

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ МАЛЬМЫ ИЗ РАЗНЫХ РЕК КАМЧАТКИ

К.В. Метальникова

*Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства
и океанографии (ВНИРО), Москва*

COMPARISON HISTOLOGIC RESEARCH OF SOME INTERNAL MALMA'S ORGANS FROM THE DIFFERENT RIVERS OF KAMCHATKA

К.В. Metal'nikova

*Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (VNIRO),
Moscow*

Изучение вреда, наносимого воспроизводству мальмы при природных и техногенных катастрофах, каковыми являются вулканическая деятельность и рудоразработки, весьма актуально для тех мест, где она обитает, и где происходят такие процессы. На гистологических срезах нами исследованы жабры, печень и гонады мальмы. Пробы этих органов были собраны сотрудниками лаборатории воспроизводства лососевых рыб ФГУП «ВНИРО» Е.В. Есиным и Ю.В. Сорокиным в различных реках Камчатского края: в р. Бармотина с чистой водой, руч. Бараньем (Балхач) – с техногенным загрязнением за счет антропогенного воздействия, р. Мутной – с загрязнением за счет вулканической деятельности (табл.).

Исходный материал для гистологии (Камчатка, 2010 г.)

Р. Мутная 10–11.09.2010 г. Очень грязная – вулканическая река с мутной водой и превышением ПДК_{рх}. Мутность более 10 мг/л, превышение ПДК_{рх} по Al, S, V, Cu, Fe, слабая токсичность воды. Зафиксировано 20 экз., из них в возрасте 2+ – 5 экз., в возрасте 1+ – 15 экз.

Руч. Бараний (Балхач) 02–03.09.2010 г. Умеренно загрязненный – порожисто-водопадный ручей (верховья бассейна р. Кимитина), вытекающий из горного цирка палеовулкана (потухшего), где происходит рудообразование и ведется геологоразведка золота. Незначительные превышения ПДК по Al, S и V. Вода не токсична. Зафиксировано 20 экз., из них в возрасте 2+ – 1 экз., в возрасте 3+ – 19 экз.

Р. Бармотина 2–3.08.2010 г. Чистая река восточного побережья на территории заповедника. В месте отлова гольцов полугорное русло с галечным дном. Мутность менее 1 мг/л. Предположительно фоновые условия, т.е. нарушений в тканях быть не должно. Зафиксировано 20 экз., из них в возрасте 1+ – 10 экз., в возрасте 2+ – 10 экз.

Гистологическую обработку проб осуществляли с использованием современного оборудования, по стандартным гистологическим методикам (Роскин, Левинсон, 1957), общее количество исследованного материала составило 7896 срезов и полей зрения микроскопа, сделана 281 фотография с использованием микроскопа Leica DMLS и фотонасадки к ней при увеличениях окуляра 10х и объективов $\times 10$, 20, 40. В ходе исследований и разработки методики были выявлены те изменения в жабрах, которые носят временный характер и могут меняться на протяжении жизни рыбы, и те, которые носят характер соматических изменений, связанных с нарушением обмена веществ (Метальникова, 2011).

Низкие средние показатели изменений в жабрах мальмы из р. Бармотина, 1.7 ± 0.81 %, свидетельствуют о нормальном состоянии жаберного аппарата. А изменения, которые наблюдаются, носят не систематический, а случайный характер, о чем свидетельствует очень высокий показатель изменчивости признаков $CV, \% = 122.4$ %. Это свидетельствует также о нормальном состоянии жабр. Одна треть рыб из р. Мутной обладает почти всеми изменениями в жабрах, которые присущи лососевым рыбам при обитании в неблагоприятных экологических условиях. Но при этом в р. Мутной 6.3 % рыб имеют нормальное строение жабр. Все аномалии, наблюдаемые у мальмы из руч. Бараньего (Балхач), скорее всего, результат неблагоприятных факторов, которые влияли достаточно длительное время на рыб: особенно слияние вторичных пластинок жаберных лепестков и разрушения в виде редуцирования вторичных пластинок жаберных лепестков, у 10.37 % исследованных рыб. Нарушения в жабрах мальмы в чистой р. Бармотина составили 51.5 %, т.е. – половину выборки, причем эти нарушения носили не систематический характер и, скорее всего, были случайными. А в выборке из руч. Бараньего (Балхач) нарушения в жабрах мальмы носили систематический характер и были вызваны нарушениями в среде обитания рыбы и составили 84.6 %, а у 15.4 % мальмы наблюдали разрушительные изменения в жабрах. Такая же ситуация у мальмы из р. Мутной: нарушения составили 89.5 %.

Более показательные изменения в организме рыбы под влиянием внешних факторов выявлены в печёночной ткани мальмы из исследуемых водоемов. Количество ядрышек в ядре печёночных клеток у рыб, по видимому, видоспецифический признак: у чавычи до 4 ядрышек, у кижуча – 2. Все выборки гольцов относились к одному и тому же роду *Salvelinus*. Количество клеток в 13.7 % с кариопикнозом очень высокое. В руч. Бараньем (Балхач) у мальмы кариопикноз наблюдали у 3.15 % в печени у исследованной рыбы, с разбросом от $\min = 0.1$ % до $\max = 13.7$ %: если минимальные значения можно принять, как фоновые изменения в качестве небольших отклонений при нормальном состоянии,

то максимальные значения говорят о том, что в кариоплазме более чем в 10 % печёночных клеток у рыб наблюдаются кардинальные изменения, которые уже нельзя отнести к простому модификационному (не наследуемому) изменению, то есть это генетические изменения специфического характера, зависящие от влияния условий внешней среды. По-видимому, идет серьёзный мутационный процесс. То же самое можно сказать и об изменениях в количестве ядрышек в кариоплазме печёночных клеток: если у 20 % исследованных рыб таких процессов не наблюдали, у 80 % исследованных рыб в ядрах печёночных клеток шли процессы митотических делений и в 31.75 % они проходили аномально, образуя клетки, в кариоплазме которых наблюдали и 2 ядрышка, и 3, и даже 4, что, возможно, свидетельствует о нарушениях в хромосомной плоидности исследованных рыб (Woznicki, Kuzminski, 2002). В р. Мутной кариопикноз вообще в печёночных клетках не встречался, а количество печёночных клеток с отклонениями в количестве ядрышек в кариоплазме было существенно меньше, чем в других загрязнённых реках. Количество печёночных клеток с аномальными изменениями в цитоплазме или кариоплазме печёночных клеток (зернистость кариоплазмы, пустоты в цитоплазме и кариоплазме, изменения формы клеток, отсутствие ядра, «двойные клетки» (задержавшийся процесс митотического деления клетки в оболочке материнской клетки) и другие аномальные явления) также приближается к 40 % от общего количества исследованных печёночных клеток у рыб в руч. Бараньем (Балхач). В р. Мутной в печени у рыб наблюдали большое количество аномальных печёночных клеток, более 35 %, что говорит о высокой степени влияния на организм рыб загрязнений из окружающей среды. Это отразилось негативно на формировании воспроизводительной системы у рыбы, особенно у самок, что в конечном итоге может отразиться на воспроизводстве данной популяции и её генетическом самочувствии. Сравнительный анализ трех субпопуляций мальмы показал, что субпопуляция из р. Бармотина была более однородна по уровню и качеству в изменениях на гистологических срезах печени, в которых выявили более низкий уровень вариабельности отклонений от нормы по сравнению с мальмой из руч. Бараньего (Балхач) и аналогичный – в р. Мутной, CV, %: 40 %, 82.41 % и 41.39 %, соответственно. Количество печёночных клеток с аномалиями у мальмы из р. Бармотина всего 2.7 % против 38.72 % у мальмы из руч. Бараньего (Балхач). В выборке из руч. Бараньего (Балхач) присутствовали как самки, так и самцы. Гонады у самок находились на 3-й ступени периода протоплазматического роста ооцитов, в превителлогенезе, в возрасте рыб 3+, а самцы этого же возраста имели гонады на 1-й стадии зрелости: сперматогонии начинали формировать семенные ампулы. У части самок наблюдали до 10 % ооцитов, в которых

кариоплазма смешивалась с цитоплазмой, что нормально в этом возрасте, а у остальных самок наблюдали такой артефакт, как образование дополнительного кольца вокруг ядра (Емельянова, 1994). Аналогичное явление наблюдали у самок в возрасте 1+ из р. Мутной. Выборка самок гольцов из р. Мутной была представлена, в основном, рыбами с гонадами на 2-й стадии зрелости, с ооцитами в периоде протоплазматического роста фазы превителлогенеза, но часть рыб имела гонады на 4-й поздней стадии зрелости, ооциты, заполненные жировыми каплями, с гранулами каротиноидов. Ооциты резорбировались за счет выхода питательных веществ из оболочек ооцитов, при этом сама оболочка не имела видимых в светооптический микроскоп нарушений. У самцов мальмы из р. Мутной была 2-я стадия зрелости, когда сперматоциты I и II порядков были сгруппированы в семенные ампулы, и часть самцов находились на 4 стадии зрелости, когда в семенных ампулах имеются сперматоциты I, II порядков, сперматиды и зрелые сперматозоиды. В гонадах самок из р. Мутной наблюдали тотальную резорбцию, а гонады самцов отличались классическим строением, свойственным дальневосточным лососям с прямым путем дифференциации гонад (Персов, 1975). При этом соотношение полов в выборке было равно 1 : 1. У самок и самцов наблюдали ускоренное развитие гонад, и это при 35.1 % аномально развивающихся печёночных клеток, в среднем, у гольцов из р. Мутной. На основании проведенных исследований при сравнительном анализе субпопуляций мальмы можно сделать вывод, что субпопуляция из р. Бармотина была чрезвычайно однородна по уровню изменений физиологических особенностей, проявившихся на гистологических срезах жабр, печени и гонад. Уровень техногенного воздействия очень высок на мальму из руч. Бараньего (Балхач), у которой изменения физиологических особенностей, выявленные с использованием гистологических исследований в жабрах, печени и гонадах были очень существенны. Менее, чем в руч. Бараньем (Балхач), пострадали рыбы из р. Мутной, но воздействие внешней среды сказалось, прежде всего, на воспроизводительной системе этих рыб. Все наблюдаемые изменения во внутренних органах мальмы из загрязненного руч. Бараньего (Балхач) и р. Мутной позволяют идентифицировать рыб, подвергавшихся техногенному воздействию, особенно в более старшем возрасте, как у особей из руч. Бараньего (Балхач) (3+) с задержкой в генеративном росте (при вулканическом и антропогенном воздействиях) и более ускоренным развитием гонад под влиянием внешних факторов (при вулканическом воздействии) у гольцов из р. Мутной в более младшем возрасте (1+ и 2+). По процентному количеству мальмы из таких популяций, возможно, оценивать ущерб, наносимый биологическим ресурсам исследуемой реки техногенным воздействием путем интерпретации количественной выборки

мальмы на всю популяцию при репрезентативной выборке по формуле Волхонской–Викторовского (Метальникова, 2006). В связи с этим необходимо продолжить работы по созданию метода идентификации рыбы по гистологическим исследованиям таких внутренних органов, как жабры (1-й уровень), печень (2-й уровень) и гонады (3-й уровень) по уровням воздействия техногенных катастроф на биологические объекты – рыб.

ЛИТЕРАТУРА

Емельянова Н.Г. 1994. Ультраструктура прерителлогенных ооцитов форели // Вопр. ихтиол. Т. 34. № 3. С. 420–423.

Метальникова К.В. 2006. Об оценке разнообразия самок чавычи по качеству икры (Малкинский ЛРЗ) // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей: матер. VII межд. науч. конф. Петропавловск-Камчатский : Камчат-пресс. С. 103–106.

Метальникова К.В. 2011. Анализ материалов гистологического исследования жабр мальмы из загрязненных рек Камчатки в сравнительном аспекте с мальмой из чистой реки // Сб. науч. статей «Аквакультура Центральной и Восточной Европы: настоящее и будущее», посвящ. II съезду NACEE (Сети Центров по аквакультуре в Центральной и восточной Европе). Кишинёв : Pontos. С. 156–164.

Персов Г.М. 1975. Дифференцировка пола у рыб. Л. : Изд-во ЛГУ. 145 с.

Роскин Г.И., Левинсон Л.Б. 1957. Микроскопическая техника. М. : Советская наука. 430 с.

Woznicki P., Kuzminski H. 2002. Chromosome number and erythrocyte nuclei length in triploid brook trout (*Salvelinus fontinalis*) // Caryologia. Vol. 55. № 4. P. 295–298.