

Оценка изменений физиолого-биохимических показателей состояния пиленгаса Азово-Черноморского бассейна

*Т.В. Ложичевская, Г.Г. Корниенко, Ю.А. Рудницкая, Л.П. Ружинская,
С.Г. Сергеева, Л.В. Колесникова, Н.И. Цема*

Успешная акклиматизация дальневосточной кефали-пиленгаса (*Liza haematoeila* Temminck & Shlegel) привела к натурализации вида, который вскоре стал одним из основных объектов промысла в Азово-Черноморском бассейне. В настоящее время стадо пиленгаса освоило всю акваторию Азовского моря и прилегающих лиманов и обитает в ареалах с различными условиями среды (соленость, температурный режим, кормовая база) и разный уровень антропогенного загрязнения.

Для оценки характерных особенностей функциональных изменений пиленгаса в современных условиях среды обитания и выявления адаптивных возможностей исследуются различные аспекты метаболических процессов в организме рыб.

С 1981 г. (выборочно) и с 1999 г. (регулярно) собирается массовый материал из траловых уловов в морских рейсах и из уловов прибрежных ставных неводов в Азовском и Черном морях (КНП «Лазаревское», «Магри») и Керченском проливе (Тамань). Для проведения биохимических, морфометрических и гистологических анализов отбираются образцы сыворотки крови, гонад, печени, селезенки и мышц, фиксируются мазки крови. Разноплановые анализы тканей проводятся методами, описанными в руководствах (Методы рыбохозяйственных..., 2005; Физиолого-биохимические..., 2005). Установлены размерно-возрастная, сезонная, годовая динамики физиологических параметров, половая специфика обмена веществ и закономерности размножения пиленгаса в Азово-Черноморском бассейне. Выявлены изменения физиологического статуса рыб в условиях нового водоема. Использование комплекса полученных физиологических показателей позволяет объективно оценить степень негативного антропогенного влияния среды обитания на функциональное состояние пиленгаса.

В многолетнем аспекте анализируются показатели физиологического состояния пиленгаса, отловленного в разных акваториях Азово-Черноморского бассейна до аварии в Керченском проливе (1999-2007 гг.), проводится сравнение с аналогичными данными, полученными в результате исследования пиленгаса в предзимовальный (2007 г.) и весенний периоды (2008 г.) после аварии.

Сравнительный анализ особей дальневосточного пиленгаса,

привезенных осенью 1981 г. в Северное Приазовье (Баденко и др., 1985), и пиленгаса, отловленного в последние годы в Азовском море, показал, что новые условия обитания привели к изменению физиологического статуса рыб. Более высокая температура воды в относительно мелководном, хорошо прогреваемом Азовском море и богатая кормовая база с широким спектром питания благоприятно отразились на обменных процессах пиленгаса.

У пиленгаса из современной азовской популяции выявлен более высокий темп соматического роста и уровень накопления резервных веществ в тканях по сравнению с дальневосточным пиленгасом. По нашим (Ложичевская и др., 2002) и ихтиологическим (Пряхин, 2001) данным масса особей из ареала вселения в возрасте пять-шесть лет в 2-3 раза превышает массу пиленгаса из материнского водоема. Концентрация сывороточных белков и липидов у азовского пиленгаса в конце осеннего нагула на 50 % выше, чем у дальневосточного. Уровни жира накопления в печени и мышцах азовских рыб в 1,5 раза выше таковых у вселенцев при повышенном содержании влаги в тканях последних (рис. 1). Зимовка пиленгаса в Азовском море сопровождается незначительными тратами жировых запасов (до 20 %) в отличие от нативного ареала, где интенсивный ход пиленгаса на зимовку в опресненные зоны моря и реки Дальнего Востока и обратно приводит к резкому падению уровня содержания жира в мышцах более чем в 2 раза (Казанский, 1989).

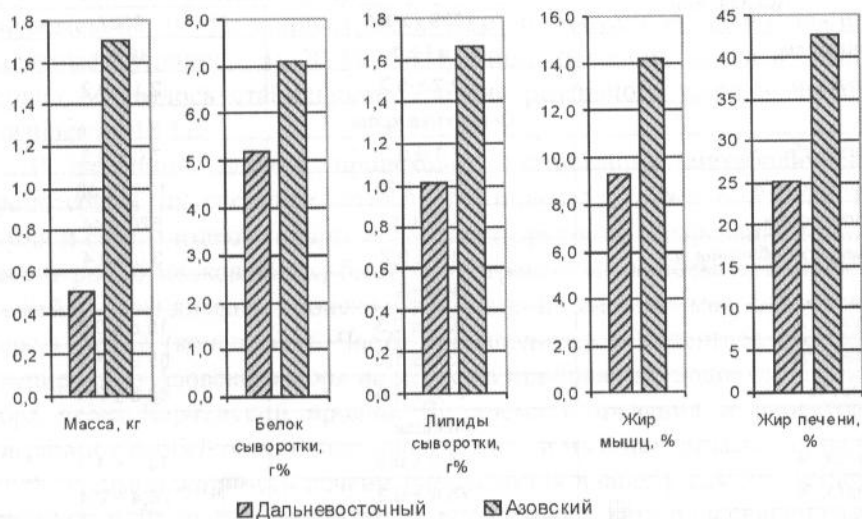


Рис. 1. Показатели физиологического состояния дальневосточного и азовского пиленгаса

В Северном Приазовье самки дальневосточного пиленгаса созревали в возрасте пяти лет, самцы - четырех. По данным Б.Н. Казанского (1989), возраст созревания пиленгаса в материнском водоеме такой же. В Азовском море пиленгас выходит на нерест на 1-2 года раньше.

Интенсивный нагул и рост пиленгаса в Азовском море происходят в летний и осенний периоды. Максимальные уровни накопления резервных веществ в сыворотке крови, печени и мышцах пиленгаса, а также значительное отложение внутрисполостного жира отмечены у рыб в конце осеннего нагула. Годовые колебания запасов энергопластических веществ у рыб в конце нагула незначительны. Исключение составил 2001 г., когда в условиях теплого декабря концентрация общего белка была повышена на 15-25 %, а жиронакопление в печени и мышцах - на 15-20 % по сравнению со среднегодовыми показателями.

В последние годы отмечена тенденция снижения жировых запасов в теле рыб. После аварии в ноябре 2007 г., т.е. перед зимовкой 2007-2008 гг. количество жира в мышечной ткани, липидов в сыворотке крови пиленгаса было снижено на 15-18 % по сравнению с показателями восьми предыдущих лет. Концентрация белка в печени пиленгаса по годам варьировала от 9,2 до 11,4 %, в мышцах – от 13,2 до 15,9 % (табл. 1).

Таблица 1

Показатели физиологического состояния пиленгаса в конце нагула в Азовском море

Показатели	Годы наблюдений	
	1999 - 2006	2007
Длина, см	53 ± 1	48 ± 1
Масса, кг	2,7 ± 0,2	2,1 ± 0,2
Сыворотка крови		
Белок, г%	7,1 ± 0,2	7,0 ± 0,3
Липиды, мг%	1510 ± 25	1240 ± 33
Холестерин	590 ± 47	520 ± 44
Иммуноглобулины, у.е.	3,0 ± 0,2	3,0 ± 0,4
Печень		
Белок, %	10,3 ± 0,3	10,8 ± 0,6
Влага, %	63,6 ± 1,0	65,8 ± 1,2
Жир, %	44,2 ± 4,0	40,6 ± 3,9
Мышцы		
Белок, %	14,0 ± 0,9	13,2 ± 1,3
Влага, %	75,4 ± 0,3	76,4 ± 0,4
Жир, %	15,5 ± 1,3	13,1 ± 1,4

Гистологический анализ гонад показал, что в конце нагула у самок пиленгаса в возрасте 5-7 лет ооциты находились во второй стадии зрелости. На препаратах четко просматривалась разноразмерность ооцитов – II начальная и II развитая стадии зрелости. У самок старшего возраста 8-9 лет разноразмерность ооцитов более выражена. В гонадах находились ооциты II, III и III - IV стадии. Иногда встречались гонии (I стадии зрелости). У старшевозрастных рыб отмечена текущая резорбция (5- 10% созревающих ооцитов III и III-IV стадии). У 30% старых рыб при оптимальных уровнях резервных веществ в тканях гонад выявлена тотальная резорбция ооцитов, свидетельствующая об угасании репродуктивной функции, что является закономерным физиологическим процессом у пиленгаса в возрасте 8-9 лет. Анализ многолетних гистологических данных позволил выявить увеличение диапазона асинхронности созревания ооцитов в гонадах рыб по сравнению с показателями раннего периода освоения пиленгасом Азовского бассейна (1980-1990 гг.).

За период зимовки степень зрелости гонад у пиленгаса практически не меняется. В разные годы снижение биохимических компонентов сыворотки крови составляет 10-30%, мышечного жира - 8-20% в зависимости от термического режима моря. Расходуется запасы внутрисполостного жира. В условиях зимы 2007-2008 гг. с ледоставом, когда резко снижена подвижность пиленгаса и замедлены метаболические процессы в организме, амплитуда трат резервных веществ в сыворотке крови была небольшой. Концентрация белка, липидов и холестерина снизилась на 10%, концентрация иммуноглобулинов, выполняющих защитные функции - на 20%. Содержание тканевого белка в зимний период оставалось стабильным. Уровень резервного жира в мышцах снизился на 18%.

В весенний период происходит активизация метаболических процессов и интенсивное созревание пиленгаса. Уже в апреле все самки и самцы имеют гонады в III стадии зрелости. Дозревание гонад и нерест рыб в мелководных, быстро прогреваемых водоемах, например, - в Бейсугском лимане, происходит во второй половине мая, в Азовском море - позже (конец мая). Часть производителей пиленгаса ежегодно мигрирует из Азовского моря на нерест в прибрежные водоемы Черного моря через Керченский пролив. Во время созревания и нерестовой миграции у особей обоего пола запасы жира в мышцах снижаются на 40-50%. У самок жирность печени уменьшается вдвое, у самцов остается стабильной. Разный характер динамики жировых запасов в печени самок и самцов в весенний период обусловлен более высоким накоплением жира

в яичниках (до 50 %) по сравнению с содержанием жира в семенниках (14 %), где преобладает влага. Гонадосоматический индекс у зрелых самок и самцов в IV стадии одинаков (12-14 %). Биохимические показатели в сыворотке крови в весенний период сохраняются на достаточно высоком уровне, что обеспечивается интенсивным питанием рыб. У зрелых самцов уровень биохимических компонентов сыворотки крови, в том числе и иммуноглобулинов - одного из факторов гуморального иммунитета, несколько снижен по сравнению с показателями самок. Средние показатели многолетних наблюдений для самок и самцов пиленгаса с гонадами в IV стадии зрелости представлены в таблице 2.

Таблица 2

Среднемноголетние показатели физиологического состояния самок и самцов пиленгаса в Азовском море (2002-2006 гг.)

Показатели	Самки	Самцы
Длина, см	46 ± 1	46 ± 1
Масса, кг	1,8 ± 0,4	1,9 ± 0,3
Сыворотка крови		
Белок, г%	6,7 ± 0,4	6,1 ± 0,3
Липиды, мг%	1378 ± 44	1268 ± 32
Холестерин	560 ± 36	533 ± 38
Иммуноглобулины, у.е.	2,76 ± 0,3	1,74 ± 0,2
Гонады		
Белок, %	20,3 ± 2,6	7,2 ± 1,3
Влага, %	51,8 ± 1,4	85,0 ± 0,7
Жир, %	49,1 ± 3,5	14,1 ± 1,1
Печень		
Белок, %	11,8 ± 0,3	12,0 ± 0,4
Влага, %	73,7 ± 1,4	62,1 ± 1,2
Жир, %	20,6 ± 3,8	44,0 ± 4,3
Мышцы		
Белок, %	12,1 ± 0,4	10,9 ± 0,4
Влага, %	76,8 ± 0,4	76,5 ± 0,4
Жир, %	9,5 ± 1,2	10,2 ± 0,9

Высокая эвригалинность, адаптационная пластичность, увеличение численности пиленгаса способствовали освоению этим видом новых ареалов с большим диапазоном солености, границы которого постоянно расширяются. В последние годы возросло значение в нагуле и размножении пиленгаса прибрежных районов восточной части Азовского моря и прилегающих водоемов с относительно низкой соленостью, например, - Бейсугского

лимана. В связи с этим приобретает актуальность изучение функционального состояния, процессов созревания и адаптивных возможностей пиленгаса в районах с разной степенью антропогенной нагрузки.

В III декаде мая 2008 г. проведено исследование нерестового стада пиленгаса, отловленного в Бейсугском лимане и Керченском проливе (район м. Тузла) во время миграции из Азовского моря в Черное. Длина обследованных рыб составила 40- 60 см, масса тела – 0,9-3,7 кг. Возраст рыб варьировал от 4 до 8 лет, доминировали особи 5-6 лет.

У производителей пиленгаса в Бейсугском лимане концентрация белка в сыворотке крови составила 5,3 г%, холестерина – 390 мг%, иммуноглобулинов - 2,2 у.е. Содержание белка в печени достигло 15 %, в мышцах – 16,2 %. Эти данные характеризуют достаточно высокий уровень нагула нерестового стада пиленгаса, отловленного в Бейсугском лимане. Однако у 20 % производителей выявлены критически низкие показатели иммуноглобулинов – 0,5-1,0 у.е., обеспечивающих защитные реакции организма. Гонады самок и самцов пиленгаса находились преимущественно в IV стадии зрелости. Самки пиленгаса из Бейсугского лимана характеризовались наибольшей подготовленностью к нересту. Они имели максимальный гонадо-соматический индекс - 15,2 % по сравнению с 12,5 % у самок из Керченского пролива и оптимальное содержание белка в икре – 21,4 %. Гонадо-соматический индекс у самцов из разных районов вылова был одинаков – 12,5 %.

В гонадах зрелых самок из Бейсугского лимана ооциты IV стадии зрелости имели равномерные оболочки, ядра смещались к периферии яйцеклеток, ядрышки приближались к центру. Одновременно в гонадах развивались ооциты следующей генерации (II стадия зрелости), которые должны созреть на следующий год. В гонадах зрелых самцов также отмечены две волны созревания половых клеток. Зрелые сперматоциты находились в центре ампул, кровеносные сосуды расширены. У некоторых самцов на периферии семенника отмечены пустые ампулы, свидетельствующие о переходе пиленгаса в текучее состояние. Структурных нарушений в гонадах рыб не выявлено. У 13 % самок в возрасте 5-6 лет, как и в прошлом году, гонадосоматический индекс составил всего 1,7 %. Ооциты находились в I и II стадиях зрелости, патологии в развитии ооцитов не отмечено. Уровни биохимических параметров крови снижены в среднем на 30 %, содержание жира в мышцах снижено в 3-4 раза по сравнению с показателями зрелых рыб (рис. 2). Эти данные свидетельствуют о задержке созревания или о пропуске нереста у части рыб репродуктивного возраста с низкими запасами резервных веществ в тканях.

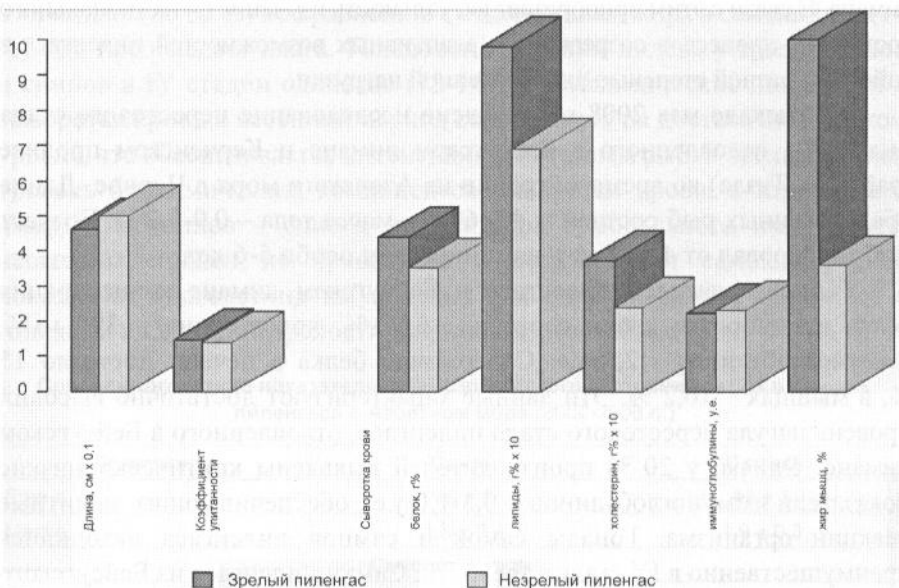


Рис. 2. Показатели физиологического состояния пиленгаса в Ясенском заливе и Бейсугском лимане с разной стадией зрелости гонад (2007, 2008 гг.)

Нереализованные высокие потенциальные возможности нагула у некоторых особей пиленгаса (высокая трофическая обеспеченность, широкий спектр питания) диагностируют патологические изменения в обменных процессах, обусловленные, по-видимому, негативным воздействием среды обитания.

У производителей пиленгаса, мигрирующих через Керченский пролив, как и в прошлые годы, уровни белка и иммуноглобулинов в сыворотке крови были повышены на 15-30 % по сравнению с показателями рыб из Бейсугского лимана. Количество рыб с низкой концентрацией иммуноглобулинов (1,0 у.е.) составило всего 10 %. Однако в 2008 году у мигрантов отмечен более низкий уровень сывороточного холестерина по сравнению с показателями прошлых лет (378 против 476 мг%), являющегося предшественником не только половых гормонов, но и кортикостероидов, обеспечивающих адаптацию организма к изменяющимся условиям среды обитания.

Ежегодно у 10-20 % самок пиленгаса в Азовском и Черном морях выявляется частичная резорбция зрелых ооцитов в ястыке. Структура остальных зрелых ооцитов следующей генерации (II и III стадий зрелости) без патологии. Возраст и коэффициент упитанности у самок с частичной

резорбцией ооцитов не отличаются от этих параметров у остальных рыб. Гонадосоматический индекс у них повышен.

Уровни резервных веществ в тканях резорбирующих самок существенно снижены. Особенно резко отличается концентрация холестерина в сыворотке крови и содержание жира в печени (табл. 3).

Таблица 3

Показатели физиологического состояния самок пиленгаса в Азовском и Черном морях с частичной резорбцией и нормальным развитием икры (2006-2008 гг.)

Показатели	Частичная резорбция икры	Нормальное развитие икры	% отклонения от «нормы»
Возраст, лет	4,0	3,6	-
Коэффициент упитанности	1,58	1,54	-
Гонадосоматический индекс	15,9	12,5	+ 21
Сыворотка крови:			
белок, г%	4,41	6,27	-30
липиды, мг%	713	969	- 26
холестерин, мг%	275	510	- 46
иммуноглобулины, у.е.	1,70	2,73	- 38
Жир печени, %	15,6	39,2	- 60
Жир мышц, %	6,5	10,4	- 37
Кол-во рыб, %	20	80	-

Таким образом, частичная резорбция икры, приводящая к снижению плодовитости, обусловлена недостаточной степенью нагула рыб с высокой исходной плодовитостью. Это является приспособительной реакцией у самок пиленгаса, что обеспечивает нормальное развитие остальной икры.

На основании анализа показателей содержания трофических веществ в организме пиленгаса в процессе созревания, миграции в Азово-Черноморском бассейне отмечено, что содержание запасных веществ у рыб в Керченском проливе и разных районах Азовского моря весной 2008 г. изменяется незначительно по сравнению с многолетними наблюдениями.

Морфофункциональная характеристика печени и селезенки

Барьерная функция печени заключается в детоксикации продуктов обмена и инактивации чужеродных веществ в организме рыб. Влияние токсикантов, адсорбированных в печени, приводит не только к изменению функциональной активности, но и к нарушению ее морфологической структуры. Регулярный контроль за морфофункциональным состоянием печени пиленгаса показал, что с 1996 г. в печени единичных особей отмечаются патологические изменения, не наблюдаемые ранее. Степень их и количество рыб с дефектной структурой постепенно увеличивались. Динамика морфопатологических изменений в печени может служить критерием оценки влияния среды обитания и качества корма на популяцию пиленгаса в предшествующий период. Пиленгас, питаясь детритом и бентосными организмами, испытывает негативное воздействие токсических веществ, накопившихся в корме из придонного слоя.

В последние годы в разных районах наблюдения встречаются от 37 до 70 % особей пиленгаса, у которых структура печени без изменений или с незначительными морфологическими изменениями адаптационного характера. У остальных рыб, преимущественно самцов, обнаружены признаки предпатологии или патологии, проявляющиеся в расстройстве микроциркуляции, утолщении стенок сосудов, образовании инфильтратов, вакуолизации цитоплазмы, смещении ядер к периферии гепатоцитов и другие. В целом, гистологическая структура печени у зрелых самок лучше, чем у самцов, что, по-видимому, обусловлено значительным использованием жировых запасов печени в период формирования яйцеклеток. В дальнейшем происходит ежегодный сброс токсических веществ с икрой во время нереста. Это приводит к частичному очищению печени самок от жирорастворимых токсикантов и улучшению ее функционального состояния. Нами были классифицированы изменения морфологической структуры печени от нормы до значительной степени патологии и составлена пятибалльная шкала оценки проявления патологии (табл. 4). В основу положена система оценки, предложенная И.О. Земковым (2003) для осетровых рыб, которая была дополнена и откорректирована с учетом морфологических нарушений в печени пиленгаса в современный период.

В последние 4 года частота встречаемости пиленгаса с морфопатологией в печени стабилизировалась и проявилась зависимость степени патологии печени от района вылова рыб (табл. 5).

Морфологические изменения в печени и селезенке пиленгаса

Степень патологии	Морфологические изменения в печени	Морфологические изменения в селезенке
5 баллов	Дискомплексація печеночных балок. Обширные инфильтраты. Фибриноидное набухание	Границы между красной и белой пульпы нет. Инфильтраты вокруг сосудов. Деструкция коллагена. Некроз реактивных центров
4 балла	Крупновокуолизованные гепатоциты. Инфильтраты вокруг сосудов и портальных трактов. Полнокровие. Стаз	Селезенка плотной консистенции. Сосуды кровенаполнены, их стенки утолщены. Пигмента мало. Преобладает белая пульпа.
3 балла	Вакуольная дистрофия гепатоцитов Периваскулярные и перипортальные инфильтраты. Утолщение стенок сосудов	Селезенка рыхлая. Четкая граница между красной и белой пульпой. Пигмент. Стенки сосудов утолщены, пигментированы.
2 балла	Мелковокуолизованные гепатоциты. Пигмент. Сосуды без изменений	Селезенка плотная. Сосуды без изменений. Пигмент.
1 балл	Отсутствие изменений	Отсутствие изменений

Таблица 5

Встречаемость пиленгасов разной стадией патологии печени в разных районах лова в 2005-2007 гг. и в 2008 г., %

Баллы	Годы	Ясенский залив, Бейсугский лиман	Азовское море	Темрюкский залив	Керченский пролив	КНП Лазаревское (Черное море)
1	2005-2007	21	20	0	11	10
	2008	20	-	-	10	-
2	2005-2007	49	37	37	55	50
	2008	53	-	-	50	-
3	2005-2007	38	23	38	29	35
	2008	27	-	-	40	-
4	2005-2007	2	20	25	3	5
	2008	0	-	-	0	-
5	2005-2007	0	0	0	2	-
	2008	0	-	-	0	-

Морфофункциональное состояние печени пиленгаса в нагульный и преднерестовый периоды в Ясенском заливе и Бейсугском лимане было относительно благополучным. Количество рыб с нормальной структурой или адаптационными изменениями в печени в последние годы варьирует от 60 до 77 % (в 2008 г. - 73 %). Лишь у 2 % рыб выявлены патологические изменения в этом органе. У остальных рыб изменения

носили предпатологический характер. У пиленгаса, отловленного в Азовском море, Керченском проливе и Черном море (КНП "Лазаревское", 2006 г.) морфофизиологические изменения в структуре печени выражены в большей степени. Максимальное количество рыб с морфопатологией печени выявлено во время осеннего нагула в Темрюкском заливе, который характеризуется значительным уровнем комплексного загрязнения. Особи с нормальной структурой печени в этом районе не встречались.

Нормальное строение и виды нарушений структуры печени проиллюстрированы фотографиями (рис. 3-5).

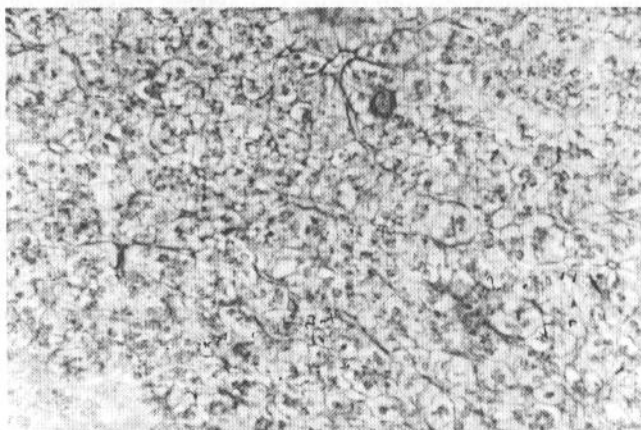


Рис. 3. Печень пиленгаса. Норма (ув. 10x 20x)

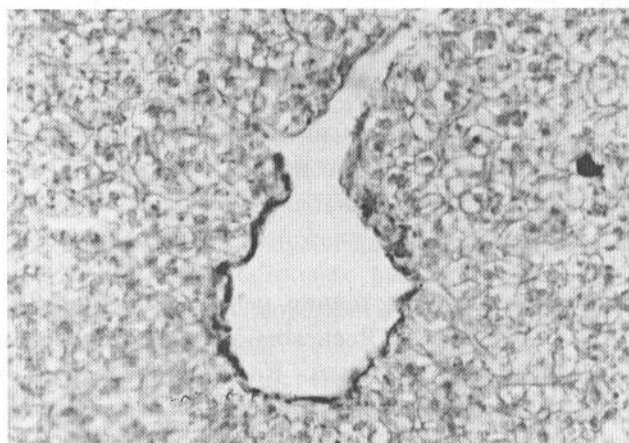


Рис. 4. Печень пиленгаса. Утолщение стенок сосудов. Вакуолизация гепатоцитов. Предпатология 3 балла (ув.10x 20x)

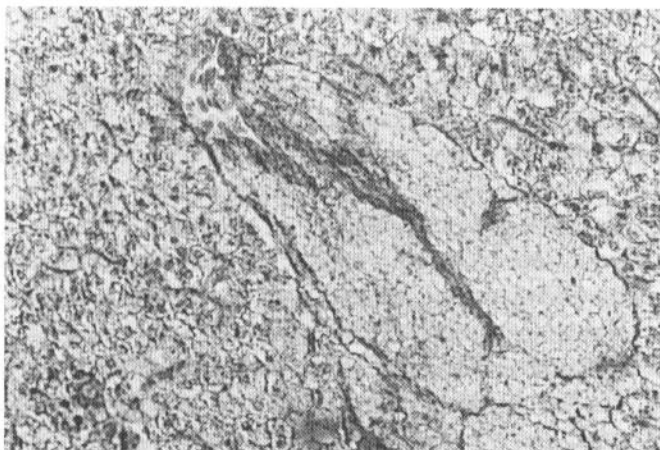


Рис. 5. Гидропическая дистрофия. Скопление липофусцина. Утолщение стенок сосудов. Границы гепатоцитов явно выражены, ядра клеток расположены в центре. Полнокровие. Патология 4 балла (ув. 10х 20х)

Селезенка рыб участвует в кроветворении, иммунной защите гуморального типа и характеризует реакцию рыб на эндогенные (зараженность паразитами) и экзогенные негативные факторы. В селезенке пиленгаса также обнаружены патологические изменения разной степени: усиление кровотока, пролиферация эпителиальной ткани и другие. Составлена аналогичная пятибалльная система оценки морфологических нарушений структуры селезенки.

У некоторых особей пиленгаса отмечено синхронное развитие нарушений в печени и селезенке, однако у большинства рыб степень патологии в этих органах различна. Изменения морфологических показателей в селезенке пиленгаса, оцененные по пятибалльной шкале представлены в таблице 4.

Весной 2008 г. у всех рыб, обследованных в Бейсугском лимане, в селезенке обнаружена разная степень зараженности микроспоридиями. Морфологическая структура селезенки у 40 % производителей находилась в стадии адаптации, у 60 % - предпатология. В 2007 г. стадия предпатологии была выявлена у 50 % рыб.

В 2008 г. у производителей пиленгаса, отловленного в Керченском проливе, морфологические изменения структуры селезенки более выражены, чем у рыб из Бейсугского лимана. У 90 % рыб селезенка находилась в стадии предпатологии, у 10 % - патология, что снижает активность кроветворения и защитных функций этого органа и является биоиндикатором воздействия негативных факторов на организмы рыб.

Гематологические показатели пиленгаса

Учитывая высокую миграционную активность пиленгаса, для определения локального воздействия токсикантов, были использованы высокочувствительные лабильные гематологические показатели. Ежегодные исследования пиленгаса выявили количественные и качественные изменения гематологических показателей, которые варьируют по годам и районам вылова рыбы.

Значительная патология клеток крови пиленгаса была отмечена в период нерестовой миграции 2004 г. (конец мая) в Керченском проливе. Средний индекс сдвига лейкоцитов был увеличен до 0,37 (норма 0,20-0,24). У некоторых особей количество лимфоцитов было снижено до 30 % (норма 75-90 %). У 30 % производителей отмечена патологическая зернистость цитоплазмы лимфоцитов. Количество юных форм нейтрофилов увеличено до 7,4 %, что свидетельствовало о развитии воспалительных реакций в организмах рыб. Повышение интенсивности эритропоэза до 7-12 % отражает процесс наращивания молодых форм эритроцитов, компенсирующий анемию, проявляющуюся в гипохромазии и вакуолизации цитоплазмы эритроцитов. У единичных экземпляров пиленгаса выявлено нарушение осмотической резистентности и даже кариорексис в клетках красной крови. У всех обследованных рыб отмечена агрегация эритроцитов. Патология клеток белой и красной крови коррелирует с уменьшением уровня сывороточных иммуноглобулинов. Такие изменения комплекса параметров крови диагностируют снижение защитных функций и развитие токсикоза у пиленгаса, отловленного в преднерестовый период 2004 г. в Керченском проливе.

Лабильность исследуемых параметров свидетельствует о влиянии негативных факторов среды на пиленгаса в Керченском проливе или в предпроливной зоне Азовского моря.

Существенные изменения в крови пиленгаса установлены в конце осеннего нагула 2006 г. в Темрюкском заливе, когда патологические изменения выявлены в ядрах эритроцитов. У всех обследованных рыб установлена разная частота встречаемости эритроцитов с полиморфизмом ядер. У большинства особей отмечены нарушения осмотической резистентности эритроцитов, что приводит к снижению содержания гемоглобина. У единичных особей выявлены гипохромазия, вакуолизация и отслоение цитоплазмы, тотальный лизис стромы эритроцитов. В лейкоцитах также выявлено отслоение оболочек. В лейкоцитарной формуле отмечены изменения процентного соотношения разных форм клеток на уровне показателей последних лет. Полученные данные

отражают реакцию рыб на неблагоприятные факторы среды обитания.

Гематологический анализ производителей пиленгаса, отловленных в Бейсугском лимане в III декаде мая 2008 г. выявил у 30 % рыб изменение соотношения клеток крови в лейкоцитарной формуле. У этих рыб количество лимфоцитов снижено до 43-60 % при норме 75-90 %. Количество нейтрофилов и моноцитов увеличено в 2 раза. Это привело к увеличению индекса сдвига лейкоцитов, в среднем, до 0,33 при среднемноголетнем показателе 0,27 у.е. В эритроцитах производителей выявлены гипохромазия и вакуолизация цитоплазмы, диагностирующие развитие анемии. У большинства рыб отмечено нарушение осмотической резистентности эритроцитов, отдельные клетки гемолизированы. У 40 % производителей интенсивность эритропоза очень высокая (10-30 %), что свидетельствует об увеличении количества молодых форм эритроцитов, компенсирующих анемию. В периферическом русле крови также как и в селезенке обнаружена разная степень зараженности микроспоридиями. Выявленные изменения гематологических параметров, по-видимому, являются адаптационной реакцией рыб на негативное воздействие, в частности, на массовую зараженность микроорганизмами.

Лейкоцитарная формула у большинства рыб, отловленных в Керченском проливе в 2008 г., находилась в пределах нормы. У 20 % рыб отмечены незначительные отклонения от нормы доли лимфоцитов в сторону уменьшения или увеличения. У 10 % рыб выявлено увеличение относительного количества нейтрофилов в 1,5 раза и моноцитов - в 2,0 раза. У всех рыб лимфоциты были разных размеров, активированы, с многочисленными выростами цитоплазмы, что указывает на усиление фагоцитарной функции крови. Аналогичное явление наблюдали у производителей пиленгаса осенью 2007 г. в Ейском заливе. Патологические изменения в эритроцитах пиленгаса проявились в их бледной окраске, свидетельствующей об анемии. У 10-20 % рыб отмечена вакуолизация цитоплазмы и адгезия эритроцитов. Эффект образования «монетных столбиков» косвенно свидетельствует об увеличении скорости оседания эритроцитов, происходящем в результате аутоиммунизации рыб эритроцитами, которые стимулируют образование аутогемагглютиноидов.

Норма и патология клеток крови представлены на фотографиях (рис. 6 и 7).

Выявленные изменения гематологических, морфологических и биохимических параметров тканей пиленгаса характеризуют реакции рыб на комплекс негативных факторов в разных ареалах и носят обратимый характер.

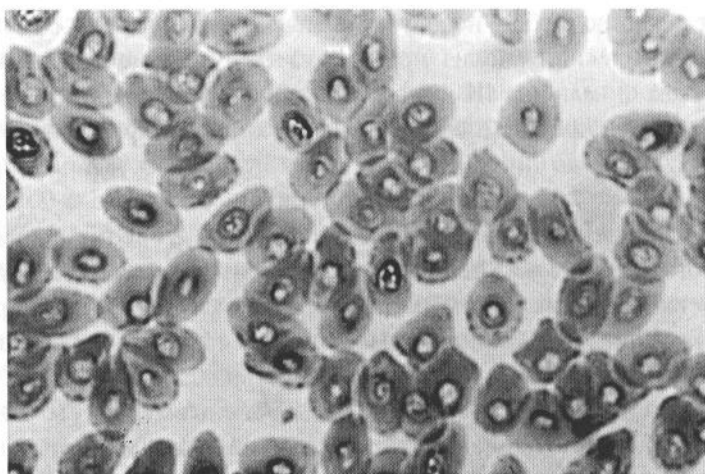


Рис. 6. Кровь пиленгаса. Норма (ув. 25x 100x)

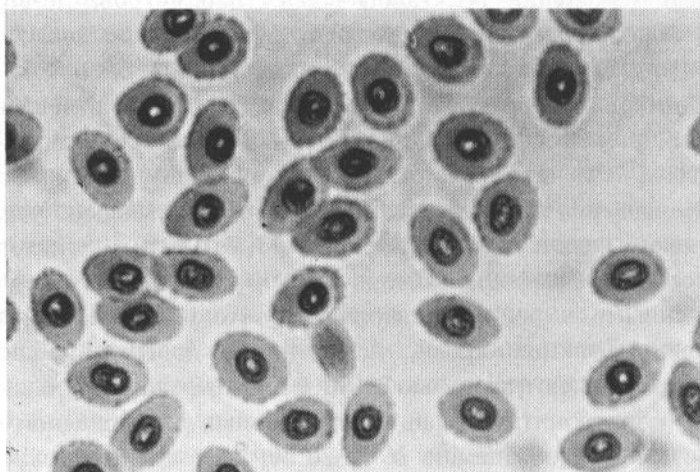


Рис. 7. Кровь пиленгаса. Вакуолизация ядер эритроцитов (ув. 25x 100x)

Ксенобиохимические показатели изменчивости пиленгаса

После успешной акклиматизации пиленгас образовал в Азовском море самовоспроизводящуюся популяцию с постоянно растущим промысловым запасом и расширяющимся ареалом обитания. По численности особей и возможному промысловому изъятию пиленгас выходит в число лидирующих в Азовском бассейне рыб. По сравнению с другими рыбами у азовского пиленгаса имеются биохимические предпосылки стабильности репродуктивной функции и обеспечения

эффективности размножения в разных биотопах. Установлено, что стабильность репродуктивной функции обеспечивается высоким уровнем жирорастворимых антиоксидантов при довольно низких значениях активностей ферментов детоксикационных систем печени. В осенне-зимний период 2006-2007 гг. и в весенне-летний период 2007 г. у особей пиленгаса, выловленных в собственно море и в прилегающих к нему водоемах, были исследованы показатели антиоксидантной защиты различных тканей и ксенобиохимические параметры печени.

Отмечено, что в осенне-зимний период 2006-2007 гг. у пиленгаса, выловленного в собственно море, выявлены самые низкие за период наблюдений, начиная с 2001 г., значения содержания токоферола в печени и ретинола в мышцах - $50,08 \pm 5,75$ и $0,19 \pm 0,03$ мкг/г сырой ткани, соответственно. Несмотря на то, что уровень токоферола в печени у пиленгаса по-прежнему остается самым высоким среди других видов рыб, можно говорить о вероятном воздействии на особей пиленгаса загрязняющих веществ, содержащихся в детрите и поступающих в море в результате деятельности порта Темрюк. Это подтверждают и данные по исследованию активности ферментов I и II фазы детоксикации. Исследования по характеристике состояния систем детоксикации в 2006-2007 гг. показали, что у пиленгаса активность компонентов I фазы детоксикации была ниже по сравнению со среднемноголетними значениями за период 1995-2005 гг., однако выше, чем у других азовских рыб. Так, содержание СУР составило $1,71 \pm 0,34$ нМоль/мг белка микросом печени, цитохрома P-420 - $3,84 \pm 0,62$; а цитохрома b5 - $0,71 \pm 0,10$ нМоль/мг белка, что в 6 раз выше, чем у осетра сопоставимой возрастной группы. Таким образом, по уровню воздействия экотоксикантов пиленгас входит в «группу риска» видов, испытывающих эффект индукции СУР. Однако иные негативные проявления токсикации у пиленгаса, по сравнению с другими видами, сглажены. Этому, по-видимому, способствует обнаруженный у пиленгаса широкий диапазон активности основного компонента II фазы детоксикации - глутатион-S-трансферазы (ГТФ). В период физиологического голодания, например при совершении нерестовых миграций, когда экзогенный поток экотоксикантов слаб, активность ГТФ снижается до величин в диапазоне 10-80 мкМоль глутатиона/мг белка цитозоля печени в 1 минуту. Такие величины близки к значениям, характерным для питающихся хищных рыб. При питании пиленгаса зообентосом (например, фораминиферами и нереисом), активность ГТФ возрастает до величин в диапазоне 100-200 мкМоль глут/мг белка×мин., а интенсивное питание детритом с высоким содержанием чужеродных

соединений биогенного и антропогенного происхождения повышает активность ГТФ до 250-350 мкМоль гл/мг×мин. У некоторых особей активность при этом достигает самых значительных из зарегистрированных нами у рыб значений - до 3000 ед. В предзимовальный период 2006-2007 гг. активность глутатионтрансферазы, у которой выявлены самые высокие значения за тот же период наблюдений (238,59±52,91 мкМоль гл/мг белка×мин.), в несколько раз превышающие значения данного показателя в другие годы.

Ситуация улучшилась в весенний период 2007 г. Не выявлено активации ГТФ в печени пиленгаса, обитающего в собственно море, значения активности фермента не превысили величины 47,51±4,32 мкМоль гл/мг белка×мин., при этом возросло содержание токоферола в печени по сравнению с осенне-зимним периодом. Следовательно, изменения параметров репродукции при негативном воздействии загрязнения в осенне-зимний период носили обратимый характер и не должны отразиться на продуктивности данного вида рыб. У пиленгаса, отловленного в Ясенском заливе в апреле-мае 2007 г., выявлены низкие по сравнению с этим периодом 2006 г. значения содержания токоферола в печени. У особей из Ясенского залива они составили 26,78±5,40 мкг/г сырой ткани. При этом уровень активности ГТФ находился в диапазоне величин 10-80 мкМоль глутатиона/мг белка цитозоля печени в 1 минуту, что соответствует периоду физиологического голодания при совершении нерестовых миграций. Существенных изменений других репродуктивных биомаркеров в тканях пиленгаса не выявлено.

В 2008 г. в III декаде мая проведены ксенобиохимические исследования антиоксидантов – прорепродукторов (токоферол, каротиноиды) в печени и гонадах пиленгаса в IY стадии зрелости, отловленного в Азовском море (Ясенский залив) и в районе Керченского пролива (м. Тузла). Анализ полученных данных показал снижение на 30 % содержания каротиноидов в печени и гонадах самок пиленгаса, выловленного в Азовском море, по сравнению с 2007 г. - от 15,0 до 10,5 мкг/г сырой ткани и от 22,0 до 15,4, соответственно. Аналогичные изменения произошли в гонадах самцов, отмечено снижение концентрации каротиноидов на 62 % (от 3,6 до 1,4 мкг/г сырой ткани). Однако в печени самцов значения остались на уровне 2007 г. (11,6 и 10,3 мкг/г сырой ткани).

Исследования уровня жирорастворимых антиоксидантов у мигрантов пиленгаса (м. Тузла) выявило значительное превышение концентрации каротиноидов в печени (на 87 %) и гонадах (на 81 %) самок пиленгаса по сравнению с рыбами, отловленными в этот же период в Ясенском заливе.

Их значения составили соответственно 10,5 и 14,1; 15,4 и 27,9 мкг/г сырой ткани. Содержание каротиноидов в мышцах близко по своим значениям (4,5 и 4,1 мкг/г сырой ткани). Напротив, у самцов выявлено снижение уровня каротиноидов в печени на 43 %, в гонадах - на 34 %, в мышцах - на 50 % - 10,3 и 5,8; 1,4 и 0,9; 6,2 и 3,1 мкг/г сырой ткани, соответственно.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что самцы более уязвимы к загрязнению, чем самки. У исследуемых самок пиленгаса из Керченского пролива отмечены адаптационные изменения, проявляющиеся в увеличении уровня каротиноидов в печени и гонадах на 87 и 81 %, соответственно, по сравнению с самками из Ясенского залива, что, возможно, является ответной реакцией на токсический эффект потребления загрязненного нефтепродуктами детрита.

По-видимому, приспособленность пиленгаса к питанию детритом, потенциально содержащим ксенобиотики микробиального или иного происхождения, сопровождается присущей виду высокой детоксикационной активностью, что позволяет ему преодолевать воздействие антропогенной токсикации среды обитания. При существовании пиленгаса в условиях эвтрофного Азовского моря, в составе детрита, представленного преимущественно отмершей массой фитопланктона, содержится значительное количество таких важных прорепродукторов, как токоферол и каротиноиды. Таким образом, метаболические особенности пиленгаса обеспечивают его стабильную репродукцию в современных трофических и экотоксикологических условиях ареала.

Учитывая высокую адаптивную способность обмена веществ пиленгаса можно предположить, что существенных нарушений в функциональном состоянии рыб весной не наблюдалось. Однако в предзимовальный и зимовальный периоды 2007-2008 гг. у пиленгаса показатели физиологического состояния снижены на 15-18 % (содержание липидов и холестерина в сыворотке крови, жира в мышцах, печени), что, возможно, связано с ухудшением качества кормовой базы после аварии. Отмечена резорбция гонад у 30 % старшевозрастных рыб, наиболее чувствительных к аномалиям среды обитания. У рыб из Керченского пролива отмечен сниженный уровень холестерина в преднерестовый период, что, возможно, отразится на репродуктивном качестве рыб. Однако гематологическая картина, активация защитной функции селезенки, увеличение содержания каротиноидов в тканях в весенний период свидетельствуют о включении механизмов, компенсирующих воздействие загрязняющих веществ на самок в период созревания половых продуктов пиленгаса в условиях обитания после аварии в Керченском проливе.