировали раствором Майн-Грюнвальда и докрашивали азур-эозином по Романовскому. Подсчет лейкоцитарной формулы проводили по методике [3, 8]. Уровень гемоглобина в крови определяли гемоглобинцианидным методом. Содержание общего белка в сыворотке крови исследовали биуретовым методом, альбумина – по реакции с бромкрезоловым зеленым. В работе использовали диагностические наборы фирмы «Агат-Мед», «Ольвекс», «Лаксма».

Лизосомально-катионный тест (ЛКТ) проводили по методу Пигаревского В.Е. (1981) [9] с применением окраски мазков зеленым прочным. Уровень иммуноглобулинов определяли по унифицированной методике Воловенко М.А. (1975) [10].

Результаты исследования показали, что молодь белуги, подверженная более сильному контактному стрессу, отличалась от рыб из группы контроля по ряду гематологических и физиолого-иммунологических показателей в течение всего периода эксперимента (таблицы 1, 2).

Таблица 1- Гематологические показатели молоди белуги в условиях эксперимента

Вариант	показатели	0 сутки	7 сутки	14 сутки	21 сутки	28 сутки
Опыт	Hb г/л	41,55±0,86	51,39±1,87	51,05±1,50	48,79±1,57*	45,15±1,47
Контроль		43,44±1,08	50,74±2,43	57,77±3,84*	54,37±1,91*	45,32±1,33
Опыт	Hb/Eг мкл	57,30±3,61	77,27±5,19*	68,38±5,42	64,07±3,91	85,43±5,83
Контроль		47,49±4,17	60,80±2,54*	56,62±4,75	68,56±5,67	77,77±5,04
Опыт	Eг млн./мкл	0,81±0,04	0,69±0,05*	0,79±0,06*	0,78±0,04	0,55±0,04
Контроль		0,99±0,07	0,84±0,04*	1,04±0,05*	0,83±0,06	0,61±0,06
Опыт	Le млн./мкл	0,13±0,01	0,07±0,01	0,07±0,00*	0,07±0,00	0,04±0,00*
Контроль		0,11±0,01	0,07±0,00	0,09±0,00*	0,08±0,10	0,07±0,00*
Опыт	СОЭ мм/ч	3,21±0,15	5,70±0,39	3,45±0,15	4,05±0,13	3,55±0,15
Контроль		2,93±0,10	5,68±0,43	3,41±0,22	3,59±0,14	3,73±0,23

Примечание -*различия достоверны при $p < 0,05$

Таблица 2- Физиологические показатели крови сеголеток белуги в условиях эксперимента.

Вариант	показатели	0 сутки	7 сутки	14 сутки	21 сутки	28 сутки
Опыт	ОБ г/л	13,78±0,59	14,64±0,55	15,12±0,74	17,46±0,45	14,54±0,55
		13,57±0,44	14,19±0,57	16,23±0,63	18,17±0,68	15,08±0,69
Контроль	Альбумины г/л	6,45±0,24	5,45±0,12	5,74±0,13	5,36±0,16	5,38±0,10
		5,77±0,13	5,19±0,16	5,84±0,15	5,27±0,18	5,63±0,20
Опыт	Ig г/л	3,27±0,26	3,65±0,12*	3,25±0,13*	3,26±0,18*	2,80±0,12*
		3,55±0,15	3,43±0,16*	3,76±0,16*	3,72±0,09*	3,45±0,25*
Контроль	Ig от ОБ %	23,88±0,51	22,45±1,05	21,31±0,80	18,69±1,00*	19,37±0,76*
		25,76±0,89	22,36±0,89	23,32±0,84	20,63±0,51*	22,75±1,14*

Примечание -*различия достоверны при $p < 0,05$

Так, выявлены различия по концентрации гемоглобина в крови и в одном эритроците, по количеству эритроцитов и лейкоцитов. В первые две недели отмечено повышение уровня гемоглобина на 23,7 и 16,8 %, соответственно в опыте и контроле, по отношению к первоначальным показателям за счет увеличения числа эритроцитов, в последующем происходило снижение как концентрации гемоглобина в одном эритроците, так и уменьшение численности эритроцитов на 32,0% в опыте и на 38,4% в контроле.

Обнаружены достоверные различия по уровню иммуноглобулинов и отношению иммуноглобулинов к общему белку между контрольной и опытной группой. При этом в группе – (опыт) концентрация иммуноглобулинов в сыворотке крови была на 18,8% ниже, чем у контрольных рыб и на 14,4% ниже относительно первоначальных показателей. Это свидетельствует об ослаблении гуморального иммунитета.

Наиболее существенные изменения зарегистрированы со стороны клеточного иммунитета (таблица 3, рисунок 1)

Таблица 3- Лейкоцитарная формула молодежи белуги в условиях эксперимента (%)

Вариант	Су тки	Лимфоциты	Моноциты	Эозинофилы	Сегментоядерные нейтрофилы	Палочкоядерные нейтрофилы
Опыт	0	36,71±2,26	1,64±0,26	27,93±3,50	9,36±1,13	24,36±2,20
		40,56±2,30	1,25±0,21	30,50±2,70	10,56±3,12	16,13±1,98
Опыт	7	32,89±2,60*	2,25±0,53	31,86±3,74**	7,11±1,01	25,89±2,62
		48,18±1,61*	3,41±0,48	13,14±0,80**	11,82±1,40	23,45±2,08
Опыт	14	37,75±3,28**	0,85±0,25*	21,35±1,30**	15,10±1,84	24,95±2,23
		54,09±2,89**	4,18±0,40*	12,45±1,47**	9,91±1,68	19,36±2,38
Опыт	21	37,70±3,15**	3,95±1,17	23,70±2,94**	8,75±1,85	25,90±3,08
		53,23±3,06**	2,27±0,41	12,45±1,18**	11,73±1,67	20,32±1,50
Опыт	28	32,10±2,99*	2,20±0,37	23,75±3,36**	14,50±1,48	27,45±2,33
		47,41±1,97*	2,55±0,43	16,00±1,69**	14,73±1,27	19,32±1,66

Примечание - * - различия достоверны $p < 0,05$, ** - $p < 0,001$

У рыб из группы опыт на фоне снижения абсолютного числа клеток иммунного надзора - лимфоцитов на 30,8%, происходило снижение и других клеток белой крови выполняющих цитотоксические функции, в том числе эозинофилов на 27,8%, сегментоядерных нейтрофилов на 50,0%, относительно первоначальных показателей, что свидетельствует о явных иммунных нарушениях.

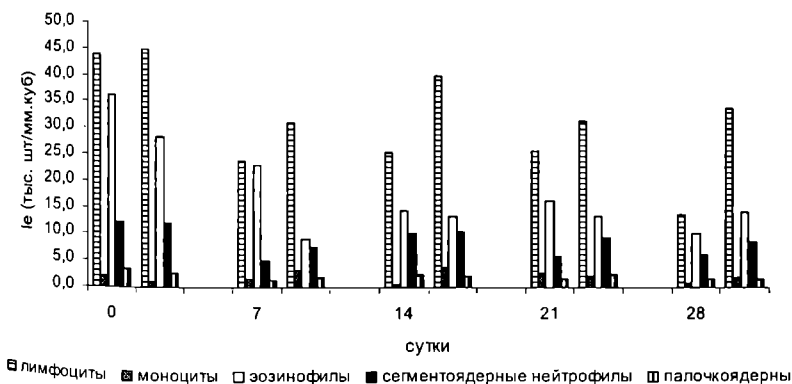


Рисунок 1- Динамика абсолютной численности клеток белой крови у молодежи белуги в условиях эксперимента

Данные показатели у молодежи белуги из группы контроль, также имели тенденцию к снижению, но эти изменения были менее ощутимы по сравнению с опытом.

При оценке СЦК лизосомально-катионных белков, т.е. бескислородной микробоцидной системы палочкоядерных нейтрофилов выявлено, что на протяжении всего эксперимента в контроле происходило снижение коэффициента и к концу экспериментального периода различия составляли - 14,7% относительно первоначальных показателей. У рыб из контрольной группы СЦК возрос с 0,55 до 1,18 у.е.

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что увеличение времени контакта с рыбой и усложнение манипуляций с молодью белуги не оказывает существенного влияния на белковый обмен, но способствует снижению концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови рыб. Также, приводит к серьезным нарушениям в лейкопоэзе. Кроме того, снижается способность палочкоядерных нейтрофилов к фагоцитозу. При этом, довольно в короткий срок, создаются предпосылки для развития вторичного иммунодефицита как клеточного, так и гуморального звена и возникновения секундарных заболеваний у рыб.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вихман А.А. Системный анализ иммунофизиологической реактивности рыб в условиях аквакультуры/ М.: «Экспедитор», 1996.
2. Junko K., Takaji I. Cortisol directly inhibits neutrophil defense activates in tilapia (*Oreochromis niloticus*) // 9th Inern.conf. «Diseases of fish and shellfish». Greece. Rodos 2002.- p.293.
3. Житенева Л.Д., Макаров Э.В., Рудницкая О.А. Основы ихтиогематологии (в сравнительном аспекте)// Ростов - на- Дону: Эверест, 2004.- 312 с.
4. Микряков Д.В., Микряков В.Р. Влияние гидрокортизона на антителообразовательную функцию иммунной системы карпа *Cyprinus Carpio*// Вопросы ихтиологии, Т. 42., №6. 2002. С. 820-824.
5. Бойко Н.Е. Некоторые эндокринные корреляции, связанные с «критическим» периодом развития осетра. // Современные проблемы водной токсикологии. Международная конференция памяти д.б.н., проф. Б.А. Флерова, сентябрь 2005 г. Борокс, - С.15.
6. Бойко Н.Е., Корниенко Г.Г. Изменение реакции личинок осетра на стрессорное воздействие после обработки тиреоидными гормонами и кортизолом // Тез. докл. VII Всеросс. конф. «Нейроэндокринология- 2005», С-Пб.: ООО «Аграф», 2005. -С. 32 -33.
7. Головин П.П. Проблемы стресса у рыб в пресноводной аквакультуре: способы диагностики и коррекции// Сб. научн. трудов Болезни рыб, «ВНИИПРХ», - М.: -2004.- с.54-61.
8. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. М.: Легкая и пищевая промышленность.1983.
9. Пигаревский В.Е., Мазинг Ю.А. Лизосомально-катионные белки// Лаб. дело, 1981, №10, С.579-582
10. Воловенко М.А. Определение уровня иммуноглобулинов в сыворотке крови новорожденных телят// Ветеринария.- 1975.-№4. С.39-40.

AFFECT OF SYSTEMATIC HANDLING ON SOME PHYSIOLOGICAL-IMMUNOLOGICAL INDICES OF BELUGA (*HUSO HUSO*) JUVENILES.

Kasaeva S.Yu., Savenkova E.N.

Physiological-immunological changes in the blood of «systematically handled» Beluga juveniles are shown in the article. It is noted, that such a stress may cause the development of secondary immune deficit, both of cell and humoral components.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПАТОЛОГИИ ФОРМЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КРОВИ МАССОВЫХ ВИДОВ РЫБ КУБЕНСКОГО ОЗЕРА (ВОЛОГОДСКАЯ ОБЛАСТЬ)

Кейстер И.А.

Вологодский Государственный Педагогический Университет, Вологда, Россия
e-mail: ikevster@mail.ru

Изучение гематологических показателей рыб является биоиндикационным методом, адекватно отражающим изменения среды обитания при загрязнении водоемов [1, 2, 3, 4, 5]. Гематологические исследования служат важным звеном в комплексной индикации состояния рыбной части сообщества крупных мелководных озер Вологодской области [6, 7].

Целью настоящей работы является изучение картины морфологических патологий крови массовых видов рыб Кубенского озера. Объектом исследования явились популяции леща, щуки и язя. Материал собран летом 2005 - 2006 годов и обработан по общепринятой методике [2,8].

Кубенское озеро ($S=417 \text{ км}^2$) является одним из крупных рыбохозяйственных водосмов на территории Вологодской области. Это озеро имеет важное водохозяйственное, рыбопромысловое рекреационное значение, поэтому ухудшение его качества воды является весьма актуальной проблемой. Выявленный высокий уровень органического и токсического загрязнения Кубенского озера связан с многоплановой и интенсивной эксплуатацией в течение многих десятилетий [9]. В последние годы, например, по данным Вологодской Центральной Гидрометеорологической станции величина БПК₅ изменялась от 1,2 мг/л до 3,2 мг/л. Показатель ХПК колебался в пределах 31,6 и 58,5 мгО₂/л, достигая максимальных величин в подледный период, цветность воды достигала 105-163⁰. В воде озера Кубенского обнаружены также токсические элементы, включая тяжелые металлы. Отмечено превышение по общему железу (2ПДК), цинку (2ПДК) и меди (6ПДК), а в летний период в воде обнаружен аммиак (до 0,014 мг/л).

Накопление в воде и грунтах различных токсикантов обуславливают их аккумуляцию в тканях рыб, что на организменном уровне приводит к нарушению работы практически всех систем, в том числе и кровеносной.

Известно, что вне зависимости от типа и интенсивности загрязнения у рыб наблюдается ряд общих реакций крови на хроническое воздействие токсикантов [1]. Морфологическая картина клеточных структур крови с признаками их деградации в результате нарушения эритропоэза свидетельствует о той, или иной степени тяжести повреждающего эффекта токсикантов на кровеносную систему организма [3,10,11].

В норме красные клетки крови рыб характеризуются эллипсовидной формой, равномерной окраской, одинаковыми размерами и плотным удлинённым ядром. Анализ мазков крови рыб озера Кубенского показал значительные изменения морфологии форменных элементов крови. Среди них встречены 7 патологических клеточных форм и изменений в структуре клеток крови: пойкилоцитоз, анизоцитоз, гемолиз эритроцита, безъядерные эритроциты, вакуолизация, гипохромазия, кариорексис ядер эритроцитов. Частота встречаемости нарушений морфологии форменных элементов крови среди исследованных видов достигала 50-70%. Несмотря на общие закономерные проявления морфологических патологий (ярко выраженный анизо- и пойкилоцитоз), появление дегенеративных форм клеток крови характеризуется также определенной видоспецифичностью.

В периферической крови леща часть клеток эритропоэтического ряда приобретают мелкофестончатые контуры. Ядра клеток также подвержены патологическим изменениям - у исследованных особей встречается кариорексис ядер эритроцитов (Рис.1).

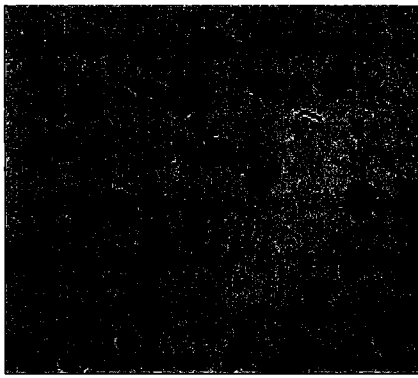


Рис.1.1 Лещ Кубенского озера. Кариорексис ядер эритроцитов, гемолиз эритроцитов

У щуки появляются гипохромные клетки и клетки с вакуолизированной цитоплазмой (Рис.2);

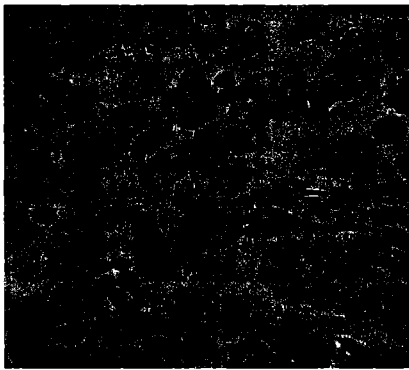


Рис.2. Щука Кубенского озера. Гипохромазия, клетки с вакуолизированной цитоплазмой

У язя в кровяном русле обнаружены гипохромные клетки и безъядерные эритроциты (Рис.3).



Рис.3 Язь Кубенского озера. Гипохромазия, безъядерные эритроциты

Появление в русле крови всех перечисленных патологических изменений обусловлены различным воздействием неблагоприятных факторов. Так, образование безъядерных эритроцитов – результат воздействия на организм неблагоприятных экологических факторов или экстремальных условий. Нарушение осмотической резистентности эритроцитов наблюдается при соприкосновении их с вредными веществами, обладающими гемолитической активностью [10, 11]. Пойкилоцитоз и ангиоцитоз – это дегенеративное явление кроветворения, наступающее при угнетении эритропоэза под влиянием каких-либо вредных факторов [10].

Результаты проведенных исследований и отмеченные в итоге морфологические патологии клеток крови, подтвердили имеющиеся данные о том, что показатели крови рыб являются надежным индикатором физиологического состояния организма. Изменения показателей состояния кровеносной системы, и в частности патологические проявления исследованных рыб, свидетельствуют о неудовлетворительном состоянии их среды обитания

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аленичев С.В. Динамика гематологических показателей типичных представителей ихтиофауны водоемов Карелии // Автореф. дис. канд. биол. наук. Петрозаводск, 2000. 25 с.
2. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. Сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб // Москва: Легкая и пищевая пром-ть, 1983. 184 с.
3. Чернышева Н.Б. Определение физиологического состояния рыб по изменению морфологических признаков клеток красной крови // Сб. научн. трудов ГосНИОРХ, вып. 321, 1997. с. 127-136.
4. Житенева Л.Д., Рудницкая О.А., Колужная Т.И. Эколого-гематологические характеристики некоторых видов рыб. Справочник // Ростов-на-Дону, 1997.
5. Токсикозы рыб с основами патологии. Справочная книга // Санкт-Петербург, 2006. 179 с.
6. Кейстер И.А. Применение биоиндикации с использованием рыб для оценки состояния экосистемы Белого озера (Вологодская область) // Экологическое состояние континентальных водоемов северных территорий. Санкт-Петербург, 2005. с. 258-262.
7. Кейстер И.А. Патологические изменения клеток крови и гематологических показателей массовых видов рыб Белого и Кубенского озер (Вологодская область) // Тез. докл. межд. конференции «Биоиндикация в экологическом мониторинге пресноводных экосистем». Санкт-Петербург, 2006.
8. Крылов О.Н. Методические указания по гематологическому обследованию рыб в водной токсикологии // Л., 1974. 40 с.
9. Болотова Н.Л. Изменения экосистем мелководных северных озер в антропогенных условиях (на примере водоемов Вологодской области) // Автореф. дисс. докт. биол. наук. Санкт-Петербург, 1999. 51 с.
10. Житенева Л.Д., Полтавцева Т.Г., Рудницкая О.А. Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб // Ростов-на-Дону, 1989.
11. Житенева Л.Д., Макаров Э.В., Рудницкая О.А. Основы ихтиогематологии (в сравнительном аспекте) // Ростов-на-Дону: Эверест, 2004.

MORPHOLOGICAL PATHOLOGIES OF FORMED ELEMENTS BLOOD OF FISHES KUBENSKOE LAKE (THE VOLOGDA AREA).

Keyster I.A.

Studying and the comparative analysis of a pathological picture of blood of fishes of the largest reservoir of the Vologda area - Kubenskoe lake. Parameters of blood of fishes are the reliable indicators of a physiological status of an organism, which change, especially pathological displays, allow to attestant about improper state habitat. At fishes of Kubenskoe lake in blood it is revealed 7 pathological cellular forms and changes in structure of blood cells.

ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ВОДНОГО ЭКСТРАКТА ЧАГИ (*INONOTUS OBLIQUUS*) ДЛЯ СНЯТИЯ СТРЕССОВОГО ФАКТОРА У МОЛОДИ ЗОЛОТОЙ РЫБКИ (*CARASSIUS AURATUS*) ПРИ ТРАНСПОРТИРОВКЕ И ПОСЛЕДУЮЩЕЙ АККЛИМАТИЗАЦИИ

Кобиашвили Г.А., Никифоров-Никишин Д.Л., Никифоров-Никишин А.Л.,
Бородин А.Л.

*Московский государственный университет технологий и управления
г. Москва, Россия, e-mail: msutm@inbox.ru*

Основной причиной гибели молоди рыб при транспортировке в течение длительного времени являются следующие факторы: травматизация, развитие стрессового состояния в результате изменения гидрохимического состояния водной среды и высокой плотности посадки.

В настоящее время используется ряд препаратов, которые позволяют значительно увеличить нормы посадки рыбы и заблокировать нежелательные изменения параметров воды. Недостатком многих из них является определенная токсичность, которая может проявляться при последующей акклиматизации рыб.

Основная гибель рыб происходит в течение первых суток после транспортировки. Травматические повреждения могут вызвать развитие бактериальных и грибковых заболеваний, а также гибель рыб в течение более продолжительного времени.

В наших исследованиях в качестве препарата снижающего стрессовое воздействие использовался экстракт чаги (*Inonotus obliquus*) в концентрациях 5, 10, 25 мг/л.

Экстракт чаги препарат растительного происхождения не проявляет токсического действия даже в высоких концентрациях и оказывает иммуностимулирующее действие, способствует приспособлению организма к неблагоприятным условиям среды.

Чага содержит широкий спектр различных БАВ: водорастворимые пигменты в большом количестве (20%), которые образуют хромогенный полифенолкарбоновый комплекс, проявляющий противоопухолевую активность, обусловленную тем, что фенольные соединения регулируют активность цитоплазматических и митохондриальных АТФ-аз и понижают образование АДФ, а поскольку магнелизированные клетки в большей степени, чем нормальные, зависят от гликолиза, то нарушение этого процесса негативно отражается на их развитии; птерины (производные птеридина), наличием которых обуславливается цитостатическое действие чаги; полисахариды (6–8%); агарциновая и гуминоподобная чаговая кислоты (до 60%); органические кислоты, суммарное содержание которых составляет 0,5–1,3% (щавелевая, уксусная, муравьиная, ванилиновая, сиреневая, п-оксибензойная, а также 2 тритерпеновые кислоты из группы тетрациклических тритерпенов — инонотовая и обликвиновая); липиды (ди- и триглицериды); стероидные вещества (стерины — эргостерол, а также тетрациклические тритерпены — ланостерол и инотодиол, проявляющий антибластическую активность); лигнин; клетчатка; свободные фенолы; флавоноиды; кумарин пеуцеданин; целлюлоза; смолы; следы алкалоидов невыясненной структуры; зола (12,3%), богатая марганцем, который, возможно, имеет значение в лечебном действии чаги как активатора энзимов; другие микроэлементы в виде оксидов: медь, барий, цинк, железо, кремний, алюминий, кальций, магний, калий, натрий, причем калия в 5–6 раз больше, чем натрия.

В условиях эксперимента для транспортировки рыбы использовались двухслойные полиэтиленовые пакеты емкостью 10 л. наполовину заполненные водой, а остальной объем кислородом при плотности посадки 100 шт. размером 3–4 см.

Срок экспозиции составлял 24 часа. После этого рыба переводилась в бассейны емкостью 500 л. Результаты экспериментов представлены в таблице 1.

Таблица 1. выживаемость молоди золотой рыбки (*Carassius auratus*)

Выживаемость %	Сутки опыта					
	2	3	4	5	6	7
Контроль	86	75	73	73	73	73
экстракт чаги 5 мг/л.	96	88	88	87	87	87
экстракт чаги 10 мг/л.	94	94	94	92	92	92
экстракт чаги 25 мг/л.	92	92	92	90	89	87

Проведенные исследования показали, что наибольшая выживаемость рыб получена при добавлении в воду экстракта чаги в концентрации 10 мг/л. Концентрации 5 и 25 мг/л. также показали положительные результаты по сравнению с контролем. На наш взгляд влияние экстракта чаги на выживаемость молоди рыб можно объяснить следующими причинами:

- Экстракт чаги стабилизирует гидрохимические показатели воды. Снижение pH при воздействии экстракта до 6,8 позволяет рыбам выдерживать большие концентрации аммиака, без вредных последствий
- Снижение гибели в последующие периоды времени позволяют предположить, что чага обладает бактериостатическим действием и препятствует возникновению бактериальных патологий.

Использование экстракта чаги в концентрации 10-25 мг/л. позволяет значительно снизить гибель рыбы при стрессовых воздействиях, что дает возможность к дальнейшему изучению этого препарата для использования в практике рыбоводства как профилактического и терапевтического средства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Awadh AAN, Mothana RAA, Lesnau A, Pilgrim H, Lindequist U. Antiviral activity of extracts and compounds from *Inonotus obliquus* *Fitotherapia* 2003; 74: 483-5
2. Borchers AT, Stern JS, Hackman RM, Keen CL, Gershwin EM (1999) Mushrooms, tumors, and immunity. *Soc Exp Biol Med* 221:281-293
3. Burczyk J, Gawron A, Slotwinska M, Smietana B, Termanska K. Antimitotic activity of aqueous extracts of *Inonotus obliquus* *Boll Chim Farm* 1996; 135: 306-9
4. Cho SM, Yu SH, Shin GC (1996) Biological activities of culture broth of some wood rotting basidiomycetes. Antimicrobial, plant growth regulatory, antitumor, and enzymatic activities. *Korean J Mycol* 24:17-24
5. Cui Y, Kim DS, Park KC. Antioxidant effect of *Inonotus obliquus*. *J Ethnopharmacol.* 2005, 96(1-2): 79-85.
6. Kahlos K, Kangas L, Hiltunen R. Antitumor activity of some compounds and fractions from an n-hexane extract of *Inonotus obliquus* *in vitro Acta Pharm Fennica* 1987; 96: 33-40

МОРФО-ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ОТКЛОНЕНИЯ СУДАКА В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ БЕЛОГО ОЗЕРА

А. Ф. Коновалов

Вологодская лаборатория ФГНУ «ГосНИОРХ»,

Вологодский государственный педагогический университет, Вологда, Россия,
e-mail: konovalov@vologda.ru

Белое озеро является важнейшим рыбохозяйственным водоемом Вологодской области (площадь около 1284 км²), испытывающим наибольшее антропогенное воздействие по сравнению с остальными крупными озерами региона (Болотова, 1999). В течение многих десятилетий ключевым видом в структуре рыбного населения Белого озера был судак (*Stizostedion lucioperca* [L.]), имевший наибольшую биомассу среди хищных рыб водоема (Коновалов, 2004). Этот вид является высшим интегрирующим звеном в цепи трофической передачи и аккумуляции токсических веществ в тканях тела, что обуславливает значимость данного вида как тест-объекта и индикатора состояния экосистемы водоема. Поэтому целью настоящей работы является оценка морфо-патологических отклонений в жизненно важных органах судака Белого озера в условиях многолетнего токсического загрязнения водоема.

Оценка морфо-патологических отклонений в популяции судака Белого озера проводилась по методике Ю. С. Решетникова и др. (1999) с некоторыми изменениями, обусловленными спецификой патологий судака в данном водоеме. Сбор полевого материала осуществлялся в период осенней траловой съемки в 1990-е – 2000-е годы. Анализировались разновозрастные особи судака сразу после их извлечения из орудий лова. Морфопатологическая индикация включала визуальную оценку патологических изменений внешних и внутренних органов у отдельных особей судака с использованием модифицированной шкалы оценок аномалий. По результатам количественной оценки патологий рассчитывались индексы неблагополучного состояния.

Основными загрязняющими веществами, поступающими в Белое озеро, являются тяжелые металлы, нефтепродукты, фенолы и пестициды. К важнейшим источникам первичного загрязнения водоема относятся бытовые и промышленные стоки, поступление токсикантов с освоенного водосбора и нефтепродуктов от интенсивного судоходства. Кроме того, загрязняющие вещества поступают через воздушный перенос от крупных промышленных центров в условиях максимальной открытости зеркала озера северным, западным и южным циклонам. Многолетняя аккумуляция токсических веществ в грунтах озера при его мелководности, приводит к вторичному загрязнению, чему способствуют как естественные (интенсивное ветровое перемешивание вод), так и антропогенные процессы (судоходство, расчистка и углубление русла).

Для анализа степени токсического загрязнения Белого озера отбирались пробы воды, грунта и мышечной ткани рыб для определения концентраций 11 наиболее токсичных тяжелых металлов (Изучить и установить причины..., 1994). Анализ проб воды и донных отложений на накопление в них тяжелых металлов показал, что наибольшую абсолютную концентрацию имеют соединения железа, содержание которых составляет 1,05 мг/л и 3695 мг/кг сухого веса соответственно (Коновалов, Болотова, 2001; Bolotova, Konovalov, 2002). Наибольшее относительное содержание в исследованных пробах воды имели медь (0,071 мг/л, или 71 ПДК), марганец (0,36 мг/л, 36 ПДК), железо (1,05 мг/л, 21 ПДК), хром (0,02 мг/л, 20 ПДК), цинк (0,17 мг/л, 17 ПДК), никель (0,05 мг/л, 5 ПДК) и кобальт (0,05 мг/л, 5 ПДК). Очень высокое содержание меди объясняется наличием в Белом озере участков с древними отложениями глины, обогащенными медью и выходящими на поверхность (Козловская, 1997). Интенсивное судоходство и проведение дноуглубительных работ

способствуют поступлению мелкодисперсной глинистой взвеси в воду и переносу меди по водоему. Наряду с поступлением меди с водосбора это вносит свой вклад в повышенное валовое содержание меди в Белом озере.

Общее содержание 11 тяжелых металлов в воде составляет в среднем 1,20 мг/л, а в грунтах – 4120,50 мг/кг сухого веса, что свидетельствует о высокой загрязненности вод озера тяжелыми металлами. Повышенное накопление соединений тяжелых металлов и других токсикантов в грунтах свидетельствует о длительной токсической нагрузке на водоем, а также наличии вторичного загрязнения.

Среди органических токсикантов, загрязняющих озеро Белое, на одном из первых мест по степени токсического эффекта стоят нефть и ее производные. В растворимые компоненты нефти входят ксенобиотики, не поддающиеся или трудно поддающиеся биологическому расщеплению. Содержание нефтепродуктов в воде озера Белого в последние годы колебалось в пределах 0,06–1,57 мг/л и превышало ПДК в среднем в 16 раз (Болотова, 1999). Другими опасными загрязняющими веществами являются хлорорганические пестициды. Их концентрация в воде Белого озера колеблется от 1,55 до 25,6 мг/л, что также в несколько раз превышает ПДК.

Повышенное накопление токсикантов в водной среде обуславливает высокие показатели накопления тяжелых металлов и других загрязнителей в тканях тела гидробионтов. В этом плане судак, как конечное звено в трофической цепи, является наиболее уязвимым среди всех водных организмов. Следует отметить, что для отдельных органов установлено избирательное накопление тяжелых металлов. Так, в печени судака преимущественно накапливаются медь, кобальт, хром, железо, никель, мышьяк; в гонадах – цинк и марганец; в мышцах – свинец и ртуть (Болотова, 1999).

Наибольшие абсолютные показатели накопления металлов в мышечной ткани судака отмечались для железа (5,5 мг/кг массы тела), цинка (5,0 мг/кг), меди (0,65 мг/кг) и никеля (0,6 мг/кг) (Изучить и установить причины..., 1994). Эти показатели превышают предельно допустимые нормы в 1,1 – 12,5 раз и являются предпосылкой развития у судака хронических токсикозов. Общее накопление 10 тяжелых металлов в мышечной ткани тела рыб составляет в среднем 9,50 мг/кг. Содержание в тканях тела остальных металлов, в том числе наиболее токсичных для человека – кадмия, свинца и ртути, также достаточно высоко. Это особенно опасно при наличии явлений синергизма между отдельными металлами, снижающих резистентность рыб к субтоксическим воздействиям токсикантов (Алабастер, Ллойд, 1984; Никаноров, Жулидов, 1991).

Последствия токсификации Белого озера на популяционном уровне проявляются в неравномерности пространственной картины распространения судака в водоеме, общем сокращении его жизненного цикла и замедлении темпа роста, более раннем наступлении половой зрелости, снижении плодовитости, изменении морфометрических показателей и количественных характеристик питания (Коновалов, 2004). На организменном уровне загрязнение водоема отражается в накоплении токсикантов в тканях тела судака и возникновении многочисленных отклонений в морфофизиологических, гистологических, гематологических показателях, а также в появлении морфологических патологий в жизненно важных органах. Изучение этих отклонений позволяет диагностировать степень токсического загрязнения водоема и характер его воздействия на популяции рыб.

Тяжесть и характер патологического процесса у рыб в условиях интоксикации отражается в патолого-анатомической картине состояния органов (Лукьяненко, 1987; Решетников и др., 1999). Визуальное определение изменений внешних характеристик органов, которое лежит в основе метода экспресс-анализа патологий рыб, определяет его важность в рамках проблемы биоиндикации. С этих позиций были проведены исследования патолого-морфологических отклонений жизненно важных органов.

Кожные покровы. У судака Белого озера распространено особое язвенно-опухоловое заболевание неизвестной этиологии (дерматофибросаркома). Наиболее вероятными причинами возникновения этого заболевания считаются химические канцерогены (опухолеродные агенты) и коканцерогены, а также вирусные агенты (Изучить и установить причины..., 1994). Частота встречаемости данного заболевания и степень поражения отдельных особей у судака обычно пропорциональны степени токсической нагрузки на водосм.

Отдельные особи судака с признаками этого кожного заболевания попадались еще в 1922 году (Изучить и установить причины..., 1994). Интенсивность заболевания в отдельные годы сильно менялась. Так, в 1950 году доля судака, имеющего опухоли, составляла 5,3% от его общих уловов (Морозова, 1955). По другим данным в 1950-е годы этим заболеванием было поражено от 30,5% исследованных рыб в летний период и до 77% в осенний период (Петрушевский, 1957). В 1960-е – 1970-е годы заболевание почти прекратилось, и доля судака с фибросаркомой составляла около 0,1% (Водоватов, Серенко, 1981). В 1980-е годы интенсивность заболевания вновь начала увеличиваться, и к концу десятилетия доля больных рыб достигала 5,5–11,6% от общего вылова судака. В 1990-е годы доля пораженного фибросаркомой судака в его общих уловах составляла около 5%. В последние годы на фоне масштабного снижения численности и биомассы судака в Белом озере встречаемость рыб с язвенным заболеванием кожи снизилась до 0,3%.

Начальные стадии этого кожного заболевания характеризуются появлением участков с более светлой окраской. Одновременно с началом депигментации кожи, в отдельных ее участках начинается расширение кровеносных сосудов, которое сопровождается появлением красных или фиолетовых пятен. Начальная форма патологии наиболее распространена и встречается довольно часто. При более сильном токсикозе на теле появляются ярко красные припухлости, постепенно переходящие в опухоли (язвы). Опухоли представляют собой «наросты» грязновато-белого цвета, которые имеют морщинистую форму и со временем начинают кровоточить. Изъязвлению у судака могут подвергаться любые участки головы и туловища, челюсти, жаберные крышки, спинные, хвостовой и анальный плавники (Рис. 1 А).

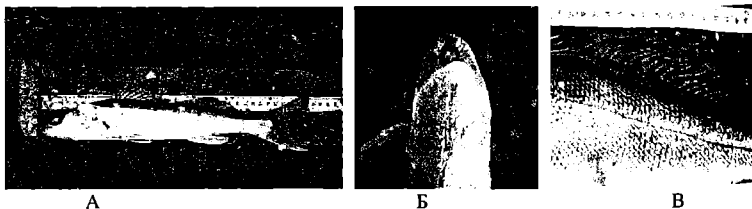


Рис. 1. Некоторые внешние патологии судака Белого озера: А – изъязвление жаберной крышки; Б – укорочение нижней челюсти; В – искривление лучей второго спинного плавника.

Наиболее сильные поражения отмечены непосредственно по бокам туловища и хвостового стебля. Обычно на теле имеется одна, две, или несколько крупных язв. Реже отдельные участки тела могут быть покрыты большим количеством относительно мелких язв. В этом случае их число может достигать более двадцати (Изучить и установить причины..., 1994). Опухоли обычно имеют продолговатую форму, расположенные рядом опухоли могут сливаться. По размеру опухоли белозерского судака могут быть мелкими, едва заметными, или достигать 12 см в длину. По своей структуре язвенно-опухоловая болезнь судака Белого озера аналогична заболеванию судака из Каспийского моря (Петрушевский, 1957).

Опухоли обычно появляются у наиболее крупных рыб, длиной 35–64 см (Изучить и установить причины..., 1994). По всей вероятности это связано с накоплением в теле

рыб различных токсических агентов, способствующих появлению опухолей по мере роста рыб. Тем не менее, в 1999 году в исследовательских траловых уловах был выловлен судак длиной 24 см, имевший на теле 8 язв. В целом, у пораженных фибросаркомой особей судака наблюдались более низкие показатели упитанности и ожирения внутренних органов, а также гораздо более высокая степень развития других морфо-патологических отклонений.

Челюсти. У судака Белого озера отмечаются единичные случаи недоразвития костей нижней челюсти, в результате которых она приобретает неправильную форму (Рис. 1 Б).

Плавники. У судака Белого озера может наблюдаться слабый изгиб лучей спинного и анального плавников (Рис. 1 В). Реже отмечается искривление лучей парных плавников. Результатом более сильного поражения, может быть сильное укорочение почти наполовину всех плавников («оплавление плавников»). Единично наблюдались случаи полного исчезновения брюшных плавников.

Жабры. Являясь одним из органов детоксикации, жабры имеют очень высокую частоту поражений. При слабом токсикозе жаберные лепестки изменяют свою изначально вишневую окраску на светло-розовую. При более сильном поражении на жабрах появляется анемичное кольцо. При увеличении токсикоза по краям жаберных лепестков появляется бледное кольцо, в котором происходит некробиоз и некроз клеток. Это часто сопровождается разрушением окончаний жаберных лепестков. При максимальных поражениях размеры жабр заметно уменьшаются, а их окраска становилась почти желто-оранжевой.

Позвоночник. В ходе исследований у судака были выявлены различные формы и степень поражения осевого скелета. Наиболее часто встречались боковые (сколиоз) и вертикальные изгибы позвоночного столба. Причем искривление отмечалось как в районе хвостового стебля, так и в области туловища (появление горба). Основной причиной искривления позвоночника являются деформации позвонков, происходящие на ранних стадиях онтогенеза судака.

Гонады. На ранних стадиях токсикоза, как у самцов, так и у самок появляется асимметрия гонад, когда одна гонада значительно превышала по размерам другую. При более сильных поражениях на гонадах появлялись борозды, складки и перетяжки, затрудняющие выметание половых продуктов. Причем эти патологии наиболее часто встречаются у половозрелых самцов.

Печень. Поражения печени имели большинство исследованных особей судака. На ранних стадиях токсикоза вишневая окраска печени становилась более бледной. При этом отмечалось появление характерных размытых светлых пятен. На более поздних этапах печень приобретала равномерную бледно-розовую или ржаво-рыжую окраску с белыми пятнами.

Полостной жир. В условиях загрязнения Белого озера у многих особей судака изначально снежно белый цвет полостного жира становится грязновато-белым. У некоторых исследованных рыб наблюдалось ожирение селезенки. У единичных экземпляров отмечалось слабое ожирение сердца.

Почки. Нарушения почек также встречались у значительного количества исследованных рыб. В ответ на загрязнение у судака наблюдается усиление кровенаполнения почек. В результате почки приобретают темную буроватую окраску. При усилении поражения почек возрастает их отечность, и появляются обширные соединительно-тканые разрастания. При наибольших поражениях почечная ткань приобретает гранулированную структуру.

Средняя величина нормированного индекса неблагополучного состояния (по Решетникову и др., 1999) для судака озера Белого составила 0,25, а индивидуальные колебания были от 0,03 до 0,52 (Коновалов, 2000). Средний ненормированный индекс неблагополучного состояния для популяции судака озера Белого составил 7,67. На

основании количественной оценки патологий судака, озеро Белое может быть отнесено к водоемам, находящимся в промежуточном положении между состоянием экологического бедствия и относительного экологического благополучия (Болотов, Коновалов, 2002).

Изучение степени морфопатологических отклонений отдельных органов судака показало, что наибольшие поражения имеют органы детоксикации организма (кожа, жабры, печень и почки) (Коновалов, Болотова, 2001; Коновалов et al., 2003). Их общая доля в величине индекса неблагоприятного состояния судака составляет около 76% (рис. 2). Частоты встречаемости поражений органов детоксикации организма колеблются около 90%. Патологические изменения гонад и остальных исследованных органов отмечались приблизительно у 30% изученных рыб.



Рис. 2. Доли органов (%) судака озера Белого в величине индекса неблагоприятного состояния Белого

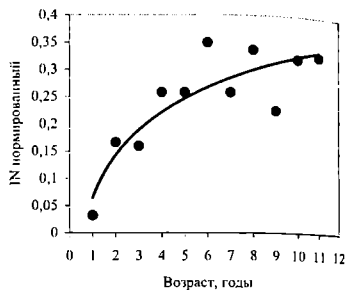


Рис. 3. Возрастная динамика индекса неблагоприятного состояния судака озера

Установлено, что степень патологических поражений жизненно важных органов судака увеличивается с возрастом вследствие накопления токсикантов в тканях тела (рис. 3). Так, величина коэффициента множественной корреляции между возрастом рыб, морфофизиологическими индексами органов и степенью их патологических поражений в большинстве случаев колеблется в пределах от 0,43 до 0,85 ($p < 0,05$) (Коновалов, Болотова, 2001). Таким образом, рост числа пораженных особей отражает увеличение токсичного загрязнения водоема. Многолетнее хроническое загрязнение Белого озера для судака особенно опасно. Это связано с тем, что судак, как хищник, принадлежит к высшему трофическому уровню и аккумулирует токсиканты не только из воды, но и из рыб-жертв (Коновалов et al., 2003). Токсикозы приводят к снижению количества и ухудшению качества рыбных ресурсов, и требуют принятия соответствующих мер. К их числу относятся научно обоснованная регуляция промысла, а также снижение биогенной нагрузки и поступления токсических веществ в водоемы.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых МК-5192.2007.4.

ЛИТЕРАТУРА

- Алабастрер Дж. Критерии качества воды для пресноводных рыб. / Дж. Алабастрер, Р. Ллойд. – М., 1984. – 343 с.
- Болотова Н. Л. Изменения экосистем мелководных северных озер в антропогенных условиях (на примере водоемов Вологодской области): дис. на соиск. учен. степ. докт. биол. наук / Болотова Наталья Львовна. – СПб, 1999. – 550 с.
- Водоватов Ю. С. Рыбные ресурсы / Ю. С. Водоватов, В. А. Серенко // Антропогенное влияние на крупные озера Северо-Запада СССР. Часть II. Гидробиология и донные отложения озера Белого. – Л.: Наука, 1981. – С. 109–130.

Изучить и установить причины язвенного заболевания судака на озере Белом и обследовать комплекс мероприятий по снижению ущерба его популяции. Отчет. Рук. темы О. Н. Юнчис. Фонды Вологодской лаборатории ФГНУ «ГосНИОРХ». – СПб, 1994. – 98 с.

Козловская В. И. Изучение экосистемы Шекснинского водохранилища, разработка системы наблюдений за состоянием его водных ресурсов и оценка современной ихтиотоксикологической ситуации / В. И. Козловская // Научное обеспечение охраны окружающей среды и рационального использования природных ресурсов. – Вологда, 1997. – С. 16–22.

Коновалов А. Ф. Морфопатологическая индикация популяции судака Белого озера / А. Ф. Коновалов // VII Молодежная научная конференция «Актуальные проблемы биологии и экологии». – Сыктывкар, 2000. Т. 2. – С. 104–105.

Коновалов А. Ф. Роль судака (*Stizostedion lucioperca* [L.]) в экосистемах крупных озер Вологодской области: дис. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук. / Коновалов Александр Федорович. – Петрозаводск, 2004. – 248 с.

Коновалов А. Ф., Болотова Н. Л. Применение методов морфологической индикации рыб для оценки загрязнения Белого озера тяжелыми металлами / А. Ф. Коновалов, Н. Л. Болотова // Современные проблемы биоиндикации и биомониторинга. XI Международный симпозиум по биоиндикаторам. Тезисы докладов. – Сыктывкар, 2001. – С. 83–84.

Лукьяненко В. И. Экологические аспекты ихтиотоксикологии. / В. И. Лукьяненко. – М.: Агропромиздат, 1987. – 240 с.

Морозова П. Н. Рыбы Белого озера и их промысловое использование / П. Н. Морозова // Рыболовство на Белом и Кубенском озерах. – Вологда, 1955. – С. 20–53.

Никаноров А. М. Биомониторинг металлов в пресноводных экосистемах. / А. М. Никаноров, А. В. Жулидов. – Л., 1991. – 311 с.

Петрушевский Г. К. О заболевании рыб Белого озера / Г. К. Петрушевский // Известия ВНИОРХ. Т. XII. – Л., 1957. – С. 278–282.

Решетников Ю. С. Оценка благополучия рыбной части водного сообщества по результатам морфопатологического анализа рыб / Ю. С. Решетников и др. // Успехи современной биологии. – 1999. – Т. 119, № 2. – С. 165–179.

Bolotova N. L. Morphopathologic analysis of zander (*Stizostedion lucioperca* L.) in Beloe Lake / N. L. Bolotova, A. F. Konovalov // Verh. Internat. Verein. Limnol., 28 Stuttgart. – 2002. – Pp. 1609–1612.

Konovalov A. F. Application of morpho-pathological and morpho-physiological analysis of Percis Fish for aquatic pollution control / A. F. Konovalov, N. L. Bolotova, N. V. Dumnich // The Third International Percid Fish Symposium. Abstracts. USA, Madison. – 2003.

НЕКОТОРЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ МИКРОБНОГО ПЕЙЗАЖА ШИРОКОПАЛОГО РАКА (*ASTACUS ASTACUS L.*) В ВОДОЕМАХ КАЛИНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Котлярчук М.Ю., Чернова Е.С.

Калининградский Государственный Технический университет,
г. Калининград, Россия
mkotlyarchuk@mail.ru

Широкопалый рак (*Astacus astacus L.*) составляет весомую часть макрозообентоса пресноводных водоемов бассейна Балтийского моря. Данный вид пресноводных раков относится к числу хорошо изученных видов – индикаторов качества водной среды. Наряду с этим, некоторые стороны существования широкопалого рака в экосистеме водоема как при благоприятных для своего развития условиях, так и в условиях негативного воздействия окружающей среды остаются крайне малоизученными. На сегодняшний момент практически отсутствует информация о роли микробных сообществ в жизненном цикле пресноводного рака. Вместе с тем, известно, что микроорганизмы весьма быстро реагируют на изменение условий существования восприимчивого хозяина увеличением численности, усилением патогенных свойств и другими параметрами. При этом ракообразные могут испытывать вредоносное воздействие как со стороны условно – патогенной микрофлоры, населяющей хозяина, так и со стороны микроорганизмов окружающей среды.

Расширение перечня эколого – физиологических характеристик пресноводных раков, используемых для индикации качества водоемов, может быть достигнуто детальным изучением роли определенных таксономических групп микроорганизмов в существовании вида на всех этапах жизненного цикла и в различных условиях окружающей среды. При этом в условиях многофакторного антропогенного воздействия на окружающую среду четко обозначится этиологическая значимость микроорганизмов, находящихся во взаимодействии с макроорганизмом.

Нами был изучен микробный пейзаж широкопалого рака, выловленного в озере Виштынецкое (со стороны Польши) и озере в пос. Озерки Гвардейского района Калининградской области в осенний период 2005 и 2006 гг.

Озеро Виштынецкое – самый крупный пресноводный водоем Калининградской области. Площадь его зеркала составляет около 16,6 км². Озеро олиготрофное, с некоторыми чертами мезотрофности в прибрежных частях.

Озеро в поселке Озерки представляет собой водоем карьерного типа, образованный на месте песчаной выработки. Это мелкий изолированный водоем с широким диапазоном глубин.

В качестве материала для бактериологического исследования отбирали пробы жабр, гемолимфы, пищеварительного канала (заднюю кишку), половых желез, мускулатуры (мышечные соединения между сегментами тела), в некоторых случаях – полостную жидкость. Посев первичного материала осуществляли с обогащением в 1% пептонной воде с последующим высевом на рыбу – пептонный агар, дифференциально – диагностический агар и псевдосель – агар. Температура инкубации составляла 25°C.

Раки из озера Виштынецкое имели отклонения в структуре наружных и внутренних органов. У всех исследованных экземпляров визуально отмечены белые пятна на панцире, при вскрытии выявлено наличие «радужной» полостной жидкости. Раки из карьерного озера в п. Озерки внешне заметными изменениями наружных и внутренних органов не отличались.

Обсемененность органов рака из обоих водоемов была невысокой, за исключением полостной жидкости у раков из оз. Виштынецкое. Количество

микроорганизмов, выросших при посеве полостной жидкости, составляло $1,2 \times 10^3$ – $2,5 \times 10^3$ КОЕ/мл.

Микрофлора раков представлена бактериями нескольких таксономических групп. Это бактерии семейств *Vibrionaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae*.

Нами отмечено значительное разнообразие качественного состава микрофлоры раков из оз. Виштынецкое, основу которой составляли бактерии родов *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes* и семейства *Enterobacteriaceae*.

Обсемененность органов раков из оз. Виштынецкое определялась либо одновременным присутствием микроорганизмов различных таксономических групп, либо явным доминированием бактерий р. *Pseudomonas*. Отмечены экземпляры, у которых бактерии единственного рода *Pseudomonas* формировали микробильный фон всех органов и тканей. При этом штаммы, выделенные из посевов жабр (у всех экземпляров раков), половых желез и полостной жидкости (у отдельных экземпляров раков), продуцировали пигмент зеленого цвета.

Для раков из карьерного озера, напротив, было характерно обеднение качественного состава микрофлоры. Основу их микробиоценоза формировали бактерии единственного рода *Aeromonas*, контаминировавшие все органы рака. Сопутствующими микроорганизмами выступали бактерии рода *Bacillus*, встреченные в единичных количествах в посевах жабр и пищеварительного канала.

Аэромонадная флора широкопалого рака в исследуемых нами водоемах была представлена большим числом видов. Это бактерии *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*, *A. veronii*, *A. eucrenophila*, *A. sp.*

Обращает на себя внимание тот факт, что все перечисленные виды бактерий р. *Aeromonas* отмечены у рака из карьерного озера, при этом бактерия *A. caviae* зафиксирована во всех его органах и тканях.

У рака из оз. Виштынецкое аэромонады немногочисленны и их видовой состав характеризуется преобладанием видов, не образующих газ из глюкозы.

Однако, все штаммы аэромонад, изолированные от раков из оз. Виштынецкое, обладали протеолитической активностью. Тогда как бактерии р. *Aeromonas*, выделенные из микрофлоры рака карьерного озера, не отличались высокой протеолитической активностью. Ею обладали только бактерии р. *Aeromonas*, выделенные из посевов жабр.

Псевдомонадная флора зарегистрирована только у экземпляров рака, выловленных в оз. Виштынецкое. В ее формировании принимали участие пигментообразующие штаммы псевдомонад и сероводородные штаммы *Ps. putrefaciens*.

Таким образом микробный пейзаж широкопалого рака в исследованных водоемах Калининградской области имел ряд особенностей.

1. Микрофлора раков из оз. Виштынецкое характеризуется смешанным составом микроорганизмов. Микрофлору раков в озере карьерного типа, напротив, создают бактерии одного рода – р. *Aeromonas*.

2. В посевах всех органов и тканей рака из оз. Виштынецкое зарегистрированы бактерии р. *Pseudomonas*. У раков из карьерного озера псевдомонады не выявлены.

3. Видовой состав аэромонад в микробиоценозе рака из оз. Виштынецкое отличается меньшим разнообразием и большей патогенностью по сравнению с микрофлорой раков из озера карьерного типа.

4. Основу микрофлоры раков из озера карьерного типа составляют бактерии единственного рода *Aeromonas*. При этом штаммы, обладающие патогенными свойствами, выделены только из посевов жабр.

Многочисленными работами (Johnson, 1983; Madetoja, Jussila, 1996 и др.) доказана роль многих бактерий в протекании у пресноводных ракообразных асимптоматичной бактериемии и бактериальной септицемии. Возбудителями

асимптоматичной бактериемии выступают как грамотрицательные, так и грамположительные бактерии множества родов. Данное состояние у раков характеризуется присутствием смешанной бактериальной популяции в гемолимфе.

Бактериальная септицемия пресноводных ракообразных диагностируется либо по наличию явных клинических признаков либо, в случае их отсутствия, посредством гистопатологического исследования.

Предварительное изучение микробиоценоза широкопалого рака позволяет сделать ряд предположений.

Для раков из оз. Виштынецкое характерна картина бактериальной септицемии. Она подтверждается результатами патологоанатомического вскрытия (наличие полостной жидкости) и бактериологического исследования (смешанный характер микробной популяции наряду с доминированием пигментообразующих бактерий р. *Pseudomonas*).

Для раков из озера карьерного типа ввиду отсутствия внешних признаков заболевания на данном этапе исследования, несмотря на явное доминирование бактерий р. *Aeromonas*, можно говорить о таком состоянии как бактериемия. Вместе с тем четкое доминирование штаммов *A. caviae* и известный патогенный потенциал азромонад в целом могут способствовать развитию септического процесса. Постоянство гидрологического, гидрохимического состава водоема карьерного типа, отсутствие источников антропогенного загрязнения, вероятно, сдерживают развитие подобного патологического состояния.

Полученные нами данные не позволяют в полной мере раскрыть закономерности жизнедеятельности микробных популяций у широкопалого рака в пресноводных водоемах Калининградской области. Необходимо дальнейшее всестороннее изучение микробиоценоза пресноводных ракообразных в условиях конкретной экологической системы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Johnson P.T. Diseases caused by viruses, rickettsia, bacteria and fungi // *The Biology of Crustacea*, 1983. – V. 6. – P. 1 – 78.
2. Madetoja M., Jussila J. Gram negative bacteria in the hemolymph of noble crayfish *Astacus astacus*, in an intensive crayfish culture system // *Nordic Journal Freshwater Research*, 1996. - № 72. – P. 88 – 90.

SOME RESULTS OF MICROBIAL PICTURE RESEARCH OF THE CRAYFISH (*ASTACUS ASTACUS L.*) IN KALININGRAD REGION RESERVOIRS

Kotlyarchuk M., Chernova E.
*Kaliningrad State Technical University,
Kaliningrad, Russia*

Microflora of the crayfish from different types of reservoirs in Kaliningrad region is investigated. Relation between microflora composition and type of reservoir is conducted. Predominant taxonomic groups of microorganisms are discovered.

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ МОРСКИХ КИШЕЧНОПОЛОСТНЫХ В УСЛОВИЯХ ИНТОКСИКАЦИИ СОЛЯМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

А.В. Кошелев

Одесский филиал Института биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАН
Украины, Одесса, Украина e-mail: Koshelev2006@ukr.net

Патологические реакции (токсикозы) гидробионтов, рассматриваются в качестве биоиндикаторов токсикологической экспресс-информации в регистрации токсических эффектов в водной среде. Наиболее полно освещены аспекты поведенческих и патологических эффектов среди пресноводных беспозвоночных [2].

Важным условием при выявлении токсичных эффектов является проведение модельных токсикологических экспериментов с тест-объектами на наиболее чувствительных стадиях их жизненного цикла. Вполне очевидно, что выбор организмов для этих целей должен определяться их массовостью и наличием онтогенетических стадий, приемлемых для токсикодиагностики. Всем этим требованиям в полной мере отвечают медузы *Aurelia aurita* L. с характерным для класса Scyphozoa циклом развития (метагенезом) и легко доступные морские гидроидные полипы.

Материалы и методы. С целью получения исходного материала для дальнейшего лабораторного содержания осенью, во время массового размножения, отловили в море медузу с оплодотворенными гонадами. В аквариуме в результате температурной стимуляции появились личинки – планулы. Через 1 – 2 сут. они превратились в сцифистом (полипоидное поколение). В лабораторных условиях сцифистом содержали при температуре не превышающей 20 °С. В качестве корма использовали науплиусы *Artemia salina* L.

Повышение температуры в культивационном сосуде до 25 °С приводило к переходу сцифистом к следующей стадии своего метагенетического цикла – стробиле. На стробиле образовывались кольцевые перетяжки, свидетельствующие о начале процесса стробилиации, в результате чего появлялись сформированные эфирь. В наших условиях по окончании стробилиации стробилы через сутки возвращались в исходную стадию – сцифистому.

Материалом для экспериментальных исследований послужил колониальный гидроид *Cordylophora inkermanica* Marfenin, отловленный в Сухом лимане под Одессой. В эксперименте использовали колонии, выращенные из одного гидранта исходной материнской колонии, что обеспечило генетическую однородность экспериментального материала. За состоянием колоний в растворах токсикантов вели наблюдения и сравнивали результаты с контрольной группой гидроидов. Колонии выращивали в чашках Петри объемом 70 мл., при 20 °С и без дополнительной аэрации. В качестве корма каждый гидрант колонии раз в два дня получал науплиус артемии. На одностуточных эфирях *A. aurita*, и колониях *C. inkermanica* была проведена экспериментальная оценка токсичности солей меди ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) и кадмия (CdSO_4). При выборе в качестве токсикантов солей этих металлов руководствовались, прежде всего, их высокой токсичностью для гидробионтов [4]. Исследовали действие металлов в диапазоне концентраций 0.0001 – 10 мг/дм³. Экспозиция экспериментов составила 48 ч. при температуре 20 °С. Контролем служила морская вода, соленостью 15‰. Критерием гибели тест-объектов служили следующие признаки: иммобилизация, отсутствие характерных пульсирующих сократительных движений и отсутствие реакции на прикосновение.

Результаты и обсуждение. Зона токсического действия для тест-объектов в течение 24 часов в растворах меди составила 0.1 – 10 мг/дм³, в растворах кадмия 1 – 10 мг/дм³. По окончании экспозиции (48 часов) остролетальный эффект проявился в

концентрациях 0.001 мг/дм^3 (CuSO_4) и 0.01 мг/дм^3 (CdSO_4). В контрольной группе выживаемость составила 100%.

Смертность эфир *A. aurita* сопровождалась комплексом патоморфологических изменений, находящихся в прямой зависимости от продолжительности экспонирования и концентрации токсикантов. По результатам наблюдений удалось определить особенности реагирования эфир в ответ на токсическое действие металлов и последовательность наступления стадий интоксикации (рис.).

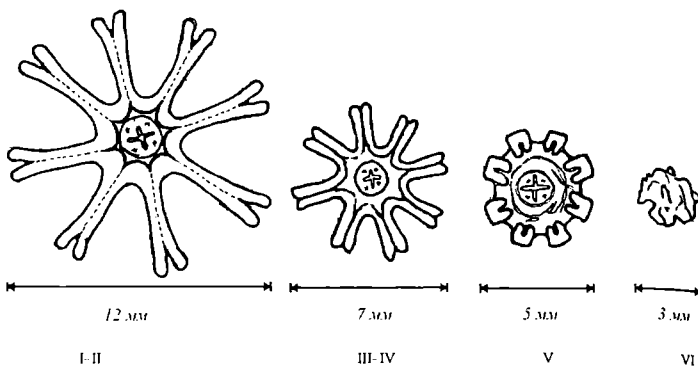


Рисунок. Стадии интоксикации эфир *Aurelia aurita* L. (ориг.)

- I. Эфиры в норме (контроль). Активное движение во всей толще воды, сокращения лопастей зонтика.
- II. Первые признаки патологии. Размеры эфир не меняются, но снижается двигательная активность. Эфиры в расправленном состоянии свободно «парят» в толще воды, изредка совершая нульсигурные движения.
- III. Уменьшение диаметра зонтика. Сокращение длины лопастей и округление в результате набухания эктодермы.
- IV. Имобилизация. Неподвижные эфиры с расправленным зонтиком не реагируют на механическое раздражение (прикосновение пинцетом и иглой), что свидетельствует о наступившей гибели.
- V. Посмертные морфологические изменения. Эфиры лежат на дне сосудов, лопасти зонтика загнуты на брюшную сторону, поверхность тела сильно ослизнена.
- VI. Мацерация (лизис) эфир. Эфиры представляют собой ослизненный комок, который легко разрушается при прикосновении.

Морфологические изменения характеризовались и уменьшением размеров эфир в зависимости от степени развития патогенеза отравления.

Острая интоксикация *C. inkermanica* также сопровождалась рядом патологических изменений морфологии гидрантов. У интоксигированных особей удалось определить специфические изменения, характерные для гидроидных полипов. Основные диагностические признаки определялись по состоянию гидрантов и щупалец. Первоначальным симптомом являлось округление гидрантов вследствие набухания эктодермы. В дальнейшем наблюдалось сокращение длины щупалец вплоть до их полного разрушения и лизиса. Общая диагностика отравления определена по следующим признакам: лизис ценосарка, мацерация контура гидранта. В конечном итоге гидранты представляли собой аморфную, сильно ослизненную и легко разрушающуюся массу.

Отмечено [1, 3], что появление слизи, покрывающей поверхность тела, является одной из отличительных черт интоксикации тяжелыми металлами. Специфичность этой реакции подтвердилась и при прослеживании динамики пораженных эфир сцифоидной медузы *A. aurita* и гидроидов *C. inkermanica*.

В настоящем эксперименте использовался клон, в понимании [5], полученный в результате бесполого размножения сцифистомы *A. aurita*, и гидранта *C. inkermanica*.

что определило однозначность реагирования тест-объектов на токсическое действие солей металлов.

Исходя из того, что кишечнополостные относятся к одному из древнейших типов беспозвоночных, с чрезвычайно низкой биологической организацией, вполне объяснима высокая чувствительность к солям металлов, как токсическим агентам. Отсутствие сложных гомеостатических биосистем, примитивность тканевых структур стали причиной массовой гибели морских кишечнополостных в растворах токсикантов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Брагинский Л.П., Давыдов О.Н. Экологическая экспертиза причин массовой гибели рыб. – К.: Институт зоологии НАН Украины, 1996. – 128 с.
2. Брагинский Л.П., Игнатюк А.А. Визуально фиксируемые реакции пресноводных гидробионтов как экспресс-индикаторы токсичности водной среды // Гидробиол. журн. – 2005. – 41, № 4. – С. 89 – 103.
3. Метелев В.В., Канаев А.М., Дзасохова Н.Г. Водная токсикология. – М.: Колос, 1971. – 247 с.
4. Патин С.А. Влияние загрязнения на биологические ресурсы и продуктивность Мирового океана. – М.: Пищ. пром-сть, 1979. – 304 с.
5. Хлебович В.В. Адаптации особи и клона: механизмы и роли в эволюции // Успехи современной биологии. – 2002. – 122, № 1. – С. 16 – 25.

PATOMORPHOLOGICAL CHANGES OF MARINE COELENTERATES IN CONDITIONS OF THE INTOXICATION OF HEAVY METALS SALTS

A.V. Koshelev

Results of toxicity of salts of metals CuSO_4 and CdSO_4 for sea coelenterates are resulted: an ether jellyfishes *Aurelia aurita* L. (Scyphozoa) and polyp *Cordylophora inkermanica* Marfenin (Hydrozoa). The sequence and character patomorphological changes of tests-objects on action toxicants is described.

ВЛИЯНИЕ ГОРМОНА СТРЕССА КОРТИЗОНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ ОРГАНОВ КАРПА *CYPRINUS CARPIO L.*

В.Р. Микряков, Н.И. Силкина, Д.В. Микряков

Институт биологии внутренних вод РАН – ИБВВ, Борок Ярославской области
E-mail: mvr@ibiw.yaroslavl.ru

Липиды являются большой группой природных соединений, находящихся в составе клеточных структур всех живых организмов и наряду с белками, нуклеиновыми кислотами и углеводами обеспечивающими основные физиологические функции в процессах жизнедеятельности. Помимо участия в энергетическом и пластическом обмене, у животных, в том числе и рыб, липиды принимают участие в осуществлении целого ряда важнейших жизненных функций – гидростатической, теплоизолирующей, механической, иммунологической и других (Сидоров и др., 1977; Лапин, Шатуновский, 1981; Сидоров, 1983; Силкина, 1988; Гершанович и др., 1991; Степанов и др., 1991).

Показатели липидного обмена, в частности фракционный состав липидов тканей, как показано в ряде исследований, являются надежным диагностическим тестом, отражающим последствия влияния разнообразных неблагоприятных факторов на состояние здоровья рыб (Лапин, Шатуновский, 1981; Сидоров, 1983). У рыб под воздействием различных стресс-факторов, в том числе паразитарных и токсикологических, нарушаются темпы и направление липидного обмена, изменяется соотношение между процессами липолиза и липогенеза, что в конечном итоге отражается на уровне содержания липидов и их качественном составе (Шатуновский, 1980; Силкина, 1988; Силкина и др., 2006).

Согласно существующим представлениям, процессы липолиза при стрессе активизируются, а липогенеза – падают (Шрейбер, 1987; Розен, 1994). Важная роль в регуляции изменения обмена принадлежит гормонам стресса и инсулину (Розен, 1994). Стимуляторами липолиза, кроме катехоламинов, считаются глюкокортикоидные гормоны, в т.ч. кортизол и его производные (Шрейбер, 1987).

К группе кортикостероидных гормонов относится кортизон, который считается гормоном стресса, поскольку организм животных реагирует на стрессовое воздействие активацией синтеза глюкокортикоидов (Горизонтов, 1981; Шрейбер, 1987; Хантов, Лесков, 2001; Мартемьянов, 2002; Pickering, 1981; 1993; Wendelaar Bonga, 1997). У высших позвоночных глюкокортикоидные гормоны оказывают существенное влияние на липидный обмен в тканях и органах. Основным местом их регуляторного действия, как это установлено на высших позвоночных, является печень (Шрейбер, 1987). Под влиянием глюкокортикоидов процессы липогенеза падают, а липолиза, наоборот, повышаются, и как следствие усиливается распад депонированного жира до свободных жирных кислот и образования кетоновых тел. Кроме того, в организме животных изменяются величины содержания фосфолипидов, холестерина, незэтерифицированных жирных кислот, триацилглицеринов и эфиров стероидов.

Материалов по влиянию глюкокортикоидных гормонов, в т.ч. кортизона, на уровень липидного обмена в тканях и органах рыб в доступной литературе мало, а изучение этого вопроса позволит уточнить роль негативного воздействия стресс-факторов на показатели липидного обмена и сравнить с таковой реакцией у высших позвоночных животных. Исходя из этого, представлялось интересным изучить влияние кортизона на содержание липидов и их фракционный состав в разных по функциональному значению иммунокомпетентных органах (печени и селезенке) рыб на примере карпа *Cyprinus carpio L.* Это и стало целью настоящей работы.

Объектом для исследования послужили карпы *Cyprinus carpio L.* в возрасте 2+ - 3+. В качестве гормонального препарата применяли дексаметазон-фосфат фирмы

КРКА. Novo mesto, Slovenia. Данный синтетический гормон является аналогом природного кортизона. Обработку рыб дексаметазон-фосфатом осуществляли путем парентеральных инъекций в дозе 0,2 мл или 0,8 мг активного вещества дексаметазон-фосфата на особь, что соответствует 0,012 мг% кортизола стрессированных рыб (Лав, 1976). Отбор проб проводили через 1, 3, 7, 14 и 21 сут после инъекции гормона. В качестве контрольных показателей использовали данные липидного обмена карпов, полученные до начала опыта. Липиды из тканей (печени и селезенки) экстрагировали и определяли общепринятым способом по Фолчу (Folch et al., 1957). Качественный состав липидов определяли методом тонкослойной хроматографии на пластинках «Silufob» в различных системах растворителей и проводили количественное определение каждого липидного пятна (Кейтс, 1972). Результаты исследований подвергали статистической обработке при помощи стандартного пакета программ (Microsoft Office 98, приложение Statistica) с последующей оценкой различий с использованием t-теста, $p < 0.05$.

Анализ полученных материалов показал, что карпы на действие кортизона, реагировали увеличением содержания общих липидов и перераспределением липидных фракций в исследуемых органах (табл. 1-2). Полученные результаты позволили выявить общую тенденцию изменения показателей липидного обмена, происходящую в иммунокомпетентных органах, а также сходство и различие по уровню содержания общих липидов и их отдельных фракций. Печень и селезенка опытных рыб, подвергшихся воздействию гормонами стресса, различались между собой количественным содержанием, интенсивностью и продолжительностью изменения исследуемых показателей. Вероятно, это связано со структурно-функциональными особенностями этих органов.

У высших позвоночных, как сказано выше, основным местом метаболического действия гормонов стресса, в частности кортизола и его производных, является печень (Шрейбер, 1987), а затем другие органы. В печени происходят основные процессы трансформации липидов. У карповых рыб печень принимает активное участие в пищеварительных процессах, выработке ововителлина, обмене веществ, реализуя синтез и деградацию гликогена, белков, липидов, а также процессы их неогенеза, детоксикации, разрушения и элиминации чужеродных тел из организма, в реализации иммунологических реакций и другие (Балабанова, 1979; Микряков, 1991; Арцимович и др., 1992; Маянский, 1992; Чернышева, 1995; Новиков, 1999), а селезенка является основным местом эритро- и тромбопоэза (Микряков и др., 2001).

Таблица 1. Содержание общих липидов в печени и селезенке карпа после инъекции дексаметазон-фосфата

Органы	Дата отбора проб					
	Контроль	1 сут	3 сут	7 сут	14 сут	21 сут
Печень	1662±15,62	1647±9,43	1716±5,78*	1725±7,07*	1731±4,84*	1704±6,20*
Селезенка	975±7,63	990±22,91	1050±11,54*	1210±10,00*	1115±42,52*	1210±7,63*

Примечание: Во всех таблицах * - достоверно относительно контроля при $p \geq 0.05$.

Изучение количества общих липидов и их качественного состава в тканях печени и селезенки карпа показало, что гормональное воздействие привело к достоверному повышению уровня липидов (табл. 1) и изменению баланса фракций (табл. 2). Анализ полученных данных показал, что основной липидной группой в исследованных иммунокомпетентных органах являются структурные фосфолипиды, составившие в печени примерно половину от уровня общих липидов и около 45-47% в селезенке; остальная часть липидных компонентов исследованных органов рыб приходилась на триацилглицерины (15.8-24.9 и 16.1-25.1% соответственно), эфиры стерина (5.5-17.1 и 5.5-17.2% соответственно), суммарный холестерин (7.2-18.0 и 7.6-16.2%

соответственно) и свободные или неэстерифицированные жирные кислоты (НЭЖК) (2.2-7.4 и 4.1-12.1% соответственно), углеводороды составляли минимальное количество (0.1-0.2%). После инъекции кортизона у опытных рыб произошел сдвиг липидного баланса как в тканях печени, так и селезенки. В обоих изученных органах наибольшие отличия от контроля у опытных карпов по показателям вышеуказанных фракций наблюдали в первые две недели после начала опыта.

Таблица 2. Фракционный состав липидов печени и селезенки карпа после инъекции дексаметазон-фосфата

Дата отбора проб, сут	Фракции липидов (% суммы)					
	фосфолипиды	холестерин	неэстерифицированные жирные кислоты	триацилглицерины	эфир стериннов	углеводороды
ПЕЧЕНЬ						
Контроль	50,04±0,58	5,40±0,14	2,20±0,10	24,94±0,21	17,16±0,42	0,26±0,07
1	50,02±0,48	7,20±0,14*	4,84±0,15*	22,92±0,97*	14,88±0,49*	0,14±0,02
3	51,68±0,24*	15,5±0,29*	6,08±0,17*	17,54±0,45*	9,02±0,31*	0,18±0,04
7	50,38±0,33	18,02±0,20*	6,32±0,20*	19,52±0,22*	5,56±0,20*	0,20±0,03
14	51,88±0,17*	17,56±0,29*	7,46±0,21*	15,80±0,33*	7,18±0,12*	0,12±0,02
21	51,28±0,22	11,84±0,15*	4,94±0,23*	20,90±0,27*	10,90±0,27*	0,14±0,02
СЕЛЕЗЕНКА						
Контроль	45,40±0,21	8,13±0,07	4,22±0,13	25,13±0,20	17,26±0,56	0,12±0,01
1	45,83±0,07	7,64±0,08*	6,51±0,06*	24,00±1,25	14,10±0,20*	0,15±0,00
3	46,17±0,20	16,08±0,07*	11,14±0,07*	17,03±0,59*	9,26±0,50*	0,10±0,00
7	45,07±0,02	16,22±0,03*	12,18±0,17*	19,33±0,34*	5,50±0,30*	0,10±0,00
14	47,12±0,06*	16,03±0,06*	11,88±0,17*	16,10±0,40*	7,03±0,13*	0,11±0,00
21	45,03±0,13	8,41±0,56	4,19±0,15	21,23±0,32*	10,56±0,18*	0,10±0,00

Печень. У опытных рыб, по сравнению с контрольными, наблюдали перераспределение отдельных липидных компонентов уже через сутки после гормонального воздействия: было зафиксировано увеличение доли холестерина и НЭЖК и понижение уровня запасных липидов - эфиров стериннов и триацилглицеринов, а на 7 сутки опыта отличия липидных фракций стали максимальными (табл.2). Количество холестерина и НЭЖК в печени на 21 сутки от начала эксперимента оставалось повышенным, а эфиров стериннов и триацилглицеринов - пониженным. Содержание фосфолипидов достоверно увеличивалось относительно контроля на 3 и 14 сут наблюдения. К концу опыта показатели отдельных липидных фракций еще отличались от контроля, но можно отметить тенденцию к восстановлению прежних параметров. Количественные показатели общих липидов печени опытных рыб достоверно увеличивались, но не так интенсивно как в селезенке.

Селезенка. В селезенке выявлено достоверное увеличение содержания общих липидов на 3 сут, а количественные показатели некоторых липидных фракций у опытных рыб отличались от контрольных уже через 1 сут после начала опыта (табл.2). Реакцией на гормональное воздействие послужило понижение количества триацилглицеринов и эфиров стериннов и повышение НЭЖК и холестерина. Наибольшие изменения количественных показателей этих фракций в селезенке отмечены на 3, 7 и 14 сут после введения гормона. Анализ данных, полученных в селезенке на 21 сут, говорит о снижении воздействия аналога кортизона и

стабилизации фракционного состава липидов: показатели холестерина и НЭЖК практически не отличались от контроля, а содержание триацилглицеринов и эфиров стеринов увеличивалось. Достоверное различие в количестве фосфолипидов у опытных рыб отмечено только на 14 сут по сравнению с контролем. Уровень фракции углеводов, как в селезенке, так и в печени опытных рыб на протяжении эксперимента достоверно не отличались от контроля.

Таким образом, гормониндуцируемая имитация стресса привела к изменениям липидного обмена в тканях опытных рыб. У карпов в исследованных иммунокомпетентных органах наблюдали изменения баланса липидного обмена и перераспределение отдельных фракций липидов: на фоне увеличения количества общих липидов повысились уровни холестерина, НЭЖК, фосфолипидов и понизилось содержание эфиров стеринов и триацилглицеринов.

Снижение содержания триацилглицеринов свидетельствует о том, что аналог кортизона вызвал в исследуемых органах карпа липолиз. В результате процесса расщепления сложных липидов в организме рыб образуется большое количество энергии, которое требуется организму при стрессе. Кроме того, образовавшиеся после липолиза простые липиды, по-видимому, используются организмом для других приспособительных реакций. Об этом же свидетельствует ослабление функции печени образовывать энергосвязанный холестерин, что проявилось падением доли эфиров стеринов более чем в 3 раза (на 7 сут). Зафиксированное повышение содержания холестерина, вероятно связано с тем, что он является источником для биосинтеза стероидных гормонов, а их синтез увеличивается при воздействии стресс-факторов.

Высокий уровень содержания НЭЖК в исследованных нами органах при гормониндуцируемом стрессе, как и у высших позвоночных, отражает активацию процессов липолиза и интенсивность образования свободных жирных кислот. Известно, что у высших позвоночных одним из интегральных показателей отражающим нарушения липидного обмена при стрессе является концентрация НЭЖК (Панин, 1983; Розен, 1994), которые принимают активное участие в процессах жизнедеятельности организма рыб (Шатуновский, 1980). Уровень содержания зависит от соотношения скоростей липолиза и липосинтеза в печени и жировой ткани, с одной стороны, и потребления свободных жирных кислот в качестве источника энергии в мышцах, почках, селезенке и других тканях – с другой. В неблагоприятных условиях (голодание, интенсивная мышечная нагрузка в период нерестовых миграций, сильный стресс) концентрация свободных жирных кислот возрастает в несколько раз (Ньюсхолм, Старт, 1973). Поскольку такие соединения легче других веществ липидного строения подвергаются окислению в функционирующих тканях, они служат важнейшими и даже первостепенными энергетическими источниками для многих типов клеток, в частности в скелетных мышцах, в миокарде сердечной мышцы. Гормональная стимуляция липолиза в тканях печени в условиях стресса и последующая гиперлипидемия приводят не только к повышению окисления НЭЖК, но и к торможению утилизации углеводов в мышцах и других тканях, «сохраняя» тем самым глюкозу для мозга, который предпочтительно утилизировать глюкозу, а не жирные кислоты (Розен, 1994). НЭЖК также могут быть использованы для синтеза других химически активных соединений, играющих большое значение в развитии воспалительного процесса, в частности, простагландинов, предшественниками которых они являются (Леутская, 1990).

Отмеченное нами изменение относительного содержания фосфолипидов в тканях печени и селезенки скорее всего связано со структурной перестройкой в мембранах клеток и нарушением чувствительности к действию сигнальных веществ и повреждающих факторов, а также с функциональной активностью отдельных соединений липидной природы (Гершанович и др., 1972; Шатуновский, 1980; Сидоров, 1983).

Анализ полученных данных показал, что характер изменения исследуемых показателей сходен с таковыми у высших позвоночных (Шрейбер, 1987; Розен, 1994). Аналог кортизона вызывает в организме рыб нарушения липидного обмена, аналогичные таковым после воздействия стрессоров различной природы. Ранее нами у лещей, зараженных *Ligula intestinalis*, а также у карпов при воздействии солями тяжелых металлов (ионами кадмия, меди), фенола, нафталина было отмечено изменение уровня липидного обмена и перераспределение липидных фракций (Силкина, Микряков, 2005, 2006).

Таким образом, печень и селезенка на гормониндуцируемую имитацию стресса реагируют нарушением липидного обмена и дестабилизацией их фракционного состава в сторону усиления распада резервного жира до свободных жирных кислот - НЭЖК, разрушения структурных фосфолипидов, увеличения холестерина, снижения триацилглицеринов. Установленные изменения биохимического состава в исследованных иммунокомпетентных органах после гормонального воздействия отражают ответную адаптивную реакцию организма рыб на стрессорное воздействие.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 06-04-48812).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Арцимович Н.Г., Настоящая Н.Н., Казанский Д.Б., Ломакин М.С. 1992. Печень как орган иммунобиологической системы гомеостаза // Успехи соврем. биологии. Т. 112, № 1. С. 88-99.

Балабанова Л.В. 1979. Судьба парентерально введенных бактерий в организме рыб // Физиология и паразитология пресноводных животных Л., Наука, С.88-104.

Гершанович А.Д., Латин В.И., Шатуновский М.И. 1991. Особенности обмена липидов у рыб // Успехи соврем. биологии. Т.3. Вып.2. С.207-219.

Горизонтов П.Д. 1981. Стресс. Система крови в механизме гомеостаза. Стресс и болезни // Гомеостаз. М.: Медицина. С. 538-570.

Кейтс М. 1972. Техника липидологии. М.: Наука, 300 с.

Лав Р.М. 1976. Химическая биология рыб. М.: Пищ. пром-сть, 350 с.

Латин В.И., Шатуновский М.И. 1981. Особенности состава, физиологическое и экологическое значение липидов рыб // Усп. совр. биол. Т.1. С.380-394.

Леутская З.К. 1990. Некоторые аспекты иммунитета при гельминтозах. М.: Наука, 210 с.

Мартемьянов В.И. 2002. Стресс у рыб: защитные и повреждающие процессы // Биол. внутр. вод. № 4. С. 3-7.

Маянский А.Н. 1992. Иммунологические свойства синусоидных клеток печени // Успехи соврем. биологии. Т. 112, № 1. С. 52-61.

Микряков В.Р. 1991. Закономерности формирования приобретенного иммунитета у рыб. Рыбинск: ИБВВ РАН, 153 с.

Микряков В.Р., Балабанова Л.В., Заботкина Е.А. и др. 2001. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление воды. М.: Наука, 126 с.

Новиков Г.Г. 1999. Рост и энергетика развития костистых рыб в раннем онтогенезе. М.: Эдиториал УРСС, 296 с.

Ньсхолм Э., Стар К. 1977. Регуляция метаболизма. М.: Мир, 204 с.

Панин Л.Е. 1983. Биохимические механизмы стресса. Новосибирск: Наука, 231 с.

Розен В.Б. 1994. Основы эндокринологии. М.: Изд-во МГУ, 384 с.

Сидоров В.С. 1983. Экологическая биохимия рыб. Липиды. Л.: Наука, 203 с.

Сидоров В.С., Лизенко Е.И. и др. 1977. Липиды рыб (Литературный обзор) : Сравнительная биохимия рыб и их гельминтов. Петрозаводск. С. 5 – 56.

- Силкина Н.И. 1988. Сезонная динамика липидов сыворотки крови и ее связь с иммунологической реактивностью рыб. Автореф. дис. канд. биол. наук. М. ИМЭЖ РАИ. 17 с.
- Силкина Н.И., Микряков Д.В., Микряков В.Р. 2006. Механизм действия аналога кортизона на окислительные процессы при адаптации рыб к стресс-факторам // Принципы и способы сохранения биоразнообразия. Сборник материалов II Всерос. науч. конф. 28-31 января 2006 г. Йошкар-Ола, С.332-333.
- Силкина Н.И., Микряков В.Р. 2005. Влияние *Ligula intestinalis* на некоторые показатели липидного обмена селезенки хозяина – леща *Abramis brama* разного возраста // «Паразитология», Т.39, Вып.4, С.299-305.
- Силкина Н.И., Микряков В.Р. 2006. Влияние сублетальных концентраций ионов кадмия на некоторые показатели липидного обмена рыб // Токсикологический вестник, №1, С.20-24.
- Степанов А.Е., Краснопольский Ю.М., Швец В.И. 1991. Физиологически активные липиды. М.: Наука. –136 с.
- Хаштов Р.М., Лесков В.П. 2001. Иммуитет и стресс // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова, Т. 87. № 8. С. 1060-1072.
- Чернышева М.П. 1995. Гормоны животных. Введение в физиологическую эндокринологию. Сп-б.: Глаголь, 296 с.
- Шатуновский М.И. 1980. Экологические закономерности обмена веществ морских рыб. М. С. 238 с.
- Шрейбер В. 1987. Патолофизиология желез внутренней секреции. Прага: Авиченум, 493 с.
- Folch J., Lees M., Stanley G.N. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animals tissues // J.Biol. Chem. V.226, № 3. P.497-509.
- Pickering A.D. 1981. Introduction: the concept of biological stress // Stress and Fish. L.; N.Y.: Acad. Press. P. 1-9.
- Pickering A.D. 1993. Endocrine-induced pathology in stressed salmonid fish // Fish. Res. V. 17. P. 35-40.
- Wendelaar B., Sjoerd E. 1997. The stress response in fish // Physiol. Rev. Vol. 77. № 3. P. 591-625.

**INFLUENCE OF THE STRESS HORMONE CORTISONE ON LIPID
EXCHANGE PARAMETERS OF IMMUNOKOMPETENT BODIES
IN CARP *CYPRINUS CARPIO* L.**

D.V. Mikrjakov, N.I. Silkina, V.R. Mikrjakov

Results of researches of cortisone analogue influence on lipid exchange parameters of immunokompetent organs (a liver and a spleen) in carp *Cyprinus carpio* L. are generalized. Fishes reacted to hormone injection by lipid exchange infringement and destabilization of their fractional structure. The established changes in investigated immunokompetent organs after hormonal influence reflect reciprocal adaptive reaction of fish organism on stress influence.

ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ ОРГАНОВ СТЕРЛЯДИ *ACIPENSER RUTHENUS*
L. ПОД ВЛИЯНИЕМ ГОРМОНА СТРЕССА КОРТИЗОНА

Д.В. Микряков, Н.И. Силкина, В.Р. Микряков

Институт биологии внутренних вод РАН – ИБВВ, Борок Ярославской области
E-mail: mvr@ibiw.yaroslavl.ru

Рыбы, как в естественных, так и в искусственных условиях обитания, в онтогенезе неоднократно подвергаются воздействию различных по природе и происхождению биотических и абиотических стресс-факторов: физических, химических, биологических, паразитарных, нерестовых, транспортных, технологических (при индустриальных способах выращивания), техногенных и т.д. (Pickering, 1981; Лукьяненко, 1983; Кашулин и др., 1999; и др.). Реакция у рыб на стресс, подобно таковой у высших позвоночных (Селье, 1960; Горизонтов, 1981; Розен, 1994; и др.), сопровождается активацией синтеза гормонов стресса – соматотропного и адренокортикотропного гормонов, кортизола, катехоламинов, и вызванных ими нарушений метаболических процессов, снижением иммунологических функций и адаптивного потенциала (Pickering, 1981, 1993; Wendelaar Bonga, 1997; Баюнова и др., 2000; Мартемьянов, 2002 и др.).

Кортизол и его производные считаются одними из основных гормонов, осуществляющими повреждение структуры и функции иммунной системы при стрессе. Они вызывают лизис тимико-лимфоидной ткани, активацию аутоиммунных процессов, лимфопению, нейтрофилию, подавление специфического и неспецифического иммунного ответа и увеличение восприимчивости животных, в том числе и рыб, к заболеваниям (Горизонтов, 1981; Pickering, 1993; Розен, 1994; Wendelaar Bonga, 1997; Хаитов, Лесков, 2001; Микряков, Микряков, 2002). Индикатором влияния на рыб разных по природе и происхождению стресс-факторов является повышение плазменного кортизола (Wendelaar Bonga, 1997). Установлена положительная корреляция иммунодепрессивного состояния и повышенной чувствительности стрессированных рыб к болезнетворным организмам с высоким уровнем содержания плазменного кортизола (Pickering, Pottinger, 1989; Suzuki, Iida, 1992; Wendelaar Bonga, 1997; и др.). Это заключение находится в соответствии с эффектами, полученными на рыбах в опытах после введения кортизола и его синтетических аналогов: гидрокортизона и дексаметазон-фосфата (Wendelaar Bonga, 1997; Микряков, Микряков, 2002; Д. Микряков и др., 2004).

Накопленные в литературе данные в основном посвящены изучению влияния кортизола и кортизона на закономерности формирования специфического и неспецифического иммунного ответа, структурно-функциональное состояние лейкоцитов, содержание Т- и В-лимфоцитов, реакцию миграции макрофагов в организме рыб (Stave, Roberson, 1985; Wendelaar Bonga, 1997; Микряков, Микряков, 2002; Микряков и др., 2004; и др.).

Ранее нами показано, что после инъекции аналога кортизона у рыб отряда карпообразных *Cypriniformes* (карпах и карасях) отмечено изменение соматических индексов иммунокомпетентных органов и усиление процессы окислительного стресса (Д. Микряков и др., 2004; В. Микряков и др., 2006). Представлялось интересным изучить влияние гормонов стресса на органы иммунной системы рыб других отрядов, в частности осетрообразных *Acipenseriformes*, эволюционно отличающихся развитым лимфомиелоидных тканей, а также образом жизни.

Целью работы было определение характера влияния аналога кортизона на морфофизиологическое состояние иммунокомпетентных органов (почек, селезенки и печени) стерляди *Acipenser ruthenus* L.

Опыты ставили на стерляди *Acipenser ruthenus* L. средней массой 200-300 г. Рыб содержали в принудительно аэрируемых бассейнах при температуре воды 16-18°C. В качестве гормонального препарата использовали дексаметазон-фосфат – аналог кортизона (фирма КРКА, Novo mesto, Словения). Обработку рыб гормоном проводили путем парентеральных инъекций в дозе 2 мг/особь. Пробы отбирали через 1, 3, 7, 14 и 21 сут после внутривенной инъекции гормона. В качестве контроля использовали данные, полученные до начала опыта.

Особей стерляди подвергали полному биологическому анализу. Морфофункциональное состояние иммунокомпетентных органов оценивали по соматическим индексам головного отдела почек, селезенки и печени, по интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) и общей антиокислительной активности (ОАА) анализировали сыворотку крови и иммунокомпетентные органы.

Индексы иммунокомпетентных органов рассчитывали по процентному отношению исследуемого органа к массе рыбы. Об интенсивности ПОЛ в тканях судили по накоплению малонового диальдегида (МДА) – одного из конечных продуктов перекисного окисления. Концентрацию МДА определяли на основе учета количества продуктов перекисного окисления липидов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой и дающих с ней окрашенный комплекс. Общую (интегральную) антиокислительную активность определяли по кинетике окисления восстановленной формы 2,6-дихлорфенолиндофенола кислородом воздуха в присутствии тканевых экстрактов по общепринятой методике. Гомогенат получали путем растирания тканей иммунокомпетентных органов с физиологическим раствором в соотношении 1:1.

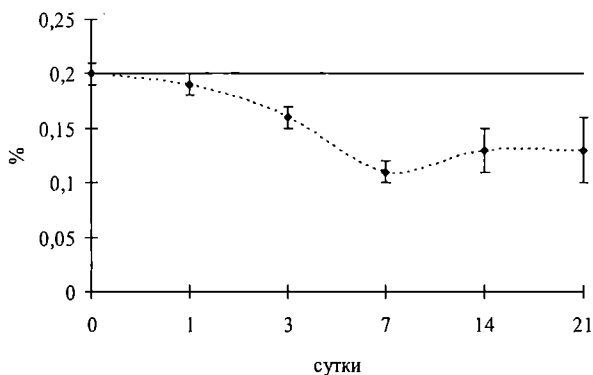
Результаты исследований подвергали статистической обработке при помощи стандартного пакета программ (Microsoft Office 98, приложение Statistica) с последующей оценкой различий с использованием *t*-теста, $p < 0.05$.

Анализ полученных результатов показал, что стерлядь на введение гормона стресса реагировала изменением исследованных параметров. Данные изучения соматических индексов почек, селезенки и печени под влиянием кортизона отличались размахом и амплитудой изменчивости (рис. 1-3). Динамика изменений количественных показателей соматических индексов исследованных органов имела разное направление. Установленные особенности изменений относительной массы головной почки, селезенки и печени стерляди отражают особенности их структурно-функциональной организации и содержание в тканях исследуемых органов гормоночувствительных клеток и структур, ответственных за поддержание иммунного гомеостаза.

Соматические индексы головного отдела почек, основная масса которого состоит из лимфомиелоидной ткани, выполняющей иммунологические и гемопозитические функции (Иванова, 1983; Галактионов, 1995; Zapata et al., 1996; Микряков и др., 2001), у опытных рыб снижались: в первых 7 дней эксперимента с 0.2 до 0.11 %, а в последующие сроки наблюдения изученный показатель составлял 0.13 % (рис. 1).

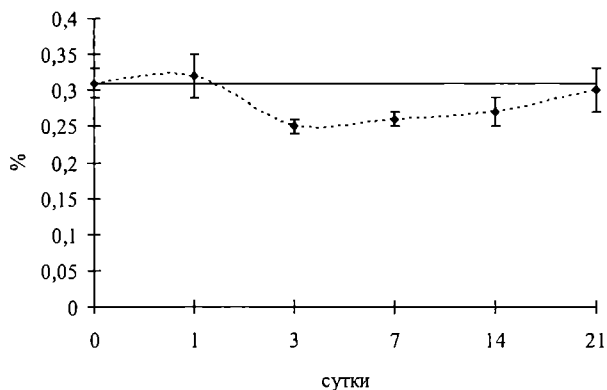
В течение первой недели наблюдений направление изменения соматических индексов селезенки, не отличалось от таковых почек, и снижались с 0.31 до 0.25 %, однако в последующем у опытных рыб исследуемый показатель возрастал и концу наблюдения возвращался к начальному уровню (рис. 2). Основная масса селезенки рыб состоит из красной пульпы, а имеющаяся белая пульпа, выполняющая функцию лимфопоэза, недостаточна развита и расположена в виде отдельных диффузных скоплений (Zapata et al., 1996; Микряков и др., 2001).

Рис. 1. Индекс почек стерляди после инъекции дексаметазон-фосфата



Примечание. Для всех рисунков: — перед опытом; **** опыт

Рис. 2. Индекс селезенки стерляди после инъекции дексаметазон-фосфата

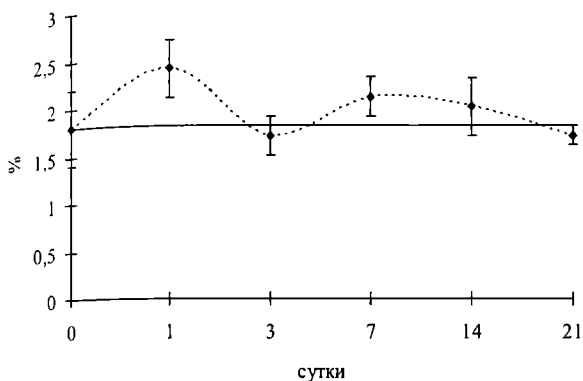


Известно, что селезенка по особенностям структурной организации и характеру выполняемой функции напоминает костный мозг высших позвоночных. Согласно современному представлению основной функцией данного органа является эритро- и тромбопоэз, затем – лимфопоэз, тогда как почки – лимфо- и миелопоэз (Иванова, 1983; Zarata et al., 1996; Микряков и др., 2001).

Обнаруженное в условиях эксперимента различие в изменении относительной массы селезенки и почек у контрольных и опытных рыб, видимо, обусловлено гормониндуцируемой инволюцией лимфоидной ткани органов, вызванной разрушающим действием кортизона и разным уровнем содержания гормончувствительных клеток в исследуемых органах. Кроме того, низкие по-

сравнению с контролем индексы почек, обнаруженные к концу срока наблюдения свидетельствуют о том, что процессы разрушения и истощения лимфоидной ткани почек носили необратимый характер.

рис. 3. Индекс печени стерляди после инъекции дексаметазон-фосфата



В результате анализа динамики изменения гепатосоматических индексов стерляди отмечены различия между опытными и контрольными рыбами. Характер изменения индекса печени отличался от таковых почек и селезенки, а также от полученных нами ранее результатов на карасях и карпах (Д. Микряков и др., 2004; В. Микряков и др., 2006). Динамика количественных показателей индексов печени в опыте носила фазовый характер и имела вид синусоида (рис. 3). Если индексы почек и селезенки в опыте снижались, то печени превышали, чем таковые контрольных особей. Обнаруженный характер изменения гепатосоматического индекса у опытных рыб, видимо, обусловлен различием структурной организации органа и содержанием кортизончувствительных клеток.

Исследованные органы и ткани стерляди на воздействие гормона стресса отвечали не только изменением их относительной массы, но и интенсивностью происходящих в них процессов перекисного окисления липидов и общей антиокислительной активностью (табл. 1). Содержание МДА во всех исследуемых тканях и органах достоверно увеличивалось во все сроки наблюдения. Наибольшее накопление продуктов ПОЛ в иммунокомпетентных тканях и органах опытных рыб по сравнению с первоначальным уровнем зафиксировано на 3 и 7 сут после введения гормона.

Установленные закономерности накопления МДА в исследованных органах и тканях и обнаруженные различия по содержанию в них продуктов ПОЛ свидетельствуют о разном уровне содержания структур, индуцирующих свободнорадикальные и липидперекислительные процессы. Известно, что одними из важных источников интенсификации развития процессов ПОЛ при воздействии стероидных гормонов при стрессе являются активированные кислородные метаболиты (АКМ: O_2^- , $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , OH , NO и др.), генерируемые нейтрофилами, миелобластами, промиелоцитами, моноцитами (Зенков и др., 1999).

Таблица 1. Содержание малонового диальдегида (МДА) и общей антиоксидательной активности (ОАА) в сыворотке крови и иммунокомпетентных органах стерляди после инъекции дексаметазон-фосфата.

Сроки отбора проб, сут после введения гормона	сыворотка крови	
	МДА, нм/г	ОАА, л × моль ⁻¹ × мин ⁻¹
Перед началом опыта	5.93±0.05	9.05±0.11
1	9.09±0.14*	9.15±0.15
3	18.64±0.15*	6.97±0.11*
7	15.36±0.24*	6.14±0.13*
14	11.95±0.41*	3.66±0.17*
21	8.59±0.20*	3.95±0.09*
		почка
Перед началом опыта	5.52±0.09	5.80±0.16
1	8.27±0.35*	5.20±0.12*
3	15.08±0.18*	1.78±0.11*
7	17.20±0.08*	1.70±0.13*
14	16.77±0.19*	1.37±0.07*
21	9.34±0.22*	5.50±0.21
		печень
Перед началом опыта	3.13±0.12	3.99±0.08
1	5.09±0.09*	5.16±0.24*
3	17.18±0.18*	2.17±0.08*
7	17.00±0.14*	1.34±0.06*
14	16.24±0.22*	1.92±0.19*
21	7.99±0.39*	2.99±0.22*
		селезенка
Перед началом опыта	6.43±0.18	8.26±0.08
1	6.98±0.09*	7.96±0.11
3	10.05±0.06*	6.60±0.30*
7	9.07±0.11*	4.29±0.11*
14	8.97±0.07*	3.33±0.14*
21	8.92±0.11*	4.67±0.18*

Примечание: * - достоверно относительно контроля при $p \geq 0.05$.

Гранулоциты, состоящие из нейтрофилов, миелобластов и других типов клеток миелопоэза, превосходят все другие типы лейкоцитов по способности нарабатывать АКМ, что делает их опасными не только для бактерий, но и для тканей собственного организма (Зенков и др., 1999). В физиологических условиях деструктивное действие АКМ, образующихся в гранулоцитах, сдерживается многоуровневной системой антиоксидантов. В случае недостатка антиоксидантов в организме, развивается окислительный стресс, сопровождающийся нарушением баланса в системе АКМ-антиоксиданты. Одной из основных причин активации окислительного стресса, вызывающего нарушение баланса в системе АКМ-антиоксиданты, является супрессия образования и снижения активности ферментативных антиоксидантов: глутатионпероксидазы, каталазы, супероксиддисмутазы (Зенков и др., 1999). Косвенно это подтверждается данными наших исследований ОАА тканей иммунокомпетентных органов (табл. 1). Во всех исследованных тканях рыб, обработанных кортизоном, повышение содержания продуктов перекисного окисления липидов сопровождалось изменением ОАА. Количественные характеристики ОАА, отражающие реакцию иммунокомпетентных органов на действие гормона стресса, отличались: показатели ОАА в тканях сыворотки крови и селезенки были выше, чем в тканях почек и печени.

Динамика изменения ОАА во всех тканях имела сходный характер, за исключением времени достижения минимального уровня ОАА. Выявленное различие в характере и интенсивности накопления конечных продуктов ПОЛ и изменения ОАА в тканях рыб отражает зависимость происходящих процессов окислительного стресса от особенностей структурно-функциональной организации иммунокомпетентных органов. В почках, выполняющих смешанную функцию (лимфо- и миелопоэз, разрушение антигена, синтез антител и неспецифических факторов гуморального иммунитета (Лукьяненко, 1971; Галактионов, 1995; Субботкина, Субботкин, 2002) и богатых гранулоцитами, генерирующими АКМ, процессы ПОЛ и разрушение тканей происходили более интенсивно, чем в сыворотке крови, печени и селезенке.

Из материалов исследований следует, что кортизон в организме стерляди, как и у карасей и карпов, вызывает изменение соматических индексов иммунокомпетентных органов, активацию процессов перекисного окисления липидов. Показана зависимость происходящих процессов от особенностей структурно-функциональной организации исследуемых органов.

Таким образом, исследованные иммунокомпетентные органы стерляди на воздействие гормона стресса реагировали изменением изученных показателей: почки и селезенка уменьшением, а печень повышением соматических индексов. Во всех органах, подобно таковым у карпов и карасей, отмечена активация окислительного стресса, сопровождающаяся накоплением продуктов перекисного окисления липидов и снижением содержания антиоксидантов. Сходный характер реагирования иммунокомпетентных тканей и органов на воздействие гормона стресса, выявленный нами у осетрообразных и карпообразных рыб позволяет считать, что кортизон является одним из основных глюкокортикоидных гормонов, вызывающих нарушение иммунного гомеостаза и снижение адаптивной функции к патогенным организмам.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 06-04-48812).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Баюнова Л.В., Баранникова И.А., Дюбин В.П., Семенкова Т.Б. Гормональные характеристики осетровых в условиях стресса // Тез. докл. междунар. конф. Осетровые на рубеже XXI века. Астрахань. 2000. С. 122-123.
- Галактионов В.Г. Очерки эволюционной иммунологии. М.: Наука, 1995. 256 с.
- Горизонтов П.Д. Стресс. Система крови в механизме гомеостаза. Стресс и болезни // Гомеостаз. М.: Медицина. 1981. С. 538-570.
- Зенков Н.К., Меньшикова Е.Б., Вольский Н.Н., Козлов В.А. Внутриклеточный окислительный стресс и апоптоз // Успехи соврем. биол. 1999. Т. 119. № 5. С. 440-450.
- Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. М.: Лег. и пищ. пром-сть, 1983. 184 с.
- Кашулин Н.А., Лукин А.А., Амундсен П.-А. Рыбы пресных вод субарктики как биоиндикаторы техногенного загрязнения. Апатиты: КНЦ РАН, 1999. 142 с.
- Лукьяненко В.И. Иммунобиология рыб. М.: Пищевая промышленность. 1971. 364 с.
- Лукьяненко В.И. Общая ихтиотоксикология. М.: Лег. и пищ. пром-сть, 1983. 320 с.
- Мартемьянов В.И. Стресс у рыб: защитные и повреждающие процессы // Биол. внутр. вод. 2002. № 4. С. 3-13.
- Микряков В.Р., Балабанова Л.В., Заботкина Е.А. и др. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление воды. М.: Наука, 2001. 126 с.
- Микряков В.Р., Силкина Н.И., Микряков Д.В. Влияние дексаметазон-фосфата на морфо-функциональное состояние иммунокомпетентных органов карпа *Cyprinus carpio* L. // Вестник Южного научного центра Российской академии наук, 2006, Том 2. Выпуск 1. С. 72-77.
- Микряков Д.В., Микряков В.Р. Влияние гидрокортизона на антигенообразовательную функцию иммунной системы карпа *Cyprinus carpio* // Вост. ихтиологии. 2002. Т. 42. № 6. С. 820-824.

Микряков Д.В., Силкина Н.И., Микряков В.Р. Влияние дексаметазон-фосфата на морфофункциональное состояние иммунокомпетентных органов карася (*Carassius auratus gibelio*) // *Вопр. ихтиологии*. 2004. Т. 44. № 6. С. 842-846.

Розен В.Б. Основы эндокринологии. М.: Изд-во МГУ, 1994. 384 с.

Селье Г. 1960. Очерки об адаптационном синдроме. М.: Медгиз, 254 с.

Субботкина Т.А., Субботкин М.Ф. Лизоцим четырех видов осетровых рыб сем. *Acipenseridae* р. Волги // *Биол. внутр. вод*, 2002, № 2. С. 88-93.

Хайтов Р.М., Лесков В.П. Иммуитет и стресс // *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. 2001. Т. 87. № 8. С. 1060-1072.

Pickering A.D. Introduction: the concept of biological stress // *Stress and Fish*. A.D. Pickering (ed.). London-N. Y.: Acad. Press. 1981. P. 1-9.

Pickering A.D. Endocrine-induced pathology in stressed salmonid fish // *Fish. Res.* 1993. V. 17. P. 35-40.

Pickering A.D., Pottinger T.G. Stress responses and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevation of plasma cortisol // *Fish Physiol. Biochem.* 1989. № 7. P. 253-258.

Stave J.W., Roberson B.S. Hydrocortisone suppresses the chemiluminescent response of striped bass phagocytes. // *Dev. Comp. Immunol.* 1985. № 1. P. 77-84.

Suzuki Y., Iida T. Fish granulocytes in the process of inflammation // *Ann. Rev. Fish Dis.* 1992. P. 149-160.

Wendelaar Bonga, S. E. The stress response in fish // *Physiol. Rev.* 1997. Vol. 77. № 3. P. 591-625.

Zapata A.G., Chiba A., Varas A. Cells and tissues of the immune system of fish. London. Acad. Press. 1996. P. 1-62.

CHANGE ON MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL STATE IMMUNOCOMPETENT ORGANS OF STERLET *ACIPENSER RUTHENUS* L. UNDER INFLUENCE OF THE HORMONE OF STRESS CORTISONE

D.V. Mikryakov, N.I. Silkina, V.R. Mikryakov

Results of researches of influence of analogue cortisone on morphological and functional state immunocompetent organs (a liver, a kidney and a spleen) sterlets *Acipenser ruthenus* L are generalized. Fishes reacted to introduction of a hormone change of somatic indexes immunocompetent organs, activation of processes of peroxide oxidation of lipids. Dependence of investigated attributes on features of the structurally functional organization of bodies and time which has been last after an injection of a hormone is shown.

Зрительной системе гидробионтов принадлежит значительная, а у многих видов – ведущая роль в осуществлении важнейших поведенческих реакций. У большинства видов рыб и головоногих моллюсков зрение является одним из основных дистантных репетторов. Оптомоторная реакция – врожденная, зрительно-обусловленная форма поведения отчетливо выражена у многих видов рыб. Уже на самых ранних этапах онтогенеза зрение играет существенную роль в общей ориентации в окружающей среде, являясь доминирующим каналом.

В водной среде, в силу незначительных различий показателя преломления воды и основных сред глаза рыб, роль линзы, образованной роговицей и влагой передней камеры в значительной мере девальвирована по сравнению с таковой у наземных позвоночных. В силу этого хрусталик гидробионтов играет ведущую роль в формировании изображения на сетчатке глаза (Seltner et al., 1989; Kirschfeld, 1993; Schaeffel et al., 1999). От рефракционных характеристик хрусталика в значительной мере зависит функционирование всей зрительной системы гидробионтов в целом.

Одной из важнейших оптических характеристик хрусталика является его прозрачность. Нами были изучены оптические отклонения в интактных хрусталиках некоторых гидробионтов и нарушения, возникающие при внешних воздействиях ряда факторов.

Наиболее распространенной причиной нарушения прозрачности хрусталика у карпа является инвазия личинками трематод рода диплостом. В естественных условиях эти паразиты не являются видоспецифичными и могут поражать более 100 видов рыб. Как правило, они локализируются в глазах рыб, наиболее часто в хрусталике (Догель, 1962; Канав, 1985). Даже незначительное количество диплостом в хрусталике карпа приводит к потере прозрачности хрусталика. При наличии 1–2 паразитов отмечалось нарушение капсулы хрусталика, выразившееся в появлении неровностей на поверхности капсулы. При наличии 3–5 паразитов наблюдалось воспаление роговицы, частичное отслоение коры хрусталика и начальная катаракта. Если число паразитов достигало 5–9, то в 90 % подобных случаев наблюдалось помутнение всей массы коры хрусталика. При наличии более 10 паразитов отмечалась полная паразитарная катаракта хрусталика, сопровождавшаяся отслоением коры хрусталика от ядра. В целом у карпа паразитарная катаракта, являющаяся одной из основных причин помутнения хрусталика, отмечалась в 31 % случаев.

Помутнения хрусталика при отсутствии паразитов отмечались в 19 % случаев. По-видимому, эти помутнения вызваны либо воздействием токсикантов, либо являются результатом механических повреждений хрусталика. В 15 % случаев нарушения затрагивали оба глаза.

В ряде случаев при отсутствии помутнений отмечались другие нарушения прозрачности хрусталика. В 5 % случаев у карпа были зафиксированы нарушения прозрачности хрусталика, вызванные наличием большого количества мелких вакуолей в области заднего шва хрусталика. Были зафиксированы несколько случаев смещения ядра хрусталика в сторону переднего полюса (рис. 1) у карпа (*Cyprinus carpio*) и караса (*Carassius carassius*). При этом поверхность ядра слабо опалесцирует, но в целом ядро сохраняет прозрачность. Также был отмечен случай полного помутнения эмбрионального ядра, при сохранении прозрачности остальной массой хрусталика (рис. 2).

Рис. 1. Хрусталик карпа со смещенным ядром.

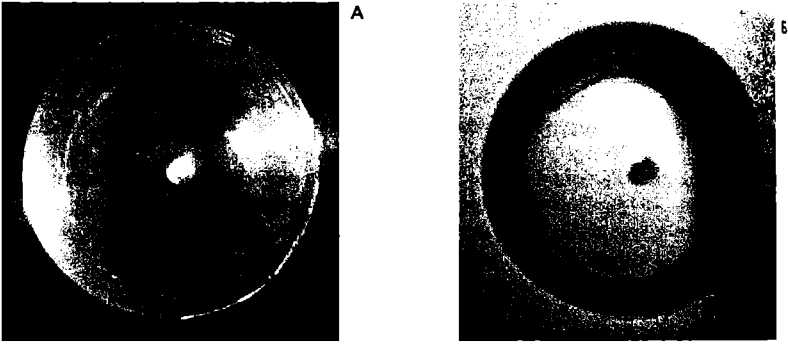


Рис. 2. Помутнение эмбрионального ядра в хрусталике карпа. А) вид при боковом освещении; Б) вид в проходящем свете.

В целом различные нарушения прозрачности хрусталика у карпа были отмечены в 56 % случаев.

Несколько иная картина нарушений прозрачности хрусталика наблюдается в природной популяции пескаря (*Gobio gobio*). При наличии 1–15 паразитов в 95 % случаев хрусталик пескаря оставался прозрачным. Наличие 15–20 метасцеркарий диплостом в 20 % случаев вызывало нарушение капсулы хрусталика. Если число паразитов было больше 20, отмечалось частичное отслоение коры хрусталика и незначительное помутнение хрусталика.

В целом паразитарные катаракты были отмечены в 9 % случаев. В 3 % случаев нарушения прозрачности отмечались у хрусталиков обеих глаз особи. Вакуолизации в области заднего шва хрусталика, а также трещин и разрыва волокон отмечено не было.

У амфибий наиболее распространенным типом нарушения прозрачности хрусталика явилась вакуолизация в области заднего шва, отмеченная в 45 %. Подобные нарушения наблюдались чаще всего у самцов травяной лягушки (*Rana temporaria*). Примерно в 35 % случаев было отмечено наличие мелких трещин около заднего шва хрусталика, делающих задний полюс хрусталика мозаичным. Мозаичность в области заднего шва хрусталика чаще всего отмечалась у самок. Начальные катарактальные изменения отмечались у 6 % особей.

В целом различные нарушения прозрачности хрусталика у травяных лягушек были зафиксированы примерно в 70 % случаев, причем чаще всего данные нарушения наблюдались у самцов. В 26 % случаев подобным нарушениям были подвержены хрусталики обоих глаз особи.

Полученные результаты показывают, что при изучении оптических свойств хрусталика рыб и амфибий необходимо проводить тщательный предварительный отбор подопытного материала, с тем, чтобы исключить использование в экспериментах особей, имеющих различные нарушения прозрачности хрусталика.

ЛИТЕРАТУРА

1. Seltner R.L., Weerheim J.A., Sivak J.G. Role of the lens and vitreous humor in the refractive properties of the eyes of three strains of goldfish. // *Vision Res.*, 1989, 29(6), P. 681-685.
2. Kirschfeld K. Optics of the harbor porpoise eye in water. // *J. Opt. Soc. Am. [A]*., 1993, 10(7), P. 1481-1489.
3. Schaeffel F., Murphy C., Howind H. Accomodation in the cuttlefish (*Sepia officinalis*). // *Exp. Biol.*, 1999, 202(22), P. 3127-3134.
4. Догель В.А. Общая паразитология. - Л.: Изд. ЛГУ, 1962, 461 с.
5. Канаев А.И. Ветеринарная санитария в рыбоводстве. - М.: Агропромиздат, 1985, 280 с.

**ЭКСПРЕСС МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТИ СТОЧНЫХ ВОД
ПОПАДАЮЩИХ В РЫБОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ ВОДОЕМЫ ПО СКОРОСТИ
РЕГЕНЕРАЦИИ ВАКУОЛЯРНОГО АППАРАТА ИНFUЗОРИЙ SPIROSTOMUM
AMBIGUUM И STYLONUCHIA MYTILUS**

Павлова Л.Н.*, Горбунов А.В.**

*ФГУ "Мосрыбвод"

**Московский государственный университет технологий и управления
г. Москва, Россия, e-mail: msutm@inbox.ru

Высокая регенерационная способность заднего конца тела инфузории при нанесении продольного надреза позволяет использовать спиростом в качестве биологических тест-объектов; для обнаружения токсичности вредных веществ, содержащихся в сточных водах. Обычно регенерация заднего конца при нанесении продольного разреза происходит за 10 мин, если же в исследуемой воде имеются ядовитые вещества, подавляющие процессы регенерации, то вакуоль после надреза будет восстанавливаться замедленно, что и явится показателем присутствия токсичных веществ в исследуемой пробе воды. Подобный анализ можно отнести к экспресс-методам, так как ответ можно получить в течение 1,0—15 мин.

Для исследования процессов регенерации в условиях воздействия токсичного промышленного стока были взяты лабораторные культуры крупных инфузорий *Spirostomum ambiguum* и *Stylonychia mytilus*.

Спиростом культивировали в пробирках на среде, содержащей на 1 л 20 мг KCl, 25 мг MgCl₂·6H₂O, 25 мг CaCl₂·2H₂O, 37,5 мг NaHCO₃, и 150 мг NaCl. В каждую пробирку, содержащую 15 мл среды, непосредственно после посева инфузорий добавляли 15 мг сухих пивных дрожжей.

Для нанесения надрезов инфузорий отбирали из культуры, тонко отпипеткой пастеровской пипеткой и переносили на предметное стекло в крупную каплю среды. Клетку надрезали микроскальпелем под микроскопом МБС-1 без применения наркотизирующих и замедляющих движение средств, так как скорость перемещения у *S. ambiguum* весьма невелика.

Были выполнены три серии опытов. В первой серии надрезали задний конец инфузории, так чтобы надрезалась вся сократительная вакуоль. Опыты делались с тем расчетом, что регенерацию вакуолярного аппарата следует считать законченной после начала функционирования сократительной вакуоли. Это в какой-то мере дало возможность стандартизировать опыт и наносить инфузориям калиброванный надрез.

Сточные воды автобусного парка № 15 разбавлялись водопроводной отстоявшейся водой в соотношении: без разбавления, 1:1; 1:3 и 1:6. Затем в них помещались спиростомы за 6 часов до нанесения надреза заднего конца тела и сразу после нанесения надреза, когда при наличии токсикантов шла регенерация клеточной стенки инфузории и вакуолярного аппарата. Продолжительность воздействия сточных вод в течение 6 часов, взята согласно методическим указаниям по биотестированию отходов, поступающих в окружающую среду. О воздействии токсикантов сточных вод на регенерацию надреза у спиростомы следили по времени регенерации вакуолярного аппарата при разведениях указанных выше.

В общей сложности наблюдали за регенерацией 120 клеток. Особую роль отводили исследованию регенерации вакуолярного аппарата, который в норме не меняет своего положения в теле инфузории.

Помимо спиростом регенерацию вакуолярного аппарата при действии указанного стока исследовали у брюхоресничной инфузории *Stylonychia mytilus*. Длина клетки около 250 мкм, тело сильно сплющено в спинно-брюшном направлении. Ротовой аппарат расположен на брюшной стороне. Здесь же находится брюшная щель, с помощью которых инфузория "бегает" по различным поверхностям. По краю клетки

краевые цирры, служащие для плавания клетки в толще воды. На заднем конце клетки расположены длинные хвостовые цирры, при движении которых инфузория способна производить резкие скачки, разом отрываясь от поверхности, на которой находится. Сократительная вакуоль одна, расположена в средней части клетки ближе к спинной поверхности, с правой стороны.

Оптимальная температура для жизнедеятельности этой инфузории составляет 17-18°C (по другим данным 24-25°C), инфузория жизнеспособна при температуре до 30°C. Оптимальное значение рН среды 6,5-7,1; допустимое - 6,0-9,5.

Культивирование стилонихий мы проводили на водопроводной воде, отстоянной в течение недели и стерилизованной кипячением на водяной бане в течение 1 часа. В качестве корма использовали сухие пекарские дрожжи в количестве 0,003 г (1 мМЗ) на 1 мл.

Стилонихиям микроскальпелем наносился надрез с правой стороны, так, чтобы вскрыть сократительную вакуоль. Во-первых, это давало возможность сделать продольный надрез, во-вторых, проследить за регенерацией надреза в различных условиях сточных вод по окончании восстановления сократительной вакуоли.

Как и в экспериментах со спиростомами, сточные воды автобусного парка следовали без разбавления при разбавлении в два, три и шесть раз. Окончанием регенерации считается время, за которое восстанавливается сократительная вакуоль и клетка функционирует.

В общей сложности была исследована регенерация 80 стилонихий в сточных водах и 20 в чистой отстойной водопроводной воде (контроль).

У спиростомы *Spirostomum ambiguum* в контроле при надрезе заднего конца тела инфузории с полным разрезом сократительной вакуоли удалось установить, что через 2 мин после надреза начинает образовываться новая сократительная вакуоль, которая растет по размерам к разрезанной вакуоли. В это же время начинают восстанавливаться клеточные стенки разрезанного конца, и отстоящие друг от друга участки клеточной стенки в области разреза начинают сливаться. Через 3 мин разрезанные стенки клеточной оболочки соединены и виден только шов, который на 4-5 мин после нанесения разреза исчезает, и клеточная стенка заднего конца тела инфузории выглядит нормальной. Однако задняя вакуоль появляется только через 1 час после полного восстановления клеточной стенки заднего конца. заднему концу инфузории. На 7-й мин после разреза временная и постоянная вакуоли вступают в контакт, и начинается процесс их слияния, который длится около 3 мин. Через 10 мин после надреза происходит полное восстановление вакуолярного аппарата.

В том случае, когда одновременно с надрезом заднего конца тела инфузории наносится боковой надрез, картина регенерации клеточной стенки и вакуолярного аппарата была несколько иной. Задний конец инфузории в этом случае регенерирует быстрее, как и в предыдущем случае. Дополнительный надрез приводит к тому, что временная сократительная вакуоль образуется всегда над ним. Поэтому, изменяя положение дополнительного надреза, можно регулировать место появления временной сократительной вакуоли.

После нанесения косоугольного надреза он начинает сужаться, а отделенный надрезом участок клетки утолщается и начинает формировать выступ, похожий на задний конец инфузории. Этот выступ задерживает продвижение временной сократительной вакуоли к восстановившейся постоянной вакуоли. Только на 12-14-й мин после нанесения надрезов временная вакуоль начинает передвигаться к заднему концу, однако это передвижение заканчивается не сближением с постоянной вакуолью, а сближением в сформированный выступ.

В дальнейшем образовавшийся выступ с вакуолью медленно перемещается к заднему концу инфузории. В конце концов, происходит слияние выступа с основной частью тела инфузории. В конце концов, происходит слияние выступа с остальным концом инфузории, а затем и слияние обеих вакуолей. Из-за медленного

перемещения выступа процесс слияния вакуолей длится 1 ч и более после нанесения надрезов.

Если боковой надрез производится перпендикулярно продольной оси тела инфузории либо косо в сторону каудальной части инфузории, ход регенерации вакуолярного аппарата не меняется. Во всех случаях над надрезом возникает временная сократительная вакуоль, формируется выступ тела, подобный заднему концу инфузории, и временная сократительная вакуоль входит в этот выступ. В дальнейшем сформированный выступ с сократительной вакуолью перемещается к каудальной части тела.

При нанесении инфузориям только боковых надрезов на различных расстояниях от хвостового конца тела над надрезом всегда возникает временная вакуоль, несмотря на то что постоянная вакуоль в заднем конце тела сохраняется. Если же надрез произведен очень близко к переднему концу инфузории, то временной вакуоли непостоянная вакуоль не восстанавливается и регенерация идет за счет перемещения выступа с временной вакуолью к заднему концу инфузории.

Почти полностью отсеченные участки переднего и заднего конца инфузории, оставшиеся только на малом стебельке клеточной стенки, не отбрасываются, а в процессе регенерации снова включаются в клетку.

При надрезе заднего конца инфузории срастание стенок клеток происходит очень быстро, всего за 4 мин, но постоянная вакуоль появляется только через 1—2 мин после восстановления клеточной стенки. В общей сложности регенерация заднего конца тела у спиростом занимает около 10 минут, что позволяет экспрессным методом определять действие вредных веществ на регенерационные процессы у простейших. Очевидно, время задержки появления вакуоли на заднем конце инфузории после его полного восстановления объясняется первоначальным синтезом мембранелл, из которых впоследствии собирается мембрана сократительной вакуоли.

Таким образом, для токсикологических экспериментов наиболее подходит нанесение надреза заднего конца тела инфузории с рассечением всей сократительной вакуоли. Этот прием позволит за самый короткий срок определить последствия воздействия сточных вод на регенерацию надреза у инфузорий. Учитывая сказанное, в опытах со сточными водами автобусного парка при различных разведениях проводился только надрез заднего конца тела инфузории.

Для исследования воздействия токсикантов на процесс регенерации надреза заднего конца тела спиростом их предварительно экспонировали 6 часов в неразведенной сточной воде, также при разведении отстойной водопроводной водой в два, три и в шесть раз. Срок 6 часов взят согласно стандартизированным токсикологическим методам по определению токсичности водных растворов при работе с инфузориями (РД 64-085-89). Результаты исследований о времени регенерации надреза заднего конца тела спиростому в области сократительной вакуоли представлены в таблица. 1.

Таблица. 1. Регенерация надреза заднего конца тела и выживаемость спиростом при различных разбавлениях сточных вод автобусного парка отстойной водопроводной водой

Разбавление сточной воды	Контроль	Без разбавен.	В два раза	В три раза	В 6 раз
Время регенерации надреза в мин.	10,4 ± 1,2	21,1 ± 2,5	17,3 ± 1,8	9,8 ± 1,5	11,0 ± 0,8
Выживаемость в %	93 ± 1,4	57 ± 6,6	93 ± 7,0	96 ± 3,3	93 ± 6,6

Жирным шрифтом выделена достоверная разница по критерию Сьюдента, при $P \leq 0,05$.

Таким образом, из результатов исследования видно, что биотестирование токсичности сточных вод после прохождения через очистное сооружение, указывает

на наличие токсичности, скорее всего, за счет наличия в стоке повышенного содержания нефтепродуктов и тяжелых металлов, таких как: железо, медь, цинк и свинец. Сравнительный анализ чувствительности биотестирования сточной воды по регенерации и по выживаемости спиростом показывает, что исследование токсичности по регенерации надреза более предпочтительно по сравнению с выживаемостью. Достоверные результаты по выживаемости получаются в не разбавленной сточной воде, в то время как при исследовании по регенерации надреза инфузории достоверная разница с контролем отмечается при разбавлении стока в два раза. Следовательно, даже после очистного сооружения, сточная вода автобусного парка требует разбавления не токсичным стоком в три раза.

Стилонихии. У стилонихий (*Stylonichya mytilus*) при нанесении надреза с правой стороны в области сократительной вакуоли после 6 часового экспонирования в загрязненной воде, регенерация шла медленнее по сравнению со спиростомами. В контроле сократительная вакуоль полностью восстанавливалась через 22 минуты. Как и предыдущих опытах регенерация клеточной стенки инфузории предшествовала восстановлению сократительной вакуоли и началу ее функционирования.

При культивации инфузорий в исследуемой сточной воде и при разбавлении сточной воды в два, три и шесть раз время регенерации удлинялось. Результаты опытов по скорости регенерации надреза у стилонихий и выживаемости оперированных особей в различных разбавлениях сточной воды представлены в таблице 2.

Таблица 2. Регенерация надреза у стилонихии и выживаемость в различных разведениях сточной воды автобусного парка.

Разбавление сточной воды	Контроль	Без разбавен.	В два раза	В три раза	В 6 раз
Время регенерации надреза в мин.	22 ± 1,8	32,4 ± 3,1	28,1 ± 2,4	24,0 ± 1,7	21,2 ± 1,6
Выживаемость в %	100	64 ± 5,2	90 ± 4,4	93 ± 6,0	97 ± 3,0

Жирным шрифтом выделена достоверная разница по критерию Стьюдента при $P \leq 0,05$

Результаты по регенерации и выживаемости у стилонихии оказались сходными с теми же биологическими показателями у спиростом. В этом случае также удалось показать, что биотестирование по регенерации надреза более чувствительный метод по сравнению с оценкой загрязнения водной среды по выживаемости.

Однако сравнительные показатели чувствительности у спиростом и стилонихий при регенерации надреза в области сократительной вакуоли показывают, что спиростомы более чувствительны к загрязнению водной среды нефтепродуктами и тяжелыми металлами. Это проявляется и в скорости регенерации и в таком показателе как выживаемость регенерирующих особей в загрязненной воде.

Помимо этого время регенерации у стилонихий занимает почти в два раза больше времени, чем у спиростом. При нанесении надреза под микроскопом опять же эту микрохирургическую операцию проще проводить на спиростомах, так как они медленно движутся, в то время как стилонихиям можно нанести надрез только вовремя остановки.

Учитывая все сказанное, можно сделать вывод, что для биотестирования сточных вод по регенерации спиростомы, как тест-объект, лучше подходят, чем стилонихии, хотя в настоящее время значительная часть биотестирования по такому показателю как выживаемость проводится на стилонихиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боровский Н.А. Изменение гидрохимических показателей воды при попадании буровых компонентов // Газовая промышленность.-1990. - N 6. - С. 30-38.

2. Мэттсон П. Регенерация – настоящее и будущее. М.: Мир. 1982. 176 с.
3. Шиленко Н.А., Соколова С.А., Анисова С.Н. и др. Перечень рыбохозяйственных нормативов: ПДК и ОБУВ вредных веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. М.: ВНИРО. 1999. – 304 с.
4. Georg R.Y. Potential effects of oil drilling and dumping activities on marine biota // Environmental Aspects of Chemical Use in Well-Drilling Operations. Conference Proceeding, May 1975, Houston, Texas.' Report N EPA-560/1-75-004, U.S. Environmental Protection Agency, pp. 103-110.
5. Goss R. Principles of regeneration. N. Y.; L: Acad. Press, 1969. 278 p.
6. Kiortsis V., Trampusch H. A. L, eds. Regeneration in Animals and Related Problems. North-Holland Publishing Co., Amsterdam, 1965, 568 p.
7. Mayer F., Ellersieck M.R. Manual of acute toxicity: interpretation and data base for 410 chemical and 66 species of freshwater animals // US Dep. Inter. Fish and Wildlife Serv. Resour. Publ. - 1986 - N160, IV - 506 pp.

ДЕЙСТВИЕ ГЕНОТОКСИЧНЫХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ НА ПОЛИТЕННЫЕ ХРОМОСОМЫ ХИРОНОМИД

Пенкин М.А., Фельдман М.Г., Горбунов А.В.

Московский государственный университет технологий и управления
г. Москва, Россия, e-mail: msutim@inbox.ru

Генотоксические загрязнители, попадая в водоемы, оказывают вредное воздействие на хромосомный аппарат гидробионтов. Они не только понижают жизнеспособность отдельных гидробионтов, но и снижают рыбопродуктивность водоема в целом. Накопление генотоксичных веществ в рыбах опасно также для человека, особенно это касается тяжелых металлов, например хрома, способного вызывать генные и хромосомные мутации.

Наличие в слюнных железах личинок хирономид политенных хромосом, делает их важными для оценки генотоксичности вредных химических веществ. В данной работе для исследований мы взяли мутагены, вызывающие хромосомные aberrации у водных организмов. В этом отношении действие рассматриваемых мутагенов сравнимо с действием проникающей радиации, которая приводит к поломке хромосом и их деструкции.

Для исследования нами были взяты мутагены, обладающие различным механизмом действия на хромосомный аппарат гидробионтов. Так нами было изучено действие 2-нафтола, эпихлоргидрина и шестивалентного хрома. Особенностью данной работы было то, что нами впервые было исследовано действие мутагенов на политенные хромосомы хирономид в сравнительном плане. Ранее этот вопрос исследовался на других видах хирономид. Было показано, что в водоемах с высоким содержанием соединений хрома очень высок уровень хромосомного полиморфизма: на политенных комплексах отмечены разнообразные делеции, инверсии, генетические разрывы, диплоидные фрагменты и изменения функциональной активности гетерохроматина.

На политенных хромосомах из слюнных желез личинок хирономид работал целый ряд исследователей (Hudson, Ciborowski, 1994; Lencione (1997); Bervoets et al., 1998; Hirvenoja M., Michailova P. (1998); Шобанов? 1999; Кикнадзе, Гольгина 1999 Кунин А.М., 2003; Кунин М.А., и др, 2004).

Ряд препаратов на генотоксичность был исследован Дробышевским В.Ф. (2005).

Цель данного исследования было выявление однотипности хромосомных aberrаций при воздействии веществ, вызывающих поломку политенных хромосом в слюнных железах хирономид (на примере *Chironomus plumosus*).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Для исследований мы взяли такие мутагенные вещества как, 2-нафтол (бензольное соединение), эпихлоргидрин (алкилирующее соединение) и шестивалентный хром (тяжелый металл, обладающий кластогенными свойствами). Концентрации токсикантов, использованные в опытах, подбирались эмпирически в процессе проведения опытов с другими гидробионтами и непосредственно при проведении опытов с мутагенными веществами. В спектр концентраций мы включили один из установленных нормативов (ПДК) данного вещества для воды рыбохозяйственных водоемов.

Исследования проводили на политенных хромосомах в слюнных железах предкуколки хирономид. В качестве тест-объекта была использована лабораторная культура хирономид *Chironomus plumosus*. В результате проведения работы выявляли действие веществ на структуру интерфазных хромосом и проводили сравнительный анализ воздействия мутагенов различного химического строения на образование aberrаций.

Определение генотоксичности химических соединений и их действия на дифференциальную активность генов проводят на предкуколке, развитие которой наблюдается с 36-го по 38-й день при температуре 20 - 25°C. Стадия предкуколки характеризуется набуханием грудных сегментов, укорочением и заострением тела и уменьшением ложных ножек. Метаморфоз проходит в 6-й, 7-й, 8-й и 9-й фазах развития (Кикнадзе, 1975). Изменение цвета тела с красного на темно-серый указывает на окончание метаморфоза. Личинки хирономид выдерживались в течение 10 дней в чашках Петри, наполненных речным грунтом с различными концентрациями генотоксикантов.

Цитогенетические препараты политенных хромосом получали по стандартной методике при окрашивании их ацеторсеином (Симаков, 1998). Оценку генотоксичности вещества проводили по нарушению структуры политенных хромосом и по нарушению пуфинга во время метаморфоза.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Эпихлоргидрин исследовался в концентрациях: 0,005; 0,05; 0,1; 0,5 и 1,0 мг/л. Экспозиция личинок хирономид в указанных растворах эпихлоргидрина проходила в течение 21 дня. Рыбохозяйственная ПДК для эпихлоргидрина составляет 0,05 мг/л.

При концентрации 0,005 и 0,05 мг/л не отмечено нарушений в политенных хромосомах хирономид, структура политенных хромосом близка к контролю. При концентрации эпихлоргидрина 0,1 мг/л у личинок *Chironomus plumosus* на каждой хромосоме виден пуф, по краям каждого пуфа наблюдается перетяжка хромосомы. Это одна из типичных деструктивных перестроек политенных хромосом. Следовательно, эпихлоргидрин оказывает воздействие на структуру хромосом из слюнных желез личинок *Ch. plumosus*. При действии концентраций 0,5 и 1,0 мг/л у личинок *Chironomus plumosus* в политенных хромосомах происходят хорошо заметные изменения. На I хромосоме увеличивается расстояние между дисками, а на второй хромосоме деструктируются канцы. На IV хромосоме видны усиленно выделяющиеся секрет тельца Бальбиани.

Таким образом, эпихлоргидрин вызывает мутации на хромосомном уровне и на функциональном уровне, если принять во внимание гиперсекрецию тельца Бальбиани.

2-нафтол исследовали в концентрациях: 0,001; 0,01; 0,1 0,2 мг/л. Рыбохозяйственная ПДК для 2-нафтола равна 0,05 мг/л, таким образом, выбранные концентрации идут в сторону занижения и в сторону завышения от ПДК.

Воздействия 2-нафтола на личинок *Chironomus plumosus* в концентрациях 0,001 и 0,01 мг/л показало, что политенные хромосомы не несут морфологических отклонений и структура пуфов близка к контролю. В концентрации 0,1 мг/л в растворе 2-нафтола у личинок в слюнных железах отмечаются политенные хромосомы во всем деструктированными концами. Наибольшей деструкции подверглась первая хромосома. Пуфы окрашиваются очень ярко, что указывает на уплотнение ДНК и возможно появление гетерохроматиновых форм наследственного материала.

Воздействия бихромата калия (ПДК= 0,02 мг/л) на личинок *Chironomus plumosus* в концентрациях 0,001 и 0,01 мг/л показало, что политенные хромосомы видны четко, нарушения в них минимальны, структура пуфов у этих видов близка к норме. В концентрации 0,1 мг/л в растворе бихромата у личинок *Chironomus plumosus* на каждой хромосоме виден пуф с перетяжками хромосомы. Все пуфы ярко окрашены, что говорит об изменении структуры нуклеопротеиновых комплексов в политенных хромосомах.

Таким в концентрации 0,1 мг/л бихромат оказывал серьезное влияние на структуру хромосом у *Ch. plumosus*, выразившееся в сужении отдельных участков хромосом и частичной их деструкции.

В концентрации 1,0 мг/л в бихромате калия у *Chironomus plumosus* отмечены серьезные изменения в структуре хромосом. В I хромосоме видны большие расстояния между дисками. Во второй хромосоме деструктурирован конец. В концентрации бихромата калия 2,0 мг/л в у личинок *Chironomus plumosus* на I хромосоме видны большие промежутки между дисками и междисками, отмечается образование перетяжек. Один конец II хромосомы частично деструктурирован. При действии некоторых токсикантов у личинок насекомых, имеющих политенные хромосомы, может возникнуть до 22 новых пуфов (Рапопорт и др., 1971).

Таким образом, при действии генотоксичных веществ с различным химическим строением и с различным механизмом нарушения хромосомного аппарата у исследуемого объекта нами отмечается появление однотипных мутаций, которые заключаются в деструкции концов политенных хромосом, образовании перетяжек и в уплотнении пуфов. Все это говорит о том, что исследованные мутагены по проявлению морфологического действия не отличаются друг от друга, и мы не можем определить какое генотоксическое соединение вызвало морфологическую перестройку хромосом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования по воздействию генотоксичных загрязнителей водной среды на строение политенных хромосом личинок хирономид показывают, что действие различных мутагенных агентов вызывает однотипные aberrации в политенных хромосомах. Следовательно, отпадает вопрос об морфологической идентификации генотоксичных веществ по хромосомным aberrациям в политенных хромосомах их слюнных желез личинок хирономид.

Однако, полученные результаты могут быть использованы при оценке мутагенности веществ, попадающих в водоемы и при установлении экологорыбобохозяйственных ПДК и ОБУВ, а также при биотестировании промышленных стоков, несущих генотоксические вещества

ЛИТЕРАТУРА

8. Кикнадзе И.И., Гольгина В.В. Внутрипопуляционная дифференциация цитогенетической структуры у видов рода *Chironomus*// Генетика. Т.35. № 3. 1999. С. 322 – 328.
9. Кикнадзе И.И., Колесников Н.Н., Лопатин О.Е. Хирономус *Chironomus thummi* Kieff (лабораторная культура)// Объекты биологии развития. М.: АН СССР. 1975. С. 95 – 125.
10. Рапопорт И.А., Дроздовская Л.Н., Иваницкая Е.А. Вызванные бором новые пуфы и модификационная локализация гена// Генетика. Т. 7. №8. 1971. С. 57 – 64.
11. Симаков Ю.Г., Никифоров-Никишин А.Л., Кузнецова И.Б. Биотестирование токсичности соединений в водной среде на политенных хромосомах хирономид// Экспериментальная водная токсикология; Рига, Зинайте, 1990, С. 246-250.
12. Симаков Ю.Г. Оценка генотоксичности загрязняющих веществ// Методические указания по установлению эколого-рыбобохозяйственных нормативов (ПДК и ОБУВ); М., ВНИРО, 1998, С. 91-102.
13. Шобанов Н.А. Кариотип *Chironomus fratermus* Walker из бассейна Рыбинского водохранилища// Цитология. Т. 41. № 7. 1999. С. 641 – 646.
14. Bervoets L., Romero A. M., Andre P. Trace metal levels in chironomid larvae and sediments from a Bolivian river// Ecotoxicol. and Environ. Safety. V. 41. № 3. 1998.
15. Claxton L.D. Genotoxicity of industrial wastes end effluents// Environ. and Mol. Mutagenes. V. 29. № 28. 1997. P.1 – 60.
16. Hudson L.A., Ciborowski J.J. Chironomid larvae as monitors of sediment toxicity and genotoxicity// 37 th Conf. Int. Assoc. Great Lakes Res. And Estuarine Res. Fed. Windsor, June 5 – 9, 1994; Program and Abstr. P. 55 – 56.
17. Hirvenoja M., Michailova P. The Karyotype and morphology of *Chironomus brevidentatus* sp. n// Entomol., fenn. V. 9. № 4. 1998. P. 225 – 236.

18. Lencione Valeria. Chironomidi: Importanti Sentinelle ecologiche// *Natura alp.* V. 48. № 3. 1997. S. 275 – 283.
19. Michailova P., Petrova N., Ramella L. Cytogenetic characteristics of a population of *Chironomus riparius* from a polluted Po river station // *Genetica.* V. 98. № 2. 1996. P. 161 – 178.
20. Wulker W. *Chironomus plumosus* Fabricius in fennoscandian reservoirs// *Aquat. Insecta.* V. 18. № 4. 1996. P. 209 – 221.

ФАЗНОСТЬ МИТОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ВОЗНИКНОВЕНИЯ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ В ЭПИТЕЛИИ ХРУСТАЛИКА РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЭПИХЛОРГИДРИНА

Пенкин М.А., Симаков Ю.Г., Никифоров-Никишин А.Л., Бородин А.Л.

Московский государственный университет технологий и управления
г. Москва, Россия, e-mail: msuttm@inbox.ru

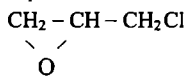
За последнее время водные токсикологи, разрабатывающие эколого-рыбохозяйственные нормативы и методы оценки токсичности отдельных веществ для гидробионтов, столкнулись со странным явлением, с эффективным действием малых концентраций токсикантов на исследуемые тест-объекты. При уменьшении спектра исследуемых концентраций можно найти концентрацию, при которой не отмечается изменений биологических показателей у исследуемых гидробионтов, и ее можно принять за максимально допустимую. Однако дальнейшее снижение концентрации токсиканта может привести в ярко выраженному стимулирующему эффекту, что не всегда благоприятно для гидробиоценоза водоема. Парадоксальные эффекты действия малых концентраций были отмечены давно, но часто не учитывались при постановке токсикологических опытов (Stebbing, 1981). В данной работе мы решили проверить наличие такого же эффекта, который в гидробиологии характеризуется фазностью активности токсиканта в зависимости от исследуемой концентрации, при действии мутагена на динамику изменения митотического индекса (МИ) и возникновения хромосомных aberrаций (ХА) в эпителии хрусталика сеголеток радужной форели.

Эффект выявленный ранее на популяциях гидробионтов, мы решили проверить на клеточных популяциях тканей рыб. Такой популяцией клеток, напоминающих культуру тканей, является эпителий хрусталика рыб (Трумен, 1976).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В качестве представителя алкилирующих мутагенов действующего на эпителий хрусталика радужной форели мы взяли эпихлоргидрин.

Структурная формула эпихлоргидрина:



Химическое название (IUPAC): 3-хлор-1,2-эпоксипропан.

Эпихлоргидрин используется в производстве эпоксидных смол, эпихлоргидриновых каучуков, ионообменных смол и других полимерных материалов. Эпихлоргидрин — алкилирующий агент. Мутаген для бактерий, грибов, сосудистых растений, насекомых и клеток млекопитающих в культуре в отсутствие экзогенной метаболической активации. Вызывает aberrации хромосом, сестринские обмены хроматид, репарацию ДНК и aberrации хромосом у перечисленных выше объектов.

Хорошо известно, что различные алкилирующие агенты подавляют биохимические реакции (Середин и др., 1992) Однако практически отсутствуют сведения о влиянии подобных соединений на процессы образования активные формы кислорода (АФК) и роли последних в формировании генотоксических эффектов этих веществ.

Для получения цитогенетических тотальных препаратов эпителиа хрусталика мы взяли 30 сеголеток радужной форели (*Parasalmo mykiss*) (Решетников, 1998). Рыбы содержались в 20 литровых аквариумах, 10 особей из которых были контрольными, и 20 особей содержались в растворах эпихлоргидрина при действующих концентрациях от 0,1 до 2,0 мг/л.

Ранее было показано, что концентрация эпихлоргидрина 0,1 мг/ не влияет на возникновение aberrативных митозов и динамику изменения МИ в эпителии хрусталика сеголеток радужной форели (Симаков и др., 2005). Продолжительность

опыта 21 день. По окончании опыта глаза рыб фиксировались смесью Карнуа (Линч, 1969), а затем готовились тотальные препараты эпителия хрусталика с окраской их Гемалюмом (Howard, 1952; Симаков, 1982).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В контроле, митотический индекс в герминативной зоне эпителия хрусталика сеголеток радужной форели оказался равным 7,75. В небольшом количестве митозы встречались в центральной и предэкваториальной зоне (центральная – 0,91; предэкваториальная – 1,82). По сравнению с другими тканями животных митотическая активность в эпителии хрусталика сеголеток форели повышена. По мере развития рыб МИ падает и в хрусталике эпителия радужной форели, но у сеголеток он высок.

В данной работе мы рассматривали влияние эпихлоргидрина на митотическую активность в различных зонах эпителия хрусталика и появление при этом аберративных митозов в зависимости от дифференцировки клеток. По существу надо было ответить на вопрос, как связаны между собой нарушение митотической активности и появление аберративных митозов под влиянием мутагенного вещества. Помимо этого известно, что под влиянием различных концентраций токсиканта отмечается фазность токсичности. При одних концентрациях, чаще всего низких, проявляется стимуляция митотической активности, а при повышении концентрации отмечается ингибирование клеточной пролиферации. Это положение влияло и на выбор спектра концентраций, который исследовался в эксперименте. Для исследования были взяты следующие концентрации эпихлоргидрина: 0,1; 0,2; 0,5; 1,0 и 0,2 мг/л. МИ и количество аберративных митозов определяли в предэкваториальной, герминативной и центральной зоне, а затем находили средний МИ и среднее количество аберративных митозов для всего хрусталика. Данные о количестве ХА и МИ в различных зонах цитодифференцировки эпителия хрусталика сеголеток радужной форели приведены в таблице.

Таблица 1. Изменение митотического индекса (МИ) и количества хромосомных аберраций (ХА) в эпителии хрусталика радужной форели при действии различных концентраций эпихлоргидрина на 21 день опыта.

Конц. мг/л	МИ в различных зонах цитодифференцировки эпителия и количество аберративных митозов (ХА)							
	Предэкватор.		Герминативная		Центральная		Средний ХА	Средний МИ
	МИ	ХА	МИ	ХА	МИ	ХА		
0,1	1,75±0,16	1,8±0,19	7,8±0,57	2,5±0,18	0,95±0,08	0,82±0,3	1,73	3,5
0,2	5,1±0,43	5,2±0,41	10,30±0,4	8,3±0,25	4,5±0,38	3,7±0,31	5,7	6,6
0,5	0,45±0,04	3,2±0,27	3,50±0,32	5,1±0,40	0,24±0,02	2,1±0,01	3,46	1,4
1,0	2,22±0,12	4,3±0,4	8,4±0,47	6,5±0,69	1,4±0,03	3,2±0,02	4,6	4,0
2,0	0,95±0,35	2,47±0,2	1,15±0,7	4,2±0,35	0,48±0,01	1,4±0,01	2,69	0,86
Контр	1,82±0,17	1,7±0,1	7,75±0,36	2,4±0,3	0,91±0,10	0,74±0,2	1,61	3,45

Примечание: Жирным шрифтом выделены результаты достоверные по критерию Стьюдента, при $P \leq 0,01$.

Как показывают результаты, наиболее сильные колебания митотического индекса отмечаются в герминативной зоне, и в меньшей степени это отмечается в центральной и предэкваториальной зоне. Сходно с изменением МИ увеличивается или уменьшается количество аберративных митозов в каждой из зон дифференцировки при различных концентрациях токсиканта. Колебания среднего МИ и среднего количества ХА представлены на рис. 1. На графике видно, как в зависимости от концентрации эпихлоргидрина меняется МИ и количество ХА. Кривые представляют собой затухающий колебательный процесс, причем при более низких концентрациях фазность действия препарата проявляется более четко.

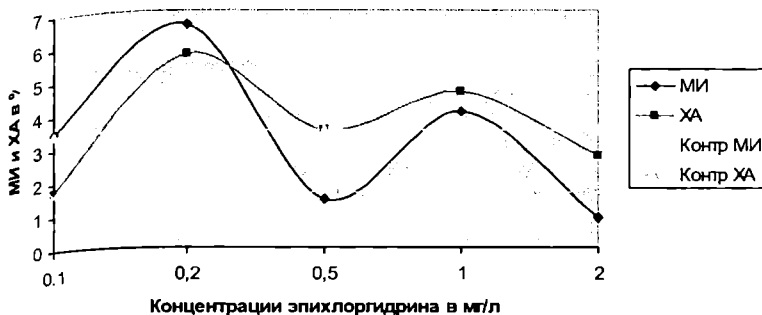


Рис. 1. Изменение МИ и ХА в эпителии хрусталика сеголеток радужной форели на 21 день опыта в зависимости от концентрации эпихлоргидрина в воде.

Установленное свойство заставляет при проведении экспериментов с генотоксичными веществами, а возможно и со всеми токсикантами, наиболее внимательно относиться к низким концентрациям веществ, которые при небольшом понижении концентраций могут оказывать совершенно противоположное действие и изменять ингибирующий эффект на стимулирующий.

Подобные явления описаны не только относительно митотической активности, они могут сказываться на таких жизненноважных показателях у гидробионтов, как выживаемость и количество потомства. Концентрацию 0,5 мг/л можно принять как недействующую. Однако понижение концентрации приводит к стимуляции митотической активности в эпителии хрусталика форели и при 0,2 мг/л стимулирующий эффект наиболее выражен. Все это заставляет придти к выводу, что при проведении токсикологических экспериментов и определении спектра концентраций для экспонирования гидробионтов в растворах токсикантов, концентрации необходимо брать не с равномерным шагом, а уменьшать шаг по мере понижения концентрации исследуемого вещества.

Среди хромосомных aberrаций в ана-телофазе в клетках эпителия хрусталика сеголеток радужной форели отмечаются следующие нарушения при действии различных концентраций эпихлоргидрина. При действии концентрации 0,2 мг/л, когда отмечается наибольший стимулирующий эффект митотической активности. То есть в этом случае проявляется цитотоксический эффект, который приводит к асимметричному расхождению хромосом.

Можно предположить, что при подобной патологии митоза эпихлоргидрин поражает нити веретена деления, что приводит к неравномерному их сокращению при расхождении хромосом.

При концентрации токсиканта 2,0 мг/л аномалии хромосом сходны с теми, которые отмечаются при действии эпихлоргидрина в концентрации 1,0 мг/л.

Таким образом, в результате проведения данного эксперимента удалось выявить как фазность действия различных концентраций эпихлоргидрина, так и различные типы хромосомных aberrаций, связанные с митотической активностью клеток эпителия хрусталика радужной форели.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В результате проведения работы удалось установить, что при низких концентрациях, происходит стимуляция митотической активности, а при повышении концентрации отмечается ингибирование клеточной пролиферации. Выявляются концентрации, при переходе от стимулирующего эффекта к ингибированию, которые

не оказывают токсического действия и не нарушают митотическую активность по сравнению с контролем. Подобное явление в водной среде отмечается не только при действии на клеточную пролиферацию, оно найдено и при исследовании таких показателей, как выживаемость, размножение (Филенко, 1988) и ряда физиологических показателей. Называется оно фазностью воздействия и может привести к значительным ошибкам при установлении ПДК или временных токсикологических нормативов. Ошибка может заключаться в том, что снижении ряда концентраций в токсикологическом опыте, мы можем найти недействующую концентрацию, а на самом деле с уменьшением концентрации проявится сильный стимулирующий эффект. В таких случаях концентрацию тоже следует считать как действующую, потому что стимуляция тоже может оказать неблагоприятный эффект на гидробиоценоз водоема.

В данном случае фазность токсического действия была нами выявлена при действии на клеточную пролиферацию различных концентраций эпихлоргидрина. Удалось также выявить, что и возникновение хромосомных aberrаций обладает фазностью. Во всех случаях повышение или понижение количества aberrативных митозов (ХА) следовало за колебательными процессами митотического индекса (МИ).

Объяснить данное явление можно двумя способами, либо повышение количества aberrативных митозов возникает из-за того, что при действии определенных концентраций повышается количество делящихся клеток в эпителии хрусталика и больше вероятность возникновения мутаций, либо стимуляция клеточной пролиферации сама по себе приводит к возникновению aberrативных митозов, из-за нарушения аппарата клеточного деления.

Понижение концентрации приводит к стимуляции митотической активности в эпителии хрусталика форели и при 0,2 мг/л стимулирующий эффект наиболее выражен. Все это заставляет прийти к выводу, что при проведении токсикологических экспериментов и определении спектра концентраций для экспонирования гидробионтов в растворах токсикантов, концентрации необходимо брать не с равномерным шагом, а уменьшать шаг по мере понижения концентрации исследуемого вещества.

При анализе хромосомных aberrаций, получившихся при фазности действия эпихлоргидрина, концентрация 0,2 мг/л оказалось наиболее эффективной. При указанной концентрации отмечается наибольший стимулирующий эффект митотической активности, отмечается значительное число митозов до 40 % с нарушением веретена деления. Цитотоксический эффект приводит к асимметричному расхождению хромосом.

При концентрации эпихлоргидрина 0,5 мг/л происходят изменения в строении, и наблюдается нерасхождение хромосом, а также их фрагментация. Однако количество aberrативных хромосом при этом падает.

Увеличение концентрации эпихлоргидрина до 1,0 мг/л приводит к появлению точечных фрагментов хромосом. Количество aberrативных митозов в этом случае возрастает. Колебательные процессы изменения МИ в зависимости от концентрации и количества aberrативных митозов в эпителии хрусталика совпадают по фазе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. М.: Мир, 1969. 645 с.
2. Середенин С.Б., Дурнев А.Д. Фармакологическая защита генома. М.: ВНИИТИ, 1992. - 161 с.
3. Симаков Ю.Г. Влияние бензолных соединений на митотическую активность эпителия хрусталика радужной форели *Salmo gairdneri* Rich // Вопр. ихтиологии. - 1982. - Т. 22. - Вып. 1. - С. 139-144.

10. Симаков Ю.Г., Дробышевский В.Ф. Независимые и сопряженные мутации на различных уровнях наследственного аппарата гидробионтов// Объединенный научный журнал, 2004, №5. С 46-52.
11. Трумен Д. Биохимия клеточной дифференцирован. - М.: Мир, 1976. -168 с.
12. Филснко О.Ф, Водная токсикология. Черноголовка.: МГУ, 1988.–156 с.
13. Howard A. Whole mounts of rabbit lens for cytological study // Stain technol. - 1952. - V. 27. - P. 313-317.
14. Stebbing A.R.D. Hormesis-stimulation of colony growth in *Companularia flexosa* (Hydrozoa) by copper, cadmium and other toxicants// Aquat.Toxicol., 1981, vol. 1, № 3, p. 227 – 238.

РЕГЕНЕРАЦИЯ ЭПИТЕЛИЯ ХРУСТАЛИКА РЫБ И АМФИБИЙ ПРИ РАДИАЦИОННОМ И ЕСТЕСТВЕННОМ БЛОКИРОВАНИИ МИТОЗОВ

Пенкин М.А., Симаков Ю.Г.

*Московский государственный университет технологий и управления
г. Москва, Россия, e-mail: msutmt@inbox.ru*

До настоящего времени остается не решенной проблема радиационного и естественного блокирования митозов в эпителии хрусталика низших позвоночных. Блокирование митозов происходит либо при воздействии высокими дозами ионизирующего излучения (Симаков и др., 2002), либо в осенне-зимнем периоде у амфибий и рыб впадающих в спячку (Сахарова и др., 1966). Механизм полного ингибирования митозов остается непознанным. Возникает вопрос, каким же образом происходит регенерация травм при полном блокировании митозов после радиационного облучения или в период зимней спячки? Для решения этой задачи нами проведено настоящее исследование на травяных лягушках, у которых радиацией и во время зимней спячки в эпителии хрусталика полностью блокируются митозы. Вторым объектом исследования служили годовики радужной форели, у которых в зимний период сохраняется митотическая активность в эпителии хрусталика, но полностью блокируется при действии высоких доз (5000 р) радиации.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Первая часть исследования проведена на годовиках радужной форели. Для получения цитогенетических тотальных препаратов эпителии хрусталика мы взяли 30 сеголеток радужной форели (*Parasalmo mykiss*) (Решетников, 1998). Рыбы содержались в 20 литровых аквариумах по 10 штук с азрацией. В одном аквариуме рыбы (10 особей) были контрольными, и 20 особей (по 10 штук) в двух других аквариумах облучались на рентгеновской установке - линейном ускорителе 6 Мэв тормозного излучения, фирмы Филипс с экспозиционной дозой 5000 р. Контрольным рыбам в правый глаз наносилась травма иглой, с учетом проникновения в хрусталик на 1/5 диаметра. Для иммобилизации рыб во время облучения, их помещали в мелкую ванночку с перегородками. В каждой перегородке помещалось две рыбы «голова к голове». В ванночку, чтобы рыбы не пересохли, добавлялся слой воды до уровня глаз. Сверху ванночки накрывались рамками с натянутым газом, чтобы рыбы не могли выпрыгнуть.

Облученные рыбы делились на две партии по 10 штук. У одной партии следили за митотической активностью на тотальных препаратах эпителии хрусталика только после одного облучения, у второй партии после облучения в правый глаз наносилась травма иглой, с учетом, что она проникает на 1/5 диаметра хрусталика.

Глаза рыб фиксировались на второй день после облучения, а также на 4 и 8 сутки. Фиксатор -4% нейтральный формалин (Саркисов и др., 1996). Для исследования митотической активности в эпителии хрусталика глаза фиксировали в жидкости Карнуа (этиловый спирт и ледяная уксусная кислота в пропорции 3:1) в течении 24 часов (Лилли, 1969). Для изъятия воды из фиксирующего раствора на дно банки помещали обезвоженный медный купорос.

Затем готовили тотальные препараты эпителии хрусталика по общепринятым методикам (Howard, 1952; Симаков, 1998). Сходным образом готовились тотальные препараты эпителии хрусталика травяных лягушек.

В опыт брали травяных лягушек (*Rana temporaria*) в возрасте 3 года. Лягушки содержались в лабораторных условиях в 5 литровых банках по 5 штук, на дно которых помещался небольшой слой воды. В общей сложности было исследовано также 30 лягушек, 10 из которых были контрольные, которым наносилась травма иглой в правый глаз, 10 особей получили облучение в дозе 10000 р на рентгеновской установке РУД 100 кв/2 ом дозой 10000 р. мощностью 400 р/мин., и 10 особей получили

облучение при той же экспозиционной дозе и в правый глаз им была нанесена травма иглой с учетом проникновения на 1/5 диаметра хрусталика.

Всё подопытные рыбы и амфибии проходили тщательный отбор, чтобы исключить использование в экспериментах особей, уже имеющих нарушения прозрачности хрусталика. Фиксация глаз лягушек для получения тотальных препаратов эпителия хрусталика, также как и у рыб, осуществлялась на второй, 4 и 8 день после облучения. На тотальных препаратах эпителия хрусталика следили за процессом регенерации травмы и за проявлением митотической активности в эпителии хрусталика только при одном облучении или только при травматизации эпителия.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

У рыб (*Parasalmo mikkis*) нанесение травмы уколом в передний полюс хрусталика приводит не только к перфорации капсулы хрусталика и повреждению волокон, но и к гибели клеток эпителия вокруг травмы за счет механического воздействия. Площадь поражения эпителия составляет примерно 0,3 – 0,4 мм², в зависимости от силы нанесенного укола. Дальнейшие процессы регенерации эпителия хрусталика сводятся к тому, что в отдалении от травмы, а в высокодифференцированных зонах непосредственно около травмы отмечается клеточная пролиферация. Однако травма закрывается не только за счет деления клеток эпителия, но и за счет миграции клеток эпителия в разрыв. При миграции клетки и их ядра вытягиваются и приобретают веретенообразную форму. Через два дня травма закрывается за счет пролиферации и миграции клеток в область поражения. На четвертый день эпителий полностью закрывает место поражения. Регенерация травмы завершается.

При нанесении травмы в передний полюс хрусталика рыб после облучения их рентгеновскими лучами с экспозиционной дозой 5 000 Р характер регенерации меняется. Под влиянием радиации митозы в эпителии хрусталика радужной форели подавляются, и регенерация идет только за счет миграции клеток эпителия в зону разрыва эпителия хрусталика. Скорость миграции клеток в область травмы в облученном и необлученном хрусталике примерно одинаковая. Однако при отсутствии клеточной пролиферации для закрытия травмы требуется большее число клеток, поэтому вокруг травмы на плоскостных препаратах облученных хрусталиков отмечается разреженная область, где плотность клеток невысока. Дальнейшие процессы завершаются практически одновременно с необлученными хрусталиками.

У травяных лягушек (*Rana temporaria*) нанесение травмы иглой в передний полюс хрусталика приводит также к некоторому механическому раздавливанию клеток вокруг травмы. У лягушек кора хрусталика более мягкая и прогиб капсулы при ее перфорации приводит к большей площади поражения эпителия от механического воздействия вокруг прокола. Микрометрия показывает, что площадь поражения эпителия вокруг укола доходит до 0,6 мм², то есть в два раза больше чем у рыб. В летнее время, когда у лягушек наблюдается митотическая активность в эпителии хрусталика, регенерация травмы происходит сходно с регенерацией эпителия у рыб. Эпителий восстанавливается за счет клеточной пролиферации и миграции клеток эпителия в область травмы. При облучении лягушек рентгеновскими лучами с экспозиционной дозой 10 000 Р митотическая активность в эпителии подавляется. Регенерация эпителия после воздействия высоких доз радиации, как и у рыб, происходит только за счет миграции клеток в область травмы. Активная миграция приводит к вытягиванию клеток эпителия и снижению плотности клеток вокруг травмы.

В осенне-зимний период у лягушек клеточная пролиферация в эпителии хрусталика не наблюдается. Нанесение травмы иглой в передний полюс хрусталика в этот период приводит к тому, что регенерация осуществляется только за счет миграции клеток в зону поражения.

Облучение глаз лягушек высокими дозами рентгеновских лучей (10 000 Р) в осенне-зимний период с последующим нанесением укола в передний полюс хрусталика, показывает, что регенерация не подавляется и также происходит за счет миграции клеток в зону травмы.

Таким образом, регенерация травмированного эпителия у лягушек в осенне-зимний период происходит сходно, как при облучении высокими дозами радиации (10000 р) и нанесении травмы, но регенерация в этом случае идет только за счет миграции клеток эпителия в область травмы.

Помимо указанных периодов, мы проследили переходный период, когда лягушки выходят из зимней спячки и у них восстанавливается естественная клеточная пролиферация в эпителии хрусталика. В конце апреля было отловлено в природной среде 30 лягушек, которых мы поместили в лабораторные условия. Половина животных была облучена на рентгеновской установке дозой 10 000 Р, вторая половина была контрольной. Через три дня в эпителии хрусталика контрольной группы появились митозы, в то время как у облученных лягушек клеточная пролиферация в эпителии хрусталика отсутствовала.

Нанесение травмы иглой в передний полюс хрусталика показало, что регенерация эпителия у необлученных особей идет за счет митотической активности и миграции клеток эпителия в область травмы. У облученных особей митозов не возникло, и регенерация эпителия происходила, как в зимнее время, только за счет миграции клеток эпителия в пораженную уколom зону.

В настоящее время еще не возможно судить имеются ли сходные процессы при блокировании митозов радиацией и при естественном способе, когда животные впадают в спячку, так как механизм радиационного подавления митозов окончательно не установлен. Но морфологические процессы регенерации внешне сходны между собой и идут только за счет миграции клеток эпителия хрусталика в область травмы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. М.. Мир, 1969. 645 с.
2. Решетников Ю.С. (ред.) Аннотированный каталог круглоротых и рыб континентальных вод России. М.: Наука 1998. – 220 с.
3. Саркисов Д.С., Перов Ю.Л. (ред). Микроскопическая техника: Руководство. - М.: Медицина, 1996 - 544с.
4. Сахарова Н.Ю., Голиченков В.А. Сезонные изменения регенерационной способности эпителия хрусталика лягушки // Цитология. -1968. - Т. 10. - № 7. - С. 896-899.
5. Симаков Ю., Пурцхванидзе В.А. Лучевые катаракты и травматизация хрусталика // Проблемы биовалеотехнологии, 2002. № 1, 2002. С. 35 – 43.
6. Симаков Ю.Г. Оценка генотоксичности загрязняющих веществ// Методические указания по установлению эколого-рыбохозяйственных нормативов (ПДК и ОБУВ); М., ВНИРО, 1998, С. 91-102.
7. Howard A. Whole mounts of rabbit lens for cytological study // Stain technol. - 1952. - V. 27. - P. 313-317.

ПАТОЛОГИЯ ГЕПАТОПАНКРЕАСА У КРАБОВ-СТРИГУНОВ В ШЕЛЬФОВОЙ ЗОНЕ ВОСТОЧНОЙ ЧАСТИ ОХОТСКОГО МОРЯ

Т.В. Рязанова

Камчатский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (КамчатНИРО), Петропавловск-Камчатский, Россия

E-mail: kamniro@elizovo.kamchatka.ru

Одним из факторов сокращения численности промысловых ракообразных являются заболевания. Их спектр, распространенность и воздействие на популяции крабов-стригунов Охотского моря до сих пор изучены слабо. Из-за отсутствия внешних визуальных признаков, в большинстве случаев не представляется возможным реально оценить процент больных ракообразных в общих уловах. Зачастую, трудности связаны как с диагностикой заболевания, так и с выявлением его причин.

Объектом исследования были самцы крабов промыслового размера сем. Majidae, рода *Chionoecetes* - краб-стригун опилио *Ch. opilio* и краб-стригун Бэрда *Ch. bairdi*, выловленные в шельфовой зоне восточной части Охотского моря. В 2004 г. было исследовано 160 экз. крабов-стригунов опилио и 201 экз. крабов-стригунов Бэрда, в 2006 г. — 350 и 167 экз. соответственно. Произвели внешний осмотр и патологоанатомическое вскрытие животных. От всех экземпляров с визуальной патологией внутренних органов отобрали пробы для гистологических и бактериологических исследований.

В ходе исследований в 2004 г. у 2,5% крабов-стригунов опилио и 2% крабов-стригунов Бэрда выявили патологию гепатопанкреаса. В 2006 г. ее регистрировали у 1,42% и 4,19% особей, соответственно. Все крабы этой группы находились в третьей и третьей поздней стадии линьки. Среди крабов с патологией гепатопанкреаса 34% крабов-стригунов опилио и 56% крабов-стригунов Бэрда имели повреждения экзоскелета, характерные для панцирной болезни ракообразных. Остальные животные были визуально здоровыми. При патологоанатомическом исследовании обнаружили, что по всему объему или периферийным долям гепатопанкреаса крабов располагаются твердые черные включения, размером от 0,1 до 3 см, окруженные белым веществом кремообразной консистенции. Такие участки были локализованы в верхних, нижних долях гепатопанкреаса или вблизи желудка. В последнем случае наблюдали некротические изменения отростков средней кишки. Если некротические участки находились в верхних долях гепатопанкреаса, то регистрировали увеличение размеров и деструктивные изменения в антеннальной железе.

Гистологические исследования показали, что у всех крабов этой группы были идентичные патологические изменения тканей, прежде всего гепатопанкреаса. Клетки всех типов, но с глыбками меланизированного вещества в цитоплазме В-клеток, можно было видеть в трубочках, наиболее удаленных от очагов поражения. По мере приближения к ним, изменения становились более тяжелыми. Большая часть трубочек гепатопанкреаса имела сильно увеличенный просвет, заполненный базофильной аморфной массой, в которой при окраске по Граму выявили скопления палочковидных грамотрицательных бактерий. В большинстве трубочек дифференциация клеток на типы отсутствовала. Регистрировали атрофию клеток гепатопанкреатического эпителия: вакуолизацию и лизис ядер, коагуляцию цитоплазмы клеток и уменьшение их размеров. Зачастую, границы отдельных клеток было невозможно определить из-за разрушения клеточных стенок. Базальная мембрана поврежденных трубочек приобретала волнистые очертания и разрушалась. Наблюдала инфильтрацию гемоцитами интертубулярной соединительной ткани. Мигрировавшие в эту зону гемоциты скапливались вокруг разрушающихся трубочек гепатопанкреаса, образуя подобие капсулы. Фрагменты клеток эпителия гепатопанкреаса фагоцитировались гемоцитами. В результате, постепенно накапливались некротические меланизированные массы, располо-

женные на месте бывших трубочек гепатопанкреаса и повторяющие их форму. Именно они были видны при патологоанатомическом исследовании как черные твердые включения. В окружающей поврежденные трубочки соединительной ткани наблюдали карioreкسيس и цитоллиз клеток. Таким образом, белое кремообразное вещество представляло собой скопление мигрировавших в эту зону гемоцитов и фрагментов разрушенных клеток, которое, по аналогии с таковым у позвоночных, можно назвать гноем. Большинство гемоцитов в соединительной ткани между трубочками гепатопанкреаса имело в цитоплазме множество хорошо заметных эозинофильных гранул. Только из таких гемоцитов состояли «капсулы» вокруг некротизированных и/или разрушающихся трубочек. Спаркс (1985) классифицировал циркулирующие гемоциты у краба-стригуна Бэрда как гиалиноциты, промежуточные или незрелые гранулоциты и эозинофильные гранулоциты. Процент последних заметно увеличивался у больших крабов, например, зараженных патогенным грибом из группы аскомицетов. Также были обнаружены различия в их количестве у сильно и слабо инфицированных особей, выявляемая при гистологическом анализе органов (Sparks, 2005). Главная роль эозинофильных гранулоцитов — фагоцитоз и инкапсуляция инородных частиц. В процессе инкапсуляции формируются последовательные слои вокруг инородного материала, если он больше отдельных гемоцитов. Это могут быть как патогены, такие как скопления бактерий или паразиты, так и участки поврежденных тканей или инородные тела, например пластиковые имплантанты. Полностью сформированная капсула имеет три слоя: состоящая из инородного материала и лизированных гемоцитов центральная меланизированная зона, тонкий слой уплощенных гемоцитов и внешний слой рыхло лежащих гемоцитов (Hartison, 1992). Формирование таких капсул вокруг поврежденных трубочек гепатопанкреаса мы и наблюдали у исследованных нами крабов-стригунов опилио и крабов-стригунов Бэрда.

У одного самца краба-стригуна опилио и одного самца краба-стригуна Бэрда с некрозом передних отростков средней кишки, выявленном при патологоанатомических исследованиях, гистологическая картина разрушения этого органа была идентичной. Собственно отростки были полностью замещены твердыми некротическими массами в «капсуле» из эозинофильных гранулоцитов. У части крабов наблюдали скопление грамтрицательных палочковидных бактерий в просвете средней кишки и ее отростков и инфильтрацию гемоцитами окружающей их соединительной ткани. У всех животных выявили патологические изменения в антеннальной железе: инфильтрацию гемоцитами соединительной ткани между петлями лабиринта, вакуолизацию и цитоллиз подоцитов. Особенно сильно ткани этого органа были повреждены в случаях, когда изменения в антеннальной железе регистрировали при патологоанатомическом исследовании. Наряду с инфильтрацией и цитоллизом подоцитов выявили атрофию клеток лабиринта (уменьшение их размеров, плотную эозинофильную цитоплазму) и крупные меланизированные включения в соединительной ткани антеннальной железы.

У особей с внешними признаками панцирной болезни из участков поврежденного экзоскелета были выделены бактерии 2 родов — *Vibrio* и *Pseudomonas*. Бактерии этих родов, будучи основными патогенными агентами, способствующими развитию панцирной болезни ракообразных (Vogan et al., 2002), являются также обычной микрофлорой морской воды. Зависимости между наличием панцирной болезни и патологией гепатопанкреаса не выявили, так как последнюю регистрировали и у визуально здоровых особей. В 2004 г. бактериального роста в посевах из гемолимфы, гепатопанкреаса и гноеподобной субстанции не наблюдали. Бактерии были выявлены только в гистологических срезах в полостях трубочек гепатопанкреаса. В 2006 г. мы несколько изменили методику отбора бактериологических проб — вначале помещали фрагменты тканей в жидкую питательную среду (TSB), а затем производили перепосадку на плотные (TCBSA и TSA). В результате у 80% крабов-стригунов опилио и 71% крабов-стригунов Бэрда с описанной патологией из гепатопанкреаса выделили бактерий рода *Vibrio*. Однако

мы предполагаем, что первопричиной патологии гепатопанкреаса были не бактериальные патогены, а какие-то другие факторы. Во-первых, у части животных бактериального роста в посевах из поврежденного гепатопанкреаса не выявили. Во-вторых, бактерий не регистрировали в трубочках, где патологические изменения клеток были на начальном этапе. Скопления бактерий наблюдали только в трубочках с сильной стадией дегенерации эпителиальных клеток.

Многие исследователи указывают на то, что внутренняя бактериальная инфекция является вторичной, как следствие внешней инфекции (панцирной болезни), а может быть спровоцирована другими патогенами или абиотическими факторами. Например, у отловленных в природе креветок *Callinassa affinis* был выявлен абсцессоподобный лизис гепатопанкреаса, похожий на зарегистрированный нами у крабов-стригунов. Животные отказывались от пищи в течение 2 месяцев и, в конце концов, погибли. Авторы предполагают, что продолжительное голодание сделало креветок неспособными противостоять бактериальной атаке (Smith, Taylor, 1968). Есть сведения о вторичной бактериальной инфекции у креветок *Penaeus monodon* с формированием обширного абсцесса и лизиса гепатопанкреаса, вызванного, скорее всего, *V. alginolyticus*. Первопричиной авторы считают вызывающее некроз кишечника заболевание – кишечный энтрит. Это заболевание возникает при поедании креветками сине-зеленых водорослей, вырабатывающих токсин (Brock, Lightner, 1990). У *P. monodon*, *P. stylirostris* и других культивируемых видов креветок на Тайване, Филиппинах и в Малайзии известно заболевание с высокой смертностью, при котором происходит массовая миграция гемоцитов в гепатопанкреас, дегенерация и некроз его трубочек. Гемоциты формируют капсулу вокруг некротизированных трубочек. Просвет трубочек содержит детрит и бактерий (грамположительные кокки). Хотя бактерии в массе находятся в просвете трубочек гепатопанкреаса и кишечника, одной из возможных причин считают некачественные корма (Bower et al., 1994). Определить причину патологии гепатопанкреаса у исследованных нами крабов-стригунов пока трудно. Можно предполагать, что это какие-то токсины. Однако в природной популяции такая вероятность представляется достаточно редкой. В то время как, среди крабов-стригунов, отобранных случайно, данная патология составляла довольно большой процент — до 4,19%. Получить достоверные данные о распространенности описанной патологии среди крабов-стригунов достаточно трудно, т. к. не имеется ее внешних клинических проявлений и крабы могут быть визуально здоровыми.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Bower, S. M., S. E. McGladdery and I. M. Price Synopsis of infectious diseases and parasites of commercially exploited shellfish // Ann. Rev. Fish Dis. Can. Pergamon. 1994. Vol. 4. 199 p.
- Brock, J.A., and D.V., Lightner. Diseases of *Crustacea*. Diseases caused by microorganisms. In: ed. O. Kinne. Diseases of marine animals. Vol. III: Introduction, *Cephalopoda*, *Annelida*, *Crustacea*, *Chaetognatha*, *Echinodermata*, *Urochordata*. Hamburg: Biologische Anstalt Helgoland. 1990. P. 296-326.
- Harrison, F.W., and A.G., Humes Microscopic anatomy of invertebrates. Decapod Crustacea // Wiley-Liss Inc. New York. 1992. V. 10. 459 p.
- Smith A.C., R.L. Taylor Digestive gland and integument lesions associates with malnutrition in ghost shrimp, *Callinassa affinis* // J. Invertebr. Pathol. 1968. V. 12. P.1-6.
- Sparks A.K. Synopsis of invertebrate pathology exclusive of insects // Elsevier science Publishing Co. — Amsterdam. 1985. 230 p.
- Vogan, C.L., C. Costa-Ramos, and A.F. Rowley. Shell disease syndrome in the edible crab, *Cancer pagurus* – isolation, characterization and pathogenicity of chitinolytic bacteria // J. Microbiology. 2002. V. 148. P. 743-754.

THE PATHOLOGY OF HEPATOPANCREAS IN SNOW CRAB *CHIONOECETES*
OPILIO AND TANNER CRAB *CH. BAIRDI* (SEA OF OKHOTSK)
Ryazanova T.V.

The pathology of hepatopancreas was found among snow crabs *Chionoecetes opilio* and tanner crabs *Ch. bairdi*. Crabs were caught in the sea of Okhotsk in 2004 and 2006 years. The pathology was observed during the examination of internal organs. Black and hard inclusion and white cream-like substance were located in hepatopancreas. Necrosis and melanisation of epithelium of tubules of hepatopancreas and great number of eosinophilic granulocytes were detected histologically.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОТКЛОНЕНИЯ РЫБ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЧАСТИ КУЙБЫШЕВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

Д.Ю. Семенов

Ульяновский государственный университет, г. Ульяновск, Россия, perchsdj@list.ru

В популяциях любого вида рыб встречаются особи с различными отклонениями от нормы в морфологии и физиологии. Причины таких аномалий могут быть как внутренними - генетическими, так и внешними - чаще всего инфекционными, инвазионными и антропогенными. Учитывая последнее обстоятельство, характер, степень выраженности и количество тех или иных отклонений от нормы у особей в популяции рыб могут служить относительно надежным критерием для оценки качества водной среды (Евланов, 1999; Котегов, 2001).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование морфологических отклонений рыб проводилось в Центральной части (Ульяновский и Ундоровский плесы) Куйбышевского водохранилища в 2001 - 2007 годах по общепринятой методике (Правдин, 1966) на глубинах от 1 до 20 метров. При сборе ихтиофауны использовались ставные сети с ячеей от 10 мм до 65 мм, крючковые снасти, бредень и мальковая волокуша. Всего исследовано 8611 взрослых особей. Для обнаружения морфологических отклонений у каждой особи осматривались внешние покровы, внутренние органы и отдельно вываривался скелет.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Среди выявленных морфологических отклонений особей интерес вызывают морфологические отклонения чехони (*Pelecus cultratus* Linnaeus, 1758), выражающиеся в значительном и разнообразном искривлении позвоночника (фото 1 и 2). На долю вышеуказанной патологии приходится 75% всех выявленных морфологических отклонений чехони, причем носителями этой патологии являются, как правило, половозрелые самки с хорошо сформированными гонадами. Принимая во внимание эти обстоятельства, можно предположить мутационное происхождение данного морфологического отклонения. По первому льду автору неоднократно удавалось наблюдать в толще воды стайки чехони с такими аномальными особями и никаких видимых затруднений при их передвижении отметить не удалось. Эти наблюдения подтверждаются сообщениями рыболовов-промысловиков и рыболовов-любителей. Максимальные линейные и весовые показатели у чехони (♀IV) с искривлением позвоночника составили соответственно 24,2 см и 202,7 г.

У самки окуня (*Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758) предельной возрастной группы (10+; L-30,8 см; m-660,5 г) также обнаружены значительные морфологические отклонения: утончение тел позвонков и их неподвижное слияние в хвостовом отделе, недоразвитие одного брюшного плавника, искривление тычинок на I жаберной дуге и сращивание жестких лучей в анальном плавнике. Несмотря на столь значительные патологии, рассматриваемая особь находилась на IV стадии развития гонад, имела хорошую упитанность и высокую наполняемость желудка.

Кроме того, единично отмечено «нестандартное» морфологическое отклонение леща (*Abramis brama* Linnaeus, 1758) – «бочкообразная» форма тела (фото 3). Так у пойманной особи (♀III; 6+; L-25,0 см; m-1252 г) в брюшной полости скопилось более 0,3 л жидкости, отчего тело приняло «бочкообразную» форму, причем все внутренние органы не имели каких либо внешних отклонений, что указывает на отсутствие инфекционного или инвазионного агента.

Из анализа таблицы I видно, что аномальных особей среди хищных видов рыб (судак, берш, окунь, щука, сом, жерех, налим, ротан-головешка, бычок-головач) – 2,1%, среди остальных видов рыб – 1,2%.

Морфологические отклонения рыб
Центральной части Куйбышевского водохранилища, 2001-2007г.

Таблица 1

Вид	Всего рыб*	Морфологические отклонения
1	2	3
Сем. Карповые (Cyprinidae)		
<i>Blicca bjoerkna</i> Linnaeus, 1758	419 17	Прерывание боковой линии; отсутствие жаберной крышки; искривление лучей грудных плавников; искривление лучей хвостового плавника; отсутствие одного глаза.
<i>Abramis brama</i> Linnaeus, 1758	752 12	Прерывание боковой линии; отсутствие жаберной крышки; искривление лучей хвостового плавника; искривление лучей грудных плавников; «бочкообразная» форма тела.
<i>Pelecus cultratus</i> Linnaeus,	386 8	Искривление позвоночника; искривление лучей хвостового плавника; искривление лучей грудных плавников.
<i>Carassius auratus gibelio</i> Bloch, 1782	244 5	Искривление лучей хвостового плавника; искривление лучей грудных плавников; недоразвитие одного брюшного плавника.
<i>Carassius carassius</i> Linnaeus, 1758	12 0	Морфологических отклонений не обнаружено.
<i>Alburnus alburnus alburnus</i> Linnaeus, 1758	347 2	Искривление лучей хвостового плавника; прерывание боковой линии.
<i>Leuciscus idus idus</i> Linnaeus, 1758	291 4	«Телескопический» глаз; искривление лучей грудных плавников.
<i>Abramis sapa</i> Pallas, 1814	12 0	Морфологических отклонений не обнаружено.
<i>Abramis ballerus</i> Linnaeus, 1758	312 2	Искривление тычинок на I жаберной дуге; искривление лучей грудных плавников.
<i>Cyprinus carpio carpio</i> Linnaeus, 1758	42 1	Искривление лучей грудных плавников.
<i>Aspius aspius</i> Linnaeus, 1758	51 0	Морфологических отклонений не обнаружено.
<i>Rutilus rutilus rutilus</i> Linnaeus, 1758	634 7	Прерывание боковой линии; искривление лучей хвостового плавника; искривление лучей грудных плавников; искривление лучей анального плавника.
<i>Gobio gobio gobio</i> Linnaeus, 1758	23 0	Морфологических отклонений не обнаружено.
<i>Romanogobio albiginnatus</i> Lukasch, 1933	2 0	Морфологических отклонений не обнаружено.
<i>Leuciscus leuciscus leuciscus</i> Linnaeus, 1758	9 0	Морфологических отклонений не обнаружено.
1	2	3
<i>Tinca tinca</i> Linnaeus, 1758	4 0	Морфологических отклонений не обнаружено.
<i>Scardinius erythrophthalmus</i> Linnaeus, 1758	26 0	Морфологических отклонений не обнаружено.
<i>Leuciscus cephalus</i> Linnaeus, 1758	39 0	Морфологических отклонений не обнаружено.
Сем. Окуневые (Percidae)		
<i>Stizostedion lucioperca</i> Linnaeus, 1758	637 5	Отсутствие одного глаза; частичная редукция II D плавника; искривление лучей грудных плавников.
<i>Stizostedion volgense</i> Gmelin, 1788	478 14	Отсутствие одного глаза; сращивание жестких лучей в анальном плавнике; прерывание боковой линии с «нахлестом» с одной стороны тела; разветвление лучей в I D плавнике; смещение (сближение) лучей в I D плавнике; частичная редукция II D плавника; искривление лучей грудных плавников; недоразвитие одного брюшного плавника; третья доля семеника; размерная асимметрия гонад.
<i>Perca fluviatilis</i> Linnaeus,	1018	Отсутствие одного глаза; асимметрия крышечной кости

1758	33	(operculum); асимметрия дополнительных лучей на крышечной кости (operculum); прерывание боковой линии с «нахлестом» с одной стороны тела; разветвление лучей в I D плавнике; смещение (сближение) лучей в I D плавнике; частичная редукция II D плавника; сдвигание жестких лучей в анальном плавнике; искривление лучей грудных плавников; недоразвитие одного брюшного плавника; недоразвитие одного грудного плавника; искривление позвоночника; утончение тел позвонков; искривление уrostиля; искривление тычинок на I жаберной дуге; третья доля семенника.
<i>Gymnocephalus cernuus</i> Linnaeus, 1758	1005 14	Раздвоение нижней челюсти; искривление лучей в I D плавнике; частичная редукция II D плавника; отсутствие одной гонады; размерная асимметрия гонад; утончение и срастание тел позвонков; отсутствие одного глаза.
Сем. Щуковые Esocidae		
<i>Esox lucius</i> Linnaeus, 1758	49 0	Морфологических отклонений не обнаружено.
Сем. Балиторы Balitoridae		
<i>Barbatula barbatula</i> Linnaeus, 1758	2 0	Морфологических отклонений не обнаружено.
Сем. Налимовые Lotidae		
<i>Lota lota</i> Linnaeus, 1758	13 0	Морфологических отклонений не обнаружено.
Сем. Сомовые Siluridae		
<i>Silurus glanis</i> Linnaeus, 1758	63 0	Морфологических отклонений не обнаружено.
Сем. Головешковые Eleotrididae		
1	2	3
<i>Perccottus glenii</i> Dybowski, 1877**	9 0	Морфологических отклонений не обнаружено.
Сем. Керчаковые Cottidae		
<i>Cottus gobio</i> Linnaeus, 1758	2 0	Морфологических отклонений не обнаружено.
Сем. Вьюновые Cobitidae		
<i>Cobitis taenia</i> Linnaeus, 1758)	90 0	Морфологических отклонений не обнаружено.
Сем. Сельдевые Clupeidae		
<i>Clupeonella cultriventris caspia</i> Svetovidov, 1914**	561 0	Морфологических отклонений не обнаружено.
Сем. Сиговые Coregonidae		
<i>Coregonus albula</i> Linnaeus, 1758)**	5 0	Морфологических отклонений не обнаружено.
Сем. Иглобые Syngnathidae		
<i>Syngnathus nigrolineatus caspius</i> Eichwald, 1831**	163 0	Морфологических отклонений не обнаружено.
Сем. Бычковые (Gobiidae)		
<i>Neogobius melanostomus</i> Pallas, 1814**	654 1	Отсутствие одного глаза.
<i>Neogobius iljini</i> Vasiljeva et Vasiljev, 1996**	210 0	Морфологических отклонений не обнаружено.
<i>Proterophilus marmoratus</i> Pallas, 1814**	42 0	Морфологических отклонений не обнаружено.
<i>Benthophilus stellatus</i> Sauvage, 1874**	5 0	Морфологических отклонений не обнаружено.
Итого:	8611	125 (1,5%)

* выделено: жирным шрифтом – общее количество обследованных особей; курсивом – количество аномальных особей; ** вид-вселенная

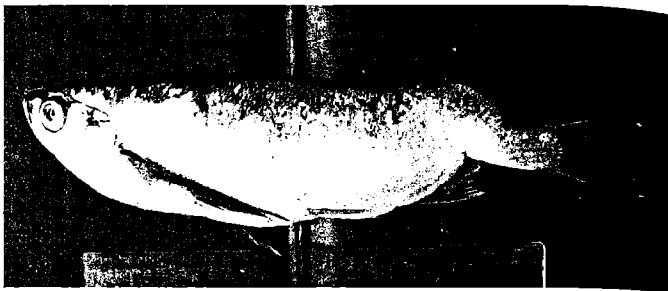


Фото 1. Искривление позвоночника чехони (*Pelecus cultratus* Linnaeus, 1758) «высокой» степени тяжести

Доля аномальных особей у видов-вселенцев составила – 0,1%, такой минимальный показатель еще раз подтверждает высокие адаптивные качества видов-вселенцев, благодаря которым они смогли за последние 30 - 40 лет значительно расширить ареал своего обитания. При этом необходимо отметить, что в период нереста бычок-кругляк (*Neogobius melanostomus* Pallas, 1814) и бычок-головач (*Neogobius iljini* Vasiljeva et Vasiljev, 1996) ведут себя достаточно агрессивно и на их внешних покровах встречаются хорошо заметные покусывы. Единственную обнаруженную аномалию у бычка-кругляка - отсутствие глаза, учитывая характер повреждения, можно приписать либо травме, полученной в результате агрессивного нерестового поведения, либо травме, полученной в результате применения крючковых снастей.

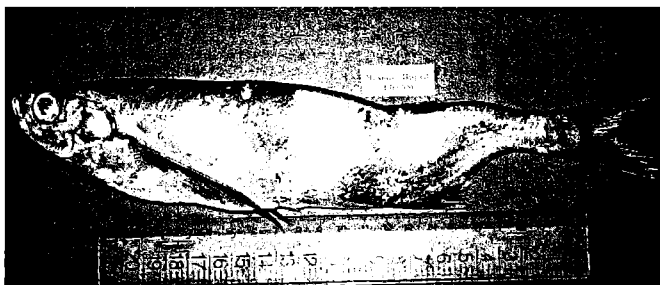


Фото 2. Искривление позвоночника чехони (*Pelecus cultratus* Linnaeus, 1758) «легкой» степени тяжести

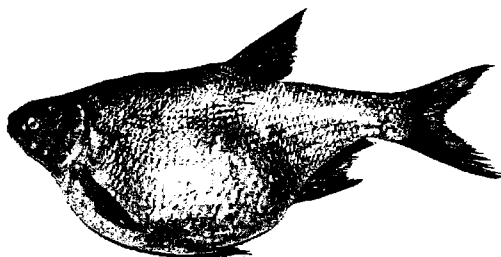


Фото 3. «Бочкообразная» форма тела леща (*Abramis brama* Linnaeus, 1758)

Общая доля аномальных особей в составе ихтиофауны исследованных плесов Куйбышевского водохранилища составляет 1,5%, что несколько ниже аналогичного показателя (4,2%) р. Свияги в пределах административной границы г. Ульяновска (Семенов, 2006).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Причинами вышеописанных морфологических отклонений рыб Центральной части Куйбышевского водохранилища могут быть различные причины, наиболее вероятными из них являются:

1. Воздействие на ранних стадиях онтогенеза физических, химических и биологических факторов мутагенеза, канцерогенеза и тератогенеза;
2. Травматические повреждения;
3. Эволюционный поиск новых морфологических форм.

Подводя итог, необходимо отметить, что на данный исторический момент не стоит безоговорочно связывать все вышеописанные морфологические отклонения только с неблагоприятной экологической обстановкой в бассейне р. Волги, вызванной возрастающей антропогенной нагрузкой. Этот вывод подтверждается тем, что даже в практически идеальных экологических условиях водоемов Сенгилеевского района Ульяновской области - в прудовых хозяйствах - при инкубации икры отмечается большое количество аномалий развития молоди рыб. На основании этого можно сделать вывод, что мониторинг водных экосистем нельзя строить, исключительно полагаясь только на аномалии развития молоди и взрослых особей рыб.

Приведенные материалы могут служить точкой отсчета для дальнейших сравнительных исследований ихтиофауны в постоянно развивающейся и имеющей пророчную тенденцию к ухудшению экосистеме Куйбышевского водохранилища.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Евланов И.А. Оценка состояния пресноводных экосистем по морфологическим аномалиям у личинок рыб: методическое пособие /И.А. Евланов, А.К. Минеев, Г.С. Розенберг. - Тольятти: ИЭВБ РАН, 1999. - 38 с.
2. Котегов Б.Г. Комплексный анализ морфологических отклонений у плотвы *Rutilus rutilus* (L.) из водоемов Удмуртии /Б.Г. Котегов //Вестник Удмуртского университета (экология). - Ижевск: УдГУ, 2001. - №7. - С. 143-151.
3. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб /И. Ф. Правдин. - М.: Пищевая промышленность, 1966. - 320 с.
4. Семенов Д.Ю. Анализ ихтиофауны р. Свияги в пределах административной границы г. Ульяновска /Д.Ю. Семенов //Природа Симбирского Поволжья. Сборник научных трудов. Вып. 7. - Ульяновск: Корпорация технологий продвижения, 2006. - С. 164-172.

MORPHOLOGICAL DEVIATIONS OF FISH OF KUYBYSHEVSKOYE RESERVOIR, THE CENTRAL PART

Semenov D.J.

Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia, perchsdj@list.ru

In the article the descriptions of morphological deviations of fish of Kuybyshevskoye Reservoir, the Central part, are set forth in the form of theses. The peculiarities of occurrence morphological deviations which happen with fish of different ecological groups are revealed. The figures given may serve as a starting point for further comparative research of Kuybyshevskoye Reservoir ichthyofauna.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ КАТЕХОЛАМИНЕРГИЧЕСКИХ ЯДЕР ГИПОТАЛАМУСА ГОРЧАКА *RHODEUS SERICEUS*

Е.В. Сторожева

Институт биологии моря ДВО РАН, Владивосток, Россия

e-mail: storozhevaev@mail.ru

В настоящее время, пристальное нейробиологическое внимание сосредоточено на изучении головного мозга костистых рыб, как эволюционной ветви, имеющей ряд особенностей, не встречающихся больше ни в одной группе филогенетического древа. Одной из наиболее интересных особенностей нейрогенеза костистых рыб является эмбриональная эверсия переднемозгового отдела.

Особый интерес представляет распределение и изучение нейрохимических связей катехоламинергических нейронов в головном мозге, как регуляторов активности его работы.

Катехоламинергические системы гипоталамического комплекса низших позвоночных имеют принципиальные отличия от таковых у млекопитающих и птиц (Smeets, Gonzalez, 2000). Сравнительный анализ катехоламинергических систем мозга низших позвоночных показал, что в перивентрикулярном органе гипоталамуса расположены дофамин и норадреналин содержащие нейроны, однако, до сих пор не ясно, является ли данная область местом синтеза данных катехоламинов, или же это зона их депонирования из других частей мозга. Полученные факты характерны лишь для низших позвоночных: рыб и амфибий, и не встречаются у млекопитающих и птиц. Следовательно, к классическому представлению об эволюции катехоламинергических систем, по мере усложнения организации отделов мозга и появления в них дополнительных клеточных групп у амниот, добавляются новые сведения о том, что мозг низших позвоночных содержит популяции КА клеток, которые у высших позвоночных не играют заметной роли в биосинтезе катехоламинов.

Учитывая особенности организации переднемозгового отдела костистых рыб, ее эволюционную обособленность от других групп позвоночных, ЦНС костистых рыб требует более детального изучения. В особенности это касается структур теленцефалической, преоптической, синэнцефалической и гипоталамической зон. В силу обедненности трактами, перивентрикулярной локализации клеток, наличия слабовыраженных наружных границ, характеристика ядер гипоталамического комплекса в значительной степени затруднена. Этим объясняется существенные разночтения в имеющейся номенклатуре и цитоморфологической характеристике гипоталамического комплекса низших позвоночных (Константинова, 1979). Локализация катехоламинергических нейронов и их морфометрические характеристики представляют интерес, в силу принципиально иного типа организации ЦНС костистых рыб, что налагает существенные отличия на организацию восходящих в переднемозговой отдел систем моноаминергической активации.

Целью настоящего исследования является установление особенностей морфологической и гистохимической организации гипоталамических ядер горчака *Rhodeus sericeus*.

В ходе работы ставили для себя следующие задачи:

- Охарактеризовать особенности цито- и миелоархитектоники гипоталамических ядер.
- Дать характеристику клеточного состава и топографических особенностей гипоталамических ядер.
- Охарактеризовать особенности гистофлюоресценции моноаминергических ядер гипоталамуса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа была проведена на 25 особях горчака *Rhodeus sericeus*. Для выявления морфологической и гистохимической организации гипоталамуса горчака были использованы препараты окрашенные по Нисслию, либо импрегнированные серебром по Кахалю (Меркулов, 1968), а также материал маркированный гистохимически на катехоламины (Буреш и др, 1991) с использованием сахара-фосфатной глиоксиловой кислоты. Препараты просматривали на флюоресцентном микроскопе Polivar (235-250 мм), фотографировали на цифровую камеру Camera Leica.

1. Морфологическая организация гипоталамических ядер.

Гипоталамус является важнейшей структурой промежуточного мозга, участвующей в передаче информации. Совместно с гипофизом образует гипофизарно-гипоталамический тракт. Область гипоталамуса представлена желудочковой системой с располагаемыми в ней скоплениями ядер: перевентрикулярным, диффузным и центральным. Идентификация ядер гипоталамуса проведена в соответствии с номенклатурой Шимизу с соавторами (*Shimizu et al., 1999*).

Ядра гипоталамуса образованы диффузными, перевентрикулярно расположенными клеточными скоплениями низкой плотности распределения, отличающихся по форме и размеру. В составе ядер преобладают нейроны изодендритного типа с телами от округлой до овальной формы. Гипоталамическая область обеднена миелинизированными трактами. Морфологическая организация клеток гипоталамического комплекса указывает на их нейросекреторную специализацию. Ядра гипоталамуса образованы четырьмя морфологическими типами клеток: грушевидные, округлые, а также би- и мультиполярные. Клетки гипоталамических ядер имеют несколько слабоветвящихся дендритов. Для ветвления дендритов характерно, что ветви II и III порядков располагаются перпендикулярно или под углом примерно 60° к плоскости ветви предыдущего порядка. На теле нейрона и по ходу аксонов выявлены варикозные утолщения.

Перевентрикулярное ядро прилегает к третьему желудочку. Диффузное скопление представлено двумя ядрами: *nucleus diffusus lobi inferioris pars lateralis* и *nucleus diffusus lobi inferioris pars medialis*. Данное скопление располагается латерально от полости бокового желудочка. Центральное скопление также состоит из двух ядер: *nucleus centralis lobi inferioris pars anterior* и *nucleus centrales lobi inferioris pars posterior*.

1. *Nucleus centrales lobi inferioris pars posterior* прилежит латерально к мезенцефало-гипоталамическому тракту, расположенному каудо-латеральнее полости III желудочка, и представляет собой небольшое скопление диффузно расположенных нейронов с небольшой плотностью распределения. Большинство клеток (72%) грушевидной формы средним размером 13×7 мкм. При характеристике линейного объема ($C_i = a + b/2$, где a , b - большой и малый диаметр нейронов) были выделены четыре группы клеток. Наиболее многочисленная группа нейронов, составляющая 30,7%, размером 6-9 мкм, остальные группы от 3 до 17 мкм представлены примерно одинаково. (17-25% клеток каждой группы от общего числа нейронов)

Центральное ядро *nucleus centralis lobi inferioris pars anterior* локализовано ростральнее диффузного *nucleus diffusus lobi inferioris pars medialis*. Морфометрические характеристики и форма клеток центрального ядра сильно варьируют. В латеральной и медиальной областях ядра клетки располагаются плотнее, в средней части локализуются диффузно. Ядро представлено грушевидными, округлыми, би- и мультиполярными нейронами. Основную массу составляют грушевидные клетки (57%). По объему клетки можно разделить на четыре типа с разным преобладанием клеток мелкого размера (3-6 мкм). Возможно,

Nucleus diffusus lobi inferioris pars medialis располагается ростральнее. Его ограничивают ветви мезенцефало-гипоталамического тракта. Группа состоит из отдельных скоплений высокой плотности находящихся на небольшом расстоянии друг

от друга. В ядре встречаются четыре вида клеток: грушевидные (27%), округлые (42%), а также би- (27%) и мультиполярные (4%) (рис. 6А). Большинство клеток округлой формы мелкие и среднего размера 3-6 мкм. Между ними видны более крупные грушевидные и мультиполярные клетки. Эти нейроны собраны в группы по 5-7 элементов. Наблюдается тенденция уменьшения количества встречаемых клеток с увеличением их объема. В дорсальной части ядра преобладают крупные мультиполярные нейроны. Дендриты этих клеток образуют разветвленную сеть, которая становится меньше в дорсо-вентральном направлении.

Диффузное ядро *nucleus diffusus lobi inferioris pars lateralis* расположено за полулунным валиком и представлено биполярными и грушевидными клетками практически одинакового размера. Редко встречаются крупные нейроны, собранные в группы по 3-4 элемента. За исключением этих скоплений, остальные клетки располагаются диффузно. Основная масса клеток среднего размера 6-9 мкм. Крупные клетки – до 21 мкм. Плотность распределения клеток незначительна и возрастает в каудальном направлении.

В целом, ядра гипоталамуса представлены крупными скоплениями клеток низкой плотности распределения, различных по форме и размеру.

2. Гистохимические особенности гипоталамического комплекса.

Глиоксидовая кислота является нейрохимическим маркером катехоламинергических нейронов. В настоящее время гистохимическое маркирование используется для идентификации и топографического позиционирования катехоламинергических нейронов в ЦНС позвоночных (*Smeets, Gonzalez, 2000*). В отличие от высших позвоночных (*Sanchez-Camacho et al., 2002*) катехоламинергические группы нейронов костистых рыб и в частности гипоталамического комплекса практически не изучены. Тем не менее, катехоламинергические нейроны промежуточного мозга и гипоталамуса у костистых рыб принимают участие в формировании активирующих переднемозговой отдел катехоламинергических комплексов (*ПоКау, 2004*). С применением иммуноцитохимического маркирования тирозин-гидроксилазы (нейро-химический маркер допамина) доказано, что допаминергические нейроны среднемозговой области, и в частности заднетуберального отдела формируют восходящие тракты, проецирующиеся в вентральную и вентро-медиальную зоны теленцефалона (*Rink, Wullimann, 2001*).

Глиоксидовая кислота в головном мозге горчака *Rhodeus sericeus* маркирует катехоламинергические нейроны преоптической области, гипоталамуса, перивентрикулярные мезенцефалические ядра, заднетуберальную область, ствольные ядра шва, перешейка.

Морфометрическое исследование нейронов маркируемых глиоксидовой кислотой показало, что флюоресцируют не все нейроны гипоталамической области. Из биполярных нейронов, составляющие около 30% всех клеток гипоталамической области глиоксидовая кислота маркирует 12.5%, что является самым низким показателем среди флюоресцентных нейронов. Примерно 60% всех нейронов маркируемых глиоксидовой кислотой, имеют грушевидную форму, остальные 27.5% составляют округлые клетки. Линейный объем маркируемых нейронов колеблется в диапазоне от 5 до 25 мкм, хотя встречаются клетки и меньших (3 мкм) и более крупных размеров (до 40 мкм). Большинство клеток среднего размера 13-16 мкм, но среди них не обнаружены нейроны биполярной формы. Все нейроны гипоталамической области располагаются диффузно. Флюоресценция неоднородная, зеленого цвета, различной интенсивности. По сравнению с округлыми клетками для нейронов грушевидной формы характерна более интенсивная флюоресценция.

В стволовой части мозга обнаружено крупноклеточное скопление катехоламинергических клеток высокой плотности распределения, соответствующее

желе голубоватого места других позвоночных. В подтверждение этого свидетельствуют морфо-топографические, цитоархитектонические и гистохимические критерии. Все нейроны имеют яркую, однородную желтую флюоресценции. Скопление образовано округлыми нейронами линейным объемом 25-40 мкм, что значительно превышает размеры нейронов гипоталамической области.

Иммуноцитохимические исследования, проведенные на полосатом данио (*Rodriguez-Gomes et al., 2000*), а также на аптеронотусе (*Maler et al., 1991*) указывают, что на уровне промежуточного, среднего мозга, ядер шва у этих видов присутствуют серотонинергические и допаминергические нейроны. Таким образом, среди катехоламинергических структур головного мозга горчачка *Rhodeus sericeus* можно с уверенностью говорить о норadrenergической специализации нейронов голубоватого места, однако разделить серотонинергические и допаминергические группы с помощью гистохимической методологии невозможно. По результатам настоящего исследования нейронные скопления гипоталамической области, скорее всего, являются допаминергическими. В доказательство этому свидетельствует два факта. Во-первых, существуют иммуноцитохимические данные о том, что в гипоталамусе присутствуют преимущественно допаминергические нейроны, тогда как серотонинергические популяции представлены в перивентрикулярных областях преоптической области, среднемозгового отдела и ядрах шва (*Maler et al., 1991*). Во-вторых, методами иммунофлюоресценции показано, что в большинстве гипоталамических нейронов присутствует тирозин-гидроксилаза (иммуноцитохимический маркер допамина) (*Rink, Wullman, 2002*).

4. ВЫВОДЫ.

1. Ядра гипоталамуса образованы диффузными, перивентрикулярно расположенными клеточными скоплениями. В составе ядер преобладают нейроны изодендритного типа с телами от округлой до овальной формы. Гипоталамическая область обеднена миелинизированными трактами. Морфологическая организация клеток гипоталамического комплекса указывает на их нейросекреторную специализацию.

2. Ядра гипоталамуса образованы четырьмя морфологическими типами клеток. Преобладающим клеточным типом в центральном ядре являются небольшие грушевидные нейроны. В диффузном ядре чаще всего встречаются мелкие и средние нейроны округлой либо грушевидной формы.

3. Глюкоксиловая кислота в головном мозге горчачка *Rhodeus sericeus* маркирует катехоламинергические нейроны преоптической области, гипоталамуса, перивентрикулярные ядра, заднетуберальную область, ствольные ядра шва, перешейка. В голубоватом месте (*locus coeruleus*) ствола мозга горчачка *Rhodeus sericeus* преобладает желтая флюоресценция. В ядрах гипоталамического комплекса преобладает зеленая гистофлюоресценция катехоламинергических нейронов.

5. Список литературы.

Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведению. М.: Высшая школа. 1991. 400 с.

Константинова М.С. Катехоламинергические нейроны в гипоталамусе круглоротых, рыб, амфибий и рептилий // Катехоламинергические нейроны. М.: Наука. 1979. 35 с.

Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники. Л.: Медицина. 1969. 423 с.

Maler L., Sas E., Johnston S. A., Ellis W. An atlas of the brain of the electric fish *Apteronotus leptohynchus* // J. Chem. Neuroanat. 1991. V. 4. P. 1-38.

Роква М. Ма. Catecholaminergic systems in the zebrafish. II. Projection pathways and pattern of termination of the locus coeruleus // J. Comp. Neurol. 2004. V. 2. P. 256-269.

Sanchez-Camacho C., Man'n O., Lopez J.M., Moreno M., Smeets A.J. Origin and development of descending catecholaminergic pathways to the spinal cord in amphibians // Brain Research Bulletin. 2002. V. 57. P. 325-330.

Shimizu M., Yamamoto N., Yamamoto M., Hironobu I. Fiber connection of the inferior lobe in a percomorph teleost, *Thamnaconus (Navodon) modestus* // Brain Behav Evol. 1999. V. 54. P. 127-146.

Smeets W., Gonzalez A. Catecholamine systems in the brain of vertebrates: new perspectives through a comparative approach // Brain Research Rev. 2000. V. 33. P. 308-379.

Rodriguez- Gomes F.J., Rendon- Unceta C., Sarasquete C., Mimor- Cueto J.A. Localization of tyrosine hydroxylase-immunoreactivity in the brain of the Selegalese sole, *Solea senegalensis* // J. Chem. Neuroanat. 2000. V. 19. P. 17-32.

Rink E., Wullimann M.F. Connections of the ventral telencephalon and tyrosine hydroxylase distribution in the zebrafish brain (*Danio rerio*) lead to identification of an ascending dopaminergic system in a teleost // Brain Research Bulletin. 2002. V. 57. P. 385-387.

Rink E., Wullimann M.F. Development of the catecholaminergic system in the early zebrafish brain: an immunohistochemical study // Devel Brain Res. 2002. V. 137. P. 89-100.

Rink E., Wullimann M.F. The teleostean (zebrafish) dopaminergic system ascending to the subpallium (stiatum) is located in the basal diencephalon (posterior tuberculum) // Brain Research. Interact. 2001. V. 889. P. 316-330.

LOCALIZATION OF CATECHOLAMINERGIC NEURONS IN THE STEAM RAPHI AND DIENCEPHALON OF THE CYPRINIDAE, *RHODEUS SERICEUS*

E.V.Storozheva

The catecholaminergic nuclei in hypothalamus and brain steam were researched in cyprinid teleost *Rhodeus sericeus* with used histochemical method. Hypothalamic nuclei include diffuse cells aggregate, which are occupied periventricular area. The hypothalamic nuclei include fore morphological cells types (small round, large pear-shaped, bipolar and multipolar). In the brain of *Rhodeus sericeus*, glyoxil acid is marked catecholaminergic neurons of preoptic area, hypothalamic area, periventricular mesencephalic nuclei, tuberculum posterior, steam raphi and isthmus nuclei. The yellow color of fluorescence was identified in the locus coeruleus of *Rhodeus sericeus*. The green color of fluorescence was identified in hypothalamic nuclei.

Key words: histochemistry, dopamine, noradrenaline, hypothalamus, locus coeruleus, teleost fishes.

КОМПЛЕКСНЫЙ БИОМОНИТОРИНГ СОСТОЯНИЯ КАМБАЛ И МОЛЛЮСКОВ ИЗ ОХРАНЯЕМЫХ И ЗАГРЯЗНЕННЫХ РАЙОНОВ ЗАЛИВА ПЕТРА ВЕЛИКОГО И БУХТЫ КИЕВКА (ЯПОНСКОЕ МОРЕ)

¹И.Г. Сякина, ²Е.Н. Чернова, ¹В.В. Кумейко, ³Е.В. Табакова, ³Н.Е. Зюмченко,
³Н.А. Швед, ³А.В. Щерблыкниа, ³В.Г. Высоцкая

¹Институт биологии моря имени А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток, Россия

²Тихоокеанский институт географии ДВО РАН, Владивосток, Россия

³Дальневосточный государственный университет, Владивосток, Россия

e-mail: syasina@mail.ru

Исследовали состояние массовых видов камбал рода *Pleuronectes*, моллюсков *Modiolus kurilensis* и *Nucella heuseana* из охраняемых районов (бухты Киевка и Троица и зал. Восток) и загрязненной части Амурского залива (станция Тавричанка). У камбал определяли содержание Cu, Zn, Cd, Fe в печени, частоту встречаемости патологических изменений в жабрах, печени, почках и гонадах. У модиолуса изучали содержание тяжелых металлов в пищеварительной железе, наличие гистопатологических изменений в органах, агглютинирующую активность плазмы. У нуцеллы определяли пол, наличие явления импосекса и морфофункциональное состояние гонад. В работе использовали гистологические методы, реакцию прямой геммагглютинации; концентрации металлов Cu, Zn, Cd, Fe определяли в пламенном анализаторе (воздух-ацетилен) на атомно-абсорбционном спектрофотометре Hitachi 180-70.

Камбалы из охраняемых районов. Гистопатология. В жабрах темной камбалы из б. Троица обнаружены цисты паразитов. Цисты располагались в хрящевой ткани филламентов, были инкапсулированы, их величина достигала 250 мкм, толщина капсулы - 20 мкм. Наличие цист приводило к развитию уродств филламентов. В единичных случаях отмечены простейшие между ламеллами и пролиферация хрящевой ткани у желтополосой камбалы. Состояние печени темных камбал, выловленных в б. Троица, по большинству показателей соответствовало норме. У двух особей отмечалась вакуолизация гепатоцитов, но эти особи находились на преднерестовой стадии, поэтому в печени, вероятно, еще находились запасные вещества, используемые в процессе гаметогенеза. Меланомакрофаговые центры (ММЦ) в печени камбал были единичными и мелкими. Почки и гонады без патологии, признаков паразитизма или инфекции не выявлено.

Состояние печени у камбал из зал. Восток значительно хуже, как у темной камбалы, так и у желтополосой выявлены существенные патологические изменения. Обширная вакуолизация клеток печени отмечена у желтополосой камбалы, при этом в цитоплазме большинства гепатоцитов присутствовали крупные вакуоли с базофильно окрашенным содержимым, в целом сами гепатоциты, их ядра и ядрышки были гипертрофированы. Характер окраски и внутриклеточное расположение включений позволяет предполагать инфицирование вирусами или прокариотами. Другой тип патологии печени выявлен у темной камбалы. Практически все гепатоциты содержали многочисленные пигментированные гранулы, которые можно рассматривать как третичные лизосомы. У камбал из зал. Восток отмечается также увеличение количества и размеров ММЦ в печени. Размеры их достигали (по наибольшей протяженности) от 70 до 156 мкм, площадь до 10270 мкм². Следует отметить, что это изменение в некоторой степени обусловлено более крупными размерами темных камбал из зал. Восток (длина составляла 34±5 см, масса 515±260 г) по сравнению с рыбами из б. Троица (длина - 28±2 см, а масса - 275±98 г). Тем не менее, наличие патологических изменений в печени и других органах камбал из зал. Восток отразилось на величине ММЦ, которые выполняют защитную функцию в организме. Паразитарные инвазии в печени исследованных видов камбал практически не

встречаются. Изменения почечных канальцев отмечены у желтополосой камбалы из зал. Восток, в просветах канальцев присутствовали простейшие, встречаемость паразитизма составила 100%.

В печени темных камбал из б. Киевка обнаружены следующие изменения: у 29% особей отмечена вакуолизация гепатоцитов, у 7% - признаки воспаления, у 11% рыб выявлены локальные очаги некроза. В почках всех камбал присутствовали паразитические простейшие, локализованные в просвете почечных канальцев. Вызываемые ими повреждения незначительны, в почечных канальцах подвергались некрозу отдельные клетки и в редких случаях – сами канальцы. В жабрах выявлены уродства (7%), гиперплазия респираторного эпителия (18%), паразитизм (28%). В гонадах 28% самцов темной камбалы из б. Киевка выявлен некроз семенных канальцев. В патологически измененных канальцах присутствовали гипертрофированные клетки, вероятно сперматоциты, которые разрушались. Вокруг некротических участков наблюдалась воспалительная реакция, иногда сильная. В очагах некроза выявлены признаки бактериальной инфекции. Повреждение канальцев начиналось с поверхности гонады и распространялось от поверхности вглубь, при этом на гонаде формировались перетяжки.

Минеральный состав. Содержание металлов в печени камбал из районов охраняемых акваторий представлено в таблице 1. Наименьшие концентрации цинка, железа и кадмия содержит печень камбал из б. Киевка, наименьшие концентрации меди обнаруживаются в печени камбал из зал. Восток.

Сравнительный анализ концентраций металлов в печени камбал из различных районов зал. Петра Великого показал, что концентрации меди и железа у рыб из охраняемых акваторий выше, чем у рыб из Уссурийского залива (Симоконь, 2003) и сопоставимы по диапозону с данными по Амурскому заливу.

Камбалы из загрязненного района. Гистопатология. В органах полосатой камбалы *Pleuronectes pinnifasciatus* из загрязненного района Амурского залива (станция Тавричанка) выявлены многочисленные патологические изменения. В печени камбал зарегистрированы 8 типов патологических изменений: вакуолизация гепатоцитов (частота встречаемости 96%), некроз гепатоцитов (17%), некроз эпителия желчных протоков (9%), увеличение числа и размеров меланомакрофаговых центров (48%), гиперемия (80%), плеоморфизм ядер гепатоцитов (13%), пикноз ядер гепатоцитов (26%) и отек печени (15%). У 4% особей гонады были сильно редуцированы или полностью отсутствовали (при препарировании гонаду найти не удалось). По внешним признакам особи не отличались от остальных и имели длину тела 20 и 25 см. У одной из особей гонада была очень маленького размера (0.5×0.5 см), что характерно для гипогонадизма. Степень дифференцировки данной гонады была низкой: в центральной части обнаружены сформированные просветы канальцев, к периферии просветы канальцев сужались, а потом и вовсе исчезали. При гистологическом анализе выявлена пролиферация клеток Сертоли, которые выстраивались вдоль стенок семенных канальцев или частично заполняли их просвет. Наряду с гиперплазией клеток Сертоли, отмечалось и их увеличение в объеме (гипертрофия). При сравнении средних значений площади ядер клеток Сертоли в нормальной ($15.64 \pm 3.98 \text{ мкм}^2$) и в аномальной ($20.51 \pm 5.32 \text{ мкм}^2$) гонадах обнаружено статистически достоверное отличие: ядра клеток Сертоли в аномальной гонаде увеличены на 25%.

Модулюс. Гемагглютинация. Агглютинирующая активность (АГА) плазмы гемолимфы модулюсов в отношении интактных (группы крови О, А, В, АВ) и трипсинизированных эритроцитов человека (О_т, А_т, В_т, АВ_т), трипсинизированных эритроцитов барана (АВ_б) сильно варьирует как у отдельных особей с одной и той же станции, так и у особей собранных на трех станциях (б. Троица, зал. Восток и б. Киевка).

Таблица 1. Средние концентрации металлов (мкг/г сух. массы) в печени камбал из охраняемых (б. Троица, зал. Восток, б. Киевка) и других акваторий Приморья

Вид	n	Длина (см) Масса (г)	Zn	Cu	Fe	Cd
Б. Троица						
<i>Pleuronectes obscurus</i>	4	$\frac{28 \pm 2}{275 \pm 98}$	$\frac{169 \pm 59}{121-246}$	$\frac{116 \pm 51}{26-178}$	$\frac{2113 \pm 617}{833-4872}$	$\frac{2.14 \pm 1.09}{0.65-2.17}$
Зал. Восток						
<i>Pleuronectes obscurus</i>	3	$\frac{34 \pm 5}{515 \pm 260}$	$\frac{161 \pm 11}{152-173}$	$\frac{16.3 \pm 15.5^a}{6-34.3}$	$\frac{2513 \pm 390}{2237-2788}$	$\frac{0.94 \pm 0.33}{0.57-1.14}$
Б. Киевка						
<i>Pleuronectes obscurus</i>	21	$\frac{31 \pm 4}{443 \pm 141}$	$\frac{114.3 \pm 2.3^a}{51-175}$	$\frac{86.7 \pm 54.9}{22-221}$	$\frac{998 \pm 575^a}{337-2463}$	$\frac{0.55 \pm 0.17^a}{0.24-0.92}$
Уссурийский залив						
<i>Hipoglossoides herzensteini*</i>	7	$\frac{25 \pm 2}{256 \pm 45}$	38-127	3.05-6.96	244-719	0.67-1.48
Амурский залив						
<i>Liopsetta pinnifasciata*</i>	6	$\frac{24 \pm 2}{231 \pm 36}$	29.5-94	6-75	379-3630	0.18-1.46

Примечание: в числителе – среднее значение±стандартное отклонение; в знаменателе – диапазон.
 0.55 ± 0.17^a – различия достоверны при 99% уровне значимости по отношению к станциям зал. Восток и б. Троица; 16.3 ± 15.5^a – различия достоверны при 99% уровне значимости по отношению к станциям б. Троица и б. Киевка. Данные цитированы по: * Симоков, 2003.

Полученные результаты позволяют заключить, что наибольшей агглютинирующей активностью плазма модиолуса обладает в отношении трипсинизированных эритроцитов человека групп крови О и А, а также трипсинизированных эритроцитов барана. В целом для животных из б. Троица и зал. Восток характерно более высокое содержание агглютининов, в то время как для животных собранных к северо-востоку от мыса Поворотного (станция Киевка) характерно значительное снижение агглютинирующей активности. В некоторых случаях у экземпляров с существенно заниженным титром агглютинации отмечались гистопатологические изменения. В частности, снижение АгА установлено у зеленых модиолусов. Зелеными названы моллюски, у которых ткани внутренних органов были зеленого цвета. Количество таких модиолусов, выловленных в б. Троица, достигло 11%.

Гистопатология. В соединительной ткани мантии, гонады и пищеварительной железы зеленых модиолусов из б. Троица присутствовали многочисленные аномальные клетки, которые располагались группами, часть из них мигрирует в гемальные синусы. Клетки характеризовались округлой формой, размеры составляли от 10 до 20 мкм, ядро базофильно окрашенное, смещено на периферию клетки. В цитоплазме клеток просматриваются многочисленные зеленые включения. Аномальные клетки в тканях моллюска могут быть одноклеточными зелеными водорослями-симбионтами, но, возможно, и инфицированными водорослями гемоцитами. Зеленые модиолусы неоднократно встречались сотрудникам ИБМ ДВО РАН в зал Восток и б. Алексеева (Рыбаков А.В., Ващенко М.А., персональное сообщение), однако водоросли-симбионты не были определены до вида. Принято считать, что водоросли являются симбионтами моллюсков, однако, у исследованных нами зеленых особей мы отмечали низкие значения суммарного показателя гемагглютинации, изменения в гонадах, задержку гаметогенеза и значительную инфильтрацию органов гемоцитами.

Характерной чертой состояния органов модиолусов из б. Киевка является наличие, иногда значительных количеств, желто-коричневого пигмента, вероятно, липофусцина в различных типах клеток. Аномально большие количества желтого пигмента выявлены в половых ацинусах у некоторых особей. Причины данной

патологии пока не ясны. Процессы очищения половой железы не были завершены в срок (к началу новой волны гаметогенеза), поэтому в гонадах с повышенным содержанием пигментов зарегистрировано отставание в развитии и как результат более ранняя стадия, чем у других особей. Такие особи характеризовались высокими значениями концентраций металлов в тканях пищеварительной железы (Zn – 401.7, Cu – 34.29, Fe – 2674.0, Cd – 15.37 мкг/г сух. массы) и очень низкими значениями суммарного показателями гемагглютинации. В жабрах моллюсков из б. Киевка, как и с двух других исследованных районов, присутствовало большое количество простейших, вероятно, инфузории-комменсалы. Считается, что при низкой интенсивности они не вредят моллюскам. При большой численности инфузории затрудняют циркуляцию воды через жабры, работу ресничек, вызывают усиленное слизеотделение и таким образом влияют на дыхание, питание и выживаемость моллюсков.

Минеральный состав. Разброс индивидуальных концентраций металлов в пищеварительной железе модиолусов велик (табл. 2) и составляет от 13 до 54%. Наименьшие значения вариабельности данных (13-26%) имеет выборка модиолусов из зал. Восток, что характеризует эту популяцию как обитающую в стабильных условиях. У модиолусов из зал. Восток выявлены также наименьшие концентрации металлов в пищеварительной железе. Вариабельность концентраций цинка и кадмия у модиолусов из бухт Троица и Киевка составляет от 41 до 54%, что свидетельствует о нестабильном состоянии окружающей среды либо популяции животных, из которых были взяты данные выборки. О-в Рейнеке уже более 20 лет служит фоновой акваторией при изучении микроэлементного состава различных компонентов экосистемы – воды, донных отложений, а также биоты. При сравнении данных по микроэлементному составу модиолусов, полученных нами на охраняемых акваториях и из прибрежных вод о-ва Рейнеке (Подгурская, 2006) показано, что исследованные моллюски содержали в пищеварительной железе в 1.3-3.0 раза более высокие концентрации Cu, Cd, Zn, в 5-10 раз больше Fe. Это связано с тем, что островные акватории и их обитатели обычно имеют более низкие уровни металлов, особенно железа и марганца, поступление которых происходит в большей степени с терригенным стоком. Играет роль и характер субстрата вокруг о. Рейнеке – скальный грунт, и высокие скорости течений вокруг острова, не позволяющие откладываться наилку.

Для оценки общего уровня металлов в пищеварительной железе моллюсков были рассчитаны отношения концентраций металлов в пищеварительной железе в месте обитания к фоновому уровню элементов в этом органе (о. Рейнеке). Сумма этих отношений представляет собой величину общего уровня обогащения металлами пищеварительной железы модиолусов относительно фонового уровня обогащения (табл. 2). Наименьший уровень обогащения пищеварительной железы Zn, Cu, Cd и Fe характерен для модиолусов из б. Троица и зал. Восток, при этом у моллюсков из зал. Восток обогащение металлами наблюдается за счет Fe, высокий уровень которого свидетельствует о близости источника терригенного стока. Из трех исследованных охраняемых акваторий наиболее высокое обогащение металлами пищеварительной железы наблюдается у модиолусов из б. Киевка. В пищеварительной железе этих моллюсков велики концентрации не только железа, но и кадмия, и в целом всех рассматриваемых металлов. Это свидетельствует о наибольшем загрязнении местообитания модиол именно здесь.

Нуделла. *Nucella heyseana* – раздельнополый вид брюхоногих моллюсков. В популяции нуделлы из чистого района в зал. Восток преобладают самки, соотношение количества самок и самцов равняется 1.22, в загрязненной части Амурского залива количество самок уменьшается, кроме того, появляются аномальные самки, у которых формируется пенис. Формирование функционально неактивного пениса у самок раздельнополых видов брюхоногих моллюсков характеризует состояние импосекса и

вызывается воздействием веществ, нарушающих эндокринную регуляцию. К таким веществам относится трибутилолово, которое используется в красках, препятствующих обрастанию судов. Количество импосексуальных самок на двух исследованных станциях в Амурском заливе составило 88% и 44%. Относительная длина пениса у самок достигает 25% от длины пениса у самцов.

Таблица 2. Средние концентрации металлов (мкг/г сух. массы) в пищеварительной железе *Modiolus kurilensis* из охраняемых (б. Троица, зал. Восток, б. Киевка) и других акваторий Приморья

Район сбора	Zn	Cu	Fe	Cd	[Zn]/ [Zn _{фон}]	[Cu]/ [Cu _{фон}]	[Fe]/ [Fe _{фон}]	[Cd]/ [Cd _{фон}]	Сумма отно- шений
Б. Троица, n=18	<u>119</u> 64.5	<u>20.1</u> 3.1	<u>1384^б</u> 363	<u>2.71</u> 1.13					
Зал. Восток, n=19	<u>60.9^а</u> 16.1	<u>15.8^а</u> 2.9	<u>2537</u> 628	<u>1.39^а</u> 0.39	1.38	1.32	10.35	1.39	14.45
Б. Киевка, n=28	<u>134</u> 64.4	<u>29.3</u> 5.6	<u>2428</u> 818	<u>4.89</u> 2.38	3.05	2.44	9.91	4.89	20.29
*О. Рсйнске, фоновая станция (ф)	<u>44</u> 15	<u>12.0</u> 6.2	<u>245</u> 93	<u>1.00</u> 0.60	1.00	1.00	1.00	1.00	4.00
*Б. Десантная, Уссурийского залива	<u>133</u> 19	<u>153</u> 53	<u>535</u> 131	<u>7.40</u> 1.04	3.02	12.75	2.18	7.40	25.36

Примечание: 15.8^а – различия достоверны при 99% уровне значимости по отношению к б. Киевка; 1384^б – различия достоверны при 99% уровне значимости по отношению к зал. Восток. Данные цитированы по: * Подгурская, 2006.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке грантов ДВО РАН 06-1-П11-034, МОН РФ РНП.2.1.1.2641 и CRDF RUXO-003-VL-06.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Подгурская О.В. Механизмы детоксикации тяжелых металлов у моллюсков семейства Mutilidae // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток, 2006. 23с.

Симоконь М.В. Тяжелые металлы в промысловых рыбах залива Петра Великого в связи с условиями обитания // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток, 2003. 23с.

COMPLEX BIOMONITORING OF FLATFISH AND MOLLUSKS STATE FROM PROTECTED AND CONTAMINATED AREAS IN PETER THE GREAT BAY AND KIEVKA BAY (SEA OF JAPAN).

I.G. Syasina, E.N. Chernova, V.V. Kumeiko, E.V. Tabakova, N.E. Zumchenko, N.A. Shved, A.V. Shchablykina, V.G. Vysotskaya

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ ПУТЕЙ ОБРАЗОВАНИЯ ЭНЕРГИИ В УСЛОВИЯХ ПОНИЖЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ КИСЛОРОДА У БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ И ПАЛЕАРКТИЧЕСКИХ АМФИПОД.

М.А. Тимофеев, К.А. Кириченко, В.В. Павличенко, Д.С. Бедулина,
М.В. Протопопова, Ж.М. Шатилина

Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия, mtim@inbox.ru
Байкальский исследовательский центр, Иркутск, Россия

Известно, что адаптации к пониженному содержанию кислорода у разных таксономических групп животных сводятся к изменениям на физиологическом и биохимическом уровнях. Для различных видов характерны отличия в данных механизмах резистентности, а устойчивые виды обладают специальными механизмами (дополнительные биохимические пути энергопродукции, наличие депо запасных веществ и др.) (Озернюк, 1992; Бельченко, 2001).

Процесс анаэробного образования сукцината представлен у многих организмов, наиболее активно данный метаболический путь протекает у адаптированных к пониженным концентрациям кислорода организмов (Scholz, Zerbst-Boroffka, 1998). Процесс анаэробного образования сукцината является более эффективным способом выработки метаболической энергии по сравнению с анаэробным гликолизом и липолизом. Конечным продуктом в этом случае является сукцинат (Dubilier et al., 1997; Маевский и др., 2000). Однако данный процесс слабо изучен у байкальских эндемичных амфипод.

Целью данного исследования было сравнить процесс анаэробного образования сукцината у байкальских эндемичных и палеарктического видов амфипод.

Объектами исследования были выбраны два вида байкальских амфипод *Eulimnogammarus vittatus* (Dyb.), *E. cyaneus* (Dyb.), и представитель палеарктической фауны - *Gammarus lacustris* Sars.

Байкальских амфипод отлавливали в прибрежной зоне озера Байкал в районе пос. Листвянка (Южный Байкал), а так же в районе пос. Большие Коты, *G. lacustris* - в небольшом озере в районе пос. Большие Коты на расстоянии не более 1 км от побережья оз. Байкал. Амфипод содержали раздельно по видам, в аэрируемых аквариумах при температуре 6 - 8 °С. Во всех экспериментах использовали активно плавающих рачков, акклимированных не менее 1 - 2 суток.

В экспериментах рачков содержали в воде с пониженным уровнем кислорода 3-4 мгО₂/л (гипоксия). Рачки контрольной группы находились в условиях постоянной аэрации с уровнем растворенного кислорода 10-12 мгО₂/л (нормоксия). Амфипод экспонировали в гипоксических условиях на периоды от 1 до 6 часов, после чего фиксировали. Дополнительно проводили оценку способности амфипод к утилизации продуктов анаэробного метаболизма. Для этого рачков, предварительно подверженных 6 часовой гипоксии, на 3 часа помещали в нормоксические условия, после чего их фиксировали для дальнейшего анализа.

Определение содержания сукцината в тканях амфипод проводили методом ЯМР-спектроскопии. Методика основана на измерении интегральных интенсивностей сигналов спектров ядерного магнитного резонанса (ЯМР) на ядрах ¹³C образцов анализируемых проб с использованием Фурье-спектрометров ЯМР с высокими магнитными полями, термостатированным датчиком и системой обработки данных. Дифференциальное природное содержание изотопов ¹³C в структурных фрагментах веществ определяется по площадям соответствующих спектральных сигналов в спектре ЯМР.

У *E. vittatus* содержание сукцината в контроле составляет 0,059 (±0,008) мкг/мг сух. в-ва. В течение 1 ч. экспонирования наблюдается 1,5 кратное увеличение содержания сукцината, по сравнению с контролем. После 3-х часового содержания в

условиях пониженной концентрации кислорода отмечен 5 кратный прирост сукцината. 6-ти часовая экспозиция вызывает 8-ми кратное увеличение концентрации сукцината. При возобновлении аэрации уровень сукцината снизился на 25 %, что в 6 раз больше контроля.

Для *E. cyaneus* содержание сукцината в контроле составляет: 0,025 (\pm 0,004) мг/мг сух. в-ва. Один час экспозиции в условиях пониженного содержания кислорода не приводит к достоверному увеличению уровня сукцината (0,040 (\pm 0,011) мг/мг сух. в-ва.). В течение 3 ч. эксперимента отмечается 7 кратное увеличение концентрации сукцината. Шестичасовая экспозиция приводит к 11 кратному увеличению концентрации сукцината. При возобновлении аэрации произошло снижение концентрации сукцината на 45%, которая так же в 6 раз превышает контрольную.

У *G. lacustris* в течение 1 ч. экспонирования отмечается 2-х кратный прирост сукцината, по сравнению с контролем. В течение 3-х часов эксперимента наблюдается 7-ми кратная степень увеличения концентрации сукцината. Шесть часов экспонирования приводит к 12-и кратному увеличению содержания сукцината. При возобновлении аэрации уровень сукцината снижается на 58 %, данный уровень 5-тикратно превышает контроль.

Согласно полученным данным можно констатировать, что для всех исследованных видов характерно наличие сукцината в контрольных условиях. Пониженное содержание кислорода вызывает накопление сукцината у всех исследованных видов. Возобновление аэрации приводит к снижению уровня накопленного сукцината. Степень накопления и метаболической утилизации отличается у исследованных видов.

По степени накопления сукцината исследованные виды можно расположить в следующем порядке - *G. lacustris* - *E. vittatus* - *E. cyaneus*.

Таким образом, у всех исследованных видов происходит активация анаэробного образования сукцината в условиях пониженного содержания кислорода. Для наиболее устойчивого к пониженному содержанию кислорода *G. lacustris* (Тимофеев, 2000; Тимофеев, Кириченко, 2004) характерна большая степень использования эффективного пути образования метаболической энергии в условиях низкого содержания кислорода – процесса анаэробного образования сукцината. Для менее устойчивых к действию пониженного содержания кислорода байкальских видов (Тимофеев, 2000; Тимофеев, Кириченко, 2004) показана меньшая степень подключения процесса анаэробного образования сукцината.

Работа поддержана грантами РФФИ: 06-04-48099-а, 05-04-97263-р, 05-04-97239-р.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бельченко Л.А. Адаптация человека и животных к гипоксии разного происхождения // Соросовский образовательный журнал. 2001. №7. - С. 33-39.
- Анаэробное образование сукцината и облегчение его окисления – возможные механизмы адаптации клетки к кислородному голоданию / Е.И. Маевский, Е.В. Гришина, А.С. Розенфельд и др. // Российский биомедицинский журнал. 2000. С.32-36.
- Озернюк Н.Д. Механизмы адаптации. – М.: Наука, 1992. – 272 с.
- Тимофеев М.А. Сравнительная оценка отношения байкальских гаммарид и голярктического *Gammarus lacustris* к абиотическим факторам / Дис. ... канд. биол. наук. Иркутск. 2000. – 139 с.
- Тимофеев М. А., Кириченко К. А. Экспериментальная оценка роли абиотических факторов в ограничении распространения эндемиков за пределы озера Байкал на примере амфипод // Сибирский экологический журнал. – 2004. - № 1. – С. 41–50.
- Ultrastructure and anaerobic metabolism of mitochondria in the marine oligochaete *Tubificoides benedii*: Effects of hypoxia and sulfide / N. Dubilier, R. Windoffer, M.K. Grieshaber et al. // Marine Biology. – 1997. - V. 127, - I. 4. – P. 637 – 645.

**ALTERNATIVE PATHWAYS OF GENERATION ENERGY ARE INDUCED BY THE
CONDITION OF LOW LEVEL OF OXYGEN IN BAIKALIAN ENDEMIC AND
PALEARCTIC AMPHIPODS.**

**M.A. Timofeyev, K.A. Kirichenko, V.V. Pavlichenko, D.S. Bedulina, M.V. Protopopova,
Z.M. Shatilina.**

Anaerobic formation of succinic acid is presented at many organisms, most actively this metabolic way is presented at organisms adapted to the low level of oxygen. The aim of the given research was to compare process anaerobic formations of succinic acid at Baikalian endemic and Palearctic species of amphipods. Two species of Baikalian amphipods *Eulimnogammarus vittatus* (Dyb.), *E. cyaneus* (Dyb.), and one Palearctic species - *Gammarus lacustris* Sars were investigated. The lowered contents of oxygen causes accumulation of succinic acid in all investigated species. Renewal of aeration leads to decrease of level of succinic acid. The level of accumulation and metabolic recycling differs at the investigated species. For the steadiest to the lowered contents of oxygen *G. lacustris* the greater level of use of an effective way of generation of metabolic energy in conditions of the low contents of oxygen - process anaerobic formations succinic acid is shown. For less steady to action of the lowered contents of oxygen of the Baikal species the smaller level of process anaerobic formations succinic acid is shown.

ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ МОЛОДИ ОСЕТРОВЫХ ПРИ ИНТЕНСИВНОМ ВЫРАЩИВАНИИ

Федосеева Е.А., Касаева С.Ю., Астафьева С.С.

ФГУП НПЦ по осетроводству «БИОС»

ул. Володарского 14а, г. Астрахань 414000, Россия,

E-mail: bios94@mail.ru

Актуальной проблемой товарного осетроводства, которое в последние годы вызывает повышенный интерес во всем мире, является получение жизнеспособной молоди для товарного выращивания и ее адаптация к искусственным условиям содержания. Сегодня наиболее перспективными считаются интенсивные методы выращивания, которые позволяют значительно повысить выход товарной продукции с единицы площади, дают возможность контроля и управления качеством среды и кормов, режимом кормления. Однако, высокие плотности посадки, кормление неизбежно ведут к существенному изменению условий выращивания, увеличению стрессовых нагрузок на организм рыб и, как следствие, ухудшению физиологического состояния.

Необходимым условием успешного ведения интенсивного осетроводства является тщательный контроль за состоянием рыб. Одними из основных показателей, характеризующих физиологическое состояние рыб, являются показатели крови.

Целью данной работы являлась физиологическая оценка молоди осетровых при интенсивной технологии выращивания.

Объектами выращивания являлись белуга, бестер бурцевской породы, гибриды «русский осетр♀ x сибирский осетр♂» и «стерлядь♀ x белуга♂» и возвратный гибрид «бестер♀ x белуга♂». Материалом для исследований служила молодь средней массой тела 30 г.

Молодь осетровых выращивали в бассейнах на прямоточном режиме водоснабжения, при интенсивном кормлении гранкормами. Температурный режим воды изменялся от 14,5⁰С в мае до 24,5⁰С в июле. Содержание кислорода в воде было на уровне 9,2-8,0 мг/л и снижалось в период высоких температур до 7,4 мг/л.

Показатели активной реакции среды, содержания углекислоты, фосфора и азота в воде находились в пределах технологической нормы.

Взятие крови для исследований осуществляли у 10-граммовой молоди отсечением хвостового стебля, у 30- граммовой – прижизненно путем пункции хвостовой вены. Подсчет форменных элементов крови выполняли унифицированным методом в счетной камере Горяева [1]. Содержание гемоглобина определяли по общепринятой методике [2]. Идентификацию форменных элементов крови проводили по общепринятой классификации [1, 3]. Все исследования осуществляли в производственных условиях, все технологические операции соответствовали нормативам.

Кровь является одной из самых динамичных систем организма, через нее осуществляется питание и дыхание всех органов, снабжение их гормонами, ферментами, витаминами, и другими гуморальными веществами, без которых не возможно нормальное функционирование организма [4]. Главным звеном в обеспечении организма кислородом является гемоглобин крови. Высокое содержание гемоглобина способно обеспечить более высокую интенсивность обмена, с одной стороны, и более широкие приспособительные возможности для выживания в неблагоприятных условиях – с другой [4].

Количество гемоглобина в крови рыбы определяется ее видом, возрастом, активностью питания и другими физиологическими функциями организма. С возрастом содержание гемоглобина в крови увеличивается, что хорошо видно из

таблицы 1. Более низкие показатели гемоглобина у белуги и гибрида «бестер х белуга», объясняются видовой особенностью белуги.

Таблица 1. Гематологические показатели молоди осетровых

Масса рыб	Виды и гибриды	Показатели		
		Hb, г/л	Eг, 10 ¹² /л	Hb/Eг, пкг
10 г	Белуга	40,0 ± 4,04	0,5 ± 0,05	86,8 ± 9,55
	бестер	44,9 ± 3,35	0,7 ± 0,06	71,5 ± 7,51
	«стерлядь х белуга»	49,8 ± 1,90	1,0 ± 0,05	49,1 ± 3,23
	«бестер х белуга»	39,9 ± 1,27	0,6 ± 0,08	71,6 ± 6,42
	«русский осетр х сибирский осетр»	34,8 ± 2,52	0,7 ± 0,09	57,7 ± 6,24
30 г	Белуга	49,7 ± 2,27	0,4 ± 0,07	123,8 ± 11,42
	бестер	74,1 ± 6,11	0,7 ± 0,03	115,3 ± 13,75
	«стерлядь х белуга»	67,0 ± 5,81	0,8 ± 0,06	89,8 ± 9,29
	«бестер х белуга»	66,2 ± 3,55	0,8 ± 0,12	93,6 ± 10,24
	«русский осетр х сибирский осетр»	51,8 ± 2,57	0,9 ± 0,07	63,2 ± 4,43

У гибридов «бестер х белуга» и «русский осетр х сибирский осетр» гемоглобин повышался в основном за счет увеличения количества эритроцитов, тогда как у белуги, бестера и гибридов «стерлядь х белуга» и увеличение гемоглобина происходило в основном за счет насыщения гемоглобином самих эритроцитов. Следует отметить, что у гибрида «стерлядь х белуга» происходило снижение количества эритроцитов в крови за счет уменьшения процентного содержания молодых форм.

На окрашенных мазках крови белуги и гибрида «бестер х белуга» было отмечено присутствие ядерных теней, являющихся результатом полного разрушения эритроцитов прямо в токе крови. При распаде эритроцитов выделяются продукты, стимулирующие эритропоэз, что объясняет наличие в данных мазках большого количества молодых эритроцитов. Согласно мнению Л.Д. Житеневой [3, 4], эта ситуация сигнализирует о неблагоприятных условиях окружающей среды. Однако подобная картина наблюдалась не у всех групп исследуемых рыб. Более логично было предположить о наличии у белуги и гибрида «бестер х белуга» какого-либо заболевания, поскольку в этот период у особей данных групп рыб наблюдалось покраснение брюшных жучек и некроз плавников, также была сильно снижена пищевая активность. Тогда как у бестера и гибрида «стерлядь х белуга» в это время каких-либо видимых изменений не отмечалось – рыба была активна и хорошо поедала корм.

У некоторых рыб во всех исследуемых группах, выращиваемых в традиционных сроки, наблюдали пойкилоцитоз – изменение формы эритроцитов. Считается, что подобные явления происходят под влиянием каких-либо вредных факторов, влияющих на кроветворный орган: химических веществ, микробов, вирусов, либо при кормлении рыб несбалансированными кормами [5], что в нашем случае более вероятно.

У белуги и гибрида «бестер х белуга» также был отмечен анизоцитоз, характеризующийся разноразмерностью эритроцитов. При этом явлении на мазках встречаются эритроциты нормальной величины, клетки с уменьшенным диаметром и

клетки большого размера. Считается, что это явление связано с кислородной недостаточностью или анемией [4]. Однако в нашем случае оба этих фактора отсутствовали. Возможно, в нашей ситуации, это объясняется более низким иммунным статусом белуги и гибрида «бестер х белуга», что в дальнейшем можно будет подтвердить или опровергнуть после окончательной обработки полученного материала.

Следует также отметить, что при окрашивании мазков в 40% случаев отмечали изменение окраски эритроцитов, что связано с изменением pH внутриклеточной жидкости. Это является неблагоприятным прогностическим признаком и свидетельствует о прогрессировании патологических процессов в организме рыб.

Белая кровь более сложна по своему строению. Формы лейкоцитов очень разнообразны, и до сегодняшнего дня нет единой общепринятой классификации. Расходятся мнения и о функциях форменных элементов белой крови [1, 4, 5]. Эти обстоятельства затрудняют исследования полученных материалов.

Лейкоцитарная формула очень динамична, и изменение белых клеток в лейкограмме зависит от характера питания, активности движения, температурных и гидрохимических показателей воды. Любое ухудшение условий выращивания сопровождается увеличением процентного содержания нейтрофилов, эозинофилов, моноцитов.

Процентное соотношение разных типов лейкоцитов в крови (лейкоцитарную формулу) используют не только для диагностики различных заболеваний, но и для оценки общего физиологического состояния рыбы. При изучении картины белой крови 10-граммовой молодежи осетровых были получены следующие результаты (табл. 2).

Таблица 2. Показатели белой крови 10-граммовой молодежи осетровых

Виды и гибриды	ПЯН	СЯН	Эозинофилы	Моноциты	Лимфоциты
Белуга	15,00 ± 1,08	8,50 ± 1,26	21,75 ± 2,72	-	53,50 ± 2,66
бестер	8,80 ± 0,73	9,08 ± 1,01	9,40 ± 0,62	-	72,85 ± 2,22
«стерлядь х белуга»	7,67 ± 2,40	8,00 ± 1,00	7,97 ± 0,88	0,40 ± 0,01	76,67 ± 2,96
«бестер х белуга»	20,33 ± 2,13	13,30 ± 1,20	15,67 ± 3,71	1,50 ± 0,25	47,00 ± 4,04
«русский осетр х сибирский осетр»	10,20 ± 1,58	13,46 ± 3,24	6,19 ± 1,51	1,01 ± 0,09	69,34 ± 5,34

Самую многочисленную фракцию (40-80%) представляли лимфоциты, которым принадлежит существенная роль в реализации иммунологических реакций организма. В норме количество лимфоцитов в периферическом русле составляет 60-90% от общего количества клеток белой крови [1, 4]. Таким образом, можно отметить, что у белуги и гибрида «бестер х белуга» наблюдалась лимфопения. У этих групп рыб происходил сдвиг в лейкоцитарной формуле в сторону увеличения процентного содержания эозинофилов и нейтрофилов. Подобное перераспределение лейкоцитов свидетельствует о неблагоприятном физиологическом состоянии [6].

При изучении картины белой крови 30-граммовой молодежи осетровых было отмечено, что изменения в лейкоцитарной формуле происходили за счет увеличения эозинофилов (табл. 3). Это может свидетельствовать о развитии вторичного иммунодефицита, связанного с частыми сортировками, проводимыми в период оптимальных температур воды. Впоследствии, данный процесс усиливается при повышении температур воды, поскольку период адаптации от единичного стресса может длиться 15-30 дней [7].

Таким образом, определено, что при интенсивных условиях выращивания происходит изменение качественного и количественного состава форменных

элементов крови. Наблюдается лимфопения и эозинофилия, связанные со снижением иммунного статуса, вызванным частым хендлингом и высокими температурами воды.

Таблица 3. Показатели белой крови 30-граммовой молоди осетровых

Виды и гибриды	ПЯН	СЯН	Эозинофилы	Моноциты	Лимфоциты
Белуга	10,50 ± 0,48	8,50 ± 1,26	27,00 ± 1,02	1,5 ± 0,25	52,50 ± 0,50
бестер	12,00 ± 1,47	8,25 ± 1,97	9,75 ± 1,02	-	71,25 ± 1,89
«стерлядь х белуга»	11,40 ± 1,33	7,40 ± 0,80	11,20 ± 1,46	-	71,00 ± 1,87
«бестер х белуга»	20,00 ± 1,78	13,50 ± 2,72	20,50 ± 3,84	-	46,00 ± 3,79
«русский осетр х сибирский осетр»	14,09 ± 2,00	4,45 ± 0,77	20,75 ± 2,92	2,09 ± 0,39	61,00 ± 4,54

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб (сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб). – М.: «Легкая и пищевая промышленность», 1983. – 184 с.
2. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследований в клинике. – М.: Медицина, 1987. – 365 с.
3. Житенева Л.Д., Полтавцева Т.Г., Рудницкая О.А. Атлас нормальных патологических измененных клеток крови рыб. Ростов-на-Дону: Кн. Изд-во, 1989. 112 с.
4. Житенева Л.Д. Экологические закономерности ихтиогематологии. – Ростов-на-Дону, 1999. – 54 с.
5. Житенева Л.Д., Макаров Э.В., Рудницкая О.А. Основы ихтиогематологии (в сравнительном аспекте). – Ростов-на-Дону, 2004. – 312 с.
6. Головина Н.А. Морфофункциональная характеристика крови рыб – объектов аквакультуры: автореф. ... док. биол. наук. – Москва, 1996. – 56 с.
7. Касаева С.Ю., Письменная О.А., Савенкова Е.Н., Дегтярев А.Н. Основные периоды иммунокоррекции молоди гибрида «русский осетр х сибирский осетр» ранних сроков получения на первом году жизни // Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития: Мат-лы докл. IV Междунар. науч.-прктич. конф., 13-15 марта 2006 г., Астрахань. – М.: Издательство ВНИРО, 2006. – С. 247-251.

ASSESSMENT OF JUVENILE STURGEON PHYSIOLOGICAL CONDITION UNDER INTENSIVE REARING

Fedoseeva E.A., Kasaeva S.Yu., Astafyeva S.S.

The assessment of juvenile sturgeon physiological condition under intensive rearing based on hematologic indices is given in the article. It has been determined that intensive rearing conditions cause changes in qualitative and quantitative composition of blood corpuscles. Lymphopenia and eosinophilia specific to immune status reduction caused by frequent handling and high water temperatures are observed.

ВЫЖИВАЕМОСТЬ ЭМБРИОНОВ ДАНИО-РЕРИО BRACHIODANIO RERIO ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ НИЛИ В РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМАХ. РЕЗОНАНСНАЯ МОДЕЛЬ

Фельдман М.Г., Бородин А.Л., Никифоров-Никишин А.Л., Пономарев А.К.
Московский государственный университет технологий и управления
г. Москва, Россия, e-mail: msuttm@inbox.ru

ВВЕДЕНИЕ

Использование низкоинтенсивного лазерного инфракрасного излучения (НИЛИ) можно использовать для стимуляции выживаемости эмбрионов рыб и других гидробионтов. Импульсного режима НИЛИ позволяет создать более эффективные и оптимальные условия для лазерного воздействия, по сравнению с непрерывным излучением, за счет высокой концентрации световой энергии в импульсе и возможности добиться хорошего стимулирующего эффекта при меньших дозах и более кратковременным воздействием на организм. Частотная характеристика НИЛИ важна по двум основным причинам. Во-первых посредством подбора необходимой частоты можно регулировать величину средней выходной мощности лазерного излучения, а через нее и дозу воздействия. Во-вторых, частота излучения (особенно в области относительно небольших частот от 1 до 500 Гц) может оказаться резонансной к частотам тех или иных изменений функциональной активности структур или процессов в организме.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА.

В данной работе рассматривается выживаемость эмбрионов данио-рерио *Brachiodanio rerio*, облученных низкоинтенсивным инфракрасным лазером с вариациями дозы и частоты. Эксперимент проводился по стандартной методике для эмбрионов и личинок рыб. При реализации этого метода после воздействия низкоинтенсивного инфракрасного лазерного излучения контролируются эмбриональное развитие рыб, выклев свободных эмбрионов (предличинок) и выживаемость предличинок после выклева. Каждая группа (контроль и опыт) исследовалась с трехкратной повторностью по 10 оплодотворенных эмбрионов в повторности. Испытания проводились в чашках Петри (одна повторность в чашке). Икринки помещались в отстоянную водопроводную воду. Температура водной среды составляла 27 ± 1 °С, как наиболее оптимальная для развития эмбрионов (Плонский, 2000). Чашки Петри помещались в термостат, поддерживающий постоянную температуру.

Выжившими считались те личинки, которые было способны нормально плавать и переходили на активное питание (примерно через 48 часов после выклева). Нормальными считались те личинки, которые не имели морфологических отклонений.

Оплодотворенная и нормально развивающаяся икра облучалась однократно на стадии гастрюлы. Длина волны инфракрасного лазерного излучения арсенид-галлиевого диода 890 нм.

Объекты каждой опытной группы помещались в специальную колбу, плотно прикрепляющуюся и полностью накрывающуюся излучателем ЛО-2. Расстояние от объектов до излучающего светодиода составляло около 5 мм. Уровень воды в колбе составлял 2 мм. Таким образом, объекты размещались по всей поверхности облучения относительно плотно, что позволяло свести к минимуму потери энергии.

Для оценки воздействия низкоэнергетического инфракрасного излучения на выживаемость объектов был выбран двухфакторный дисперсионный анализ с повторениями. При разработке модели, описывающей закономерности воздействия низкоинтенсивного инфракрасного лазерного излучения с вариациями энергии и частоты импульса на выживаемость эмбрионов данио проводился нелинейный регрессионный анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В ходе исследования выяснилось, что выклев эмбрионов в контрольной группе составил в среднем 70%, в опытных результат сильно различался. Выклев эмбрионов в среднем по каждой из опытных групп составил в процентах от посадки (табл. 1)

Таблица 1. Вывиасмость эмбрионов данно-рерно в опытных группах и контроле.

Частота, Гц		150 Гц	300 Гц	450 Гц	600 Гц	1200 Гц	Контроль
Доза, мДж	0,0144	6	4	6	6	5	7
		6	4	6	6	4	6
		7	5	5	5	5	8
	0,009	6	5	5	7	6	-
		6	4	6	6	6	-
		6	3	6	5	5	-
	0,006	9	9	10	9	9	-
		8	9	9	10	9	-
		8	10	9	9	10	-

Заметно, что эффект зависит как от дозы, так и от частоты импульса. Результаты дисперсионного анализа свидетельствуют о значимости факторов дозы и частоты импульсов, а также их взаимодействии (табл. 2).

Таблица 2. Значимость факторов дозы и частоты импульсов излучения ($F > F_{крит.}$).

Источник вариации	SS	df	MS	F	P-Значение	F критическое
Доза	139,51	2	69,75	174,38	$3,03 \cdot 10^{-17}$	3,32
Частота	7,42	4	1,85	4,63	0,005	2,69
Взаимодействие	11,37	8	1,42	3,55	0,005	2,27

Наблюдаются как положительные (стимулирующие) так и отрицательные уровни воздействия дозы и частоты импульсов.

Для описания кривых зависимостей выживаемости эмбрионов от энергии воздействия и частоты импульсов нами предлагается модель, объединяющая эти факторы. Она являющаяся совокупностью зависимостей резонанса амплитуды частоты импульсов излучения и логистической кривой – зависимости эффекта от средней мощности импульсного излучения. Иными словами суммарный эффект воздействия излучения будет равен сумме эффектов от частоты импульсов и дозы. Используя эту модель, мы провели регрессионный анализ методом наименьших квадратов. Результаты показаны на рисунках 1-3.

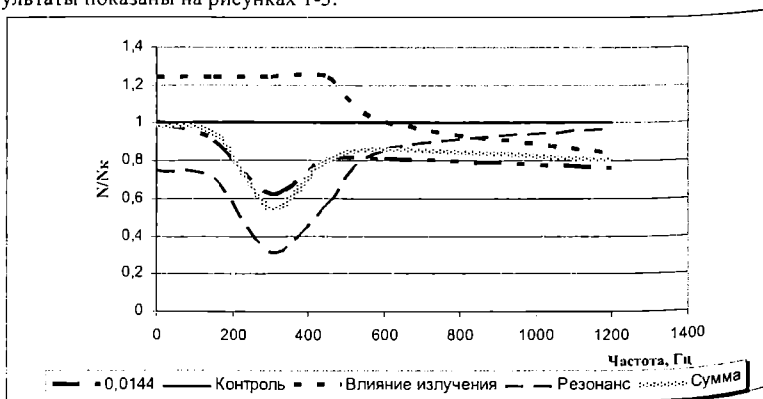


Рис. 1. Доза 0,014 Дж. Численность выживших эмбрионов по отношению к контролю в зависимости от частоты воздействия (S кв. откл. модельной кривой от эмпирических данных =0,011)

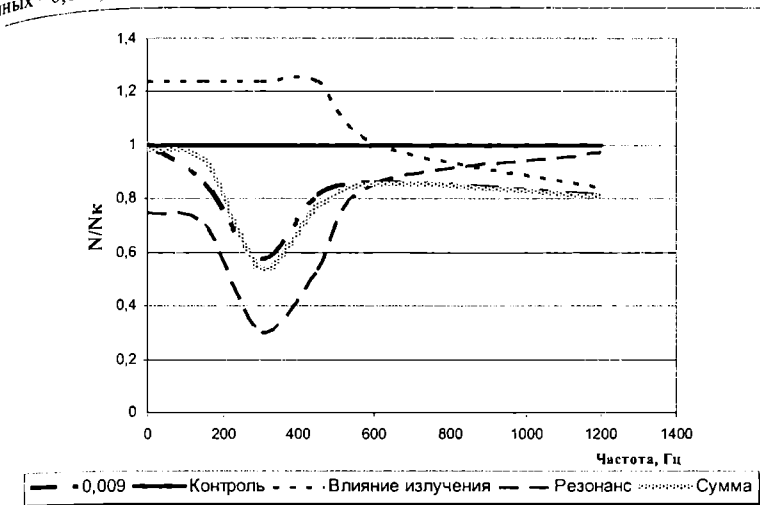


Рис. 2. Доза 0,009 Дж. Численность выживших эмбрионов по отношению к контролю в зависимости от частоты воздействия (S кв. откл. модельной кривой от эмпирических данных =0,008)

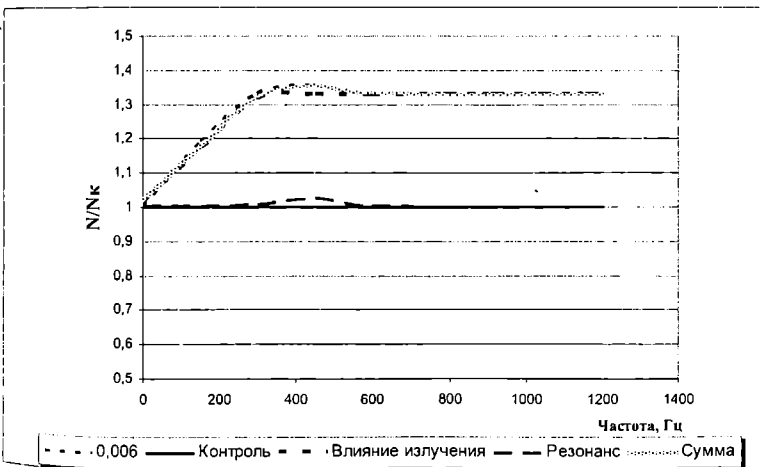


Рис. 3. Доза 0,006 Дж. Численность выживших эмбрионов по отношению к контролю в зависимости от частоты воздействия (S кв. откл. модельной кривой от эмпирических данных =0,0003)

На промежутке частот от 300-600 Гц частота импульсного воздействия играет замстную роль. Так при дозах 0,014 и 0,009 Дж наблюдается наиболее низкая выживаемость эмбрионов. Однако при дозе 0,006 обратный эффект -- наиболее высокая выживаемость. Это подтверждает предположение, что зависимость выживаемости

эмбрионов от частоты импульсного воздействия имеет резонансный вид. На высоких уровнях энергии (дозах) резонанс наиболее сильный и оказывает отрицательный эффект, т.е. разрушает зависящие от него биологические структуры. На низком уровне (0,006) резонанс слабый и основной положительный эффект увеличения выживаемости оказывает доза (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Предложенная модель воздействия НИЛИ на эмбрионы рыб, и если смотреть шире вообще на биологические системы разных уровней организации может быть полезна при выборе оптимальной дозы и частоты воздействия. Можно также имея фактические данные по одним частотам (или дозам) воздействия предсказывать какие последствия будут при других. Вполне вероятно предположить, что один и тот же организм может иметь несколько резонансных частот, причем, чем выше собственная частота осциллятора, тем меньше его размер и тем больше появится самих осцилляторов действующих как положительно, так и отрицательно на развитие организма. Поскольку положительный эффект должен будет скрадываться, и тем больше, чем выше частота импульса. Таким образом, на роль вероятного осциллятора претендуют сравнительно крупные объекты, это могут быть:

- сам организм в целом,
- биологические жидкости,
- надмолекулярные комплексы,
- клеточные органеллы,
- биологические мембраны и клеточные стенки.

Причем первые два варианта для мелких организмов можно считать тождественными, так как жидкость является основным компонентом любого живого существа. Для организмов, обитающих в водной среде, этот факт является особенно существенным. Можно предположить, что облучение только лишь одной во определенной частоте, сделает ее наиболее оптимальной для выращивания гидробионтов.

Рассматривая другие варианты, следует выделить те клеточные компоненты которых зависит клеточный рост и пролиферация. Из клеточных органелл это могут быть ядро и митохондрии, а также хлоропласты у растений или их мембраны. С другой стороны все эти органеллы имеют важный отличительный признак – все они содержат молекулы ДНК. Таким образом, ДНК как крупный надмолекулярный комплекс выступает и акцептором излучения, так и его резонатором.

Также вероятно и то, что НИЛИ оказывает воздействие на несколько вышеречисленных объектов. И тогда резонансной частотой будет являться суперпозиция нескольких различных резонансных частот.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение хочется отметить, что вскрытые в работе закономерности воздействия низкоинтенсивного инфракрасного лазерного излучения на гидробионтов могут найти практическое применение в области культивирования водных организмов. Использование низкоинтенсивной лазерной стимуляции в рыбоводстве, согласно полученным данным, может значительно повысить продуктивность их икры и выживаемость рыб в процессе эмбрионального развития.

ВЫВОДЫ

Низкоинтенсивное инфракрасное лазерное излучение (НИЛИ) в импульсном режиме оказывает как положительное, так и отрицательное воздействие в зависимости от дозы и частоты импульсов.

Предложена модель, описывающая эффект стимуляции с помощью двух составляющих лазерного воздействия: частоты импульса и энергии инфракрасного света.

С помощью предложенной модели можно объяснить сходный эффект от воздействия низкоинтенсивного импульсного излучения на разных длинах световых волн; предсказать на основе экспериментов оптимальные параметры воздействия.

ВЛИЯНИЕ КОРТИКОСТЕРОИДА ДЕКСАМЕТАЗОНА И ХЕНДЛИНГА НА АКТИВНОСТЬ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ И СОДЕРЖАНИЕ ВОДОРАСТВОРИМОГО БЕЛКА В МОЗГЕ СТЕРЛЯДИ *ACIPENSER RUTHENUS LINNEAUS*.

Чуйко Г.М., Подгорная В.А., Микряков Д.В., Микряков В.Р.

Институт биологии внутренних вод им. И.Д.Папанина РАН, п. Борок Ярославской обл.
E-mail: gko@ibiv.voroslavl.ru

Исследовано действие хендлинга и инъекции дексаметазона – синтетического аналога кортикостероидного гормона кортизола, в дозе 0,2 мл или 0,8 мг активного вещества на особь на активность холинэстеразы (ХЭ) и содержание водорастворимых белков (ВРБ) в мозге стерляди (*Acipenser ruthenus* Linnaeus) в течение 21-суточного эксперимента. Установлено, что оба фактора оказывают однонаправленное действие на исследованные показатели, повышая их значения. Однако динамика обоих процессов различна: изменения активности ХЭ и содержания ВРБ под действием дексаметазона наступают быстрее и имеют более выраженный и пролонгированный характер, чем при хендлинге. Выявленные изменения являются частью стресс-ответа рыб на действие исследованных факторов.

ВВЕДЕНИЕ

Млекопитающие при действии любого внешнего фактора демонстрируют общую группу независимых от вызвавших их факторов стереотипных физиологических реакций, которые обозначаются, как «общий адаптационный синдром» (ОАС) или стресс (Селье, 1960). В общих чертах изменения, происходящие в организме при стрессе, заключаются в быстром увеличении содержания катехоламинов (адреналина и норадреналина), действие которых мобилизуют трансформацию мышечного гликогена в глюкозу крови, повышает кровяное давление и подготавливает организм к так называемой реакции «бороться или убежать». Если стрессорные условия сохраняются, то из коры надпочечников высвобождается кортикостероидный гормон кортизол, который поддерживает изменения, обусловленные катехоламинами, стимулирует трансформацию протеинов из тканей в аминокислоты плазмы, а также вызывает целый ряд других физиологических реакций. Обычно, гормональные изменения в организме при стрессе относят к первичной стресс-реакции, а остальные физиологические ответы – к вторичной.

Первичный стресс-ответ у млекопитающих включает одновременную активацию многих нейромедиаторных систем, и, в том числе, адренергические и холинергические структуры в нервной системе (Денисенко, 1973; Панин, 1983; Федоров, 1991). Отмечено, что при возникновении стрессов холинергической системе головного мозга принадлежит триггерная роль. В этой связи ацетилхолин рассматривается в качестве центрального нейромедиатора, выделяющегося в больших количествах в структурах ЦНС и запускающего процесс, вызванный стрессорными раздражителями. Холинергическая система активирует центры симпатической нервной системы, запуская симпато-адреналовый комплекс и индуцируя выброс катехоламинов из хромаффинной ткани коры надпочечников. При естественном течении стрессорной реакции холинергическая система активирует адренергическую (Панин, 1983; Федоров, 1991; Копеска, 1992). Повышение активности холинергической системы головного мозга наблюдаются уже в первые секунды стресса. В частности повышается активность ацетилхолинэстеразы (АХЭ) в мозге, однако количественные изменения в различных его отделах и структурах не одинаковы и в значительной степени зависят от характера воздействия (Фурундай, 1986). Холинергические структуры могут быть активированы напрямую (Копеска, 1992) или их активация может быть индуцирована адреналином (Сибуль, 1966; Маслова, Резник 1971; Алексидзе, Балавадзе, 1977).

У рыб стресс протекает в целом по сходному типу, что и у млекопитающих (Ведемейер и др., 1981; Thomas, 1990). Активация холинергических структур, как следует из увеличения активности АХЭ в мозге, была показано при действии

стрессоров различной природы. Установлено также, что аналогичный ответ может индуцирован экзогенным адреналином и у млекопитающих (Маслова, Резник 1971; Алексидзе, Балавадзе, 1977), и у рыб (Pavlov et al., 1994). Однако до сих пор неизвестно о влиянии кортикостероидов, и в частности, кортизола, на активность холинэргической системы в мозге рыб.

Данная работа предпринята с целью ответа на этот вопрос путем оценки эффекта кортикостероидной инъекции и хэндлинга на активность ХЭ и содержания водорастворимых белков (ВРБ) в мозге рыб.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проводился на 50 экз. стерляди (*Acipenser ruthenus* Linneaus) со средней массой 272.5 ± 10.7 г и длиной 37.1 ± 0.5 см, выращенной в прудовом хозяйстве «Кадуи» (Вологодская обл.). Сразу после вылова половина рыб (опытная группа) была парентерально инъецирована синтетическим аналогом природного кортикостероида кортизола - дексаметазон-фосфатом (КРКА, Novo mesto, Slovenia) в дозе 0,2 мл или 0,8 мг активного вещества на особь, что соответствует 0,012 мг% эндогенного кортизола при стрессе у рыб. Контрольная группа была подвергнута только хэндлингу (отлов и транспортировка), а инъекция не проводилась. После отлова и инъекции обе группы стерляди в течение 8 часов были доставлены в лабораторию и в ходе эксперимента содержались в бассейнах с отстоянной артезианской водой с принудительной аэрацией (рН 7.3-7.5, общая жесткость 4.35-5.17 мг/л, $t=16-18^{\circ}\text{C}$, концентрация растворенного кислорода 7-8 мг/л) при режиме кормления раз в сутки ad libitum свежим фаршем из речной рыбы.

Для анализа отбирали по 5 контрольных и инъецированных (опыт) рыб. Первая проба была взята в условиях прудового хозяйства сразу же после отлова (интактные рыбы, 0 суток), последующие пробы - на 1, 3, 7, 14 и 21 сутки эксперимента в лаборатории. Рыб декапитировали и извлекали целый мозг. До анализа пробы хранили в закрытых пластиковых пробирках на 2 мл при температуре -18°C в течение 7 дней.

Перед анализом мозг гомогенизировали 5 мин. тефлоновым пестиком в стеклянном гомогенизаторе Поттера-Эльвегейма с электроприводом. К навеске ткани добавляли 0.1 М фосфатный буфер с рН 7.5 в соотношении 1:10 (вес/объем). Гомогенаты центрифугировали при 5000 мин^{-1} (2000 g) и $t=4^{\circ}\text{C}$ в течение 5 мин. Для биохимического анализа брали супернатант.

Активность ХЭ определяли по методу (Ellman et al., 1961) в собственной модификации при длине волны 412 нм, температуре 30°C и времени инкубации 10-30 мин, содержание белка - по методу (Bradford, 1976). В качестве субстрата использовали иодид ацетилтиохолина (АТХ). Активность ХЭ выражали в мкмоль/мин на 1 г сырой ткани и нмоль/мин на мг белка, содержание водорастворимых белков (ВРБ) - в мг на 1 г сырой ткани. Более подробно процедуры подготовки проб и их анализа описаны ранее (Chuiko, 2000; Чуйко и др., 2002). Результаты представлены в виде средних и их ошибок ($\bar{d} \pm \text{SE}$), для оценки достоверности использован t-критерий Стьюдента при $p=0.05$ (Sokal, Rohlf, 1995). Статистическая обработка данных проведена с помощью пакета прикладных программ Statgraphics Plus 2.1 и Excel 2000.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследованные показатели изменялись в ходе эксперимента как у контрольных (хэндлинг), так и у опытных (инъекция) по сравнению с интактными (0 суток) рыбами (см. таблицу).

У контрольных рыб, подвергнутых только хэндлингу, активность ХЭ в мозге, выраженная на 1 г ткани, постепенно возрастая, лишь на 14 сутки эксперимента стала достоверно выше (168%), чем у интактной стерляди, и сохранялась на этом уровне до конца эксперимента. Содержание ВРБ на 3 сутки достигло достоверно более высоких

значений (166%) и оставалось практически без изменений до 14 суток, а к 21 суткам опустилось до начального уровня.

Динамика активности холинэстеразы (ХЭ) и содержания водорастворимых белков (ВРБ) в мозгу стерляди после хендлинга и инъекции дексаметазон-фосфата.

Таблица белков

Экспозиция, сутки	Активность ХЭ		Содержание ВРБ
	мкмоль/г ткани/мин	мкмоль/мг белка/мин	мг/г ткани
0 (интактные рыбы)	1.43 ± 0.12 (100%)	39.9 ± 5 (100%)	37.2 ± 3.7 (100%)
1	1.71 ± 0.22 (120%) 2.54 ± 0.18 (178%)*	61.1 ± 6 (153%) 33.7 ± 3 (85%)	27.8 ± 1.9 (75%) 76.7 ± 4.4 (206%)*
3	1.68 ± 0.17 (117%) 2.43 ± 0.27 (170%)*	28.1 ± 6 (70%) 31.9 ± 3 (80%)	61.7 ± 3.8 (166%)* 79.0 ± 10.0 (212%)*
7	1.77 ± 0.11 (124%) 2.29 ± 0.17 (160%)*	34.4 ± 3 (86%) 49.8 ± 7 (125%)	52.1 ± 3.0 (140%)* 48.0 ± 5.2 (129%)
14	2.40 ± 0.20 (168%)* 2.46 ± 0.09 (172%)*	42.5 ± 2 (107%) 45.4 ± 3 (114%)	56.5 ± 4.5 (152%)* 55.0 ± 4.1 (148%)*
21	2.52 ± 0.11 (176%)* 2.03 ± 0.25 (142%)*	58.2 ± 3 (146%)* 61.3 ± 11 (154%)*	43.6 ± 2.3 (117%) 35.3 ± 4.6 (95%)

Над чертой – контроль (хендлинг), под чертой – опыт (инъекция), в скобках – % от исходного уровня у интактных рыб (0 суток); представлены средние значения и их стандартные ошибки ($\bar{x} \pm SE$); N=5, различия достоверны при $p=0.05$ (t-критерий Стьюдента); * между интактными и инъекционными (опыт) или подвергнутыми хендлингу (контроль) рыбами, † между опытом и контролем.

У опытных, инъекционных рыб по сравнению с интактными активность ХЭ уже на 1 сутки эксперимента достоверно возросла (178%) и практически не изменялась до 14 суток. Лишь на 21 сутки её уровень несколько снизился и, хотя по-прежнему был достаточно высоким, но различия относительно исходного уровня стали не достоверными. Динамика содержания ВРБ была такая же, как активности ХЭ, но изменения были более выражены и достигали свыше 200% от начального уровня.

Сравнение между собой показателей подвергнутых только хендлингу (контроль) и инъекционных (опыт) рыб показывает, что ни в случае ХЭ, ни ВРБ различия между ними были недостоверными, за исключением 1 суток эксперимента, когда содержание ВРБ в опыте было достоверно выше, чем в контроле.

В случае выражения активности ХЭ на 1 мг белка достоверные различия не выявлялись ни между опытными и контрольными, ни между интактными и остальными рыбами.

Выявленные изменения указывают, что как хендлинг, так и инъекция дексаметазона влияют на активность холинергической системы и интенсивность метаболизма белков в мозге стерляди, активируя оба процесса. Однако хендлинг в отличие от инъекции кортикостероида вызывает более сглаженное действие. Эти различия могут быть связаны с тем, что при хендлинге в организме стерляди образуются только эндогенные катехоламины и кортикостероиды, а при инъекции вводится и дополнительный экзогенный кортикостероид.

Ранее было показано, что увеличение активности АХЭ в мозге рыб наряду с гипергликемией является частью ответа на стресс, индуцированный инъекцией экзогенного адреналина. Изменения активности АХЭ в мозге окуня (*Perca fluviatilis* L.) носили двухфазный характер: через 30 мин после инъекции активность снижается до 40% от контроля, но затем в течение 4 часов возрастает до 140-160% и остается повышенной, по крайней мере, трое суток (Pavlov et al., 1994). Общая направленность индуцированных адреналином изменений активности АХЭ в мозге окуня сходна с той, что обнаружена в подобных экспериментах на крысах крыс (Маслова, Резник, 1971; Алексидзе, Балавадзе, 1976). Обращает на себя внимание, что как при хендлинге и при инъекции дексаметазона у стерляди, так и при инъекции адреналина у окуня максимальное повышение активности ХЭ в мозге составляет 160-170% от исходного уровня независимо от того, на какие сутки после воздействия оно наблюдается. Во всех случаях это повышение носит стрессогенный характер.

У млекопитающих механизм, ответственный за этот процесс, состоит из индукции адреналином аденилат- и гуанилатциклазы, которые в свою очередь стимулируют синтез вторичных мессенджеров ц-АМФ и ц-ГМФ, запускающих процесс синтеза белка. Ингибитор синтеза белка – пуромидин, блокирует увеличение активности фермента (Алексидзе, Балавадзе 1977). Эти данные хорошо согласуются с общепринятой концепцией регулирования активности ферментов у высших многоклеточных организмов путем индукции и репрессии их синтеза под влиянием гормонов. Наблюдаемое у рыб стойкое повышение активности ХЭ в мозге связано, скорее всего, именно с синтезом дополнительного количества фермента de novo и механизм этого синтеза, видимо, такой же, как и у млекопитающих. В пользу такого утверждения указывает и увеличение содержания ВРБ в мозге стерляди при хендлинге и инъекции дексаметазона.

В отличие от стерляди у крыс другой катехоламин – норадреналин (Алексидзе, Балавадзе, 1977) и кортикостероиды – кортизон и дезоксикортикостерон (Сибуль, 1966), не влияли на активность АХЭ. Возможно, отсутствие эффекта в этом случае обусловлено несоответствием дозы гормонов, способной вызывать эффект. На примере адреналина ранее было установлено, что влияние гормонов in vivo на активность АХЭ зависит от дозы: 50 мкг/кг вызывал заметное увеличение активности фермента, а дозы на порядок ниже и выше не оказывали никакого достоверного эффекта.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенное исследование показало, что хендлинг и инъекция кортикостероида дексаметазона, так же как и исследованный ранее катехоламин адреналин, оказывают одностороннее действие на активность ХЭ и содержание ВРБ в мозге рыб, повышая их значения. Однако динамика обоих процессов различна: изменения активности ХЭ и содержания ВРБ под действием дексаметазона наступают быстрее и имеют более выраженный и пролонгированный характер, чем при хендлинге. Выявленные изменения являются частью стресс-ответа рыб на действие исследованных факторов. Из этого следует, что любой стрессорирующий фактор, повышающий уровень катехоламинов и кортикостероидов в организме способен приводить к изменениям активности ХЭ и содержанию ВРБ в мозге рыб.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексидзе Н.Г., Балавадзе М.В. Об участии аденилатциклазной системы в индуктивном синтезе ацетилхолинэстеразы в головном мозге // Бюлл. Экспер. Биол. 1977. Т. 83. №5. С.545-548.
2. Ведемейер Г.А., Мейер Ф.П., Смит Л. Стресс и болезни рыб. М. Легкая и пищевая промышленность. М. 1981. 128с.
3. Деписенко П.П. Роль холинреактивных систем в механизмах стрессорных ответов// В кн.: Стресс и его патогенные механизмы (Крепис О., ред.), Кишнев. Штинца. 1973. С. 20-22.

14. Маслова М.Н., Резник Н.В. Угнетение холинэстеразной активности в мозге крыс фосфорорганическими ингибиторами с различной степенью гидрофобности // Укр. биохим. ж., 1976. Т. 48, №4. С.450-454.
15. Панин Л.Е. Биохимические механизмы стресса. Новосибирск. Наука. 1983. 234с.
16. Селье Г. Очерки об адапционном синдроме. Пер. с англ. М. Медгиз. 1960.
17. Сибуль И.К. О влиянии гормонов на активность ацетилхолинэстеразы в различных отделах центральной нервной системы // В кн.: Проблемы нейрехимии (Палладин А.В., ред). М.-Л. Наука. 1966. С.192-196.
18. Смит Л.С. Введение в физиологию рыб. М. Агропромиздат . 1986.168с.
19. Федоров Б.М. Стресс и система кровообращения. М. Медицина, 1991. 320с.
20. Фурундай Ф.И. Физиологические механизмы стресса и адаптации при остром действии стресс-факторов. Кишнев. Штиинца. 1986. 239с.
21. Чуйко Г.М., Подгорная В.А., Лаврикова И.В. Фосфорорганическое соединение 0,0-диметил-0-(2,2-дихлорвинил)фосфат как избирательный ингибитор для раздельного определения активности ацетилхолинэстеразы и бутирилхолинэстеразы плотвы *Rutilus rutilus*// Ж. эвол. биохим. физиол. 2002. Т.38. С. 203-207.
22. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principal of protein-dye binding // Anal. Biochem. 1976. V.72. P.248-254.
23. Chuiko G.M. Comparative study of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in brain and serum of several freshwater fish: specific activities and in vitro inhibition by DDVP, an organophosphorus pesticide // Comp. Biochem. Physiol. 2000. V.127C, N. 3. P.233-242.
24. Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholin-esterase activity // Biochem. Pharmacol. 1961. V.7. P. 88-95.
25. Konecka A. 1992. Effect of Naloxone-Reversible Immobilization Stress on the Adrenal Acetylcholinesterase Activity in Mice// Arch. Intern. Physiol. Biochim. Biophys. V.100. P.143-145.
26. Pavlov D.F., Chuiko G.M., Shabrova A.G. Adrenaline induced changes of acetylcholinesterase activity in the brain of perch (*Perca fluviatilis* L.)// Comp. Biochem. Physiol. 1994. V. 108C. N 1. P. 113-115.
27. Sokal R.R., Rohlf F.J. Biometry. The principals and practice of statistics in biological research. NY.: W.H. Freeman&Co. 1995.
28. Thomas P. 1990. Molecular and biochemical responses of fish to stressors and their potential use in environmental monitoring// In.: Adams S.M. (ed.) "Biological indicators of stress in fish. Am. Fish. Soci. Symposium 8". Bethesda, Maryland. P.9-28.

INFLUENCE OF DEXAMETHASONE, A CORTICOSTEROID, AND HANDLING UPON ACETILCHOLINESTERASE ACTIVITY AND WATER SOLUBLE PROTEIN CONTENT IN BRAIN OF *ACIPENSER RUTHENUS* LINNEAUS.

Chuiko G.M., Podgornaya V.A., Mikryakov D.V., Mikryakov V.R.
Institute for Bbiology of Inland Waters RAS, Borok, Yaroslavl district, gko@ibiw.varoslavl.ru

Effects of handling and dexamethasone injection, synthetic analog of corticosteroid hormone cortisol, in dose of 0.2 ml or 0.8 mg active substance per individual upon acetylcholinesterase (AChE) activity and water soluble protein (WSP) content in brain of sterlet (*Acipenser ruthenus* Linneaus) during 21 days were studied. It was found both factors act unidirectionally upon measures investigated increasing their values. However dynamics both processes were different. AChE activity and WSP content under dexamethasone action are changed faster and have more pronounced and prolonged character than after handling. Changes revealed are part of fish stress-response upon action factors investigated.

ИНГИБИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДА КАДМИЯ НА АКТИВНОСТЬ МЕХАНИЗМА МНОЖЕСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К КСЕНОБИОТИКАМ У ПРЭСНОВОДНЫХ АМФИПОД

Ж.М. Шатилина, Д.С. Бедулина, В.В. Павличенко, М.В. Протопопова,
М.А. Тимофеев

*Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия, mtim@inbox.ru
Байкальский исследовательский центр, Иркутск, Россия*

Множественная резистентность к ксенобиотикам (в англоязычной литературе MultiXenobiotic Resistance - MXR), явление, позволяющее клеткам избежать от ксенобиотиков. Функционирование данного механизма основано на активности ABC-транспортёров - транспортных белков, действующих за счет энергии АТФ (АТР-binding cassette (ABC) transporters) (Eufemia, Epel, 2000; Smital et al., 2000). Основным белком, участвующим в механизме резистентности, является Р-гликопротеин. Этот белок, являясь мембранным белком-переносчиком с широкой специфичностью, выводит из клеток обширный спектр ксенобиотиков (Eufemia, Epel, 2000; Smital et al., 2000; Kepler, Ringwood, 2001; Smital et al., 2003; Ставровская, 2001). Выводящая активность Р-гликопротеина часто принимается в качестве основного показателя активности всей системы множественной резистентности клетки или организма (Ставровская, 2000; Ставровская, 2001; Dicato et al., 1997; Litman et al., 2001).

Целью настоящего исследования являлась оценка влияния хлорида кадмия на активность Р-гликопротеина у пресноводных амфипод.

В работе использовали эндемичный пресноводный вид амфипод *Eulimnogammarus cyaneus* (Dyb) из озера Байкал. Вид литоральный, обитает в зоне с достаточно широким диапазоном колебаний условий среды. Рачков отлавливали на урзе воды в районе пос. Большие Коты (Южный Байкал). Перед экспериментами амфипод выдерживали 2-3 дня в аэрируемых аквариумах с байкальской водой при температуре 6°-8°С (предварительная акклимация).

В работе применяли метод оценки активности MXR по определению уровня накопления/выведения препарата родамина С, близкий к описанному в работе (Smital, Kurelec, 1998) с авторскими дополнениями. Рачков на 1-3 часа помещали в воду, содержащую родамин С в концентрации 1мкмоль/л. В ходе предварительной экспозиции (преэкспозиции) родамин С, обладая хорошей растворимостью в воде, накапливался в определенном количестве в тканях рачков. После преэкспозиции рачков вынимали из раствора препарата и не менее 3-х раз ополаскивали чистой водой. Далее часть преэкспонированных рачков забирали и фиксировали (тест 0 часов), остальных помещали в чистую воду (контрольная группа) или в условия токсического стресса (экспозиция в растворах хлористого кадмия с концентрацией 0,05 мг/л и 0,005 мг/л). Эксперименты проводили в условиях, аналогичных условиям предварительной акклимации. Длительность экспериментов составляла 24 часа, в течение которых в определенные периоды времени (1 ч., 2 ч., 4 ч., 6 ч., 12 ч. и 24 ч.) из опыта забирали и фиксировали часть рачков. Фиксированных рачков в течение 24 часов высушивали при 30°С, а затем гомогенизировали в бидистиллированной воде. Гомогенат центрифугировали при 1000 об./мин. в течение 3 минут (Eppendorf Minispin). В отобранном супернатанте определяли уровень содержания родамина С с помощью спектрофлуориметра Shimadzu RF-5000 при 590 нм.

У рачков контрольной группы содержание родамина С начинает равномерно понижаться после помещения рачков в чистую воду. Уже к периоду эксперимента 4-6 часов уровень препарата заметно снижается и продолжает понижаться до окончания эксперимента. Таким образом, можно говорить о том, что у байкальского вида *E. cyaneus* активируется MXR и происходит постепенное выведение родамина С.

В группе рачков, экспозиция которых проходила в растворах хлорида кадмия, отмечена иная картина выведения препарата. Так, у рачков экспонированных в растворе с концентрацией хлорида кадмия 0,005 мг/л, скорость понижения уровня родамина С существенно замедлена. В растворах с большей концентрацией хлорида кадмия (0,05 мг/л) в течение всего эксперимента достоверного изменения уровня препарата отмечено не было.

Представленные материалы позволяют говорить о том, что у исследованных байкальских амфипод вида *E. cyaneus* существует механизм множественной резистентности к ксенобиотикам. Предварительная экспозиция рачков в растворах родамина С, являющегося субстратом активности белков-переносчиков, ведет к индукции активности неспецифической резистентности к ксенобиотикам. В результате препарат достаточно эффективно выводится из организма, что позволяет уже через 4-6 часов определить снижение его концентрации.

Интоксикация рачков хлоридом кадмия ведет к выраженному ингибированию процесса выведения родамина С. При этом видно, что степень ингибирования имеет прямую зависимость от дозы токсиканта. Влияние солей кадмия на активность МХР ранее было показано в работе (Achard et al., 2004). Материалы, полученные в данном исследовании, также подтверждают возможность изменения активности МХР. Причины, лежащие в основе снижения эффективности выведения родамина С, могут заключаться как в непосредственном деструктивном воздействии на АВС-транспортеры, вызывающем сбой в реализации множественной резистентности, так и в повышении нагрузки на транспортные белки, что связано с дополнительной необходимостью выведения токсических компонентов из клетки.

В заключение следует указать, что приведенный метод определения активности множественной резистентности по интенсивности выведения родамина С, прост и может успешно применяться в экотоксикологических работах. В тоже время указанный метод не позволяет точно выявить биохимические механизмы снижения активности МХР. Для более детальной оценки, необходимо дополнительное применение иммунохимических и молекулярно-биологических подходов, позволяющих сопоставить не только активность, но количественную экспрессию транспортных белков.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ: 06-04-48099-а, 05-04-97263-р, 05-04-97239-р.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ставровская А. Опухолевая клетка в обороне// Соросовский образовательный журнал. - 2001. - Т. 7, № 7. - С. 17–23.
- Ставровская А. Клеточные механизмы множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток // Биохимия. - 2000. - № 65, вып. 1. - С. 112-126.
- Induction of a multixenobiotic resistance protein (MXR) in the Asiatic clam *Corbicula fluminea* after heavy metals exposure / M. Achard, M. Baudrimont, A. Boudou, J.P. Bourdineaud // Aquat. Toxicol. - 2004. - V.67, № 4. - P. 347-357.
- Eufemia N., Epel D. Induction of the multixenobiotic defense mechanism (MXR), P-glycoprotein, in the mussel *Mytilus californianus* as a general cellular response to environmental stresses // Aquat. Toxicol. - 2000. - V. 49, № 1. - P. 89-100.
- Multidrug resistance: Molecular and clinical aspects/ M. Dicato, C. Duhem, M. Pauly, F. Ries // Cytokines Cell. Mol. Ther. - 1997. - V. 3, № 2. - P. 91-99.
- From MDR to MXR: new understanding of multidrug resistance systems, their properties and clinical significance/ T. Litman, T. Druley, W. Stein, S. Bates // Cell. Mol. Life Sci. - 2001. - V.58, № 7. - P. 931-959.
- Kepler C., Ringwood A. Expression of p-glycoprotein in the gills of oysters, *Crassostrea virginica*: seasonal and pollutant related effects // Aquat. Toxicol. - 2001. - 54. - 195–204.

Smital T., Kurelec B. The activity of multixenobiotic resistance mechanism determined by rhodamine B-efflux method as a biomarker of exposure // Mar. Environ. Res. - 1998. - V.46, № 1. - P. 443-447.

Smital T., Sauerbom R., Hackenberger B. Inducibility of the P-glycoprotein transport activity in the marine mussel *Mytilus galloprovincialis* and the freshwater mussel *Dreissena polymorpha* // Aquat. Toxicol. - 2003. - V. 65, № 4. - P. 443-465.

Interspecies differences in P-glycoprotein mediated activity of multixenobiotic resistance mechanism in several marine and freshwater invertebrates/ T. Smital, R. Sauerbom, B. Pivcevic et al. // Comp. Biochem. Physiol. C. 2000. V. 126, № 2. - P. 175-186.

INHIBITORY INFLUENCE OF CADMIUM CHLORIDE TO THE ACTIVITY OF THE MULTI-XENOBIOTIC RESISTANCE FOR FRESHWATER AMPHIPODS

Z.M. Shatilina, V.V. Pavlichenko, D.S. Bedulina, M.V. Protopopova, M.A. Timofeyev.

The aim of this study was investigate influence cadmium chloride to the activity of the multi-xenobiotic resistance (MXR) for water organisms. One freshwater amphipod species, *Eulimnogammarus cyamens* (Dyb), from Lake Baikal were exposed to CdCl₂ during 24 hours experiments. The intensity of MXR was assessed based on the activity of rhodamine B efflux. It was shown that the maintaining of the crustaceans in CdCl₂ solution leads to the substantial inhibition of the processes of rhodamine B efflux. It was concluded that fluorescence assay for measuring MXR activity can be used in ecological toxicology.

ЧАСТЬ 4. ИММУНИТЕТ РЫБ И ДРУГИХ ГИДРОБИОНТОВ К ПАЗАРИТАМ

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ВИРУСАМ РЫБ ПОСТОЯННОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ SSO-3, ПОЛУЧЕННОЙ ИЗ ОРГАНОВ СИБИРСКОГО ОСЕТРА *ACIPENSER BAERI*

Колбасова Ю.П., Щелкунова Т.И.

ФГУП «ВНИИ пресноводного рыбного хозяйства», п. Рыбное, Московская обл., Россия
e-mail: vniprh@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время в связи с резким сокращением численности популяций осетровых рыб и недостатком диких производителей для их промышленного воспроизводства первостепенное значение придается разведению этих рыб в аквакультуре. Интенсификация осетроводства сопровождается появлением болезней, из которых наибольший ущерб наносят вирусные. На сегодняшний день в мире у осетровых рыб выявлено более 10 вирусов, из них 5 вызывают опасные заболевания. Помимо "собственных" вирусов осетровые могут являться носителями вирусов других видов рыб (Щелкунов, 2000).

Важнейшей лабораторной моделью для накопления и изучения вирусов, разработки методов диагностики и борьбы с вызываемыми ими заболеваниями остаются постоянные линии клеток (перевиваемые клеточные линии). Отличительной особенностью таких линий, по сравнению с первичной культурой клеток, является способность образующих их клеток к неограниченному росту и размножению вне организма в условиях относительной автономности. Постоянные линии клеток потенциально бессмертны. Наибольшее применение из них нашли монослойные культуры, как весьма удобные для накопления больших масс вирусов, изучения особенностей их взаимоотношений с клетками и решения целого ряда других задач (Голубев и др., 1976; Конки и др., 1989).

По чувствительности к вирусам перевиваемые линии клеток можно условно разделить на две группы: широкоспецифичные, которые чувствительны к большому спектру вирусов карповых, лососевых и других видов рыб, к вирусам амфибий и даже теплокровных, и узкоспецифичные, для которых на сегодня показана чувствительность лишь к одному или немногим вирусам. К первой группе относятся, например, клеточные линии FHM (Gravell & Malsberger, 1965), BF-2 (Wolf, Quimby, 1966), EPC (Fijan et al., 1983) и CHN-1 (Lannan et al., 1984). Ко второй - такие как WSSK-1 (Hedrick et al., 1991), SHK-1 (Dannevig et al., 1995) и KF-1 (Hedrick et al., 2000).

Большинство известных на сегодняшний день постоянных линий клеток осетровых рыб имеют иностранное происхождение и чувствительны к таким вирусным агентам, как WSIV, WSHV-1, WSHV-2 и др. (Колбасова и др., 2006). Во ВНИИПРХ получены 5 линий клеток из органов (SSO-1, SSO-2, SSO-3) и плавников (SSF-1, SSF-2) сибирского осетра (Щелкунова и др., 1997, 2006a,b; Колбасова и др., 2006). Данная работа посвящена определению чувствительности к вирусам рыб одной из этих клеточных линий - SSO-3.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали следующие 10 вирусов рыб: рабдовирусы инфекционного некроза гемопозитической ткани лососевых (IHNV, шт. FU/0204) (Щелкунов, 2006), вирусной геморрагической септицемии (VHSV, шт. ЧФ 1.2) (Щелкунов, Щелкунова, неопубл.), весенней виремии карпа (SVCV, шт. M2) (Щелкунов и др., 1984), европейского угря (EVEX, шт. УФ) (Щелкунов и др., 1989), мальков шуки (PFRV) (любезно предоставлен д-ром N. Lorenzen), вирус европейской озерной кумжи (ELTV)

(Koski et al., 1992) (любезно предоставлен д-ром Н. Björklund) и везикуловиром 4-й генотипы (шт. «Hecht») (Stone et al., 2003) (любезно предоставлен д-ром N. Lorenzen), бирнавиром инфекционного некроза поджелудочной железы (IPNV) (любезно предоставлен д-ром E. Neuvonen), иридовиром карпа (CCIV, шт. 4БЖ) (Шопкова, Щелкунов, 1978) и герпесвирус сибирского осетра (SSHV, шт. SK1/0406) (Щелкунов и др., 2007).

Определение чувствительности SSO-3 к вирусам вели по двум критериям: собственно чувствительность и способность культуры клеток поддерживать репродукцию вируса.

Под собственно чувствительностью культуры клеток понимали ее способность выявлять вирус в исследуемом материале. Ее определяли параллельным титрованием на референсной для каждого вируса клеточной линии и клетках SSO-3 10%-ной суспензии патологического материала от экспериментально зараженных вирусами (IHNV, VHSV, SVCV, IPNV и SSHV) рыб или культурального вируса (EVEX, PFRV, ELTV, «Hecht» и CCIV), накопленного на референсной клеточной линии.

Способность культуры клеток поддерживать репродукцию вируса определяли титрованием на ней культурального вируса, прошедшего на этой культуре клеток не менее трех пассажей.

Получение патологического материала и культурального вируса

Двухлетков карпа внутрибрюшинно заражали вирусом SVCV в дозе $10^{8,1}$ ТЦД₅₀/рыба. Вирусами IHNV и VHSV заражали годовиков радужной форели методом ванн. При этом вирусосодержащую суспензию вносили в аквариум с рыбой примерно до концентрации 10^5 ТЦД₅₀/мл и на 6 часов прерывали проточность воды. Двухлетков форели заражали вирусом IPNV внутрибрюшинно в дозе $10^{8,1}$ ТЦД₅₀/рыба. Патологический материал от естественно инфицированных герпесвирусом сеголетков сибирского осетра отбирали при спонтанной вспышке заболевания в аквариальной лаборатории ихтиопатологии ФГУП «ВНИИПРХ» среди рыб, завезенных с Конаковского завода товарного осетроводства. Температуру воды в аквариумах с экспериментально зараженной рыбой поддерживали в пределах 13-15°C (SVCV), 10-12°C (IHNV, VHSV), 14,5 – 16°C (IPNV) и 15-18°C (SSHV).

Патологический материал отбирали от только что погибших рыб с выраженными клиническими признаками заболевания. После гомогенизации патматериала и приготовления 10%-ной суспензии на среде 2MEM последнюю центрифугировали при 1450g в течение 20 мин и супернатант титровали на референсных линиях клеток и клетках SSO-3, определяя тем самым чувствительность выявления клеточными линиями вируса непосредственно в патологическом материале. После этого проводили не менее трех пассажей вируса на этих же культурах клеток и полученный культуральный вирус затем титровали.

Рабдовирусами EVEX, PFRV, ELTV и Hecht, а также иридовиром CCIV рыбу не заражали. Их накапливали на референтных клеточных линиях EPC (PFRV, Hecht и CCIV), BF-2 (ELTV) и FHM (EVEX), после чего проводили титрование вирусов на соответствующих референсных клеточных линиях и клетках SSO-3. После 3 пассажей вирусов на этих же клеточных линиях процедуру титрования повторяли.

Титрование патологического материала и культурального вируса

Для пассирования клеточных линий использовали среду Игла MEM с двойным набором аминокислот и витаминов (2MEM) с добавлением 5% (для SSO-3) или 10% (для других клеточных линий) фетальной сыворотки крупного рогатого скота с антибиотиками – пенициллином (100 ЕД/мл) и стрептомицином (100 мкг/мл) (при исследовании патологического материала) или без антибиотиков (для культурального вируса). Для диспергирования клеточного монослоя использовали смесь 0,25%-ного раствора трипсина и 0,02%-ного раствора версена.

Для титрования готовили серийные 10-кратные разведения вирусосодержащей суспензии на среде 2MEM и каждым разведением вируса заражали клетки одновременно с посевом их на 96-луночные микропланшеты (NUNC). Зараженные культуры инкубировали в атмосфере с повышенным содержанием CO₂ в термостате при оптимальной для роста клеточной линии температуре до образования монослоя клеток (примерно 1 сутки), а затем – при температуре, оптимальной для размножения данного вируса. Клеточные культуры ежедневно просматривали под малым увеличением микроскопа. Наблюдение продолжали до тех пор, пока не переставали появляться новые признаки ЦПД вируса. Расчет титра вируса вели по методу Рида и Менча (Reed, Muench, 1938).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Клеточная линия SSO-3 оказалась чувствительна ко всем исследованным рабдовирусам рыб и герпесвирусу сибирского осетра – всего к 8 вирусам из 10 испытанных (таблица 1). При этом по чувствительности к вирусам SVCV, EVEX и SSHV (как при первичном титровании, так и после проведения трех пассажей) культура SSO-3 не уступала, а порой и превосходила референсные линии клеток EPC, FHM и WSSK-1. В то же время чувствительность SSO-3 к пяти другим рабдовирусам была примерно на один – три порядка ниже, чем у соответствующих референсных линий клеток. При инокуляции культуры клеток SSO-3 вирусами IPNV и CCIV ЦПД обнаружено не было.

Подводя итог, можно сказать, что хотя клеточная линия SSO-3 в большинстве случаев уступала референсным линиям клеток по чувствительности обнаружения вирусов, полученные результаты говорят о возможности ее использования для обнаружения различных рабдовирусов и герпесвирусов, что говорит о ее сравнительно широкой специфичности в отношении вирусов рыб.

Таблица 1.

Чувствительность клеточной линии SSO-3 к некоторым вирусам рыб

Вирус	Референ- сная линия клеток	Титр вируса				Режим инкубации зараженной культуры клеток, °С
		на референсной линии клеток		на линии клеток SSO-3		
		пат. материал, lg TCID ₅₀ /г	после 3-х пассажей, lg TCID ₅₀ /мл	пат. материал, lg TCID ₅₀ /г	после 3-х пассажей, lg TCID ₅₀ /мл	
<i>Рабдовирусы</i>						
SVCV	EPC	7,1	8,1	7,85	8,1	21,5
IPNV	EPC	9,1	7,85	5,85	7,1	15
VHSV	EPC	6,35	9,1	5,1	7,1	15
EVEX	FHM	7,1*	7,85	8,35	8,1	19
PFRV	EPC	8,6*	8,35	8,1	7,1	21,5
Hecht	EPC	8,1*	8,35	8,6	7,35	21,5
ELTV	BF-2	Н.д	7,1**	6,6	6,23	15
<i>Бирнавирус</i>						
IPNV	CHN-1	4,35	8,1	-	-	15-20
<i>Иридовирус</i>						
CCIV	EPC	Н.д.	6,0	-	-	28
<i>Герпесвирус</i>						
SSHV	WSSK-1	5,6	5,1**	5,85	5,35	15

Примечание:

* - исходный титр вируса на референсной линии клеток;

** - титр вируса после 2-х пассажей на референсной линии клеток;

Н.д. - не делали;

- - признаков ЦПД не обнаружено.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Голубев Д.Б., Соминина А.А., Медведева М.Н. Руководство по применению клеточных культур в вирусологии. Л., "Медицина", 1976, 224 с.
- Колбасова, Ю.П. Краткая характеристика клеточной линии SSO-3, полученной из органов сибирского осетра *Acipenser baeri* / Ю.П. Колбасова, Т.И. Щелкунова, И.С. Щелкунов // «Актуальные вопросы пресноводной аквакультуры» Сборник научных трудов ФГУП «ВНИИПРХ», Вып. 82. Компания Спутник +, Москва, 2006. С. 126-131.
- Конки Д., Эрба Э., Фрешни Р., Гриффитс Б., Хэй Р., Ласнитски И., Маурер Г., Мораска Л., Вилсон Э. (под ред. Р.И. Фрешни). Культура животных клеток. Методы. Перевод с англ. под ред. М.А. Панова. М. «Мир», 1989, 333 с.
- Попкова, Т.И. Выделение вируса от карпов, больных жаберным некрозом / Т.И. Попкова, И.С. Щелкунов // Рыб. хоз-во. – 1978. - № 4. - С. 34-38.
- Щелкунов, И.С. О выделении вируса от белого толстолобика с синдромом краснухи / И.С. Щелкунов, Л.Н. Юхименко, И.Д. Тромбицкий, Т.И. Щелкунова, А.П. Манчу // Экспресс-информ. ЦНИИТЭИРХ, 1984. - В. 4. - С. 3-7.
- Щелкунов, И.С. Эпизоотическая ситуация по вирусным болезням культивируемых рыб / И.С. Щелкунов // Ветеринария. – 2006. - № 4. - С. 22-25.
- Щелкунов, И.С. Вирусные инфекции у осетровых рыб / И.С. Щелкунов // Рыбное хозяйство. Аналит. и реферат. информация. Серия: Болезни гидробионтов в аквакультуре. ВНИЭРХ, 2000. – Вып. 1. – С. 3 - 16.
- Щелкунов, И.С. *Rhabdovirus anguilla* у угря в СССР и его патогенность для рыб / И.С. Щелкунов, Э.К. Скурат, В.А. Сиволоцкая, В.А. Сапотько, В.В. Шимко, В.Я. Линник // Вопросы вирусологии. – 1989. - №1. - С. 81-84.
- Щелкунов, И.С. Герпесвирусная болезнь у осетровых рыб в России / И.С. Щелкунов, Т.И. Щелкунова, А.И. Щелкунов, Ю.П. Колбасова, Л.В. Диденко, А.Ф. Быковский // Российский ветеринарный журнал (Сельскохозяйственные животные). - 2007. - № 1. - С. 10-12.
- Щелкунова, Т. И. Температурно-ростовые характеристики постоянных клеточных линий, полученных из ткани сибирского осетра / Т. И. Щелкунова, Ю.П. Колбасова, И. С. Щелкунов // Цитология. – 2006а.-Т. 48. - № 9. - С. 814.
- Щелкунова, Т. И. Чувствительность к вирусам рыб постоянных клеточных линий, полученных из ткани сибирского осетра / Т. И. Щелкунова, Ю.П. Колбасова, И. С. Щелкунов // Цитология. – 2006б.-Т.48.- № 9.- С. 814-815.
- Щелкунова, Т.И. Клеточные линии из тканей сибирского осетра / Т.И. Щелкунова, О.А. Купинская, Н.А. Машенко, И.С. Щелкунов // Первый конгресс ихтиологов России. Астрахань, сентябрь 1997 г.: Тезисы докладов. – Астрахань, 1997. – С. 302 – 303.
- Dannevig, B.H. Isolation of the causal virus of infectious salmon anaemia (ISA) in a long-term cell line from Atlantic salmon head kidney / B.H. Dannevig, K. Falk, E. Namork // J. Gen. Virol. – 1995. – V.76. - P. 1353-1359.
- Fijan, N. Some properties of the *Epithelioma papulosum cyprini* (EPC) cell line from carp *Cyprinus Carpio* / N. Fijan, D. Sulimanovic, M. Bearzotti, D. Muzinic, L.O. Zwillenberg, S. Chilmoneczyk, J.F. Vautherot, P. de Kinkelin // Ann. Virol. (Inst. Pasteur). – 1983. – V.134 E. - P. 207-220.
- Gravell, M. A permanent cell line from the fathead minnow (*Pimephales promelas*) / M. Gravell, R.C. Malsberger // Ann. N.Y. Acad. Sci. -1965. – V.126. – P.555-565.
- Hedrick, R.P. Two cell lines from white sturgeon / R.P. Hedrick, T.S. McDowell, R. Rosemark, D. Aronstein, C.N. Lannan // Trans. Am. Fish Soc. – 1991. – V.120. - P. 528-534.
- Hedrick, R.P. A herpesvirus associated with mass mortality of juvenile and adult koi, a strain of a common carp / R.P. Hedrick, O. Gilad, S. Yun, J.V. Spangenberg, G.D. Marty, R.W. Nordhausen, M.J. Kebus, H. Bercovier, A. Eldar // J. Aquat. Anim. Health. – 2000. – V. 12. – P. 44-57.

Koski, P. A rhabdovirus isolated from brown trout (*Salmo trutta m. lacustris* L.) with lesions in parenchymatous organs / P. Koski, B.J. Hill, K. Way, E. Neuvonen, P. Rintamaki // Bull. EAAP. -1992. - V. 12. - N 5. - P. 177-180.

Lannan, C.N. Fish cell lines: establishment and characterization of nine cell lines from salmonids / C.N. Lannan, J.R. Winton, J.L. Fryer // In Vitro. - 1984. -V. 20. - P.671-676.

Reed, L.J. A simple method of estimating fifty percent endpoints / L.J. Reed, H.A. Muench // American J. Hygiene. - 1938. - V.24. - P.493-497.

Shchelkunov, I.S. Infectivity experiments with *Cyprinus carpio* iridovirus (CCIV), a virus unassociated with carp gill necrosis / I.S. Shchelkunov, T.I. Shchelkunova // J. Fish Diseases. - 1990. - V. 13. - № 6. - P. 475-484.

Stone, D.M. Nucleotide sequence analysis of the glycoprotein gene of putative spring viraemia of carp virus and pike fry rhabdovirus isolates reveals four genogroups / D.M. Stone, W. Ahne, K.L. Denham, P.F. Dixon, C.T.-Y. Liu, A.M. Sheppard, G.R. Taylor, K. Way // Dis. Aquat. Org. -2003. - V. 53. - P. 203-210.

Wolf, K. Lymphocystis virus: isolation and propagation in centrarchid fish cell lines / K. Wolf, M.C. Quimby // Science. - 1966. -V. 151. - P.1004-1005.

**SUSCEPTIBILITY TO FISH VIRUSES OF A PERMANENT CELL LINE SSO-3
ESTABLISHED FROM INTERNAL ORGANS OF SIBERIAN STURGEON *ACIPENSER
BAERI***

Kolbasova Yu.P., Shchelkunova T.I.

Susceptibility of the SSO-3 cell line, established from the pooled kidney, spleen and liver of the Siberian sturgeon, was determined to the following fish viruses: rhabdoviruses of infectious haematopoietic necrosis (IHNV, strain FU/0204), viral haemorrhagic septicemia (VHSV, ChF 1.2), spring viraemia of carp (SVCV, M2), European eel virus (EVEX, UF), pike fry rhabdovirus (PFRV), European lake trout virus (ELTV), and vesiculovirus of the 4th genogroup ("Hecht"), as well as to birnavirus of infectious pancreatic necrosis (IPNV), *Cyprinus carpio* iridovirus (CCIV, 4BG), and Siberian sturgeon herpesvirus (SSHV, SK1/0406). Both the true susceptibility to and the yield of the viruses were determined. The SSO-3 cells were found to be susceptible to all rhabdoviruses tested and to the Siberian sturgeon herpesvirus.

О МЕХАНИЗМЕ ВЛИЯНИЯ ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ НА ФОРМИРОВАНИЕ АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА РЫБ К БАКТЕРИЯМ

В.Р. Микряков, Д.В. Микряков

Институт биологии внутренних вод РАН – ИБВВ, Борок Ярославской области
E-mail: mivr@ibiw.yaroslavl.ru

Глюкокортикоиды относятся к стероидным гормонам (Сергеев, 1984; Розен, 1994), в организме позвоночных вырабатываются корой надпочечников, а у рыб интерреналаговыми клетками пронефроса (Smith, 1982). Им принадлежит важная роль в реализации процесса адаптации животных к стресс-факторам, а также регуляции метаболических и иммунологических функций (Утешев, Бабичев, 1974; Плисецкая, 1975; Корнсва и др., 1978; Сергеев, 1984; Шрейбер, 1987; Зенков и др., 1999; Wendelaar Bonga, 1997; Van Muiswinkel, Vervoorn-Van Der Wal, 2006). Под влиянием глюкокортикоидных гормонов, основным из которых является гидрокортизон или кортизол и его производное кортизон, нарушается иммунный гомеостаз, снижаются функции обеспечивающие устойчивость рыб к инфекционным и инвазионным болезням (Д. Микряков, 2004; В. Микряков и др., 2005; Wendelaar Bonga, 1997).

На основе анализа динамики изменения интенсивности антителообразования, характера изменения структурного разнообразия лейкоцитов, морфо-функционального состояния иммунокомпетентных органов (почек, селезенки и печени) нами установлено, что глюкокортикоиды в иммунной системе рыб вызывают нарушения иммунного статуса. Они связаны с удлинением сроков индуктивной и продуктивной фаз антителообразования (Микряков, Микряков, 2002; Д. Микряков, 2004), подавлением функции врожденного гуморального иммунитета (Д. Микряков, 2004), лимфопенией, нейтрофилией (Микряков, Микряков, 2005; Д. Микряков и др., 2005; В. Микряков и др., 2006а), инволюцией иммунокомпетентных органов, активацией окислительного стресса и свободнорадикальных процессов (Д. Микряков и др., 2004; В. Микряков и др., 2006б).

На базе полученных материалов высказано предположение, что глюкокортикоиды являются причиной супрессии формирования адаптивного иммунитета и активации функционального состояния рыб после иммунизации (Д. Микряков, 2004). Ранее на основе экспериментально обоснованных данных нами сформулировано положение (В. Микряков, 1969; 1991; В. Микряков и др., 1974; Goncharov, Mikryakov, 1968), что функционирование иммунной системы после введения бактериального антигена подчиняется тем же закономерностям, установленным на теплокровных животных (Вершигора, 1980; Хаитов и др., 2002). В их основе лежат процессы восприятия (распознавания), процессинга (разрушения) экзогенного антигена до эндогенного иммуногена, презентации иммуногена предшественникам антителообразующих клеток (АОК), дифференцировки их в сторону АОК, селекции антигенспецифических клонов клеток, выполняющих функции синтеза антител и иммунологической памяти (В. Микряков, 1991).

Установленные в процессе иммуногенеза закономерности позволили выдвинуть положение, что формирование специфического адаптивного иммунитета у рыб связано с адаптивными модификациями эффекторных и афферентных звеньев иммунной системы, обеспечивающие повышение адаптивного потенциала организма рыб от бактериальной агрессии. Показано, что в основе модификационной изменчивости лежат структурно-функциональные перестройки клеточных и гуморальных факторов иммунитета: в организме иммунных особей увеличивается содержание специфических клонов образраспознающих, антигенразрушающих и АОК, с высокой функциональной активностью при реализации процессов иммунной защиты и поддержании иммунного гомеостаза. Однако эффективность иммуногенеза у рыб в отличие от теплокровных животных является температурозависимым процессом. Кроме того, формирование

адаптивного иммунитета зависит не только от температуры, но и качества воды, кормления, соблюдения правил и норм выращивания рыб, содержания в среде обитания разных по природе и происхождению неблагоприятных стресс-факторов, оказывающих негативное влияние на состояние здоровья, иммунный статус, оптимальный рост и развитие рыб (В. Микряков, 1991; В. Микряков и др., 2001; Van Muiswinkel, Vervoom-Van Der Wal, 2006).

В целях понимания механизма действия стресс факторов на процессы иммуногенеза, обеспечивающих формирование специфического иммунитета нами проведено исследование характера влияния глюкокортикоидных гормонов на антигенраспознающую, антигенразрушающую, антителосинтезирующую функции, селекцию специфических клонов АОК, клеток памяти и напряженность приобретенного иммунитета к бактериальной инфекции.

Антигенраспознающую функцию определяли *in vivo* и *in vitro* на уровне клеток брюшного экссудата и лейкоцитов периферической крови реакцией иммуноадегзии по Льюис и др. (Lewis et al., 1979). Процессинг антигена оценивали по данным анализа фагоцитарной активности лейкоцитов *in vivo* и *in vitro* (Гончаров, 1973); селекцию клонов АОК – по направлению процессов дифференцировки иммунокомпетентных клеток в ретикуло-лимфоидной ткани мезонефроса (Микряков, 1969; 1991); антителообразующую функцию – по интенсивности образования антибактериальных антител в иммунокомпетентных органах (почки, селезенка) и сыворотке крови; напряженность иммунитета по выживаемости рыб после заражения их вирулентной культурой *Aeromonas hydrophila* в дозах, соответствующих Lc_{50} и Lc_{100} . Опыты проводились в аквариальных условиях при температуре воды 18-20°C на карпах в возрасте 1-2+. В качестве бактериального антигена использовали вирулентные и инактивированные нагреванием бактерии *A. hydrophila*. Выбор этих бактерий обусловлен тем, что они являются возбудителем бактериальной формы краснухи или аэромоназа карповых рыб (Лобунцов, Юхименко, 1981; Schaperclaus, 1979).

Проведенные исследования позволили установить характер влияния кортизола и кортизона на процессы иммунологической перестройки организма рыб. Показано, что используемые гормоны вызывают дестабилизацию структурно-функционального состояния иммунной системы, разрушение структур, осуществляющих распознавание бактерий, подавление фагоцитарной активности лейкоцитов, процесса образования антителообразующих клеток, снижении напряженности иммунитета и сопротивляемости к вирулентным и авирулентным бактериям.

Исследуемые после экзогенной обработки гормонами рыбы отличались от таковых контрольных низкими величинами антигенреагирующих лимфоцитов, фагоцитарной активностью, содержанием клеток лимфоидного и плазматического рядов в ретикуло-лимфоидной ткани иммунокомпетентных органов, слабой интенсивностью образования специфических антител и накопления клеток, несущих иммунологическую память об антигене. Одновременно, у опытных рыб отмечено повышенное содержание лимфоцитов, находящихся в состоянии апоптоза, задержка срока отторжения аллотрансплантата и высокая чувствительность к бактериальной инфекции.

На основе полученных материалов сделан вывод, что гормоны стресса подавляют 1-й этап формирования адаптивного иммунитета, связанный с восприятием и разрушением бактерий, обеспечивающим конверсию экзогенного антигена в эндогенную, последующую передачу их предшественникам АОК стимулирующих процесс и селекцию специфических клонов иммуноцитов, выполняющих функцию иммунологической памяти, синтеза антител, эффективной защиты организма от бактериальной инфекции (агрессии). Механизм действия гормонов, вызывающих супрессию 1 стадии иммунного ответа к бактериям, видимо, связан с апоптозом антигенраспознающих клеток и блокадой функции сигнальных образознающих

рецепторов лимфоцитов, стимулирующих синтез цитокинов направленно активизирующих врожденный иммунитет и контролирующих формирование адаптивного иммунитета.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 06-04-48812).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Вершигора А.Е. Основы иммунологии: Руководство. доп. Киев: Вища школа, 1980. 504 с.
- Гончаров Г.Д. Лабораторная диагностика болезней рыб. М.: Колос. 1973. 119 с.
- Зенков Н.К., Меньшикова Е.Б., Вольский Н.Н., Козлов В.А. Внутриклеточный окислительный стресс и апоптоз // Усп. Современ. биол. 1999. Т. 119. №5. С. 440-450.
- Корнева Е.А., Клименко В.М., Шхинек Э.К. Нейро-гуморальное обеспечение иммунного гомеостаза. Л.: Наука. 1978. 176 с.
- Лобунцов К.А., Юхименко Ю.П. К вопросу таксономии аэромонад, выделяемых от больных аэромонозом (краснухой) карпов // Тез докл. Всес. совещ. «Организация мероприятий по борьбе с инфекционными болезнями рыб», М.: ВАСХНИЛ, 1981. С. 36-39.
- Микряков В.Р. Выживаемость карпов после иммунизации. Информ. бюл. «Биол. внутр. вод». 1969. № 3. С. 38-40.
- Микряков В.Р. Закономерности формирования приобретенного иммунитета у рыб. Рыбинск, ИБВВ РАН. 1991. 153 с.
- Микряков В.Р., Гончаров Г.Д., Романенко В.И., Трофимова Л.В. К изучению механизма иммунитета рыб // Флора, фауна и микроорганизмы Волги. М.; Рыбинск, 1974. С. 264-285.
- Микряков В.Р., Балабанова Л.В., Заботкина Е.А. и др. Реакция иммунной системы рыб на воздействие некоторых абиотических факторов среды. ВИНТИ, М. 2000. 139с.
- Микряков В.Р., Микряков Д.В. Реакция иммунокомпетентных клеток карпа на экзогенное введение гормонов стресса: адреналина и гидрокортизона. // Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского Севера: Сборник материалов IV (XXVII) Международной конференции. Часть 2. (Вологда, Россия, 5-10 декабря 2005 г.). - Вологда, 2005. С. 15-18.
- Микряков В.Р., Балабанова Л.В., Микряков Д.В. Влияние кортизона на морфофункциональное состояние иммунной системы карпа *Cyprinus carpio* L. // Вопр. рыболовства, 2006а, № 4 (28). С. 604-616.
- Микряков В.Р., Силкина Н.И., Микряков Д.В. Влияние дексаметазон-фосфата на морфо-функциональное состояние иммунокомпетентных органов карпа *Cyprinus carpio* L. // Вестник Южного научного центра Российской академии наук, 2006б, Том 2. Выпуск 1. С. 72-77.
- Микряков Д.В. Влияние некоторых кортикостероидных гормонов на структуру и функцию иммунной системы рыб: Автореф. дис. ...кандидата биол. наук. Москва, 2004. 24 с.
- Микряков Д.В., Микряков В.Р. Влияние гидрокортизона на антилеообразовательную функцию иммунной системы карпа (*Cyprinus carpio*) // Вопр. ихтиол. 2002. Т. 42. № 6. С. 820-824.
- Микряков Д.В., Микряков В.Р. Влияние гормона стресса кортизона на лейкоциты крови караса *Carassius carassius* L. // Биол. внутр. вод. 2005. № 4. С. 90-94.
- Плисецкая Э.М. Гормональная регуляция углеводного обмена у низших позвоночных. Л.: Наука, 1975. 215 с.
- Розен В.Б. Основы эндокринологии. М.: Изд-во МГУ, 1994. 384 с.
- Сергеев П.В. Стероидные гормоны. М.: Наука, 1984. 240 с.
- Утешев Б.С., Бабичев В.А. Ингибиторы биосинтеза атипел. М.: Медицина 1974. 320 с.

Хайтов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология: Учебник. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2002. 536 с.

Шрейбер В. Патологическая физиология желез внутренней секреции. Прага: Авиценум. 1987. 493 с.

Lewis D.H., Eurell T.E., Cannon M.S., Grumbles L.C. T and B cell analogues from peripheral blood of immune channel catfish *Ictalurus punctatus* // J. Fish Biol., 1979, v. 14. № 1. P. 31-37.

Gontcharov G.D., Mikryakov V.R. Etudes des facteurs de immunité des poissons a une infection bacterienne // Bul. off. int. Epiz. 1968. v. 69. № 9-10. P. 1373-1376.

Smith L.S. Introduction to fish physiology. T.F.H. Publication, 1982. 166 p.

Schaperclaus W. Fischkrankheiten. Berlin: Acad.-Verlag., 1979. 1090 p.

Van Muiswinkel W., Vervoorn-Van Der Wal B. The immune system of fish // Fish Diseases and Disorders, 2006, Vol. 1. P. 678-701.

Wendelaar Bonga, Sjoerd E. The stress response in fish // Physiol. Rev. 1997. Vol. 77. № 3. P. 591-625.

ABOUT THE MECHANISM OF INFLUENCE OF GLUCOCORTICOIDS ON FORMATION OF ADAPTIVE IMMUNITY OF FISHES TO BACTERIA

V.R. Mikrjakov, D.V. Mikrjakov

The mechanism of influence of glucocorticoids on formation of adaptive immunity of fishes to bacteria is investigated. Character of influence cortisol and cortisone on processes immunological reorganizations of an organism of fishes is established. It is shown, that used hormones cause destabilization of a structurally functional condition of immune system, destruction of the structures which are carrying out recognition of bacteria, suppression phagocytic activity of leukocytes, process of formation antibody nascent cells, decrease in intensity of immunity and resistibility to virulent and avirulent to bacteria.

ЛИЧИНКИ НЕМАТОД РОДА *PORROCAECUM* (СЕМ. ANISAKIDAE) В
НЕКТОННЫХ КАЛЬМАРАХ: СИСТЕМАТИКА, МОРФОЛОГИЯ,
ГОСТАЛЬНОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ, ЭКОЛОГИЯ И ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ
ИЗМЕНЕНИЯ В ТКАНЯХ ХОЗЯЕВ

Ч.М. Нигматуллин, О.А. Шухгалтер

Атлантический научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и
океанографии (АтлантНИРО), г. Калининград, Россия, e-mail: squid@atlant.baltnet.ru

У кальмаров отмечено около 20 видов и личиночных форм паразитических нематод. В качественном и количественном отношении преобладают представители семейства Anisakidae. Среди них наибольший патогенный эффект для кальмаров имеют личинки рода *Porrocaecum*. Локализуясь в покровах желудка и толще мантии при высоких показателях зараженности, они вызывают выраженные патогенные изменения в функционально важных тканях хозяев. В то же время существует проблема идентификации личинок порроцекумов, плохо изучено их распространение в различных экологических зонах океана и хозяевах. Цель данного сообщения - описание результатов наших исследований зараженности порроцекумами нектонных кальмаров.

У нектонных кальмаров отмечены личинки анизакидных нематод родов *Anisakis*, *Contracaecum*, *Hysterothylacium*, *Lappetascaris*, *Phocanema*, *Porrocaecum* и *Pseudoterranova* (Hochberg, 1990; Nagasawa, Moravec, 1995 и др.). Видовая идентификация анизакидных нематод на личиночных стадиях по совокупности морфологических и экологических признаков крайне затруднительна, и вызывает много разногласий. В последние два десятилетия развернулась дискуссия о принадлежности личинок анизакид кальмаров к тем или иным родам (Nagasawa, Moravec, 1995; Шеенко, 1991 и др.). Не вдаваясь в подробности этой дискуссии, необходимо отметить, что описываемые ниже личинки нематод на основании таксономически важных морфологических признаков (Мозговой, 1953; Гаевская, 2005; Moravec, 1994) были отнесены к личинкам 3-ей стадии развития рода *Porrocaecum*.

Нами было обследовано 6400 экз. кальмаров 16 видов на наличие *Porrocaecum* на желудке и мантии. Они были собраны в 1970-2003 гг. на большей части акватории Мирового океана от Субарктики до Субантарктики. Были рассмотрены основные морфологические признаки более 900 личинок порроцекумов и выполнены морфометрические измерения 120 экз.

Морфологические признаки личинок *Porrocaecum* у всех исследованных хозяев были сходны (табл. 1). Кутикула тонкая с очень слабой поперечной исчерченностью. Головной конец вооружен сверлильным зубом. Интерлабии, характерные для взрослых форм, еще не сформированы. Пищевод длинный (отношение длины тела к длине пищевода 1:4-12). Желудок компактный. Кишечный отросток длинный, его длина равна примерно 2/3 длины пищевода. Нервное кольцо расположено ближе к переднему концу тела. Экскреторная пора всегда на уровне нервного кольца, желудочный отросток отсутствует. Хвостовой конец конический, вооружен шипом.

Личинки *Porrocaecum* у кальмаров инкапсулированы в наружных покровах желудка и мантии, а также находятся в свободном состоянии в половом целоме. Минимальные размеры имеют личинки на желудке, средние - в полости целома и наиболее крупные - на мантии. Наиболее подробно изучены личинки *Porrocaecum* из разных мест локализации у кальмара *Ommastrephes bartramii* ДМ 16-41 см из Юго-Западной Атлантики (Гаевская и др., 1986). Мелкие личинки длиной 2,5-4 мм были инкапсулированы на наружной стенке желудка. Они окружены уплотненной соединительно-тканной капсулой размерами 3,2-7,6х3,0-5,2 мм. В каждой капсуле находилось от 1 до 30 личинок. Число капсул у одного хозяина - от 1 до 40. Зачастую формируется сложное скопление капсул. До 20-30 личинок длиной 4,2-5,1 мм были

Таблица 1. Морфометрические признаки *Porrocaecum sp.l.* (n=120 экз.) из разных районов, хозяев и мест локализации

Признаки (мм) / Хозяин	Дли- на тела	Шири- на макс.	Поло- жение н.к. ²	Длина пище- вода	Размеры желудка	Длина к.о. ³	Длина х.к. ⁴	Длина х.ш. ⁵
ЮВТО¹								
<i>S.oualaniensis</i> (ж)	13,0- 21,5	0,298- 0,403	0,250- 0,327	2,018- 2,267	0,118-0,185 x 0,196- 0,327	1,804- 2,017	0,152- 0,181	0,006- 0,008
<i>D.gigas</i> (ж)	8,2- 23,0	0,2410- 0,480	0,220- 0,338	1,624- 2,518	0,163-0,184 x 0,232- 0,294	1,415- 2,289	0,136- 0,162	0,008- 0,010
<i>O.bartramii</i> (ж)	3,5- 6,4	0,105- 0,266	0,098- 0,135	0,860- 1,190	0,045-0,070 x 0,150- 0,168	0,380- 0,525	0,128- 0,140	0,006- 0,014
<i>O.bartramii</i> (м)	18,0- 22,05	0,700- 1,005	0,272- 0,380	2,535- 3,024	0,195-0,232 x 0,315- 0,336	1,530- 2,0292	0,162- 0,202	0,013- 0,014
ЮЗА¹								
<i>O.bartramii</i> (ж)	2,5- 4,0	0,095- 0,154	0,075- 0,097	0,416- 0,650	0,038-0,057 x 0,041- 0,068	0,281- 0,429	0,086- 0,136	0,005- 0,006
<i>O.bartramii</i> (пщ)	4,2- 7,5	0,150- 0,280	0,100- 0,147	0,700- 1,304	0,026-0,112 x 0,042- 0,210	0,300- 0,817	0,092- 0,198	0,005- 0,008
<i>O.bartramii</i> (м)	12,0- 31,5	0,240- 0,491	0,273- 0,403	1,766- 2,616	0,142-0,240 x 0,251- 0,360	1,515- 2,267	0,124- 0,262	0,008- 0,010
<i>I.argentinus</i> (ж)	3,8- 15,3	0,110- 0,292	0,112- 0,290	0,682- 2,812	0,027-0,109 x 0,067- 0,210	0,530- 2,405	0,100- 0,200	0,003- 0,005
<i>T.filippovae</i> (м)	19,0- 27,0	0,349- 0,469	0,305- 0,349	1,581- 2,235	0,131-0,218 x 0,218- 0,349	1,984- 2,071	0,122- 0,157	0,005- 0,008

¹ ЮВТО – Юго-Восточная Пацифика, ЮЗА – Юго-Западная Атлантика. ² – расстояние от передней части нервного кольца до переднего конца тела; ³ – длина кишечного отростка;

⁴ – длина хвостового конца от ануса до заостренного конца тела; ⁵ – длина хвостового шипа. (ж) – в стенке желудка, (пщ) – в полости полового целома; (м) – в мантии.

обнаружены в полости полового целома в свободном состоянии, но некоторые (5%) передним концом были внедрены в целомические пленки. Крупные личинки длиной 18-31,5 мм находились в толще мантии под ее покровами в беловатых капсулах размерами 3,0-4,5x12,0-16,0 мм. В каждой капсуле было 1-5 нематод. По-видимому, при достижении ДМ 4-10 мм, они покидают стенку желудка и проникают в полость полового целома, где и располагается желудок. Каким образом происходит их дальнейшая миграция в переднюю половину мантии не ясно: в мантийной полости, куда они могут выходить через целомические покровы, постоянно проходят потоки воды при работе рсактивного движителя кальмаров. О росте нематод в мантии *O.bartramii* косвенно свидетельствуют данные о широком диапазоне их размеров от 12 до 31,5 мм (табл. 1). Размеры личинок в процессе их жизни в кальмаре увеличиваются примерно в 10 раз.

По локализации и размерному составу личинок *Porrocaecum* кальмары-хозяева делятся на две группы. К первой относятся все виды кальмаров, у которых выявлены порроцекумы: мелкие личинки инкапсулированы в стенке желудка. Ко второй группе относятся *O.bartramii*, *Sthenoteuthis pteropus* *S.oualaniensis*, а также *Todarodes filippovae*

с океаническим типом ареала. У них наряду с «желудочными» порроцекумами в толще мантии инкапсулированы крупные особи этих нематод (табл. 2). У кальмаров первой группы миграция порроцекумов из капсул на желудке в мантию отсутствует. У океанических кальмаров *Ommastrephes* и *Sthenoteuthis* в историческом аспекте эта миграция видимо вторична, и использование «мантийного биотопа» началось относительно недавно - не ранее верхнего плиоцена, с формированием современных представителей этих родов (Зуев и др., 1975).

Личинки *Porrocaecum* отсутствовали у изученных мелких океанических видов *Eucleoteuthis luminosa* (Атлантический океан [АО] и Юго-Восточная Пацифика [ЮВТО], n=46 экз. длиной мантии (ДМ) 12,5-21,5 см), *Hyaloteuthis pelagica* (АО и ЮВТО, 68 экз. ДМ 1,6-7,8 см), *Ornithoteuthis volatilis* (Индийский океан [ИО], 16 экз. ДМ 4,8-15 см) и *Onychoteuthis banksi* (АО и ЮВТО, 47 экз. ДМ 4-14,8 см). По нашим и литературным данным (обзор: Hochberg, 1990) личинки *Porrocaecum* отсутствовали у шельфовых каракатиц и кальмаров (сем. Loliginidae). Они были довольно редки у склоново-шельфовых и нерито-океанических кальмаров семейства Ommastrephidae (*Illex argentinus*, *I.coindetii*, *I.ilicebrosus*, *Todarodes angolensis*, и *Ornithoteuthis antillarum*) (ЭИ не более 0,5-3%) и *T.filippovae* (табл. 2.) и обычны у нерито-океанического (*Dosidicus gigas*) и океанических (*O.bartramii*, *S.pteropus*, *S.oualainensis*) представителей семейства Ommastrephidae (табл. 2) и Thysanoteuthidae (*Thysanoteuthis rhombus*) (Nigmatullin, Arkhipkin, 1987). В заметных количествах порроцекумы появляются при переходе кальмаров на преимущественное питание рыбами-планктофагами при ДМ более 10-15 см.

Жизненный цикл *Porrocaecum* включает четырех хозяев. Первый промежуточный хозяин - планктонные ракообразные. Вторые промежуточные хозяева - разнообразные мелкие рыбы-планктофаги. Следующие экологически обязательные транспортные хозяева - нектонные кальмары, преимущественно семейства Ommastrephidae. Дефинитивные хозяева океанических *Porrocaecum* - ксифоидные рыбы и морские млекопитающие (Гаевская, Нигматуллин, 1981; Гаевская и др., 1986; Hochberg, 1990). Кроме того, таковыми возможно являются морские птицы, черепахи и некоторые костные и хрящевые рыбы (Мозговой, 1953, с. 309-393). К сожалению, морские виды *Porrocaecum* по взрослым стадиям практически не описаны. В промежуточных и транспортных хозяевах обнаружены личинки третьей стадии развития. Они имеют крайне широкую специфичность и передаются от хозяина к хозяину трофическим путем при поедании предыдущих хозяев.

Особенности локализации порроцекумов в теле кальмаров приводят к выраженной патологии стенок желудка и мантийного аппарата. Попадая в организм кальмара с пищей, личинки пробуравливают стенку желудка и инкапсулируются в его наружных покровах. При этом происходит нарушение целостности стенок желудка. Далее локализуясь в стенке желудка, они вызывают разрастание соединительной ткани, которая является защитной реакцией организма на внедрение паразита. В стенках соединительно-тканых капсул обычны известковые отложения. После внедрения личинок в толщу мантии происходит формирование капсулы. Капсулы с нематодами локализуются в средней и, в основном, передней частях мантии в ее внутренней стенке. В прилегающей к капсуле ткани наблюдается воспалительные реакции. В стенках соединительно-тканых мантийных капсул отмечены известковые отложения. При длине капсул до 15-18 мм и их глубине в толще мантии до 3-6 мм (при толщине мантии 8-40 мм) и высоком уровне интенсивности инвазии (до 50-95 цист) у взрослых зараженных кальмаров происходят существенные механические повреждения целостности основного элемента реактивного движителя кальмаров - мышечно-коллагеновой системы мантии.

Таблица 2. Показатели зараженности *Porrocaecum sp.l.* нектонных кальмаров семейства Ommastrephidae (ЭИ – экстенсивность и ИИ – интенсивность инвазии)

Хозяин, район, (локализация)	Кол-во экз. / ДМ, см	ЭИ, %	ИИ, экз
<i>I. argentinus</i> ЮЗА (ж*)	714 / 3-37,7	1,1	1-3
<i>I. coindetii</i> ЦВА (ж)	1880 / 8-26	0,3	1
<i>I. coindetii</i> СВА (ж)	34 / 15-25	3,0	1-2
<i>T. sagittatus</i> ЦВА (ж)	165 / 9-24	0,6	1
<i>T. angolensis</i> ЮВА (ж)	74 / 14-34	1,3	1
<i>T. filippovae</i> ЮЗА (м**)	18 / 19-29,5	22,2	1-4
<i>O. antillarum</i> АО (ж)	79 / 3-15	1,2	1
<i>D. gigas</i> ЮВТО-Пер (ж)	50 / 21-32	24,0	1-15
<i>D. gigas</i> ЦВТО-Экв (ж)	23 / 21-32	12,9	1-10
<i>D. gigas</i> ЦВТО-Ник (ж)	60 / 19-32	6,7	1-2
<i>O. bartramii</i> СА (ж)	60 / 10-76	96,0	2-1500
<i>O. bartramii</i> СА (м)	60 / 10-76	50,0	1-7
<i>O. bartramii</i> ЮА (ж)	42 / 12-45	72,0	1-35
<i>O. bartramii</i> ЮА (м)	42 / 12-45	28,0	2-28
<i>O. bartramii</i> ЮВТО (ж, м)	22 / 16-36,5	36,3	1-21
<i>O. bartramii</i> ИО (ж)	30 / 15-35	30,0	1-12
<i>O. bartramii</i> ИО (м)	30 / 15-35	10,0	1-7
<i>O. bartramii</i> ЮЗА (ж, м)	35 / 16-41	42,0	1-2000
<i>S. oualaniensis</i> ЮВТО (ж)	146 / 7-32	10,3	1-30
<i>S. oualaniensis</i> ИО (ж)	300 / 5-26	46,0	1-63
<i>S. oualaniensis</i> ИО (м)	300 / 5-26	38,8	1-108
<i>S. pteropus</i> АО (ж)	2490 / 5-50	64,0	1-120
<i>S. pteropus</i> АО (м)	2490 / 5-50	14,0	1-94

*ж - в стенке желудка, **м - в мантии, ж, м - обобщенные данные по «желудочным» и «мантийным» порроцекумам. ЮЗА - Юго-Западная Атлантика; ЦВА - Центрально-Восточная Атлантика; СВА - Северо-Восточная Атлантика; ЮВА - Юго-Восточная Атлантика; АО - Атлантический океан; СА - Северная Атлантика; ЮА - Южная Атлантика; ИО - Индийский океан; ЮВТО-Пер - Юго-Восточная Пацифика, район Перуанской котловины; ЮВТО-Экв - Юго-Восточная Пацифика, экваториальный район; ЦВТО-Ник - Центрально-Восточная Пацифика, район мористее побережья Никарагуа.

Таким образом, на основании наших и литературных данных можно констатировать, что личинки *Porrocaecum* распространены в открытых водах Мирового океана от boreальной до нотальной областей. В нектонных кальмарах, благодаря их широкому распространению, высокой численности и биомассе (около 55 млн.т при годовой продукции около 400 млн.т), пространственно-временной устойчивости пищевых связей с рыбами-планктофагами и высоким величинам суточных рационов (5-15% массы тела) у взрослых кальмаров происходит значительная аккумуляция личинок порроцекумов и передача их дефинитивным хозяевам. Это обеспечивает поддержание высокой численности *Porrocaecum* и устойчивости их паразитарных систем. Высокий уровень зараженности вызывает заметный патогенный эффект в функционально важных пищеварительной и двигательной системах кальмаров. Этот эффект особенно выражен у океанических видов.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 06-04-49806.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Гаевская А.В. Анизакидные нематоды и заболевания, вызываемые ими у животных и человека. - Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2005. - 223 с.

- Гаевская А.В., Нигматуллин Ч.М. Некоторые экологические аспекты паразитарных связей крылоногого кальмара *Sthenoteuthis pteropus* (Steenstrup, 1855) в Тропической Атлантике // Биол. науки. Доклады Высшей школы. 1981.-№ 1.- С. 52-57.
- Гаевская А.В., Нигматуллин Ч.М., Шухгалтер О.А. Роль океанических кальмаров семейства *Ommastrephidae* в жизненном цикле нематод рода *Porrocaecum* // «Паразиты и болезни водных беспозвоночных». Тезисы докладов IV Всесоюзного симпозиума. (Москва, февраль 1986 г.). Москва. - 1986. - С. 28-29.
- Зусв Г.В., Несис К.Н., Нигматуллин Ч.М. Система и эволюция родов *Ommastrephes* и *Symplectoteuthis* (Cephalopoda: Ommastrephidae) // Зоол. журн. - 1975.- Том 54; № 10. - С. 1468-1479.
- Мозговой А.А. Аскариды животных и человека и вызываемые ими заболевания (Основы нематодологии, Том 2, Книга 2). - М.: Изд-во АН СССР, 1953.- 615 с.
- Шеенко П.С. *Hystrothylacium petteri* sp.n. (Nematoda: Ascaridata) из тихоокеанской меч-рыбы // Паразитология. - 1991.- Том 25; № 5. - С. 419-425.
- Hochberg F.G. Diseases of Mollusca: Cephalopoda // Kinne, O. (ed.). Diseases of marine animals. Vol. III. Cephalopoda to Urochordata. Hamburg: Biologisches Anstalt Helgoland, 1990. - P. 47-227.
- Moravec F. Parasitic nematode of freshwater fishes of Europe. - Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 1994. - 472 p.
- Nagasawa K., Moravec F. Larval anisakid nematodes of Japanese common squid (*Todarodes pacificus*) from the Sea of Japan // J. Parasitol. - 1995. - Vol. 81; № 1. - P. 69-75.
- Nigmatullin Ch.M., Arkhipkin A.I. A review of the biology of the diamond-back squid, *Thysanoteuthis rhombus* (Oegopsida: Thysanoteuthidae) // Okutani T. (ed.). Contributed papers to International symposium on "Large pelagic squids". Tokyo: Japan Marine Fishery Resources Research Center. - 1998. - P. 155-181.

**LARVAL NEMATODES OF GENUS *PORROCAECUM* (FAM. ANISAKIDAE) IN
NEKTONIC SQUIDS: TAXONOMY, MORPHOLOGY, DISTRIBUTION IN HOSTS,
ECOLOGY AND PATHOLOGIC CHANGES IN HOST TISSUES
Ch.M. Nigmatullin, O.A. Shukhalter**

There are described the data on taxonomic situation in genus *Porrocaecum* and related taxons, morphology of larval *Porrocaecum* from nektonic squids and their distribution among squids and in host's body, life cycles and their pathologic influences on functionally significant tissues of squids.

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЗАРАЖЕННОСТИ КАРПА *CYPRINUS CARPIO* L. ДАКТИЛОГИРУСАМИ *DACTYLOGYRUS SP.* ПОД ВЛИЯНИЕМ ИНСУЛИНА, АДРЕНАЛИНА И ГИДРОКОРТИЗОНА

Степанова М.А., Микряков Д.В., Микряков В.Р.

Институт биологии внутренних вод РАН – ИБВВ, Борок Ярославской области

E-mail: mvr@ibiv.vyarslavl.ru

Ранее нами было показано, что под влиянием адреналина и аналогов кортизола – гидрокортизона и преднизолона, повышается зараженность карпов дактилогеридами (Д. Микряков и др., 2006). Выдвинуто положение, что под влиянием гормонов создаются благоприятные условия для интенсивного роста и развития, как следствие подавление, иммунного ответа на заражение паразитами и повышением уровня содержания доступных для интенсивного роста моногенетических сосальщиков питательных веществ, в частности, продуктов распада углеводов – глюкозы (Д. Микряков и др., 2006).

Исходя из вышеизложенного представлялось интересным изучить изменение характера инвазирования рыб дактилогеридами под влиянием гормонов, вызывающими противоположные эффекты на механизмы иммунитета и метаболические процессы.

Целью настоящей работы было исследование зараженности рыб дактилогеридами, подвергнутых воздействию инсулина, вызывающего активацию процессов анаболизма и иммуногенеза, гидрокортизона – супрессию иммунного ответа, стимуляцию процессов разрушения белков, гликогена и липидов и адреналина – гипергликемию – липемию.

Изучение этого вопроса следует считать важным в плане понимания механизма влияния антагонистичных по своему действию гормонов на иммунитет рыб к паразитам вызывающим инвазионные болезни. Это важно также при разработке вопросов регуляции иммунореактивности рыб к дактилогеридам путем целенаправленного влияния на синтез гормонов, вызывающих супрессию или стимуляцию иммунитета рыб к паразитам.

Опыты проводились в аквариальных условиях на сеголетках карпа *Cyprinus carpio* L. Рыб содержали в принудительно аэрируемых аквариумах при температуре воды 18-20°C. В качестве гормональных препаратов использовали гидрокортизон венгерской фирмой «Рихтер», адреналин Московского эндокринного завода и бринсулмиди МК (суспензия цинк-инсулина) ЗАО «Брындалов-А». Обработку рыб гормонами проводили путем внутривентральных инъекций в дозе 0,2 мл на особь. Зараженность рыб дактилогеридами определяли по экстенсивности и индексу обилия паразитов по общепринятой методике. Сбор материала осуществляли через 1, 3, 7 и 28 сут после инъекции гормонов. Эффективность влияния гормонов на зараженность опытных рыб дактилогеридами сравнивали с данными интактных карпов и особей, получивших внутривентральные инъекции физиологического раствора (в дозе 0,2 мл на особь).

Результаты исследований подвергали статистической обработке при помощи стандартного пакета программ (Microsoft Office 98, приложение Statistica) с последующей оценкой различий с использованием t-теста, $p < 0.05$.

Проведенные исследования показали, что под влиянием используемых гормонов в организме хозяина и вызывающих противоположный эффект изменения направления метаболических процессов и иммунологических функций зараженность карпа *Cyprinus carpio* L. дактилогеридами отличаются (табл. 1-3). В опыте гидрокортизоном и адреналином отмечено увеличение, а инсулином – уменьшение показателя индекса обилия паразитов по сравнению с контрольными особями. Анализ полученных данных свидетельствует о зависимости интенсивности заражения рыб моногенетическими

сосальщиками от природы используемого гормона. У рыб на введение адреналина, выполняющего важную роль в регуляции неспецифической защитной реакцией организма, вызывающего активацию разрушения гликогена фосфорилазой и приводящего к увеличению содержания глюкозы в крови отмечено незначительное и не достоверное возрастание численности моногенетических сосальщиков. Среднее число паразитов, приходящихся на 1 особь в опыте с адреналином, превышало на 10-15 экземпляров, по сравнению с контрольными (табл. 1).

Таблица 1. Влияние адреналина на зараженность карпов дактилогирусами.

Дата отбора проб, сут	Экстенсивность инвазии, %		Индекс обилия, М±м	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
До опыта		81.8		2.2±0.46
1	100	80	5.2±1.17	5.2±3.05
3	100	80	13.6±9.66	5.1±2.15
7	100	80	18.0±6.2	5.4±1.86
28	100	100	8.4±1.36	17.2±5.41

Таблица 2. Влияние гидрокортизона на зараженность карпов дактилогирусами.

Дата отбора проб, сут	Экстенсивность инвазии, %		Индекс обилия, М±м	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
До опыта		81.8		2.2±0.46
1	100	80	35.2±18.33	5.2±3.05
3	100	80	55.0±11.6	5.1±2.15
7	100	80	65.0±17.5	5.4±1.86
28	100	100	78.6±43.7	17.2±5.41

Таблица 3. Влияние инсулина на зараженность карпов дактилогирусами.

Дата отбора проб, сут	Экстенсивность инвазии, %		Индекс обилия, М±м	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
До опыта		81.8		2.2±0.46
1	100	80	5.8±1.98	5.2±3.05
3	100	80	9.0±3.03	5.1±2.15
7	66.6	80	2.0±1.15	5.4±1.86
28	100	100	8.2±2.03	17.2±5.41

Количественные характеристики индекса обилия дактилогирусов у рыб, получающих инъекции аналога кортизола отличались от таковых контрольных к концу срока наблюдения более чем в 10 раза (табл. 2), а от особой обработанных адреналином более трех раз.

У рыб после инъекции инсулина к концу срока наблюдения отмечено снижение, как процента экстенсивности инвазии, так и индекса обилия паразитов по сравнению с контролем (табл. 3).

Из материалов исследований следует, что под влиянием адреналина и гидрокортизона зараженность карпа дактилогридами, как это имеет место и у стрессированных рыб, после воздействия дефицита кислорода, резких перепадов температуры, загрязняющих веществ, транспортировки, голодания, переплотненных посадок и т.д. (Кеннеди, 1978; Бауер и др., 1981; Наумова, Ройтман, 1989; Головина и др., 2003; Schaperclaus, 1979 и др.) увеличивается, а инсулина - снижается. Выявленное различие в интенсивности инвазирования рыб моногенетическими сосальщиками в ответ на воздействие используемых гормонов отражает характер влияния их на иммунологические и метаболические процессы. Известно, что под влиянием адреналина метаболические и иммунологические функции существенно нарушаются, а происходящие изменения не носят необратимого характера (Мартемьянов, 2002; Wendelaar Bonga, 1997). Действие адреналина на физиологическое и иммунологическое состояние организма хозяина является кратковременным и длится не более 24 часов (Шрейбер, 1987; Wendelaar Bonga, 1997). Как правило, под влиянием адреналина происходит увеличение содержания глюкозы в крови, вследствие разрушения гликогена фосфорилазой (Wendelaar Bonga, 1997) и активация образования кортизола (Нечаев и др., 2006). Вместе с тем иммунологические функции, связанные с процессами распознавания и разрушения чужеродных тел, скорости отторжения трансплантата, наоборот, повышаются (Микряков, Микряков, 2005; Д. Микряков, 2006), тогда как, кортизол, наоборот, вызывает супрессию механизмов адаптивного иммунитета, обеспечивающих устойчивость рыб к патогенным организмам (Микряков, Микряков, 2002; Д. Микряков, 2004; Wendelaar Bonga, 1997; Mikryakov, Mikryakov, 2001 и др.). По-видимому, под действием гидрокортизона подавляется бактерицидная активность слизи жабер, которая обусловлена содержанием в ней секреторных антител, протеолитических ферментов и лизоцима (Матей, 1996). Вполне возможно, усиленно инвазии также способствует, как это происходит у стрессированных рыб, под влиянием неблагоприятных факторов, интенсивное выделение слизи, богатой высокими уровнями глюкозы и других видов продуктов распада, которой питаются дактилогирусы. Известно, что у стрессированных рыб повышается секреция слизи в жабрах, основными продуцентами которой являются бокаловидные клетки (Матей, 1996). Повышение инвазивности карпа паразитами на воздействие глюкокортикоидов, видимо, обусловлено не только супрессией функции механизмов иммунологического гомеостаза, но последствиями влияния их на метаболические процессы (Шрейбер, 1987; Нечаев и др., 2006; Wendelaar Bonga, 1997; Mommensen et al, 1999; Van Muiswinkel, Vervoom-Van Der Wal, 2006). Поскольку они являются одними из ведущих гормонов, обеспечивающих адекватный ответ путем регуляции белкового, углеводного, липидного, минерального обменов, иммунологических функций и энергетического метаболизма на воздействие разных стресс-факторов. Глюкокортикоиды, в частности кортизол, вызывают протеолиз белков, разрушение гликогена, липидов, конверсию продуктов распада белков в глюкозу (Mommensen et al, 1999), супрессию образования мукополисахаридов, истощение иммунной системы (В. Микряков и др., 2006), увеличение содержания глюкозы и других продуктов метаболизма в крови (Wendelaar Bonga, 1997).

Вполне вероятно, что глюкоза и другие метаболиты, интенсивно образующиеся под влиянием гормонов стресса, являются основным источником, обеспечивающим интенсивное развитие дактилогирид на хозяевах при стрессе. Согласно литературным данным известно, что простые углеводы считаются основными источниками образования энергетических запасов в тканях паразитов в виде гликогена (Марков, 1958; Сопрунов, 1984; Извекова, 2001). Напротив, в случае гипогликемии снижение содержания простых сахаров в циркулирующей крови под влиянием гормона поджелудочной железы, инсулина, интенсивность заражения рыб падает. На это указывают результаты опыта с инсулином, который оказывает значительное влияние

на углеводный обмен (Плисецкая, Кузьмина, 1971; Плисецкая, 1975; Кузьмина, 2000): увеличивает содержание гликогена, протеинов и липидов в печени, способствует образованию в мышцах гликогена из глюкозы, понижает содержание сахара в крови, инициирует процессы неогенеза белков и жиров из углеводов.

Таким образом, из материалов исследований следует, что обнаруженное нами повышение показателей индекса обилия дактилогирусов на хозяевах после введения адреналина и гидрокортизона свидетельствует о снижении иммунорегуляторной функции и повышении доступных для интенсивного роста и развития дактилогирид на хозяине питательных веществ. Введение инсулина наоборот стимулирует в организме рыб анаболические процессы, что вероятно является одной из причин снижения заражения рыб дактилогирусами.

Приведенные данные позволяют предположить, что дактилогирусы по характеру влияния на организм хозяина, видимо, относятся к условно-патогенным паразитам, степень инвазивности и приживаемости которых зависит от структурно-функционального состояния иммунной системы и содержания, доступных для роста и развития питательных веществ. Основной причиной гиперинвазии карпов, как это видно из материалов исследований, видимо, является супрессия механизмов противoinвазионного иммунитета, вызванная гормонами стресса, а дактилогирозную инвазию следует относить к иммунозависимым заболеваниям, возникающим на фоне вторичного иммунодефицита, как следствие воздействия на рыб разных по природе стрессоров.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 06-04-48812).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Бауэр О.Н., Мусселин В.А., Стрелков Ю.А. Болезни прудовых рыб. М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1981. 320 с.

Головина Н.А., Стрелков Ю.А., Воронин В.Н. и др. Ихтиопатология. М.: МИР, 2003. 448 с.

Извекова Г.И. *Ligula intestinalis* (Cestoda, Pseudophyllidea): некоторые аспекты углеводного обмена плероцеркоидов // Биология внутренних вод, 2001, № 2, С 101-106.

Кеннеди К. Экологическая паразитология. М.: Мир, 1978. 230 с.

Кузьмина В.В. Гормональная регуляция метаболизма и процессов экзотрофии у рыб. Полифункциональность и полипотентность (обзор) // Эволюционная биохимия и физиология. 2000. Т. 36. № 6. С. 515-527.

Марков Г.С. Физиология паразитов рыб. В кн.: Основные проблемы паразитологии рыб. Из-во: Ленинградского университета, 1958. С. 122-143.

Мартемьянов В.И. Стресс у рыб: защитные и повреждающие процессы // Биол. внутр. вод. 2002. № 4. С. 3-13.

Матей В.Е. Жабры пресноводных костистых рыб: Морфофункциональная организация, адаптация, эволюция. СПб.: Наука, 1996. 204 с.

Микряков В.Р., Микряков Д.В. Реакция иммунокомпетентных клеток карпа на экзогенное введение гормонов стресса: адреналина и гидрокортизона. // Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского Севера: Сборник материалов IV (XXVII) Международной конференции. Часть 2. (Вологда, Россия, 5-10 декабря 2005 г.). - Вологда, 2005. С. 15-18.

Микряков В.Р., Силкина Н.И., Микряков Д.В. Влияние дексаметазон-фосфата на морфо-функциональное состояние иммунокомпетентных органов карпа *Cyprinus carpio* L. // Вестник Южного научного центра Российской академии наук, 2006, Том 2, Выпуск 1, С. 72-77.

Микряков Д.В. Влияние некоторых кортикостероидных гормонов на структуру и функцию иммунной системы рыб: Автореф. дис. ...кандидата биол. наук. Москва, 2004. 24 с.

Микряков Д.В. Влияние катехоламинов и глюкокортикоидов на реакцию отторжения аллотрансплантата у рыб. Физиология человека и животных: от эксперимента к клинической практике: Тез. докл. V Молодежной научной конференции Института физиологии Коми НЦ УрО РАН. Сыктывкар, 11-12 апреля 2006. С. 82-84.

Микряков Д.В., Микряков В.Р. Влияние гидрокортизона на антителообразовательную функцию иммунной системы карпа (*Cyprinus carpio*) // Вопр. ихтиол. 2002. Т. 42. № 6. С. 820-824.

Микряков Д.В., Степанова М.А., Микряков В.Р. Влияние катехоламинов и глюкокортикоидов на зараженность карпа *Cyprinus carpio* L. дактилягирусами (*Dactylogyrus sp.*) // Фауна, биология, морфология и систематика паразитов. Материалы Международной науч. конф. (19-21 апреля 2006 г. Москва) Москва, 2006. С. 193-194.

Наумова А.М., Ройтман В.А. Паразитарные болезни разводимых рыб, их профилактика // Итоги науки и техники. серия. Зоопаразитология. М.: ВИНТИ, 1989 Т. 10. 212 с.

Нечаев И.В., Дихнич А.В., Костин В.В., Романенко В.О. Динамика кортизола и развитие глюкокортикоидной функции в раннем онтогенезе атлантического лосося *Salmo Salar* // Вопросы ихтиологии, 2006. Т. 46. № 3. С. 398-411.

Плисецкая Э.М. Гормональная регуляция углеводного обмена у низших позвоночных. Л.: Наука, 1975. 215 с.

Плисецкая Э.М., Кузьмина В.В. Уровень гликемии круглоротых (*Cyclostomata*) и рыб (*Pisces*) // Вопр. ихтиол. Т. 11, вып. 6. 1971. С. 1077-1087.

Сопрунов Ф.Ф. Успехи в изучении углеводного обмена гельминтов // Тр. Гельминтол. лабор. АН СССР, 1984, Т. 32. С. 121-154.

Шрейбер В. Патофизиология желез внутренней секреции. Прага: Авиценум. 1987. 493 с.

Mikryakov V.R., Mikryakov D.V. The effect of some corticosteroid hormones on protective function of fish immune system to *Aeromonas hydrophila* // 6th International Veterinary Immunology Symposium. Uppsala, Sweden, 2001. P. 88-89.

Mommsen T.P., Mathalakath M., Moon V.W., Moon T.W. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation // Fish Biology and Fisheries, 1999, Vol. 9. P. 211-268.

Schaperclaus W. Fischkrankheiten. Acad.-Verlag. Berlin, 1979. 1090 p.

Van Muiswinkel W., Vervoorn-Van Der Wal B. The immune system of fish // Fish Diseases and Disorders, 2006, Vol. 1. P. 678-701.

Wendelaar Bonga, Sjoerd E. The stress response in fish // Physiol. Rev., 1997. Vol. 77. № 3. P. 591-625.

INFLUENCE OF INSULIN, ADRENALINE, HYDROCORTISONE ON CONTAMINATION OF CARP *CYPRINUS CARPIO* L. DACTYLOGYRIDS (*DACTYLOGYRUS SP.*)

Stepanova M.A., Mikryakov D.V., Mikryakov V.R.

Influence of insulin, adrenaline, hydrocortisone on contamination of carp *Cyprinus carpio* L., dactylogyrids *Dactylogyrus sp.* is investigated, according to the analysis of an index of an abundance of parasites. Fishes reacted to introduction of hormones increase in an index of an abundance dactylogyrids. Dependence of change of researched parameters by nature and character of influence of a hormone on immune system and metabolic processes is revealed.

ВЛИЯНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ЗАРАЖЕНИЯ ГЕЛЬМИНТАМИ НА ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА ЛИТОРАЛЬНЫХ ГАММАРИД БЕЛОГО МОРЯ

¹Ткач Н.П., ²Д.Н. Морозов, ²Р.У. Высоцкая

¹Карельский государственный педагогический университет, Петрозаводск, Россия

²Институт биологии КарНЦ РАН, Петрозаводск, Россия

e-mail: ntkatch@yandex.ru

Гидробионты существуют при постоянном колебании значений абиотических и биотических факторов среды, на которые они отвечают адаптивными перестройками процессов жизнедеятельности. Первичные приспособительные реакции осуществляются как на уровне клеточных систем, так и на уровне целостного организма (Гинсцинский, 1964; Проссер и Браун; 1967; Слоним, 1971). В любом случае регуляторные механизмы биохимических адаптаций включаются на клеточном уровне, где одну из существенных ролей играют липиды – «молекулы адаптации» (Крепс, 1981), определяющие структурные и функциональные свойства биомембран.

Важным биотическим фактором в водных сообществах являются паразиты, ввиду их большого видового разнообразия в морских экосистемах. Инвазия оказывает значительное влияние на динамику численности промежуточных и окончательных хозяев, на характер взаимоотношений между компонентами биоценоза в целом, а также на функционирование организма хозяина, поскольку ответной реакцией на заражение является изменение биохимических процессов.

В этой связи несомненный интерес представляют типичные представители макрозообентоса морских побережий – литоральные бокоплавы. Эти массовые ракообразные как ценные кормовые объекты занимают одно из первых мест в пище промысловых видов рыб, в то же время они являются промежуточными хозяевами многих видов паразитов.

Целью работы было изучение влияния интенсивности гельминтной инвазии на липидный обмен амфипод.

В качестве объекта исследования служили литоральные амфиподы (*Amphipoda: Gammaridea*): *Gammarus oceanicus* и *Gammarus duebeni*, собранные летом и осенью 2005-2006 гг. в губе Чула Кандалакшского залива Белого моря.

В исследуемых гаммаридях были найдены личинки нематод и метацеркарии трематод и цестод. В сезоны сбора было значительное количество рачков, зараженных трематодами *Podocotyle atomon* (49,4-99,9 %) и *Levinseniella propinqua* (2-27 %) с высокой интенсивностью их инвазии. Экстенсивность зараженности цестодой *Hymenolepis microsoma* составляла 35,0-51,0 %, интенсивность - от 1 до 58 особей гельминта. Доля инвазированных нематодой *Ascarophis sp. (arctica?)* гаммарид была невелика (1,1-2,0 %). В целом уровень инвазии рачков осенью был выше.

Содержание фосфолипидов определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, где стационарной фазой служил Нуклеосил 100-7, C-18, элюентом – система: ацетонитрил – метанол – гексан – 85 %-ная фосфорная кислота (918:30:30:17,5). Фосфолипиды обнаруживали по поглощению в УФ свете при длине волны 206 нм (Arduini et al., 1996) и идентифицировали сравнением времени удерживания стандартных образцов. Анилингидроксиллазную активность тканей амфипод определяли по методу Мазела (Mazel, 1972).

Результаты исследований показали, что в изученных рачках к осени наблюдалось снижение количества общих липидов у *G. oceanicus* и *G. duebeni*, соответственно на 8 и 52 %, по сравнению с летом, главным образом за счет запасных липидов (триацилглицеринов, эфиров восков и холестерина). Было показано, что у ракообразных бореальных вод уровень общего содержания липидов наиболее высокий

в осенние и в начале зимних месяцев (Saether et al., 1986). Выявленные колебания в содержании общих липидов связаны, по-видимому, с интенсивным использованием липидов рачками в качестве источника энергии, так как гельминты потребляют существенную часть резервов хозяев (Сидоров и др., 1989).

Отмечены также изменения в содержании фракций мембранных липидов. К осени происходило некоторое повышение количества фосфолипидов у гаммарид, что, вероятно, обусловлено усилением их синтеза в связи с патологическими процессами, происходящими в организме хозяина (Богдан, Михкиева, 1987).

В фосфолипидном составе преобладали фосфатидилхолиновая и фосфатидилэтаноламиновая фракции (Табл.).

Табл. Фосфолипидный состав амфипод (% от суммы всех фосфолипидов, $M \pm m$) (n=10)

Фосфолипиды	<i>G. oceanicus</i>		<i>G. duebeni</i>	
	Лето	Осень	Лето	Осень
Фосфатидилинозитол	15,4±1,7	1,4±0,3 ^a	6,7±0,9 ^b	2,5±1,3
Фосфатидилсерин	0,6±0,1	1,3±0,6	1,3±0,2	0,1±0,1 ^c
Фосфатидилэтаноламин	24,5±3,2	11,6±0,9 ^a	9,0±0,9 ^b	28,2±21,6
Фосфатидилхолин	39,5±2,5	48,3±1,9 ^a	49,7±1,9 ^b	35,5±8,0
Лизофосфатидилхолин	15,3±2,9	34,5±2,5 ^a	30,6±2,7 ^b	32,3±14,8
Сфингомиелин	1,6±0,2	1,5±0,3	1,7±0,1	1,1±0,3
Сумма неидентифицированных компонентов	3,1±0,5	1,5±0,6	1,0±1,0	0,4±0,4

различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении

^a летних и осенних проб *G. oceanicus*

^b летних проб *G. oceanicus* и *G. duebeni*

^c осенних проб *G. oceanicus* и *G. Duebeni*

В осенних пробах были выявлены изменения количества фосфатидилхолина у *G. oceanicus* (+ 22 %) и у *G. duebeni* (- 29 %), что может быть связано с активацией ферментов метаболизма фосфолипидов. Было показано, что при протсинкиназа-С-зависимом пути активации фосфолипазы A_2 основным источником биологически активных эйкозаноидов служат фосфатидилхолин, а точнее содержащиеся в нем арахидоновая (20:4 ω 6) и эйкозапентаеновая (20:5 ω 3) кислоты (Коломийцева и др., 2003). Активность этой фосфолипазы возрастает при воспалительных реакциях, и соответственно увеличивается количество указанных кислот, которые метаболизируются до эйкозаноидов (Ступин, 2005). По нашим данным, суммарное содержание 20:4 ω 6 и 20:5 ω 3 кислот составило у *G. oceanicus* 12-14 % от суммы жирных кислот, у *G. duebeni* 7-9 %. Полученные результаты позволяют предположить, что у *G. oceanicus* происходит интенсивный синтез фосфатидилхолина для использования его в качестве предшественника эйкозаноидов, принимающих участие в иммунном ответе при инвазии гельминтами.

Количество фосфатидилэтаноламина осенью у *G. oceanicus* уменьшалось в 2 раза, у *G. duebeni* напротив, возрастало в 3 раза. Показано, что снижение содержания фосфатидилэтаноламина свидетельствует об интенсификации процессов перекисного окисления липидов, что приводит к торможению роста и развития организма, а при

достаточной интенсивности и (или) продолжительности вызывает патологические изменения и может привести к гибели (Абросимова, Абросимов, 2004). Сказанное позволяет сделать вывод, что изменения в содержании фосфатидилэтаноламина могут быть связаны осенью с возрастом экстенсивности и интенсивности зараженности *G.oceanicus* и снижением этих показателей у *G.duebeni*.

Обращает на себя внимание высокое содержание лизофосфатидилхолина (32-35 % от суммы фосфолипидов). Имеются сведения (Богдан, 2004), что количество этого фосфолипида не превышало 5 %. В осенний период отмечалось повышение количества лизофосфатидилхолина у *G.oceanicus* в 2 раза, а у *G.duebeni* - на 6 %. Биосинтез лизофосфатидилхолина связан у гидробионтов с активацией липолитического фермента фосфолипазы A_2 при различных патологических процессах таких как обморожение, сдавливание, инвазия гельминтами, действие нитритов (Сидоров и др., 1994). Обнаруженное повышение содержания лизолецитина у гаммарид может быть связано, во-первых, с действием ферментов – гидролаз, вызывающих деградацию тканей организма хозяина, а во-вторых, с накоплением его в результате большей скорости биосинтеза, чем метаболической утилизации.

Общее количество легкоокисляемых фракций (фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин, фосфатидилинозитол) в общих липидах исследуемых рачков менялось сезонно. В осенний период наблюдалось значительное снижение его (в 2,8 раза) у *G.oceanicus* и в возрасте (в 1,8 раза) у *G.duebeni*. Показано, что при увеличении содержания легкоокисляемых фосфолипидов происходило повышение антиокислительной активности (АОА) и соответственно уменьшение скорости окислительных реакций приводило к переходу мембран в более «жидкое» состояние, в то время как понижение АОА делает липидную фазу более вязкой (Бурлакова, 1981). Полученные результаты позволяют предположить, что липидный компонент биомембран осенью становится более вязким у *G.oceanicus* и более жидким у *G.duebeni*, по сравнению с летним периодом.

Вариации «жидкокристаллического» состояния липидного бислоя приводит к изменению скоростей реакции с участием мембраносвязанных ферментов. Показателем микровязкости биологических мембран является соотношение холестерина/фосфолипиды. Значения этого коэффициента менялись у исследуемых амфипод неодинаково. В осенних пробах наблюдалось снижение соотношения количества холестерина к фосфолипидам у *G.oceanicus* на 43 %, в то время как у *G.duebeni* – лишь на 3 %. Выявленные изменения приводят, по-видимому, к активации некоторых мембранных ферментов, участвующих в ответной реакции рачков на высокую интенсивность инвазии их паразитами.

Цитохром P-450 является ферментом метаболизма холестерина, влияющего на стабильность биомембран. Основным фосфолипидом биомембран является фосфатидилхолин, который, согласно литературным данным (Бурлакова, 1981), является аллостерическим эффектором цитохрома P-450. Было выявлено *in vitro* (Бурлакова, 1981), что существует прямая зависимость между содержанием фосфатидилхолина и активностью этого фермента. Следовательно, по изменению активности этого фермента можно составить представление о некоторых ключевых особенностях липидного обмена в мембранах клеток.

В настоящей работе при изучении количества фосфатидилхолина и активности P-450 наблюдались более высокие значения обоих показателей у *G.oceanicus*, по сравнению с *G.duebeni*. Было выявлено, что ферментативная активность у гаммарид, собранных осенью, составила у *G.oceanicus* и *G.duebeni* $0,0028 \pm 0,0011$ и $0,0018 \pm 0,0006$ мкг парааминофенола / 1 г сырого веса ткани / мин соответственно. Проявление осенью активности цитохрома P-450 у гаммарид является частью реакций клеточного иммунитета. Известно, что в месте внедрения или локализации паразита возникает воспалительный процесс, одним из этапов которого у беспозвоночных является

образование фиброзно-лейкоцитарной капсулы (Юрлова и др., 2000). Между внутренней поверхностью последней и телом паразита сохраняется узкий просвет, где накапливаются цитотоксические факторы (Алтаев, Полевщиков, 2004). В качестве этих факторов могут выступать ферменты, например пероксидазные каскады (Сопноrs et al., 1991), и, в частности, цитохром Р-450, обнаруживающий пероксидазную активность.

Таким образом, инвазия гельминтами влияет на состав и метаболизм липидов в системе хозяин – паразит. Под воздействием гельминтов в амфиподах происходит снижение содержания запасных липидов за счет их расходования самими рачками, увеличение доли лизосоединений как результат активации фосфолипаз. Изменения «жидкокристаллического» состояния мембранных липидов направлены на активацию ферментов, в частности цитохрома Р-450, участвующего в иммунном ответе на зараженность паразитами.

Работа выполнена при поддержке грантов Президента РФ для поддержки ведущих научных школ НШ-4310.2006.4, РФФИ (№ 02.444.11.7135) и проекта РГНФ (проект № 05-04-97517).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абросимова Н.А., Абросимов С.С. Стабилизация процессов окисления липидов у рыб при ухудшении выращивания // Международная конференция «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов», 6-9 сент. 2004 г. [материалы]. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2004. – С.11.
2. Алтаев Г.Л., Полевщиков А.В. Защитные реакции брюхоногих моллюсков. I. Клеточные реакции // Паразитология. – 2004. – 38. - № 4. - С. 342 – 351.
3. Богдан В.В. Липидный состав некоторых видов ракообразных северных морей // Международная конференция «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов», 6-9 сентября 2004 г. [материалы]. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2005. – С. 8 – 13.
4. Богдан В.В., Михкиева В.С. Липиды и циклические нуклеотиды в тканях годовиков карпа при протозойных инвазиях // Биохимия молоди рыб в зимовальный период. – Петрозаводск: Карельский филиал АН СССР, - 1987. – С. 106-110.
5. Бурлакова Е.Б. Роль липидов в процессе передачи информации в клетке // Биохимия липидов и их роль в обмене веществ. – М.: Наука, - С. 23 – 34.
6. Гинецинский А.Г. Физиологические механизмы водно-солевого равновесия. М.-Л.: Наука, - 1964. – 426 с.
7. Коломийцева И.К., Перепелкина Н.И., Патрушев И.В., Попов В.И. Роль липидов в сборке эндоплазматического ретикулума и диктиосом нейрональных клеток коры головного мозга якутского суслика при гибернации // Биохимия, - 2003. - Т. 68. - Вып. 7. - С. 954-967.
8. Крепс Е.М. Липиды клеточных мембран. – Л.: Наука, - 1981. – 339 с.
9. Проссер К. Л., Браун Ф. Сравнительная физиология животных. - Л.: Наука, - 1967. – 766 с.
10. Сидоров В.С., Лизенко Е.И., Рипатти П.О. Эволюционные аспекты экологической биохимии липидов рыб // Теоретические аспекты экологической биохимии. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, - 1994. – С. 5-37.
11. Слоним А.Д. Экологическая физиология животных. - М.: Высшая школа, - 1971. - 447 с.
12. Сидоров В.С., Высоцкая Р.У., Смирнов Л.П., Гурьянова С.Д. Сравнительная биохимия гельминтов рыб: Аминокислоты, белки, липиды. - Л.: Наука, - 1989. - 152 с.
13. Ступин А.В. Эйкозаноиды и полиненасыщенные жирные кислоты при хронических воспалительных дерматозах // Pacific Medical J. – 2005. - N 1. - P. 88 - 90.
14. Юрлова Н.И., Водяницкая С.Н., Глушов В.В. Анализ взаимоотношений в системе паразит – хозяин (на примере моллюсков и трематод) // Успехи совр. биологии. – 2000. - Т.120. - №6. - С. 573 – 580.

15. Arduini A., Peschechera A., Dotori S., Sciarroni A.F., Serafini F. and Calvani M. High performance liquid chromatography of long-chain acylcarnitini and phospholipids in fatty acid turnover studies // J. Lipid Research. - 1996. - Vol. 37. - P. 684 – 689.
16. Connors V.A., Lodes M.J., Yoshino T.P. Identification of Schistosoma mansoni sporocyst excretory - secretory antioxidant molecule and its effect on superoxide production by Biomphalaria glabrata hemocytes // Journ. Invertebr. Pathol. 1991. Vol. 58. P. 387 – 395.
17. Mazel P. Experiments Illustrating Drug Metabolism In Vitro // Fundamental of Drug Metabolism and Drug Disposition, Baltimore: The Williams & Wilkins Company. – 1972. – Chapter 27. – P. 546-582.
18. Saether O., Ellingsen T. E. and Mohr V. Lipids of North Atlantic krill // J. of Lipid Research. - 1986. - Vol. 27. - P. 274-285.

**THE INFLUENCE OF HELMINTS INVASION ON LIPID METABOLISM INDEXES OF
WHITE SEA LITTORAL GAMMARIDS**

N.P. Tkatch, D.N. Morozov, R.U. Visotskaja,

Studied lipid metabolism of Gammarids infected by helminths. It was shown, that in researched cancers the amount of spare lipids was reduced and the contents of lipophospholipids was raised.

СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА ВЕСЕННЕЙ ВИРЕМИИ КАРПА.

I. ТРАДИЦИОННЫЕ ВАКЦИНЫ

И.С. Щелкунов, В.С. Арзипаева

*ВНИИ ветеринарной вирусологии и микробиологии Россельхозакадемии, г. Покров, Россия
shchelkun@yahoo.com*

Предметом первостепенной важности в мировой аквакультуре сегодня является защита объектов разведения от возбудителей особо опасных и МЭБ-декларируемых заболеваний, в том числе и от ВВК. В этой связи, вакцинация, как наиболее совершенный и экологически безопасный метод профилактики заразных болезней, завоевывает возрастающую популярность в мировой рыбоводной практике.

Традиционно специфическая профилактика заразных болезней человека и животных была основана на применении двух основных типов вакцин - инактивированных и аттенуированных. По этому же пути шло развитие и вакцинологии рыб, в т.ч. разработка вакцин против ВВК.

Первая вакцина, предложенная убежденным сторонником вирусной этиологии краснухи Г.Д. Гончаровым (1951а,б) еще на заре современной ихтиовирусологии, представляла собой грубый антиген, полученный на основе инактивированной 0,2%-ным формалином суспензии воспаленной кожи и внутренних органов больных краснухой рыб. При лабораторном испытании изготовленной таким образом вакцины N. Fijan и S. Svetnich (1969) действительно показали наличие защиты, однако в полной мере оценить ее эффективность в то время было невозможно в силу неясности этиологической структуры болезни.

Открытие вируса-возбудителя подстегнуло исследования по изучению защитных механизмов у карпа и разработке средств и методов вакцинации против ВВК. В 1970-е годы такие исследования активно ведутся в Австрии, Югославии, Германии, Великобритании, Чехословакии и СССР.

В небольшой, но емкой публикации O. Kölbl (1975) впервые продемонстрировал возможность пероральной вакцинации против ВВК, предложил способ аттенуации вируса без потери им иммуногенных свойств, указал на важное значение температуры воды, как фактора, от которого в значительной мере зависит защитный эффект вакцинации, и на этой основе теоретически обосновал перспективность и преимущества осенней вакцинации рыб. Эти положения стали фундаментом для последующих разработок по созданию австрийской пероральной вакцины против ВВК и стратегии вакцинации ею рыб.

Подкрепляя выводы данной работы, N. Fijan с соавторами (1977 а,б) в серии лабораторных и полевых экспериментов с частично аттенуированным вирусом, выполненных на годовиках и более старших карпах на протяжении 1972-1977 г.г., показали, что выработка вируснейтрализующих антител при низких температурах воды (13-14°C) замедленна и нестабильна, тогда как при 25°C ответ быстрый, сильный и более ровный. Внутривбрюшинная (в/б) вакцинация рыб при температуре воды в прудах выше 19-20°C (конец лета – осень) приводила к появлению (спустя 1 – 2 месяца) антител (1:8 – 1:16) у 38,2% рыб и развитию защиты от экспериментального заражения вирусом (выживаемость в опытной группе 95%, в контроле 45%), сохранившейся на протяжении всей зимовки и далее (не менее 11 месяцев). Ответ у рыб, вакцинированных перорально, был менее выражен (выживаемость 78%) и более короток (около 9 месяцев). Из результатов работы было ясно, что иммунизирующая доза вакцины при пероральном введении должна быть, как минимум, в 5 раз больше, чем при инъекции. В те же годы при широкомасштабных полевых испытаниях живой пероральной вакцины на сеголетках карпа было показано развитие защиты от экспериментального заражения, продолжавшейся в естественных условиях не менее

7,5 месяцев (гибель в контроле 86% против 36% в группе вакцинированных рыб). При этом поствакцинальных антител обнаружено не было. Атенуация вируса достигалась пассированием на диплоидных культурах клеток человека, клетках ВНК-21 и FHM. Вирус замещивали в тестообразный корм с 30%-ным содержанием белка. Другие детали вакцинации не приводятся (Fijan, 1988).

B. Hill (1977) проводил эксперимент по иммунизации карпа вирулентным вирусом с помощью метода ванн при температуре 15°C. Карп оказался высоко устойчив к такому заражению. Спустя 10 недель у выживших рыб вируснейтрализующие антитела обнаружены не были, однако при последующем внутрибрюшинном введении вируса выживаемость в группе иммунизированных рыб была существенно выше, чем в контрольной. При этом в сыворотках рыб-реконвалесцентов был обнаружен достаточно высокий уровень антител. Полученные данные показывают, что защитный эффект иммунизации (вакцинации) против ВВК не всегда связан с уровнем циркулирующих антител к вирусу, и для развития более выраженного иммунного ответа требуется более сильное антигенное раздражение.

Исследуя влияние температуры на иммунный ответ карпов и их устойчивость к заражению вирусом, W. Ahne (1980, 1986) показал, что при 10°C за 4 недели имела место 90%-ная гибель в/б зараженных годовиков при отсутствии выработки ими антител, тогда как при 20°C выживали все зараженные особи, а в их сыворотках обнаруживали антитела в значительных титрах (до 1:256). При увеличении абсолютной дозы заражения в 100 раз (до 10⁷ТЦД₅₀/рыба) на карпах массой 750 г продукция антител в эти же сроки была еще выше (до 1:1024), а последующее снижение температуры до 10°C и заражение вирусом не приводили к развитию заболевания. Интересно, что у рыб массой 750 г, инфицированных вирусом методом ванн и содержавшихся при трех разных температурах воды, наблюдали выработку антител примерно одного уровня, но в разные сроки после заражения (1:256, 8 недель, 20°C; 1:256, 9 недель, 15°C и 1:128, 10 недель, 10°C). Результаты работы подтвердили важное значение для развития иммунного ответа рыб температуры, дозы вируса и способа иммунизации. При этом было показано, что выработка антител, по крайней мере, у взрослого карпа может происходить даже при низкой (10°C) температуре воды.

Осознавая трудоемкость применения инъекционного метода при массовой вакцинации рыб в полевых условиях, N. Fijan и Z. Matašin (1980) провели сравнительные испытания двух методов групповой вакцинации: гиперосмотической инфльтрации (ГИ) с помощью 3%-ного раствора NaCl и метода ванн. Испытания с использованием в качестве модельной вакцины живого вирулентного вируса показали, что ГИ не приводила к повышению проницаемости внешних покровов рыб для вируса, и тем самым не имела практической ценности. В свою очередь, при сравнении двух вариантов метода ванн – щадящего и жесткого – степень создаваемой защиты была примерно одинаковой, что открывало дорогу для использования последнего на практике (массовое соотношение рыба: вода равнялось 1:3, экспозиция 1 ч без аэрации). В работе была подтверждена высокая эффективность вакцинации при температуре выше 20°C. Примечательно, что в расчете на одну особь иммунизирующая доза вируса при вакцинации методом ванн в 150 раз превосходила таковую при его инъекции.

На фоне обнадеживающих результатов, полученных в работах с прототипами живых вакцин, материалы испытаний убитых вакцин выглядели достаточно скромно.

В 1977 г. Е.Ф. Осадчей была предложена, а в 1979 г. запатентована депонированная гидроокись алюминия (ГОА) формолвакцина против ВВК, краткий отчет об испытаниях которой был опубликован двумя годами позднее (Осадчая, Просыная, 1981). Исходя из предположения, что в развитии синдрома краснухи принимают участие как *R. carpio*, так и вторичные бактерии *A. punctata* и *Pseudomonas fluorescens*, авторы испытывали три вакцинных препарата: 1) вышеука-

занную вакцину на основе вирусного штамма ГТ-82 в титре $10^5 - 10^7$ ТЦД₅₀/мл, накопленного на клетках ЕРС; 2) противовирусно-бактериальную вакцину, в которую, помимо вируса, были включены упомянутые выше бактерии и их токсины; 3) антибактериальную вакцину, состоящую только из бактерий и их токсинов. Годовикам карпа препараты вводили в кишечник зондом в дозе 0,2 мл/рыба, а карпам старших возрастов – в/б в дозе 1 мл/кг массы тела. Рыб содержали в аквариумах и заражали вирусом и вирулентными культурами *A. punctata* и *P. fluorescens*. После введения антивирусной вакцины устойчивость к заражению сохранялась у 100% рыб в течение 30 дней, а после бактериальной – у 20-40% рыб до 55 дней. Титр антител к вирусу достиг максимума (1:640) через 4 недели после вакцинации и снижался до 1:40 к 45 дню, т. е. антитела циркулировали дольше, чем наблюдалась устойчивость рыб к заражению. К сожалению, полнее оценить достоверность представленных авторами данных не представляется возможным по причине отсутствия в публикации необходимых сведений.

Испытанная в Югославии депонированная ГОА формолвакцина через месяц после в/б инъекции индуцировала образование вируснейтрализующих антител (1:8 – 1:32) у 50% карпов при температуре 13°C, но не приводила к развитию защиты от заражения (Matašin et al., 1988, цит. по Fijan, 1988). При полевых испытаниях вакцину вводили весной (11-13°C) в дозе $1,4 \times 10^4$ ТЦД₅₀/рыба, добавив в нее канамицин. Однако оценить ее эффективность не удалось, т.к. естественного развития заболевания не произошло, а на экспериментальное заражение рыба также не была направлена.

Недепонированный формализированный вирус, введенный годовикам карпа в дозе $10^{9,38}$ ТЦД₅₀/рыба, при температуре воды 13-15°C обеспечивал 100%-ную защиту рыб от последующего (через 8-10 недель) заражения. Однако, при снижении дозы убитого вируса до экономически более оправданной ($10^{8,55}$ ТЦД₅₀/рыба) защитное действие исчезало (Шелкунов и др., 2005).

В Чехословакии в 1976 г. была разработана убитая вакцина, ставшая прототипом для выпуска с 1980 г. компанией «Биовета» первой коммерческой лиофилизированной вакцины против ВВК, включавшей два вирусных изолята (САРР V-263 и САРР V-264), инактивированные бета-пропиолактоном. Полевые испытания вакцины вели с 1976 г. на протяжении ряда лет. Вакцину вводили в/б предтоварным карпам (двухлетки – двухгодовики) весной или (реже) осенью в дозе 0,5 - 1 мл (титр $10^6 - 10^{6,5}$ ТЦД₅₀/мл) вместе с неполным адьювантом Фрейнда. По заявлению авторов, устойчивость к заболеванию развивалась уже через 5-9 дней при температуре воды выше 10°C и сохранялась на протяжении 11 месяцев. В своих публикациях авторы приводили многочисленные детали массовой вакцинации рыб, демонстрируя в большинстве случаев превышение выживаемости вакцинированных рыб по сравнению с контрольными. В то же время, точной оценке защитного потенциала вакцины при испытаниях в производственных условиях мешали вспышки эритродерматита, отчасти схожего по клиническому проявлению с ВВК, вялое течение заболевания в хозяйствах, где проводили испытания, нерегулярное наличие контрольных групп рыб, и, что самое главное, отсутствие вирусологического подтверждения диагноза на ВВК. Через 3 – 3,5 месяца в сыворотках вакцинированных рыб обнаруживали вируснейтрализующие антитела в низких или умеренных титрах (до 1:32) (Tesarčík et al., 1978; 1984; Tesarčík & Masuga, 1981; 1983; Masuga et al., 1983). Безусловно, в/б введение вакцины в производственных условиях было весьма трудоемко. Однако, главным технологическим недостатком, на наш взгляд, была привязанность вакцинации с сезонным обловом прудов, проводившихся весной и осенью при температурах 5 – 15°C, при которых иммунный ответ карпа в значительной степени подавлен. Все эти причины и привели, вероятно, к прекращению промышленного выпуска данной вакцины.

Наиболее разносторонние исследования по разработке живой вакцины против ВВК были проведены в Австрии. О. Kölbl (1980) в экспериментах на 3-месячных

карпах массой 1 – 2 г показал, что при переходе температуры воды за 15°C наступает резкое повышение неспецифической резистентности рыб к заражению вирулентным штаммом 254а вируса ВВК 4-9-го пассажей на постоянной линии клеток карпа ЕРС. При дальнейшем пассировании (до 279 пассажа) вирулентность вируса на карпе падала почти до нуля, но одновременно с аттенуацией утрачивалась и его иммуногенность. Иммунофлуоресцентное выявление вируса у зараженных через воду карпов показало, что наибольшее его количество находилось в пищеварительном тракте и было заметно ниже в почках, гепатопанкреасе и других органах. Это говорит о том, что пищеварительный тракт, вероятно, может являться местом сильного антигенного раздражения, что позволяет считать разработку пероральной вакцины против ВВК оправданной. При вакцинации через воду полугодовых карпов двумя аттенуированными пассированием на фибробластах цыпленка штаммами вируса с разной остаточной вирулентностью (гибель рыб 39,6% и 1,7%) более вирулентный штамм приводил к более выраженной защите реконвалесцентов от последующего заражения. Аналогичные данные были получены и при пероральной вакцинации карпов этими вирусными штаммами. Аттенуация вируса пассированием на фибробластах цыпленка, в отличие от такового на клетках ЕРС, обеспечивала сохранение его иммуногенных (протективных) свойств.

Позднее О. Kölbl (1990) усовершенствовал и запатентовал процедуру аттенуации вируса, получив два вакцинных штамма (“А” и “В”) апатогенных для мальков карпа массой 0,25 г. при инфицировании методом ванн. Один из этих штаммов (“В”) обладал высоким протективным действием, продемонстрировав индекс защиты (ИЗ) от заражения вирулентным вирусом равный 61,6% (гибель в контроле - 100%). Оба штамма, примененные методом ванн, были апатогенны для двухгодовиков карпа (массой 25-60 г) и при температуре воды 10°C обеспечивали полную защиту рыб от последующего заражения через 98 и даже 25 дней (гибель в контроле - 100%). Столь быстрое (25 сут) развитие поствакцинальной устойчивости при 10°C заставляло усомниться в бытовавшем мнении (Avtalion et al., 1973), что карп не способен адекватно отвечать на антигенную стимуляцию при низких температурах воды. Однако, не следует забывать, что вакцина представляла собой живой вирус, и полученная защита могла быть обусловлена не иммунным ответом на антиген, а выработкой интерферона в организме рыб. Двукратная, с интервалом 33 дня, вакцинация годовиков (массой 7-15 г) при 20°C обеспечивала надежную защиту от последующего заражения при 10°C (гибель в контроле - 100%).

Успех в разработке живой вакцины позволил приступить к ее полевым испытаниям. За 5-летний период в Австрии ею было провакцинировано 760000 двухлетов и около 50000 сеголетков карпа в нескольких прудовых хозяйствах. Вакцинацию проводили перорально двукратно с интервалом в 1 месяц, начиная с конца июня. Для этого использовали вакцину, замешанную в соевый жмых. Другие детали вакцинации не приводятся. Вакцинация привела к прекращению вспышек ВВК, повышению выхода рыбы из зимовки и улучшению ее кондиции. Продуктивность отдельных рыбоводных хозяйств при этом возросла в 4-5 раз. Случаев реверсии вакцины зарегистрировано не было. Лабораторное заражение выборки из 10-20 отловленных из прудов рыб показало высокую степень создаваемой защиты (ИЗ 81,8 – 93,4%). В популяциях рыб, зараженных цестодами и кровепаразитами, индекс защиты был ниже – 72%. (Kölbl, 1990). К сожалению, в работе отсутствует информация о наличии контрольных прудов и результатах вирусологических исследований прудовой рыбы.

Полевые испытания разработанной пероральной вакцины против ВВК продолжались в Австрии и позднее. Вакцинный штамм прошел 200 пассажей в культуре клеток фибробластов цыпленка. Вакцину готовили на основе корма из соевого жмыха, желатина и некоторых других ингредиентов. Регулярная вакцинация

двухлетков карпа с конца июля по август привела к снижению частоты вспышек ВВК в хозяйствах до 1% (Heistinger, Novotny, 2001). Нам не известно, прошла ли данная вакцина лицензирование на право промышленного применения.

Резюмируя сказанное, можно сделать следующие выводы.

К настоящему времени в целом завершены разработки по созданию обоих типов традиционных вакцин против ВВК (инактивированных и аттенуированных) и проведены их полевые испытания. Испытанные три способа вакцинации рыб – в/б и инъекция, иммерсия (ванны), скармливание – показали свою эффективность.

Наиболее экономичным с точки зрения расходования вакцины является инъекционный метод вакцинации, однако, он же и наиболее трудоемок для применения в производственных условиях. Наиболее удобна для массовой обработки рыб пероральная вакцина, но ее иммунизирующая доза, как и при иммерсионной вакцинации, должна превосходить таковую для инъекционной вакцины в десятки и сотни раз.

Продолжительность защиты в условиях прудовых хозяйств зависела от типа вакцины и способа вакцинации и доходила до 9 (пероральные вакцины) – 11 (инъекционные вакцины) месяцев.

Защитное действие более выражено при вакцинации в воде с температурой 19–20°C и выше, нежели при более низкой температуре. У рыб, вакцинированных в таких условиях, защита сохраняется затем и при низких (зимних) температурах воды. Поэтому следует отдавать предпочтение проведению вакцинации со второй половины лета до начала осени, и пероральная доставка вакцины является наиболее технологичным методом массовой вакцинации рыб в прудах в это время. Живая вакцина может индуцировать защиту и при низкой температуре воды (10°C), но механизм ее, вероятно, обусловлен факторами неспецифической резистентности рыб (интерферон).

Полевые испытания создаваемых вакцин затрудняются сложностью этиологической структуры синдрома краснухи, непредсказуемостью природных вспышек заболевания, факторами производственного характера и т.д., поэтому важное значение для оценки создаваемой в производственных условиях защиты имеет лабораторное заражение выборочных вакцинированных и контрольных рыб.

Не установлено корреляции между наличием поствакцинальных вируснейтрализующих антител и степенью формируемой защиты. Защитный эффект может наблюдаться при отсутствии антител, и, напротив, наличие антител не гарантирует прочной защиты. Вместе с тем, необходимо отметить, что нейтрализация вируса ВВК антителами рыб носит комплемент-зависимый характер, и добавление комплемента карпа в реакционную смесь повышает чувствительность выявления антител в среднем в 10 раз (Shchelkunova, Shchelkunov, 1991). Клеточные факторы специфического иммунитета против ВВК остаются неизученными.

С учетом продолжающегося распространения ВВК по территории России, разработка отечественной живой пероральной вакцины против заболевания может оказаться весьма перспективной. Основные задачи, которые предстоит решить на этом пути, включают подбор вакцинного штамма, отработку методов его введения в корма для карпа, технологии вакцинации и изучение напряженности создаваемого иммунитета, оценку реверсивных свойств штамма, разработку метода его идентификации и дифференциации индуцируемого им иммунного ответа от ответа на природную инфекцию. Работы в этом направлении начаты в ГНУ ВНИИВВиМ.

ЛИТЕРАТУРА

- Гончаров, Г.Д. Противовирусная вакцина для профилактики краснухи у карпа / Г.Д. Гончаров // Доклады АН СССР. Новая серия. – 1951а. – Т. 78. - №3. – С.56-57.
Гончаров, Г.Д. Новый метод борьбы с краснухой карпа / Г.Д. Гончаров // Рыбное хозяйство. – 1951б. – Т.27. - №6. – С. 56.

- Осадчая, Е.Ф. Вакцина для профилактики и лечения краснухи у рыб.(11) 649380
24967501128- 13(22) 09.06.77 2(51) A01K61/00 C12 K 5/00 (53) 639.331.7
(21) (088.8). Бюллетень изобретений. – 1979. - №8.
- Осадчая, Е.Ф. Результаты исследований по вакцинации карпов против краснухи / Е.Ф. Осадчая, В.В. Просяная // Всесоюз. совещание «Организация мероприятий по борьбе с инфекционными болезнями рыб. 4-й Всесоюзный симпозиум по инфекционным болезням рыб. Тезисы докладов. Москва, 12-16 октября 1981.– С. 55-56.
- Щелкунов, И.С. Иммунопротективные свойства экспериментальных рекомбинантных вакцин против весенней вiremии карпа /И.С. Щелкунов, О.С. Воронова, Г.Н. Николенко, С.Ф. Орешкова, Т.И. Щелкунова, А.А. Ильичев // Биотехнология.- 2005.- №6. - С. 44-53.
- Ahne, W. Rhabdovirus carpio-Infektion beim Karpfen (Cyprinus carpio): Untersuchungen über Reaktionen des Wirtorganismus / W. Ahne // Fortschr. Veterinärmed. - 1980. – Bd. 30. – S. 180-183.
- Ahne, W. The influence of environmental temperature and infection route on the immune response of carp (Cyprinus carpio) to spring viraemia of carp virus (SVCV) / W. Ahne // Vet. Immunol. Immunopathol. – 1986. – 12. – P. 383-386.
- Avtalion, R.A. Influence of environmental temperature on the immune response in fish / R.A. Avtalion, A. Wojdani, Z. Malik, R. Sharabani, M. Duczyminer // Current Topics in Microbiology and Immunology. – 1973. – V.61. – P. 1-35.
- Fijan, N. Izvjestaj o istrazivanjima imunitatne reaktivnosti sarana / N. Fijan, S. Cvetnich // Ljetopis Jugoslavenske Akademije znanosti i umjetnosti. – 1969. – V. 73. – P. 391-395.
- Fijan, N. Spring viraemia of carp: preliminary experiments on vaccination by exposure to virus in water / N. Fijan, Z. Matašin // Veterinarski arhiv. – 1980. –V. 50. – P. 215-220.
- Fijan, N. Hyperimmunization of carp with *Rhabdovirus carpio* / N. Fijan, Z. Petrinec, Z. Stancl, M. Dorson, M. LeBerre // Bull. Off. Int. Epiz. 1977a. V.87. N. 5-6. P. 439-440.
- Fijan, N. Vaccination of carp against spring viraemia: comparison of intraperitoneal and peroral application of live virus to fish kept in ponds / . Fijan, Z. Petrinec, Z. Stancl, N. Kezic, E. Teskeredzic // Bull. Off. Int. Epiz. – 1977b. – V.87. – N. 5-6. – P. 441-442.
- Heistingner, H. Experiences in oral vaccination of carps against SVC (spring viraemia of carp)/ H. Heistingner, N. Novotny// 10-th International Conference «Diseases of Fish and Shellfish». -Dublin, Ireland. Abstract book, 2001. – O-110.
- Hill, B. J. Studies on SVC virulence and immunization/ B. J. Hill // Bull. Off. int. Epiz. - 1977. – V. 87. – P. 455-456.
- Kölbl, O. Neue Erkenntnisse über die Bauchwassersucht bei Karpfen / O. Kölbl // Österreichs Fischerei. – 1975. – Bd.28. – N.5/6. – S.69-72.
- Kölbl, O. Diagnostic de la viremie printaniere de la Carpe et essais d'immunization contre cette maladie / O. Kölbl // Bul. Off. int. Epiz. – 1980. – V. 92. – No 9-10. – P. 1055-1068.
- Kölbl, O. Entwicklung eines Impfstoffes gegen die Frühlingvirämie der Karpfen (spring viraemia of carp, SVC); Feldversuchserfahrungen / O. Kölbl // Tierärztl. Umschau. - 1990. – Bd.45. – S.624-629.
- Macura, B. Survey of methods of specific immunoprophylaxis of spring viraemia of carp in Czechoslovakia / B. Macura, J. Tesarčík, Rehulka J. // Prace VURH Vodnany. – 1983. – V.12. – P.50-56.
- Shchelkunova, T.I. Enhanced neutralization of spring viraemia of carp virus by fish antibodies in presence of complement / T.I. Shchelkunova, I.S. Shchelkunov // Abstracts of the Vth Int. Conf. EAFP “Diseases of Fish and Shellfish”, Budapest, 1991, P. 95.

Tesarcik, J. Full scale vaccination of carp against spring viraemia in Czechoslovakia / J. Tesarcik, B. Macura // EIFAC Technical Consultation on Prophylactic Measures in Fish Culture. Bern, Switzerland, 1983.–P.1-10.

Tesarcik, J. Field carp vaccination against spring viraemia on the fish farms of the state fisheries / J. Tesarcik, B. Macura // Bull.VURH Vodnany.–1981.–V.4. - P.3–11.

Tesarcik, J. Summarized results of pilot vaccination of carp against spring viraemia in the Czech socialist republic / J. Tesarcik, B. Macura, J. Rehulka, M. Hrdonka, V. Konašova // Prace VURH Vodnany. – 1984. - V.13. – P.68-74.

Tesarcik, J. Evaluation of a broader clinical experiment with the application of a biopreparation for the control of the spring viraemia of carp in 1977 // J.Tesarcik, B. Macura, J. Rehulka // Bull.VURH Vodnany.–1978.–V.4. - P.3-6.

SPECIFIC PROPHYLAXIS OF SPRING VIRAEMIA OF CARP. I. TRADITIONAL VACCINES

I.S. Shchelkunov, V.S. Arzanyaeva.

All Russia Research Institute of Veterinary Virology and Microbiology

shchelkun@yahoo.com

The history of traditional SVC vaccine development is presented. Both inactivated and attenuated vaccines are discussed. Efficacy of injection, bath and oral vaccine delivery methods are compared. It is concluded that the oral live attenuated SVC vaccine might be an essential tool to be developed to prevent spread of the disease in Russia in the future.

ЧАСТЬ 5. ПРОБЛЕМЫ ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ОБЪЕКТОВ АКВАКУЛЬТУРЫ

МОНИТОРИНГ ИНФЕКЦИОННЫХ И ИНВАЗИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ РАЗВОДИМЫХ ВИДОВ РЫБ В КАЛИНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Авдеева Е. В.

Калининградский государственный технический университет,

Калининград, Россия

elavd@mail.ru

Выращивание рыбы в Калининградской области осуществляется в рыбоводных хозяйствах различного типа. Основными объектами аквакультуры являются карп и форель. Сотрудниками лаборатории ихтиопатологии Калининградского государственного технического университета на протяжении многих лет проводится ихтиопатологический контроль за разводимой на хозяйствах рыбой.

Форсельное садковое хозяйство «Прибрежное» занимается разведением форели. Оно расположено в водоеме, образованном после выработки песчано-гравийного карьера у поселка Прибрежное. Водоем солоноватоводный, площадью 100 га, связан с Калининградским заливом. Глубины: средняя 12 м, максимальная 20 м. Источники водоснабжения – ключи, атмосферные осадки, Калининградский залив. Основное направление работы хозяйства – получение икры, посадочного материала форели, а также содержание ремонтно-маточного стада. Выращивание форели старших возрастных групп ведется в садках, расположенных в карьере.

На хозяйстве с 1999 года нами проводится мониторинг эпизоотической ситуации в отношении бактериальных инфекций у выращиваемой форели. В качественном составе микрофлоры рыбы постоянно обнаруживали условно-патогенных бактерий родов *Aeromonas* и *Pseudomonas*, санитарно-показательных микроорганизмов, грамположительных бактерий рода *Bacillus* и кокковые формы. Была установлена корреляция между патологоанатомическими изменениями внутренних органов форели и заражением их потенциальными возбудителями бактериальных болезней рыб. У исследованных рыб наблюдали разжижение почек, мозаичную окраску печени с небольшими гемorragиями по краю органа, отсутствие желчного пузыря. Особенностью микрофлоры форели было доминирование неферментирующих условно-патогенных бактерий рода *Pseudomonas*, которые выделяли из всех внутренних органов рыбы. В осенние периоды исследования зафиксировали симптомы бактериальной болезни у форели, при этом микробный пейзаж был полностью представлен псевдомонадами. Причем бактерии этого рода были высяяны из крови, что свидетельствует о развитии септического процесса у рыб. В последующие годы исследований бактерии рода *Pseudomonas* также были доминирующей группой в микробиоценозе форели. Условно-патогенных бактерий рода *Aeromonas* выделяли из посевов кожи, печени, желчного пузыря, кишечника, почек. Но встречаемость аэромонад в микрофлоре форели была единичной. Санитарно-показательные микроорганизмы родов *Citrobacter*, *Enterobacter* в микрофлоре рыбы также встречались в небольших количествах. Грамположительная микрофлора, относящаяся к естественной микрофлоре рыбы и среды ее обитания, была представлена бациллами и кокковыми формами бактерий родов *Micrococcus*, *Streptococcus*. Вспышек инфекционных заболеваний в форельном рыбоводном хозяйстве «Прибрежное» за годы исследований мы не регистрировали.

При паразитологическом исследовании у форели обнаружено 6 видов паразитических организмов, из которых паразитические инфузории, цестоды и

трематоды представлены по одному виду, а паразитические ракообразные – тремя видами. Триходины встречались редко и не имели патогенного значения для выращиваемой форели. У сеголетков, двухлетков и трехлетков радужной форели отмечено незначительное заражение паразитическими ракообразными *Argulus foliaceus* и *Caligus lacustris*. Они не представляли опасности для разводимой рыбы. Наибольшую опасность при садковом выращивании представляли *Ergasilus sieboldi*, плероцерквиды *Triaenophorus nodulosus*, метацеркарии трематод рода *Diplostomum*. Вспышка триенофороза в хозяйстве была отмечена в 1989 году и гибель рыбы достигала 100% (Авдеева, Евдокимова, 1998). В остальные годы (1990 – 2005 гг.) экстенсивность заражения колебалась от 15 до 50% при интенсивности от 2 до 10 экземпляров на рыбу. В 1990 году *T. nodulosus* было поражено 50% форели, в последующие два года наблюдали спад заражения до 15-25%, в 1994-1995 годах зараженность рыбы повысилась до 30%, а с 1995 по 2005 гг. понизилась до 20% (Авдеева, 1995). Вспышка триенофороза форели в 1989 году была вызвана сильным повышением температуры воздуха и воды (до 30° С). Также паразитологический анализ форели, выловленной из карьера, показал почти полное отсутствие этого паразита. Причиной заражения форели в садках послужил завоз рыбы. Паразитические ракообразные *E. sieboldi* в структуре системы паразит-хозяин заражали рыб значительно: экстенсивность заражения составляла 100%, интенсивность в отдельные годы исследования доходила до 500 экземпляров на рыбу. Но паразит никогда не вызывал гибели рыб. Садковая линия в хозяйстве располагается в озере Форелевом, где создаются благоприятные экологические условия для размножения данного вида. При выращивании рыб в водоемах Северо-Запада в теплые летние месяцы характерно значительное заражение рыбы *E. sieboldi* в мелких водоемах. У форели в садках также отмечали высокий процент заражения метацеркариями диплостомумов (интенсивность инвазии от 1 до 38 экземпляров на рыбу, экстенсивность до 100%). Это связано с тем, что садки установлены у берега на небольшой глубине. В береговой мелководной зоне скапливается значительное количество моллюсков, продуцируемые ими церкарии активно нападают на рыб в садках. По берегам гнездятся рыбоядные птицы.

Учебно-опытное рыбноводное хозяйство функционирует как полностью карповое хозяйство с естественным нерестом производителей. Общая площадь рыбноводного хозяйства составляет 22 га, а прудовая площадь – 9 га. Источником водоснабжения является Чистый пруд. Вода поступает самотеком в пруды хозяйства.

Бактериологические исследования прудового карпа нами были начаты в 1982 году. При изучении состава микрофлоры сеголетков и годовиков карпа было установлено доминирование условно-патогенных аэромонад и псевдомонад. Аэромонады контаминировали в основном паренхиматозные органы рыбы и желудочно-кишечный тракт. Численность псевдомонад в различные годы менялась, в основном их обнаруживали на жабрах рыбы. Во все периоды наблюдений в качестве сопутствующей флоры из посевов органов карпа выделяли бактерий рода *Vacillus* и кокковые формы. В последние годы в хозяйстве отмечается увеличение обсемененности некоторых органов рыбы энтеробактериями, которые вытесняют другие группы бактерий. В первые годы исследований в основном регистрировали бактерий рода *Proteus*, в последующие – бактерий рода *Enterobacter*. Присутствие в рыбе условно-патогенных бактерий, а также бактерий кишечной группы на протяжении ряда лет связано с отсутствием очистки и недостаточной дезинфекцией воды.

При паразитологическом исследовании карпа в его паразитофауне обнаружили 26 видов паразитов. Основу паразитофауны карпа составляют паразиты с прямым циклом развития (76,8%). На теле и жабрах рыбы обнаруживали жгутиконосцев *Costia piscatrix*, которые попали в хозяйство при завозе рыбы. Наиболее карпа поражали инфузории *Trichodina acuta* и *Chilodonella piscicola* (46,6%). Быстрому развитию инфузорий способствовала хорошая прогреваемость прудов, где обитает карп, и

развитие высшей водной растительности по берегам. Остальные виды простейших поражали карпа с экстенсивностью от 6,6 до 13,3%. Моногеней *Dactylogytus vastator* встречали у карпа с экстенсивностью 20% при интенсивности от 1 до 5 экземпляров. Начиная с 2004 г. на жабрах карпа произошла замена дактилогирусов на моногеней *Diplozoon paradoxum*. Экстенсивность и интенсивность заражения остались на прежнем уровне. Замена в структуре паразит-хозяин одного вида моногеней *D. vastator* на моногеней *D. paradoxum* произошла также в связи с изменением экологических условий, в частности с поступлением в хозяйство загрязненных вод из-за остановки работы фильтров в водоподводящей системе (Авдеева, Евдокимова, 2001). Паразитические ракообразные *Argulus foliaceus* заражали карпа с экстенсивностью 20% и интенсивностью 1-6 экземпляров на рыбу. Паразитируя на поверхности тела и жабрах карпа, паразит находится не только под воздействием хозяина, но и под воздействием окружающей среды. Паразитические ракообразные *A. foliaceus* имеют благоприятные экологические условия для развития: хорошая прогреваемость воды и заросшие берега прудов, но экстенсивность заражения карпа данным видом всегда составляла 26,6%. На хозяйстве за все годы исследований не регистрировали вспышек болезней и гибели рыб.

Таким образом, в целом на исследованных нами хозяйствах сохраняется благоприятная эпизоотологическая обстановка в отношении бактериальных и паразитарных болезней рыб. Однако следует отметить необходимость регулярного эпизоотологического контроля разводимых видов рыб, дальнейшего изучения состава их микробиоценоза и паразитофауны. Для предотвращения вспышек инфекционных и инвазионных заболеваний на хозяйствах нами разработан комплекс профилактических мероприятий, включающий ветеринарно-санитарные и рыбоводно-мелиоративные работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авдеева Е. В. Эпизоотическая ситуация на форелевом хозяйстве «Прибрежное» // Физиолого-биохимические основы кормления рыб в аквакультуре: Сб. науч. трудов. Калининград, 1995. - С. 59-60.
2. Avdeeva E., Evdokimova E. Triaenophorus of trout at the farm «Pribrezhnoje» Kaliningrad region // First Russia – USA Symposium «Aquaculture and Fish Health». Program and abstracts. М.: VNIPRH. – 1998. – P. 98.
3. Авдеева Е. В., Евдокимова Е. Б. Эпизоотическая ситуация на учебно-опытном хозяйстве КГТУ // Гидробиология на рубеже веков и тысячелетий: Сб. науч. трудов КГТУ. Калининград, 2001. – С. 172-181.

THE MONITOR OF INFECTIOUS AND INVASIVE DISEASES IN FARMED FISH OF KALININGRAD REGION

Avdeeva E. V.

Kaliningrad State Technical University, Kaliningrad, Russia

The bacteriological and parasitological investigations are carrying out during more over 20 years in two fish farms in Kaliningrad region. Rainbow trout is breed in fish farm «Pribrezhnoe». The bacteriological studies were showed opportunistic bacteria presence in fish organs. The bacterial diseases outbreaks were not recorded. Trout parasites fauna includes parasitic ciliates, cestoda, trematoda and crustacean. The triaenophorus outbreak was recorded in 1989, fish loss reached 100%. Carp is breed in fishpond farm. The *Aeromonas* and *Pseudomonas* bacteria are also the predominant group in carp microflora. Nevertheless, in resent years the numbers of sanitary bacteria of *Enterobacteriaceae* family are increasing in fish microbial picture. Carp parasites fauna includes flagellates, ciliates, Monogenea and parasitic crustacean. Since 2004 monogenea *Diplozoon paradoxum* appear in carp gills instead of *Dactylogytus vastator*. The changes of some ecological conditions were the reason of this occurrence. It was concluded that ichthyopathological control is important to prevent diseases in farm fish. Some preventive measures were worked out

ВЛИЯНИЕ РЕЖИМА ЭКСПЛУАТАЦИИ НА СОСТОЯНИЕ ЗДОРОВЬЯ ОСЕТРОВЫХ РЫБ В УСТАНОВКЕ С ЗАМКНУТЫМ ЦИКЛОМ ВОДОСНАБЖЕНИЯ

Бабиц Г. А.^{*}, Бычкова Л. И.^{**}, Бурлаченко И. В.^{*}, Дудин К. В.^{*}

**Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии" (ФГУП ВНИРО), 107140 г. Москва, ул. В.Красносельская 17, Россия, e-mail: maricul@vniro.ru.*

***Московский государственный университет технологий и управления (МГУТУ) г. Москва, ул.Болотниковская, 15*

Культивирование рыб в установках с замкнутым циклом водообеспечения (УЗВ) становится популярным направлением в аквакультуре современной России и переводит индустриальное рыбоводство на качественно новый уровень. Выращивание рыб в таких условиях является управляемым и контролируемым. В составляющий технологический процесс включены: регулирование кормления и среды обитания рыб по основным гидрохимическим показателям (O_2 , азотной группе, pH, T), эпизоотическому состоянию рыб и другим факторам. Кроме этого, успехом культивирования в подобных установках является устойчивая работа систем водоочистки, где узлам механической и биологической очистки отводится одна из главных ролей в общем комплексе сооружений установки замкнутого водообеспечения. В результате процесса биохимического окисления загрязненная вода освобождается от органических и минеральных азотсодержащих веществ сложным биоценотическим сообществом – бактерий, простейших, ряда многоклеточных организмов при условии наличия в воде достаточного количества растворенного кислорода.

Для нормальной жизнедеятельности микроорганизмов биопленки, необходим комплекс биогенных элементов, в первую очередь, азота и фосфора, являющихся энергетическими и пищевыми источниками для микробиоценоза биофильтра. При выращивании рыб в условиях оборотного водообеспечения нет необходимости в дополнительном обогащении воды этими элементами. Содержание азота в установке ВНИРО составляло 20-40 мг/л, фосфатов - 0,6-0,9 мг/л., биологическое потребление кислорода (БПК₅) в очищенной воде – 2-3 мг O_2 /л. Содержание растворенного в воде кислорода на биофильтрах ниже 5 мг/л не опускается. Толщина биопленки небольшая, менее 1 мм, в виде ослизнения на поверхности загрузки. В том случае, если биопленка тоньше 1 мм, то она полностью проницаема для веществ, потребляемых бактериями пленки (Хенце, 2004). Отслоившаяся биопленка обладает хорошими флокулообразующими и седиментационными свойствами, что позволяет ей быстро оседать во вторичном отстойнике. Процент подпиточной воды из артезианской скважины составляет 5% от общего объема воды в системе.

Слабыми звеньями в работе таких установок являются накопление в системе остатков комбикормов, экскременты рыб, приводящие к массивному органическому, а затем и бактериологическому загрязнению. Мощность УЗВ лимитируется поступлением в систему большого количества органических веществ, чему способствуют высокие плотности рыб, корм и продукты обмена рыб. Накопленная в процессе выращивания органика (в основном комбикорма) становится основным субстратом и питательной средой для развития микроорганизмов. Остатки кормов, в отличие от продуктов жизнедеятельности рыб, представляют собой трудно разлагаемые органические соединения, расщепление которых в биофильтре, окисляющем, в основном, неорганические формы азота, очень затруднено. Поэтому накопление таких соединений приводит к значительному органическому загрязнению, сопровождающееся бурным ростом условно - патогенной и патогенной микрофлоры. На выживаемость данной микрофлоры влияет множество внешних факторов:

температура и pH воды, наличие застойных зон в установке, адсорбция и седиментация составляющих бактерий и их антагонистические свойства. Повышение концентрации микроорганизмов в воде способствует их непосредственному проникновению через жабры и пищеварительный тракт ослабленных особей культивируемых рыб.

На экспериментальном рыбоводном модуле ВНИРО с замкнутой системой водообеспечения накоплен материал по регулированию биотехнологического процесса выращивания осетровых видов рыб. Режим работы в замкнутой системе обрабатывался в процессе ее технической эксплуатации. Для оценки эффективной работы экспериментального рыбоводного модуля ВНИРО выявляли основные узловые места загрязнений системы, анализировали их влияние на выращиваемую в бассейнах рыбу. В процессе работы это требовало постоянного контроля за содержанием органики и ее удалением из системы. Основное скопление органического вещества в рыбоводном модуле отмечалось:

- в бассейнах, где скапливался корм, быстро затягивающийся под решетки из-за конструктивных особенностей бассейнов;
- в отстойнике после механической очистки при скоплении органической взвеси менее 40 мкм;
- накопление и недостаточная удаляемость осадка ила (отслоившаяся биопленка) из конусов вторичных отстойников;
- вынос взвешенных веществ (до 10 мг/л) в виде хлопков ила при барботаже загрузки биофильтра.

Все это приводило к вторичному загрязнению установки и в дальнейшем к ухудшению состояния рыбы.

Установлено, что высокое содержание аммонийного азота в системе оборотного водоснабжения связано не только с процессами нитрификации и метаболизмом рыб, но и с неполным поеданием рыбой корма и с его размытием в бассейнах. В этом случае воду поступало большое количество неразложившихся белковых соединений, которые затем трансформировались в аммонийные соли, из-за чего отмечалось возрастание аммонийного азота в осветленных до 0,67 мг/л (норма 0,45 мг/л) и очищенных водах до 0,34 мг/л (норма 0,20 мг/л) на фоне удовлетворительной нитрификации в условиях оптимального режима (Жмур, 2003).

Кроме того, показателем загрязнения рыбоводной установки кормами является резкое увеличение содержания в воде азота нитритов до 0,40 мг/л (фоновая вода 0,15 - 0,20 мг/л) и нитратов до 45,0 мг/л (фоновая вода 15,0-20,0 мг/л). Этим объяснялось постоянное наличие аммонийного азота в очищенной воде в концентрациях до 0,17-0,25 мг/л, азота нитритов 0,15-0,20 мг/л, как бы хорошо не протекал процесс нитрификации на биофильтре. В небольших количествах (0,2-0,5 мг/л) нитриты могут увеличиваться как в бассейнах с рыбой, так и в осветленной воде при условии хорошего перемешивания воды и наличия аэрации.

Залеживание размытого комбикорма под решетками бассейнов способствовало снижению pH воды (менее 7,0), что крайне нежелательно в условиях ее биологической очистки. Учитывая, что нитрифицирующие бактерии особенно чувствительны к сдвигу pH в кислую сторону, а бактерии второй стадии нитрификации рода *Nitrobacter* в кислой среде не развиваются вовсе, по этой причине необходимо поддерживать pH воды на биофильтрах в интервале 7,0-7,6, как наиболее благоприятную реакцию среды для нитрифицирующих бактерий и в дальнейшем для качества очистки воды.

Если с высокой бактериальной обсемененностью в баке осветленной воды удавалось справиться с помощью ультрафиолетового излучения, то в бассейнах легко размываемые корма образовывали большое количество взвесей. Это приводило к бурному развитию бактериальной флоры в воде, так как взвешенные частицы являются тем необходимым субстратом для развития микроорганизмов, поступающих с экскрементами рыб постоянно.

При появлении большого количества взвеси в бассейнах отмечалась высокая мутность воды, не позволяющая просматривать дно бассейна. Поэтому как экспрессный показатель был использован метод оценки мутности воды. При наличии высокой мутности воды осуществляли пересмотр дачи корма по отдельным бассейнам, водили оперативное удаление его остатков из - под решеток, а также внеплановые санитарно-гигиенические работы (промывку бассейнов, бака осветленной воды и сетки барабана механического фильтра, стенок и дна вторичных отстойников биофильтров и т.д.). Ежедневно (каждые три часа) проводятся замеры кислорода, фиксируется температура воды установки.

Температура – важный показатель, воздействующий на скорость протекания химических реакций и в целом на эффективность процесса очистки, нестабильность которой приводит к значительным ухудшениям качества воды.

Так, при снижении температуры воды установки с 24 до 17^oC ухудшалась прозрачность очищенной воды по цилиндру Снеллена до 20 см и ниже (норма 30 см). Прозрачность – также наиболее оперативный, чутко реагирующий на нарушения показатель качества очистки и снижение его указывает на торможение протекания биохимических процессов.

Одной из главных особенностей замкнутых систем или систем оборотного водоснабжения является постоянное присутствие биоценозов бактерий. Механизмы возникновения инфекционных заболеваний могут быть включены резким увеличением численности патогенных или условно-патогенных организмов и изменением их свойств, ослаблением организма культивируемых рыб под воздействием стрессирующих факторов – низкого содержания кислорода, скопления органики, изменения гидрохимических параметров среды, ручные манипуляции с рыбой и др.

Наиболее сильное воздействие на рыб оказывают высокий уровень нитритов (более 0,5 мг/л), понижение содержания растворенного в воде кислорода до 4 мг/л и повышенный бактериальный фон воды, общей микробное число (ОМЧ) более 3000 колоний образующих единиц (КОЕ)/мл, характеризующийся преобладанием агрессивных бактерий кишечной группы. В условиях плотных посадок осетровых рыб (40-50 кг/м³) происходит прямой контакт рыба – патоген. Среди них наибольшую опасность представляет заражение рыб бактериями кишечной группы – протеем, цитробактером, энтерококком и др., инфицирующими внутренние органы ослабленных, а затем и здоровых рыб, способных самостоятельно вызывать развитие бактериальной геморрагической септицемии (БГС) и в ассоциации с другими микроорганизмами – аэромонадами, псевдомонадами, миксобактериями и др. (Жезмер и др., 1988). Развитие подобной микрофлоры весьма опасно и для нитрифицирующей бактериальной биофильтра (т.к. более агрессивные формы легко подавляют сапрофитную микрофлору), а так же для объектов культивирования, имеющих непрерывный контакт со средой через жабры и пищеварительный тракт.

Восприимчивость рыб к заболеваниям характеризует условия их выращивания в УЗВ и является своеобразным индикатором содержания рыбы. Одним из факторов благополучия выращиваемой рыбы в замкнутых условиях является недопущение завоза рыб, неблагополучных по ряду инвазионных и инфекционных заболеваний. Наиболее опасными для рыбоводного модуля ВНИРО стали эктопаразиты с прямым циклом развития простейшие (триходины) и моногенеи (дикиллотриум). Для оздоровления осетровых рыб от эктопаразитов применялись неоднократные солевые и хлораминные (хлорамином Б) ванны, а также разовые обработки малахитовым зеленым. Совместно с лечебно-профилактическими обработками рыб проводилась тщательную санацию всех рыбоводных емкостей, включая узловые места загрязнения.

Одновременно с проведением гидрохимического контроля на осетровом рыбоводном модуле ВНИРО стали прижизненно применять и использовать характеристику внешнего состояния выращиваемых рыб. Систематизация явно

выраженных внешних признаков на теле и жабрах осетровых рыб является наиболее объективным показателем, отражающим благополучие условий их культивирования.

К прижизненным показателям, регистрируемым в обычной рыбководной и ихтиопатологической практике, относили отклонения в поведении рыб (вялость, двигательная повышенная активность, выпрыгивание из воды и т.д.), снижение аппетита и дальнейшее прекращение питания, сверхнормативный отход. При вскрытии погибавшей и погибшей рыбы отмечали различные патологические изменения во внутренних органах разной степени интенсивности. Поэтому появление клинических признаков у рыб свидетельствовало о развивающихся во внутренних органах патологических процессах, а использованная клиническая оценка состояния рыб позволяла проследить динамику таких процессов.

Несмотря на свою эволюционную устойчивость и способность кратковременно переносить высокие концентрации загрязняющих веществ различной природы, в условиях оборотной системы водоснабжения осетровые обнаруживали заметную чувствительность к длительному воздействию указанных факторов.

В процессе работы основные признаки наиболее часто встречаемых заболеваний рыб бактериальной, паразитарной и незаразной этиологии были сгруппированы и систематизированы по основным клиническим симптомам, характерным для осетровых рыб в замкнутых системах (Бурлаченко, Бычкова, 2005). Полученные результаты представлены в таблице.

Клинические признаки некоторых заболеваний осетровых рыб в замкнутых системах

Заболевания	Показатели					
	повреждения жучек	воспаление ануса	поражения жабр	нарушение секреции слизи	покраснения кожи	воспаления плавников
Бактериальные						
Миксобактериоз	I-III	0-I	I-III	I-III	I-III	0-I
БГС (азромонады, кишечные палочки, цитробактер)	I-III	III	светлые	0-I	I-III	I-II
БГС с доминированием протея	III	III	светлые	0-I	II-III	
Протозойные						
Триходиниоз	I-II	0-I	I-III	I-II	I	0-I
Моногенеидоз						
Дактилогироз	I		III			I-II
Диклиботриоз	I		III			I-II
Незаразные заболевания						
Алиментарные	I-III	III	светлые			
Метгемоглобинемия	I-III	0-I	темные		I-II	I-III

Примечание: I-III степень поражения органа от min до max

БГС – бактериальная геморрагическая септицемия

Гидрохимические показатели являлись основными параметрами, свидетельствующими об изменении химических процессов в воде, способных оказывать положительное или отрицательное воздействие на рыбу. Производственный гидрохимический контроль осуществлялся постоянно в целях наблюдения за

эффективностью последовательного удаления загрязняющих веществ по основным звеньям механической и биологической очистки и предупреждения отрицательного влияния вторичного загрязнения на рыбу. Основными гидрохимическими показателями экспериментального рыбоводного модуля ВНИРО были азотистые вещества (аммонийный азот, нитриты, нитраты), фосфаты, рН, кислород. Определение данных показателей позволяло оперативно выявлять изменения параметров воды, сигнализирующих о стабильной или перегруженной работе системы водоочистки рыбоводного модуля. В процессе работы выявляются места, требующие постоянного контроля и интенсификации очистки. По результатам контроля для улучшения эффективности рыбоводной установки проведены дополнительные инженерные работы. Так, в бак – накопитель резервной воды стали подавать воздух для продувки толщи воды с целью удаления аммонийного азота в подпиточной воде. Это способствовало снижению содержания аммония (в зависимости от времени отстаивания) до 90%. По периметру дна бака осветленной воды (после механической очистки), с целью исключения залеживания органического осадка (размер частиц менее 40 мкм), по дну отстойника проложили трубы для подачи воздуха.

Таким образом, в процессе эксплуатации рыбоводного модуля ВНИРО в условиях замкнутой системы водообеспечения выявлены основные места органического загрязнения в системе и в соответствии с этим определены и обоснованы необходимые регламентные работы, включающие в себя не только санитарно-гигиенические мероприятия в системе, но и постоянный гидрохимический и ихтиопатологический контроль за средой обитания рыб и ее состоянием.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бурлаченко И.В., Бычкова Л.И. Способ клинической оценки состояния осетровых рыб при их культивировании в установках с замкнутым циклом водообеспечения. Журнал «Рыбное хозяйство» - 2005. - № 6 – С. 70-72.
2. Жезмер В.Ю., Белякова Н.В., Заливака Л. В. Энтеробактерии в установках с замкнутым циклом водоснабжения /Сб. науч. трудов Индустриальные методы рыбоводства в замкнутых системах. – М.: ВНИИПРХ, 1988. – Вып. 55 – С. 84–88.
3. Жмур Н. С. Технологические и биохимические процессы на сооружениях с аэротенками. М. Акварос, 2003. – 490 с.
4. М. Хенце. Очистка сточных вод, - М.: «Мир», - 2004 –360 с.

INFLUENCE OF OPERATING REGIME ON THE HEALTH OF STURGEON FISH REARED IN RECIRCULATING AQUACULTURE SYSTEM.

Babich G.A., Bychkova L.I., Bourlatchenko I. V., Dudin KV.

Data obtained in recirculating aquaculture system (RAS) and concerned with the control of rearing conditions are summarized. Main points and sources of water pollution in VNIRO's RAS were detected. The influence of pollution on the health of sturgeons was shown.

Package plan of means for evaluation the efficiency of operations in RAS including hydro-chemical and ichthyo-pathological analysis was elaborated.

ПАЗАРИТОФАУНА ЖИЛОГО ГОЛЬЦА ОЗЕРА УШКИ (КАМЧАТКА)

Бугорина Т.Е., Горовая О.Ю.

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет,
Владивосток, Россия, butorina@mail.ru

Озеро Ушки (Ушковское) расположено в среднем течении р. Камчатка в 225 км выше устья и соединяется с ней протокой длиной около 1 км. Длина озера 2.5 км, средняя ширина — 0.26 км, глубина 0.5 - 1.0 м. Озеро питается исключительно за счет многочисленных родников на дне и не замерзает круглый год [5], среднегодовая температура воды держится в пределах +3 - +5⁰С. Озеро является нерестово-выростным водоемом для нерки, осенней кеты и кижуча, в нем постоянно встречаются гольцы рода *Salvelinus*, заходят на нерест акклиматизированные карась и сазан. В 1928-1988 гг. на озере работал первый на Камчатке завод по разведению нерки, проводились эксперименты по скрещиванию тихоокеанских лососей. В этот период в озере нерестились рыбы как заводских, так и диких популяций. Такая нагрузка на экосистему озера значительно подорвала его естественную кормовую базу, которая к настоящему времени практически восстановилась, о чем свидетельствует оптимальное заполнение озерных нерестилищ. В озеро до сих пор возвращаются потомки заводских производителей [4]. С 1988 г. по настоящее время на озере действует наблюдательный пункт СевВострыбвода, ведется регулярный контроль за состоянием популяций рыб среднего течения р. Камчатка.

Особый интерес у ихтиологов вызывает жилой гольц оз. Ушки в связи с его неопределенным положением в системе гольцов рода *Salvelinus*. В 1933 г. В.Я. Таранец [7] описал «ушковского» гольца как жилую форму мальмы *Salvelinus malma* *infr. kiznetzovi* по двум несхожим друг с другом экземплярам. Один из них, судя по рисунку В.Я. Таранца, идентичен с камненным гольцом, морфологию и биологию которого в бассейне р. Камчатка изучили К.А. Савваитова и В.А. Максимов [6], второй соответствует жилому гольцу оз. Ушки [6]. М.К. Глубоковский [3] идентифицировал жилого «ушковского» гольца с камненным и, на основании того, что последний является хищником [2], включил его в состав вида *S. albus*. К.А. Савваитова относит гольца оз. Ушки к полиморфному виду *S. alpinus* [6]. Ушковский гольц, по наблюдениям Ф.В. Крогиус, питается личинками комаров и других водных насекомых, а также моллюсками [3]. В работе А.Х. Ахмерова [1] приведены сведения о заражении «ручьевого мальмы» из оз. Ушки тремя видами паразитов. Этими сообщениями исчерпывается информация о гольцах оз. Ушки.

Целью нашей работы было изучение фауны паразитов гольцов бассейна оз. Ушки. Рыбы были отловлены удочкой в августе (28 экз. в озере) и октябре 2006 г. (5 экз. в озере и 9 — в протоке недалеко от устья). Всего методом полного паразитологического вскрытия обследовано 42 экз. гольцов длиной (АС. см) 9.6 - 33.0, в том числе 31 экз. жилых гольцов оз. Ушки длиной 9.6 - 28.8. Озерные гольцы хорошо отличались от заходящих тупой формой рыла, мелкими размерами, удлинненными парными плавниками, в брачный период (в августе) темной окраской и слабо выраженными крюком и вырезкой на челюстях [7], а также стадией зрелости гонад (IV-VI). Озерно-речные и проходные гольцы имели более крупные размеры (до 33.0), более светлую окраску тела и меньшую стадию зрелости (II-III). Камненный гольц (1 экз.) из среднего течения р. Камчатка характеризовался темно-зеленой окраской тела, черной головой и плавниками, крупными, неправильной формы пятнами на теле, жаберных крышках, плавниках и крупными размерами тела (54.0).

В бассейне оз. Ушки нами зарегистрировано 27 видов паразитов, не считая грибов рода *Saprolegnia* (таблица). Наиболее разнообразно здесь представлены микроспоридии (7 видов) - практически все известные у лососевых Камчатки виды. Чаще других встречались *Muxobolus arcticus* и *Muxidium salvelini*. Наряду с типичными

спорами *M. arcticus* с заостренным передним полюсом, нами обнаружены более мелкие, округлые споры, по форме, размерам спор и капсул соответствующие более *neurobius*. Это тем более вероятно, что в озере находятся нерестилища тихоокеанских лососей - основных хозяев этих микроспоридий. Второе место по видовому разнообразию занимают нематоды, в первую очередь, реофильный вид *Cucullanus truttae*. Это неудивительно, т.к. озеро представляет собой лимнокрен - расширенный участок древнего русла р. Камчатки и ежегодно во время половодий пополняется водами р. Камчатки [5]. Морские нематоды *Hysterothylacium aduncum* и *Anisakis simplex* обнаружены нами только у зашедших в протоку проходных мальмы и белого гольца. Находки остальных видов нематод свидетельствуют о том, что донные беспозвоночные являются основными объектами питания гольцов. Значительная инвазия гольцов *Cystidicoloides ephemeridarum* (до 56 экз./рыбу), а также находки *Rhabdochona oncorhynchi* показывают, что существенную долю их рациона составляют личинки поденок и других амфибиотических насекомых, а заражение *Salvelineta salmincola* говорит о питании амфиподами. Для последнего вида это новое, самое северное на Камчатке местообитание.

На жабрах гольцов, отловленных в октябре, обнаружены моногенеи *Tetraonchus alaskensis*. В других озерно-речных системах Камчатки эти паразиты найдены нами только в самое теплое время года - июле-августе [2]. Эти находки можно объяснить особым температурным режимом озера. Цестоды *Eubothrium salvelini* и *Diphyllobothrium ditremum* отмечены у *S. albus*, который заходит в озеро для питания молодью и икрой тихоокеанских лососей, и не встречены у жилого гольца. Дополнительные вскрытия *S. albus* из устья протоки (30 экз.) показали, что все они заражены этими паразитами. Из других цестод в бассейне оз. Ушки найден *Proteocephalus longicollis*. Кроме того, однажды был обнаружен экземпляр этого рода, который отличался от *P. longicollis* крупной апикальной присоской, его таксономический статус уточняется. Случайной можно считать находку у гольцов цестоды из отряда Cyclophyllidea.

Сосальщички представлены в бассейне оз. Ушки пятью видами (таблица). Кишечный паразит *S. farionis* найден как у жилого озерного гольца, так и у проходной мальмы, заражение им связано с присутствием в озере мелких двусторчатых моллюсков шаровок - первых и личинок поденок - вторых промежуточных хозяев. Два вида диплостоматид встречались в озере сравнительно редко, один из них локализовался в хрусталике, другой - во внутренней среде глаза гольцов. Циклы развития этих гельминтов осуществляются при участии рыбоядных птиц - дефинитивных хозяев и прудовиков - первых промежуточных хозяев. И те, и другие являются обычными компонентами северных озерно-речных экосистем. На жабрах гольцов были найдены метацеркарии еще двух видов трематод неясной таксономической принадлежности. Скребни представлены в озере только одним видом *Neoechinorhynchus salmonis*, промежуточными хозяевами которого служат планктонные остракоды рода *Cypria*. М.Б. Шелько нашла в наших сборах у 1 экз. озерно-речного белого гольца рачка *Salmincola carpionis*. Другие распространенные в озерно-речных системах Камчатки гельминты лососевых рыб в оз. Ушки нами не отмечены.

В результате изучения паразитофауны жилого ушковского гольца найдено 18 видов паразитов (таблица). Наиболее часто у него встречались следующие виды: *Cucullanus truttae*, *Myxobolus arcticus*, *Myxidium salvelini*, *Myxobolus neurobius* (?), *Proteocephalus longicollis*, *Rhabdochona oncorhynchi*, *Cystidicoloides ephemeridarum* и *Myxobolus krokhini*.

Разнообразие микроспоридий (6 видов) свидетельствует о придонном характере питания этих рыб. Бентос (личинки амфибиотических насекомых и амфиподы) играет определяющую роль в питании жилого гольца оз. Ушки, на что указывает его

заражение *C. ephemeridarum*, *R. oncorhynchi*, *S. salmonicola*, *C. farionis*. Этому способствует мелководность озера, глубина которого на многих участках не превышает 60 см. В то же время ушковский голец потребляет и планктон, что приводит к заметному заражению *P. longicollis* и инвазии *N. salmons*. На мелководных участках озера происходит инвазия голецов личинками моногеней и диплостоматид. В их желудочно-кишечных трактах обнаружены личинки поденок, ручейников, хирономид, падающие в воду насекомые, мелкие ракообразные, диатомовые водоросли и икра лососей (кеты).

Таблица. Фауна паразитов голецов бассейна озера Ушки

Вид паразита	<i>S. malma</i>		<i>S. albus</i>		Жилой голец		
	ЭИ*	ИИ	ЭИ	ИИ	ЭИ	ИИ	ИО
<i>Zschokkella orientalis</i>	8/1	0	0	0	3.2		
<i>Myxidium salvelini</i>	8/3		0		32.3		
<i>Myxobolus arcticus</i>	8/3		3/1		45.2		
<i>M. neuvobius (?)</i>	8/4		3/1		22.6		
<i>M. krokhini</i>	8/1		0		9.7		
<i>Henneyia zschokkei</i>	8/1		0		0		
<i>Chloromyxum wardi</i>	8/2		0		3.2		
<i>Tetraonchus alaskensis</i>	0	0	0	0	6.5	<u>1-2</u> 1.5	0.1
<i>Proteocephalus longicollis</i>	8/2	<u>1-2</u> 1.5	0	0	16.1	<u>1-9</u> 3.2	0.5
<i>Proteocephalus sp.</i>	8/1	1/1.0	0	0	0	0	0
<i>Eubothrium salvelini</i>	0	0	3/3	<u>1-7</u> 3.0	0	0	0
<i>Diphyllobothrium sp.</i>	0	0	3/1	1/1.0	0	0	0
<i>Cyclophyllidea gen.sp.</i>	0	0	0	0	3.2	1/1.0	0.03
<i>Crepidostomum farionis</i>	8/5	<u>1-15</u> 7.6	0	0	6.5	<u>1-9</u> 5.0	0.3
<i>Diplostomum sp.1</i> (хрусталик)	8/1	1/1.0	3/3	<u>1-4</u> 2.0	6.5	1/1.0	0.06
<i>Diplostomum sp.2</i> (внутренняя среда глаза)	0	0	0	0	6.5	1/1.0	0.06
Trematoda, metacercaria sp.1	8/1	1/1.0	0	0	0	0	0
Trematoda, metacercaria sp. 2	8/1	1/1.0	0	0	0	0	0
<i>Cucullamus truttae</i>	8/2	<u>3-4</u> 3.5	3/2	<u>1-4</u> 2.5	51.6	<u>1-21</u> 3.7	1.9
<i>Cystidicoloides ephemeridarum</i>	8/4	<u>9-56</u> 35.0	3/1	1/1.0	12.9	<u>1-8</u> 4.3	0.5
<i>Salvelinema salmonicola</i>	8/1	<u>20</u> 20.0	0	0	3.2	4/4.0	0.1
<i>Rhabdochona oncorhynchi</i>	0	0	0	0	16.1	<u>1-3</u> 1.6	0.3
<i>Hysterothylacium aduncum</i>	8/1	3/3.0	0	0	0	0	0
<i>Anisakis simplex</i>	8/1	3/3.0	3/1	6/6.0	0	0	0
<i>Neoechinorhynchus salmons</i>	0	0	0	0	3.2	1/1.0	0.03
<i>Salmincola carpionis</i>	0	0	3/1	1/1.0	0	0	0

* Обозначения: ЭИ - экстенсивность инвазии, % или количество рыб - исследованных / зараженных; ИИ - интенсивность инвазии, пределы /средняя; ИО - индекс обилия

Полученные нами данные позволяют сделать вывод о том, что жилой голец оз. Ушки питается почти исключительно беспозвоночными (помимо них - икрой и мелкими личинками лососевых), не переходя к ихтиофагии. Это обусловлено конкуренцией с заходящими в озеро рыбами, которая привела к дифференциации их

экологических ниш. Становление жилой формы могло произойти только в условиях мелководного озера, подобно тому, как в ручьях и мелких речках Камчатки сложился ручьевой экотип мальмы. Отсюда можно заключить, что ушковский голец держится в озере постоянно. Этот водоем обеспечивает все необходимые для его жизни условия: благоприятный кислородный режим, наличие нерестовых площадей, а также возможность питания планктонными и донными беспозвоночными.

Полученные нами данные о фауне паразитов жилого ушковского гольца показывают, что не только по экстерьерным признакам, но и по образу жизни и характеру питания он значительно отличается от других встречающихся в бассейне озера видов гольцов и наиболее близок к ручьевой мальме из других озерно-речных систем Камчатки [2]. Жилой голец оз. Ушки представляет собой чисто озерную тугорослую эндемичную экологическую форму мальмы, хорошо адаптированную к специфическим условиям жизни в озере, его своеобразному температурному режиму и кормовой базе. Следует особо подчеркнуть, что ни по экологическим особенностям, ни по экстерьеру жилой голец оз. Ушки не имеет ничего общего с каменным гольцом, встречающимся в среднем течении р. Камчатки в бассейне оз. Ушки.

Выражаем искреннюю благодарность за помощь в сборе материала Д.В. Зиновьеву, Е.А. Шевлякову, Е.А. Морозу и сотрудникам Ушковского наблюдательного пункта СевВострыбвода. Работа выполнена при частичной поддержке фонда Гарри Мура и Центра дикого лосося.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ахмеров А.Х. Паразитофауна рыб р. Камчатки // Изв. ТИНРО. 1955. Т. 43. С. 99-137.
2. Буторина Т.Е. Экологический анализ паразитофауны гольцов (*Salvelinus*) реки Камчатки // Популяционная биология и систематика лососевых. Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1980. С. 65-81.
3. Глубоковский М.К. Эволюционная биология лососевых рыб. М.: Наука, 1995. 343 с.
4. Горовая О.Ю. Уникальный водоем Камчатки – озеро Ушки // Россия и страны АТР: проблемы и приоритеты развития интеграционных процессов: Матер.междунар.научн.конф. Владивосток: Дальрыбвтуз, 2007 (в печати).
5. Остроумов А.Г. Озеро Ушковское в бассейне реки Камчатки // Изв. ТИНРО. 1975. Т. 97. С. 129-139.
6. Савваитова К.А., Максимов В.А. Каменный голец из бассейна реки Камчатки // Науч. докл. высш. шк. Биол. науки. 1970. №5. С. 7-20.
7. Таранец В.Я. Пресноводные рыбы бассейна северо-западной части Японского моря // Тр. Зоол.ин-та АН СССР. 1936. Т.4. №2. С. 483-540.

НОВООБРАЗОВАНИЯ У ЛЕЩА (*Abramis brama L.*) И ЩУКИ (*Esox lucius L.*) ДНЕПРОВСКИХ ВОДОЕМОВ

Л.П.Буцацкий, Н.И.Вовк

Институт рыбного хозяйства УААН, Киев, Украина

e-mail: nvovk@ukr.net

Среди злокачественных неоплазм щук наиболее распространены опухоли кровяных тканей – лимфосаркомы. Они встречаются у рыб различных водоемов, особенно загрязненных промышленными стоками [1]. Чаще всего действие токсикантов имеет хронический характер, что вызывает нарушения механизмов иммунной защиты, возникновение патологических процессов. Результаты патобиологического анализа, данные о наличии опухолей у рыб позволяют получить достаточно четкое представление об интегральном длительном загрязнении водоемов.

Среди новообразований щук с множественными опухолями, описано три типа злокачественных диффузных лимфом (лимфосарком): лимфобластическая, гистиоцитодно-лимфоцитондная и анизоморфная [2]. Есть целый ряд доказательств вирусной природы этих опухолей среди которых перевивание их бесклеточными филтрататами, обнаружение вирусов типа С [3, 4, 5, 6].

Необходимо отметить, что механизмы при помощи которых организм рыб активно противодействует неопластическим процессам (регрессия опухолей в теплые периоды года) могут быть использованы в качестве модели при разработке методов лечения людей.

В настоящее время описано около 560 разных форм новообразований более чем у 230 видов рыб [7, 8]. В последние десятилетия XX столетия их встречаемость постоянно увеличивалась.

Впервые опухоли рыб днепровских водоемов были описаны в начале 70-х годов у щуки Каховского водохранилища М.П.Исковым и В.П. Коваль [9].

Цель работы эпизоотологические, гистологические и электронно микроскопические исследования новообразований, обнаруженных у леща (*Abramis brama L.*) и щуки (*Esox lucius L.*) водохранилищ днепровского каскада.

Объект и методы исследований. В 1998-2002 гг. проведено визуальное изучение поверхностных покровов и внутренних органов разных видов рыб из днепровских водоемов.

Гистологические и электронномикроскопические исследования опухолей рыб проводили согласно общепринятым методам. Для изучения ультраструктуры опухоли, биологический материал фиксировали в 2 % растворе глутарового альдегида на 0,05 М фосфатного буфера, а затем – в 1% растворе осмиевой кислоты. После этого препараты проводили через спирты возрастающей крепости и заливали в аралдит. Ультратонкие срезы контрастировали 3% водным раствором уранилацетата и лимоннокислого свинца.

Гистологические и электронномикроскопические исследования опухолей (электронный микроскоп марки JEM-100B) проведены на базе Института экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого.

Результаты исследования. Опухоли леща встречали у единичных экземпляров рыб старших возрастных групп массой 1,8-2,0 кг в весенний период (апрель) в Киевском водохранилище. Они локализовались преимущественно в области хвостового стебля и внешне имели вид плотной гелеобразной массы, после сдвигания которой на теле рыбы открывались язвочки. Были поражены как самцы, так и самки леща. При вскрытии у больных рыб отмечены патологические изменения селезенки, почек, дистрофия гонад. Микроскопическими исследованиями установлено, что покровный эпителий у больного леща поражен плоскоклеточным

раком. На гистологических срезах опухоли наблюдали многочисленные комплексы опухолевой паренхимы, разделенные тонкими прослойками соединительной ткани. Характерный признак опухоли - наличие морфологических признаков кератинизации клеток в виде, так называемых, "раковых жемчужин" (рис. 1).

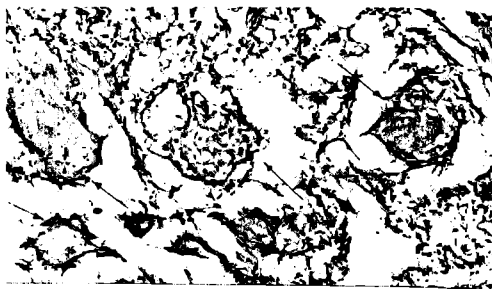


Рис. 1. Гистоструктура опухоли леща. Стрелками указаны фрагменты плоскоклеточной карциномы с морфологическими признаками кератинизации в виде "раковых жемчужин"

Эпизоотическую неоплазию у щук наблюдали в зимне-осенний период с 1993 года у особей старших возрастных групп, отловленных в прибрежной зоне [10]. В Киевском водохранилище частота их встречаемости в 1994 г. составила 11%, 1995 г. - 23%, 1996 г. - 32%. В Кременчугском водохранилище частота обнаружения новообразований варьировала в пределах от 1% до 10%, иногда достигая 18,2- 37,5% (таблица).

1. Встречаемость неоплазм у щуки Кременчугского водохранилища

Год	Общее количество обследованных щук, экз.	Количество щук с новообразованиями, %	Год	Общее количество обследованных щук, экз.	Количество щук с новообразованиями, %
1994	249	4 -10	2000	751	5,3 - 9,2
1995	129	3,1 - 4	2001	332	1,3 - 5,7
1996	62	1-1,6	2001	29	3,4
1997	121	18,2-22	2001	8	37,5
1998	116	4 -5	2002	763	3,7-6,2
1999	153	0,7-1			

На поверхности тела больных рыб отмечали новообразования диаметром 2-11 см, количество которых варьировало в пределах от 1-2 до 5-6 и больше. Первые клинические признаки заболевания - появление возле отдельных чешуек небольших (2-3 мм x 5-7 мм) припухлостей. Увеличиваясь, они разрушали эпителиальный шар поверхностных покровов, образуя опухоль розеткообразной формы, на первый взгляд, напоминающую язву. Центральная часть опухоли щуки представлена на рисунке 2.

Почки и селезенка больных рыб были увеличены в размерах, отмечали дистрофию гонад.



Рис. 2. Центральная часть опухоли щуки

При световой микроскопии гистологических срезов пораженной ткани наблюдали локальные участки глубокой инфильтрации в мышечную ткань. Опухоль состояла с лимфоидных элементов (лимфоцитов и пролимфоцитов), плазматических клеток разной степени дифференциации, отдельных иммунобластов (рис.3).



Рис. 3. В поле зрения лимфоидные элементы: лимфоциты и пролимфоциты (гематоксилин и эозин, x 120)

На основании полученных результатов гистологических исследований, у щук днепровских водоемов диагностировано лимфосаркому.

При изучении ультраструктуры пораженной ткани в цитоплазме опухолевых клеток обнаружено наличие вирусных частиц диаметром 105 ± 5 нм (рис.4).

Таким образом, в днепровских водоемах установлено распространение опухолей у леща и щуки, где указанные виды рыб составляли значительную часть промысловых уловов. В частности, уловы щуки в Киевском водохранилище находились в пределах 6-8 % от общего промысла [11]. В настоящее время отмечено снижение ее вылова, что можно объяснить как отсутствием должного учета, так и уменьшением численности популяции.

В последние годы, частота обнаружения щук с новообразованиями снизилась.. Возможно, это связано с тем, что болели и гибли особи старших возрастных групп, вследствие чего изменилась возрастная структура популяции.

Учитывая возможность некоторых ретровирусов млекопитающих инфицировать пойкилотермных животных, в том числе лягушек и рептилий, вопрос о безопасности больных неоплазией рыб для человека остается открытым.



Рис. 4. Ультратонкий срез опухоли щуки. В цитоплазме клеток видны вирусные частицы

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Боговский С.П. Этиология и распространение опухолей рыб в связи с антропогенным загрязнением / Проблемы паразитологии, болезней рыб и рыбоводства в современных условиях. С-Петербург: ГОСНИОРХ, 1997. С. 17 - 18.
2. Боговский С. П. Злокачественные лимфомы различных гистологических типов у щук восточной части Балтийского моря // Эксперим. Онкология. №4. 1988. С.31-33.
3. Svet-Moldavsky G.J., Trubcheninova L., Ravkina L.I. Pathogenicity of the chicken sarcoma virus for amphibians and reptiles // Nature. – 1967. – Vol. 214. – P. 300.
4. Papas T.S., Dahlberg J.E., Sonstegard R.A. Type C virus in lymphosarcoma in northern pike (*Esox lucius*). //Nature. – 1976. – Vol. 261. – P. 507-508.
5. Holzschu D.L., Martineau D., Fodor S.K., et al. Nucleotide sequence and protein analysis of a complex piscine retrovirus, walleye dermal sarcoma virus // Journal of Virology. – 1995. - Vol. 69. – N9. – P. 5320 -5331.
6. Bowser P.R., Casey J.W., Quackenbush S.L., et al. First report of swim bladder fibrosarcoma in atlantic salmon in the United States and an associated retrovirus. // 24-th annual eastern fish health workshop. – 1999. – P.1.
7. Mawdesley-Thomas L. Neoplasia in fish. // In: "The pathology of fishes" Ed.Ribelin W.E, Migaki E, – 1975. – P.805-914.
8. LaPierre L., Holzschu D.L., Wooster G.A., et al. Two closely related but distinct retroviruses are associated with walleye discrete epidermal hyperplasia.// Journal of Virology. – 1998. –Vol.72. – N4. – P.3484-3490.
9. Исков М.П., Коваль В.П. Динамика паразитофауны и эпизоотическое состояние промысловых рыб Каховского водохранилища. // Рыбное хозяйство. – Киев: Урожай, 1973. – Вып.16. – С.126-131.
10. Buchatsky L.P., Vovk N.I. Epizootic neoplasia of northern pike from northern Ukraine //Proc.of Book of abstracts tenth X intern. conf. " Disease of fish and shellfish" (september 2001, Dublin). – Trinity college Dublin, Ireland, 2001. – P. 245.
11. Гринжевський М.В. Аквакультура України. – Київ,1998. – 364 с.

NEOPLASMES IN BREAM (*ABRAMIS BRAMA* L.) AND PIKE (*ESOX LUCIUS* L.) FROM DNIPER RESERVAIRES Buchatsky L.P., Vovk N.I.

The purpose of examination was investigation of fish neoplasms in Dniper-river reservuares. Neoplasms was established in bream (*Abramis brama*), in pike (*Esox lucius*). By means of electron microscopic investigations in pike the presence of virions was established.

СЕЗОННЫЕ ЭПИЗОТИИ ЛИМФОСАРКОМАТОЗА ЩУК И СУДАКОВ В ДНЕПРОВСКИХ ВОДОХРАНИЛИЩАХ

Л.П. Бучацкий¹, А.В. Ногарев²

¹Институт рыбного хозяйства УААН, Киев, Украина e-mail: irido@kiev.ldc.net

²Верхнеднепровское государственное бассейновое управление охраны водных живых ресурсов Киев, Украина e-mail: Nogarev@yahoo.com

С помощью гистологических исследований в 2000 году было установлено, что заболевание щук (*Esox lucius*) Киевского водохранилища, сопровождающееся появлением на поверхности тела рыб многочисленных опухолей различного диаметра, представляет собой лимфосаркоматоз (1). Это заболевание щук распространено не только в акватории р. Днепр, а и в ее притоках. Щуки, пораженные лимфосаркоматозом, были выявлены нами позже и в других водохранилищах днепровского каскада, (2,3,4). Кроме того, в этих-же водохранилищах а также в Азовском море лимфосаркоматоз был выявлен нами и у судаков (4,5,6).

Целью настоящих исследований было изучение проявления лимфосаркоматоза щуки и судака в Киевском и Каневском водохранилищах в зависимости от сезонности.

Материал и методы. Эпизоотологический мониторинг щук и судаков в водохранилищах проводили на протяжении года в периоды отсутствия льда путем визуального обследования кожи рыб. Гистологические и электронно-микроскопические исследования пораженных органов и тканей рыб проводили общепринятыми методами. Верификацию опухолей с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) проводили по ранее разработанной нами методике (7), в которой в качестве праймеров использованы последовательности нуклеотидов ретровируса лимфосаркоматоза щук в области, кодирующей вирусную РНК-полимеразу.

Результаты исследований. Эпизоотическую неоплазию лимфосаркоматоза щук в Киевском водохранилище мы наблюдали ежегодно в прибрежных мелководных участках (с глубиной 1.5-2 м.) левобережной части этого водоема, покрытой растительностью. Средняя масса больных рыб составляла 1,5 - 2,0 кг; болели 3-5 - летние щуки. Отдельные щуки имели на теле до трех и более опухолей одновременно (Рис.1). Щук, пораженных лимфосаркоматозом, мы обнаруживали так-же в Каневском, Кременчугском и в Каховском водохранилищах днепровского каскада.

Как правило, все опухоли имели неодинаковыми размеры (от 4-х до 11 см в диаметре) и находились на латеральной части тела. Сначала на коже щук возле отдельной чешуи появлялись небольшие скопления розовой жидкости, имеющие вид пузырьков диаметром 3 мм и высотой около 6 мм. Тонкий эпителиальный слой под таким образованием разрывался и чешуя в этом месте отрывалась от тела. Соединительная ткань в пораженном участке приобретала матовый оттенок и наступал период прогрессивного роста опухоли, в результате чего внутреннее центральное кольцо опять приобретало розовый оттенок. Ткань в этом участке была мягкая и влажная - из нее вытекала густая жидкость кремового цвета. После этого мышечные фасции разрушались и на теле щуки появлялась язва.

Гистологический анализ лимфосарком щук показал, что опухоль состоит из лимфоидных элементов типа лимфоцитов и пролимфоцитов с выраженной плазматацией и из плазматических элементов разной степени дифференцирования. Кроме того, она содержит также небольшое количество иммунобластов.

На срезах инфицированных тканей щук наблюдалась глубокая инфильтрация в мышечную ткань. Почки и селезенка инфицированных щук были увеличены в размерах. Гистологические срезы разнообразных органов больных лимфосаркоматозом щуки (мышцы, печенька, селезенка, почки, гонады и др.) были исследованы с помощью световой микроскопии. Проведенные исследования показали, что лимфосаркоматозом поражены не только мышцы щук, но и селезенка и почки.

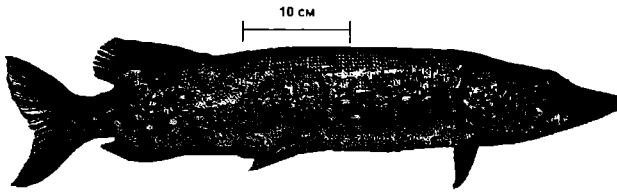


Рис.1 Щука *Esox lucius* из Киевского водохранилища, пораженная лимфосаркоматозом

Проведенными исследованиями было установлено, что интенсивность лимфосаркоматоза щук в Киевском и Каневском водохранилищах в отдельных участках достигала 30%. Таким образом, данные эпизоотологических исследований свидетельствуют о широком распространении лимфосаркоматоза щук в водохранилищах реки Днепр.

Следует отметить, что больные щуки с явными признаками лимфосаркоматоза, кроме водохранилищ, были выявлены нами в водоемах днепровского бассейна, которые не имеют прямого соединения с рекой Днепр (с.Старое Бориспольского р-на).

В период с 2002 по 2006 год в Киевском и Каневском водохранилищах также наблюдалась эпизоотия лимфосаркоматоза среди популяции судаков (*Stizostedion lucioperca*). Внешние признаки заболевания у судаков были схожими с таковыми у щук. Как показали результаты исследований, у больных судаков на теле одновременно бывает от одной и больше опухолей. Иногда они сливаются, образуя большие участки пораженной кожи. Опухоли у судаков также расположены на латеральной части тела и являются идеальным эпизоотологическим маркером (Рис. 2). В основном болеют особи в возрасте от 2-х до 5-ти лет. Это обусловлено тем, что именно в этом возрасте рыбы принимают активное участие в процессе нереста, во время которого на ограниченной территории водоема скапливается большая часть популяции и происходит передача ретровируса от одной особи к другой.

На протяжении 2002-2006 гг нами проводился углубленный скрининг онкологической заболеваемости щук и судаков в уловах рыбодобывающих организаций и рыболовов-любителей в акватории Киевского и Каневского водохранилищ. Результаты этих исследований показали, что частота выявления новообразований у рыб Киевского и Каневского водохранилищ составляла от 7 до 30%. Наивысший уровень заболеваемости щук и судаков на лимфосаркоматоз был зафиксирован в 2003-2004 гг. (Рис. 3, 4).

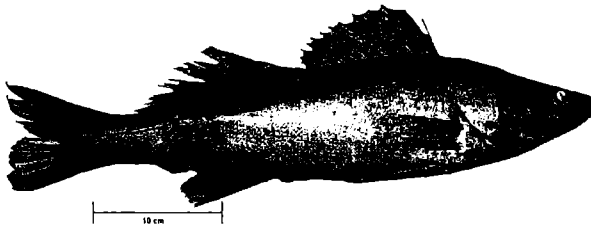


Рис 2 Судак (*Stizostedion lucioperca*), пораженный лимфосаркоматозом

Появление опухолей у рыб наблюдалось преимущественно в холодное время года. Наибольшее количество пораженных рыб наблюдается в марте-апреле и октябре-декабре месяцах. (Рис. 5). Летом опухоли у рыб не выявлялись, или наблюдались рубцы на поверхности тела (рис. 6).

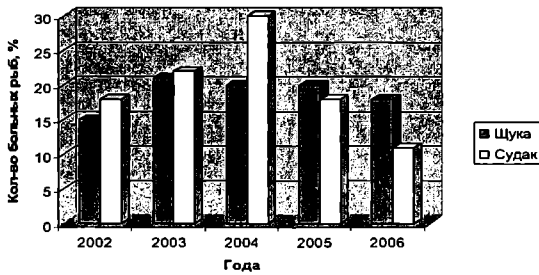


Рис.3 Заболеваемость щук и судаков на лимфосаркоматоз в Киевском водохранилище

Исследователями Корнельского университета (США) было установлено, что с неоплазмами у судака *Stizostedion vitreum* ассоциированы ретровирусы, которые способны вызывать у здоровых судаков опухоли (8). В последние годы подобные ретровирусы были описаны у 13 видов рыб. Благодаря уникальным биологическим свойствам ретровирусы рыб были отнесены к новому роду Эпсилонретровирус. Основным представителем этого рода является вирус дермальной саркомы судака (WDSV), который реплицируется при температуре окружающей среды свыше 4⁰ С.

Кроме WDSV, к роду Еpsilonретровирус входят вирусы эпидермальной гиперплазии судака типа 1 и типа 2 (WEHV-1, WEHV-2). Они вызывают патологическую пролиферацию кожи

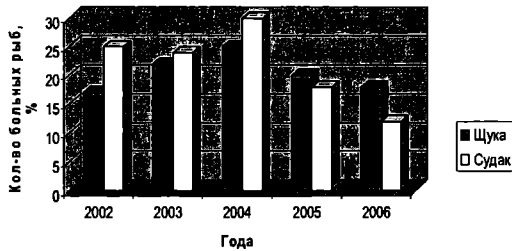


Рис.4 Уровень заболеваемости щук и судаков в Каневском водохранилище

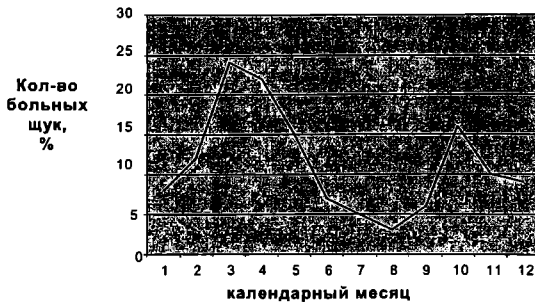


Рис.5 Сезонное проявление лимфосаркоматоза у щук



Рис.6 Рубец на теле щуки, переболевшей лимфосаркоматозом

судаков, которая появляется и регрессирует, как и у рыб из днепровских водохранилищ, сезонно. Вероятно, такая особенность может быть обусловлена температурой, при которой ретровирусы рыб способны реплицироваться, а также гормональными и иммунологическими изменениями, происходящими в организме рыб во время нереста.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бучацкий Л.П. Лимфосаркома щук Киевского водохранилища// Ветеринарная медицина Украины. – 2000.- №11- С.14-15.
2. Бучацкий Л.П., Л.В.Скорода, Н.И.Вовк Эпизоотическая неоплазия щук Киевского и Каневского водохранилищ// Тезисы докл. 3-й Мижнародной конф. Биоресурсы и вирусы. –Киев.- 2001. -С.27.
3. Бучацкий Л.П., Вовк Н.И. Опухоли рыб днепровских водохранилищ// Вестник проблем биологии и медицины. –2002.- вып.7-8 -С.35-37.
4. Эпизоотологический мониторинг лимфосаркоматоза судака (*Stizostedion lucioperca*) Каховского и Каневского водохранилищ/ Бучацкий Л., Бузевич И., Галахин К., Ногарев О. // Ветеринарная медицина Украины. – 2006.- № 2 -С.7-8.
5. Бучацкий Л., Галахин К., Ногарев О. Лимфосаркома судака (*Stizostedion lucioperca*) Киевского водохранилища// Ветеринарная медицина Украины. 2004.- № 8- С. 13-14
6. Бучацкий Л., Мальцев В., Галахин К. Лимфосаркома судака (*Stizostedion lucioperca*) Азовского моря// Ветеринарная медицина Украины. – 2005.- № 9-С. 13-14.
7. Использование ПЦР для диагностики ретровируса лимфосаркоматоза щук/ Вудмаска М.И., Найденов В.Г., Ногарев А.В., Бучацкий Л.П.//Вестник КНУ, серия Биология. -2006.-вып.47-48-С.89-90.
8. Bowser P.R., Casey J.W. Retroviruses of fish// Annual review of fish diseases. –1993. - P.209-224.

SEASONAL EPIZOOTICS OF PIKE AND WALLEYE LYMPHOSARCOMATOSIS IN THE DNEPR RESERVOIRS.

L.P.Buchatsky, A.V.Nogarev.

Given results shows that in the dnepr reservoirs were found pikes and walleyes with seasonal lymphosarcomas. By means of histological investigations was established that the neoplasm penetrate into the muscles and another tissues.

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ СОДЕРЖАНИЯ НА ЗДОРОВЬЕ РЫБ ПРИ САДКОВОМ ВЫРАЩИВАНИИ

Воронин В.Н., Кузнецова Е.В., Стрелков Ю.А., Чернышева Н.Б.

Государственный научно-исследовательский институт озерного и речного
рыбного хозяйства, Санкт-Петербург, Россия
e-mail: niorkh@mail.lanck.net

В последние два десятилетия во всем мире активно развивается садковое рыбоводство. Это объясняется возможностью быстрого строительства хозяйств и относительно низкой стоимостью самих садков. Во многих зарубежных странах акцент делается преимущественно на морские садковые хозяйства. В России почти все садковые хозяйства располагаются на внутренних пресноводных водоемах. В разные годы было построено много садковых хозяйств на водоемах-охладителях ГРЭС и АЭС, где выращивались в основном теплолюбивые рыбы (каarp, растительноядные и осетровые). В последние годы в таких хозяйствах происходит переориентация на выращивание преимущественно осетровых. Холодноводное садковое рыбоводство начало активно развиваться на Северо-Западе России, главным образом в республике Карелия лишь в последние 10-15 лет. Основным объектом выращивания стала радужная форель, производство которой по России в 2000 году составило 6170 тонн, а в 2006 году только по республике Карелия – 6500 тонн.

За последние годы сотрудниками лаборатории болезней рыб ФГНУ «ГосНИОРХ» был накоплен большой фактический материал по влиянию условий содержания на здоровье рыб в тепловодных и холодноводных садковых хозяйствах страны. Общеизвестно определяющее влияние водной среды на организм рыб при возникновении различных заболеваний, но этому явлению все еще уделяется мало внимания при разработке профилактических мероприятий. В отличие от прудового и бассейнового выращивания рыб при садковом рыбоводстве, когда садки устанавливаются прямо в естественных водоемах, какие-либо технические (установка фильтров, увеличение проточности, снижение уровня воды) либо физико-химические воздействия (оксигенация, внесение извести, лечебных препаратов) на водную среду обычно не возможны, ограничены или влияют на экологию водоема. В этой связи особое значение приобретают исследования по изучению как комплексного воздействия факторов водной среды в специфических условиях тепловодного и холодноводного садкового рыбоводства, так и отдельных гидрохимических факторов (температура, кислород, рН и органическое загрязнение, в первую очередь соединениями азота). Сбор и анализ подобной информации позволит не только разработать научно-обоснованные подходы к диагностике возникающих в садковых условиях болезней рыб, но и своевременно профилактировать возможные вспышки болезней, а также еще до строительства рыбоводного хозяйства в ходе подготовки РБО оценить потенциальные возможности водоема.

В качестве примера приведем результаты исследований, выполненные нами в разные годы на тепловодных садковых хозяйствах, а также в форелевых хозяйствах Ленинградской области.

Незаразное жаберное заболевание карпа, возникающее при ухудшении условий содержания, изучалось многие годы. Основной сбор материала проводился в прудовых хозяйствах. Разработанные для борьбы с этим заболеванием мероприятия, такие как регулярное известкование по воде и увеличение проточности в условиях садкового рыбоводства не приемлемы. Работы, проведенные нами, главным образом, в Волгореченском и еще одном тепловодных садковых хозяйствах в разные годы показали, что жаберное заболевание, основной причиной которого является аммиачный эндотоксикоз, протекает различно, при этом определяющим в развитии

патологического процесса является сочетание нескольких неблагоприятных факторов водной среды.

В Волгореченском тепловодном хозяйстве, в конце 80-х годов были достигнуты очень высокие показатели по выращиванию карпа, биомасса которого в садках доходила до 150 кг на 1 м³ воды. Наши наблюдения показали, что в этих условиях, в период высоких летних температур, достигающих 32-33°C, как у сеголетков, так и у двухлетков отмечалась повышенная ослизненность жабр с появлением белесоватого оттенка, а также утолщение жаберных лепестков без признаков некроза. При этом жаберные паразиты отсутствовали или их количество не превышало опасных величин. Карпы с подобными внешними изменениями жаберной ткани обычно стояли у стенки садка на притоке воды у поверхности и тяжело дышали. Значительной гибели рыб при этом не происходило. Предполагалось, что возможно причиной, приводящей к изменениям жабр, является неудовлетворительное состояние водной среды, обусловленное загрязнением ее метаболитами рыб и органикой. С целью выяснения причин жаберной патологии были проведены гидрохимические исследования, а для изучения патологических изменений – световая и электронная микроскопия. Последняя выполнялась совместно с сотрудниками ИБВВ АН СССР. В результате было показано, что характерный матовый оттенок жаберной ткани обусловлен повышенным скоплением гранулоцитов, в первую очередь базофилов и эозинофилов (Воронин, Балабанова, Матей, 1992). Гидрохимические показатели, полученные в результате двукратного взятия проб воды в июле и августе как из ближайшей к садковой линии акватории, так из самого опытного садка, в целом были удовлетворительными. Содержание аммонийного азота и нитритов в воде не превышало предельно допустимых величин, а значение pH воды приближалось к оптимальному (7,5). Только кислород был пониженным и его уровень в августе в садках с рыбой доходил до 3,0 мг/л, при этом вне садка он был в 2 раза выше. Как свидетельствуют литературные данные, кислород, не имеющий, казалось бы, прямого отношения к аммиачному токсикозу и жаберной патологии, тем не менее способен их провоцировать. Так, убедительные эксперименты чешских исследователей показали, что повышение уровня аммонийного азота в сыворотке крови карпов в значительной степени зависело от насыщения воды кислородом (Svobodova et al., 1986).

Более тяжелое проявление незаразного жаберного заболевания карпа наблюдалось в другом тепловодном хозяйстве, где технология выращивания, конструкция и размер ячеек садков были аналогичны с Волгореченским рыбхозом.

В 2003-2004 годах клиника заболевания проявлялась у двухлетков карпа в садках с начала июля, когда температура воды достигла 26°C. Часть рыб в садках поднималась к поверхности воды, где по данным оксиметрии имелось более высокое насыщение воды кислородом. Рыбы были еще активны, уплывали при приближении человека, и их жабры сохраняли внешне нормальное строение, хотя уже приобрели патологический, матовый оттенок. Позже, начиная с середины июля, среди рыб стала отмечаться гибель, резко увеличившаяся к концу июня и продолжающаяся до сентября. Погибающие рыбы имели бледно-розовые жабры с признаками отека и некротического поражения при крайне низком содержании гемоглобина в крови (анемия).

Проведенный мониторинг температуры, кислорода и pH воды показал, что в конце июня при относительно низкой температуре воды (до 25°C) уровень кислорода был еще хороший (6-8 мг/л) как днем, так и ночью, при этом pH был уже довольно высоким и колебался в пределах 7,6-8,0.

С повышением температуры воды до 26°C и выше с начала июля происходило резкое снижение содержания кислорода, особенно в ночное время суток (около или менее 2 мг/л), как в садках, так и вне их. На основании этого было предположено, что жаберное заболевание возникает в результате аутоксикоза из-за препятствия

выведения аммиака через жабры ночью в условиях дефицита кислорода в воде. В то же время массовая гибель рыб в садках началась со второй половины июля, когда рН превысила 8,0 и временами достигала 9,0. Ситуация улучшилась лишь после осеннего понижения температуры воды. При этом гидрохимические показатели также приблизились к рыбоводным нормам. В ходе гидробиологических исследований было установлено, что значительные сдвиги в гидрохимических показателях воды в июле связаны с массовым развитием в водоеме сине-зеленых водорослей, в первую очередь с *Microcystis*, *Anabena* и *Aphanizomenon*. По литературным данным, именно цветение водорослей ответственно за резкое повышение кислорода в воде днем и его падение почти до 0 ночью, а также за повышение рН до 10 и более. Известно, что при определенных условиях представители этих родов сине-зеленых водорослей могут выделять в воду токсические вещества (Ingram, Prescott, 1954). В этом плане представляется интересным, что в Волгореченском тепловодном хозяйстве в районе расположения садков численность *Cladocera* летом всегда была очень высокой, в то время в другом тепловодном хозяйстве эти рачки в гидробиологических пробах практически отсутствовали.

При сравнении проявления жаберного заболевания у карпа в 2-х разных тепловодных садковых хозяйствах можно заключить, что, несмотря на схожесть в условиях выращивания, тяжесть заболевания может значительно варьировать, и она напрямую зависит от состояния водоема. В Волгореченском рыбхозе, где все гидрохимические показатели, за исключением кислорода, были близки к норме, а цветения воды не наблюдалось, жаберное заболевание, несмотря на сверхплотные посадки карпа, не вышло за рамки начальной стадии. В другом тепловодном хозяйстве, из-за чрезмерной эвтрофикации и «цветения» водоема, ряд гидрохимических показателей (кислород и рН) оказались неблагоприятными для карпа, заболевание развивалось до стадии некротического распада жаберной ткани и вызвало массовую гибель рыб. При этом каких-либо возможностей повлиять на сложившуюся ситуацию в водоеме в сторону ее улучшения нет. Отход можно снизить лишь прекращением кормления, но это влечет за собой быстрое снижение веса рыб.

При садковом форелеводстве роль гидрохимических показателей в развитии заболеваний играет еще большее значение, учитывая повышенные требования лососевых к состоянию водной среды. В связи с этим крайне важным представляется правильный подбор водоема или его участка для садкового хозяйства, а в случае, если он слабoprotochnый, то и расчет максимальной проектной мощности хозяйства с учетом его загрязняющего влияния на экосистему в ходе эксплуатации. Определяющими факторами среды для выращивания форели являются температура воды и содержание кислорода. В ходе многолетних наблюдений установлено, что при отсутствии кормления гибель рыб от теплового шока начинается при температурах 25-26°C в зависимости от возраста и породы форели. При этом погибают наиболее крупные и упитанные особи. Клиника кратковременная и сопровождается резкими, хаотичными плавательными движениями. У погибших рыб какие-либо внешние или внутренние патологические изменения отсутствуют. При сублетальной температуре воды (23-24°C), в случае даже ограниченного кормления рыб, также возможна гибель рыб, но она обычно связана с нехваткой кислорода, который затрачивается на поддержание жизнедеятельности организма и процесс пищеварения. При более низкой температуре воды (18-22°C) у лососевых часто возникают различные бактериальные болезни, причиной которых является органическое загрязнение воды в условиях слабого водообмена в садках. Последнее, как правило, происходит при выращивании молоди рыб, из-за мелкой ячеи дели садков и их повышенной обрастаемости.

Несомненной проблемой, которая давно находится в центре внимания за рубежом, но только сейчас начинает обсуждаться в России (Катаев, Стерлигова,

Ильмаст, 2007) является негативное влияние садковых хозяйств на экосистему водоемов.

В заключении следует отметить, что в условиях быстрого развития садкового рыбоводства в России таким взаимосвязанным проблемам как охрана здоровья рыб и сохранение окружающей среды следует уделять особое внимание при научных исследованиях.

Список литературы

Воронин В.Н., Балабанова Л. В., Матей В.Е. Ультратонкие изменения в жаберной ткани карпа при его выращивании в садках тепловодных хозяйств // Проблемы паразитологии и болезней рыб в современных индустриальных рыбоводных хозяйствах. Сборник научных трудов ГосНИОРХ, 1992, вып. 311. С. 82 – 93.

Катаев С. П., Стерлигова О. П., Ильмаст Н. В. Охрана окружающей среды при выращивании форели в Карелии // Рыбоводство и рыбное хозяйство, 2007, № 2. С. 9-16.

Ingram W. M., Prescott G. W. Toxic fresh water algae // Am. Midl. Nat., 1954, Vol. 52. P. 75 -87.

Svobodova Z., Faina R., Groch., Machova J. Studium etiologie toxicke nekrozy zaber karpu // Bul. VURH, 1986, Vod. 22, № 2, P. 2 – 13.

INFLUENCE OF ENVIROMENTAL FACTORS ON FISH HEALTH UNDER NET CAGE REARING VORONIN V.N., KUZNETSOVA E.V., STRELKOV Y.A., CHERNYSHEVA N.B.

A net cage rearing of fish is a modern direction of aquaculture. The influence of temperature, oxygen, pH and other environmental factors on the fish health during warm and cold water net cage rearing of fish are discussed.

ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ И БЕЗОПАСНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ЦИПРОФЛОКСАЦИНА ПРИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БОЛЕЗНЯХ КАРПОВ

Гончарова М. Н., Грищенко Л. И.

ФГОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина, Москва, E-mail: apispisces@imgavm.ru

До недавнего времени для борьбы с бактериальными болезнями рыб широко использовались препараты тетрациклинового ряда, левомицетин, нитрофураны, сульфаниламиды. Но в связи с появлением антибиотикорезистентных штаммов бактерий их эффективность значительно снизилась.

Одним из перспективных препаратов группы фторхинолонов, широко используемых в медицине и ветеринарии и обладающих широким спектром антимикробного действия, является ципрофлоксацин. Являясь ингибитором ДНК-гиразы, препарат наиболее активен в отношении грамотрицательных бактерий, в том числе аэромонад и псевдомонад. Он проявляет бактерицидное действие как на размножающиеся, так и на покоящиеся бактериальные клетки, характеризуется более длительным постантибиотическим эффектом (Падейская, Яковлев, 1998). По сравнению с ранними хинолонами (флумихин, оксолиновая кислота) ципрофлоксацин имеет более высокую активность в отношении бактериальных патогенов рыб (Palmer et al., 1992).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В экспериментальных условиях нами проведены исследования по изучению лечебно-профилактической эффективности и оценке токсических свойств растворимой формы ципрофлоксацина – Антибака-500 при внутрибрюшинном введении препарата. Опыты ставили в аквариумах при температуре воды 18-20°C на сеголетках карпа массой 20 г. Вначале рыбам инъецировали внутрибрюшинно растворы препарата в разных дозах, после чего рыб заражали вирулентными штаммами аэромонад и псевдомонад. Результаты опытов оценивали по выживаемости рыб и клинико-анатомическим признакам заболеваний. Токсичность препарата определяли в специальных опытах путем введения разных доз препарата. Токсические свойства оценивали по выживаемости рыб, а также результатам гематологических и патоморфологических исследований.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При изучении лечебно-профилактической эффективности Антибака-500 получены следующие результаты. После введения препарата 3-м группам рыб в дозах (по л. в.): 2,5; 5; 10 мг/кг массы рыб через 1 час всех рыб заразили вирулентной культурой *Pseudomonas* spp. в количестве 85 млн. м. т. на одну рыбу, 4-я группа, которой препарат не вводили, была контрольной. Через 5 суток в 1-ой группе гибели не отмечено, во 2-ой и 3-ей группах гибель составила по 20%. У всех выживших подопытных рыб наблюдавшиеся в первые дни после заражения клинические признаки болезни исчезли. В контрольной группе гибель составила 80% с явно выраженными признаками, а у 20% выживших рыб отмечен асцит, покраснение в области ануса.

На 7, 13 и 20-е сутки после первого заражения провели повторные подзаражения выживших подопытных рыб той же культурой. В конце опытов гибель рыб составила при дозе Антибака 2,5 мг/кг – 50%; при дозе 5 мг/кг – 40%; при дозе 10 мг/кг – 60%. Причем все живые рыбы были клинически здоровы. В контроле гибель в среднем составила 76,2%, а у остальных выживших рыб отмечен выраженный асцит, покраснения на коже, гиперемия и выпячивание ануса. Различия в процентах гибели рыб при вышеуказанных дозах препарата можно объяснить тем, что его биодоступность при дозах 2,5-5 мг/кг выше (100%), чем при дозе 10 мг/кг (68%).

Следовательно, выживаемость рыб при дозах 2,5 и 5 мг/кг препарата оказалась выше контроля в среднем на 31,2%, что указывает на сохранение его профилактического эффекта минимум в течение 20 дней.

Аналогичный опыт был проведен с использованием вирулентной культуры *Aeromonas sobria* в количестве 170 млн. м. т. на одну рыбу. Через одни сутки после введения препарата и заражения клинические признаки аэромоноза в 1 и 2 группах (2,5 и 5 мг/кг) отмечались у 40 и 16% рыб соответственно. В 3-й группе (10 мг/кг) все рыбы были здоровы, а в контроле количество больных рыб составило 83%. Через 8 суток у всех опытных рыб ранее наблюдавшихся клинические признаки не отмечены, то есть произошло излечение, а в контроле наблюдали гибель всех больных рыб.

Для определения токсичности ципрофлоксацина при внутривнутрибрюшинном введении были использованы дозы (по д.в.) 200; 500; 1000 и 1500 мг/кг массы рыб (по 5 рыб в каждой группе). При этом установлено, что максимально переносимая доза (ЛД₀) составила 500 мг/кг, ЛД₁₀₀ – 1500 мг/кг, ЛД₅₀ – 1000 мг/кг.

Признаки токсикоза при летальных дозах препарата (1000-1500 мг/кг) проявлялись нарушением координации движения рыб (плавание на боку) и судорожными подергиваниями хвостового стебля. Наряду с этим у них была резко выражена анемия (количество эритроцитов 160 тыс./мкл) и умеренная лейкопения (количество лейкоцитов 14 тыс./мкл). При вскрытии рыб на серозных оболочках внутренних органов обнаружен зернистый налет серо-белого цвета. Гистологическими исследованиями установлена застойная гиперемия, зернистая дистрофия и разлитой некроз печеночных клеток и эпителия мочевых канальцев.

При введении доз препарата 200 и 500 мг/кг массы рыб клинические признаки не отмечались, гибели рыб не было. Гематологические показатели оставались в пределах нормы: количество эритроцитов – 1,08-1,11 млн./мкл; количество лейкоцитов – 21 тыс./мкл; Hb – 7,7-8,6. Гистологическими исследованиями установлены слабо выраженные дистрофические и некробиотические изменения только при дозе 500 мг/кг. При дозе 200 мг/кг гистологическая картина не отличалась от контроля.

ВЫВОДЫ

1. Установлена возможность применения растворимой формы Антибак-500 внутривнутрибрюшинно для лечения псевдомоноза и аэромоноза карпов, которое можно применять при заболевании старших возрастных групп рыб.

2. При данном методе введения рекомендуем применять Антибак-500 в дозах 2,5-5,0 мг/кг (по д. в.) с учетом тяжести проявления болезни. Они оказывают лечебный и профилактический эффект.

3. Максимальной токсической дозой препарата при внутривнутрибрюшинном введении следует считать 500 мг/кг, а не действующей – 200 мг/кг, которая превышает терапевтическую дозу в 80-40 раз.

4. Антибак-500 в терапевтических дозах не оказывает токсического действия на карпов и безопасен при внутривнутрибрюшинном применении.

ЛИТЕРАТУРА.

Е. Н. Падейская, В. П. Яковлев. Антимикробные препараты группы фторхинолонов в клинической практике. М.: «Логата», 1998.

Palmer R., Kawai K., Kusuda R. / In vitro activity of quinolone antibacterials against selected fish pathogens // Cyobyko Kenkyn = Fish Pathol, 1992. – 27. - № 3. – P. 131-142.

Goncharova M. N., Grishchenko L. I.

The therapeutic · prophylactic effect and safety using ciprofloxacin in bacterial diseases of carp. Live results effect ciprofloxacin in parenteral input.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОБИОТИКОВ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ ЛИЧИНОК И МОЛОДИ ОСЕТРОВЫХ РЫБ В ЗАМКНУТЫХ УСТАНОВКАХ НА РЫБОВОДНЫХ ФЕРМАХ В РЕСПУБЛИКЕ КОРЕЯ

С.Е., Зуевский*, Н.С. Запороженко*, Л.И. Бычкова**, О.П. Филиппова*

*Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии" (ФГУП ВНИРО), 107140 г. Москва, ул. В.Красносельская 17, Россия, e-mail: maricul@vniro.ru.

**Московский государственный университет технологий и управления (МГУТУ) г. Москва, ул.Болотниковская, 15

Целью настоящей работы было исследование влияния пробиотиков «Зоонорм» и «Бифидум СХЖ» (ЗАО «Партнер») в неблагополучных по массовой гибели личинок и молоди осетровых в замкнутых рыбоводных хозяйствах Южной Кореи.

Материалом для исследования служили лисинки и молодь сибирского осетра. Опыты проводились в двух вариантах.

В первом варианте при выращивании сибирского осетра пробиотические препараты добавляли в стартовые корма японской фирмы "Odoime", а во втором туре в смесь стартовых кормов фирмы "Odoime" и бельгийской фирмы NRD, поставляемых в Республику Корея фирмой "Myung Sun".

Эффективность применения Зоонорма и Бифидум СХЖ оценивали по показателям выживания рыб, массе тела и кормовому коэффициенту.

1-й тур выращивания осетровых

В первом туре, после вылупления, личинок сибирского осетра (20.01-21.01.05 г.), рассадили в три лотка в количестве 7 тыс. штук каждый. При переходе на активное питание в течении 11 дней без повтора, в двух лотках при кормлении с сухим кормом вводились пробиотики.

Первой группе личинок сибирского осетра в корма вводился препарат «Зоонорм» ($8,0 \times 10^9$ КОЕ бифидобактерий). Второй группе – «Бифидум СХЖ» ($8,0 \times 10^9$ КОЕ бифидобактерий). Третья контрольная группа получала стартовый корм без добавок.

Опыт проводился в течении 32 суток выращивания, до первой сортировки. Выживаемость личинок оказалась выше у второй группы (Бифидум СХЖ)- 62% и превышала контрольную группу (26,3%) на 35,7 %, а на «Зоонорме» выживаемость рыб была 49%, на 22,7% выше контрольной группы рыб. Динамика важивания личинок и молоди сибирского осетра представлена на рис.1. При выращивании молоди в УЗВ гидрохимические показатели воды соответствовали норме (температура воды 16-19 °С, кислород 6-9 мг/л, рН 7,5-8,5).

Первоначальная плотность посадки личинок в контрольном лотке (3106 шт./м^2) была высокой и из-за повышенной гибелью личинок конечная плотность составила 818 шт./м^2 . В опытных лотках плотность рыб была по 2857 шт./м^2 . В конце выращивания в лотках, где применялся «Бифидум СХЖ» плотность составила 1772 шт./м^2 , а при выращивании с «Зоонормом» - 1389 шт./м^2 . Изменение средней плотности выращивания представлены на графике (рис.2)

Средняя масса молоди в конце эксперимента при использовании «Бифидум СХЖ» (0,646 г) и «Зоонорма» (0,596 г), несмотря на повышенные плотности, превысила массу тела рыб у контрольной группы (0,413 г) (рис.4).

Кормовой коэффициент при использовании препаратов «Бифидум СХЖ» (0,33) и «Зоонорм» (0,37) был ниже при сравнении с контролем (0,64) (рис.3).

Таким образом, в первом туре на ранних этапах развития сибирского осетра эффект применения пробиотиков явно выражен и препарат «Бифидум СХЖ» показал результаты немного лучше, чем «Зоонорм», улучшив показатели выживаемости молоди, массонакопления и снизив кормовые затраты.

Рис.1. Выживание личинок и молоди сибирского осетра в 1-ом туре.



Рис.2. Изменение плотности выращивания личинок и молоди сибирского осетра в 1-ом туре (шт./м²).



2-й тур выращивания осетровых

Второй тур выращивания складывался из двух этапов:

На первом этапе после вылупления личинки сибирского осетра были высажены в 11 малых прямоугольных лотка (по 8 тыс.шт.) - лотки №15-25. При переходе на внешнее питание, личинок стали кормить стартовым кормом и живыми науплиями артемии, а перешедших на активное питание сибирских осетров поочередно перевели на корм артемией и смесью кормов стартовых NRD 1/2 с японскими "Odoime" фракцией «А» и добавлением пробиотика «Зоонорм» (лотки №№ 15-18), с добавлением пробиотика «Бифидум СХЖ» (лотки №№ 19-23). 2 лотка с личинкой (№№24-25) оставили для контроля. Пробиотики использовались с кормом в течение 7 дней.

В 4 лотках №15-18, где выращивались личинки сибирского осетра, в течении 7 дней перорально, во время кормления сухим кормом, получали препарат «Зоонорм» - всего 8,0 доз или $8,0 \cdot 10^9$ КОЕ активных бифидобактерий, иммобилизованных на частицах активированного угля.

В 5 лотках № 19-23, где выращивались личинки Сибирского осетра, в течении 7 дней перорально, во время кормления сухим кормом получали препарат «Бифидум

СХЖ» - всего 6,0 доз или $6,0 \cdot 10^9$ КОЕ активных бифидобактерий штамма *Bacterium bifidum*.

Рис.3. Кормовые коэффициенты при выращивании личинок и молоди сибирского осетра в 1-ом туре.

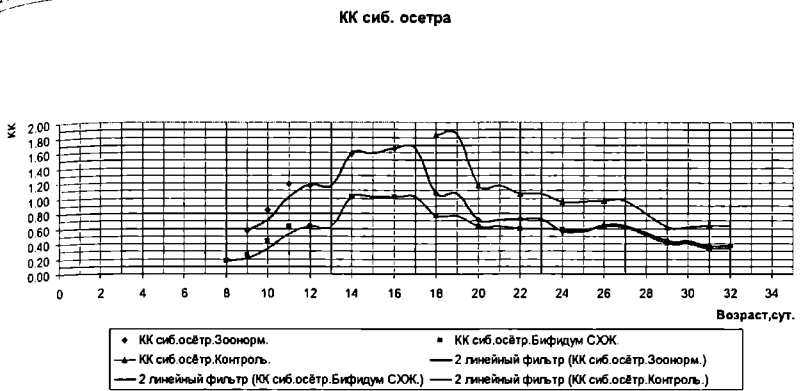


Рис.4. Средняя масса личинок и молоди сибирского осетра в 1-ом туре.



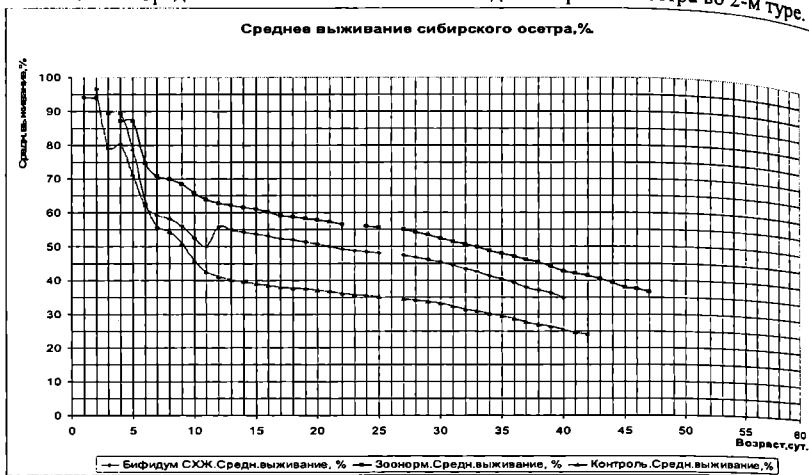
Опыт проводился в течении 43 дней выращивания, до первой сортировки молоди в бассейнах (на 43-48 сутки). Выживаемость молоди оказалась выше у рыб, потреблявшей корм «Зоонорм» - 38% и превышала контрольную группу (24%) на 14%. Выживаемость молоди сибирского осетра, получавших с кормом «Бифидум СХЖ» (31%) превысила контрольную группу на 7%. Динамика выживания личинок и молоди сибирского осетра представлена на рис.5.

Гидрохимические показатели воды соответствовали норме при выращивании молоди в УЗВ (температура воды 16-21 °С, кислород 6,5-9 мг/л, NH_4^+ до 0,4 мг/л, NO_2^- до 0,1 мг/л, NO_3^- до 20 мг/л, рН 8-8,4; карбонатная жесткость 260-280 мг/л).

Несмотря на то, что первоначальная плотность посадки личинок во всех лотках была около 3,3 тыс. шт./м², в конце опытного выращивания наибольшая плотность осталась в лотках, где применялся «Зоонорм» (1387 шт./м²) и «Бифидум СХЖ» (1131 шт./м²), в связи с повышенной гибелью личинок в контрольном лотке (конечная

плотность составила 803 шт./м²). Изменение средней плотности выращивания представлено на графике (Рис.6.)

Рис.5. Среднее выживание личинок и молоди сибирского осетра во 2-м туре.



Существенного влияния на среднюю массу молоди в конце эксперимента при применении «Бифидум СХЖ» (0,945 г) и «Зоонорма» (0,854 г), по сравнению с контролем (1,191) не оказало (Рис.7).

Меньшая плотность при выращивании молоди в контрольном лотке и уменьшение конкуренции при питании были доминирующими факторами, повлиявшие на увеличение массы тела рыб в контрольных лотках.

Кормовые коэффициенты в этом туре оказались примерно одинаковыми (0,74-0,83) и в контрольных лотках и в лотках, где с кормами использовались пробиотики (Рис.8).

Во втором варианте при выращивании сибирского осетра «Зоонорм» показал лучшие результаты, чем «Бифидум СХЖ». Сходные результаты получены и при выращивании молоди бестера.

Рис.6. Изменение плотности выращивания личинок и молоди сибирского осетра в 2-туре (шт/м²).

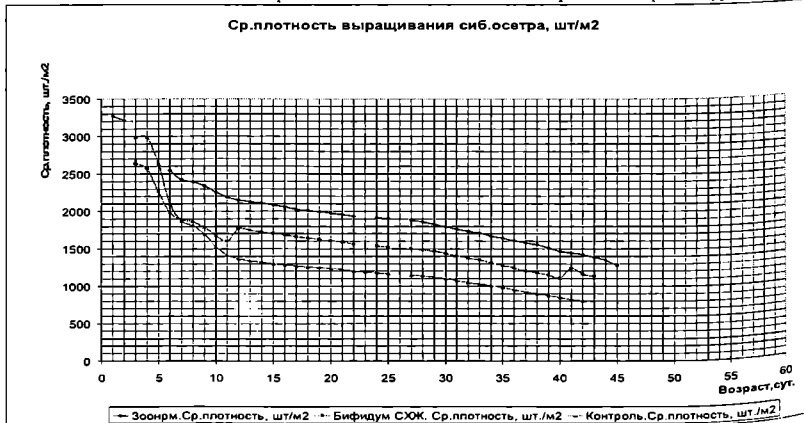
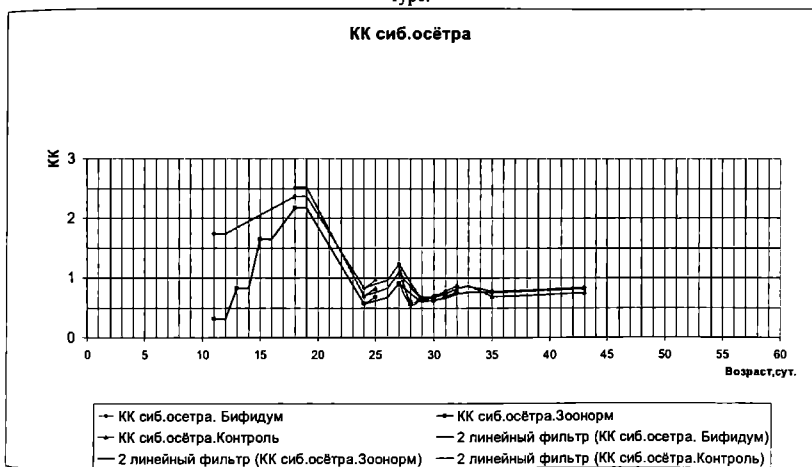


Рис.7. Изменение средней массы личинок и молоди сибирского осетра в 2-ом туре.



Рис. 8. Кормовые коэффициенты при выращивании личинок и молоди сибирского осетра во 2-ом туре.



Резюмируя полученные результаты, можно сделать выводы:

1. Применение пробиотических препаратов привело к более высокому проценту выживания молоди осетровых рыб в условиях УЗВ и снижению кормового коэффициента.

2. В первом туре получены лучшие результаты, так как плотности посадок молоди были $2,8 \text{ тыс. шт./м}^2$, ниже чем во 2 туре.

3. Во втором туре результаты применения пробиотических препаратов были менее эффективными из-за повышенных плотностей (свыше $3,5 \text{ тыс. шт./м}^2$).

Полученные экспериментальные результаты кормления молоди осетровых рыб на ранних этапах выращивания в условиях УЗВ должны быть продолжены с дополнительными исследованиями. Необходимо оценить воздействие органических

нагрузок водной среды на эффективность применения пробиотических препаратов Зоонорм и Бифидум-СХЖ в рыбоводстве.

ЛИТЕРАТУРА

1. И.А. Бурцев, Е.Н. Кузнецова, С.Е. Зуевский и др. 2007. Сотрудничество ВНИРО с рыбоводными предприятиями Республики Корея в области осетроводства// Рыбн. х-во. №. 2 (в печати).
2. Бурлаченко И.В. Теоретические и прикладные аспекты повышения резистентности осетровых рыб в аквакультуре. Автореферат докторской диссер., М. 2007,- 46с..
3. Трифонова Е.С., Юхименко Л.Н., Бычкова Л.И., Гаврилин К.В. Применение пробиотиков на Можайском производственно-экспериментальном рыбоводном заводе. Сб. научных трудов «Болезни рыб».- М.: Вып. 79, 2004. – С. 170-176.
4. Трифонова Е.С., Бычкова Л.И., Юхименко Л.Н. Болотов В.Д. Эффективность применения пробиотических препаратов «Зоонорм» и «Бифидум-СХЖ» на Можайском ПЭРЗ. Расширенные материалы Всероссийской научно практической конференции. «Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб». – М.: 2004.- С.528-534.
5. Филиппова О.П., Бычкова Л.И., Трифонова Е.С., Мягких Ф.Ф.. Опыт использования пробиотического препарата – бифилактрина на ранней стадии выращивания бестера. Расширенные материалы Всероссийской научно практической конференции. «Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб». – М.: 2004. – С. 534-538.

UTILIZATION OF PROBIOTIC PREPARATIONS WHEN FEEDING STURGEON LARVAE AND FRY IN RECIRCULATING AQUACULTURE SYSTEMS (RAS) AT FISH-BREEDING FARMS IN THE REPUBLIC OF KOREA.

S.E. Zuevskiy*, N.S. Zaporozhchenko*, L.I. Bychkova**, O.P. Filippova*,

Scientific data on the influence of probiotic preparations “Zoonorma” and “Bifidum-SHZh” on the survival rates of sturgeon fry (Siberian sturgeon and bester), weight increment and food coefficient were obtained by Russian specialists at sturgeon-breeding farms in the Republic of Korea and analyzed.

Positive results were obtained when using the above preparations aimed at improving main fish farming characteristics and the relationship between these indices and stocking density in rearing trays.

К СОВРЕМЕННОМУ ЭПИЗООТИЧЕСКОМУ СОСТОЯНИЮ РЫБОВОДНЫХ ХОЗЯЙСТВ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН

М.Л. Калайда, А.Н. Воробьева

*Казанский государственный энергетический университет, каф. кол. ВБА,
РТ, г. Казань, ул. Красносельская, 51, kalayda@mi.ru*

Рассмотрено состояние ихтиопаразитофауны водоемов Республики Татарстан во временном аспекте. Показана недостаточность обследований прудового фонда в республике, связанная со сменой форм собственности в хозяйствах и отсутствия целенаправленной политики поддержки производителей рыболовной продукции. Отмечено, что в связи с работами по воспроизводству рыбы в водохранилище возрастает роль малых водоемов в производстве рыб и их состоянии. Выявлена заболеваемость щуки личинками *Eustrongylides* III стадии и взрослыми особями в тканях мышц. Сделан вывод о необходимости ветеринарно-санитарной и экологической характеристики рыбохозяйственных водоемов при аквакультуре на внутренних водоемах.

В настоящее время в Российской Федерации в системе «Рыбхоза» функционирует 400 рыболовных хозяйств, из них неблагополучными по различным заболеваниям рыб являются более 25%. По данным, представленным ветеринарной службой РТ в департамент ветеринарии Минсельхоза России, республика Татарстан признана одной из наиболее неблагополучных по инфекционным и инвазионным заболеваниям рыб [15]. В то же время, по данным опроса врачей Ветеринарных лабораторий Республики Татарстан за последние годы исследования рыбы в рыбхозах проводились в ограниченном объеме, редко и не достаточно. Работы по выявлению эпизоотического состояния, проведенные в январе 2007 г. в Арском рыбхозе показали стерильность рыбы по инвазионным заболеваниям. Отсутствие регулярных обследований прудового фонда республики на наличие эпизоотий связано с рядом причин: это, в первую очередь, смена форм собственности в хозяйствах. Как и во многих регионах Российской Федерации большая часть прудового фонда в настоящее время приватизирована, а часть – сдана в аренду предпринимателям. В таких прудах, как правило, профилактические и лечебные мероприятия не проводятся. [15]. Другой причиной является отсутствие налаженной работы в рыболовных хозяйствах: многие из них прекратили производство рыбы как из-за отсутствия посадочного материала (в том числе рыбопитомник «Сокурь» Лаишевского района Республики Татарстан), так и отсутствия целенаправленной политики поддержки производителей рыболовной продукции. Это связано и с тем, что в регионе основным источником пресноводной рыбы является Куйбышевское водохранилище [6].

Первые исследования по изучению паразитофауны рыб только что созданного Куйбышевского водохранилища развернулись в конце 1950-х гг. По данным Любарской О.Д. [9] было обследовано 17 видов рыб, у которых выявлено 85 видов паразитов. Ведущими группами среди них были моногенетические сосальщики (24,7%), миксоспоридии (17,6%), трематоды (15,3%) и цестоды (14,1%).

В Куйбышевском водохранилище за последние 50 лет наиболее распространенными были заболевания дифиллоботриозом, описторхозом и лигулезом [4, 7, 8, 9, 10].

В 40-х годах заболеваемость дифиллоботриозом в республике носила спорадический характер. В последующие 2 десятилетия число заболеваний стало возрастать и достигло своего пика в 60-х годах. Однако, в следующие 30 лет и вплоть до настоящего времени число заболевших стало снижаться и достигло своего минимума в 90-е годы. [8]. Подъем заболеваемости в 50-60-х годах объясняется созданием благоприятных условий для воспроизводства первых и вторых промежуточных хозяев лентеца широкого в акватории вновь созданного Куйбышевского водохранилища. [8].

Снижение числа заболеваемости можно связать с ухудшением качества водной среды, что также негативно действует на яйца и свободно живущую личинку-

корацидия лентеца широкого. Так в 60-е годы процент инвазированности плероцеркоидами щуки и окуня составлял 82,4 и 28,9% соответственно, а в период с 70-х по 90-е годы инвазированность щуки достоверно снизилась в 1,8 раза, а окуня почти в 9 раз. [8]. Все это, а также активная дегельминтизация больных, обусловили улучшение эпидемиологической обстановки по дифиллоботриозу в республике.

Крупнейшей эндемической территорией описторхоза в России является Западная Сибирь, второе место по масштабности занимает Волжско-Камский бассейн с территориями Башкортостана, Татарстана и ряда областей. Однако, по эпидемиологической валентности он значительно слабее западно-сибирского [8]. Природные очаги описторхоза в Татарстане были выявлены еще в начале 50-х годов XX века [13]. В 1957 г. зараженность жителей 6 районов РТ описторхозом составила 80-90% [14]. Во второй половине 60-х годов описторхозную инвазию, с пораженностью до 81%, у жителей 8 районов РТ выявила Р.У. Салихова [12].

Кроме людей были обследованы также [8,9] 2906 экз. 13 видов карповых рыб в 18 участках акваторий Куйбышевского и Нижнекамского водохранилищ. У 25 экз. рыб (0,86%) 4-х видов (плотва, густера, язь, чехонь) обнаружены личинки описторхид родов *Pseudophistomum*, *Metorchis*, *Opistorchis*. По итогам комплексных работ выявилось, что в экологических системах интразональных ландшафтов республики сохранились практически все звенья паразитарного комплекса природного очага описторхоза [8,9]. Но, его эпидемиологическая валентность, в сравнении с таковой в 50-60-х годах [8,9, 12,14], существенно снизилась.

В последние 10 лет в группе антропогенных гельминтозов, по данным Л.Д. Любарской, Е.Г. Козловой и др. [9,10], описторхоз продолжает сохранять 4-е место. Но отмечается определенная тенденция к росту инвазированности населения описторхозом. В 1985-89 гг. описторхоз регистрировали в 14, в 1990-94 гг. – в 17, а в 1995-99 гг. – в 22 районах республики. [9]. В основном это регионы, прилегающие к акваториям Куйбышевского и Нижнекамского водохранилищ, а также в юго-восточных (нефтеносных) районах республики.

По данным Бойко В.А. [9] за последние годы заболеваемость описторхозом и дифиллоботриозом в Республике Татарстан существенно снизилась. Очевидно, что происходят сложные преобразовательные процессы, как следствие прямого или косвенного, стимулирующего или лимитирующего действия антропогенного фактора на ландшафты региона. Трансформация зональных и интразональных ландшафтов влечет за собой перестройки паразитокомплексов, как структурных единиц наземных и водных экосистем, что отражается на характере и масштабности эпизоотического процесса в очагах болезней и, в конечном счете, на их эпидемиологической валентности.

Исследования судака и берша в Куйбышевском водохранилище, проведенные в последние годы [7], выявили высокий процент зараженности нематодами *Samallanus tricusatus* (Rudolphi, 1814). Зараженность берша была выше, чем судака (соответственно 18,3% и 46,1%). Число нематод в зараженных судаках варьировало от 1 до 13, а бершах – от 1 до 39. масса встречаемых нематод варьировала от 0,3 до 1,5 мг. Из паразитов рыб в пищеварительных трактах синца и плотвы встречается *Aspidogaster limacoides* [4], распространение которого связывается с проникновением дрейсены из дельты Волги [3]. Степень зараженности рыб достаточно высока – 18,2%, при интенсивности заражения 3-32 экземпляра в одной рыбе [3,6].

В 2000-2002 гг. нами проводились по заказу Экологического Фонда Республики Татарстан работы по выращиванию на базе водоемов комплексного назначения и выпуску сеголетков щуки в Свяжский залив Куйбышевского водохранилища. В 2006–2007 гг. при исследовании питания щуки было выявлено наличие в печени и желчном пузыре личинок *Eustrongylides* III стадии и взрослых особей в тканях мышц. Максимальное количество обнаруженных личинок составило 12-14, а взрослых - 2 экземпляра. Также

в пищеварительных трактах щуки были обнаружены *Triaenophorus nodulosus*. Интенсивность заражения составила 6 экземпляров паразитов, средний размер которых составил 130мм, а ширина 2-3 мм. Зараженность самок была выше, чем самцов и снижалась с увеличением размеров рыб и их возраста.

При работах по воспроизводству рыбы для Куйбышевского водохранилища наиболее целесообразно использовать значительный фонд водоемов комплексного назначения. Однако, при этих работах возникает проблема выявления водоемов с высоким процентом заражения моллюском. Так, при исследованиях водоемов Пестречинского района Республики Татарстан [11] было выявлено, что процент зараженности моллюсков трематодами был неодинаков. В ряде водоемов их вообще не выявили, в других этот процент составил 44,4%. При осмотрах выращиваемой в рыбе, заболеланий, вызванных личинками трематод (диплостомов, церкариозной диплостомоз, постодиплостомоз), не было обнаружено. Обследования кишечных трактов карпа выявило зараженность гвоздичником (сем. *Caurophyllacidae*). Зараженность при этом составила 30%, причем 73% зараженных особей имели пустые кишечные тракты. Паразиты достигали 5 см длины при 3-4 мм ширины тела. Интенсивность заражения одной особи варьировала от 2 до 48 экземпляров на рыбу. У большинства находилось 10-11 экземпляров паразита. [11].

В результате исследований Гадеевы Г.М. в 1984-1987 гг. в весенне-летнем периоде, было выявлено, что лигулезная инвазия распространена, главным образом, в естественных водных бассейнах рек Волги, Камы и Мещи. Зараженность рыб составляла от 1 до 23,8 на середине акватории, а в прибрежных участках до 71,3% [1]. В прудовых хозяйствах при исследовании карпов личинок лигул на тот период обнаружено не было. Инвазированность личинками лигул [1] наблюдалась, главным образом, у рыб с двухлетнего возраста. В зависимости от возраста изменялась и экстенсивность инвазии. Наибольший процент пораженности отмечался у рыб в возрасте 4-х лет. Часто встречались личинки лигул и у пятилетних особей. Снижение инвазии было отмечено у шестилетней, а значительное уменьшение у восьмилетней рыбы. Имела некоторые особенности сезонная динамика. Первые случаи обнаружения личинок лигул выявлялись в конце мая – начале июня. Увеличение приходилось на июль, август, а спад ее в октябре – ноябре. Такая закономерность, объяснялась, повидимому, более высокой температурой воды, что влияло на жизнеспособность и развитие яиц гельминта, находившихся в бассейне [1].

В настоящее время потребность в рыбе и рыбопродуктах, по мнению Друковского Г.С [2], очень высока. Это связано с нынешним состоянием мирового рыбного хозяйства, когда ресурсы морей, океанов и внутренних водоёмов не могут полностью обеспечить население планеты пищевой рыбной продукцией. Запасы наиболее ценных и массовых объектов промысла находятся в критическом состоянии. При этом потребность населения в пищевой рыбной продукции постоянно увеличивается.

В связи с подъемом экономики России в целом, и развитию рыбоводства в частности, сейчас все большую актуальность приобретают вопросы правильного разведения рыбы, ее ветеринарно-санитарное и экологическое качество. Большое внимание предстоит уделять профилактике инвазионных болезней рыб и ее безопасности при употреблении в пищу. Таким образом, изучение ветеринарно-санитарной и экологической характеристики рыбохозяйственных водоемов является необходимой составляющей при аквакультуре на внутренних водоемах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.

1. Гадеева Г.М. Морфогенез лигулеза рыб в реках ТАССР: Авторсф. дисс.... канд.вет.наук.- Казань, 1988. – 22 с.

2. Друкровский С.Г. Ветеринарно-санитарная и экологическая характеристика рыбохозяйственных водоемов московской области.: Автореф. дисс... канд.вет.наук.- М., 2006.- 24 с.
3. Жохов А.Е. Паразиты-вселенцы бассейна Волги:современное состояние проблемы //Американо-российский симпозиум по инвазионным видам.27-31 августа 2001 г.,Борок, Россия: Тез.докл.-Ярославль,2001.- С.2620-264.
4. Калайда М.Л. Любарская О.Д. К вопросу о зараженности паразитами синца в Куйбышевском водохранилище// Проблемы охраны здоровья рыб в аквакультуре. Сборник тезисов докладов научно-практической конференции 21-22 ноября 2000 г.- М.,2000.-С.69-70.
5. Калайда М.Л. Современная роль видов-вселенцев понто-каспийского комплекса в экосистеме куйбышевского водохранилища.//Инвазии чужеродных видов в Голарктике/ Материалы российско-американского симпозиума по инвазивным видам, Борок, Ярославской области, Россия, 27-31 августа 2001г. Борок, 2003. С.165-174.
6. Калайда М.Л. Необходимость учета любительского и браконьерского рыболовства при аквакультуре водохранилищ//Аквакультура начала XXI века: истоки состояния, стратегия развития.-М.: Изд-во ВНИРО,2002.-308.- С.88-92
7. Калайда М.Л. Роль экологических факторов в заболеваемости судака и берша.// Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов.- М., 2003.- С.49-50.
8. Козлова Е.Г., О.К. Грачева, Закиева С.Ю. и др. Дифиллоботриоз.//Бойко В.А. Природные очаги зооантропонозов трансформированных ландшафтов РТ во 2-й половине XX века.- Казань, 2001.- С.85-90.
9. Любарская Л.Д., Козлова Е.Г., Грачева О.К. и др. Описторхоз.// Бойко В.А. Природные очаги зооантропонозов трансформированных ландшафтов РТ во 2-й половине XX века.- Казань, 2001.- С.90-98.
10. Любарская О.Д. Краткие сведения о гидробиологических и паразитологических исследованиях на кафедре зоологии беспозвоночных казанского университета.// История гидробиологических исследований в РТ. Казань, 1996.С.24-27.
11. Соколина Ф.М., Калайда М.Л. Эпизоотологическое состояние водоемов комплексного назначения колхоза им. Вахитова ТАССР КГУ.// Проблемы охраны вод и рыбных ресурсов./ Тезисы докладов 3 поволжской конференции. Казань, 1983.С.68-71.
12. Салихова Р.У. Эпидемиология описторхоза в приречных районах ТАССР и некоторые мероприятия по борьбе с ним: Автореф. дисс. канд.меднаук. Казань, 1970. 16с.
13. Троицкая А.А. Материалы по гельминтофауне лисиц Татарской АССР// Вопросы биологии пушных зверей /Труды ВНИО.-1955.-Т.XIV.-С.158-172.
- 14.Хамидуллин Р.И. Описторхоз и первичный рак печени: Автореф. дисс.... Докт.мед.наук.-М., 1984.- 58 с.
15. Яременко Н.А., Селиверстов В.В. Анализ эпизоотической обстановки по заразным болезням рыб в РФ по итогам 2002г.// Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов./Сб. тезисов докладов Всероссийской научно-практической конференции 16-18 июля 2003г., М., 2003.- С.143-145.

MODERN SITUATION ON DISEASE OF FISHES IN FARMS OF REPUBLIC TATARSTAN

The condition parasites of fishes in reservoirs of Republic Tatarstan in time aspect is considered. Insufficiency of inspections ponds fund in the republic, connected with change of patterns of ownership in facilities and absence of a purposeful policy (politics) of support of manufacturers of fish-breeding production is shown. It is marked, that in connection with works on reproduction of a fish in a water basin the role of small reservoirs in manufacture of fishes and their conditions grows. Disease of a pike larvae *Eustrongylides* III stages and by adult individuals in fabrics of muscles is revealed. The conclusion about necessity of the veterinary, sanitary and ecological characteristic ponds for water culture on internal reservoirs is made.

ПАРАЗИТИРОВАНИЕ РАЧКОВ РОДА *ARGULUS* НА ОСЕТРОВЫХ РЫБАХ
О.В. Корабельникова

ФГУП "Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного рыбного хозяйства", Россия, 141821, Московская обл., Дмитровский район, п. Рыбное, тел. (495) 587-27-16, e-mail: VNIPRH@mail.ru

В современной аквакультуре товарное осетроводство получает все большее развитие. Паразитофауна осетровых Волго-Каспийского бассейна насчитывает 53 вида, в том числе 4 вида ракообразных (Казарникова, Шестаковская, 2005). При выращивании товарных осетров в аквакультуре в бассейнах резко возрастает вероятность их заражения эктопаразитами. В последние годы описан ряд случаев возникновения у них инвазий, в том числе и аргулеза в промышленных хозяйствах (Головин и др., 1999; Чепурная, Вихляева, 1999).

Целью настоящей работы явилось изучение заражения осетровых рыб рачками р. *Argulus* и определение видовой и половой структуры популяций рачков в условиях промышленного хозяйства.

Исследование проводили на Конаковском заводе товарного осетроводства (КЗТО) Тверской области. Это тепловодное промышленное бассейновое хозяйство, использующее сбросные теплые воды Конаковской ГРЭС. Обследованию было подвергнуто 287 экз. половозрелых особей разных видов сибирских осетровых рыб: ленского (*Acipenser baeri* Brandt, 1869), байкальского (*Acipenser baeri baeri n. baicalensis* A. Nicolsky, 1896), обского (*Acipenser baeri baeri* Brandt, 1869), а также русского (*Acipenser güldenstädti* Brandt, 1869) осетра, и стерлядь различных популяций (*Acipenser ruthenus* Linne, 1758) (Веселов, 1977).

Сбор паразитических рачков проводили ежемесячно с июня по сентябрь во время контрольных обловов рыб. Паразитологическому обследованию подвергали по 5-34 экз. выборочно отлавливаемых осетров. Собранных рачков фиксировали во флаконах с 70° спиртом. Для определения вида паразитов помещали на предметное стекло в смесь спирта с глицерином и рассматривали под МБС. Видовую принадлежность рачков проводили по «Определителю паразитов пресноводных рыб фауны СССР» под редакцией О.Н. Бауера (1987). Всего было собрано и обработано 29 проб, включающих 1289 экз. паразитических рачков. Собранных аргулюсов в дальнейшем разделяли по полу.

Статистическую обработку полученных материалов проводили с помощью программы Statistica, для построения графиков использовали Microsoft Excel.

Зараженность ремонтно-маточного стада осетровых рыб паразитическими рачками р. *Argulus* в летне-осенний период представлена в табл. 1.

Таблица 1

Уровни заражения производителей осетровых рыб в течение летнего сезона паразитическими рачками р. *Argulus*

Показатель	Даты облова бассейнов						
	10.06.	16.06.	29.06.	20.07.	3.08.	24.08.	17.09
Э.И., %	42,3	40	96,7	91,8	100	93	51,7
Ср. И.И., экз./рыбу	4,5±0,6	8,7±1,7	5,1±0,6	13,0±2,4	32±6,1	9,9±1,7	1,8±0,4
Ср. И.О., экз./рыбу	1,9±0,5	3,5±0,8	5,0±0,6	11,9±2,3	32±6,1	9,2±1,7	0,9±0,25

В начале наблюдения до второй декады июня зараженность рыб была около 40%, а затем она увеличилась на 57%. Максимальная экстенсивность инвазии была с третьей декады июня и до третьей декады августа. К середине сентября зараженность осетров уменьшилась на 41,3%. Средняя интенсивность инвазии рыб и индекс обилия рачков в летнее время были в широких пределах (от 1,8 до 32 экз./рыбу и от 0,9 до 32 экз./рыбу соответственно). Максимальное количество рачков на рыбе наблюдали в начале августа, когда амплитуда интенсивности колебалась от 40 до 145 экз.

Лабораторная обработка проб выявила на рыбе два вида паразитов р. *Argulus*: *A. coregoni* и *A. foliaceus*. Соотношение видов рачков на осетрах представлено в табл. 2.

Соотношение на осетровых рыбах рачков р. *Argulus* в летне-осенний период

Вид рачка	Показатель	Даты облова бассейнов					
		16.06.	29.06.	20.07.	3.08.	24.08.	17.09.
<i>A. coregoni</i>	%	100	30	80,8	99,4	76,2	79,2
<i>A. foliaceus</i>	%	0	70	19,2	0,6	23,8	20,8
Собрано рачков для анализа, экз.	экз.	48	40	452	523	202	24

В начале сезона на осетровых рыбах паразитирует только *A. coregoni*. В последней декаде июня этот вид рачка в пробах уменьшился. К концу второй декады июля и в начале августа зараженность им рыб увеличивалась и до середины сентября она продолжала оставаться высокой.

Численность *A. foliaceus* имела другой характер. В середине июня в пробах рачка совсем не отмечали. К концу июня наблюдали его максимальное количество, но к началу августа его доля снизилась, и паразит уже встречался в пробах единично. С последней декады августа и до второй декады сентября было вновь отмечено повышение уровня зараженности им рыбы. Таким образом, по результатам обработки проб выяснили, что доминирующим видом в течение летне-осеннего сезона был *A. coregoni*.

Половую структуру популяции рачков оценивали отдельно по каждому виду. В начале наблюдения самок *A. coregoni* было на 16,6% больше, чем самцов (рис. 1).

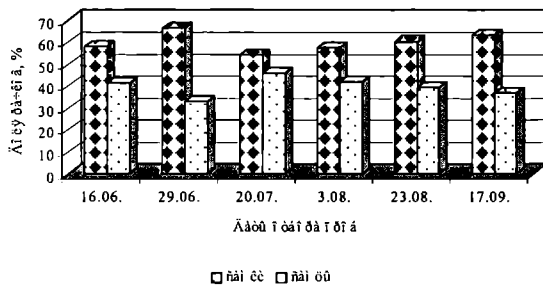


Рис. 1. Половое соотношение *A. coregoni* на осетровых рыбах

К концу июня число самок увеличилось на 8,4%, и соотношение полов составило 2:1. В конце второй декады июля наблюдали пик численности самцов (соотношение самок и самцов стало 1,2:1), за которым последовало постепенное снижение их числа до конца наблюдения. Количество самок при этом постепенно увеличивалось. Максимальное количество самок *A. coregoni* наблюдали в начале августа - 6,9 экз./рыбу, а самцов - 5,1 экз./рыбу при общем соотношении 1,3:1.

Таким образом, видно, что на протяжении всего исследуемого периода в популяции *A. coregoni* доминирующее положение занимали самки - от 16 до 20%.

Соотношение самок и самцов *A. foliaceus* отражает динамику зараженности осетровых рыб этим видом рачка. Последняя характеризуется резкими перепадами и при этом половое соотношение рачков (при вспышке численности данного вида) меняется. Впервые *A. foliaceus* отмечали на рыбах с третьей декады июня. В это время

в пробах самок на 21,4% больше, чем самцов, и соотношение полов было 1,5:1 (рис. 2). Увеличение зараженности рыб *A. foliaceus* в конце второй декады июля произошло за счет самок, доля которых увеличилась на 15,9% (соотношение самок и самок составило 1,2:1). К началу августа самок совсем не отмечали, но к концу месяца происходит их увеличение. Встречаемость самок до середины сентября постепенно снижалась до 40%, а соотношение полов 1,5:1 соответствует концу июня, несмотря на то, что их количество на рыбе в 2,3 раза меньше. Представленные на рис. 2 перепады (16.06. и 3.08.) связаны со снижением зараженности рыб *A. foliaceus* в эти сроки (см. табл. 2).

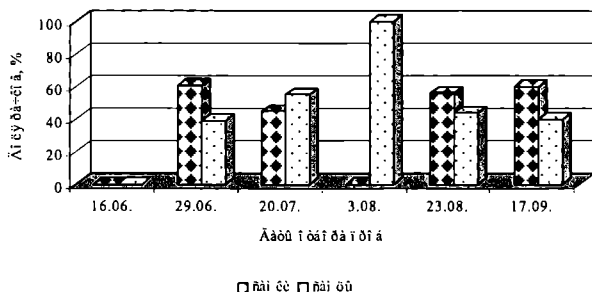


Рис. 2. Половое соотношение *A. foliaceus* на осетровых рыбах

Паразитические рачки р. *Argulus* относятся к жаброхвостым ракообразным *Branchiura* Thorell, 1864 и регистрируются как у осетровых, так и у других видов рыб. Это широко распространенная группа паразитов рыб одного семейства *Argulidae* Müller, 1785, представленная только одним родом *Argulus* Müller, 1785. В него включены 3 вида представителей пресных вод нашей страны. Значительный ущерб рыболовным хозяйствам причиняет *A. foliaceus* (Головин и др., 1999; Киселев, Ивлеева, 1953).

На КЗТО паразитирование аргулюсов приводит к заболеванию ремонтно-маточного стада (Корабельникова, 2005, 2007). Пораженные рыбы ведут себя беспокойно, не берут корм, трутся о стенки бассейна и скапливаются у поверхности воды. Заболевание наблюдается во второй половине лета у группы ремонтно-маточного стада осетровых рыб. Фактором, способствующим росту численности рачков, является бассейновое содержание рыбы. Ремонтно-маточную группу осетра выращивают в прямоугольных бетонных бассейнах площадью 10 м² с уровнем воды 1 м, а производителей - в бассейнах большего объема (20 м² глубиной 0,8 м). Сброс воды происходит через нижние решетки. Бассейны с товарной рыбой чистят щетками 1-2 раза в неделю, а с ремонтно-маточным стадом значительно реже, сбрасывая до 80% воды, усиливая водоподачу при полностью открытом нижнем водосбросе (Инструкция ..., 1991). Водоснабжение бассейнов независимое, водоподача прямоточная. Расход воды увеличивается по мере роста рыбы. Полный водообмен в бассейнах с товарными осетрами и производителями происходит за 20 минут. Мы полагаем, что существует несколько способов попадания рачков в рыболовные бассейны. Один из них - поступление личиночных стадий паразитов вместе с водой из источника водоснабжения (р. Волга). В бассейнах создаются благоприятные условия для их роста, развития и размножения (Головин и др., 1999). Распространение аргулюсов на заводе может происходить также через рыболовный инвентарь, так как рачки способны прикрепляться за дель сачка и свободно попадать из одного бассейна в другой при различных манипуляциях рыболова, в том числе при контрольных обловах.

Оценка зараженности осетровых рыб, проведенная нами, показала, что пик инвазии рачков приходится на конец лета – начало осени.

Нашими исследованиями выяснено, что в условиях КЗТО на осетровых рыбах ремонтно-маточного стада наряду с уже известным паразитическим рачком *A. foliaceus* (Linnaeus, 1758) встречается *A. coregoni* (Thorell, 1864), который ранее не описывали в условиях завода. Возбудители аргулеза различаются по форме и строению хвостового плавника. У *A. foliaceus* они закружены и покрыты шипиками. У *A. coregoni* эти лопасти заострены и имеют ровный край. Это наиболее распространенные виды рачков, но для *A. coregoni* сроки развития мало изучены. При оценке половой структуры популяции *A. coregoni* в летне-осенний период преобладали самки в соотношении 2:1, у *A. foliaceus* в это же время в равной степени преобладали самки и самцы, но в соотношении 1,5:1.

В дальнейшем целесообразно продолжать изучение структуры популяции паразитических рачков, что позволит разработать биологические способы борьбы с ними.

ЛИТЕРАТУРА

Веселов Е.А. Определитель пресноводных рыб фауны СССР.- М.: Просвещение, 1977. – 238 с.

Головин П.П., Головина Н.А., Гусева Н.В. Паразиты и болезни осетровых рыб в товарных индустриальных хозяйствах // Проблемы современного товарного осетроводства: Тез. докл. I науч.-практ. конф., 24-25 марта 1999 г.- Астрахань, 1999. - С. 121-124.

Инструкция по биотехнике выращивания молоди и товарных рыб сибирского осетра в условиях тепловодных хозяйств.- ВНИИПРХ. - М., 1991. – 11 с.

Казарникова А.В., Шестаковская Е.В. Сравнительный анализ фауны паразитов осетровых рыб Азовского и Каспийского бассейнов // Экосистемные исследования среды и биоты Азовского бассейна и Керченского пролива.- Апатиты: Изд-во Кольского науч. центра, 2005.- Т. VII.- С. 252-263.

Киселев И.В., Ивлиева В.К. Некоторые данные о биологии карпоеда и меры борьбы с ним в условиях прудового хозяйства // Тр. НИОРХ УССР.- Киев, 1953.- № 9.- С. 69-77.

Корабельникова О.В. Аргулез осетровых рыб при их товарном выращивании // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: Мат-лы докл. науч. конф., Москва, 25-27 мая 2005 г.- М., 2005.- Вып. 6. - С. 179-181.

Корабельникова О.В. Зараженность осетровых рыб паразитическими рачками р. Argulus в индустриальном хозяйстве // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: Мат-лы докл. науч. конф., Москва, 25-27 мая 2007 г. М., 2007. Вып. 7. (впеч).

Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. Паразитические многоклеточные // Под ред. О.Н. Бауэра. – Л.: Наука, 1987. - Т. 3, ч. II. - 583 с.

Паразиты и болезни осетровых рыб при товарном выращивании / Чепурная А.Г., Вихляева И.А. // Проблемы современного товарного осетроводства: Тез. докл. I науч.-практ. конф., 24-25 марта 1999 г.- Астрахань, 1999. – С. 132-134.

PARASITIZING SPECIES OF ARGULUS GENUS ON STURGEONS O.V. Korabelnikova

The investigation is devoted to study of sturgeons infection by species of Argulus genus, to species and sex structure determination of these parasites populations. A high infection level of sturgeons during the summer-autumn period of year has been noted. The parasitizing of two species from Argulus genus (*A. coregoni* and *A. foliaceus*) has been revealed. At the estimation of sex structure for *A. coregoni*, females predominated, and for *A. foliaceus* the ratio of females and males was equal.

МИКРОФЛОРА РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ КОРМОВ ДЛЯ АКВАРИУМНЫХ РЫБ

Котлярчук М.Ю., Чуракова А.И.

Калининградский Государственный Технический университет,
г. Калининград, Россия
mkotlyarchuk@mail.ru

Неотъемлемой частью успешного рыборазведения является использование полнорационных, сбалансированных по основным питательным веществам кормов. При этом перечень требований, предъявляемых к кормам для рыб, в качестве обязательного включает гигиеническую безопасность для объектов аквакультуры. В условиях аквариумного выращивания рыб роль данного параметра, определяемая особенностями содержания гидробионтов в замкнутом пространстве, значительно возрастает.

В настоящее время ассортимент кормов для декоративных рыб чрезвычайно широк. Производители предлагают разнообразные виды кормов, различные по технологии изготовления и назначению. Это живые и искусственные корма. Живые корма, с одной стороны, содержат комплекс незаменимых питательных веществ, с другой – они могут быть источником инфекций и инвазий аквариумных рыб. Поэтому профессионалы в области декоративного рыбоводства отдают предпочтение комбинированным искусственным кормам. Данный тип кормов поддается оптимизации за счет обогащения витаминами, минеральными веществами, лекарственными препаратами и другими добавками.

Искусственные корма выпускаются, как правило, в экономичной упаковке, удобной в применении и защищающей их от воздействия окружающей среды в процессе использования.

Желая сохранить пищевую ценность компонентов кормов для аквариумных рыб и обеспечить их гигиеническую безопасность, производители применяют разные технологии изготовления кормов – от традиционного теплового высушивания до сублимации (высушивания при минусовых температурах). Подобные температурные воздействия призваны значительно снизить или полностью прекращать жизнедеятельность микроорганизмов. Вместе с тем, по разнообразным причинам, готовый корм содержит как сапрофитную, так и условно - патогенную микрофлору.

Цель нашего исследования состояла в определении микробного пейзажа различных по технологии изготовления кормов для аквариумных рыб.

Материалом для исследования послужили искусственные корма, реализуемые через зоомагазины г. Калининграда. Всего для микробиологического анализа было отобрано восемь наименований кормов, различных по фактуре (внешнему виду) и технологии изготовления. Это хлопьевидные корма «АкваМеню® Эконом ТРОПИ», «АкваМеню® Эконом ФИТОС», «Аqua food МЕДИКА», «TetraRubin®», «TetraMin®», гранулированный корм «ЗООМИР® Корм для аквариумных рыб гранулированный» и замороженные корма, выпускаемые в блистере (мотыль мелкий «Аqua Logo» и Трубочник производства республики Беларусь).

Навеску корма тщательно растирали, готовили серию десятикратных разведений и осуществляли высев на дифференциально – диагностические и элективные среды. Оценку кормов проводили по следующим микробиологическим критериям: общая бактериальная обсемененность, наличие санитарно - показательных и условно – патогенных микроорганизмов, присутствие микроорганизмов порчи – плесневых грибов и дрожжей.

На подготовительном этапе нами отмечена низкая органолептическая привлекательность замороженных кормов.

Уровни бактериальной обсемененности кормов значительно различались. Максимальное значение общей бактериальной обсемененности отмечено для замороженного мотыля ($2,0 \times 10^5$ КОЕ/г), минимальное – для замороженного для трубочника (5 КОЕ/г) и корма «TetraRubin®» (5 КОЕ/г). Хлопьевидный корм «TetraMin®» оказался стерильным. Среднее значение бактериальной обсемененности хлопьевидных кормов составило $2,1 \times 10^3$ КОЕ/г, гранулированного корма – $3,6 \times 10^4$ КОЕ/г, замороженных кормов – $1,0 \times 10^5$ КОЕ/г. Для всех исследованных кормов значение общей бактериальной обсемененности не превышало предельного значения, установленного Ветеринарно – санитарными нормами и требованиями к качеству кормов для непродуктивных животных.

Микробный пейзаж кормов формировали бактерии различных таксономических групп и плесневые грибы.

Бактериальная флора исследованных кормов весьма разнообразна. Она включает автохтонную микрофлору (бактерии р. *Bacillus*) и аллохтонную микрофлору: санитарно – показательные микроорганизмы (сем. *Enterobacteriaceae*, р. *Staphylococcus*) и условно – патогенные микроорганизмы (бактерии родов *Aeromonas*, *Pseudomonas*).

Плесневые грибы, отмеченные в посевах всех типов кормов в единичных количествах, были представлены родами *Mucor* и *Penicillium*.

Микрофлору хлопьевидных кормов формировали бактерии родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, семейства *Enterobacteriaceae*, гранулированного корма – родов *Aeromonas* и *Bacillus*, замороженных кормов – родов *Aeromonas* и *Bacillus* и семейства *Enterobacteriaceae*. Доминирующими по численности во всех пробах кормах были бациллы, сильно различающиеся по морфо – биохимическим параметрам.

Несмотря на различия в технологии изготовления, корма из всех классификационных групп были обсеменены микроорганизмами, представляющими опасность для разводимых видов рыб. Это псевдомонады *Ps. putida* и аэромонады *A. euscenophila*. Первый вид выделен нами из хлопьевидного корма, второй – из гранулированного.

Известно, что бактерии родов *Aeromonas* и *Pseudomonas* выступают этиологическими агентами инфекционных заболеваний гидробионтов, протекающих по типу бактериальной геморрагической септицемии. Несмотря на то, что оба вида грамотрицательных бактерий проявляли низкую протеолитическую активность, попадание их с кормом в водную среду при определенных параметрах окружающей среды может способствовать развитию инфекционных болезней разводимых декоративных рыб.

Таким образом, при определении качества кормов и пригодности их для применения в области декоративного рыбоводства следует учитывать, помимо прочих, и микробиологические показатели, прежде всего - наличие микроорганизмов, обладающих патогенными свойствами. В этом отношении к кормам, выпускаемым для использования в замкнутых экосистемах, должны предъявляться повышенные требования микробиологической чистоты.

MICROFLORA OF DIFFERENT SORTS OF FOOD FOR AQUARIAL FISH

Kotlyarchuk M., Churakova A.
Kaliningrad State Technical University,
Kaliningrad, Russia

Microflora of ornamental fish food with different production technology is described. Predominant groups of microorganisms were recognized. Microorganisms which able to cause bacterial diseases of fish in aquarium condition are mentioned.

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ЗДОРОВЬЯ ОСЕТРОВЫХ РЫБ В АКВАКУЛЬТУРЕ

Крылова В.Д.*, Жигенева Л.Д.***, Рудницкая О.А.***, Безгачина Т.В.*

- *Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ФГУП «ВНИРО»)*
- *г. Москва, Россия, e-mail: maricul @ vniro.ru*

***Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства (ФГУП «АзНИИРХ»)*

г. Ростов-На-Дону, Россия. e-mail: riasfp@aaneb.ru

Аквакультура осетровых рыб – новое направление развития рыбохозяйственного комплекса России, которое представляет собой управляемую систему разведения и выращивания рыб в искусственных условиях под полным контролем человека за всеми биотехнологическими процессами.

В связи с этим при культивировании рыб ответственность за конечные результаты выращивания ложится на человека, руководителя, специалиста, рыбоведа. Хорошо налаженная система работы всех звеньев биотехнологического процесса обеспечивает безотходную технологию на всех этапах выращивания за исключением 1% естественной смертности (Шубина, 1975).

Основными объектами пресноводной аквакультуры являются сибирский осетр, стерлядь, белуга, русский осетр, веслонос и разные гибридные формы, полученные от скрещивания «чистых» видов между собой. Среди них промышленное внедрение получили плодовитые гибриды: бестер –реципрокный гибрид между белугой и стерлядью (БС – белуга х стерлядь и СБ – стерлядь х белуга – порода «Бурцевская») и его возвратные реципрокные формы: гибриды между белугой и бестером – порода «Внировская»; между стерлядью и бестером – порода «Аркайская», которые стали первыми породами осетровых рыб в рыбоводстве (Бурцев и др., 2002), а также реципрокный гибрид между русским и сибирским (ленской популяции) осетрами: русско х ленский осетр и ленско х русский осетр (Шевченко , 1986 и др.).

Практически для всех типов рыбоводных хозяйств (осетровые рыбоводные заводы – ОРЗ, прудовые, садковые, бассейновые, УЗВ) разработана биотехника искусственного разведения и выращивания осетровых как для воспроизводственных целей и пастбищной аквакультуры, так и производства товарной продукции (мясо и икра).

Цель настоящей работы – показать роль и значение человеческого фактора при разведении и выращивании осетровых рыб в аквакультуре.

Основным направлением поддержания здоровья осетровых рыб в современной аквакультуре является его прогнозирование, т.е. создание комфортных условий для роста, созревания, воспроизводства и раннее диагностирование функционального состояния рыб для предупреждений заболеваний.

Для осетровых, представителей древней ихтиофауны, возраст которых насчитывает свыше 300 млн. лет, характерен высокий уровень естественного иммунитета и экологической пластичности к условиям среды. В условиях искусственного разведения и выращивания практически все виды и гибридные формы осетровых оказались технологичными. Они легко приспособились к новым условиям содержания «в неволе» и стали объектами товарной и полноцикловой аквакультуры (Крылова, 1992).

Известно, что в природе практически здоровые рыбы, как и другие животные, постоянно пребывая в естественно обсемененной среде, не заболевают и только нарушения взаимодействия «среда – организм» приводят к ослаблению иммунитета, снижению резистентности организма и заболеваниям рыб.

*Примечание: При обозначении гибридов через знак скрещивания (х) первым указывается материнский вид, вторым (после знака х) – отцовский.

Разработками многих ученых было показано, что в условиях аквакультуры высокий уровень естественного иммунитета рыб к инфекциям поддерживается соблюдением биотехники выращивания (Snieczo, 1958, 1973 и мн. др.). На естественную резистентность рыб большое влияние оказывают стресс-факторы объектов выращивания к условиям среды (Plumb, 199 и мн. др.). Например, для молоди амурских осетров отмечена высокая устойчивость к воздействию экстремальных температур (32-33°C) и низкая концентрация кислорода (снижение до 1,2 мг/л) при биомассе 10-12 кг/лоток (Рачек, Свирский, 2001).

Наш многолетний опыт работы в осетроводстве, более 40 лет, позволяет выделить и обозначить роль человеческого фактора, как движущую силу прогресса. Управление процессами выращивания, созревания, воспроизводства, условиями среды целиком лежит на человеке – специалисте, каждого – на своем рабочем месте. Велика роль профессиональных кадров, живой ум и отношение к работе которых, соблюдение нормативов выращивания и их своевременная корректировка (изменение плотности посадки, сортировка рыбы, отмена и замена кормов и мн. др.) на всех этапах выращивания, плюс высокая культура производства снимают многие проблемы и обеспечивают здоровье, безотходную технологию выращивания в условиях интенсивной аквакультуры.

В отрасли, с нашей точки зрения, должна быть создана оперативная группа специалистов и центр, оснащенный необходимым оборудованием. Состав группы по специальности: ихтиолог-рыбовод, гидрохимик, токсиколог, ихтиопатолог, физиолог-гематолог (гистолог), биохимик, иммунолог, цитогенетик. Специалисты должны готовиться с учетом взаимозаменяемости, следует организовать отраслевые курсы с привлечением лучших специалистов. Важной проблемой в ихтиопатологии осетровых рыб является разработка методов диагностики и профилактики бактериальных заболеваний – аэромоноза, миксобактериоза, псевдомоноза, вибриоза.

В аквакультуре на всех типах рыбоводных хозяйств разной формы собственности важно соблюдать и постоянно повышать культуру производства, состоящую из культуры разведения, культуры выращивания и культуры технического обслуживания. Так, для повышения культуры производства в установках замкнутого водообеспечения (УЗВ), необходимо правильно подобрать объекты для выращивания, знать их биологические особенности, требования к среде, цель выращивания, иметь полный комплекс рыбоводного оборудования, включая выростные и нагульные бассейны разной площади и водообмена. В соответствии с видовыми, породными, возрастными потребностями рыб подбирать корма, хорошо изучив рецептуру и качественные характеристики, прошедшие производственную проверку и рекомендованные к внедрению.

В УЗВ необходимо строго следить за поедаемостью корма, корректировать рационы кормления, чтобы корма не представляли собой трудно разлагаемые органические соединения, расщепление которых в биофильтре, окисляющем в основном неорганические формы азота, затруднено. Это вызывает бурный рост условно патогенной микрофлоры, снижает резистентность рыб и ведет к появлению многих заболеваний (Бурлаченко, Бычкова, 2005). Важно следить за использованием рабочего инвентаря, закрепив его за каждым бассейном отдельно, своевременно обрабатывать дезинфицирующими средствами, а большую и снующую рыбу вовремя убирать из бассейнов. Поскольку в замкнутых системах рыба ведет малоподвижный образ жизни и содержится в ограниченном пространстве, важно следить за водоподготовкой, водоочисткой, проточностью и качеством воды. Необходимо для каждого конкретного хозяйства разрабатывать свои бионормативы выращивания и кормления разновозрастных рыб.

Слежение, учет, анализ, контроль за качеством воды, здоровьем рыб и биотехнологией выращивания составляют основу ихтиопатологического, эпизоотологического и рыбохозяйственного мониторинга. Это комплекс мероприятий, направленный на охрану и прогнозирование здоровья рыб с помощью управления производством и повышение его культуры. Хорошо продуманная, налаженная и управляемая биотехника культивирования рыб – залог успеха здоровья. Экосистемный подход комплексной оценки функционального состояния осетровых с помощью тест-показателей, заложенных в компьютерную программу «Здоровье осетровых рыб» позволит выявить заболевание на ранних стадиях развития и предупредить гибель рыб (Крылова и др., 2000, 2003).

В отечественной аквакультуре нужно стремиться производить экологически чистую деликатесную пищевую продукцию по новой усовершенствованной технологии выращивания, целиком зависящую от культуры производства, квалифицированных кадров-рыбоводов с достойной заработной платой, от контроля за характеристиками «среда-организм», управления технологическими процессами на всех этапах выращивания, а также от разработки методов ранней диагностики, профилактики заболеваний, уменьшения стрессов, исключения антибиотиков и химиопрепаратов.

Большое внимание следует уделять источнику водоснабжения, водоочистке, составу, качеству и хранению кормов, биологическим особенностям рыб к условиям выращивания и к факторам среды, что резко повысит эффективность и рентабельность производства осетровых в товарной и пастбищной аквакультуре.

Примером новой, хорошо налаженной технологии полноциклового культивирования осетровых в аквакультуре, может служить выращивание осетровых в управляемых системах Лучегорской НИРС «ТИПРО-центра» (Рачек, Свировский, 2001, 2006), где человеческий фактор, высокий профессионализм, культура производства, контроль и управление всеми технологическими процессами, использование качественных кормов собственного регионального производства позволили добиться высоких и даже сверх нормативных результатов выращивания.

Известно, что здоровье рыб в аквакультуре обеспечивается использованием качественных кормов. Чтобы снять негативное влияние некачественных промышленных гранулированных кормов, целесообразно один раз в сутки в рацион кормления вводить пастообразный корм, изготовленный на основе свежего рыбного фарша и отсева от сухих качественных кормов. При необходимости в него можно включать витамины С, А, Е, что повысит естественный иммунитет рыб. Это позволит избежать ряда алиментарных заболеваний, гибель рыбы, часто наблюдаемые при выращивании осетровых в аквакультуре.

При подозрении на заболевание рыб ихтиолог-рыбовод обязан, совместно со специалистами рыбоводных хозяйств, организовать и провести всестороннее исследование с тем, чтобы выявить причину заболевания, определить природу и принадлежность возбудителя, определить источник, пути проникновения и распространения болезнетворного агента, а также условия, которые могут привести или уже привели к возникновению заболевания. Все это необходимо делать для проведения эффективных лечебно-профилактических и оздоровительных мероприятий для восстановления здоровья рыб.

Поэтому с целью контроля и управления эпизоотической ситуацией проводится ихтиопатологический мониторинг, описанный в программе «Здоровье осетровых рыб», в которой для экспресс-диагностики заболеваний, оценки и прогнозирования здоровья рыб приводятся тест-показатели комплексных исследований: гидрохимических, токсикологических, биохимических, гематологических, иммунофизиологических, ихтиопатологических, цитогенетических, рыбоводных с использованием в работе паразитологических, бактериальных, вирусологических, гематологических,

биохимических, иммунологических и других методов исследований. Количественные показатели по выборкам статистически обрабатываются и анализируются. Формируется база данных.

К сожалению, объем статьи не позволяет подробно описать результаты анализа крови осетровых рыб, хотя он представляет собой уникальную научную и производственную ценность при усовершенствовании и отработке гематологических тест-показателей, как максимальная информация по состоянию организма. Им будет посвящена отдельная статья.

Таким образом, отечественная аквакультура осетровых должна развиваться на основе новых современных научных достижений и совершенствования биотехнологии выращивания. Особенно высокие требования должны быть предъявлены к разработкам искусственных кормов и условиям содержания рыб «в неволе», чтобы масштабы осетроводства перешли на новый этап развития рыбной индустрии.

Санитарно-профилактические, оздоровительные мероприятия, повышение роли человеческого фактора, культуры производства, ихтиопатологической и рыбохозяйственный мониторинг позволят уменьшить риск заболеваний и прогнозировать здоровье рыб.

Благодаря хорошо налаженного ихтиопатологического, эколого-рыбохозяйственного мониторинга и эпизоотического контроля по тест-показателям здоровья рыб, управления биотехнологией выращивания, своевременной корректировке нормативной базы и условий выращивания, можно заранее прогнозировать здоровье осетровых рыб в аквакультуре, а в случае необходимости проводить санитарно-профилактические и лечебно-оздоровительные мероприятия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алякринская И.О. Количественная характеристика крови молоди осетровых в связи с их жизнедеятельностью // Эколого-физиологические особенности крови рыб. М. Изд-во «Наука», с. 25-28.
2. Безгачина Т.В., Чичин В.Н., Соколовская С.А. Бактериальные заболевания осетровых рыб – актуальная проблема биотехнологии их культивирования. // Проблема воспроизводства, кормов и борьба с болезнями рыб при выращивании в искусственных условиях. Тезисы докл. Петрозаводск, 2002, с. 19-20.
3. Безгачина Т.В. Паразиты и болезни осетровых рыб – важная проблема в ихтиопатологии // Аквакультура осетровых рыб: достижение и перспективы развития. Материалы IV Междун. науч.-практ. конференции (Астрахань, 12-15 марта 2006). М. ВНИРО. 2006, с. 226-227.
4. Бурцев И.А., Николаев А.И., Крылова В.Д., Филиппова О.П., Сафронов А.С. Первые породы осетровых рыб, созданные на основе межродового гибрида белуги со стерлядью – бестера. // Аквакультура начала XXI века: истоки, состояние, стратегия развития (п. Рыбное, 3-6 сентября 2002 г.). М. ВНИРО. 2002, с.146-150.
5. Бурлаченко И.В., Бычкова Л.И. Способ клинической оценки состояния осетровых рыб при их выращивании в установках с замкнутым циклом водообеспечения. // Рыбн. хоз-во. М., 2005, № 6, с. 70-72..
6. Головин П.П. Внедрение новых лечебных кормов в рыбоводстве. // Актуальные вопросы пресноводной аквакультуры. Сб. науч. тр. М. ВНИРО, 2002, вып. 78, с. 174-179.
7. Головин П.П., Головина Н.А., Лебедева Н.Е., Головкина Т.В., Романова Н.Н. Оценка стрессоустойчивости рыб – объектов аквакультуры. // Актуальные вопросы пресноводной аквакультуры. Сб. науч. тр. М. ВНИРО, 2002, вып. 78, с. 171-174.

8. Головин П.П., Головина Н.А., Романова Н.Н. Особенности стресс-реакции у осетровых рыб. // Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития. (Астрахань, 13-15 марта 2006). М. ВНИРО, с. 239-242.
9. Головин П.П. Проблемы охраны здоровья рыб в пресноводной аквакультуре. // Рыбн. хоз-во. Серия: Болезни гидробионтов в аквакультуре. Аналит. и рефер. информация. М. ВНИРО. 2002, вып. 2, с. 1-7.
10. Житенева Л.Д., Макаров Э.В., Рудницкая О.А. Основы ихтиогематологии (в сравнительном аспекте).
11. Казаринова А.В., Шестаковская Е.В. Основные заболевания осетровых рыб в аквакультуре. // М. ВНИРО. 2005. 104 с.
12. Крылова В.Д., Безгачина Т.В. Компьютерная программа «Здоровье осетровых рыб» - основа экосистемного подхода экспресс-диагностики комплексной оценки функционального состояния осетровых рыб. // Современные достижения рыбохозяйственной науки России. Материалы научн.-практ. конфер., посвященной 100-летию со дня основания Саратовского отделения ГосНИОРХ. Саратов. 2000 б., с. 33-34.
13. Крылова В.Д. Применение компьютерной программы «Здоровье осетровых рыб» в диагностике заболеваний рыб. // Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов. Сборник тезисов. М. 2003, с. 61-62.
14. Крылова В.Д. Опыт промышленного выращивания товарных осетровых на теплых водах. // Рыбное хоз-во. Серия: Аквакультура. Осетровые – перспективные объекты аквакультуры. М. ВНИЭРХ. 1992. Вып. 2, с. 12-16.
15. Рачек Е.И., Свирский В.Г. Опыт выращивания амурских осетровых в бассейнах и садках. // Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития. // Международная научно-практическая конференция. Астрахань, 2001, с. 116-119.
16. Рачек Е.И., Свирский В.Г. Доместикация калуги расширяет ассортимент продукции товарного осетроводства. // Рыбн. хоз-во, 2006, вып. 5, с. 86-88.
17. Шубина Т.Н. О биологических особенностях каспийских осетровых и их использование в практике осетрового хозяйства. // М. 1975. Труды ВНИРО. Т. 108, с. 109-120.
18. Sniezko S.F. Natural resistance and susceptibility to infections // The Progressive Fish – Culturists. 1958. v.20. p.133-136
19. Sniezko S.F. Recent advances of scietific knowledge and development pertaining to diseases of fishes // Advances in veterinary science of comparative medicine. 1973. v. 17. p.291-314.
20. Plumb J.A. Health maintenance and principal microbial diseases of cultured fishes// 1999. Jowa State University Press/Ames. 328p.

PREDICTION OF STURGEONS HEALTH IN AQUACULTURE

Krylova V.D.*, Bezgachina T.V.*, Zhiteneva L.D.**,
Rudnitskaya O.A.**

The paper demonstrates the role of human factor in management of technological processes and terms for rearing and growing of sturgeons in aquaculture, in maintenance of natural immunity and health of fish by conducting epizootic and fishery monitoring, as well as by using the informative and analytical computerized program "Health of sturgeons".

It is shown that qualified personnel, culture of production, traceability, control, data assessment, processing, analysis and evaluation by hydrochemical, toxicological, hematological, immunophysiological, ichthyopathological, fish cultivation and other test-indicators will make it possible to effectively predict sturgeons' health in aquaculture.

ПРИМЕНЕНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ЗООНОРМ В ПРУДОВОМ РЫБОВОДСТВЕ

Н.А. Лукьянова*, Л.Н. Юхименко*, Л.И. Бычкова**

* ФГУП "Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного рыбного хозяйства", Московская обл., Дмитровский р-н, пос. Рыбное, Россия
E-mail: VNIPRH@mail.ru

** ФГУ Московский государственный университет технологий и управления, Москва, Россия

ВВЕДЕНИЕ

На протяжении ряда лет в лаборатории ихтиопатологии ФГУП «ВНИИПРХ» разрабатываются методы профилактики бактериальных болезней рыб, в частности, бактериальной геморрагической септицемии (аэромоназа) путём повышения специфической и неспецифической резистентности. В экспериментально-производственных условиях рыбоводства положительно зарекомендовал себя пробиотический препарат зоонорм на основе *Bifidobacterium bifidum* (производитель ЗАО "Партнёр", г. Москва). Однако в технологии его применения в рыбоводстве плохо отработаны дозировки и длительность его скармливания, поэтому эти вопросы и были поставлены в качестве задачи опытов. Работа проводилась на выростных прудах экспериментально-производственного отдела "Якоть" в 2005 и 2006 гг.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для зарыбления трёх выростных прудов в мае были отобраны двухгодовалки карпа без клинических признаков. Плотность посадки соответствовала рыбоводно-биологическим нормативам для условий I-II зоны рыбоводства. Вся рыба получала комбикорм К-111: контрольная группа (К 2) – без добавок, первая опытная группа (О 2) – кормление с минимальными дозами зоонорма в течение вегетационного периода, вторая опытная группа (О 3) – с добавлением зоонорма курсами.

Препарат вносили в комбикорм вручную в следующем количестве: минимум зоонорм – 2,5 дозы (2005 г.) и 5 доз (2006 г.) в сутки; курс зоонорм – 1 декада 20 доз в сутки, 2 декада – 25 доз в сутки, 3 декада – 30 доз в сутки (Лукьянова и др., 2006).

Для изучения исходных иммуно-физиологических показателей и патолого-анатомической картины методом случайной выборки было отобрано 10 экз. рыб (группа К 1). При посеве паренхиматозных органов рыб на среду Эндо определяли уровень их контаминации бактериальной флорой. Контроль за эпизоотическим состоянием прудов проводился ежедекадно. Количественный посев воды проводили на плотные питательные среды: эритрит-агар для определения общего микробного числа (ОМЧ) и Эндо - для выделения и определения энтеробактерий, аэромонад и неферментирующих щелочеобразователей (НФЩ).

Кормление с пробиотическим препаратом зоонорм осуществляли в 2005 г. с 6.06 по 31.08. и в 2006 г. с 1.06 по 31.08.

Для оценки влияния пробиотического препарата на иммуно-физиологический статус рыб изучали бактерицидную активность сыворотки крови (БАСК), титр агглютинирующих антител (ТАА), уровень контаминации паренхиматозных органов и приживаемость бифидум - бактерий в кишечнике (Трифонова и др., 2004). Для определения приживаемости бифидум - бактерий по 1 мл соскобов со слизистой кишечника вносили в пробирки с 9 мл бифидум среды, после чего делали ряд десятикратных разведений. Посевы инкубировали при 37°C в течение суток, после чего проводили учёт. Бифидобактерии определяли по наличию характерных колоний в анаэробной среде (Юхименко и др., 2004).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Обследования эпизоотической ситуации на ЭПО "Якоть" проводились в мае 2005 и 2006 гг. Для бактериологических исследований отбирали пробы воды из прудов и 10

жкз. рыб, вышедших после зимовки. От этих же рыб были отобраны пробы крови для иммунологических исследований и паренхиматозных органов для оценки уровня контаминации.

В 2005 г. у 88,9 % проб рост бактериальной флоры отсутствовал, в 11,1 % проб был отмечен рост единичных колоний.

В 2006 г. регистрировали отсутствие роста бактериальной флоры - 80,0 % проб, рост единичных колоний - 10,0 % проб и умеренный рост - 10,0 % проб.

Характеристика микробиоценоза воды в 2005 и 2006 гг. приведены в табл. 1.

Таблица 1.- Микробиоценоз воды

Дата	Группа	Эритрит-агар		Эндо		Микробиоценоз
		КОЕ/мл	типов колоний	КОЕ/мл	типов колоний	
31.05.05	К 2	780	5	220	2	БГКП, <i>A. sp. 1</i> , <i>A. sp. 9</i>
	О 2	620	4	280	3	БГКП, <i>A. sp. 1</i> , <i>A. sp. 3</i> , <i>A. sp. 7</i>
	О 3	320	3	260	3	БГКП, <i>A. sobria</i>
17.05.06	К 2	640	2	280	2	<i>A. eucrenophila</i> , <i>A. sp. 2</i>
	О 2	340	2	640	3	<i>A. eucrenophila</i> , <i>A. sp. 11</i>
	О 3	460	3	680	1	БГКП, <i>A. veronii</i>

Наличие в воде анаэробных аэромонад - *A. sp. 7* и *A. sp. 9* характеризует высокий уровень органического загрязнения (Юхименко и др., 1987).

В 2005 г. проводили отбор проб воды в прудах, где выращивалась рыба контрольной и опытных групп с 15.06 по 17.08. Всего было отобрано 15 проб. Уровень бактериальной обсеменённости воды колебался от 140 до 2960 КОЕ/мл в июне и июле, только в одном случае ОМЧ повысилось до 5300 КОЕ/мл. Этиологическая структура аэромонад была весьма пёстрой. Чаще всего выделялись *A. sobria*, *A. sp. 1*, *A. sp. 3*, *A. sp. 7*, единичными изолятами были представлены *A. caviae*, *A. veronii*, *A. eucrenophila*, *A. sp. 5*, *A. sp. 9*. Практически во всех посевах присутствовали также бактерии группы кишечной палочки (БГКП).

В 2006 г. на прудах выращивали рыбу одной контрольной и двух опытных групп. Отбор проб воды проводили с 15.06 по 9.08. Всего было отобрано 20 проб воды. Уровень бактериальной обсеменённости воды колебался от 840 до 13360 КОЕ/мл в июне, от 2020 до 74560 КОЕ/мл в июле, от 1540 КОЕ/мл до обильного в августе. Этиологическая структура аэромонад также была разнообразной. В микробиоценозе воды чаще всего выделялись *A. caviae*, *A. eucrenophila*, *A. hydrophila*, *A. sp. 2*, *A. sp. 11*. Единичными изолятами были представлены БГКП, *A. sobria*, *A. sp. 5*, *A. sp. 9*.

В августе 2005 г. уровень бактериальной обсеменённости воды резко повысился (табл. 2) и хотя пестрота микрофлоры уменьшилась, но преобладать стали анаэробные аэромонады (*A. caviae*, *A. sp. 7*, *A. sp. 8*), свидетельствующие об органическом загрязнении.

В течение вегетационного сезона 2005 г. уровень контаминации паренхиматозных органов рыб был высоким, а к сентябрю отмечалось его снижение. Уровень контаминации паренхиматозных органов в летний и осенний периоды контрольной и опытных групп за 2006 г. почти не различался (табл. 3).

При исследовании патолого-анатомической картины у рыб различных групп в 2005 г. были отмечены более выраженные патологические изменения (отечность и увеличение паренхиматозных органов, рыхлость слизистой и рвущиеся стенки

кишечника). Приживаемость «Зоонорма» определяли путём посева соскобов со слизистой кишечника рыб, получающих препарат в минимальной дозировке (Юхименко и др., 2005). У 75% рыб бифидумбактерии в посевах кишечника составляли в титрах - 3×10^8 , 1×10^9 , 7×10^9 . При курсовом применении зоонорма состояние внутренних органов было более удовлетворительное, а высеваемость бифидумбактерий в тех же титрах.

Таблица 2. - Микробиоценоз воды рыбоводных прудов в августе

Дата	Группа	Эритрит – агар		Эндо		Микробиоценоз
		КОЕ/мл	кол-во типов	КОЕ/мл	кол-во типов	
17.08.05	К 2	8160	2	7700	1	<i>A. caviae</i> , <i>A. sp. 8</i> , <i>A. sp. 2</i> , <i>A. hydrophila</i>
	О 2	3740	1	4520	1	БГКП, <i>A. sp. 7</i> , <i>A. sp. 1</i>
	О 3	8300	4	5280	1	<i>A. hydrophila</i> , <i>A. sp. 1</i>
9.08.06	К 2	обильный рост		4960	3	<i>A. caviae</i> , <i>A. hydrophila</i>
	О 2	2520	2	3680	3	БГКП, <i>A. caviae</i> , <i>A. hydrophila</i>
	О 3	1700	2	1540	3	<i>A. caviae</i> , <i>A. sp. 10</i>

Таблица 3. - Уровень контаминации рыбы контрольной и опытных групп

Группа	Уровень контаминации, абс/%			
	роста нет	единичный рост	умеренный	обильный
1	2	3	4	5
ЛЕТО 2005 г.				
К 2	12 / 58,2	2 / 8,4	6 / 33,4	-
О 2	17 / 85,0	2 / 10,0	1 / 5,0	-
О 3	7 / 33,3	5 / 25,0	8 / 41,7	-
ОСЕНЬ 2005 г.				
К 2	16 / 80,0	1 / 5,0	3 / 15,0	-
О 2	19 / 95,5	1 / 4,5	-	-
О 3	18 / 90,0	-	2 / 10,0	-
ЛЕТО 2006 г.				
К 2	18/90	2/10	-	-
О 2	19/95	1/5	-	-
О 3	20/100	-	-	-
ОСЕНЬ 2006 г.				
К 2	6/60	4/40	-	-
О 2	21/95,5	1/4,5	-	-
О 3	18/90	-	1/5	1/5

В 2006 г. приживаемость зоонорма отмечали в обеих группах. Состояние внутренних органов рыб оценивалось как удовлетворительное. Бифидумбактерии при минимальных дозировках выделялись в количестве 5×10^3 - 2×10^7 , при курсовом - 1×10^3 - 1×10^9 .

При определении иммунологических показателей (Пьяцца, 1981) получены довольно пёстрые данные: К 1 – исходный; К 2, О 2 и О 3 – опытные группы (табл. 4 и 5).

Таблица 4. - Иммунологические показатели рыб контрольной и опытных групп осенью 2005 г.

Группа	БАСК	ТАА	
		к антигену 77-18	к антигену 331 – БТ
К 1	12,8 ± 7,0	1 : 16	0
К 2	19,8 ± 15,4	1 : 32	0
О 2	69,2 ± 20,2	1 : 64	0
О 3	99,8 ± 0,01	1 : 64	0

Таблица 5. - Иммунологические показатели рыб контрольной и опытных групп осенью 2006 г.

Группа	БАСК	ТАА	
		к антигену 77-18	к антигену 360 - 2
К1	3,95 ± 0,09	1 : 64	1 : 16
К 2	72,6 ± 13,4	1 : 64	1 : 16
О 2	90,5 ± 0,95	1 : 128	1 : 32
О 3	96,3 ± 0,04	1 : 256	1 : 16

В 2005 г. при минимальной дозировке пробиотического препарата на одну рыбу расходовали 0,01 дозы в день. При использовании зоонорма курсами в день на рыбу расходовали 0,1 - 0,125 – 0,15 дозы.

В 2006 г. при минимальной дозировке пробиотика на одну рыбу расходовали 0,03 дозы в день. При использовании зоонорма курсами в день на рыбу расходовали 0,1 - 0,125 – 0,15 дозы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали эффективность применения пробиотика зоонорм для повышения иммуно-физиологического статуса рыб. Однако высокое содержание органики и значительное усиление бактериального прессинга на рыбу влияет и на иммунологические показатели: бактерицидную активность сыворотки крови и титр агглютинирующих антител, так как значительный расход энергетических ресурсов рыбы затрачивается на борьбу с контаминантами. Поэтому применение пробиотических препаратов должно сочетаться с проведением дезинфекционных мероприятий в прудах и создание оптимальных условий для рыб. Одновременно с этим своевременный рыбоводный и ихтиопатологический контроль по рыбоводным и клиническим показателям позволит оценить качество выращиваемой рыбы и выявить отрицательные факторы, воздействующие на неё.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Лукьянова Н.А., Юхименко Л.Н., Бычкова Л.И. Применение пробиотиков "Субалина" и "Зоонорма" в прудах ЭПО "Якоть" и экономические затраты на пробиотики и корм за летний сезон // Сб. науч. тр. /Актуальные вопросы пресноводной аквакультуры. - М.: Компания Спутник+, 2006. - Вып. 81. – С. 129-135.

Пьяцца А. Анализ иммунологических данных: Методы исследований в иммунологии // Под ред. Лефковита И., Перниси Б. – М.: Мир, 1981. – С. 429-473.

Трифорова Е.С., Бычкова Л.И., Юхименко Л.Н., Болотов В.Д. Эффективность применения пробиотических препаратов "Зоонорм" и "Бифидум-СХЖ" на Можайском ПЭРЗ // Расширенные мат-лы Всероссийской науч.-практ. конф. "Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб". – М., 2004. - С. 528-534.

Юхименко Л.Н., Бычкова Л.И., Трифорова Е.С., Гаврилин К.В. Положительная роль пробиотиков в рыбоводстве // Мат-лы Межд. науч.-практ. конф. 26-27 мая 2005 г.

"Научные основы производства ветеринарных биологических препаратов". – Щёлково, 2005. – С. 576-580.

Юхименко Л.Н., Викторова В.Ф., Федорченко В.И. Выделение аэромонад из воды рыбоводных прудов // Сб. науч. тр. / Болезни рыб и водная токсикология. - М.: ВНИИПРХ, 1987. - Вып. 50. – С. 37-46.

Юхименко Л.Н., Гаврилин К.В., Бычкова Л.И. Влияние антибактериальных препаратов на формирование лекарственной устойчивости бактерий в условиях интенсивного прудового рыбоводства. // Сб. науч. тр. / Болезни рыб.– М.: Компания Спутник+, 2004. - Вып. 79. – С. 216-223.

APPLICATION OF PROBIOTIC PREPARATION "ZOONORM" IN THE POND AQUACULTURE

N.A. Lukyanova, L.N. Yukhimenko, L.I. Bichkova

Under conditions of ponds rearing in Experimental Industry Department "Yakot", the data of experimental carp feeding on preparation zoonorm have been given. According to experimental conditions, the effect of different doses of the preparation was compared: minimal doses during the all vegetative fish farming season and optimal ones used by several courses. The investigations carried out confirmed again the effectivity of the above probiotic application expressed in the good fish growth, excellent marketable appearance as well as a higher resistance of fish (increasing agglutinating antibodies titer and antibacterial activity of blood serum).

НАПРАВЛЕНИЯ РАЗРАБОТОК ЭКОЛОГИЧЕСКИ-БЕЗОПАСНЫХ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ БОЛЕЗНЕЙ РЫБ ПРЭСНОВОДНОЙ АКВАКУЛЬТУРЫ В УКРАИНЕ

Н.Н. Матвиенко, А.В. Ващенко

Институт рыбного хозяйства УААН, г. Киев, Украина, e-mail: narine@mail.zp.ua

Актуальным и перспективным направлением для стабилизации и повышение производительности рыбоводства в Украине является разработка новых эффективных методов лечения и профилактики инвазионных и инфекционных болезней рыб.

Инфекционные болезни рыб - острая проблема многих рыбоводных хозяйств Украины. Необходимость разработки эффективных методов и мер их лечения и профилактики постоянно возрастает, что делает актуальной задачу расширения арсенала противобактериальных и противовирусных препаратов и средств, а также изучение механизмов их действия.

В настоящее время в прудовых хозяйствах Европы отмечаются вспышки вирусных болезней рыб. По данным польских специалистов в Западной Европе выявленные следующие вирусы рыб (табл. 1). На территории бывшего СССР было выявлено 15 агентов, которые идентифицированы как рабдовирус карпа, рабдовирус большеротого буфало, иридовирус карпа, герпесвирус семги. Остальные определены как цитопатогенные агенты с неустановленной таксономической принадлежностью: возбудитель оспы карпа, пикорнавирусоподобный агент каспийской кумжи, цитопатогенные агенты канального сома (CCV), папилломатоза европейского сома, фибросаркомы судака [1].

Эти данные являются убедительными и тревожными особенно в связи с бесконтрольными перевозками рыбы и рыбопосадочного материала через границу.

Поэтому первостепенной задачей ихтиопатологических исследований в этом направлении для предупреждения распространения вирусных, болезней рыб является разработка комплексного подхода, который включает в себя:

1. Выделение возбудителей болезней и исследование их биологических особенностей, изучение действия на них различных экологических факторов, что позволит обнаруживать очаги заболеваний, прогнозировать их вероятные вспышки и своевременно разрабатывать методы их профилактики.

2. Разработка эффективных иммунопрофилактических методов для стимуляции выработки у рыб противовирусного иммунитета.

3. Разработка вакцин и методов вакцинации выращиваемых рыб с учетом их видовых особенностей, особенностей технологии их выращивания в конкретных экологических условиях, а также ветеринарно-санитарных требований.

В течение последних 10-15 лет активизировались исследования иммунозащитных механизмов рыб, при которых обнаруживаются разнообразные реакции клеточного и гуморального иммунитета. Этот определяется как изучением фундаментальных задач, так и задачами и требованиями прикладной иммунологии: разработками технологий производства и внедрения уже существующих иммунотерапевтических и иммуномодулирующих препаратов для рыб [5,6,8,10].

Активизировались исследования по изучению реакции наследственного иммунитета рыб. Определение у рыб динамики реакций наследственного иммунитета и сравнение их параметров с нормой позволяет достоверно выявить связь между условиями внешней среды и заболеваниями рыб. Адаптивная иммунная система рыб развита недостаточно в сравнении с таковой у млекопитающих. В ответ на контакт с антигеном рыбы продуцируют антитела одного класса и низкой специфичности, при

этом у рыб не всегда формируется выраженная иммунологическая память, которая служит причиной слабых отличий между первичным и вторичным иммунным ответом.

Вирусы, обнаруженные у рыб разных видов в 2003 году в Западной Европе
(по Е. Антипович, Государственный ветеринарный институт, Пулави)

Таблица 1

Страна	Вирус	Количество зараженных (инфицированных) объектов	Примечания	
Финляндия	Рабдовирус хариуса	1		
	Рабдовирус окуня	1		
Германия	Герпесвирус угря – HVA			
	У угря	1		
	У сома	1		
	Рабдовирус угря - EVEX			
	У угря	1		
	У сома	1		
Греция	Спячка (кома) радужной форели – SD (togavirus – тогавирус)	2		Соленые воды
	Герпесвирус угря – HVA	1		
	Иридовирус сомиков	2		
	Вирусная инцефалопатия и ретинопатия у камбалы – VER	1		
Испания	VER – у морского окуня (nodavirus – нодавирус)	11		
	Спячка (кома) радужной форели – SD (togavirus – тогавирус)	2		
Голландия	Герпесвирус угря – HVA	4		
Шотландия Соединенное Королевство	Заболевание поджелудочной железы у лосося – SPD (togavirus – тогавирус)	2	Соленые воды	
Норвегия	Вирусная инцефалопатия и ретинопатия у камбалы – VER (nodavirus – нодавирус)	1	Соленые воды	

Работы в данном направлении проводятся русскими, немецкими и польскими исследователями [5,11,12].

Для успешного лечения инфекционных болезней рыб необходимы противовирусные препараты, которые бы не вредили жизнедеятельности самой клетки и имели, кроме того, иммуномодулирующее действие. Из литературы известны примеры исследований иммуномодулирующих препаратов различного состава в рыбоводстве. Но практически не проводились исследования влияния препаратов из производных изатинтиосемикарбазонов на рыб, в частности на их гематологические показатели.

В Украине за последние десятилетия выполнено немало работ, посвященных созданию и изучению новых противовирусных препаратов, среди них метисазон и его производные. Вопреки этому, препаратов из производных изатинтиосемикарбазонов, которые бы могли применяться в ветеринарной практике, а именно в рыбоводстве, недостаточно, а работы по их изучению, главным образом, были направлены на исследования биохимических и молекулярных аспектов противовирусного и противобактериального действия [8]. Исследования их влияния на иммунную систему практически не проводились и это связано, на наш взгляд, с низкой растворимостью этих веществ в воде.

А.И.Потопальский с соавторами в 1980 г. открыл возможность получать растворимую форму метисазона на основе применения смеси растворителей полиэтиленгликоля и диметилсульфоксида. Растворимая форма препарата получила название „Изатизон“. Этот препарат, применяемый в разных дозах, эффективен при многих вирусных инфекциях, не угнетает, а укрепляет иммунную систему организма и успешно применяется в медицине и в ветеринарной практике. В лаборатории ихтиопатологии ИРХ УААН нами проводятся исследования по изучению влияния этого препарата на иммунную систему инфицированных рыб в сравнительном аспекте с другими аналогичными препаратами сходного действия [8]. Планируется разработка рекомендаций по его применению в пресноводной аквакультуре.

Состав микрофлоры и характер микробиологических процессов в организме выращиваемых рыб тесно связаны с экологическим состоянием водоемов. Ухудшение санитарного состояния водоемов приводит к росту эпизоотий рыб бактериальной этиологии [3,9].

Значительная доля бактериальных болезней, которые встречаются в специализированных рыбоводных хозяйствах Украины, приходится на аеромонозы (краснуха) и псевдомонозы карповых рыб [3,2]. Возбудителями псевдомонозов являются вирулентные штаммы бактерий, которые относятся к роду *Pseudomonas*.

К псевдомонозам восприимчивы практически все виды пресноводных и морских рыб. В прудовых хозяйствах во время зимовки болеют карп, белый и пестрый толстолобик. Болезнь возникает при снижении температуры воды в осенне-летний период, но чаще всего во второй половине зимовки (с января по март) и сопровождается массовой гибелью больных рыб. Гибель молоди может достигать 30-40 %. Использование антибиотиков и других антибактериальных препаратов для лечения рыбы не дает ожидаемых результатов.

Разработка эффективных методов лечения этих заболеваний является актуальной не только для рыбного хозяйства Украины.

Известно, что важными агентами регулирования численности бактериальной микрофлоры в естественных условиях являются бактериофаги. Бактериофаги являются паразитами почти всех групп прокариотичных организмов, в том числе и патогенных. Механизм их действия обусловлен специфическим лизисом бактериальных клеток. Биологические препараты на основе бактериофагов как профилактические средства эффективно используются как в медицине, так и в ветеринарии. Бактериофаги видоспецифичны и не влияют на бактерии, которые составляют «нормальную» флору организма. При отсутствии чувствительных к бактериофагу бактерий, продолжительность его пребывания в организме не превышает 3 дней.

В связи с этим, актуальным направлением является, по-видимому, разработка на их основе экологически безопасных методов для профилактики и лечение псевдомонозов рыб.

Кроме того, заслуживает внимания использования в практике рыбоводства пробиотиков для лечения бактериальных болезней и повышение резистентности организма рыб к патогенам. Такие исследования были проведены в нашей лаборатории и в настоящее время внедрены в практику пресноводной аквакультуры Украины [3].

Актуальными остаются вопросы разработки мер борьбы с эктопаразитарными болезнями рыб пресноводной аквакультуры (лернеоз, аргулез, писциколёз и др.) с учетом экологического состояния водоемов. Эти болезни самостоятельно не приводят к значительной гибели рыбы, но снижают резистентность организма рыб к заболеваниям и уменьшают темп их весового роста. Особенно актуальными эти вопросы стали в связи с запретом Министерством экологии Украины использования хлорорганических соединений в рыбоводстве (хлорофоса, карбофоса и др.).

Это является побудительным моментом для разработки эффективных экологически безопасных препаратов для борьбы с эктопаразитарными инфекциями рыб.

Снизить потери выращиваемых рыб в пресноводной аквакультуре Украины от болезней рыб возможно лишь при комплексном подходе к их профилактике и лечению. В первую очередь необходимо восстановить государственный контроль за состоянием здоровья выращиваемых рыб в хозяйствах всех форм собственности, восстановить инфраструктуру государственной ихтиопатологической службы по профилактике и лечению заболеваний рыб. Необходим строгий ихтиопатологический контроль за межхозяйственными и межгосударственными перевозками рыбы.

Комплексный подход к лечению и профилактике болезней рыб в пресноводных водоемах Украины должен включать:

- создание информационно-аналитической электронной программы по контролю за возбудителями болезней рыб, которая позволит контролировать и прогнозировать распространение болезней рыб в водоемах Украины;

- разработка и поиск экологически безопасных лечебно-профилактических веществ и препаратов и разработка схем их экологически безопасного применения в аквакультуре:

- против эктопаразитарных инвазий;
- антигельминтиков;
- пробиотиков;
- антабактериальных препаратов;
- иммуномодуляторов;
- препаратов комплексного действия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бучацкий Л. П. Вирусные инфекции морских и пресноводных животных: - Киев: УДЖ "Ноосфера", 1994. - С. - 94-95.
2. Васильков Г. В., Грищенко Л. И., Енгашев В. Г. Болезни рыб: Справочник. Под редакцией Осетрова В. С. Изд 2-е переработ. и дополненное - М. Агропромиздат 1989. С. - 65
3. Вовк Н.И., Руденко А.В. Микрофлора рыб как индикатор их физиологического состояния и экологии водной среды // Тез. докл. между. конф. "Пресноводная аквакультура в условиях антропог. пресса". - К., 1994. - Ч.2. - С.179-180
4. Головина Н.А., Тромбицкий И.Д. Гематология прудовых рыб // Кишинев: Штиинца, 1989. 158с.
5. Кондратьева И.А., Киташова А.А., Ланге М.А. Современные представления об иммунной системе рыб. Часть 1. Организация иммунной системы рыб. // Вестник Московского университета, 2001. Сер. 16. Биология №4, с.11–20.
6. Микряков В.Р. Закономерности формирования приобретённого иммунитета у рыб. Рыбинск: Институт биологии внутренних вод им. Пауляна И.Д. АН СССР, 1991. 154с.
7. Мусселиус В.А. Лабораторный практикум по болезням рыб // Москва: «Легкая и пищевая промышленность», 1983. – 296 С.
8. Потопальский А.И., Лозюк Л.В. Противовирусный и противоопухолевый препарат изатанзон. Киев. - Наук. думка - 1995. – 104.
9. Cahill M.M. Bacterial flora of fishes: a review //Microbial Ecol. 1990. № 1. - P. 21 - 41.
10. Siwicki A.K., Anderson D.P., Antychowicz – Nonspecific defence mechanisms assay in fish I Phagocytic ability of neutrophils NBT test and myeloperoxidase activity test// International works
11. Haas E., Menzel A. Der Karpfenteich und seine Fische. – Graz – Stuttgart: Leopold Stocker Verlag, 2003. – 173S.
12. Studnicka M., Siwicki A.K., Kazuń K. Nonspecific defence barriers and mechanisms in fish. // Fish diseases diagnosis and preventions methods. International workshop and training course in Poland, 1993. – 11 – 15.

**DIRECTIONS OF DEVELOPMENTS NEW OF ECOLOGICALLY-SAFE METHODS FOR
TREATMENT AND PROPHYLAXIS OF ILLNESSES OF FISHES OF FRESHWATER
AQUACULTURE OF UKRAINE**
N. Matvienko, A. Vaschenko

*Institute of fisheries, Ukrainian Academy of Agricultural Sciences, Kiev Ukraine,
e-mail: narine@mail.p.ua*

Basic directions of developments of methods of treatment and prophylaxis of infectious diseases of fishes invasions and are represented in the fish-breeders economics of Ukraine.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ АЛЬБЕНДАЗОЛА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПРОТЕОЦЕФАЛЕЗА РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ

Моисеева Е.В.,* Арсеньюк Н.Г.**

*СКФ ФГУП «Центральная производственная станция по акклиматизации и борьбе с болезнями рыб», Краснодар, e-mail: clenavkn@mail.ru

** ЗАО СПЗ «Форелевый», Кисловодск.

На одном из форелеводческих хозяйств Северного Кавказа нами был зарегистрирован протеоцефалез, вызываемый ленточным гельминтом рода *Proteocephalus*.

Экстенсивность инвазии радужной форели составляла в среднем по хозяйству 50-100 %, при интенсивности 1-10 гельминтов на рыбу. Для лечения протеоцефалеза радужной форели нами был предложен антигельминтный препарат широкого спектра действия альбендазол.

Опыт проводили, используя альбендазол в концентрации (по действующему веществу) 5, 10, 20 мг/кг веса рыбы два дня подряд. Лечебный корм задавали 1 раз в день. Лучший результат показали опыты с концентрацией препарата 10 мг/кг веса рыбы.

Однако при лечебном кормлении с альбендазолом отдельные протеоцефалюсы обламывали стробилы, располагающиеся в кишечнике, а сколекс и шейка гельминта оставались в пилорических придатках.

Протеоцефалез – инвазионное заболевание пресноводных рыб, возбудителем которой являются ленточные гельминты рода *Proteocephalus*. Это cestоды, паразитирующие в пилорических придатках, кишечнике лососевидных, окуневых, харитусовых, карповых, щуки, сома и др. Цикл развития гельминта протекает при участии одного промежуточного хозяина, в роли которого выступают представители веслоногих рачков *Copepoda*. [1,2].

Согласно литературным данным заболевание протеоцефалез отмечают в основном у сиговых-зоопланктофагов, выращиваемых в естественных водоемах или в установленных на них садках. Заболеванию подвержены все возрастные группы лососевидных, однако наиболее опасно оно для молоди, у которой из-за непроходимости кишечника может наступить гибель. Это заболевание встречается крайне редко, в России протеоцефалез радужной форели зарегистрирован впервые на сбросных водах Костромской ГРЭС [3].

Мероприятия по борьбе с протеоцефалезом в неблагополучных по данному заболеванию водоемах в настоящее время сводятся только к методам профилактики таким как выращивание сиговых-бенитофагов, рыб невосприимчивых к заболеванию (карп, растительноядные рыбы дальневосточного комплекса и другие). Медикаментозного лечения заболевших рыб не разработано [2,4].

Начиная с 2003 года на Кисловодском форелеводческом хозяйстве регистрируется протеоцефалез радужной форели.

Кисловодский форелевый завод относится к хозяйствам бассейнового типа. В условиях низкого дебита подрусовых вод реки Подкумок и катастрофической нехватки воды выростной и товарный участки переведены на систему оборотного водоснабжения с подпиткой на 20-30%. Очистка оборотной воды от взвесей осуществляется механическим путем в системе отстойников-накопителей. В последних ввиду благоприятных условий в массовом количестве развиваются веслоногие рачки - промежуточные хозяева протеоцефалюсов. Таким образом, в хозяйстве созданы подходящие условия для развития в массовом количестве гельминта со сложным циклом развития, а также постоянной реинвазии радужной форели.

Протеоцефалез радужной форели был зарегистрирован у всех возрастных групп рыб, которые содержались в бассейнах, снабжаемых водой из системы оборотного водоснабжения. Экстенсивность инвазии радужной форели в бассейнах составляла от 60 до 100% при интенсивности 1-10 паразитов на рыбу.

Для борьбы с протеоцефалезом радужной форели нами был предложен антигельминтный препарат, применяемый в животноводстве - альбендазол (100% субстанция).

Согласно наставлению по применению альбендазол - это антигельминтик широкого спектра действия, эффективный против нематод, цестод и трематод, обладающий овоцидным действием и снижающий зараженность среды обитания яйцами гельминтов.

Опыт применения альбендазола при протеоцефалезе радужной форели был поставлен в производственных условиях в бассейнах на разновозрастных группах радужной форели.

Эксперимент был проведен в феврале 2007 года – времени с низкими температурами воды, наилучшими для данного хозяйства гидрохимическими показателями воды и минимальным развитием веслоногих рачков.

Температура воды в бассейнах составляла 8,5 °С, содержание растворенного в воде кислорода в пределах 7-8 мг/л, рН 7,6.

Опыт антигельминтного кормления был поставлен на годовиках, двух и трех годовиках радужной форели. Для оценки экстенсивности (ЭИ) и интенсивности (ИИ) инвазии протеоцефалюсами производили патологоанатомическое вскрытие по 20-25 экз. радужной форели из опытных бассейнов до и после лечебного кормления.

В качестве экспериментальных доз были предложены следующие концентрации альбендазола из расчета дневной дозы (по действующему веществу) 5, 10, 20 мг/кг веса рыбы два дня подряд. Лечебный корм задавали 1 раз в сутки в утреннее кормление. Для лучшего потребления лечебного корма накануне проведения опыта вместо необходимых трех раз рыбу кормили 1 раз в утреннее время. Эксперимент проводили в трех повторностях. Схема опыта и результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты антигельминтного кормления радужной форели с альбендазолом

Возраст радужной форели	Дневная доза альбендазола (по действующему веществу), мг/кг веса рыбы					
	5	10	20			
Экстенсивность инвазии, %						
Годовики	100*/80**	100/30	100/10			
Двухгодовики	70/60	70/20	75/20			
Трехгодовики	65/55	70/20	65/10			
* Экстенсивность инвазии до кормления с альбендазолом (среднее по трем прудам), %						
** Экстенсивность инвазии после кормления с альбендазолом (среднее по трем прудам), %						
Интенсивность инвазии, шт.гельминтов/в кишечнике						
	до опыта	после опыта	до опыта	после опыта	до опыта	после опыта
Годовики	3/1-5	3/2-4	3/1-5	1/1-3	3/1-5	1/1-2
Двухгодовики	5/1-10	5/1-9	5/1-10	2/1-3	5/1-10	2/1-3
Трехгодовики	5/1-10	5/2-10	5/1-10	2/2-4	5/1-10	2/1-3
Числитель – среднее, знаменатель - интервал						

Согласно наставлениям по применению альбендазола товарную форель использовали в пищевых целях через 10 дней после проведения антигельминтного кормления.

В первой серии опытов использовали концентрацию альбендазола 5 мг/кг веса рыбы два дня подряд. Для увеличения объема лечебного препарата необходимую суточную дозу альбендазола смешивали с мукой в отношении 1:2. Поедаемость корма была нормальной, отклонений в поведении рыб в опыте не отмечалось. После лечебного кормления наблюдали выход полупереваренных стробил протеоцефалюсов из кишечника рыб. При вскрытии кишечника было выявлено незначительное снижение ЭИ в среднем на 10 % в каждой возрастной группе, с 65-100 % до 55-80%. При этом средняя численность паразитов в кишечниках неизбавившихся от гельминтов рыб не изменилась, однако уменьшился процент рыб с единичными протеоцефалюсами.

Во второй серии опытов кормили годовиков, двух и трехгодовиков радужной форели с альбендазолом концентрацией 10 мг/кг веса рыбы два дня подряд. Также как и в первом случае поедаемость корма была нормальной, отклонений в поведении рыб не отмечали. Выход полупереваренных стробил протеоцефалюсов был массовый. Вскрытие кишечника радужной форели показало значительное снижение ЭИ гельминтами с 70-100% перед кормлением до 20-30 % после, при этом ИИ уменьшилось в среднем по возрастным группам с 1-10 до 1-4 цестоды на рыбу.

В третьей серии опытов антигельминтное кормление осуществляли из расчета 20 мг альбендазола на кг веса рыбы два дня подряд. При данной концентрации у годовиков и двухгодовиков радужной форели отмечали снижение пищевой активности после первого кормления. Плохая поедаемость корма при втором дневном кормлении без антигельминтика послужили отказом от третьего дневного кормления этих возрастных групп. При втором дне лечебного кормления также отмечалось снижение пищевой активности всех возрастных групп, у годовиков радужной форели регистрировался единичный отход. Также как и в предыдущем опыте наблюдали массовый выброс в бассейны стробил протеоцефалюсов из кишечника. ЭИ в данном опыте в среднем снизилась с 65-100 до 10-20% при снижении ИИ с 1-10 до 1-3 гельминтов на рыбу.

Однако в ходе эксперимента мы обнаружили, что у отдельных протеоцефалюсов при воздействии альбендазола обламывались стробилы, располагающиеся в кишечнике, а сколекс и шейка оставались в пилорических придатках. Ввиду микроскопических размеров сколекса и шейки протеоцефалюса, а также большого количества пилорических придатков у радужной форели, выяснение процента оставшихся головок цестод в пилорических придатках в эксперименте не учитывали. Для определения процента оставшихся протеоцефалюсов спустя месяц провели вскрытие радужной форели из опытных бассейнов, где проводили кормление с альбендазолом в дозировках 10 и 20 мг/кг веса рыб. В кишечниках наблюдали сформировавшихся половозрелых гельминтов у 60-80 % рыб при ИИ 1-5 гельминта.

Таким образом, на основании проведенного эксперимента по применению альбендазола для лечения протеоцефалеза радужной форели можно сделать следующие выводы:

1. Альбендазол возможно использовать для снижения инвазии протеоцефалюсами радужной форели, предупреждения её реинвазии и профилактики закупорки кишечника стробилами цестод;
2. Оптимальная концентрация альбендазола по действующему веществу составляет 10 мг/кг веса рыбы два дня подряд;
3. Для лучшего потребления лечебного корма рыбу рекомендуется за день до проведения антигельминтного кормления или не кормить или кормить накануне 1 раз в утреннее время.

4. Кормление с альбендазолом должно проводиться при нормальном кислородном режиме водоемов;
5. Повторное кормление с альбендазолом для снижения численности половозрелых протеоцефалюсов и предотвращения распространения яиц гельминтов в условиях Кисловодского форелевого хозяйства необходимо проводить спустя месяц.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Васильков Г.В. Гельминтозы рыб. М., 1983. 203 с.
2. Головина Н.А., Стрелков Ю.А., Воронин В.Н., Головин П.П., Евдокимова Е.Б., Юхименко Л.Н. Ихтиопатология. – М., 2003. 448 С.
3. Соломатова В.П. Новые заболевания рыб при индустриальных методах выращивания на сбросных водах Костромской ГРЭС//Профилактика и меры борьбы с болезнями рыб при интенсивных методах выращивания. Материалы Всероссийского совещания 3-6 октября 1978 г. Краснодар, 1978. С. 101-102.
4. Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб в 2-х томах. Т. 1. 310 с.

EXPERIENCE OF APPLICATION ALBENDAZOLE AT TREATMENT RAINBOW TROUT PROTEOCEPHALYSIS DISEASE

Moiseeva E.V.,* Arsenuk N.G.**

** *North-Caucasian affiliate of FSUE «Central production station on acclimatization and fish disease control», Krasnodar, e-mail: elenavkn@mail.ru*

** *Joint-Stock Company SPZ " Trout ", Kislovodsk.*

On one of salmon farming of Northern Caucasus us was recorded proteocephalosis disease, caused cestoid of genus *Proteocephalus*.

Extensiveness invasion an rainbow trout averaged on a salmon farming 50-100 %, at intensity 1-10 helminths on a fish. For rainbow trout proteocephalosis disease we offered albendazole antihelminths preparation of a wide spectrum of action.

Experience spent, using albendazole in concentration (on reactant) 5, 10, 20 mg/kg of weight of a fish two days on end. A medical fodder set once a day. The best result experiences with concentration of a preparation have shown of 10 mg/kg of weight of a fish.

However at medical feeding with albendazole separate proteocephalus broke off strobile, settling down in intestines, and head and neck of helminths remained in pyloric appendage.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ К ЗАБОЛЕВАНИЯМ ПОРОД ФОРЕЛИ ОБЫЧНОЙ И МУТАНТНОЙ ОКРАСКИ

Нечаева Т. А.

Федеральное государственное унитарное предприятие Федеральный селекционно-генетический центр рыбководства, п. Ропша, Россия, 188514, Домошосовский район, Ленинградская обл., Стрельнинское шоссе, 4.; e-mail: ropshatrout@mail.ru

В последние годы в рыбководстве становится все более популярным разведение цветных морф радужной форели с оригинальной нетрадиционной окраской. Отмечен стабильно высокий потребительский спрос на таких рыб. Кроме того, они являются важным объектом научных исследований (Шиндавина и др., 2002).

У радужной форели известны различные варианты окраски: альбино, альбино-золотой, желтый, паламино, синий, синий и зеленый с золотистым и желтым, металлический синий и кобальтовый. Причины возникновения таких цветных аномалий до сих пор не изучены, поэтому каждый случай их проявления привлекает внимание, как с точки зрения научного исследования, так и практического использования в рыбководстве. Золотистая форма форели в России получает все большее распространение. Ее разводят на Чегемском рыбководном заводе, Хакасском рыбокомбинате (с 1991 года), на Смоленской АЭС, в Кисловодском и Кабардино-Балкарском племенных форелевых заводах.

На форелеводческом племзаводе «Адлер» была выведена порода форели золотистой окраски – Адлерская янтарная (Шиндавина и др., 2002).

Во ФГУП ФСГЦР золотистая форель выращивается с 1997 года, когда первые особи золотистой окраски в количестве 140 экз. были обнаружены среди сеголеток радужной форели породы Рофор. В марте 1997 года в возрасте двух месяцев сеголетки золотистой форели были отсажены в отдельные бассейны и с тех пор выращивались раздельно от особей обычной окраски. В настоящее время сформировано стадо золотистой форели. В отличие от адлерской янтарной форели, она имеет цвет бледного золота, близкий к окраске паламино. Эта цветная морфа получила название «Лайт». Наследование золотистой окраски у форели «Лайт» не является доминантным, что также отличает ее от форели адлерского хозяйства и требует дальнейшего исследования (Голод и др., 2003).

Отмечено, что изменение окраски тела связаны с наличием других отличительных особенностей. Форель золотистой окраски обнаруживает высокую способность аккумулировать каротиноиды в мышцах и других частях тела. При содержании форели обычной окраски и золотистой в одних и тех же условиях и кормлении одинаковым кормом золотистые особи отличаются большим разнообразием каротиноидов, причем мышцы золотистой форели примерно в 5 раз богаче каротиноидами, чем мясо обычных рыб. Эти данные имеют большое значение, как в научном, так и в практическом плане. Уменьшение затрат на внесение каротиноидов в корма при выращивании золотисто окрашенной форели может иметь существенную экономическую выгоду по сравнению с обычными породами (Czeczuga, Czeczuga-Semieniuk, 1998).

При выращивании в монокультуре были выявлены высокие потенции роста форели золотистой окраски. Однако при содержании в одном бассейне с особями обычной окраски темп роста золотистой форели значительно снижался. Возможно, это объясняется особенностями поведения золотистой форели. Рыбы проявляют меньшую активность при кормлении на поверхности воды, в тоже время активно подбирают корм со дна. Поэтому при совместном выращивании большее количество корма достается форели обычной окраски, более активной у поверхности воды (Шиндавина и др., 2002).

Но, несмотря на это при одинаковых условиях выращивания и кормления форель золотистой окраски демонстрирует значительную устойчивость к эктопаразитарным и бактериальным заболеваниям. При выращивании форель «Лайт» в бассейновом порожении таким опасным для молоди форели заболеванием как костоиз, в то время как форель обычной окраски нуждалась в лечебно-профилактических обработках. Не регистрировалось заражение форели «Лайт» паразитическими инфузориями – триходинами и апизомами. Только один раз было выявлено значительное заражение сеголеток форели «Лайт» ихтиофтириусом (сентябрь 2003 года). Экстенсивность заражения достигала 80 %, интенсивность – 5 – 7 экз. в поле зрения микроскопа (7x8). Вспышка заболевания была связана с более чем двукратным превышением плотности посадки. Нормализация условий выращивания и лечебная обработка малахитовым зеленым (0.5 г/м^3) способствовали освобождению рыбы от паразитов.

Кроме того, при культивировании форели золотистой окраски во ФГУП ФСГЦР не было выявлено вспышек бактериальных болезней, сопровождающихся значительной гибелью рыбы. В то же время у форели обычной окраски и других видов лососевых рыб, выращиваемых в хозяйстве, неоднократно были отмечены характерные для них заболевания бактериальной природы – миксобактериозы разных форм, аэромонос, псевдомонос.

Лишь при выращивании сеголеток форели «Лайт» в садках при значительном переуплотнении посадки был отмечен некроз спинных плавников. В мазках с пораженных плавников были обнаружены длинные грамтрицательные палочки, по своим биометрическим свойствам соответствующие миксобактериям. В то же время некротическое поражение плавников было выявлено и у форели обычной окраски. В обеих группах признаки заболевания наблюдались у 100 % рыб, однако интенсивность поражения была ярче выражена у обычной форели. Если у золотистой форели некроз захватывал главным образом концы лучей спинного плавника, то у форели обычной окраски поражение плавников было более сильным, распространяясь на прилегающие кожные покровы. У нее также регистрировалось повышение отхода. У форели «Лайт» повышение гибели рыб зафиксировано не было. Состояние внутренних органов у форели «Лайт» во время заболевания было лучше. Так, анемия печени и почек обнаруживалась только у 20 % рыб, а у обычной форели – у 40 % особей. После пересадки и лечебно-профилактического курса, включавшего в себя введение в корм аскорбиновой кислоты (1.5 г/кг корма) в течение 10 дней и двукратную обработку марганцовокислым калием (1 г/м^3) состояние рыбы нормализовалось.

При визуальной оценке распространения миксобактериальных поражений у годовиков форели разных пород в Кисловодском и Кабардино-Балкарском племенных хозяйствах, форель золотистой окраски также оказалась поражена в меньшей степени, чем другие группы (Хотева и др., 2005).

Наши наблюдения, а также наблюдения в хозяйстве «Адлер» показали также, что производители золотистой форели в отличие от рыб обычной окраски оставались не пораженными некрозом в течение всего периода выращивания (Шиндавина, 2002). Существует предположение, что такая устойчивость к некрозу плавников связана с особенностями обмена, присущими этой форме форели. Как известно, красная и желтая окраска рыб обусловлена наличием специальных липофорных образований – ксантофилов и эритрофилов. В них преобладающими пигментами являются хорошо растворимые в жирах каротиноиды, которые, являясь антиоксидантами, оказывают воздействие на процессы синтеза витаминов групп А и Д, а также на протекание других метаболических реакций (Бриттон, 1986; Микулин, 2000).

При всех положительных качествах форели «Лайт» следует отметить ее повышенную чувствительность к стрессу при перевозках. Наши наблюдения в 2003 – 2005 годах показали ее большую требовательность к условиям транспортировки на

расстояния более 100 км. Это необходимо учитывать при отправке рабы в другие хозяйства.

Таким образом, золотистая форель благодаря особенностям своих обменных процессов, напрямую связанных с ее оригинальной окраской, более устойчива к воздействию неблагоприятных факторов и обладает иммунитетом к болезнетворным агентам. Это делает ее чрезвычайно перспективным объектом для дальнейшего выращивания в хозяйствах Северо-Запада и Юга России.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бриттон Г. 1986. Биохимия природных пигментов. М.: 422 с.
2. Голод В.М., Шиндавина Н. И., Терентьева Е. Г., Никандров В. Я., Костиков А. А., Ефимова А. В. 2003. Вариант светлой окраски у радужной форели // Материалы Международного симпозиума «Холодноводная аквакультура: старт в XXI век». СПб., 203–2004.
3. Микулин А. Е. 2000. Функциональное значение пигментов и пигментации в онтогенезе рыб. М. 232.
4. Хотева Г. М., Силко В. В., Арсенюк Н. Г., Кашежев З.З. 2005. Современные методы профилактики и терапии бактериальных заболеваний лососевых рыб форелевых предприятий Юга России // Эпизоотический мониторинг в аквакультуре: состояние и перспективы. Материалы научно-практической конференции-семинара. М.: 133 – 136.
5. Шиндавина Н. И., Никандров В. Я., Богерук А. К., Бабий В. А., Янковская В. А. 2002. Особенности фенотипа золотисто-желтой окраски у радужной форели (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) // Опыт селекционно-племенной работы форелеводческого племзавода «Адлер». Актуальные научно-технические проблемы отрасли. В.2. М.: 11 – 33.
6. Шиндавина Н. И., Никандров В. Я., Янковская В. А. 2005. Порода радужной форели золотистой окраски форель Адлерская Янтарная // Сб. научн. трудов ГосНИОРХ. 333. СПб.: 161 – 181.
7. Clark F. H. 1979. Pleiotropic effects on the gene for goldencolor in rainbow trout // J. Hered. V. 61. P. 8 – 10.
8. Czeczuga B., Czeczuga-Semeniuk E. 1998. Carotenoids in the common-and fopm of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) // Acta Ichthyol. Pisc. V. 28. P. 39 – 48.

ОСНОВНЫЕ БОЛЕЗНИ И ПАРАЗИТЫ РЫБ В ПРУДОВЫХ ХОЗЯЙСТВАХ ДАГЕСТАНА

3.4. Нурмугамелов

ГНУ ВИЭВ им. Я.Р.Коваленко, г. Москва, Россия. (nurmagrab@mail.ru)

ВВЕДЕНИЕ:

В целях улучшения снабжения населения высококачественной рыбной продукцией в Дагестане в 1970-е годы была создана новая отрасль народного хозяйства - прудовое рыбоводство, построены прудовые хозяйства площадью до 5000га., созданы предприятия по производству молоди ценных видов рыб.

Впервые продукция прудовой рыбы в Дагестане была получена в 1967 г. и составила 88 т. К 1970г. производство прудовой рыбы возросло по сравнению с 1967-1970гг. в 4,4 раза. Это произошло как за счет увеличения зарыбляемых площадей, так и за счет повышения рыбопродуктивности.

Максимального расцвета прудовое рыбоводство в Дагестане достигло к концу 80-х годов, когда ежегодно производилось свыше 3-х тыс.т. прудовой рыбы в год. В последующем, в результате повышения цен на корма и удобрения, производство прудовой рыбы резко сократилось. В настоящее время в республике прудовую рыбу выращивают в основном в трех хозяйствах Тарумовского района - ФГУП «Широкольский рыбокомбинат» и рыболовецкий колхоз «Красная Звезда», ФГУ «Бирюзакский рыбоводный завод», которые производят 350 - 400 т. рыбы в год. [4.].

Болезни рыб и, связанные с ними потери, являются одним из факторов, сдерживающих увеличение объема производства рыбной продукции. Ущерб, наносимый рыбоводным хозяйствам Дагестана от различных заболеваний рыб огромен. Сложно осуществить точный расчет, поскольку следует учитывать не только прямые потери от гибели рыб, но и от недополучения продукции из-за замедления роста и плохого усваивания кормов. Ущерб составляет от 20 до 50 % всей производимой в республике рыбы. [4, 6.].

Материалы и методы:

Эпизоотологическое обследование проводили в 3 основных рыбоводных хозяйств Дагестана в период с 2001 по 2005гг. Это – ФГУП Широкольский р/к, ФГУ Бирюзакский рыбоводный завод, МУСП «Красная звезда». Лабораторные исследования проводились на базе Дагестанской республиканской ветеринарной лаборатории. Объектом исследования служила промысловая рыба, выращиваемая прудовыми хозяйствами республики во внутренних водоемах (каarp, белый амур, белый и пестрый толстолобик).

Исследования проводились по общепринятым методикам. Для выделения культур, первичные бактериологические посевы, делали на МПБ, МПА. Для дифференциации определяли оксидазную активность культур и способность их расщеплять глюкозу на среде Хью-Лейфсона(тест окисления-ферментации).

Полное паразитологическое исследование рыб по методикам, разработанным В.А.Догелем (1947), Э.М.Ляйманом (1939, 1949), А.П.Маркевичем (1951) [1, 3, 5.], осуществлялось в следующем порядке: кожа, плавники, носовая полость, жабры, глаза, кровь, брюшная полость, сердце, печень, желчный пузырь, селезенка, кишечник, почки, мочеточники, плавательный пузырь, половые железы, мышцы, головной и спинной мозг, хрящевая ткань.

Для определения простейших - инфузорий, жгутиконосцев готовили мазки и соскобы из жабр и кожных покровов на предметных стеклах, подсушивали их на воздухе и хранили в бумаге, или фиксировали жидкостью Шаудина 15-20 минут. Из цист микроспоридий также делали мазки на предметных стеклах, которые сразу закрывали в глицерин-желатину.[1,3,5.]

Работа проводилась, в составе экспедиции по борьбе с болезнями рыб республики Дагестан. [7.]

РЕЗУЛЬТАТЫ:

По результатам проведенных исследований были выявлены возбудители инфекционных заболеваний – вибриоз, аэромоноз (единичные случаи, ежегодно).

В частности при исследовании рыб осетровых пород в отдельных случаях на коже наблюдали язвы, кровоизлияния у основания плавников. В результате впервые на территории России выделен возбудитель вибриоза – *Vibrio anguillarum*. Определена сезонная динамика роста (апрель, май, начало июня) заболеваемости рыб.

Изучение аквакультуры карповых и среды ее обитания в прудовых хозяйствах Дагестана показало доминирование рода *Aeromonas* трех видов: 1 – *Aeromonas hydrophila*; 2 – *Aeromonas caviae*; 3 – *Aeromonas sobria*.

В результате ухудшения условий внешней среды, загрязнением воды токсикантами у осетровых рыб все чаще встречается мышечная миопатия. Распад мышечной ткани связан с возникновением в мышцах гипоксии, вызванной действием токсических веществ, блокирующих доступ кислорода к тканям. Чаще всего болезнь возникает в весенне-осенний период. Этиология этого заболевания мало изучена.

Такие факторы антропогенного воздействия на среду обитания рыб, как загрязнение ареалов продуктами разработки недр, и нефти, увеличивающиеся с каждым годом, привели к тому что у некоторых видов рыб начали регистрироваться опухолевые заболевания, в частности нами обнаружены эпидермальные папилломы у сома, до 1% от вылова, и язвенные поражения кожи у судака, до 4% от вылова (возможно речь идет о дерматофибросаркоме (ДФС), которая ранее регистрировалась в Волго-Каспийском бассейне (Л.А.Зубкова, Л.В.Ларцева и др. 2000.)).

В связи с недавними событиями в соседней республике Чечня, было взорвано более 2500 заводов по производству бензина. Большое количество нефтепродуктов попало в почву, далее в реку Терек. Характер загрязнения принял размеры экологической катастрофы. В настоящей статье на основе наблюдений проведенных в течение нескольких лет, предпринята попытка описать паразитофауну у основных промысловых рыб в аквакультуре, у карпа белого амура, белого и пестрого толстолобиков.

Паразитофауна карпа представлена 50 видами: 23 – паразитических простейших (*Cryptobia cyprinid*, *Cryptobia branchialis*, *Costia necatrix*, *Eimeria sinensis*, *Zschokkella nova*, *Sphaerospora carassii*, *Chloromyxum cyprinid*, *Myxobolus pseudodispar*, *M. dispar*, *M.ellipsoidalis*, *M.muelleri*, *Dermocystidium sp.*, *Hemiophrys branchiarum*, *Chilodonella cyprini*, *Tetrahymena pyriformis*, *Ichthyophthirius multifiliis*, *Tripartiella bulbosa*, *Trichodina meridionalis*, *T. domerguei forma acuta*, *T. nigra*, *T.pediculus*, *Trichodinella epizootica*, *Apiosoma cylindriciformis.*), моногеноеидей – 6 (*Dactylogyrus ctenopharyngodonis*, *D. lamellatus*, *D. aristichichthys*, *D. nobilis*, *D. hypopthalmichthys*, *Gyrodactylus ctenopharyngodonis.*), цестод – 3 (*Khawia sinensis*, *Bothriocephalus acheilognathi*, *Ligula intestinalis.*), трематод – 11 (*Diplostomum spathaceum*, *D. paraspathaceum*, *D. commutatum*, *D. indistinctum*, *D. macrostomum*, *D. mergi*, *D. baeri*, *Tyrodelpheys clavata*, *Posthodiplostomum cuticola*, *Apharyngotrigea corni*, *Clinostomum complanatum.*), нематода – 1 (*Capilaria sp.*), пиявка – 1 (*Piscicola geometra.*), ракообразных – 5 (*Ergasilus sieboldi*, *Sinergasilus lieni*, *Lernaea elegans*, *Lernaea cyprinacea*, *Argulus foliaceus.*).

По данным паразитологических исследований зарегистрировано, у белого амура 55 видов паразитов. Из них: паразитических простейших – 24 (*Cryptobia cyprini*, *C. keisselitzii*, *C. branchialis*, *Zschokkella nova*, *Sphaerospora carassii*, *Myxobolus pseudodispar*, *M. dispar*, *M. muelleri*, *M. braemae*, *Dermocystidium sp.*, *Hemiophrys branchiarum*, *Chilodonella cyprini*, *Tetrahymena pyriformis*, *Ichthyophthirius multifiliis*, *Tripartiella bulbosa*, *Trichodina meridionalis*, *T. domerguei forma acuta*, *T. nigra*, *T.rostrata*, *T.pediculus*, *T. sp.*, *Trichodinella epizootica*, *Apiosoma cylindriciformis*, *Epistilis iwoffi.*), моногеноеидей – 4 (*Dactylogyrus ctenopharyngodonis*, *D. lamellatus*, *Gyrodactylus*

ctenopharyngodonis, *Diplozoon sp.*), цестод – 4(*Bothriocephalus acheilognathi*, *Caryophyllaeus fimbriceps*, *Cysticercus gryporhynchus cheilancris*, *Ligula intestinalis*.), трематод – 13(*Tetracotyle percae-fluviatilis*, *Diplostomum spathaceum*, *D. paraspathaceum*, *D. commutatum*, *D. indistinctum*, *D. macrostomum*, *D. mergi*, *D. baeri*, *Apharyngotrigea cornu*, *Tylodelphys clavata*, *Posthodiplostomum cuticola*, *Clinostomum complanatum*.), нематод – 3(*Agomospirura sp.*, *Dogiel et Bychowaky*, *Capilaria sp.*, *Nematoda sp.*.), пиявки – 2(*Hemiclepsis marginata* и *Piscicola geometra*.), ракообразных – 5(*Argulus foliaceus*, *Ergasilus sieboldi*, *Lerneae ctenopharyngodonis*, *L. elegans*, *Parergasilus rylovi*.).

У пестрого толстолобика, зарегистрировано 47 видов паразитов, из них: паразитических простейших – 22(*Apiosoma cylindriciformis*, *Costia necatrix*, *Cryptobia branchialis*, *Eimeria sinensis*, *Epistilis iwoffi*, *Sphaerospora carassii*, *Chloromyxum cyprini*, *Myxobolus pseudodispar*, *M. ellipsoides pavlovskii*, *Hemiophrys branchiarum*, *Chilodonella cyprini*, *Tetrahymena pyriformis*, *Ichthyophthirius multifiliis*, *Tripartiella bulbosa*, *Trichodina domerguei*, *T. meridionalis*, *T. nigra*, *T. pediculus*, *T. rostrata*, *Trichodinella epizoetica*, *Trypanosoma danylewskyi*.), моногеноидей – 5(*Dactylogyrus ctenopharyngodonis*, *D. nobilis*, *Diplozoon sp.*, *Gyrodactylus ctenopharyngodonis*, *G. Kathariner*.), трематод – 13(*Diplostomum spathaceum*, *D. paraspathaceum*, *D. commutatum*, *D. indistinctum*, *D. macrostomum*, *D. mergi*, *D. baeri*, *Apharyngotrigea cornu*, *Tylodelphys clavata*, *Posthodiplostomum cuticola*, *Clinostomum complanatum*, *Echinostomidae Gen.sp.*, *Trematoda sp.*.), ракообразных – 3(*Lerneae ctenopharyngodonis*, *Caligus lacustris*, *Argulus foliaceus*.).

У белого толстолобика, зарегистрировано 25 видов паразитов, в том числе: паразитических простейших – 9(*Cryptobia branchialis*, *Eimeria sinensis*, *Myxobolus pseudodispar*, *Ichthyophthirius multifiliis*, *Tripartiella bulbosa*, *Trichodina nigra*, *T. pediculus*, *T. acuta*, *Apiosoma cylindriciformis*.), моногеноидей – 4(*Dactylogyrus hipophthalmichthys*, *D. arstichthys*, *D. nobilis*, *Gyrodactylus ctenopharyngodonis*.), трематод – 9(*Diplostomum spathaceum*, *D. paraspathaceum*, *D. indistinctum*, *D. commutatum*, *D. mergi*, *D. macrostomum*, *D. baeri*, *Tylodelphys clavata*, *Posthodiplostomum cuticola*.), ракообразных – 3(*Sinergasilus lieni*, *Caligus lacustris*, *Argulus foliaceus*.).

Таким образом, по результатам проведенных исследований можно отметить что, средние показатели зараженности белого толстолобика отдельными видами выше, чем у белого амура и пестрого толстолобика.

Из протозойных болезней в прудовых хозяйствах встречаются: ихтиофтириоз, миксоболиоз, триходиоз, хилодонеллез, а из crustaceozov – аргулез и лернеоз.

ВЫВОДЫ.

Несмотря на высокую интенсивность заражения рыб, в последние годы острых вспышек заболеваний не регистрировалось. Мы связываем это с тем, что в связи с упадком рыбоводства в постперестроечный период, в Дагестане наблюдалось падение интенсивности в рыбоводстве (из 9 ранее функционировавших хозяйств ныне действуют только 2). Это привело к тому, что плотность рыбопосадки стала более низкой, что послужило толчком к положительной динамике в эпизоотологическом благополучии хозяйств региона.

Изучение патологии рыб является актуальным направлением, которое позволит предотвратить гибель объектов аквакультуры и решить задачи по обеспечению населения отечественной рыбной продукцией.

БИБЛИОГРАФИЯ:

1. Грищенко Л.И., Акбаев М.Ш., Васильков Г.В. Болезни рыб и основы рыбоводства.–М.: Колос, 1999, 456 с.
2. Зубкова Л.А., Ларцева Л.В., Степанова Г.А., и др. Эколого-эпизоотологическая обстановка в промысловых водоемах Волго-Каспийского бассейна. // Паразиты и болезни рыб: Сборник научных трудов – ВНИРО, 2000. – С. 62-65.

3. Канаев А.И. Словарь – справочник для ихтиопатолога. – М.: Росагропромиздат, 1988. – 304 с.
4. Магомаев Ф.М. / Теоретические основы и технологические принципы рыбного хозяйства в Дагестане. – Астрахань: Изд-во КаспНИИРХ, 2003. – 407 с.
5. Микитюк П.В. и др. / Справочник по болезням прудовых рыб. – К.: Урожай, 1984. – 248 с.
6. Хайбулаев К.Х., Алигаджиев А.Д., Газимагомедов А.А. Результаты и перспективы изучения паразитофауны и болезней рыб внутренних водоемов Дагестана и дагестанского побережья Каспийского моря // Биологические проблемы и перспективы их изучения в регионах Каспийского моря. – Махачкала: ДНЦ РАН, 1999. – С. 191-195.
7. Экспедиция по борьбе с болезнями рыб при департаменте ветеринарии респ. Дагестан. // материалы исследований и отчетные данные за 2001 – 2005 гг.

**THE ANALYSES EPIZOOTOLOGICAL SITUATION IN FISHING SACILITIS OF
DAGHESTAN
Nurmagomedov Z. I.**

Disease of fishes and negatives influence natural and anthropological factors became the principal reasons which do not allow to develop in fishing of Dagestan.

The damage from disease inflicted sacilitis is huge. Analyses of the investigations is broth in article on discovery in satins like which was not conducted or ready for a long time. This analyses shows in real situation in fishing sacilitis of Dagestan today.

РАЗРАБОТКА НОВОГО СПОСОБА ЭКСТРЕННОЙ ТЕРАПИИ И ПРОФИЛАКТИКИ ФИЛОМЕТРОИДОЗА У КАРПА

А. М. Слуквин, Т. В. Безнос

ГНУ «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси»
г. Минск, Республика Беларусь, e-mail: A.Slukvin@igc.bas-net.by
РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии Национальной академии наук
Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь, e-mail: Beznos@tut.by

Филометроидоз – гельминтозная болезнь карпов, вызываемая нематодой *Philometroides lusiana*. (Vismanis, 1966) семейства *Philometridae* (Baulis et Dayvneu, 1926). Болезнь проявляется острым воспалением печени, плавательного пузыря, почек и сопровождается общей интоксикацией организма. Пораженная рыба имеет неприглядный внешний (товарный) вид и является продукцией низкого качества. При интенсивности поражения свыше 5-х экземпляров самок филометроидесс на 1 кг рыбы, такая рыбная продукция на территории Беларуси запрещена для реализации в торговую сеть. Филометроидоз может быть промотором и других опасных заболеваний у карпа. Пораженная филометроидозом рыба запрещается для зарыбления естественных водоемов и для осуществления межхозяйственных перевозок. Заболевание приносит существенный экономический ущерб для хозяйства [1,2].

Существуют методы профилактики и лечения филометроидоза карпа с использованием химических методов, а также с помощью фармакологических препаратов, вплоть до индивидуальной дегельминтизации рыб. Химические методы, в частности, с использованием хлорофоса по воде (методы Авдосьева и Сухенко) направлены на уничтожение промежуточных хозяев паразита (циклопов) и свободно плавающих в воде личинок филометроидесс [1,2]. Согласно инструкциям, хлорофос используется 2–3-хкратно, с ограничениями по его применению высокими рН и температурами воды. По этой причине и учитывая тот факт, что хлорофос является ядом и канцерогеном, использование этого препарата не всегда оправдано, особенно при ведении «органического» рыбоводстве популярного в настоящее время на западе.

Проведение длительных по времени курсов лечебного кормления рыб с дорогостоящими антгельминтиками (нилвермом, фенотиразином, локсураном, левомизолом, мебендазолом и др.) зачастую экономически не выгодно и ведет к удорожанию и без того дорогой рыбной продукции. При дефиците кормов, как это имеет место в настоящее время, не вся выращиваемая рыба в неблагополучных хозяйствах будет охвачена дегельминтизацией в дозах, предусмотренных инструкциями по применению препаратов. Провести эффективную дегельминтизацию рыб на больших площадях прудов (где в основном выращивается товарная рыба) крайне проблематично из-за отсутствия достоверных данных о количестве рыбы в прудах, а, следовательно, и провести точный расчет потребности в лечебных кормах. К тому же для того, чтобы избавиться от заболевания, необходимы значительные объемы лечебных кормов. Следует также остановиться еще на одном недостатке препаратной дегельминтизации, связанном с тем, что часть стада зараженных рыб вообще может не получить лечебный корм на кормовых местах и, следовательно, будет являться потенциальным источником инвазии. Если учесть, что одна самка филометроидесс может продуцировать до 400 тысяч личинок, то эффективность дегельминтизации может иметь нулевой результат. Кроме того, антгельминтики в кормах не дают гарантии по уничтожению самок паразита, локализирующихся в плавательных пузырях карпа. Известно, что применение лечебных кормов с антгельминтиками эффективно только при высоких температурах воды, то есть когда рыба активно питается. При резком понижении температуры эффективность препаратов антгельминтиков резко снижается из-за худшей всасываемости их в организме рыб. В таких случаях возникает необходимость в проведении нескольких курсов кормления

рыб кормом с препаратами антгельминтиками, что ведет к увеличению себестоимости рыбной продукции.

Нами проведена оценка эпизоотической обстановки по филометроидозу карпа и карася в рыбноводных предприятиях, находящихся в подчинении Департамента мелиорации и водного хозяйства Министерства сельского хозяйства Республики Беларусь. Установлено, что из двадцати рыбноводных хозяйств остаются неблагополучными по филометроидозу у карпа шесть предприятий (Любань, Красная Слобода, Локтыши, Тремля, Свислочь, Хотово) и одно хозяйство по филометроидозу карася, вызываемому нематодой *Philometroides sanguined* (Волма). В прошлом году филометроидоз у карпа был диагностирован еще в двух хозяйствах ОАО «рыбхоз Свислочь», ОАО «рыбхоз Тремля». Заболевание регистрировалось в основном у трехлетков и производителей карпа. Экстенсивность поражения товарного карпа паразитами в неблагополучных хозяйствах при весеннем и осеннем отловах составила от 4 до 92%, интенсивность от 1 до 12 паразитов на один килограмм веса рыб.

Таким образом, обстановка по филометроидозу у карпа в рыбноводных хозяйствах Республики Беларусь остается неудовлетворительной и напряженной. Более 40% рыбноводных хозяйств неблагополучны по данному заболеванию.

Для профилактики и терапии филометроидоза у карпа предлагается разработка нового безопасного, не дорогостоящего и экономичного экологически чистого физического метода, а именно метода электромодулированного воздействия на паразитов и их промежуточных хозяев. Фундаментальные и прикладные исследования в этом направлении начаты нами с прошлого года. Несмотря на большой объем научной литературы, посвященный биологическому действию электрического тока на животных или человека при их нахождении на суше или в воздушной среде, целенаправленных глубоких исследований по вопросу действия электрического поля тока на биообъекты, находящиеся в водной среде проводилось крайне мало [3-6]. Кроме того, до сих пор нет систематизирующих трудов, позволяющих полноценно использовать накопленный объем знаний в целях создания средств профилактики и лечения заболеваний у рыб.

Результаты предварительной апробации метода экспресс-терапии филометроидоза у карпа в модельных экспериментах с применением установок типа электродочки показали, что кратковременное воздействие электротока приводит к гибели самок и самцов возбудителя заболевания на теле и в плавательных пузырях у карпа. При обработке наблюдалось кратковременное обездвиживание рыб (электронаркоз), при этом гибели рыбы не было обнаружено. Профилактическая обработка электротоком воды зимовальных прудов, куда размещались производители карпа после весенней бонитировки, позволила полностью освободить эти пруды от циклопов - промежуточных хозяев паразитов.

Нами проведены поиск и сравнительный анализ дешевого отечественного устройства переменного и униполярного тока с непрерывным и импульсным питанием электродов малой мощности, для проведения модельных экспериментов экспресс-терапии филометроидоза у карпа. Было выбрано малогабаритное устройство российского производства. Это устройство изготовлено на новейшей элементной базе специалистами института космической энергетики. Это новое поколение профессиональных переносных, безопасных электроустановок (электродочек). Вес обрабатываемых экземпляров рыб может достигать до 50 кг (включительно). Электроустановка предназначена для промыслового лова рыбы в труднооблавливаемых участках прудов, закоряженных водоёмах, а также в качестве автономной установки электрорыбозаградителя на водозаборах протяжённостью до 10 метров, расположенных вдали от источников электроэнергии. Прибор имеет индикатор и регулятор мощности, независимый регулятор частоты. Установка комплектуется мощными малогабаритными аккумуляторами, прикрепляемыми к поясному ремню.

Небольшие габариты и малый вес 900 г., также позволяют закреплять установку на поясном ремне. Это даёт человеку большую свободу передвижения во время обработки рыбы.

Таким образом, было установлено, что использование электромодулированного воздействия для профилактики и экстренного лечения заболеваний у рыб является новым эффективным и перспективным направлением в ихтиопатологии, требующим дальнейшего всестороннего изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. В.С. Осетров. Справочник по болезням рыб.- М.: Колос,1978, 351 с.
2. Ихтиопатология /О.Н. Бауэр, В.А.Мусселиус, В.М. Николаева, Ю.А. Стрелков; М.: Пищевая промышленность, 1977, 431 с.
3. В.Р. Протасов. Биоэлектрические поля в жизни рыб – М., 1972, 228 с.
4. Техника промышленного электролова /Г.А. Асланов, Г.М. Мишелович, И.М. Сафонов, Я.П. Шауринь; М.: Пищевая промышленность, 1980, 216 с.
5. Басов Б.М. Электрические поля пресноводных неэлектрических рыб.- М.: Наука,1985, 72 с.
6. В.П. Грудин Биофизические методы управления процессами рыборазведения.- М.: Легкая и пищевая промышленность, 1981, 103 с.

DEVELOPMENT OF NEW METHOD FOR EXPRESS-THERAPY AND PROPHYLAXIS OF PHYLOMETROIDOSIS IN COMMON CARP

A.M. Slukvin, T.V. Beznos

Above 40% of fish farms in Belarus remain unfavorable for Phylometroidosis in common carp. It is proposed to use safe, cheap and economical ecologically pure physical methods, namely, the method of electromodulated impact on parasites and their intermediate hosts, for prophylaxis and urgent therapy of Phylometroidosis in common carp. A short-term exposure of fish affected with helminthes to electric current results in death of females and males of pathogenic organism on the body and swimming-bladder of common carp. Preventive electric current-treatment of water in hibernating ponds, where carp breeders be placed after spring valuation, allows complete release of these ponds from Cyclops-intermediate parasite hosts.

КРИПТОБИОЗ КАРАСЕЙ: ЭПИЗООТОЛОГИЯ И МЕТОДЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Стаффорд В.В.

Всероссийский научно – исследовательский институт экспериментальной
ветеринарии им. Я.П. Коваленко, Москва, Россия

ВВЕДЕНИЕ

Криптобиоз – инвазионная болезнь пресноводных и морских рыб, характеризующаяся поражением крови и развитием ярко выраженной анемии (4), возбудителями которого являются жгутиконосцы относящиеся к типу *PROTOZOA*, подтипу *PLASMODROMA Doflein*, 1901, классу *FLAGELLATA Cohn* 1883, отряду *BODONIDEA hollande* 1952, семейству *BODONIDAE Stein* 1878, роду *CRYPTOBIA* (5). Впервые кровепаразитов в крови форели наблюдал профессор Valentino в 1841 году (10).

В начале века морфологии и биологии кровепаразитов рыб (трипаносом и трипаноплазм) уделялось мало внимания. Было установлено, что некоторые трипаносомы млекопитающих вызывали заболевания у людей и домашних животных в тропиках (13). Только во второй половине прошлого века в связи с выявлением криптобиоза в Северной Америке у радужной форели (15;17), дальневосточных лососевых (8;9) и камбаловых рыб (11) началось целенаправленное изучение морфологии возбудителей, их жизненных циклов, специфичности, распространения и других вопросов, имеющих фундаментальное и практическое значение (13;16).

В России наиболее полными исследованиями паразитов крови рыб, являются работы К.Х. Хайбулаева (7). В медицине и ветеринарии исследования заболеваний, возбудителями которых являются кровепаразиты, проводятся достаточно интенсивно (2). Они выполнены на современном научно-методическом уровне и направлены на профилактику этих опасных болезней человека и сельскохозяйственных животных (3;1).

Среди паразитов рыб значительный теоретический и практический интерес представляют паразитирующие в крови жгутиконосцы из рода *Trypanosoma* и *Cryptobia*. Эта группа простейших ещё мало изучена, многие вопросы биологии, таксономии, специфичности, эволюции ее представителей до сих пор являются спорными (6).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили рыбы разного вида и возраста, выловленные в различные сезоны года, часть из которых была доставлена в аквариальную лабораторию, для экспериментальных работ. Исследования проводили в двух рыбоводческих хозяйствах Московской области: ЗАО «Гжелка» и ЗАО «Егорьевский рыбокомбинат «Цна». Всего исследовано 150 экз. карпов, карасей и пестрых толстолобиков.

От рыб брали кровь с целью получения сывороток. В ходе наблюдений определяли экстенсивность и интенсивность инвазии криптобиями. При постановке диагноза применяли метод раздавленной капли. Интенсивность инвазии определяли подсчетом кровепаразитов в одном поле зрения микроскопа. Экстенсивность определяли из соотношения здоровых рыб к инвазированным.

В опытах по культивированию криптобий испытывали 4 вида питательных сред: среда №1 с добавлением сыворотки плодов коров; среда №2 с добавлением сыворотки крови рыб; среда №3 – стабилизированная кровь; среда №4 содержала сыворотку крупного рогатого скота.

Инкубацию проводили при нескольких режимах. В первом опыте температурный режим составлял 15⁰С, а во втором 4⁰С.

В опыте по экспериментальному заражению рыб, инвазировали сеголеток и годовиков карпов; были сформированы две группы по 10 экз. и две контрольные группы. Рыб содержали в непроточных аквариумах с постоянной аэрацией воды при

температуре 10⁰С. Рыб заражали двумя способами: внутривентриально и внутрисердечно (в различных дозировках). Через две недели после заражения у рыб брали кровь для исследования на наличие кровепаразитов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенные опыты позволили определить, в естественных условиях, динамику развития криптобиоза и характер клинических проявлений у искусственно инвазированных рыб. А так же, исследовать различные сыворотки на возможность культивирования криптобий.

В результате проведенных в р/х «Гжелка» исследований у карпов и карасей из зимовальных бассейнов было выявлено: у карпов-двухлетков из 22 экз. - криптобии выявлены в сыворотке крови у 16, что составляет 36,5%; при обследовании карасей в количестве 64 экз., криптобии выделены от 6 экз., что составляет 9,4%.

Исследования, проведенные в ЗАО Егорьевский р/к ЦНА показали, что у сеголеток карпов криптобии установлены в 40% случаев, у годовиков - 6,1 %, у двухлеток карасей - 5 %.

На течение эпизоотического процесса большое влияние оказывает температурный режим. В результате наших исследований было выявлено, что заболеванию особенно подвержены рыбы младших возрастных групп, кроме того, необходимо учитывать условия зимовки, так как низкие температуры способствуют развитию криптобиоза. Исследования, проведенные в летнее время, показывают отсутствие криптобий в сыворотке крови рыб.

Изучение методов культивирования криптобий проводили в различных питательных средах. Было испытано 4 различные среды, наилучшие результаты были получены в питательной среде №3, криптобии не только сохраняли жизнеспособность, но и размножались. В результате этих опытов были подобраны оптимальные условия для культивирования криптобий.

В опытах по экспериментальному заражению карпов внутривентриально и внутрисердечно наблюдение за рыбами проводили в течение двух недель. В опытных группах на второй день после заражения цвет жаберных лепестков изменился с вишневого на ярко-красный, в отличие от контрольной группы. Через четырнадцать дней после заражения у рыб опытных групп наблюдалась гипоксия, цвет жаберных лепестков бледно-розовый. Получены положительные результаты биопробы: от зараженных рыб криптобии были вновь выделены.

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных нами опытов, у инвазированных рыб наблюдалась ярко выраженная анемия жаберных лепестков и внутренних органов, а по данным РТК Woo (17), у больных рыб наблюдаются экзофтальм, значительный отек, вздутие брюшной стенки с асцитом, спленомегалия; а также, можно наблюдать анорексию (13); летаргическое состояние и потерю нормальной реакции (14;12). По литературным данным можно утверждать, что жизненные циклы паразитов имеют удивительное сходство. Только болезнетворное влияние на хозяев у криптобий более сильное, чем у трипаносом, и при смешанной инвазии первые получают большее развитие, а иногда и полностью подавляют вторых. В естественных условиях, наличие этих паразитов в крови, почти безразлично для хозяев, но при изучении их в экспериментальных условиях в прудовых, и озерно-товарных хозяйствах отмечаются существенные патологические изменения и даже массовая гибель карпа и белого амура. (7).

Несмотря на то, что эти кровепаразиты не наносят большого экономического ущерба хозяйству, криптобии ослабляют резистентность организма рыб, что способствует развитию восприимчивости к другим более опасным инфекционным заболеваниям.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Белова Л.М. Полиморфизм малатдегидрогеназы и его роль в изучении плоидности и

- таксономии трипаноматид: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.19/ Л.М. Белова; - Л., 1984. - 17с.
2. Дьяконов Л.П. Морфологические и биологические особенности некоторых кровепаразитов овец и их систематика/Дьяконов Л.П.//Успехи протозоологии: Тез. докл. 111 между. конгр. протозологов. - Л.: Наука, 1969. - С. 275 - 276
 3. Заблоцкий В.Г. Специфическая профилактика тейлерииоза крупного рогатого скота: Автореф. дис. ... докт. биол. наук: 03.00.19/В.Г. Заблоцкий; - 1985. - 31с.
 4. Канаев А.И. Криптобиозы / А.И. Канаев// Словарь-справочник ихтиопатолога М.: Росагропромиздат, 1988. - 157с.
 5. Османов С.О. Систематический обзор паразитов рыб Узбекистана/Османов С.О.//Паразиты рыб Узбекистана. Ташкент.: Издательство Фан Узбекской ССР, 1971. - С. 16 - 23
 6. Хайбулаев К.Х. Изучение развития трипаносом (Trypanosoma) и криптобий (Cryptobia) карпа и линя в пивяке *Piscicola Geometra*/ Хайбулаев К.Х., Гусейнов М.А.// Паразитология. - 1985. Т.19. Вып.1. - Ленинград. - Наука. - С.75-77.
 7. Хайбулаев К.Х. К эпизоотологии, клинике и патогенезу криптобиоза и трипаносомоза карпа и белого амура/Хайбулаев К.Х.//Болезни рыб и водная токсикология. М.: Издательство ВНИИПРХ, 1984. - Вып.40. - С. 88-94
 8. Becker C.D. Transmission of the hemoflagellate *Cryptobia salmositica* Katz 1951, by a rhynchobdellid vector/Becker C.D., Katz M.//Journal of Parasitology. - 1965 - Vol.51 - P.95 - 99
 9. Bower S.M. Direct transmission of the haemoflagellate *Cryptobia salmositica* among Pacific salmon (*Oncorhynchus spp.*)/Bower S.M., Margolis L.//Canadian Journal of Zoology. - 1984. - Vol.61. - P.1242 - 1250
 10. Lom J. Biology of trypanosomes and trypanoplasms of fish. In "Biology of the Kinetoplastida" (Lumsden W.H.R., Evans D.A. eds.)/Lom J.//Academic Press, London. - 1979. - Vol.2. - P.269 - 337
 11. Laird M. Marine fish hematozoa from New Brunswick and New England/ Laird M., Bullock W.H.//Journal of the Fisheries Research Board of Canada. - 1969. - Vol.26. - P.1075 - 1102
 12. Thomas P.T. An in vitro study on the haemolytic components from *Cryptobia salmositica* (Sarcocystidophora: Kinetoplastida)/Thomas P.T., Woo P.T.K. // Journal of Fish Diseases. - 1989. - Vol.12. - P. 389-393
 13. Thomas P.T. In vivo and in vitro cell-mediated immune response of *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) against *Cryptobia salmositica* Katz, 1951 (Sarcocystidophora, Kinetoplastida) / Thomas P.T., Woo P.T.K. //Journal of Fish Diseases. - 1990. - Vol. 13. - P. 423 - 433
 14. Woo P.T.K. *Cryptobia* and cryptobiosis in fishes/ Woo P.T.K. //Advances in Parasitology. - 1987. - Vol.26. - P. 199-237
 15. Woo P.T.K. The division process of *Cryptobia salmositica* in experimentally infected rainbow trout (*Salmo gairdneri*)/Woo P.T.K.// Canadian Journal of Zoology. - 1978. - Vol.56. - P.1514 - 1518
 16. Woo P.T.K. Fish Diseases and Disorders. Vol.1. Protozoan and Metazoan Infections/ Woo P.T.K., Poynton S.L.//CAB International. - 1995. - P.47 - 69
 17. Woo P.T.K. *Cryptobia salmositica*: susceptibility of infected rainbow trout, *salmo gairdneri*, to environmental hypoxia/ P.T.K. Woo, S.D. Wehnert//Journal of Parasitology Vol.72 No. 3 June 1986 p.392-395

**ВЛИЯНИЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕГО ПРЕПАРАТА „ИЗАТИЗОН” НА
ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ И
БАКТЕРИОСТАТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ
ОДНОЛЕТОК КАРПОВЫХ РЫБ.**

Сыч А.А., Бучацкий Л.П., Матвиенко Н.Н.

Институт рыбного хозяйства УААН, г. Киев, Украина

На фоне важной сегодня как для Украины, так и для других европейских государств проблемы антропогенного загрязнения водоёмов, а также для стабилизации и повышения продуктивности рыбопроизводства актуальным и перспективным является поиск новых препаратов, эффективных при инвазионных и инфекционных заболеваниях, способных не только снижать риск дисфункций иммунитета, но и восстанавливать и даже повышать иммунореактивность. Именно поэтому изучение влияния препаратов нового поколения, в том числе иммуномодуляторов, на организм рыб и разработка способов их использования в рыбоводстве являются чрезвычайно важными. Из литературы известны примеры исследования иммуномодулирующих препаратов разного состава в рыбоводстве (Божик В.Й. и др., 2000; Трифонова Е.С., 2004; Филиппова О.П., 2004). Но почти не проводилось изучения влияния препаратов из производных изатинтиосемикарбазонов на показатели врождённой резистентности рыб (Потопальский А.И., Лозюк Л.В., 1995).

Целью нашей работы было установить влияние иммуномодулирующего препарата „Изатизон” на показатели врождённой резистентности однолеток карповых рыб.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.

В опытах использовали препарат „Изатизон”, который является 2%-м раствором метисазона в универсальном растворителе (Потопальский А.И., Лозюк Л.В., 1995)

Исследование препарата проводили на базе опытного рыбоводного хозяйства „Нивка”. Объектом исследований были однолетки карповых рыб. Опытных и контрольных рыб содержали в двух одинаковых прудах, площадью 100 м² каждый. Период адаптации рыб к условиям опыта составил 21 день. Средняя масса карпов перед началом опыта составляла 39±0,49 г в опытном пруду, 38,9±0,43 г – в контрольном.

Опытным рыбам скармливали препарат „Изатизон” вместе с комбикормом (ГОСТ 10385 - 88) в течении месяца с интервалом в 1 сутки. Оптимальная доза препарата была подобрана экспериментально и составляла 0,5мл/кг массы рыбы.

Контрольная группа рыб получала комбикорм без добавления препарата.

Фагоцитарную активность нейтрофилов изучали цитохимическим методом в тесте восстановления тетразолия нитросинего - НСТ- тесте (Siwicki A.K., 1993).

Бактериостатическую активность сыворотки крови (БАСК) определяли микрометодом (Компанец С.В, 1991).

Кровь для исследований отбирали из сердца рыб.

Полученные показатели состояния рыб от опытных групп сравнивали с показателями контрольной группы рыб.

Результаты исследований обрабатывали статистически (Плохинский, 1961).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.

Перед началом опыта у ослабленных после зимовки рыб из контрольной и опытной групп был одинаково низкий процент способных к фагоцитозу нейтрофилов (таб.).

Спустя три недели, в течение которых опытные рыбы ежедневно вместе с кормом получали „Изатизон”, этот показатель увеличился в несколько раз: в контрольной группе почти в 3, а опытной почти в 10 раз, это значит, что у опытных

рыб фагоцитарная активность нейтрофилов была в 3 раза выше, чем у контрольных. В этот период при изучении препаратов под микроскопом в мазках рыб опытной группы можно было увидеть, что все клетки окружены голубым ореолом. Результаты проведенного НСТ – теста позволили сделать вывод, что „Изатизон” обладает способностью повышать фагоцитарную активность нейтрофилов рыб. Эта тенденция с незначительной разницей сохранялась почти до конца лета, а осенью заметно снизилась. Разница между опытом и контролем в течение лета составляла 70%, а в октябре она снизилась до 58%.

Таблица.

Влияние „Изатизона” на бактериостатическую активность сыворотки крови и фагоцитарную активность нейтрофилов, M±m.

Месяцы	БАСК %		НСТ-тест %	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
Начало июня	27 %	26%	9,2 ± 1,31*	9,2 ± 0,86*
Конец июня	42%	36%	99 ± 0,44*	29,8 ± 1,49*
Июль	55%	37%	99,6 ± 0,24*	22,2 ± 1,49*
Август	60%	42%	97,4 ± 1,07*	26,6 ± 1,20*
Сентябрь	57%	44%	90 ± 1,70*	20,8 ± 1,24*
Октябрь	43%	35%	76,2 ± 2,17*	18,6 ± 0,81*

*Примечание - $p < 0,05$

Для определения БАСК мы использовали микрометод, предложенный в 1991 году Компанец С.В., который позволял измерять этот показатель, используя небольшое количество крови.

Перед началом опыта уровень БАСК у рыб обеих групп – контрольной и опытной - был почти одинаковым и составлял 26 та 27% соответственно (табл.). Во время повторного измерения, которое происходило почти через месяц после определённого периода применения иммуномодулирующего препарата „Изатизон”, было зафиксировано повышение уровня БАСК - до 42% в опытной группе (это на 15% выше предыдущего результата) и до 36% в контрольной группе (это на 10% выше, чем было вначале). В опытной группе показатель был выше, чем в контроле на 6%. В следующем месяце, после окончания применения „Изатизона” разница между опытом и контролем составляла уже 15%: опыт - 55%, контроль 37% (табл.). В августе вырос уровень БАСК обеих групп: 60% - опыт, 42% - контроль (опытный показатель на 18% выше контрольного). В октябре зафиксировано снижение бактериостатической активности у опытных и контрольных рыб.

Важно также отметить, что конечная масса опытных рыб ($170 \pm 2,44$ г, $p < 0,05$) была на 13% больше чем контрольных ($151,3 \pm 2,89$ г, $p < 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Иммунная система рыб представлена как врожденными, так и адаптивными механизмами. Врожденные механизмы считаются доминирующими и характеризуются большим разнообразием и быстротой активации.

В зараженные бактериями ткани одними из первых проникают нейтрофилы, в зоне воспаления они всегда многочисленны. Нейтрофилы карпа, как и макрофаги, имеют ярко выраженную способность к фагоцитозу. Из литературных источников известно, что у здоровых карпов разного возраста фагоцитарная активность нейтрофилов существенно не отличается (Балахнин И.А., 1996).

Использование тетразолия нитросинего (НСТ) для анализа фагоцитарной способности нейтрофилов предложил А.Сивицкий с соавторами в 1986 году. Принцип теста восстановления тетразолия нитросинего (НСТ-тест) состоит в том, что при активации фагоцитирующих клеток радикалы кислорода, которые содержатся в нейтрофилах, восстанавливают растворимый тетразолий нитросиний в диформаза, который распределяется в цитоплазме. Этот тест отражает степень активации кислородозависимых механизмов бактерицидной активности фагоцитирующих клеток. Тест можно проводить двумя методами: цитохимическим и спектрофотометрическим (Пастер Е.У. и др., 1989). Преимущество цитохимического метода, примененного нами, состоит в том, что он несложный и позволяет в полевых условиях исследовать большое количество рыбы (Siwicki A.K., 1993).

Данные НСТ-теста свидетельствуют про стабильный позитивный эффект даже после окончания применения „Изатизона”.

Бактериостатическая активность сыворотки крови рыб (БАСК) обеспечивается комплексом гуморальных факторов, таких как природные антитела, пропердин, лизоцим, комплемент и другие. По литературным данным БАСК разных видов рыб варьируют в достаточно широких пределах – от 5-10% до 90-95% – в зависимости от вида и условий среды существования. Определение показателя бактериостатической активности сыворотки крови имеет важное практическое значения для оценки уровня резистентности организма рыб (Микряков В.Р., 1984). Существует также мнение о том, что измерение БАСК не имеет существенного иммунологического значения и играет второстепенную роль в невосприимчивости к бактериальным инфекциям (материалы с сайта <http://www.fishpatholog.amillo.net/index.htm>). Анализ вышеизложенных данных свидетельствует о том, что применение „Изатизона” за предложенной схемой повышает уровень БАСК рыб.

Позитивные результаты проведенных исследований позволили сделать вывод, что иммуномодулирующий препарат „Изатизон” повышает врожденную резистентность однолеток карповых рыб.

ВЫВОДЫ

1. Экспериментально установлено, что иммуномодулирующий препарат „Изатизон” повышает фагоцитарную активность нейтрофилов.
2. Применение „Изатизона” при добавлении в комбикорм в течении месяца с интервалом в 1 сутки в количестве 0,5мл/кг массы рыбы повышает бактериостатическую активность сыворотки крови рыб.
3. Иммуномодулирующий препарат „Изатизон” может быть рекомендован для повышения иммунного статуса однолеток карповых рыб.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Божик В.Й., Пірус Р.І., Шемчук В.Р., Струбіцький І.В. Про деякі властивості біологічного препарату ДОН-1R // Науковий вісник. Том 2, частина 4. Львів: Львівська державна академія ветеринарної медицини ім. Гжицького С.З., 2000.

2. Трифонова Е.С., Бычкова Л.И., Юхименко Л.Н., Болотов В.Д. Эффективность применения пробиотических препаратов «Зоонорм» и «Бифидум-СХЖ» на Можайском ПЭРЗ // Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб. Москва: Институт биологии внутренних вод РАН, 2004г., – С.528 – 533.
3. Филиппова О.П., Бычкова Л.И., Трифонова Е.С., МякихФ.Ф. Опыт использования пробиотического препарата –бифилактрина на ранней стадии выращивания бестера // Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб. Москва: Институт биологии внутренних вод РАН, 2004г., – С.534 – 538.
4. Потопальский А.И., Лозюк Л.В. Противовирусный и противоопухолевый препарат изатизон. Киев.- Наук. думка - 1995. – 104.
5. Івченко В.А., Сидорчук П.І., Павленко М.С., Горбатюк О.І. Дика О.В. Імунологічні методи досліджень у лабораторіях ветеринарної медицини // Біла Церква: Білоцерків.держ. аграр.ун-т, 1997. – 79с.
7. Компанець Є.В., Мікрометод визначення БАСК у риби та його використання в імунологічних дослідках // Рибне господарство: Київ. – 1991. - №45. – С.71 – 73.
8. Балахнин И.А., Козиненко И.И. Интенсивность ответа на митоген неполовозрелых карпов в зависимости от возраста, длины, массы тела и наличия патогена //Докл. НАН Украины. – 1996. - № 12. – С.163 – 165.
9. Siwicki A.K., Anderson D.P., Antychowicz – Nonspecific defence mechanisms assay in fish I Phagocytic ability of neutrophils NBT test and myeloperoxidase activity test// International works
10. Пастер Е.У., Овод В.К., Позур В.К., Вихоть Н.Е. Иммунология (практикум). – Київ: Вища школа, 1989. – 304с.
11. Микряков В.Р. Закономерности формирования приобретённого иммунитета у рыб. – Рыбинск: Институт биологии внутренних вод им. Папанина И.Д. АН СССР, 1991. – 154с.
12. Плохинский Н.А. Биометрия // Новосибирск: Изд-во СОАН СССР, 1961г. – 364с.
13. Интернет – сайт <http://www.fishpatholog.amillo.net/index.htm>.

THE INFLUENCE IMMUNOMODULATORY PREPARATION "IZATIZON" ON PHAGOCYTIC ACTIVITY NEUTROPHILS AND BACTERIOSTATIC ACTIVITY OF THE WHEY SHELTERS CONTEMPORARY CARP FISIL.

G.O. Sych, L.P. Buchackiy, N.M. Matvienko.

Fish research institute UAAS, Kyiv. e-mail ifr@mail.kar.net

On the base experienced piscicultural facilities "Nivka" was conducted study immunomodulatory preparation "Izatizon". It was planned install the influence of the preparation on factors innate resistance contemporary carp fish. 0,5ml Preparation got for month of fish on 1kg masses together with mixed fodder, with interval in 1 day. The broughted results of the study of the influence "Izatizon" on phagocytic activity neutrophils and bacteriostatic activity of the whey shelters contemporary carp fish.

THE USE OF HACCP PRINCIPLE TO IDENTIFY HAZARDOUS BIOLOGICAL AGENTS ON PROCESSING OF *ARTEMIA URMIANA* GÜNTHER 1899, PRODUCTS FROM URMIA LAKE, IRAN

Y. A. Asadpour¹, A. A. Motallebi²

¹*Iranian Artemia Research Center (IARC), P.O. Box: 57135-368, Urmia, Iran*
email: asadnazlo@yahoo.com

²*Iranian Fisheries Research Organization (IFRO), P.O. Box: 14155-6116 Tehran, Iran*

INTRODUCTION:

Nowadays, aquaculture industry has integral role to provide nutritional requirements for human populations. Therefore, more careful attention should be draw to aquaculture feedings in order to have healthy society. One of the important live food which has many applications in aquaculture is *Artemia* which is living at hypersaline environment. The most abundant distribution of *Artemia* related to Urmia Lake, Northwest of Iran.

The *Artemia* in Urmia Lake was first reported by Günther, 1899. *Artemia urmiana* contains high value of protein level (up to 60 %) and some necessary components in its tissue body. In this research, more attempts have done on processing procedures of two products obtained by *A. urmiana*, namely cyst and biomass.

HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point) is accounted as one of the effective method to control, identification and assessment of critical points of fisheries and marine products (Bryan, 1992). The HACCP principle is one of the most intelligent systems that have substituted with traditional methods in order to increase the quality of water living products at recent years.

HACCP with well-described advantages introduced by WHO activities and developed as powerful tool in controlling marine products by researchers and organizations.

The aim of present study was to identify biologic agents which have considerable effects on cyst and biomass processing of *A. urmiana*. Furthermore, made an applied guideline to increase quality guarantee of mentioned products by using HACCP system.

MATERIALS AND METHOD:

Cysts and biomass samples of *A. urmiana* collected at two sampling sites of Urmia Lake including Golmankhaneh and Shahid-Kalantary causeway. The samples were surveyed with regard to bacteria, fungus, parasite, yeast infections. The samples were classified at two category firstly, processing without using HACCP and secondly with using HACCP principle. Some bacterial tests were done comprising of damp lam (microscopic observation), general culture medium (e.g., Mac Conkey and Blood Agar), and specified culture medium (e.g., Mueller-Hinton Agar plus 3 % salt). All treatments were carried out three or four times, then, transferred to the 37 °C incubator, and remained 24 h for bacterial growth. All bacterial treatments were put at room temperature, dried, and stained with appropriate staining method.

Fungus tests were Lactophenol plus Caten Blue solution, and S.D.A (Sabour Dextrose Agar) medium. The P.D.A (Peptone Dextrose Agar) culture medium was used to assess yeast infections.

RESULTS AND CONCLUSION:

Bacterial infection in processed products of *A. urmiana* without using HACCP procedures were mostly Bacillus and Cocci. It's never seen any infections with *Vibrio* bacteria in both products. Fungus infections in processed samples were mostly *Aspergillus* and *Alternaria* prior to use of HACCP principle. There two types of fungal infections were observed only in cyst samples of *A. urmiana*.

Yeast infection which were observed in samples of *A. urmiana* biomass included general infections like *Candida*. It was not detected in cyst samples.

Parasitic infections were not examined due to unsuitable ecological condition and high level of salinity in Urmia Lake.

On the other hand, we couldn't observe any certain and considerable infections in samples which were processed with HACCP standard system. It can be understood that there is clear differences in processing of *A. urmiana* samples with and without using HACCP. Therefore, it's indicated that most of observed infections were attributed to secondary infections, which transferred at processing stage of products.

As no evidence has been observed in processing of *A. urmiana* samples with HACCP principle in Urmia Lake, then, we can conclude that using HACCP standard system will increase the quality and decrease secondary infections of fisheries products.

It's supposed that the HACCP system is economical in comparison to other used methods, which can result in to get more reliable results, too.

Additionally, using HACCP system will expand countries relationships to import and export fisheries and marine products. Finally, consumers will be able to use the best quality of fisheries products in their feeding regimes and this hygienic works will have direct effects on healthy conditions of people.

KNOWLEDGEMENT:

We would like to express our strong appreciation to **Dr. Amin Eimanifar** due to his effective attempt in preparation of this paper. Especial thanks goes back to Dr. Eimanifar who improved the quality of this paper, too. This research was supported through financial aids from Iranian Fisheries Research Organization (IFRO).

REFERENCES:

Bryan F. L., 1992. HACCP: a guide to identifying hazards and assessing risks associated with food preparation. WHO publication series, Geneva.

Günther, R. T., 1899. Crustacea: contribution to the natural history of Lake Urmia, N. W. Persia and its neighbourhood. Journ. Linnean Society London, (Zoology) 27: 394-398.

THE SURVEY OF STURGEON DISEASES IN COMMERCIAL FARMING IN IRAN

M.Golaghaei¹ and B.Mokhayer²

golaghaei52@yahoo.com

1) Ecological Academy of Caspian Sea, P.O.Box: 961 Sari, Iran

2) Tehran University (Veterinary Faculty)

In this research, the health conditions of sturgeon in commercial farming are studied from various aspects since 2006. This investigation occurred in Mazandaran province. By the way, previous researches done by Iranian scientists have been used in this study. We observed many diseases such as parasitic diseases including Trichonidosis, Diplostomiasis, Argulosis, Ichthyophthiriasis and Bacterial diseases including Columnaris, Vibriosis (Red Pest) and fungal diseases including Saprolegniasis and Non contagious diseases including Nutritional Anemia, Nutritional Toxicities, Aflatoxicosis, Gill Necrosis Disease of uncertain causes Bloating condition, Gas collecting in the gut. So the development of cooperation between scientists and researchers about sturgeon health in commercial farms is effective in protecting wild populations of surgeons.

Key word: Sturgeon, Disease, Health, Commercial farm

INTRODUCTION

One the most effective ways to protect the natural resources of Sturgeon is commercial farming (intensive culture) to achieve caviar and meat from them and eventually producing domestic breeding stock. In order to reach that goal, knowing the obstacles and especially relates diseases are very important. The knowledge on disease of sturgeon is considerable less than that four more broadly commercialized fish species such as rainbow trout, salmon and channel catfish. Most of the current understandings of the diseases of sturgeon in North America are from captive population of commercial fish farms Iran so far. In this research, the health conditions of sturgeon in commercial farming is studied from various aspects such as parasitic, bacterial and fungal creatures, contiguous elements including food and environmental conditions and some other unknown factors. By the way, previous researches don by Iranian scientists have been used in this study. Sampling of sturgeons in wet mount examination method and the microbial culture and studying the tissues is performed in Ecological Academy of Caspian Sea.

About 60 species of parasites have been detected in Sea of Azov, Black Sea and Caspian Sea, of which 27 are in natural and cultured sturgeons in Iran (Mokhayer, 2001). Trichodina infection is reported Iranian sturgeons (Niak et al., 1970). Three species of Acantocephala are reported as well (Mokhayer and Golvan, 1973). Fungal flora is reported in two species of sturgeons (Ebrahizmzade et al., 2001). *Aeromonas hydrophila* is mentioned as an important potential pathogen for fingerling of *Acipenser Persicus* (Soltani and Kalbasi, 2001). The epizootic situation at sturgeon fish plants and commercial fish farm of the Sea of Azov basin has been studied by Shestakovskaya et al., 2001). So the development of cooperation between scientists and researchers about sturgeon health in commercial farms is effective in protecting wild populations of surgeons.

MATERIALS AND METHODS

This study was led in 2005 in a commercial sturgeon farm in Mazandaran Province, Southern Caspian Sea. The genus of sturgeon was called *Huso huso* that weighted 1-18 Kg. Water source supply from well (10 meter depth). The sturgeon's consume wet (hand made) food. Sampling of different parts of the body was conducted in sterilized environment. In some cases, fish with suspicion to illness or with specific symptoms were moved to the laboratory of Ecological Academy of Caspian Sea in order to do bacteriological and parasitological examinations. Bacterial study on liver and kidney were done in Medium such as BH, Blood Agar, and TSA (Austin 1993). And wet mount examination was also provided from eyes, gill, skin and digestive system (Mokhayer, B.; Shenavar masuleh, A. 2005)

RESULTS

We have found in this study that various elements such as parasitic, bacterial and fungal creatures, contiguous elements including food and environmental conditions and some other unknown factors cause important illnesses in sturgeons which are as following:

Bacterial diseases

1- Columnaris

Flavobacterium columnare is the agent. According to this study symptoms of columnaris became evident by sampling *Huso huso* when they were 5-6 kilograms. The improvement of environmental conditions, water quality and usage of antibiotics impeded its development. Perhaps this disease covers most commonly observed bacterial infections in sturgeon. (Hedrick et al. 2001)

2. Vibriosis (Red Pest)

The agent was strongly recognized as being vibrio in regard to studying 5-6 kilogram weighed *Huso huso* by bacterial planting and histology examinations. This bacterium creates red spots on mouth, opercula, and small blooded swellings on skin and flesh. (Bullock et al., 1971) Recent researches show that this bacterium is a member of digestive system microflora of healthy wild and breeding fish.

Fungal

- Saprolegniasis

In this research, the fingerling which weighed 25 grams suffered from saprogenic in 18 C°. There are two or three kinds of fungal diseases of which the most common are *S.parasitica*, *S.ferax*, and *Dactyulus monosporus*. (In bauer, 2002)

Parasitic diseases

1. Trichonidosis:

In This research, *Huso huso* which weighed 6-7 kilograms suffered from Trichodina in 18 C°. Ecotoparasitic infusoria of genus *T.Nigra*, *T.acuta*. The optimal water temperature at disease outbreak is 20-24 C°. this infection is transmitted through the water from a spring with infected fish, farm equipped fish, farm equipment (Golvin et al.), 1993

Picture3. Trichodina as it would appear on a wet mount made from the skin or gills of an infected sturgeon.

2. Diplostomiasis:

This parasite was detected in fish in Shahid Beheshti farm located in Gilan Province in. (Mokhayer, 1989; Ghoroghi, 1996). This parasite was also detected in the eyes of Russian sturgeon and both eyes of stellate sturgeon, (Mokhayer, 1989). The presence of this parasite cause losing weight and an increase in death ration mentioned farm. The rate of losing weight in then depends directly to the number of the present parasites, (Ghoroghi, 1996). The metacercariae of *Diplostomum sparthaceum*, which enters body through digestive system and blood circulation system, localize in eye tissue of many species of fish including sturgeons as a second intermediate host.

3. Argulosis:

This parasite was detected in 19 C° water. These disease outbreaks at the wide temperature range from 10 up to 28 C°, the optimal temperatures are 25-28. *Argulus foliaceus* is a small ectoparasitic crustacean of broad specify the parasite is not obligate and can live some time in water without any host which is bloodsucking one and can actively transmit the pathogens of inflectional diseases, therefore argulosis control is especially important.

4. Ichthyophthiriasis:

Its agent is *Ichthyophthirus multifilis*. In this research, *Huso huso* which weighed 1200 grams suffered from it in 18-22 C° water. Its agent was a kind of protozoan with a circular or oval shape containing a horseshoe core. Fish approaches the inlet due to an increase of the parasites. The fish doesn't consume the food and rub itself to the pool floor or walls. Other symptoms are group swimming in various circles, swallowing air and clear white skins on the skin and even suffering from blindness which may eventually lead to death (Kakoza, 2002).

Non contagious diseases:

These disease or disorders were recognized in sturgeon growing farms which were included in our research.

1. Nutritional Anemia:

This disorder or diseases is similar to the nutritional toxics. Using unbalanced nutrition, vitamins and some microelements in basic diet cause this. The gills are pale pink; the liver and the kidney get light. Reduction of blood hemoglobin's in less, erythrocytes' concentration is also less. Alimentary anemia weakens a fish organism, promotes the penetration of opportunistic pathogenic micro flora and nonspecific bacteriosis occurrence.

2. Nutritional Toxicosis:

In this research, *Huso huso* which weighed 9-10 kilograms suffered from it in 18 °C water because of using wet (hand made) food. This problem was removed by using antibiotics and adjusting the diet. Some toxins (products of the lipids per oxidation, mycotoxin and bacteria endotoxin) in foods of poor quality were the diagnosed agents. All species and age groups sturgeons' fish are susceptible to these diseases. Anorexia, low growth rate, body color fading and pale pink gill and blood-forming organs are the symptoms of this disease.

3. Aflatoxicosis:

Aflatoxin B₁ and Mycotoxin are its agent in artificial feeds. This disease was reported in 960 gram weighed and 57 centimeter length *Huso huso* in Shahid Marjani Sturgeon Propagation in Golestan Province.

4. Gill Necrosis:

In this research, *Huso huso* which weighed 9-10 kilograms suffered from it in 19-21 °C water. Biogenic Ammonia of exogenous and endogenous origin, high densities of density and the use of artificial feeds represent one of the causes of increased quantity of ammonium and ammonia ions it doesn't cause the death in the chronic form but slows down its growth.

Disease of uncertain causes

The numbers of unknown causes make some problems for sturgeon. These include: Bloating condition, Gas collecting in the gut.

DISCUSSION

We have experienced great worldwide decrease of sturgeons' supplies due to human's interference in their natural residences and uncontrolled fishery. Despite the long history of artificial propagation of sturgeon in Iran, it seems that essential bases for commercial growing of sturgeon have not been prepared yet. One of the most effective ways to protect the natural resources of Sturgeon is commercial farming (intensive culture) to achieve caviar and meat from them and eventually producing domestic breeding stock. Currently, conditions related to the qualitative aspects of water environment and problems related to health conditions are the restrictive elements for developing commercial growing. We can avoid mortality and save capital and time by knowing health principles and diagnosing and treatment of viral, bacterial, fungal, parasitic, environmental and nutritional diseases. Therefore, understanding aspects of commercial breeding such as providing suitable fingerling, food and detecting the causes of illnesses which may appear in growing process are of great importance in prevention and diagnosing the illnesses. The occurrence of infectious illnesses is depended to various biological and ecological factors. It means the diseases are depended to several factors, and environmental effects and the situations of the host are necessary potentials for appearance of the disease in with or without the attendance of the pathogen. Diagnosing a disease means the perception of unnatural phenomena in physiologic activities of the fish and defining the nature of its roots which needs deep understanding of the biology and ecology of the fish.

Commercial sturgeon growing is concentrated on *Huso huso* and is directed in small experimental projects. Since there are limitations in reproducing *Huso huso* in spite of the great need to them, we should focus on some other native available species like *Acipenser persicus* in southern Caspian Sea. Considering the variety of climate in Iran, performing

specialized and local methods of treatments is essential in curing diseases and infection. Through this research, we found that poor nutrition (wet or hand-made foods) which lead to unsuitable physical and chemical conditions, cause most of the current problems in commercial sturgeon growing. So it is necessary to provide standard foods for this purpose. One of the most important problems in commercial sturgeon growing in Iran is lack of native normative such as equipments, standard foods and information about density culture. The detected diseases in these researches were mostly related to mentioned factors. The appearance of diseases such as Saprolegniasis, Trichodinosis, Ichthyophthiriasis, Vibriosis, Flavobacteriosis and Nutritional Toxicosis in this study proves our argument. Moreover, we suggest to establish specialized health and nutrition clinics and a website to support the impeding and preventing the spreading of these diseases (especially viral infectious ones) and their treatment. We also suggest that the countries of the Caspian Sea border issue their knowledge openly in order to increase the commercial sturgeon producing potential which causes the reduction of need to their natural resources.

REFERENCE:

1. Austin, B. and Austin, D.1993, Bacterial fish pathogens disease in farmed and wild fish, UK.
2. Ebrahimzadeh Mousavi, H.A. Khosravi, A.R.; Mokhayer, B.; Khalkhal, R. 2001, Fungal flora of two species of Acipenseridae (*Acipenser persicus* & *Acipenser stellatus*)In Acipenserid propagation Center in Northern Iran, 4th Int. Sym, On Sturgeon, Oshkosh, 8-13
3. Golvan, Yves J. & Mokhayer, B. (1973): Acanthocephales des sturgeons Dela mer Caspienne. Annales de parasitologie (Paris), 48 (4): 597 – 602.
4. Kalbassi, M.R. & Soltani, M. (2001) Determination of LC 50 and LD 50 due to *Aeromonas hydrophila* in fingerlings Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) 4th Int. Sym, on sturgeon, Oshkosh, 8-13 July 2001.
5. Mokhayer, B Farming fish diseases, Tehran University Publication, 369 p. Ghoroghi, A.1992, The survey of Diplostomatosis Diseases in sturgeon fry, Iranian Fisheries Organization Publication, pp 19-25.
6. Mokhayer, B.; Shenavar masuleh, A. (2005): Workshop on Diseases and Parasites in Sturgeon Species.5th International Symposium on sturgeon, Iran 9-13 May 2005.
7. Niak, A., Kohnechahri, M., Azari, G. (1970) in festation de Trichodina chez les Esturgeons Caspian's, Rev. Fac. Vet.Univ. Tehran, 26 (4): 51 – 54.
8. Ron Hedrick, S. Lapatra, T. McDowell, B. MacConnell (2001): A Workshop On Sturgeon Diseases, 4th Int. Sym. On Sturgeon, Oshkosh,8-13 July 2001.

ПРОБЛЕМЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ АКВАКУЛЬТУРЫ В УСЛОВИЯХ ИНТЕГРАЦИИ С СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫМИ ОБЪЕКТАМИ

Наумова А.М., Серветник Г.Е., Наумова А.Ю.

*ГНУ "ВНИИ ирригационного рыбоводства"
Россия, 142460, Московская обл., Ногинский район, п. Воровского
mik-com@yandex.ru*

Комплексное рыбохозяйственное и сельскохозяйственное использование водно-прибрежных угодий водоемов, расположенных в зоне сельскохозяйственного производства, является существенным дополнением к основному сельскохозяйственному производству и участвует в решении продовольственной программы на местах. Выращивание рыбы в интеграции с другими объектами сельского хозяйства на водно-прибрежных угодьях повышает экономическую эффективность хозяйственной деятельности сельскохозяйственных предприятий.

Малые водоемы, расположенные в зоне сельскохозяйственного производства, являются значительным резервом в увеличении объемов производства рыбы. Для рационального использования таких водоемов необходимо проведение кадастровых и бонитировочных исследований с целью уточнения их технического состояния, биопродукционного потенциала и определения экономических перспектив интеграции (рыбохозяйственной и сельскохозяйственной) при освоении водно-прибрежных угодий, которое проводится с учетом адаптивных зональных систем земледелия, применяемых на площади водосбора.

Управление естественным биопродукционным потенциалом, ихтиофауной, составом поликультуры, обеспечение экологической и биологической безопасности таких водоемов и охрана здоровья рыб, позволяют получать в разнотипных ВКН 3-4 ц/га товарной рыбы в 1-2 зонах рыбоводства и до 10-12 ц/га и более - в южных регионах страны, что в 10 раз больше в сравнении с рыбопродуктивностью неосвоенных водоемов.

Технологии выращивания рыбы в интеграции с объектами сельскохозяйственного производства выгодно дополняют традиционное рыбоводство. Использование интегрированных технологий, имеющих теоретическую, методологическую и правовую основу, вовлечение их в хозяйственный оборот оправдано экономически и позволяет снизить затраты на выращивание рыбы, получить добавочную продукцию сельского хозяйства (объектов животноводства, звероводства, птицеводства, растениеводства), а также прибыль от услуг рекреации и любительского рыболовства.

Анализ проведенных исследований на ВКН показал, что водоемы, расположенные в зоне сельскохозяйственного производства и привязанные к различным отраслям сельского хозяйства, оказались разнотипными и значительно отличаются, благодаря комплексности использования по своим экологическим особенностям (абиотическим и биотическим факторам), что, несомненно, по-разному влияет на здоровье рыб, результаты их выращивания и биологическую безопасность выращенной продукции. Биологически загрязнителями водоемов и объектов аквакультуры являются возбудители инфекций и инвазий. Источниками их является завозимый без ветеринарного контроля рыбопосадочный материал, местная ихтиофауна наличие природных очагов в источниках водоснабжения. Закономерное сочетание возбудителей паразитозов рыб с инфекционными и незаразными болезнями (дактилигриоза, кариофиллеза, ботрицефалеза, миксоспоридиозов и многовидовых паразитарных комплексов с аэромонадом, воспалением плавательного пузыря,

бранхионекрозом и др.) свидетельствуют о реальной опасности смешанных заболеваний в таких водоемах. Не менее опасным является попадание патогенов с навозными стоками и поместом околородных животных и других сельскохозяйственных объектов.

В этой связи особую актуальность приобретают ихтиопатологические ветеринарно-санитарные и экологические мониторинговые исследования на ВКН, которые позволяют определить их эколого-эпизоотическое состояние и выявить степень отрицательного воздействия на рыб абиотических и биотических факторов, а также прогнозировать их влияние на возникновение заболеваний рыб для своевременного внедрения системы комплексной профилактики в условиях конкретных ВКН и интегрированных технологий.

Проведенный анализ экологических факторов в ВКН, характера антропогенного воздействия на рыб и возбудителей болезней в условиях интегрированных технологий позволил определить наиболее эффективные способы борьбы с болезнями рыб. Среди них первое место отводится биологическим методам, технологическим приемам и санитарно-гигиеническим мероприятиям.

Контролю и управлению факторами биологического загрязнения водоемов комплексного использования придется особое значение, так как оно позволяет в одних случаях целенаправленно увеличивать количество естественного корма для рыб (при регулируемом использовании навозных стоков, смывов удобрений), а также выращивать полезные человеку макрофиты; в других – применять в растениеводстве накапливающееся в водоемах высококачественное удобрение – ил, а также своевременно предупреждать появление возбудителей зоонозов. При этом обеспечивать оптимальные зоогигиенические условия для рыб, предотвращать болезни, выгодно получать на местах достаточное количество деликатесного пищевого продукта – свежей рыбы.

Перспективным, экологически безопасным и экономически эффективным способом борьбы с инфекционными и инвазионными болезнями рыб является использование усовершенствованного метода осушения водоемов с применением растениеводческих приемов на ложе осушенного пруда (рыбосевооборота). Впервые проведено комплексное изучение эколого-эпизоотических особенностей нагульных прудов в условиях разной периодичности их летования в рыбоводном хозяйстве, длительно неблагоприятном по болезням рыб. Показано, что применение летования прудов с годичной периодичностью и использованием рыбосевооборота в течение 5 лет позволяет обеспечить санитарное благополучие прудов (по гидрохимическим и санитарно-бактериологическим показателям воды, микробиоценозу и химическим показателям донных отложений), увеличить кормовую базу рыб за счет естественных гидробиотнов и зерновых культур, выращенных на осушенных прудах и оздоровить рыбоводное хозяйство от инфекционных (аэромоноз) и инвазионных (эктопаразитозы, миксоблез, ботрицефалез) заболеваний, существенно снизить эпизоотическую значимость возбудителей гельминтозов с природной очаговостью (диплостомозов и постодиплостомоза), увеличить в 2 раза рыбопродуктивность.

Для обеспечения принципа экологической и биологической безопасности интегрированной технологии необходим учет всех составляющих: экологического состояния водного, а также сельского и лесного хозяйства региона и иных элементов структур землепользования, отражаемых среди других показателей в экологическом и ветеринарно-санитарном паспорте водоема (хозяйства). Должный ветеринарно-санитарный и экологический контроль выращивания объектов интегрированных технологий на водно-прибрежных угодьях в зоне сельскохозяйственного производства и соблюдение требований Санитарных Кодексов здоровья водных (и наземных) животных является гарантом биологической безопасности и качества получаемой продукции.

Таким образом, технология выращивания рыбы в интеграции с сельскохозяйственными объектами на водно-прибрежных угодьях экономически выгодно и дополняют основное сельскохозяйственное производство. При этом необходимо предупреждать попадание в водоем патогенов, опасных для рыб, сельскохозяйственных животных и человека. Решением проблемы экологической безопасности на ВКН является разработка системы мер предупреждения (профилактики) заноса и распространения патогенов опасных для объектов аквакультуры в целях обеспечения производства экологически чистой продукции рыбоводства.

PROBLEMS OF BIOLOGICAL SECURITY AQUACULTURE IN CONDITIONS OF INTEGRATION WITH AGRICULTURAL OBJECTS

Naumova A.M., Servetnik G.E., Naumova A.Y.

Allrashen Institute for Irrigation fish culture (VNIIR)

In article present significance factors of biological soiling pools of zone agricultural production (VKН) and its influence for efficiency of pointed out common methods for ensuring biological security of objects aquaculture for integration with agricultural animals.

Предисловие.....	3
Секция 1. Актуальные проблемы общей и частной иммунологии и патологии.....	5
<i>Балабанова Л.В., Микряков Д.В., Микряков В.Р.</i> Характер изменения состава лейкоцитов при язвенной патологии кожи карпа <i>Cyprinus carpio</i> L.....	5
<i>Бедулина Д.С., Протопопова М.В., Павличенко В.В., Шатилина Ж.М., Тимофеев М.А.</i> Низкомолекулярные БТШ в механизмах адаптации к гипертермии у пресноводных амфилод <i>Gmelinoides fasciatus</i> и <i>Eulimnogammarus cyaneus</i>	9
<i>Вовк Н.И.</i> Адгезия бактерий к эритроцитам рыб.....	12
<i>Долматова Л.С., Добряков Ю. И., Заика О.А.</i> Гуморальная регуляция функциональной активности морулоподобных клеток голотурии <i>Eupentacta fraudatrix</i> Дудин А.С. Первое сообщение о находках актиноспоридий в олигохетах их водоемов Санкт Петербурга и Ленинградской области.....	14
<i>Заботкина Е.А.</i> Особенности функциональной активности лейкоцитов периферической крови костистых рыб.....	19
<i>Запруднова Р.А., Камшилов И.М.</i> Изменение дыхательных функций эритроцитов пресноводных рыб при стрессе.....	23
<i>Зверева Л.В.</i> Условно-патогенные и токсикогенные мицелиальные грибы - ассоцианты двусторчатых моллюсков.....	28
<i>Касаева С.Ю., Судакова Н.В., Савенкова Е.Н.</i> влияние рекомбинантного интерлейкина -2 (rIL-2) на показатели белой крови производителей стерляди (<i>Acipenser ruthenus</i>) после хирургического вмешательства.....	34
<i>Кондратьева И.А., Рябов В.Б., Гуй Ляньсин</i> Современное состояние проблем ихтиопатологии аквакультуры КНР (обзор китайской научной периодики).....	37
<i>Кузьмина В.В., Ушакова Н.В.</i> Роль пищеварительной системы в неспецифической защите рыб. Влияние температуры и тяжелых металлов на активность протеиназ пищеварительного тракта.....	41
<i>Кутырев И.А., Пронина С.В.</i> Состояние изученности органов иммунной системы байкальской нерпы <i>Pusa sibirica</i>	45
<i>Лапирова Т.Б., Микряков В.Р.</i> Сравнительный анализ некоторых иммунофизиологических параметров реципрокных гибридов (F ₁) плотвы и синца.....	51
<i>Лебедев К.А., Понякина И.Д.</i> Эволюционный анализ роли Толл-подобных и других образраспознающих рецепторов в иммунных реакциях организма.....	56
<i>Мартельянов В.И.</i> Закономерности изменений уровня ионов кальция в жидкостях организма рыб в процессе обеспечения устойчивости и метаболизма при адаптации животных к неблагоприятным факторам.....	62
<i>Назарова Е.А., Заботкина Е.А.</i> Влияние сублетальной концентрации кадмия на соотношение и структуру лейкоцитов головной и туловищной почек речного окуня (<i>Perca fluviatilis</i> L.).....	63
<i>Пронина Г.И.</i> Некоторые генетические и эволюционные аспекты иммунологии.....	68
<i>Пуццина Е.В., Флейшман М. Ю., Тимошин С.С.</i> Влияние морфиноподобных пептидов на нитроксидазную и катехоламинергическую активность нейронов головного мозга молодежи сима <i>Onchogunshus masou</i>	73
<i>Шарова Ю.Н., Лукин А.А.</i> Патологии рыб при афлатоксикозе.....	76
<i>Щербина М.А., Салькова И.А., Бондаренко О.А.</i> Патологические изменения алиментарной природы в обмене веществ у рыб.....	82
<i>Юрченко О.В., Радашевский В.И., Че В.Л., Реунов А.А.</i> Ультраструктурная организация сперматогенных и соматических клеток гонад тихоокеанской устрицы, обитающей в загрязненной и рекреационной зонах побережья Тайваня.....	86
<i>Юхменко Л.Н., Бычкова Л.И.</i> Этиологическая структура возбудителей бактериальной геморрагической септицемии рыб.....	92
<i>Saeedi A., Ghiyasi M., Binaei F., Kamgar M.</i> Natural illustration of sturgeon fish blood (Acipenser gualdenstaedti persicus) in comparison to some other bony fishes species blood of southern basin of Caspian sea (Salmo trutta caspius, Liza auratus, Rutilus frisii kutum).....	95
	99

<i>Saeedi A., Habebi F., Zahedi A., Safari R., Kamgar M.</i> Sanitary microbiological and parasitological of <i>M. leidyii</i> and <i>Beroe ovata</i>	104
Секция 2. Оценка состояния особи, популяций, сообществ и экосистем	110
<i>Андреанова А.В.</i> Характеристика донной фауны и оценка состояния экосистемы водоема – охладителя Березовской ГРЭС (Красноярский край) по организмам зообентоса	110
<i>Ануфриева Т.Н.</i> Первые сведения об эпибионтных организмах, найденных на каляндинах <i>Actodiaptomus salinus</i> (Daday) в минерализованных озерах Хакасии	114
<i>Бозняк Э.И., Голикова Е.А., Макарова Л.Р.</i> Использование структуры паразитарных сообществ и показателей стабильности развития золотого караса для оценки состояния малых водоемов бассейна р. Вычегды	118
<i>Вахтина Т.Б., Руднева И.И.</i> Влияние долговременного антропогенного загрязнения на белковый состав сыворотки крови бычка-кругляка (<i>Neogobius melanostomus</i>), обитающего в прибрежной части Черного моря	123
<i>Власов В.А., Дернаков В.В.</i> Влияние разноразмерных особей в популяции <i>Clarias gariepinus</i> на результаты их выращивания	127
<i>Вялова Г.П., Сергеевко Т. М.</i> Патология и оценка состояния кеты, зараженной микроспоридиями <i>Mucosoma dermatobia</i>	131
<i>Гирагосов В.Е., Ханайченко А.Н., Ельников Д.В., Шишкина Т.В.</i> Структура и фенотипические характеристики нерестовой популяции камбалы калкан как показатели интенсивности промысла и состояния экосистемы Черного моря	136
<i>Головин П.П., Головина Н.А., Романова Н.Н., Изергина Е.Е.</i> Сравнительная характеристика гематологических показателей молоди кеты от естественного нереста и при ее получении и подращивании на лососевых рыбоводных заводах Магаданской области	140
<i>Головин П.П., Головина Н.А., Романова Н.Н., Юдина Н.А.</i> Морфофизиологическая характеристика производителей сига-пыжьяна в преднерестовый период в реке Кета-Ирбэ (Норило-Пясинская система озер)	144
<i>Денисов Д.Б., Терентьев П.М., Кацулин Н.А.</i> Оценка условий обитания арктического гольца под воздействием сточков апатитовых рудников	148
<i>Екимова Е.Г., Базов А.В., Базова Н.В.</i> Морфометрические характеристики покатных личинок байкальского омуля (рр. Селенга, Большая речка)	153
<i>Жигилева О.Н., Безух Н.И.</i> Оценка состояния популяции язя (<i>Leuciscus idus</i>) из р. Обь в районе нефтедобычи	157
<i>Заботкина Е.А., Чуйко Г.М., Низарова Е.А., Сазонова С.В.</i> Влияние различных концентраций ДДВФ на соотношение лейкоцитов в периферической крови и иммунокомпетентных органах сеголеток речного окуня <i>Perca fluviatilis</i> Лю.....	162
<i>Запруднова Р.А.</i> Контроль состояния пресноводных рыб по ионому составу воды	168
<i>Золотова А.В., Панов В.П., Есавкин Ю.И.</i> Сравнительная физиолого-биохимическая характеристика двух форм форели	173
<i>Калайда М.Л., Синютина Т.П., Хамитова М.</i> Оценка состояния зооперифитона в условиях водоема-охладителя ТЭЦ	177
<i>Киреева И. Ю.</i> Оценка состояния экологического состояния водных экосистем по бактериальным показателям	183
<i>Королева И.М., Терентьев П.М., Кацулин Н.А.</i> Характеристика патологических измененных рыб озер Северной Фенноскандии	186
<i>Кузьминова Н.С., Омельченко С.О.</i> Влияние микробиологического загрязнения на активность лизоцима сыворотки крови черноморских рыб	190
<i>Курбатова С.А.</i> Оценка состояния зоопланктонного сообщества с использованием показателя стабильности	194
<i>Макирская Г.В., Тарских С.В.</i> Мониторинговые исследования неспецифической резистентности рыб Красноярского водохранилища	198
<i>Медведев И. В.</i> Влияние грунтоорганических соединений природного происхождения на планарий и олигохет	202

<i>Надеева О.А., Сергеев Н.В.</i> Паразиты тихоокеанских лососей, приводящие к ухудшению товарного качества рыбной продукции	207
<i>Наумова А.М., Домбровская Л.В., Наумова А.Ю., Таранова Л.А., Матвеева Е.И., Белякова В.И., Шахпендерян Е.Н.</i> Эколого-эпизоотологический мониторинг рыбохозяйственных водоемов в условиях интегрированных сельскохозяйственных технологий	212
<i>Решетников Ю.С., Попова О.А.</i> Метод экспертной оценки состояния рыб	217
<i>Рощина О.В.</i> Активность сывороточных АлАТ и АсАТ как показатель здоровья рыб в условиях антропогенного загрязнения	222
<i>Рудикова С.Л.</i> Биологическая модель распространения вируса инфекционного некроза гемопозитической ткани в популяции нерки	225
<i>Руднева И.И., Вихтина Т.Б., Зилевская И.Н.</i> Изменение состава сывороточных преальбуминов рыб как ответная реакция на хроническое загрязнение морской среды	230
<i>Руднева И.И.</i> Применение биохимических маркеров для оценки здоровья рыб	234
<i>Рябов В.Б., Кондратьева И.А.</i> Физиологический и иммунный статус гидробионтов залива Нячанг (Вьетнам)	239
<i>Сербина Е.А.</i> Влияние парентит трематод на морфометрические характеристики первых промежуточных хозяев моллюсков семейства <i>Bithyniidae</i>	244
<i>Сергеев Т.М., Принцевская В. А.</i> Характеристика физиологического состояния молоди кеты, зараженной бактериями <i>Pseudomonas fluorescens</i>	249
<i>Серпухин Г.Г., Аль-Дарвиш С.Н.</i> Оценка состояния сеголетков карпа, выращенных при разном формировании кормовой базы взрослых прудов	254
<i>Н.И. Силкина, А.Н. Жарикова</i> Оценка влияния фенола и карбофоса на показатели роста и физиолого-биохимическое состояние молоди карпа <i>Cyprinus carpio</i> L.	258
<i>Скуратовская Е.Н.</i> Влияние антропогенного загрязнения на активность антиоксидантных ферментов крови некоторых черноморских видов рыб	264
<i>Соусь С.М., Ростовцев А.А.</i> Фауна паразитов сазана <i>Cyprinus carpio</i> L. водоемов Новосибирской области	268
<i>Степанова О.А.</i> Сезонность контаминации рыб альгавирусами (Черное море)	273
<i>Тереженко В.Г., Балабанова Л.В., Микряков В.Р.</i> Сравнительный анализ влияния гормона стресса и транспортивки на структурную организацию лейкоцитов различных видов рыб	278
<i>Трощин Н.Ю.</i> Особенности фенотипической окраски окуня (<i>Perca fluviatilis</i> L.) в водоемах Вологодской области	284
<i>Хотева Г.М., Моисеева Е.В.</i> Эпизоотический мониторинг форелеводческих хозяйств Южного региона России	288
<i>Чукалова Н.Н.</i> Основные результаты ихтиопатологических исследований леща (<i>Abraamis brama</i> L.) в Российской акватории Куршского залива Балтийского моря в 2004- 2006 гг	291
<i>Шайда В.Г., Руднева И.И.</i> Интегральная оценка состояния гидробионтов методом микрокалориметрии	296
<i>Eitanifjar A., Rezvani S., Yahyazadeh M. Y.</i> Using <i>Artemia</i> as biological capsule for aquaculture purpose	300

Секция 3. Морфологические, экологические, генетические и биохимические аспекты патологии в естественных и управляемых экосистемах 301

<i>Аксенова И.А.</i> Изучение регенерационных процессов и некоторых биохимических показателей у олигохет <i>Enchytraeus albidus</i> под влиянием ртутьорганических соединений природного происхождения, поступающих с кормом	301
<i>Бисерова Л.И.</i> Оценка смертности рыб от паразитов по натурным наблюдениям	305
<i>Богдан В.В., Смирнов Л.П.</i> Липиды рыб при смешанных протозойных инвазиях	310
<i>Бурдуковская Т.Г., Прошин Н.М., Сондуева Л.Д.</i> Эргазилезы рыб озера Байкал и реки Селенги: эпизоотическая ситуация и патоморфология	314
<i>Васильев А.С.</i> Морфопатологии и фенодиваиты сеголетков массовых видов рыб Волжского плеса Рыбинского водохранилища	319
<i>Высоцкая Р.У., Такишев С.А., Амелина В.С.</i> Оценка состояния рыб по активности ферментов в водохранилищах с разным типом минерального загрязнения	322

<i>Гаврюсева Т.В.</i> Патоморфологический анализ заводской молодежи тихоокеанских лососей Камчатки	327
<i>Голованова И.Л., Таликина М.Г., Филиппов А.А.</i> Влияние сверхнизких концентраций нитрозогуанидина в период эмбриогенеза на чувствительность пищеварительных карбогидраз сегментов плотвы к действию биогенных металлов (Cu и Zn)	332
<i>Головина Н.А., Комаров Н. К., Беломестных И.М.</i> Распределение промежуточных стадий развития трематод в гидробиоценозе Яхромского водохранилища канала им. Москвы и их влияние на ихтиофауну	338
<i>Казимирченко О.В.</i> Изучение возбудителей инфекционной патологии европейского угря (<i>Anguilla anguilla</i> L.) Калининградского залива	343
<i>Калайда М.Л., Загустина С.Д.</i> Некоторые экологические и биохимические аспекты патологии у <i>Elodea canadensis</i> L. в условиях управляемых экосистем	346
<i>Касаева С.Ю., Саенкова Е.Н.</i> Влияние систематического «хендлинга» на некоторые физиолого-иммунологические показатели молодежи белуги (<i>Huso huso</i>)	351
<i>Кейстер И.А.</i> Морфологические патологии форменных элементов крови массовых видов рыб Кубенского озера (Вологодская область)	355
<i>Кобяшвили Г.А., Никифоров-Никишин Д.Л., Никифоров-Никишин А.Л., Бородин А.Л.</i> Возможность применения водного экстракта чаги (<i>Inonotus obliquus</i>) для снятия стрессового фактора у молодежи золотой рыбки (<i>Carassius auratus</i>) при транспортировке и последующей акклиматизации	358
<i>Коновалов А.Ф.</i> Морфо-патологические отклонения судака в условиях загрязнения Белого озера	360
<i>Котлярчук М.Ю., Чернова Е.С.</i> Некоторые результаты изучения микробного пейзажа широкопалого рака (<i>Astacus astacus</i> L.) в водоемах Калининградской области	366
<i>Кошелев А.В.</i> Патоморфологические изменения морских кишечнорастных в условиях интоксикации солями тяжелых металлов	369
<i>Микряков В.Р., Силкина Н.И., Микряков Д.В.</i> Влияние гормона стресса кортизона на показатели липидного обмена иммунокомпетентных органов карпа <i>Cyprinus carpio</i> L. .	372
<i>Микряков Д.В., Силкина Н.И., Микряков В.Р.</i> Изменение морфофункциональных показателей иммунокомпетентных органов стерляди <i>Acipenser ruthenus</i> L. под влиянием гормона стресса кортизона	378
<i>Никифоров-Никишин Д.Л., Бородин А.Л., Никифоров-Никишин А.Л.</i> Нарушения прозрачности хрусталика гиборибионтов	385
<i>Павлова Л.Н., Горбунов А.В.</i> Экспресс методы оценки токсичности сточных вод попадающих в рыбохозяйственные водоемы по скорости регенерации вакуолярного аппарата инфузорий <i>Spirostomum ambiguum</i> и <i>Stylonychia mytilus</i>	388
<i>Пенкин М.А., Фельдман М.Г., Горбунов А.В.</i> Действие генотоксичных загрязнителей на политемные хромосомы хирономида	393
<i>Пенкин М.А., Симаков Ю.Г., Никифоров-Никишин А.Л., Бородин А.Л.</i> Фазность митотической активности и возникновения хромосомных aberrаций в эпителии хрусталика радужной форели при действии эпихлоргидрина	397
<i>Пенкин М.А., Симаков Ю.Г.</i> Регенерация эпителия хрусталика рыб и амфибий при радиационном и естественном блокировании митозов	402
<i>Рязанова Т.В.</i> Патология гепатопанкреаса у крабов-стригунов в шельфовой зоне восточной части Охотского моря	405
<i>Семенов Д.Ю.</i> Морфологические отклонения рыб центральной части Куйбышевского водохранилища	409
<i>Сторожева Е.В.</i> Морфологическая организация катехоламинергических ядер гипоталамуса горчака <i>Rhodeus sericeus</i>	414
<i>Сясина И.Г., Чернова Е.Н., Кумейко В.В., Тибакова Е.В., Зюмченко Н.Е., Швед Н.А., Шеблякина А.В., Высоцкая В.Г.</i> Комплексный биомониторинг состояния камбал и моллюсков из охраняемых и загрязненных районов залива Петра Великого и бухты Клевка (Японское море)	419
<i>Тимофеев М.А., Кириченко К.А., Павличенко В.В., Бедулина Д.С., Протопопова М.В., Шатилина Ж.М.</i> Использование альтернативных путей образования энергии в условиях пониженного содержания кислорода у байкальских эндемичных и палеарктических амфибид	424

<i>Федосеева Е.А., Касеева С.Ю., Астафьева С.С.</i> Оценка физиологического состояния молоди осетровых при интенсивном выращивании	427
<i>Фельдман М.Г., Бородин А.Л., Никифоров-Никишин А.Л., Пономарев А.К.</i> Выживаемость эмбрионов дашно-ребрио <i>Vrachiordanio reio</i> после облучения НИЛИ в различных режимах. Резонансная модель	431
<i>Чуйко Г.М., Подгорная В.А., Микряков Д.В., Микряков В.Р.</i> Влияние кортикостероида дексаметазона на активность ацетилхолинэстеразы и содержание водорастворимых белков в мозге стерляди <i>Acipenser ruthenus</i> L.	436
<i>Шатилина Ж.М., Бедулина Д.С., Павличенко В.В., Протопопова М.В., Тимофеев М.А.</i> Ингибирующее влияние хлорида кадмия на активность механизма множественной резистентности к ксенобиотикам у пресноводных амфипод	441
Секция 4. Иммуитет рыб и других гидробионтов к паразитам	444
<i>Колбасова Ю.П., Щелкунова Т.И.</i> Чувствительность к вирусам рыб постоянной клеточной линии SSO-3, полученной из органов сибирского осетра <i>Acipenser baeri</i>	444
<i>Микряков В.Р., Микряков Д.В.</i> О механизме влияния глюкокортикоидов на формирование адаптивного иммунитета рыб к бактериям	449
<i>Низмануллин Ч.М., Шухгалтер О.А.</i> Личинки нематод рода <i>Roggoesicum</i> (сем. <i>Alisakidae</i>) в некоторых кальмарах: систематика, морфология, гостальное распределение, экология и патологические изменения в тканях хозяев	453
<i>Степанова М.А., Микряков Д.В., Микряков В.Р.</i> Изменение показателей зараженности карпа <i>Cyprinus carpio</i> L. дактилогирозами <i>Dactylogyrus</i> sp. Под влиянием инсулина, адреналина и гидрокортизона	458
<i>Ткач Н.П., Морозов Д.Н., Высоцкая Р.У.</i> Влияние интенсивности заражения гельминтами на показатели липидного обмена литоральных гаммарид Белого моря ...	463
<i>Щелкунов И.С., Арзияева В.С.</i> Специфическая профилактика весенней виремии карпа. I. Традиционные вакцины	468
Секция 5. Проблемы охраны здоровья объектов аквакультуры	475
<i>Авдеева Е.В.</i> Мониторинг инфекционных и инвазионных болезней разводимых видов рыб в Калининградской области	475
<i>Бабич Г.А., Бычкова Л. И., Бурлаченко И. В., Дудин К. В.</i> Влияние режима эксплуатации на состояние здоровья осетровых рыб в установке с замкнутым циклом водоснабжения	478
<i>Буторина Т.Е., Горювая О.Ю.</i> Паразитофауна жилого голца озера Ушки (Камчатка) ...	483
<i>Л.П.Бучацкий, Н.И.Вовк</i> Новообразования у леща (<i>Abramis brama</i> L.) и щуки (<i>Esox lucius</i> L.) Днепровских водосемов	487
<i>Бучацкий Л.П., Ногарев А.В.</i> Сезонные эпизоотии лимфосаркоматоза щук и судаков в Днепровских водохранилищах	491
<i>Воронин В.Н., Кузнецова Е.В., Стрелкова Ю.А., Чернышева Н.Б.</i> Влияние условий содержания на здоровье рыб при садковом выращивании	495
<i>Гончарова М.Н., Гриценко Л.И.</i> Лечебно-профилактическая эффективность и безопасность применения ципрофлоксацина при бактериальных болезнях карпов	499
<i>Зуевский С.Е., Запорожченко Н.С., Бычкова Л.И., Филиппова О.П.</i> Использование пробиотиков при выращивании личинок и молоди осетровых рыб в замкнутых установках на рыбоводных фермах в Республике Корея	501
<i>Калайда М.Л., Воробьева А.Н.</i> К современному эпизоотическому состоянию рыбоводных хозяйств Республики Татарстан	507
<i>Корбелевникова О.В.</i> Паразитирование рачков рода <i>Argulus</i> на осетровых рыбах	511
<i>Котлярчук М.Ю., Чуракови А.И.</i> Микрофлора различных видов кормов для аквариумных рыб	515
<i>Крылова В.Д., Житенева Л.Д., Рудницкая О.А., Безгачина Т.В.</i> Прогнозирование здоровья осетровых рыб в аквакультуре	516

<i>Лукьянова Н.А., Юхименко Л.Н., Бычкова Л.И.</i> Применение пробиотического препарата «Зоонорм» в прудовом рыбоводстве	522
<i>Матвиенко Н.Н., Ващенко А.В.</i> Направления разработок экологически-безопасных методов лечения и профилактики болезней рыб пресноводной аквакультуры в Украине	527
<i>Моисеева Е.В., Арсениук Н.Г.</i> Опыт применения альбендазола при лечении протеоцефалеза радужной форели	531
<i>Нечева Т.А.</i> Сравнительная устойчивость к заболеваниям пород форели обычной и мутантной окраски	535
<i>Нурмухамедов З.И.</i> Основные болезни и паразиты рыб в прудовых хозяйствах Дагестана	538
<i>Слушкин А.М., Безнос Т.В.</i> Разработка нового способа экстренной терапии и профилактики филометраидоза у карпа	542
<i>Стаффорд В.В.</i> Криптобиоз карасей: эпизоотология и методы культивирования	545
<i>Сыч А.А., Бучацкий Л.П., Матвиенко Н.Н.</i> Влияние иммуномодулирующего препарата „Изатизон” на фагоцитарную активность нейтрофилов и бактериостатическую активность сыворотки крови однолеток карповых рыб	548
<i>Asadpour Y. A., Motallebi A. A.</i> The use of HACCP principle to identify hazardous biological agents on processing of <i>Artemia urmiana</i> Günther, 1899, products from Urmia Lake, Iran	552
<i>Golaghaei darzi Mehdi</i> The Survey of Sturgeon Diseases in Commercial Farming in Iran	554
<i>Наумова А.М., Серветник Г.Е., Наумова А.Ю.</i> Проблемы биологической безопасности аквакультуры в условиях интеграции с сельскохозяйственными объектами	558

Формат 60 × 90/16.
Тираж 200 экз.

Объем 35,25 п.л.
Заказ № 136.

Типография Россельхозакадемии
115598, Москва, ул. Ягодная, 12