

БИОМОНИТОРИНГ ПОСТСТРЕССОВОЙ АДАПТАЦИИ ОРГАНОВ ПИЩЕВАРЕНИЯ СТЕРЛЯДИ В УСЛОВИЯХ ЗАМКНУТОГО ВОДОБЕСПЕЧЕНИЯ

А. М. Козий, kozij67@gmail.com, Херсонский государственный аграрный университет, г. Херсон

Цель. Проанализировать особенности постстрессовых адаптивных изменений органов пищеварительной системы стерляди на микроуровне в условиях замкнутого обеспечения. Исследовать динамику изменений клеточного состава печени, тонкого кишечника и поджелудочной железы в протяжении периода адаптации. Определить перспективу использования данных гистологического мониторинга в рыбоводной практике с целью оценки морфофункционального статуса рыб.

Методика. Первичные материалы получены в условиях экспериментального частного предприятия «Оазис Бисан». Камеральная обработка ихтиологических образцов выполнена в соответствии с общепризнанными методиками и руководствами. Гистологические исследования осуществлены с использованием авторского оборудования и оригинальных методик, специально предназначенных для диагностики тканей рыб. Полученные результаты обрабатывали методами вариационной статистики с использованием пакета соответствующих прикладных программ «Microsoft Excel» с акцентированием внимания на ошибки средних величин.

Результаты. Микроанатомические исследования позволили установить, что адаптация стерляди к условиям УЗВ после транспортировки составила 12 суток. По результатам мониторинга, наиболее контрастные приспособительные изменения к новым условиям содержания отмечены в маргинальной зоне печени, тонком отделе кишечника и поджелудочной железе.

При потенциальном воздействии стрессового фактора в печени рыб отмечается смещение функции клеток в виде сдвигов цитологических характеристик. Увеличение значения линейных размеров гепатоцитов в 1,54 раза адекватно приводит к увеличению значения параметров ядер в 1,44 раза. Это является показателем изменения характера внутриклеточного метаболизма. Низкие значения количества внутриклеточных полостей в начале адаптации являются прямым доказательством затухания липостатической функции гепатоцитов. Низкие значения отношения диаметра «ядрышко/ядро» (0,40 и 0,41) свидетельствует о смене клеточной функции в виде активизации синтеза гликогена.

В период действия стрессового фактора всасывание компонентов химуса в тонком кишечнике происходит с меньшей интенсивностью. Локальная аккумуляция поглощенных частиц в цитоплазме указывает на замедление пищеварительных процессов. Спустя 8 суток, при адекватных условиях кормления и содержания в слизистой оболочке тонкого кишечника можно наблюдать появление бокаловидных glanduloцитов. Данный факт свидетельствует о нормализации функционирования кишечника.

Начальный период адаптации практически совпадает с пиком максимума стрессового состояния. В этот момент у рыб отмечено затухание секреторной активности поджелудочной железы. Существенное снижение интенсивности биосинтеза зимогена приводит к преобладанию в объеме гомогенного полюса ациноцитов над зимогенным полюсом. В процессе адаптации рыб к новым условиям кормления и содержания ациноциты

© А. М. Козий, 2020



приобретают специфический вид. Протеиназы и липазы в конце секреторного цикла клеток существуют преимущественно в активной форме и выявляются светооптическими методами в виде массы зимогенных гранул.

Научная новизна. Представлены новые, а также существенно обновленные существующие данные адаптации органов и тканей стерляди в условиях стрессового воздействия и постстрессовой адаптации. Впервые проведен гистологический анализ структуры маргинальной зоны печени, тонкого кишечника и поджелудочной железы двухлетних особей стерляди. Уточнена и дополнена информация о таксономических особенностях адаптационных изменений тканевых составляющих органов системы пищеварения в условиях замкнутого водообеспечения.

Практическая значимость. Полученная информация представляет ценность в морфофизиологических исследованиях, а также в рыбоводной практике в связи с существующей современной проблемой понижения жизненного статуса маточных стад осетровых рыб в акваториях различного происхождения и целевого назначения. Использование полученных данных позволяет качественно произвести отбор рыб с целью достижения в условиях замкнутого водообеспечения нормального репродуктивного потенциала.

Ключевые слова: стерлядь, стресс, адаптация, печень, поджелудочная железа, кишечник, клеточная функция, условия замкнутого водообеспечения.

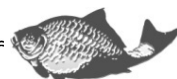
BIOMONITORING OF POST-STRESS ADAPTIVE CHANGES IN THE DIGESTIVE ORGANS OF STERLET IN CONDITIONS OF A RECIRCULATING AQUACULTURE SYSTEM

A. Kozij, kozij67@gmail.com, Kherson State Agrarian University, Kherson

Purpose. To analyze the peculiarities of post-stress adaptive changes in the digestive system of sterlet at the micro level in conditions of a recirculating aquaculture system. To investigate the dynamics of changes in the cellular composition of the liver, small intestine and pancreas during the adaptation period. To determine the prospect of using the data of histological monitoring in fish breeding practice in order to assess the morphological and functional status of fish.

Methodology. Primary materials were obtained in the conditions of an experimental private enterprise "Oasis Bisan". Cameral processing of ichthyological samples was carried out in accordance with generally recognized methods and guidelines. Histological studies were carried out using in-house equipment and original techniques specially designed for the diagnosis of fish tissue. The obtained results were processed by the methods of variation statistics using MS Excel with an emphasis on standard errors.

Findings. Microanatomical studies showed that the adaptation of sterlet to the conditions of a recirculating aquaculture system after transportation was 12 days. According to the monitoring results, the most contrasting adaptive changes to new conditions of captivity were noted in the marginal zone of the liver, the small intestine and the pancreas. Under the potential effect of a stress factor, a shift in cell function was noted in the form of shifts in cytological characteristics in the liver. An increase in the linear dimensions of hepatocytes by 1.54 times adequately leads to an increase in the values of the parameters of nuclei by 1.44 times. This is an indicator of a change in the character of intracellular metabolism. Low values of the number of intracellular cavities at the beginning of adaptation are a direct evidence of attenuation of the lipostatic function of hepatocytes. Low values of the "nucleolus/nucleus" diameter ratio (0.40 and 0.41) indicate a change in cellular function in the form of increased glycogen synthesis. During the period of action of the stress factor, the absorption of the components of the chyme in the small intestine occurs with less intensity. Local accumulation of absorbed particles in the cytoplasm indicates a slowdown in digestive processes. After 8 days, under adequate conditions of feeding and maintenance in the mucous membrane of the small intestine, the appearance of goblet glandulocytes can be observed. This fact indicates the



normalization of intestinal functioning. The initial period of adaptation practically coincides with the peak of the maximum stress state. At this moment, attenuation of the secretory activity of the pancreas was observed. A significant decrease in the intensity of zymogen biosynthesis leads to the predominance of acinocytes in the volume of the homogeneous pole over the zymogen pole. In the process of adaptation of fish to new conditions of feeding and keeping, acinocytes acquire a specific form. Proteinases and lipases at the end of the secretory cycle of cells exist mainly in an active form and are detected by light-optical methods in the form of a mass of zymogenic granules.

Originality. The paper presents new and significantly updated existing data on the adaptation of sterlet organs and tissues under stress and post-stress adaptation. For the first time, a comparative histological analysis of the structure of the marginal zone of the liver, small intestine and pancreas of age-1+ sterlet individuals was carried out. The information on the taxonomic peculiarities of adaptive changes in the tissue components of the digestive system organs in conditions of a recirculating aquaculture system has been clarified and supplemented.

Practical value. The information obtained is valuable in morphophysiological studies, as well as in fish-breeding practice in connection with the existing modern problem of lowering the vital status of sturgeon broodstock in waters of various origins and purposes. The use of the obtained data makes it possible to qualitatively select fish in order to achieve normal reproductive potential under conditions of a recirculating aquaculture system.

Key words: sterlet, stress, adaptation, liver, pancreas, intestines, cellular function, conditions of a recirculating aquaculture system.

БИОМОНИТОРИНГ ПОСТСТРЕССОВИХ АДАПТИВНИХ ЗМІН ОРГАНІВ ТРАВЛЕННЯ СТЕРЛЯДІ В УМОВАХ ЗАМКНЕНОГО ВОДОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ

О. М. Козій, kozij67@gmail.com, Херсонський державний аграрний університет,
м. Херсон

Мета. Проаналізувати особливості постстресових адаптивних змін органів травлення стерляді на мікрорівні в умовах замкнутого водозабезпечення. Дослідити динаміку змін клітинного складу печінки, тонкого кишечника та підшлункової залози протягом періоду адаптації. Визначити перспективу використання даних гістологічного моніторингу в риблицькій практиці з метою оцінки морфофункціонального статусу риб.

Методика. Первинні матеріали отримані в умовах експериментального приватного підприємства «Оазіс Бісан». Камеральна обробка іхтіологічних зразків виконана відповідно до загальноовизнаних методик і посібників. Гістологічні дослідження здійснені з використанням авторського обладнання та оригінальних методик, спеціально призначених для діагностики тканин риб. Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням пакету відповідних прикладних програм «Microsoft Excel», з акцентуванням уваги на похибки середніх величин.

Результати. Мікроанатомічні дослідження дозволили встановити, що адаптація стерляді до умов УЗВ після транспортування склала 12 діб. За результатами моніторингу, найбільш контрастні пристосувальні зміни до нових умов утримання відзначені в маргінальній зоні печінки, тонкому відділі кишечника, підшлунковій залозі.

При потенційному впливі стресового чинника, в печінці риб відзначається зміщення функції клітин у вигляді зрушень цитологічних характеристик. Зростання значень лінійних розмірів гепатоцитів в 1,54 раза адекватно призводить до збільшення значень параметрів ядер в 1,44 раза. Це є показником зміни характеру внутрішньоклітинного метаболізму. Низькі значення кількості внутрішньоклітинних порожнин на початку адаптації є прямим доказом згасання ліпостатичної функції гепатоцитів. Низькі значення відношення діаметра «ядерце/ядро» (0,40 і 0,41) свідчать про зміну клітинної функції у вигляді активізації синтезу глікогену.

В період дії стресового чинника всмоктування компонентів хімусу в тонкому кишечнику



відбувається з меншою інтенсивністю. Локальна акумуляція поглинених часточок в цитоплазмі вказує на уповільнення процесів травлення. Через 8 діб, за адекватних умов годівлі та утримання, в слизовій оболонці тонкого кишечника можна спостерігати появу келихоподібних гландулоцитів. Даний факт свідчить про нормалізацію функціонування кишечника.

Початковий період адаптації практично збігається з піком максимуму стресового стану. У цей момент у риб відмічено згасання секреторної активності підшлункової залози. Істотне зниження інтенсивності біосинтезу зимогену призводить до переважання в об'ємі гомогенного полюсу ациноцитів над зимогенним полюсом. У процесі адаптації риб до нових умов годівлі та утримання ациноцити набувають специфічного вигляду. Протеїнази і ліпази в кінці секреторного циклу клітин існують переважно в активній формі, що виявляється світлооптичними методами у вигляді скупчення зимогенових гранул.

Наукова новизна. Представлені нові, а також істотно оновлені існуючі дані щодо адаптації органів і тканин стерляді в умовах стресової дії і постстресових адаптації. Вперше проведено гістологічний аналіз структури маргінальної зони печінки, тонкого кишечника та підшлункової залози дворічних особин стерляді. Уточнено і доповнено інформацію про таксономічні особливості адаптаційних змін тканинних складових органів системи травлення в умовах замкненого водозабезпечення.

Практична значимість. Отримана інформація становить цінність в морфологічних дослідженнях, а також для рибницької практики в зв'язку з існуючою сучасною проблемою зниження життєвого статусу маточних стад осетрових риб в акваторіях різного походження та цільового призначення. Використання отриманих даних дозволяє якісно провести відбір риб з метою досягнення в умовах замкненого водозабезпечення нормального репродуктивного потенціалу.

Ключові слова: стерлядь, стрес, адаптація, печінка, підшлункова залоза, кишечник, клітинна функція, умови замкненого водозабезпечення.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМЫ И АНАЛИЗ ПОСЛЕДНИХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ПУБЛИКАЦИЙ

В настоящее время развитие осетроводства и искусственного воспроизводства фактически невозможно без формирования собственных ремонтно-маточных стад. Чаще всего в заводских условиях этот процесс осуществляется посредством выращивания рыб «от икры» до продуктивного состояния [16, 19]. Гораздо реже, по причине малочисленности естественных популяций осетровых рыб пользуются методом доместикации «диких» производителей [1, 3, 6]. В свое время, существовало ошибочное мнение относительно длительности сроков адаптации осетровых рыб после транспортировки с целью дальнейшего их содержания в промышленных условиях [18]. Сравнительно недавно, проблема формирования ремонтно-маточных стад при смене условий кормления и содержания осетровых рыб в пределах разных рыбоводных предприятий была достаточно дискуссионной [12, 23]. Полагалось, что в основе адаптации рыб после транспортировки лежит сложный процесс, который как с биологической, так и с экономической точки зрения неоправдан [22].

Анализ литературных данных в отношении изучаемого вопроса позволяет заключить, что в целях оценки физиологического состояния маточных стад в экстремальных условиях используется широкий спектр методов [2, 9, 24]. Применяемые в рыбоводстве биохимические исследования ориентированы на выявление аминокислотного и минерального состава мяса и икры рыб,



гематологические — на выявление динамичности форменных элементов и химического состава и плазмы крови в период критических нагрузок на организм [8, 13, 15, 20]. Рядом проведенных в данном направлении экспериментов было убедительно доказано, что в условиях заводского кормления и содержания нормальное протекание адаптации у рыб находится в зависимости от функционального состояния желудочно-кишечного тракта, что, в свою очередь, имеет связь с определенными морфологическими изменениями на уровне крови [17].

Общеизвестно, что выявление механизмов адаптации рыб к факторам различного происхождения является одним из ключевых моментов в решении проблемы взаимодействия организма и среды обитания. В рыбоводных исследованиях наиболее востребованными являются морфологические и гистологические показатели [10, 11]. Наряду с известными маркерами, органы пищеварительного тракта являются важными индикаторами состояния организма. В условиях стрессовых нагрузок на функциональные системы, для кишечника и пищеварительных желез рыб характерна определенная реактивность, что, в свою очередь, согласуется с резервами функциональной способности. Как правило, последняя активизируется в виде разноплановых морфологических перестроек слизистой кишечника и паренхимы желез [4]. В ихтиологических исследованиях данная составляющая имеет теоретическую значимость, что дает возможность использовать ее при оценке функционального статуса рыб.

ВЫДЕЛЕНИЕ НЕРЕШЕННЫХ РАНЕЕ ЧАСТЕЙ ОБЩЕЙ ПРОБЛЕМЫ. ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Как показывает сложившаяся практика, при учете большого количества накопленного фактического материала применение в промышленных условиях к осетровым рыбам микроанатомического мониторинга в настоящее время осуществляется далеко не в полной мере [5]. В частности, исследования зачастую фрагментарны, ограничиваются рамками обзора, что порождает дефицит информации относительно целостности картины происходящих изменений [21]. В результате нерегулярной периодичности проводимого мониторинга констатируется лишь конечный результат [7].

Становится очевидным, что в целях компенсации информационного пробела, в отношении изучаемого вопроса необходим комплексный подход с расширением диапазона исследований. Обоснованность данного подхода состоит в том, что функциональная лабильность организма наиболее ощутимо проявляется в раннем постнатальном онтогенезе, преимущественно в виде адаптивных перестроек тканевых составляющих. Скорость приспособительных реакций особей к новым условиям содержания в определенный критический период значительно варьирует, что происходит на фоне подавления темпа клеточной дифференциации. В свою очередь, это влечет за собой резкое ухудшение состояния здоровья, что отражается на качественных характеристиках маточного стада. Микроанатомическое изучение ряда органов и тканей как своеобразных индикаторов стресса позволяет в пределах функциональных систем максимально детализировать картину направленности адаптационных процессов и связанных с ними структурных изменений в организме рыб. Оперирование подобного рода данными позволяет своевременно избежать больших производственных затрат.



Таким образом, учитывая вышесказанное, установления критериев нормы морфофункционального состояния стерляди в индустриальных условиях в совокупности с микроанатомическими исследованиями пищеварительной системы имеет большое теоретическое и научно-прикладное значение. Озвученные выше концепции сформулировали основную цель и задачи исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнялась в рамках плана Научно-исследовательских программ ГВУЗ-а «Херсонский аграрный университет» по теме «Микроанатомическая характеристика ихтиофауны внутренних водоемов разного происхождения и целевого назначения» (№ госрегистрации 0117U002809).

В основу работы легли результаты исследований, проведенных в осенний период 2018 г. С целью оценки уровневых изменений тканевых и клеточных составляющих органов пищеварительной системы, произошедших на фоне стресса (вылов и транспортировка из производственно-экспериментального Днепровского осетрового рыбозаводного завода), мы исследовали 10 двухлетних самок стерляди с максимально приближенными линейными размерами.

Сбор материалов осуществлялся в условиях экспериментального ЧП «Оазис Бисан» (УЗВ) при температуре воды в бассейнах 24-26°C, а обработка — в лаборатории ихтиологии Херсонского ГАУ. Видовую принадлежность, возраст исследуемых особей устанавливали по современным определителям [9], которые являются общепризнанными в практике ихтиологических исследований. Принадлежность к полу при этом не учитывалась.

За основу микроанатомической оценки полученного материала была взята структура печеночной паренхимы и поджелудочной железы. Поскольку объекты исследования относятся к желудочным рыбам, гистологическому анализу были подвергнуты также участки тонкого отдела кишечника, как наиболее показательного в отношении реакции на присутствие химуса во время стресса. Камеральную обработку материала проводили в условиях лаборатории гистологии цитологии и эмбриологии Черноморского национального университета имени Петра Могилы. Использовано оборудование и методики, специально предназначенные для гистологической диагностики тканей гидробионтов животного происхождения [10], с привлечением оптической аппаратуры «E. Leitz «Diaplan» Wetzlar», галогенного осветителя «Linvatec-2» (США) номинальной мощностью 10–240 Вт.

Контрастирование гистологических препаратов выполняли с помощью корректирующих фильтров «ЖЗМ 2,5^x», «MONOCHROM 2,5^x» (Белоруссия). Микрофотографирование гистологических срезов выполняли цифровой камерой «Nikon D-60» (Австрия), с применением стандартной тринокулярной насадки 1,6^x и встроенного цифрового определителя экспозиции съемки «Minolta-EK» (Япония).

Общие морфометрические исследования тканевых структур выполнены при помощи встроенного окуляр-микрометра.

Получение достоверной информации в определении направленности и



специфики тканевых перестроек достигались с применением метода пластической реконструкции. Сущность метода заключается в выполнении тонких (3,0 мкм), пространственно ориентированных гистологических срезов с последующим синтезом объемного изображения («MICAM» (Бельгия)).

Корректирующая обработка микроснимков проведена с помощью компьютерных программ «Microsoft Office Picture Manager» и «FS Viewer». Полученные результаты обрабатывали методами вариационной статистики с использованием пакета прикладных программ «Microsoft Excel» с акцентированием внимания на ошибки средних величин [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты микроанатомических исследований позволили установить, что адаптация двухлетних особей стерляди к условиям УЗВ составила 12 суток. На протяжении указанного периода наиболее контрастные приспособительные изменения к новым условиям содержания были отмечены в маргинальной зоне печени. В частности, специфические изменения гепатоцитов обнаруживались в виде неравномерности, либо же в полном отсутствии вакуолизации цитоплазмы, что отличается от нормы (рис. 1).

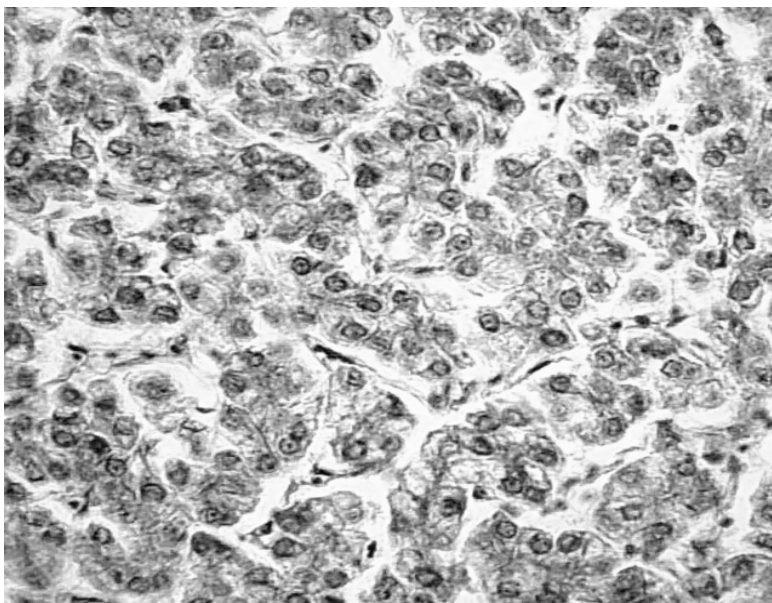


Рис. 1. Структура маргинальной зоны паренхимы печени двухлетней особи стерляди в начальном периоде адаптации. Гепатоциты в стадии профазы (телофазы)

Fig. 1. The structure of the marginal zone of the liver parenchyma of a two-year-old sterlet in the initial period of adaptation. Hepatocytes in the prophase (telophase)

Согласно содержанию рисунка 1, гепатоциты приобрели форму, близкую к кубической. Ядра клеток умеренно гиперхроматичные по отношению к основному красителю. Примечательной особенностью данной микрокартины



является умеренное расширение синусоидов. Отдельные гепатоциты пребывают в стадии профазы (или средней телофазы).

При потенциальном воздействии стрессового фактора на организм рыб отмечается смещение функции клеток, что сопровождается сдвигами цитологических характеристик. В период адаптации показатели цитоструктуры нормализуются (табл. 2).

Таблица 2. Динамика изменения цитоструктуры маргинальной зоны печени двухлетних особей стерляди при адаптации в условиях УЗВ. М ± m, n = 10

Table 2. Dynamics of changes in the cytostructure of the marginal zone of the liver of two-year-old sterlet individuals during adaptation in the conditions of CWS. M ± m, n = 10

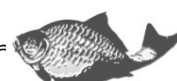
Период адаптации / Adaptation period	Показатели / Indicators				
	Размер клеток, мкм / Cell size, μm	Размер ядра, мкм / Nucleus size, μm	Отношение диаметра «ядро/клетка» / The ratio of the diameter of the "nucleus/cell"	Отношение диаметра «ядрышко/ядро» / The ratio of the diameter of the "nucleolus /nucleus"	Количество внутриклет. полостей, % / Number of intracellular cavities, %
1 сутки / 1 day	7,93±3,54	4,01±0,29	0,39±0,41	0,40±0,26	2,46±0,71
4 сутки / 4 day	8,13±2,26	4,04±0,07	0,45±0,32*	0,41±0,12	3,52±0,95
8 сутки / 8 day	10,45±2,14*	4,69±0,81	0,47±0,23*	0,42±0,29	9,27±5,12***
12 сутки / 12 day	12,24±3,12**	5,78±0,77*	0,51±0,29**	0,43±0,21*	10,47±4,13***

Примечание. * — P<0,1; ** — P<0,01; *** — P<0,001.

Note. * — P<0,1; ** — P<0,01; *** — P<0,001.

Анализ данных представленной таблицы позволяет заключить, что увеличение значения линейных размеров клеток в 1,54 раза (что статистически достоверно) адекватно приводит к увеличению значения параметров ядер (в 1,44 раза, соответственно), что является показателем изменения характера внутриклеточного метаболизма. Низкие значения (2,46 и 3,52%) количества внутриклеточных полостей, наблюдаемые в первые 4 суток от начала адаптации, являются прямым доказательством затухания липостатической функции гепатоцитов. Аналогичным образом, довольно низкие значения отношения диаметра «ядрышко/ядро» (0,40 и 0,41) свидетельствуют о смене клеточной функции в виде активизации синтеза гликогена. Указанный факт подтверждается также исчезновением в клетках типичной монохромазии. Усиление синтетической функции визуально определяется появлением специфической зернистости и «насыщенности» цитоплазмы.

В конце периода адаптации (10 сутки) печень рыб приобретает общие для *Teleostei* микроструктурные признаки (рис. 2).



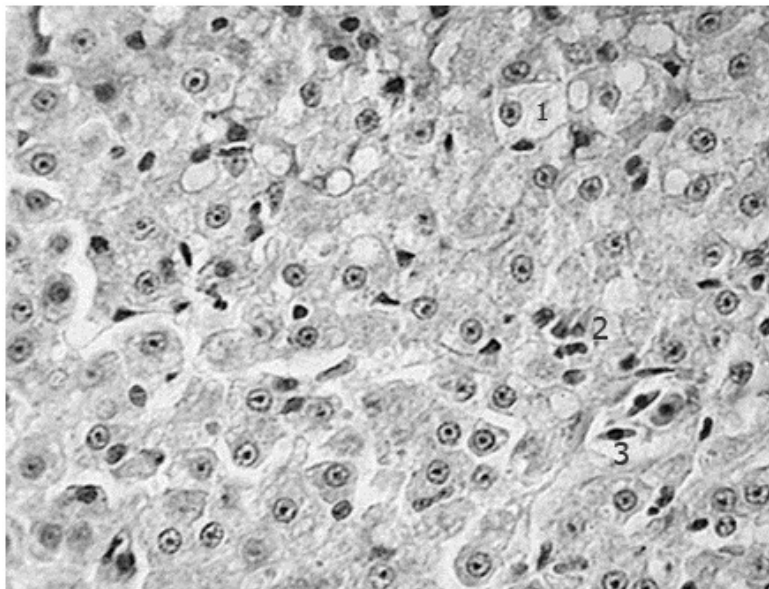


Рис. 2. Структура паренхимы печени (маргинальная зона) двухлетней особи стерляди. Норма. Конечная фаза адаптации: 1 — гепатоцит; 2 — синусоид; 3 — венула

Fig. 2. The structure of the liver parenchyma (marginal zone) of a two-year-old sterlet. Norm. The final phase of adaptation: 1 — hepatocyte; 2 — sinusoids; 3 — venule

Из представленного рисунка 2 видно, что паренхима маргинальной зоны органа образована узкими балками, сформированными отходящими от центральной вены радиальными тяжами гепатоцитов. Показано также, что в норме цитоплазма печеночных клеток, как правило, умеренно ацидофильная. Цитоплазма содержит множество мелких вакуолей. Ядра гепатоцитов округлые (реже — эллиптические), с отчетливо различимыми глыбками хроматина и ориентированные преимущественно центрально. Печеночные балки тесно перевиваются с синусоидными капиллярами, имеющими вид узких щелей между тяжами гепатоцитов. Ядра эндотелия синусоидов вытянутые, иногда палочковидные, местами выступают в просвет сосуда.

Гепатоциты обращены одной стороной к синусоидам, другой — к желчным капиллярам, что полностью соответствует общему плану гистологического строения печени представителей *Chordata*. Использование эффективного метода пластической реконструкции позволило установить, что гистологическая структура печени стерляди неоднородна, однако без каких-либо резких границ условно поделена на три зоны. Клетки маргинальной зоны содержат в том или ином количестве липидные вакуоли, медиальной зоны — преимущественно синтезируют гликоген, каудальной зоны — интенсивно синтезируют и секретируют желчь. Исследование серийных гистосрезов позволило установить, что, что в норме аккумуляция липидов, синтез гликогена и секреция желчи у стерляди происходят с различной интенсивностью, отчего фактически существует смещение определенной функции, приводящее к узкой клеточной специализации в пределах отдельно взятой зоны.



Внешний вид гепатоцитов соответствует их функциональному назначению, что в целом свойственно рыбам. В норме, клетки маргинальной зоны преимущественно полигональной формы. Их цитоплазма чаще всего содержит определенное количество включений, что отвечает различным фазам липидной аккумуляции.

Наблюдения показывают, что в самом начале периода адаптации рыбы неохотно поедали корма. В данной связи, реакция составляющих кишечной трубки рыб в начальный период адаптации носит достаточно специфический характер (рис. 3).

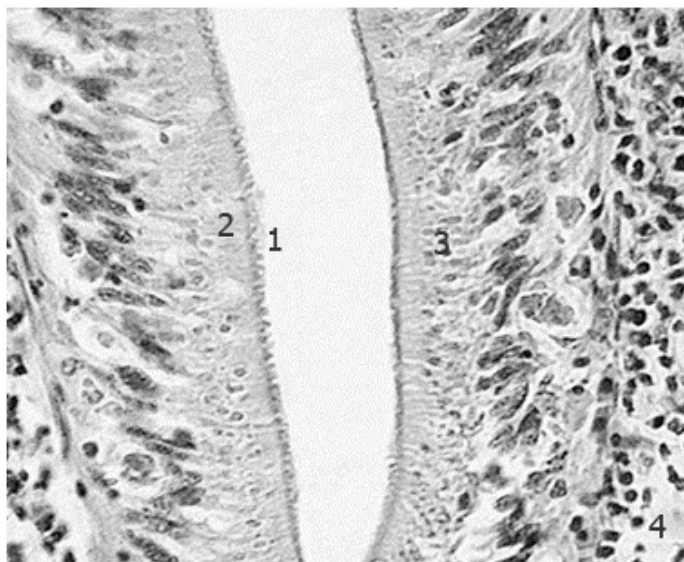


Рис. 3. Измененная структура тонкого отдела кишечника двухлетней особи стерляди в начальном периоде адаптации: 1 — щеточная кайма; 2 — энтероциты; 3 — скопления пищеварительных вакуолей; 4 — собственная пластинка слизистой оболочки

Fig. 3. Changed structure of the small intestine of a two-year old sterlet in the initial period of adaptation: 1 — brush border; 2 — enterocytes; 3 — accumulations of digestive vacuoles; 4 — own plate of the mucous membrane

Судя по содержанию рисунка 3, в период действия стрессового фактора рыб всасывание и клеточное переваривание компонентов химуса происходят с гораздо меньшей интенсивностью, что само по себе физиологически оправдано. Свидетельством тому является локальная аккумуляция крупных пищеварительных вакуолей в цитоплазме, что дополнительно указывает на замедление пищеварительных процессов. Высота клеточного пласта слизистой уменьшилась, ядра приобрели скорее базальную ориентацию, щеточная кайма прерывиста.

Установлено, что на 8 сутки адаптации, при адекватных условиях кормления и содержания, микроанатомическая картина тонкого кишечника стерляди претерпела определенные изменения (рис. 4).



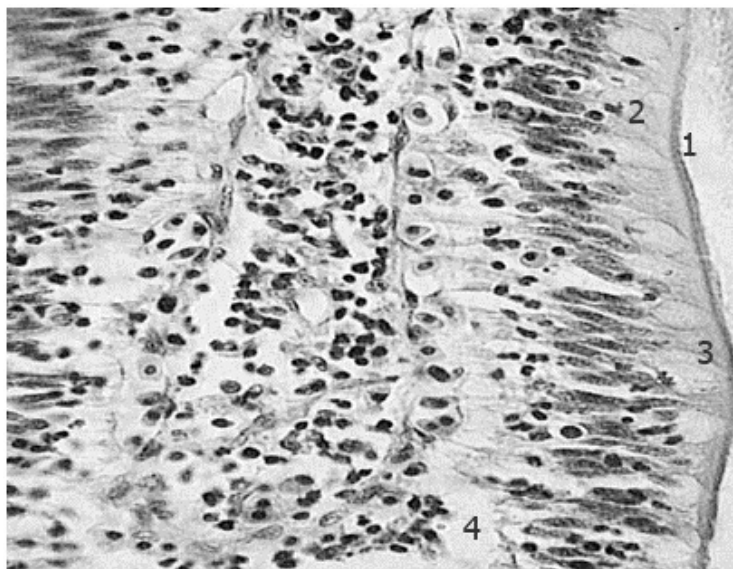


Рис. 4. Структура тонкого отдела кишечника двухлетней особи стерляди в норме. Вторая половина периода адаптации: 1 — щеточная кайма; 2 — энтероциты; 3 — бокаловидные glandулоциты; 4 — собственная пластинка слизистой оболочки

Fig. 4. The structure of the small intestine of a two-year-old sterlet is normal. Second half of the adaptation period: 1 — brush border; 2 — enterocytes; 3 — goblet glandulocytes; 4 — own plate of the mucous membrane

Согласуясь с данными рисунка 4, можно заключить, что энтероциты слизистой оболочки кишечной складки сравнительно высокие, с отчетливо выраженной непрерывающейся щеточной каймой. Ядра клеток ориентированы преимущественно центрально, что является свидетельством адекватного всасывания и переваривания эпителиоцитами химуса. В правой части указанного рисунка можно видеть ряд бокаловидных glandулоцитов на стадии накопления мукоидного секрета, который по мере высвобождения обеспечивает продвижение химусовых масс вдоль пищеварительного канала.

В начальный период адаптации (что практически совпадает с пиком максимума стрессового состояния), у рыб в системе органов пищеварения отмечено затухание секреторной активности желез. В рассматриваемом случае, это показательно проявляется на примере структуры поджелудочной железы (рис. 5).

Анализ содержания рисунка 5 показывает, что клетки (ациноциты), образующие концевые отделы экзокринной части органа, высокие, конусовидные. Ядра их округлые, с ясными глыбками хроматина, ориентированы к базальной части клеток. Апикальные концы клеток оксифильные, базальные концы приобретают тон основного красителя. Концевой отдел и дольки железы окружены прослойками рыхлой соединительной ткани. Отмечено, что в период воздействия стрессового фактора интенсивность биосинтеза зимогена существенно снижена, вследствие чего гомогенный полюс ациноцитов преобладает в объеме над зимогенным.



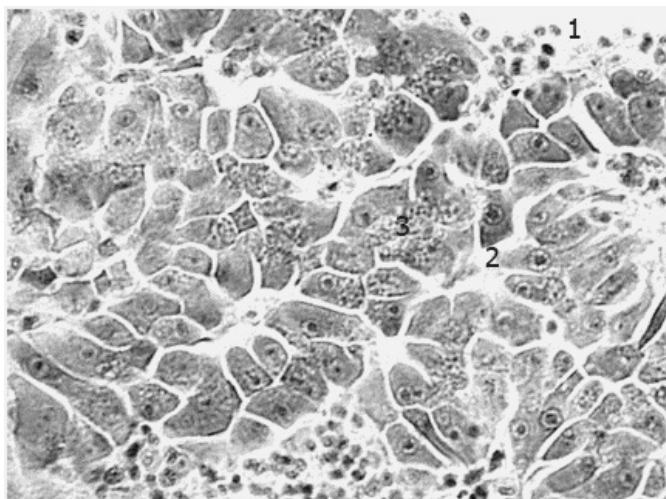


Рис. 5. Измененная структура поджелудочной железы двухлетней особи стерляди в начальном периоде адаптации: 1 — капилляр; 2 — однородный полюс ациноцита; 3 — зимогенный полюс ациноцита

Fig. 5. Altered structure of the pancreas of a two-year old sterlet in the initial period of adaptation: 1 — capillary; 2 — homogeneous pole of acinocyte; 3 — zymogenic pole of acinocyte

К числу характерных признаков нормализации функционального состояния ациноцитов относится наблюдаемая в апикальной части клеток обширная «пенистость» цитоплазмы (рис. 6).

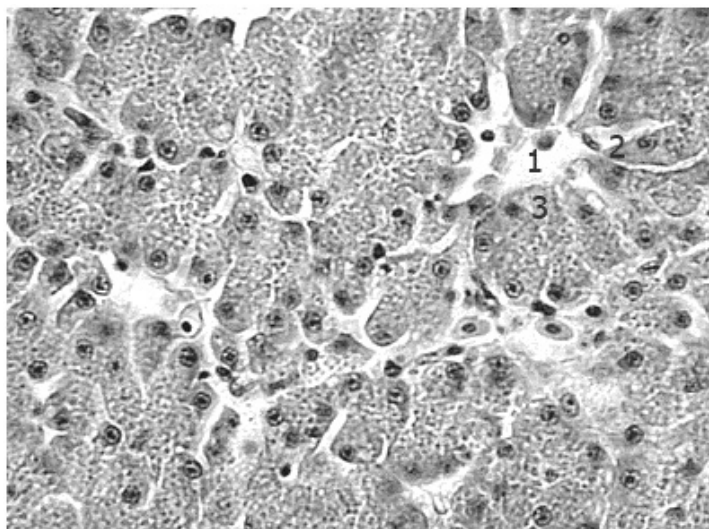


Рис. 6. Структура поджелудочной железы двухлетней особи стерляди в конечном периоде адаптации: 1 — капилляр; 2 — зимогенный полюс ациноцита; 3 — однородный полюс ациноцита.

Fig. 6. The structure of the pancreas of a two-year-old sterlet in the final period of adaptation: 1 — capillary; 2 — zymogenic pole of acinocyte; 3 — homogeneous acinocyte pole



Согласно полученной информации, специфический вид ациноцитов обусловлен тем, что в процессе адаптации рыб к новым условиям кормления и содержания протеиназы и липазы модифицируются и в конце секреторного цикла существуют преимущественно в активной форме. Светооптическими методами они выявляются в виде массы зимогенных гранул (см. рис. 6).

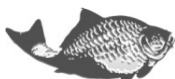
Анализ полученного фактического материала показывает, что морфофункциональное состояние органов и тканей позволяет судить о способности объектов аквакультуры адекватно реагировать на воздействие стрессовых факторов. Наблюдения показывают, что наиболее ощутимые трансформации тканевых составляющих выявляются у рыб, находящихся под влиянием смены параметров среды обитания. Полученные нами данные определенно схожи с таковыми проведенных ранее экспериментов [7, 17], однако при этом показывают специфичность реакции в заводских условиях, что у стерляди из естественных акваторий практически нивелировано.

Поэтапное изучение серий гистологических препаратов позволило выявить в отношении рыб как общие, так и специфические черты реакции клеток и тканей. При нахождении стерляди в условиях УЗВ, на фоне стабильных гидрологических (гидрохимических) показателей и адекватной кормовой базы, в маргинальной зоне печени были выявлены совпадения значений константы Гертвига (ядерно-цитоплазматического отношения) гликогенсодержащих и липосодержащих гепатоцитов, что исключает наличие признаков клеточной патологии. В то же время, изменение значения линейных размеров клеток при адекватном изменении значения параметров ядер прямо указывает на изменение характера внутриклеточного метаболизма. Снижение количества внутриклеточных полостей является доказательством нивелирования и последующего затухания липостатической функции и активизации синтеза гликогена, что естественно востребовано ввиду его дефицита в условиях стресса. На клеточном уровне это подтверждается исчезновением типичной монохроматии и появлением специфической зернистости цитоплазмы, что также является свидетельством переориентации механизмов тканевого метаболизма [4].

Следовало ожидать, что нормализация функционального состояния органов пищеварения у стерляди произойдет синхронно. В действительности, секреторная активность панкреатических структур проявилась после инициации и становления нормальной клеточной активности слизистой оболочки тонкого кишечника. Подобного характера физиологическая картина не свойственна для безжелудочных рыб [17], что, на наш взгляд, необходимо учитывать при выборе схемы кормления, особенно в периоды адаптации и подготовки к нересту.

С нашей точки зрения, представляет интерес пребывание отдельных гепатоцитов на стадии профазы (или же средней телофазы). Представляется очевидным, что их нахождение в условиях колебаний цитоструктуры печени указывает, с одной стороны, на стабилизацию процесса смещения клеточной функции и, с другой стороны, — отображает видоспецифическую вариабельность адаптационных потенциалов организма. В данном направлении наши результаты обнаруживают отдельные несоответствия с таковыми у стерляди из естественных акваторий [24].

Сопоставляя собственные и имеющиеся в доступной литературе данные [16],



можно заключить, что в биологическом мониторинге изучением стрессовой реактивности и адаптации органов на тканевом и клеточном уровнях пренебрегать нельзя. Поскольку организм гидробионтов животного происхождения особенно чувствителен к изменению параметров среды обитания, качественные изменения клеточного состава провоцируют расширение диапазона индивидуальной реакции тканей, а вместе с тем адекватный ответ составляющих жизненно важных систем на воздействие стрессового фактора. В данной связи, у стерляди (УЗВ) следует отметить отсутствие характерного для рыб естественных акваторий застоя желчи, сопровождаемого расширением билиарных протоков, а также разноплановые нарушения в развитии гонад. Последнее обстоятельство в прогнозе позволяет качественно произвести отбор стерляди с целью достижения в условиях замкнутого водообеспечения нормального репродуктивного потенциала маточного стада.

ВЫВОДЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕГО РАЗВИТИЯ

В условиях стресса достижение экстремальных уровней в микроструктуре органов демонстрирует адекватность отдельных сторон метаболизма в виде адаптивного ответа их составляющих на физиологический статус организма в целом.

Специфичность реакции маргинальной зоны печени проявляется в виде увеличения диаметра клеток и ядер, что сопоставимо с интерфазным протеканием процессов репарации и свидетельствует о повышении адаптационных возможностей особей.

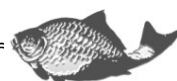
Смена среды обитания приводит у рыб к переориентации отдельных сторон клеточного метаболизма, что определяет балансный характер содержания в гепатоцитах липидов, с последующей компенсацией дефицита гликогена как основного источника энергии.

Признаки нормализации функции ациноцитов поджелудочной железы стерляди выражаются в уменьшении объема гомогенного полюса, что обусловлено интенсивностью биосинтеза зимогена в связи с предшествующей активизацией функции клеточного состава слизистой тонкого кишечника.

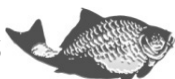
Представленная фактическая информация дает возможность использования полученного материала не только в морфофизиологических исследованиях, но также и в практике осетроводства в связи с существующей проблемой снижения жизненного статуса особей в условиях стресса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абросимова Н. А., Лобзакова Т. В. Первый опыт domestikации диких осетровых рыб на Донском ОРЗ // Научные подходы к решению проблем производства продуктов питания : межвузовский сборник научных трудов. Ростов-на-Дону : Ростовский университет, 2004. С. 107—111.
2. Алдохин А. С., Волосников Г. И. Сравнительный анализ морфометрических показателей стерляди зимовальных ям Нижнего Иртыша // Вестник АГТУ. 2018. № 4. С. 90—95. (Серия : Рыбное хозяйство).
3. Бахарева А. А., Грозеску Ю. Н., Сырбулов Д. Н. Опыт domestikации «дикой» стерляди в условиях рыбоводного комплекса на Волжской ГЭС // Повышение



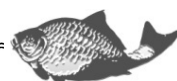
- эффективности использования водных биологических ресурсов Мирового океана : Междунар. науч.-практ. конф. : матер. Москва, 2005. С. 131—133.
4. Бедняков Д. А., Федорова Н. Н., Неваленная Л. А. Сравнительная характеристика гистологического строения кишечного эпителия осетровых рыб и их гибридов // Вестник АГТУ. 2012. № 1. С. 121—124 (Серия : Рыбное хозяйство).
 5. Васильева Л. М., Кашеева А. Н., Астафьева С. С. Сравнительная оценка репродуктивной функции доместичированных самок русского осетра // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК — продукты здорового питания. 2014. № 4. С. 28—33.
 6. Грозеску Ю. Н., Бахарева А. А., Сырбулов Д. Н. Технологические системы для формирования и содержания ремонтно-маточных стад стерляди // Рыбное хозяйство. 2009. № 5. С. 47—49.
 7. Дубровская А. В., Швелелева Н. Н., Романов А. А. Гистоморфологические исследования некоторых органов и тканей осетровых в морской и речной период жизни // Рыбохозяйственные исследования на Каспии : Результаты НИР за 2000 год. Астрахань : КаспНИРХ, 2001. С. 407—411.
 8. Егорова В. И., Наумова В. В., Кирьянов Д. А. Ветеринарно-санитарная оценка качества и безопасности товарной стерляди, выращенной с использованием рециркуляционных технологий // Вестник Астраханского государственного технического университета. 2018. № 4. С. 111—116 (Серия : Рыбное хозяйство).
 9. Калайда М. Л., Говоркова Л. К. Методы рыбохозяйственных исследований. Санкт-Петербург : Проспект науки, 2013. 288 с.
 10. Козий М. С. Оценка современного состояния гистологической техники и пути усовершенствования изучения ихтиофауны. Херсон : Олди-плюс, 2009. 310 с.
 11. Козий М. С. Гистоморфологические особенности ихтиофауны Юга Украины. Херсон : Олди-плюс, 2011. 180 с.
 12. Кокоза А. А. Искусственное воспроизводство осетровых рыб. Астрахань : АГТУ, 2004. 208 с.
 13. Корчунов А. А., Металлов Г. Ф., Григорьев В. А. Динамика биохимического состава тела и половых продуктов стерляди (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758) естественных популяций и выращенных в установках замкнутого водоснабжения // Вестник АГТУ. 2012. № 1. С. 136—143 (Серия : Рыбное хозяйство).
 14. Лакин Г. Ф. Биометрия. Москва : Высшая школа, 1990. 293 с.
 15. Наумова В. В., Кирьянов Д. А., Свешникова Е. В. Безопасность стерляди, выращенной в условиях УЗВ // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2017. С. 81—85.
 16. Пономарев С. В., Иванов Д. И. Осетроводство на интенсивной основе : учебник. Москва : Колос, 2009. 312 с.
 17. Свешникова Е. В., Наумова В. В., Кирьянов Д. А. Сравнительная характеристика использования обменной энергии карпа и толстолобика // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2019. № 3. С. 179—182.
 18. Строганов Н. С. Акклиматизация и выращивание осетровых рыб в прудах. Москва : МГУ, 1968. 254 с.



19. Сырбулов Д. Н., Николаев А. И., Дудин К. В. Формирование ремонтно-маточного стада — путь гарантированного получения молоди волжских осетровых // Рыбное хозяйство 2005. № 4. С. 22—23.
20. Хрусталева Е. И., Курапова Т. М., Гончаренко О. Е. Корма и кормление в аквакультуре. Санкт-Петербург : Лань, 2017. 388 с.
21. Чемагин А. А. Обзор некоторых аспектов экологии стерляди (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758) // Вестник АГТУ. 2018. № 2(66). С. 115—122.
22. Чипинов В. Г., Пономарев С. В., Чипинова Г. М. Руководство по формированию маточного стада осетровых рыб методом доместикации. Астрахань, 2004. 24 с.
23. Шевченко В. Н., Емелин М. В. Современное состояние ремонтно-маточного стада осетровых рыб, формируемого на НЭБ «БИОС» // Рыбохозяйственные исследования в низовьях реки Волги и Каспийском море : сборник научных трудов. Астрахань, 2012. С. 184—187.
24. Lenhardt M., Prokes M., Jaric I. Comparative analysis of morphometric characters of juvenile starlet *Acipenser ruthenus* L. from natural population and aquaculture // Journal of Fish Biology. 2005. № 65. P. 320—320.

REFERENCES

1. Abrosimova, N. A., & Lobzakova, T. V. (2004). Ervyj opyt domestikacii dikikh osetrovyykh ryb na Donskom ORZ. *Mezhvuzovskij sbornik nauchnykh trudov: Nauchnye podkhody k resheniyu problem proizvodstva produktov pitaniya*. Rostov-na-Donu: Rostovskogo universtiteta, 107-111.
2. Aldokhin, A. S., & Volosnikov, G. I. (2018). Sravnitelnyj analiz morfometricheskikh pokazatelej sterlyadi zimovalnykh yam Nizhnego Irtysha. *Vestnik AGTU, seriya: Rybnoe khozyajstvo, 4*, 90-95.
3. Bakhareva, A. A., Grozesku, Yu. N., & Syrbulov, D. N. (2005). Opyt domestikacii «dikoj» sterlyadi v usloviyakhrybovodnogo kompleksa na Volzhskoj GES. *Materialy Mezhdunarodnaya nauchno-prakticheskaya konf.: Povyshenie effektivnosti ispolzovaniya vodnykh biologicheskikh resursov Mirovogo okeana*. Moskva, 131-133.
4. Bednyakov, D. A., Fyodorova, N. N., & Nevalyonnaya, L. A. (2012). Sravnitel'naya kharakteristika gistologicheskogo stroeniya kishechnogo epiteliya osetrovyykh ryb i ikh gibridov. *Vestnik AGTU. Seriya: Rybnoe khozyajstvo, 1*, 121-124.
5. Vasileva, L. M., Kashheeva, A. N., & Astaf'eva, S. S. (2014). Sravnitel'naya ocenka reproductivnoj funkczii domesticzirovannykh samok russkogo osetra. *Tekhnologii pishhevoj i pererabaty`vayushhej promyshlennosti APK — produkty zdorovogo pitaniya, 4*, 28-33.
6. Grozesku, Yu. N., Bakhareva, A. A., & Syrbulov D. N. (2009). Tekhnologicheskie sistemy dlya formirovaniya i sodержaniya remontno-matochnykh stad sterlyadi. *Rybnoe khozyajstvo, 5*, 47-49.
7. Dubrovskaya, A. V., Sheveleva, N. N., & Romanov, A. A. (2001). Gistomorfologicheskie issledovaniya nekotorykh organov i tkanej osetrovyykh v morskoy i rechnoj period zhizni. *Rybokhozyajstvennyye issledovaniya na Kaspii: Rezultaty NIR za 2000 god*, 407-411.
8. Egorova, V. I., Naumova, V. V., & Kiryanov, D. A. (2018). Veterinarno-sanitarnaya ocenka kachestva i bezopasnosti tovarnoj sterlyadi, vyrashhennoj s ispolzovaniem reczirkulyacionnykh tekhnologij. *Vestnik Astrakhanskogo*



- gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. Seriya: Rybnoe khozyajstvo, 4, 111-16.*
9. Kalajda, M. L., & Govorkova, L. K. (2013). *Metody rybokhozyajstvennykh issledovaniy*. Sankt-Peterburg: Prospekt nauki.
 10. Kozij, M. S. (2009). *Oценка современного sostoyaniya gistologicheskoy tekhniki i puti usovershenstvovaniya izucheniya ikhtiofauny*. Kherson: Oldi-plyus.
 11. Kozij, M. S. (2011). *Gistomorfologicheskie osobennosti ikhtiofauny Yuga Ukrainy*. Kherson: Oldi-plyus.
 12. Kokoza, A. A. (2004). *Iskusstvennoe vosproizvodstvo osetrovyykh ryb*. Astrakhan: AGTU.
 13. Korchunov, A. A., Metallov, G. F., & Grigor`ev, V. A. (2012). Dinamika biokhimicheskogo sostava tela i polovykh produktov sterlyadi (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758) estestvennykh populyaczij i vyrashhenykh v ustanovkakh zamknutogo vodosnabzheniya. *Vestnik AGTU. Seriya: Rybnoe khozyajstvo, 1, 136-143.*
 14. Lakin, G. F. (1990). *Biometriya*. Moskva: Vysshaya shkola.
 15. Naumova, V. V., Kir`yanov, D. A., & Sveshnikova, E. V. (2017). Bezopasnost sterlyadi, vyrashhennoj v usloviyakh UZV. *Vestnik Ulyanovskoy gosudarstvennoy sel'skokhozyajstvennoy akademii, 81-85.*
 16. Ponomarev, S. V., & Ivanov, D. I. (2009). *Osetrovodstvo na intensivnoj osnove*. Moskva: Kolos.
 17. Sveshnikova, E. V., Naumova, V. V., & Kir`yanov, D. A. (2019). Sravnitel'naya kharakteristika ispolzovaniya obmennoj energii karpa i tolstolobika. *Vestnik Ulyanovskoy gosudarstvennoy selskokhozyajstvennoy akademii, 3, 179-182.*
 18. Stroganov, N. S. (1968). *Akklimatizatsiya i vyrashhivanie osetrovyykh ryb v prudakh*. Moskva: MGU.
 19. Syrbulov, D. N., Nikolaev, A. I., & Dudin, K. V. (2005). Formirovanie remontno-matochnogo stada — put garantirovannogo polucheniya molodi volzhskikh osetrovyykh. *Rybnoe khozyajstvo, 4, 22-23.*
 20. Khrustalev, E. I., Kurapova, T. M., & Goncharenok, O. E. (2017). *Korma i kormlenie v akvakulture*. Sanlt-Peterburg: Lan.
 21. Chemagin, A. A. (2018). Obzor nekotorykh aspektov ekologii sterlyadi (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758). *Vestnik AGTU, 2(66), 115-122.*
 22. Chipinov, V. G., Ponomaryov, S. V., & Chipinova, G. M. (2004). *Rukovodstvo po formirovaniyu matochnogo stada osetrovyykh ryb metodom domestikaczii*. Astrakhan.
 23. Shevchenko, V. N., & Emelin, M. V. (2012). Sovremennoe sostoyanie remontno-matochnogo stada osetrovyykh ryb, formiruemogo na NEB «BIOS». *Sbornik nauchnykh trudov: Rybokhozyajstvennye issledovaniya v nizovyakh reki Volgi i Kaspijskom more, 184-192.*
 24. Lenhardt, M., Prokes, M., & Jaric, I. (2005). Comparative analysis of morphometric characters of juvenile starlet *Acipenser ruthenus* L. from natural population and aquaculture. *Journal of Fish Biology, 65, 320-320.*

