

УДК 574.24

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ СОСТАВ КРОВИ РЯПУШКИ И ЕЕ ИЗМЕНЕНИЯ КАК БИОИНДИКАЦИОННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ УСЛОВИЙ ОБИТАНИЯ В БЕЛОМ ОЗЕРЕ (ВОЛОГОДСКАЯ ОБЛАСТЬ)

Кейстер И.А.

*Вологодский государственный педагогический университет, Вологда*

Подробная информация об авторах размещена на сайте

«Ученые России» - <http://www.famous-scientists.ru>

**В работе впервые для Вологодской области и Северо-Западного региона приводится общая картина морфологического состава крови ряпушки, и сделана попытка обсудить возможность применения полученных достоверных различий по основным элементам красной и белой крови для биоиндикации условий обитания. Показано, что изменения в установленных показателях морфологического состава крови и патологических форм элементов крови ряпушки свидетельствует о различном уровне и неравномерности антропогенной нагрузки по акватории озера Белое. Ключевые слова: биоиндикация, ряпушка, морфологический состав крови, патологические изменения крови.**

В настоящее время данные о физиологическом состоянии организмов широко используют для диагностирования изменений окружающей среды. Среди комплекса биоиндикационных методов важное место занимают гематологические исследования, основывающиеся на использовании показателей состава крови [1–5 и др.]. Кровь является одной из подвижных тканей организма, которая служит регуляторным механизмом, и может достаточно оперативно реагировать на действие разнообразных раздражителей. То, что гематологические показатели являются высоко специфичными для каждого вида и колеблются в достаточно узких пределах, позволяет использовать их в качестве маркеров различных физиологических и патологических процессов, происходящих на организменном и экосистемном уровне.

Цель данной работы состояла в выявлении биоиндикационной возможности использования гематологических показателей ряпушки для оценки состояния оз. Белое (Вологодская область). При этом решались следующие задачи: 1) изучить особенности морфологического состава крови; 2) выявить отличия общей картины крови в разных районах озера; 3) определить характер наиболее часто встречаемых

патологических изменений клеток крови и 3) оценить состояние экосистемы Белого озера по показателям морфологического состава и патологических изменений крови.

### **Объект, материал и методы исследования**

Материал для исследований был собран в октябре 2007 г. в период траловой съёмки на оз. Белое. Белое озеро располагается в центральной части Вологодской обл. и входит в число 10–12 самых крупных озёр Европы (площадь 1284 км<sup>2</sup>, объём 5,25 км<sup>3</sup>; средняя глубина – 4,1 м, максимальная – не превышает 6,3 м). Озеро Белое подвергается интенсивной, антропогенной нагрузке, являясь водоёмом комплексного назначения, что соответственно отражается в значительном ухудшении качества воды.

Станции отбора проб (рис. 1) были выбраны с учётом разной антропогенной нагрузки и пространственного распределения ряпушки. Было выбрано три станции вблизи г. Белозерск (рис. 1, ст. 1–3), где воды подвержены в наибольшей степени антропогенной нагрузке, две (рис. 1, ст. 4–5) вблизи фарватера, которые также можно отнести к неблагоприятным и загрязненным участкам. Кроме того, был

выбран условно фоновый участок (рис. 1, ст. 6). Параллельно с отбором биологического материала были взяты гидрохимические пробы, анализ содержания токсиче-

ских веществ в которых проведён в аккредитованной испытательной лаборатории ФГУ ГЦ Агрохимической службы «Вологодский» (г. Вологда).

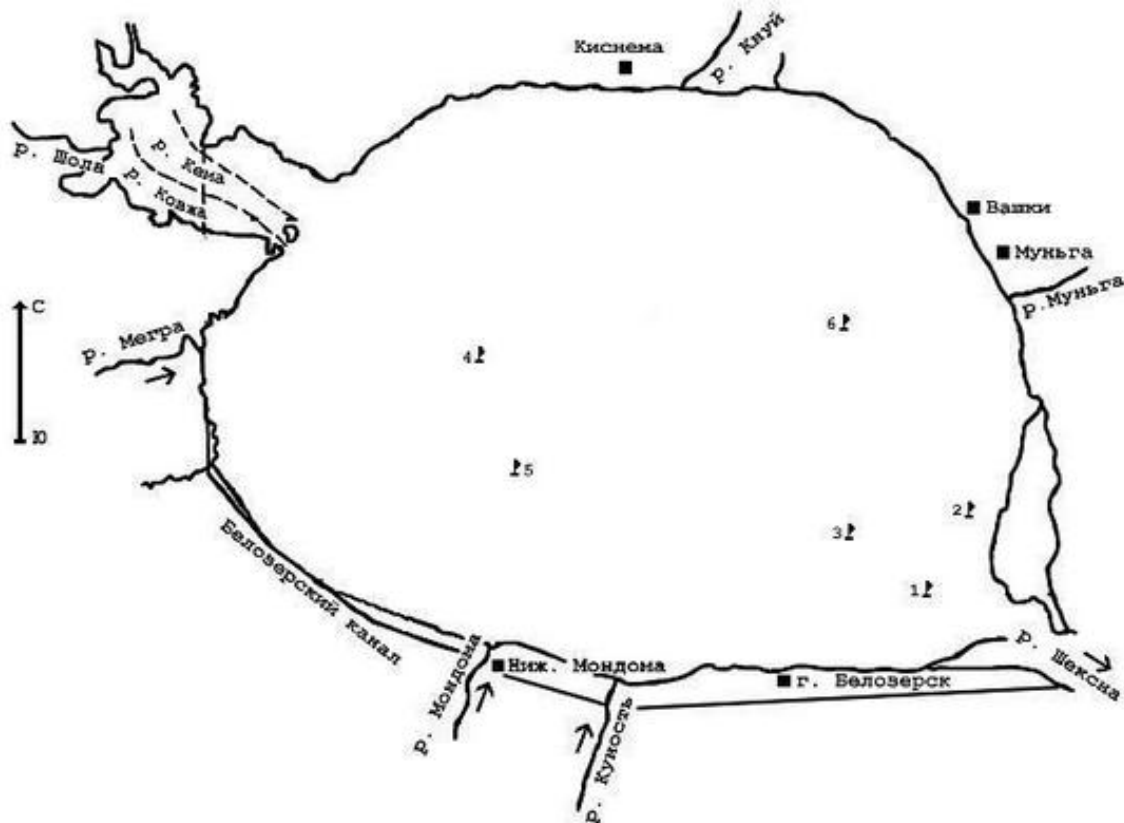


Рис. 1. Район исследований и схема станций сбора материала

В качестве объекта для биоиндикационных исследований была выбрана ряпушка *Coregonus albula* L. Выбор ряпушки в качестве вида-биоиндикатора для наших исследований обусловлен несколькими причинами. Во-первых, этот вид удобен для биоиндикации с позиции уникальности ее жилой формы, потому что любая жилая форма отражает условия обитания именно в данном водоеме. Белозерская ряпушка формировалась как жилая форма при изоляции озера после отступления Валдайского ледника и на данный момент является в Белом озере единственным представителем сиговых рыб [6–8]. Последние исследования морфологических параметров и генотипа ряпушки оз. Белое [9] показали, что в результате межвидовой гибридизации у данной популяции ряпушки отмечается своеобразное сочетание признаков, присущих ряпушкам сибирской

и европейской. Кроме того, этот вид находится на границе ареала, и у него до сих пор не исследована морфологическая картина крови. С другой стороны, выбор ряпушки в качестве биоиндикатора обусловлен с позиции численности популяции и повышенной чувствительностью к загрязнению водоема. Ряпушка относится к ценным рыбам и ещё в середине XX века была одним из многочисленных видов сиговых рыб оз. Белое [10,11]. В настоящее время белозерская ряпушка потеряла промысловое значение и перешла в разряд малочисленных видов [12–14], доля её в уловах не превышает 0,1%. Основной причиной снижения численности, наряду с интенсивным промыслом, является ухудшение условий обитания и воспроизводства для чувствительных сиговых рыб, что связано с процессом токсификации Белого озера.

Ряпушка, отловленная в разных районах озера, подвергалась полному биологическому анализу [15]. Отбор проб крови и дальнейший ее анализ проведен у репрезентативной выборки особей ряпушки (46 экз.) по стандартной методике [16]. Для исследования гематологических показателей брали кровь у живых, внешне здоровых неповрежденных особей из хвостовой артерии. Мазки готовили сразу после взятия крови, высушивали на воздухе и фиксировали в 96% этаноле. Затем свежеприготовленные мазки окрашивали азурином по Паппенгейму. Дальнейший анализ заключался в определении морфологического состава крови под световым микроскопом (увеличение:  $90 \times 15$ ,  $90 \times 20$ ). На мазке проводился подсчет количества эритроцитов различной стадии зрелости, лейкоцитов, тромбоцитов. Клетки крови идентифицировались по классификации Н.Т. Ивановой [17]. Так же определялись патологические изменения клеток крови на основании работ Л.Д. Житенева [18].

Для сравнения картины крови в разных участках озера проводилась статистическая обработка и визуализация данных (с использованием пакетов STATISTICA 6.0 и MS Excel). Статистическая обработка показателей крови включала вычисление среднего арифметического ( $M$ ) и ошибки среднего арифметического ( $\pm m$ ); достоверность отличий констатировали по критерию Стьюдента не менее чем при 95 % уровне вероятности [19]. К сожалению, подобный сравнительный анализ не удалось провести для других водоемов, так как в литературных источниках данные по гематологии ряпушки отсутствуют.

#### **Результаты и обсуждение**

В нашей работе впервые для Вологодской области и Северо-Западного региона приводится общая картина морфологического состава крови ряпушки, и сделана попытка обсудить возможность применения полученных достоверных различий по основным элементам красной и белой крови для биоиндикации условий обитания.

Выявленные показатели морфологического состава крови ряпушки приведены ниже.

**Эритроцитарный ряд.** В периферической крови всех исследованных особей ряпушки были обнаружены следующие клетки эритроидного ряда (рис. 2).

*Эритробласт* – клетки с крупным ядром, содержащим ядрышки (рис. 2.1). Вокруг ядер располагается слой базофильной цитоплазмы. Процентное содержание данной группы в красной крови незначительно – 0,04%.

*Базофильный нормобласт* – клетка округлой формы с большим, плотным, занимающим  $\frac{2}{3}$  клетки ядром и интенсивно окрашивающейся базофильной цитоплазмой. Вокруг ядра узкий ободок светлой перинуклеарной зоны (рис. 2.2). В периферической крови ряпушки базофильные эритроциты, также как и эритробласты встречались достаточно редко.

*Полихроматофильный нормобласт* – клетка с относительно широким слоем цитоплазмы, резко очерченным ядром и пренуклеарным пространством (рис. 2.3). Содержание полихроматофильных эритроцитов на исследованных мазках больше чем базофильных (1,04%).

*Оксифильный нормобласт* – клетка округлой формы с плотным краснофиолетовым ядром и оранжевой цитоплазмой. Наибольшая группа среди молодых эритроцитов (2,25%) (рис. 2.4). Доля молодых эритроцитов составляла в среднем 3,96%, на станции 2 этот показатель был наибольшим (табл. 1).

*Зрелые эритроциты* – самая многочисленная среди красной крови группа клеток (рис. 2.5), составляя у ряпушки 93,92–97,85%.

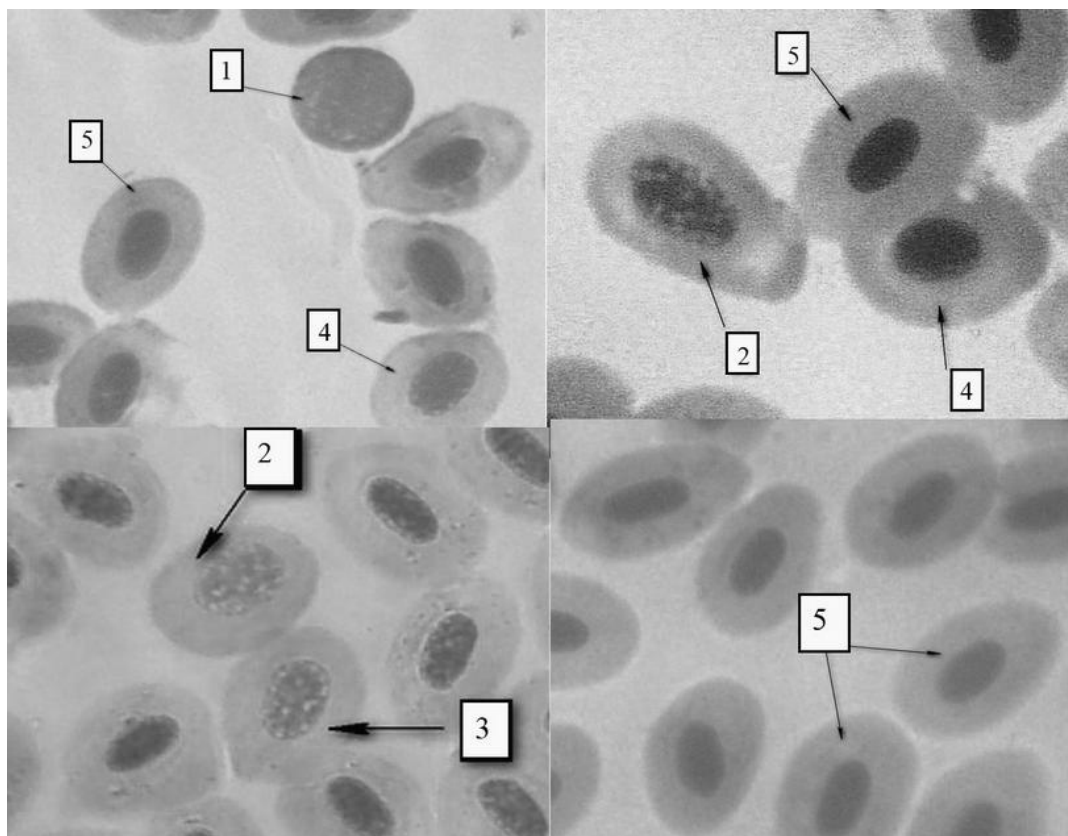
Результаты исследования эритроидного ряда показывают, что имеются достоверные отличия между морфологическим составом крови у рыб, выловленных в условно фоновом районе (ст. 6) и районе, расположенном в окрестностях г. Белозерск. Так, наблюдается повышенное количество полихроматофильных эритроцитов крови рыб на ст. 3 – 2,22%, на ст. 6 этот показатель составляет 0,25% ( $p=0,006$ ). Как известно, наращивание в периферической крови полихроматофильных эритроцитов обычно сигнализирует о прогрессирующей анемии, при которой сокращается жизнь эритроцитов. Кроме

того, достоверные отличия по содержанию зрелых эритроцитов отмечены со ст. 2 и 3 ( $p=0,05$ ;  $p=0,006$ ). Данные факты свиде-

тельствуют о более благополучном состоянии качества воды в условно фоновом районе оз. Белое.

**Таблица 1.** Эритрограмма крови ряпушки в разных районах Белого озера ( $M \pm m$ )

Станция	Эритробласты, %	Базофильные нормобласты, %	Полихроматофильные нормобласты, %	Оксифильные нормобласты, %	Зрелые эритроциты, %
1 (г. Белозерск)	–	0,32±0,25	0,08	2,95±0,48	96,65±0,64
2 (г. Белозерск)	–	0,16	1,52±0,9	4,39±0,92	93,92±1,54
3 (г. Белозерск)	0,07	1,24±0,67	2,22±0,44	2,48±0,63	93,98±0,97
4 (фарватер)	0,03	1,01±0,33	1,10±0,36	1,28±0,38	96,59±0,8
5 (фарватер)	0,09	0,25±0,13	0,59±0,30	1,21±0,31	97,85±0,42
6 (фоновая)	–	0,5	0,25	1,59±0,6	97,66±0,15
среднее	0,04±0,02	0,63±0,16	1,04±0,21	2,25±0,27	96,03±0,43



**Рис. 2.** Эритроцитарная картина крови ряпушки: 1-эритробласт; 2-базофильный нормобласт; 3-полихроматофильный нормобласт; 4-оксифильный нормобласт; 5-зрелый эритроцит

Лимфоидный ряд. Лейкоциты ряпушки представлены различными типами клеток: бластные формы – промиелоциты; гранулоциты – нейтрофилы, псевдоэозинофилы, псевдобазофилы; агранулоциты – лимфоциты и моноциты (рис. 3). При изучении лейкоцитарной формулы выявлено, что кровь ряпушки, также как и других представителей рода лососевых, имеет лимфоидный профиль [18, 19]. Доля лимфоцитов колеблется в пределах от 41,32%

до 88,57%, составляя в среднем 74,11% (табл. 2). В группе гранулоцитов преобладают нейтрофилы, представленные клетками разной степени дифференцировки: юные (4,54%), палочкоядерные (2,53%) и сегментоядерные (10,73%) (табл. 3). На долю остальных клеточных структур (бластные формы, псевдоэозинофилы, псевдобазофилы, моноциты) в среднем приходится от 2,15 до 3,5%.

**Таблица 2.** Лейкограмма крови ряпушки в разных районах Белого озера ( $M \pm m$ )

Станция	Бластные формы, %	Нейтрофилы, %	Лимфоциты, %	Моноциты, %	Псевдоэозинофилы и псевдобазофилы, %
1 (г. Белозерск)	–	6,07±4,06	88,57±8,92	1,79	3,57
2 (г. Белозерск)	–	12,46±6,23	79,21±5,83	8,33±5,46	–
3 (г. Белозерск)	1,04	9,86±3,88	83,68±5,16	4,79±4,12	0,63
4 (фарватер)	–	17,20±4,53	79,10±4,56	–	3,7±2,84
5 (фарватер)	8,81±3,59	42,72±9,09	41,32±7,30	5,56	1,58
6 (фоновая)	5,56	11,11	77,78±22,22	–	5,56
среднее	2,15±0,88	18,02±3,09	74,11±3,65	3,50±1,56	2,25±1,02

**Таблица 3.** Относительный показатель (%) нейтрофильных гранулоцитов ряпушки в разных районах Белого озера ( $M \pm m$ )

Станция	Юные	Палочкоядерные	Сегментоядерные
1 (г. Белозерск)	8,08±2,86	1,79	–
2 (г. Белозерск)	8,25±3,11	4,44±3,02	1,79
3 (г. Белозерск)	6,6±2,33	3,33±2,27	3,06±1,60
4 (фарватер)	14,77±4,26	–	9,52±3,09
5 (фарватер)	6,67±2,22	3,70	36,8±9,7
6 (фоновая)	–	5,56	5,56
среднее	4,54±1,42	2,53±0,99	10,73±2,82

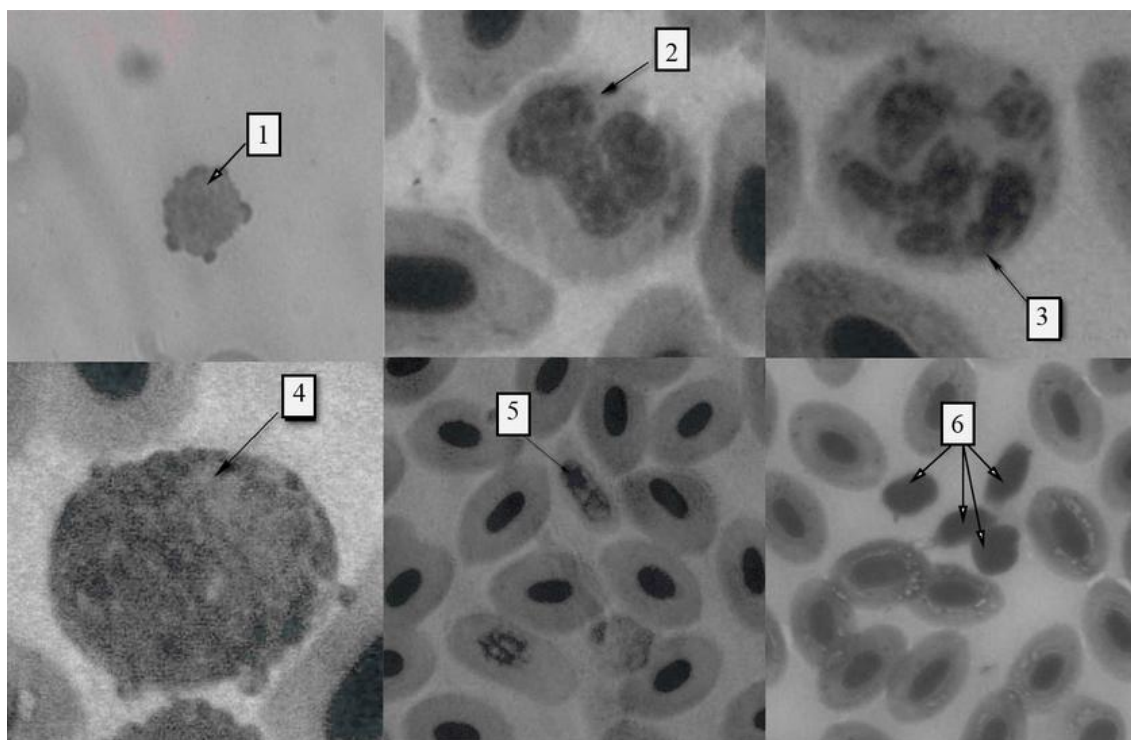
Как следует из анализа белой крови ряпушки, выловленной в разных районах озера, достоверно значимых изменений среди процентного содержания тех или иных клеточных структур, не наблюдалось.

Тромбоциты. На мазках крови ряпушки тромбоциты располагались как в одиночном порядке, так и в агрегированном (Рис. 3.5-3.6). Достоверных отличий в количестве тромбоцитов в разных участках озера также не было выявлено.

В нашем случае, только показатели красной крови дают биоиндикационную возможность оценки состояния экосистемы Белого озера, которая может расширяться за счет выявления патологических изменений клеток крови.

Морфологическая картина клеточных структур крови с признаками их деградации может служить ценным показателем нарушения эритро- и лейкопоэза вследствие хронического воздействия того или иного неблагоприятного фактора. Анализ мазков крови обследованных особей показал, что в данных экологических условиях у ряпушки распространены различные патологические изменения в структуре клеток крови, а именно: пойкилоцитоз, анизоцитоз, лизис ядер эритроцитов, безъядерные эритроциты, олиго-

гипохромазия, гемолиз эритроцитов (рис. 4). Среди всех обследованных рыб обнаружено 7 особей, не имеющих клеточных патологий; в крови 13 рыб отмечен один вид клеточных патологий, а у 26 особей два и более нарушений клеток красной и белой крови. Наименьшее количество патологий зарегистрировано у рыб, отловленных в условно фоновом районе (ст. 6). Различия по частоте встречаемости патологий в этом месте достоверны с загрязненными участками в районе г. Белозерск ( $p=0,003$ ), где отмечено наибольшее число патологий. Данный факт также подтверждается гидрохимическими показателями и свидетельствует о хроническом стрессе организма рыб в результате воздействия комплекса неблагоприятных факторов, в том числе и тяжелых металлов.



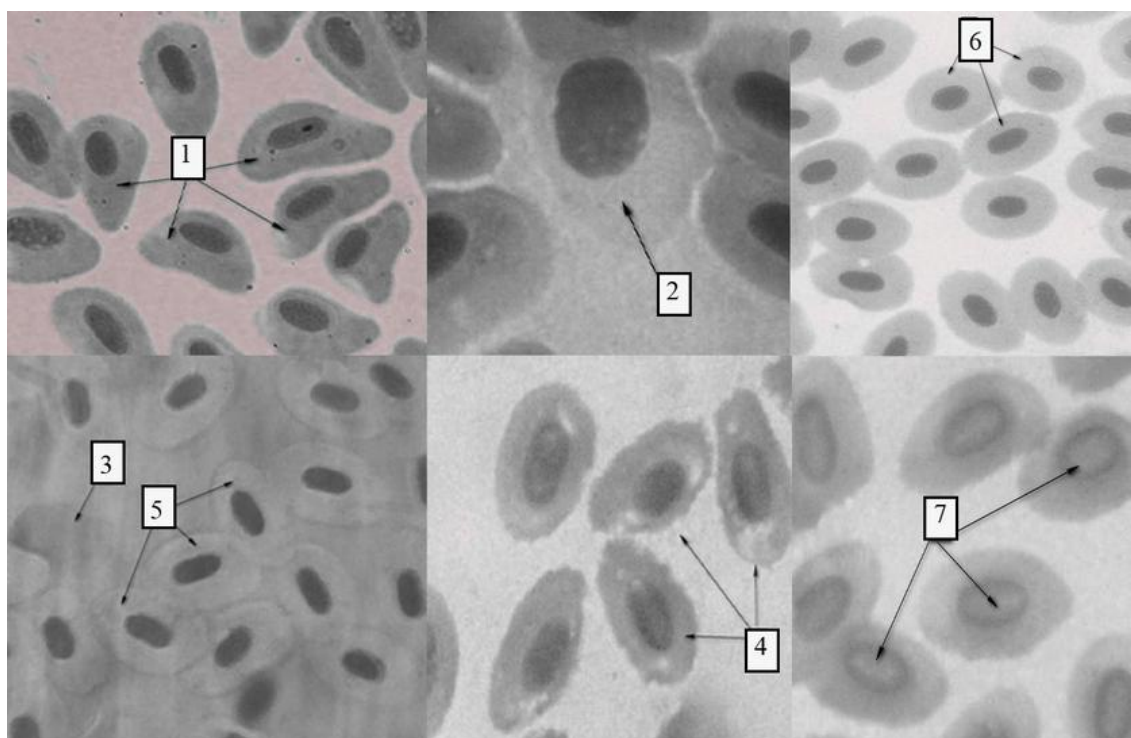
**Рис. 3.** Лейкоциты, моноциты и тромбоциты в периферической крови ряпушки: 1-лимфоцит; 2-палочкоядерный нейтрофил; 3-сегментоядерный нейтрофил; 4-моноцит; 5- одиночный тромбоцит; 6-скопление тромбоцитов.

Исследование воды на содержание тяжелых металлов на исследованных станциях показывает превышение по цинку на станциях 1, 2,4,5; по ртути – на станциях 1,2,3,4; по меди – на станции 3 и по марганцу – на станциях 5 и 6 (Таблица 4). Самым высокотоксичным элементом является

ртуть, которая даже при очень низкой концентрации в окружающей среде опасна своими прямыми токсичными свойствами и высокой аккумуляцией в живых организмах. Для рыб токсичны цинк и медь, при интоксикации этими металлами наблюдаются как физиологические так и биохими-

ческие нарушения. Марганец способен накапливаться в организме рыб во всех системах, отражая тем самым уровень за-

грязнения водоемов этим элементом, причем в большей степени этот элемент накапливается в рыбах-бентофагах [20].



**Рис. 4.** Изменение клеточных структур эритроцитов в крови ряпушки: 1-пойкилоцитоз; 2-образование безъядерного эритроцита; 3-ядерная тень; 4-фестончатые контуры эритроцитов; 5-гипохромазия; 6-анизоцитоз; 7-лизис ядер эритроцитов.

**Таблица 4.** Содержание тяжелых металлов в воде Белого озера, октябрь 2007г.

Показатель	ПДК	Станция					
		1	2	3	4	5	6
Co, мг/л	0,01	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
Pb, мг/л	0,006	<0.005	<0.005	<0.005	0.005	<0.005	<0.005
Cd, мг/л	0,005	<0.0005	<0.0005	0.0009	<0.0005	<0.0005	<0.0005
Ni, мг/л	0,01	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
Zn, мг/л	0,01	<b>0.014</b>	<b>0.014</b>	0.01	<b>0.013</b>	<b>0.015</b>	0.004
Cu, мг/л	0,001	0.001	0.001	<b>0.002</b>	<0.001	<0.001	0.001
Cr общ, мг/л	0,02	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
Mn, мг/л	0,01	0.01	0.01	0.01	0.01	<b>0.013</b>	<b>0.014</b>
Hg, мг/л	-	<b>&lt;0.00001</b>	<b>&lt;0.00001</b>	<b>&lt;0.00001</b>	<b>&lt;0.00001</b>	-	-

По результатам наших исследований наличие изменений в морфологической структуре клеток достоверно не коррелировали с содержанием тяжелых металлов в воде. Очевидно, что патологические изменения клеток крови имеют характер ответной реакции в рамках общетоксического действия тяжёлых металлов на организм. Для выявления специфично-

сти воздействия тяжелых металлов на состояние крови требуются дополнительные исследования по накоплению тяжелых металлов в организме рыб. Тем более, что в литературных данных подобная зависимость описана [21, 22].

Следует подчеркнуть, что ответ кровеносной системы рыб как целостного образования на воздействие неблагоприят-

ных факторов среды многогранный. Информация о структурных показателях эритро- и лейкограммы представляет существенный интерес для понимания функционирования гомеостатических механизмов, адаптации кроветворной системы рыб к неблагоприятным факторам среды и биоиндикации в условиях загрязнения вод различными токсикантами.

#### Выводы

Результаты исследований позволили установить морфологическую картину крови ряпушки в различных районах оз. Белое. Изменения в установленных показателях морфологического состава крови и патологических форм элементов крови ряпушки свидетельствует о различном уровне и неравномерности антропогенной нагрузки по акватории озера Белое.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Аленичев С.В. Динамика гематологических показателей типичных представителей ихтиофауны водоёмов Карелии: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Петрозаводск, 2000. – 25 с.
2. Лугаськова Н.В. Гематологическая характеристика рыб в условиях техногенного загрязнения водоемов Уральского региона // Изучение экологии водных организмов Восточного Урала. – Свердловск, 1992. – С. 116–127.
3. Методы исследования токсичности на рыбах / Пер. с нем. – М.; Агропромиздат, 1985. – 119 с.
4. Серпунин Г.Г., Лихачева О.А. Ихтиогематологический мониторинг заливов Балтийского моря // Биологические основы изучения, освоения и охраны животного и растительного мира, почвенного покрова Восточной Фенноскандии: Тез докл. междунар. конф. и выездной сессии Отд-ния. общей биологии РАН. (Петрозаводск, 6–10 сент., 1999 г.). – Петрозаводск, 1999. – С. 161.
5. Токсикозы рыб с основами патологии. – СПб., 2006. – 179 с.
6. Болотова Н.Л., Зуянова О.В., Решетников Ю.С. Сиговые рыбы Вологодской области // Биология и биотехника разведения сиговых рыб: Материалы Пятого Всероссийского Совещания. – СПб., 1994. – С. 24–28.
7. Bolotova N.L., Dumnich N.V., Kononov A.F., Bolotov O.V. The population of Coregonids at the south margin of the distribution in the European part of Russia. // The abstracts of the Annual International Symposium «Biology of Polar Fish». – Cambridge, England, 2000. – P. 16.
8. Коновалов А.Ф., Болотова Н.Л. Жилые формы ряпушки на Европейском Севере России // Экологические проблемы северных регионов и пути их решения. Материалы междунар. конф. – Апатиты: Изд-во Кольского НЦ РАН, 2004. – Ч. 2. – С. 59–61.
9. Bolotova N.L., Kononov A.F., Dumnich N.V. The populations of vendace (*Coregonus albula*) in Beloe and Vozhe Lakes, North-West of Russia // Abstracts VIII International Symposium on the biology and management of Coregonid fishes. – Rovaniemi, Finland, 2002. – P. 8.
10. Морозова П.Н. Рыбные запасы Вологодской области и пути их рационального использования // Труды научной конференции по изучению Вологодской области. – Вологда, 1956. – С. 169–184.
11. Водоватов Ю.С., Серенко В.А. Рыбные ресурсы // Антропогенное влияние на крупные озёра Северо-Запада СССР. – Л.: Наука, 1981. – Ч. II. Гидробиология и донные отложения озера Белого. – С. 109–130.
12. Болотова Н.Л., Коновалов А.Ф. Рыбное население Шекснинского водохранилища // Современное состояние экосистемы Шекснинского водохранилища. – Ярославль: Изд-во ЯГТУ, 2002. – С. 211–279.
13. Печников А.С., Коновалов А.Ф. Озеро Белое // Современное состояние рыбного хозяйства на внутренних водоёмах России. – СПб.: ГосНИОРХ, 2004. – С. 26–43.
14. Коновалов А.Ф. Анализ динамики численности и биомассы рыб Белого озера за тридцатилетний период // Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоёмов Европейского Севера: Сб. материалов IV (XXVII) Междунар. конф. (Вологда, Россия, 5–10 декабря 2005 г.). – Вологда, 2005. – Ч. 1. – С. 195–197.
15. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. – М., 1966. – 376 с.



16. Крылов О.Н. Методические указания по гематологическому обследованию рыб в водной токсикологии. – Л. 1974, - 40 с.
17. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. Сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб. – М., 1982. – 110 с.
18. Житенева Л.Д., Полтавцева Т.Г., Рудницкая О.А. Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб. – Ростов-на-Дону: Ростиздат, 1989. – 112 с.
19. Ивантер Э.В., Коросов А.В. Основы биометрии. – Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 1992. – 168 с.
20. Моисеенко Т.И., Кудрявцева Л.П., Гашкина Н.А. Рассеянные элементы в поверхностных водах суши: Технофильность, биоаккумуляция и экотоксикология. Ин-т вод.проблем РАН.-М.: Наука, 2006. – 261 с.
21. Кашулин Н.А. Состояние популяций рыб в небольших водоемах лесной зоны Кольского Севера в условиях аэротехногенного загрязнения // Проблемы химического и биологического мониторинга экологического состояния водных объектов Кольского Севера. Апатиты, 1995. С. 120-143.
22. Кашулин Н.А., Лукин А.А., П.-А. Амундсен. Рыбы пресных вод субарктики как биоиндикаторы техногенного загрязнения // Апатиты, 1999. – 142 с.

#### **MORPHOLOGICAL STRUCTURE OF BLOOD COREGONUS ALBULA L. AND ITS CHANGES AS BIOINDICATORS OF BELOE LAKE (THE VOLOGDA AREA)**

Keyster I.A.

*Vologda State Pedagogical University, Vologda*

For the first time for the Vologda area and Northwest region discussion possibility of use indicators of morphological structure blood *Coregonus albula* L. and pathological changes of blood cells for bioindication ecological condition of one of the large shallow reservoirs in the Vologda region (the Beloe lake). It is shown, that changes in the established indicators of morphological structure of blood and pathological forms blood testifies to various level and non-uniformity of anthropogenous loading on Beloe lake.

