

Причины деформаций нотохорда молоди атлантической трески при культивировании в Северной Европе

*Н.Г. Журавлева, Г.Г. Матишов (ММБИ КНЦ РАН);
О. Оттесен (Университет Буде, Норвегия);
Т.М. Ларина (МГТУ)*

Some factors causing deformity of notochord in juvenile Atlantic cod cultured in Northern Europe

*N.G. Zhuravleva, G.G. Matishov (MMBI KSC RAN);
O. Ottesen (BUC, Norway);
T.M. Larina (MSTU)*

Во многих странах мира наблюдается развитие марикультуры проходных и морских рыб. Среди последних наиболее перспективным объектом является треска. Для совершенствования биотехнологий массового выращивания молоди трески важно выяснение причин её низкого качества. Смертность личинок вплоть до метаморфоза очень велика – она составляет не менее 50 %, обычно до 80 %. На стадии предличинки отход невелик, затем, вскоре после момента необратимого голодания, в течение 2–3-х дней погибают личинки, не начавшие питаться. Затем темп отхода стабилизируется, но перед метаморфозом он может вновь увеличиться из-за развития каннибализма.

Наиболее распространёнными аномалиями при инкубации икры и выращивании личинок являются: деформации нотохорда, жаберной крышки и головы [Totland et al., 2004; Grotmol et al., 2005]. Деформации нотохорда вызывают как снижение темпа роста молоди, так и их высокую смертность. Причинами изгиба (курватуры) нотохорда является давление на него переполненного плавательного пузыря [Журавлева и др., 2008], а также новообразования в плавательном пузыре [Журавлева и др., 2009]. Основными экологическими параметрами, которые вызывают аномалии развития личинок рыб, являются несоответствующая гидродинамика, интенсивность света или солёность, высокая или низкая температура [Johnson и Katavic, 1986]. Уродства и отклонения в развитии молоди рыб могут быть вызваны патогенными бактериями [Madsen, Dalsgaard, 1999].

В 2005–2007 гг. были выполнены исследования в рамках Международного проекта NorthCod, финансируемого Европейским Союзом, и в котором принимали участие ученые из Норвегии, Шотландии, Исландии, России. Координатором Проекта от России была Н.Г. Журавлева, ответственная за раздел «Деформации нотохорда у молоди трески».

Цель работы – гистологическими методами выяснить некоторые причины деформаций нотохорда и низкой выживаемости молоди трески.

Материал и методика

Материалом для исследований служила молодь атлантической трески *Gadus morhua morhua* L. Характеристика кормовых условий выращивания молоди приведена в табл. 1. Личинки трески были собраны на рыбоводных фермах Норвегии, Шотландии, Исландии, а также Оркнейских, Лофотенских островов и зафиксированы по 30 шт. в возрасте 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60 суток. Для фиксации материала использовали 10 % нейтральный формалин и фиксатор Карновского. Для приготовления препаратов использовали общепринятые гистологические методики.

Таблица 1. Характеристика кормовых условий выращивания молоди трески на рыбоводных фермах

Рыбоводные фермы	Коловратки, шт/мл	Наушлии <i>Artemia salina</i> , шт/мл	Естественный зоопланктон (160–500 мкм), шт/мл
Шотландия Ardtoe, Viking Ltd	1–7	0,1–0,5	
Норвегия Lofilab			0,1–0,5
Исландия IceCod		0,1–0,5	
Оркнейские о-ва Nufish	1–7	0,1–0,5	
Норвегия Morkvedbuchta			0,1–0,5

При анализе результатов исследования опирались на сведения по гистологическому строению кишечника молоди трески, приведенные в работах отечественных и зарубежных авторов [Журавлева, 1996; Morrison, 1987; Kjorsvik et al, 1991; Pedersen, Falk-Petersen, 1992].

Результаты и обсуждение



Рис. 1. Часть сагиттального среза тела личинки трески в возрасте 35 дней. Переполнение кишечника личинки трески пищей: 1 – эпителий кишечника; 2 – кишечник, переполненный пищей; 3 – транссудат в абдоминальной полости; 4 – изгиб нотохорда; 5 – плавательный пузырь; 6 – покровный эпителий. Гематоксилин Гарриса, эозин. Ув.: ок.10 × об.10.

Оркнейские острова

При обилии кормовых организмов в емкостях выращивания и переедании у молоди трески отмечено переполнение кишечника пищей (рис. 1). Перманентно переполненный пищей кишечник оказывает непосредственное и постоянное механическое давление на нотохорд, возникает его изгиб или курватура. Кровеносные сосуды и почки прижаты переполненным кишечником к нотохорду.

Поскольку эпителий кишечника личинки растянут пищей, эпителиальные клетки располагаются в один ряд и имеют кубическую форму, а в некоторых местах ширина основания эпителиальной клетки превышает её высоту. Нарушается структура, следовательно, и функции выделительной и кровеносной систем. В брюшной полости накапливается полостная жидкость. Покровный эпителий на вентральной стороне тела также растянут скопившимся транссудатом и переполненным пищей кишечником, клетки его становятся кубическими либо плоскими, напоминающими клетки мезотелия. Скопившийся транссудат вместе с кишечником прижимает почки к хорде, в результате чего почки сдавливаются, а нотохорд изменяет форму. По **первому типу** гибель личинок происходит в результате травмирования основных систем – кровеносной, выделительной, нервной, а также всех других органов и тканей.

Если подобное явление носит дискретный характер, оно не приводит к гибели особей, но увеличивает возможность появления личинок с деформациями нотохорда. Деформация и изгиб нотохорда являются следствием давления на него переполненного пищей кишечника и скопившегося в абдоминальной полости трансудата. Молодь с деформированным нотохордом остается жизнеспособной, но отстает в своем росте и развитии.

Следующей причиной возникновения деформаций нотохорда является повреждение слизистой оболочки кишечника неадекватной пищей. Это **второй тип** повреждения кишечника, когда слишком крупные ракообразные, захваченные и проглоченные личинкой, своими острыми конечностями нарушают целостность эпителиального пласта стенки кишечника (рис. 2, 3).

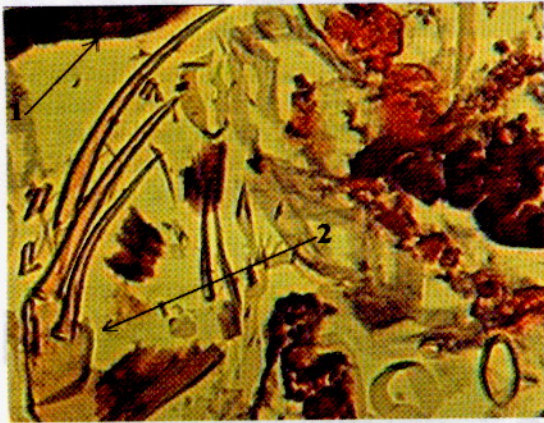


Рис. 2. Часть сагиттального среза кишечника личинки трески в возрасте 28 дней: 1 – эпителий кишечника; 2 – крупные ракообразные в кишечнике. Гематоксилин Гарриса, эозин. Ув.: ок.10 × об.90. Норвегия. Будё

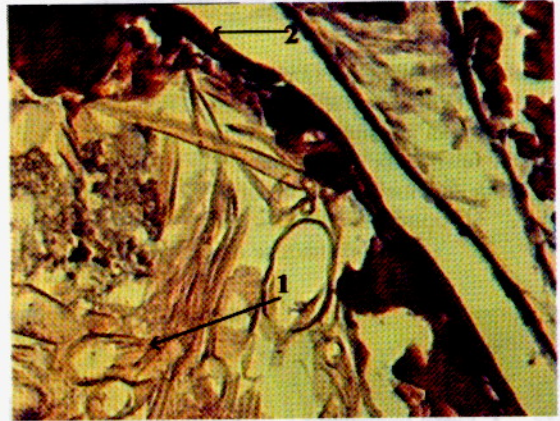


Рис. 3. Часть сагиттального среза кишечника личинки трески в возрасте 28 дней: 1 – крупные ракообразные в кишечнике; 2 – эпителий кишечника. Гематоксилин Гарриса, эозин. Ув.: ок.10 × об.90. Норвегия. Будё

В районе повреждения стенки кишечника наряду с детритом отмечены погибающие клетки эпителиального происхождения (рис. 4). В клетках эпителия кишечника в районе повреждения сохраняется значительный полиморфизм ядер. Часть эпителиальных клеток уплощается вблизи повреждения. Ядрышки в этих клетках иногда прилежат к ядерной оболочке, но чаще располагаются в центральном участке.

В районе повреждения кишечника развивается комплекс защитно-регенерационных процессов, приводящих к ликвидации нанесенного дефекта. Эпителиальный слой через некоторое время восстанавливается полностью, особенно в тех случаях, когда его нарушения незначительны и не затрагивают базальной мембраны (рис. 5). Таким образом, при незначительных ранениях эпителиальной выстилки кишечника через некоторое время наступает полное восстановление нарушенных структур. Вместе с тем следует отметить, что сопряжено протекающее с восстановительными процессами перманентное воспаление брюшной полости и накопление трансудата могут привести к деформациям нотохорда в виде умеренного или сильного изгиба. То есть продолжительное клинически выявляемое воспаление брюшной полости, совместимое с жизнью, ведет к кифозу позвоночника у молоди трески. Молодь с деформациями нотохорда, а затем позвоночника имеет низкие темпы роста и развития. Такая некондиционная молодь не может быть использована для дальнейшего товарного выращивания.

При третьем типе, когда отмечаются значительные повреждения слизистой кишечника или желудка (рис. 6, 7, 8) грубой пищей, и нарушается не только эпителиальный слой клеток, но и подлежащая базальная мембрана, что приводит к значительному накоплению трансудата в абдоминальной полости и гибели особей.

В том месте, где произошло повреждение стенки кишечника, обнаруживаются значительное скопление остатков дегенерирующих клеток и некротизирован-

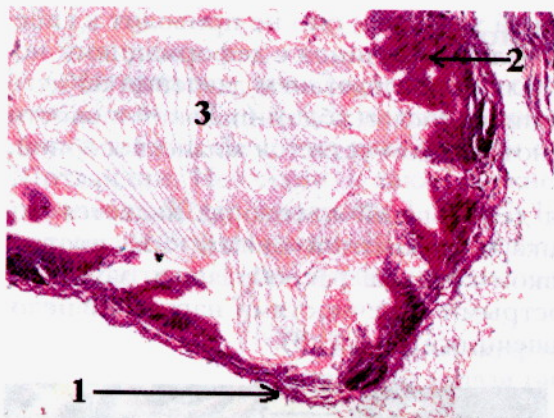


Рис. 4. Часть сагиттального среза тела личинки трески в возрасте 22 дней. Переполнение кишечника личинки трески пищей: 1 – повреждение эпителия кишечника; 2 – складки кишечника; 3 – пища в кишечнике. Гематоксилин Гарриса, эозин. Ув.: ок.10 × об.90. Лофотенские острова



Рис. 5. Часть сагиттального среза личинки трески в возрасте 42 дней: 1 – восстановление поврежденной стенки кишечника; 2 – пища. Гематоксилин Гарриса, эозин. Ув.: ок.10 × об.20. Лофотенские острова

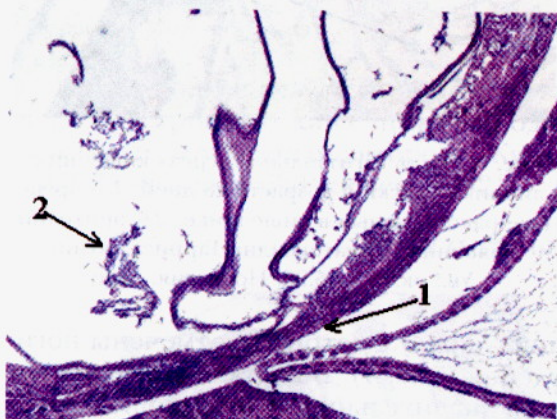


Рис. 6. Часть сагиттального среза тела личинки трески в возрасте 42 дней: 1 – повреждение слизистой кишечника и базальной мембраны; 2 – детрит погибших клеток. Гематоксилин Гарриса, эозин. Ув.: ок.10 × об.20. Лофотенские острова

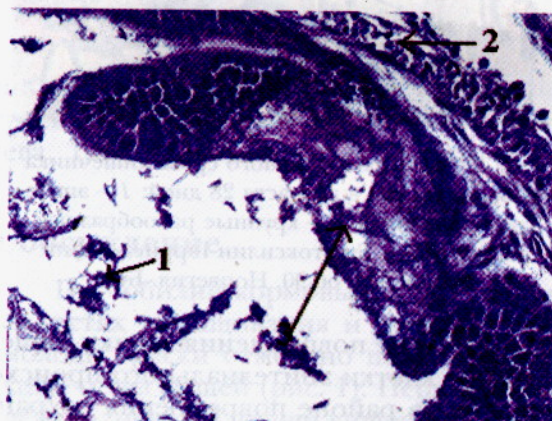


Рис. 7. Часть сагиттального среза тела личинки трески в возрасте 22 дней: 1 – скопление остатков дегенерирующих клеток; 2 – некротизированные мышечные волокна; 3 – поврежденный участок складки кишечника. Гематоксилин Гарриса, эозин. Ув.: ок.10 × об.40. Лофотенские острова

ные мышечные волокна. Здесь происходит как бы расплавление коллагеновых и увеличение количества аргирофильных волокон (см. рис. 7).

Мышечные волокна, расположенные по краю повреждения, дистрофически изменены. Наблюдается фрагментация саркоплазмы, частичный лизис ядер. Мышечные волокна выглядят разрыхленными. В подлежащей соединительной ткани, расположенной вблизи повреждения, выявляются ядра в состоянии пикноза (см. рис. 8).

Среди мышечных волокон встречаются скопления зернистых и незернистых гранулоцитов. При повреждениях целостности эпителиального пласта и базальной мембраны в процесс воспаления вовлекается также подлежащая соединительная ткань (рис. 9).

В брюшной полости накапливается значительное количество транссудата и дебриса неизвестной природы. Чаще всего личинки с подобными нарушениями не способны к дальнейшему росту и развитию. Эти нарушения несовместимы с жизнью и приводят к гибели особи.

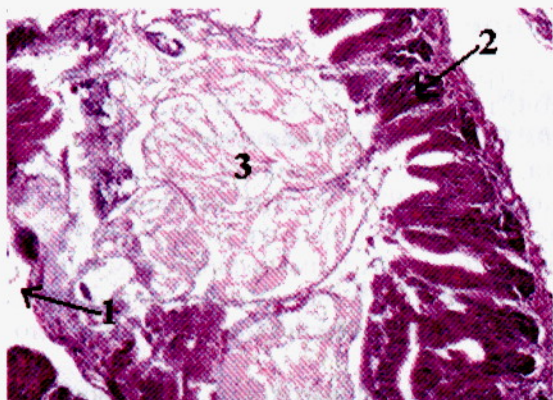


Рис. 8. Часть сагиттального среза тела личинки трески в возрасте 62 дней: 1 – повреждение слизистой кишечника; 2 – складки кишечника; 3 – науплии артемии. Гематоксилин Гарриса, эозин. Ув.: ок.10 × об.60. Шотландия



Рис. 9. Часть сагиттального среза тела личинки трески в возрасте 42 дней: 1 – воспаление подлежащей соединительной ткани; 2 – накопление трансудата; 3 – покровный эпителий; Гематоксилин Гарриса, эозин. Ув.: ок.10 × об.40. Оркнейские острова

Четвертый тип повреждения кишечника наблюдается, когда слишком крупные организмы, захваченные личинками, с трудом перемещаются по кишечнику, сильно растягивая эпителиальную выстилку, что в ряде случаев приводит к разрыву эпителиального слоя (рис. 10). Такого типа повреждения кишечника инициируют накопление отеочной жидкости в абдоминальной полости. При этом содержимое кишечника попадает в абдоминальную полость и, как следствие, возникает воспалительный процесс, который всегда приводит к гибели особи. Подобное повреждение, названное нами непроходимостью и прободением кишечника, не совместимо с жизнью. Поэтому эти личинки не выживают ни при каких условиях и погибают.



Рис. 10. Часть сагиттального среза кишечника личинки трески в возрасте 28 дней: 1 – складки эпителия кишечника; 2 – крупные ракообразные; 3 – растянутый эпителий кишечника; 4 – место разрыва (прободение) стенки кишечника. Гематоксилин Ганзена, эозин. Ув.: ок.10 × об.40. Норвегия. Будё

Основные (типичные) нарушения в развитии кишечника и нотохорда личинок трески на фермах Севера Европы приведены в табл. 2.

Таблица 2. Основные (типичные) нарушения в развитии кишечника и нотохорда трески на фермах Севера Европы

Выявленные нарушения	Количество случаев выявленных нарушений					Итого
	Оркнея	Шотландия	Исландия	Лофотены	Аквакомплекс Будё	
Воспаление абдоминальной полости (накопление трансудата)	16	12	9	20		57
Повреждение эпителия, мукозы	3	3	2	15	3	26
Воспаление кишечника	4	1	1	12	2	20
Деформация нотохорда	4	5	1	11		21
Переуполнение кишечника	1		1		2	4

Заключение

Как известно, пищевой спектр личинок трески в природных условиях включает 13 видов зоопланктонных организмов, но доминируют три вида: науплии *Copepoda*, *Calanus finmarchicus* и *Oithona similis*. Суточные рационы варьируют в широких пределах и снижаются по мере роста личинок. Индивидуальные величины суточных рационов личинок колеблются от 1,0 до 227 %. Минимальный суточный рацион личинок на разных этапах развития варьировал от 16 до 24,6 %. Соотношение фактических рационов к минимально необходимым рационам в некоторых случаях достигало 950,2 % [Карамушко, 1991]. По-видимому, именно этим можно объяснить перманентное переполнение кишечника молоди трески в условиях выращивания.

Показано также, что критический период в развитии нотохорда, когда возможна его наибольшая деформация, составляет два месяца от момента вылупления. На основании проведенных исследований установлено, что деформации нотохорда у молоди трески в ряде случаев наблюдаются, когда в кишечнике отмечены крупные ракообразные, которые своими острыми конечностями могут травмировать эпителий стенки кишки, либо нарушать целостность мукозы. Последнее может приводить к асциту брюшной полости. Продолжительное клинически выявляемое воспаление брюшной полости, совместимое с жизнью, в дальнейшем ведет к кифозу позвоночника у молоди трески. Деформация и изгиб нотохорда может явиться следствием давления на него переполненного пищей кишечника. Это отмечено в случае обилия кормовых организмов в емкостях выращивания и переедания молоди трески. Это явление носит дискретный характер, оно не приводит к гибели личинок, но увеличивает возможность появления в этой группе деформаций нотохорда. Таким образом, на разных этапах выращивания молоди трески необходимо проведение гистологической экспертизы (гистологический мониторинг), что позволит своевременно оптимизировать диеты, режимы подачи пищи и условия содержания молоди, что приведет к увеличению выживаемости особей на ранних стадиях развития.

Литература

- Журавлева Н.Г.** 1996. Воспроизводство морских рыб – объектов марикультуры Заполярья. Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. – М.: 22 с.
- Журавлева Н.Г., Отгесен О., Треашер Дж., Ларина Т.М.** 2008. Развитие плавательного пузыря – критический период в раннем онтогенезе трески // Рыбное хозяйство. № 3. – С. 51–52.
- Журавлева Н.Г., Отгесен О., Amin Anil B., Ларина Т.М.** 2009. Новообразования в плавательном пузыре и деформации скелета молоди трески, выращиваемой в садках и бассейнах различных ферм на севере Западной Европы // Рыбное хозяйство. № 6. – С. 46.
- Карамушко О.В.** 1991. Питание и пищевые взаимоотношения личинок основных промысловых видов рыб Баренцева и Норвежского морей. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – М.: 22 с.
- Grotmol S., Kryvi H., Totland G.K.** 2005. Deformation of the notochord by pressure from the swim bladder may cause malformation of the vertebral column in cultured Atlantic cod *Gadus morhua* larvae: a case study // Dis. Aquat. Org. V. 5. P. 121–128.
- Johnson D.W., Katavic I.** 1986. Survival and growth of sea-bass *Dicentrarchus labrax* larvae as influenced by temperature, salinity and delayed initial feeding // Aquaculture V. 52. P. 11–19.
- Kjorsvik E., van der Meeren T., Kryvi H., Arnfinnson J., Kvenseth P.G.** 1991. Early development of the digestive tract of cod larvae (*Gadus morhua* L.), during start-feeding and starvation // Journ. Fish. Biol. V. 38. P. 1–15.
- Madsen L., Dalsgaard I.** 1999. Vertebral column deformities in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // Aquaculture V. 171. P. 41–48.
- Morrison C.M.** 1987. Histology of the Atlantic cod, *Gadus morhua*: an atlas. Part 1. Digestive tract and associated organs. Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci. V. 98. P. 219.
- Pedersen T., Falk-Retersen I.B.** 1992. Morphological changes during metamorphosis in cod (*Gadus morhua* L.), with particular reference to the development of the stomach and pyloric caeca // J. Fish. Biol. V. 41. P. 449–461.
- Totland G., Kryvi H., Grotmol S.** 2004. Torskeyngel med «nakkeknekk» utgjør et av hovedproblemene i intensivt oppdrett i dag // Havbruksrapport. V. 2. N 3. P. 57–63.