

УДК [597-14: 597. 563]:639.372.33

DOI <https://doi.org/10.32851/wba.2019.1.2>

МИКРОУРОВНЕВЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕЧЕНИ СТЕРЛЯДИ (*ACIPENSER RUTHENUS*) В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

¹*Козий М.С. – д. биол. н., профессор*

²*Шерман И.М. – д. с.-х. н., профессор*

¹*Государственное высшее учебное заведение*

«Черноморский национальный университет имени Петра Могилы»

²*Государственное высшее учебное заведение*

«Херсонский государственный аграрный университет»

Приведены результаты гистологического мониторинга формирования структуры печени стерляди на начальных этапах постнатального онтогенеза. Достоверно определено, что печень осуществляет основную роль в биохимических перестройках трофических компонентов.

В периоде перехода личинок на экзогенное питание становление печени как органа не завершено. Гепатоциты составляют 87% от клеточного состава органа. Низкий коэффициент пролиферации позволяет отнести гепатоциты к категории растущих эпителиоцитов. Клеточные тяжи разделены широкими синусоидами. Эндотелиоциты капилляров имеют небольшое количество цитоплазмы и резко окрашенные палочковидные ядра. Отдельные лакуны печени лишены эндотелиальной выстилки. Среди периферических гепатоцитов формируются первые жёлчные протоки. В финале формирования сосудистой сети в цитоплазме гепатоцитов присутствуют многочисленные мелкие липидные капли и происходит активное запасание гликогена. Гистологическая картина показывает стёртость зонального строения органа в период становления узкой клеточной функции.

Качество питания и пищевая активность определяют тип и количество запасных веществ в печени. Переход на активное экзогенное питание считается критическим. Это обстоятельство оправдывает усиление синтетической активности паренхимы органа. В данный период печень полностью сформирована. Количество синусоидных капилляров сравнительно велико. Активно формируются периферические жёлчные протоки. Наблюдается усиление секреции жёлчи. Популяция гепатоцитов в этот период составляет 95%. Клетки содержат вакуоли разной степени зрелости. Запас желтка у личинок истощается. Депонирование гликогена и липидов в клетках печени личинок совпадает с развитием желудочных желез и может быть рассмотрена как адаптация, повышающая выживаемость особей при неблагоприятных кормовых условиях.

Результаты гистологических исследований ранних стадий онтогенеза стерляди востребованы для своевременного выявления отклонений в развитии молоди. Вопрос повышения жизнестойкости молодых особей важен в развитии и совершенствовании практики охраны редких и исчезающих видов рыб.

Ключевые слова: гистологическая структура, онтогенез, стерлядь, личинка, экзогенное питание, печень, адаптация.

Постановка проблеми. В связи с ухудшением экологического состояния акваторий и постепенного сокращения популяций редких и исчезающих видов рыб, в большинстве стран мира отмечается тенденция активизации мероприятий по сохранению и возможному восполнению их численности [1]. Наряду с русским осётром, белугой, определённое место в спектре изучаемых объектов занимает стерлядь. Рассматривая данный таксон, как исчезающий в акваториях Украины, становится очевидным, что вопрос повышения жизнестойкости молодых особей вида представляется весьма многогранным. В этой связи, практически всякий подход к его решению важен и актуален [5, 6].

Анализ последних исследований и публикаций. При изучении особенностей обмена веществ отдельных видов мигрирующих рыб и представителей туводной ихтиофауны было достоверно определено, что момент перехода на активное экзогенное питание является ключевым в определении выживаемости молоди и, как следствие, численности популяции [9, 12]. Исследованиями установлено, что в процессе онтогенеза, с изменением типа питания отдельные органы и их системы претерпевают микроструктурные изменения [4]. Ввиду того, что печень осуществляют основную роль в биохимических перестройках трофических компонентов, гистологический мониторинг нужен для определения специфичности механизмов формирования отдельных составляющих организма рыб [7, 8]. При этом, внимание исследователей акцентировано на ранние стадии онтогенеза, определяющие благополучный рост и развитие молодых особей. Как показывает ихтиологическая и экологическая практика, результаты микроанатомических исследований востребованы в целях своевременного выявления отклонений в развитии, провоцирующих впоследствии массовую гибель потомства [10, 11].

Постановка задания и методы исследования. Исследования были проведены в мае 2018 г., в условиях замкнутого водоснабжения (УЗВ) рыбоводного предприятия «Оазис-Бисан», с учётом оптимальности показателей гидроцикла идостаточности кормовой базы. Гистологические исследования образцов печени были проведены на базе лаборатории гистологии, цитологии и эмбриологии Черноморского национального университет имени Петра Могилы, а также проблемной научно-исследовательской лаборатории оптимизации использования водных биоресурсов рыбохозяйственно-экологического факультета ГВУЗ «Херсонский ГАУ». Камеральную обработку гистологических проб гонад осуществляли при помощи разработанного специального оборудования и комбинированной заливки тканей гидробионтов [3]. Общие морфометрические исследования икры выполнены при помощи оптического оборудования «E. LeitzdiaplanWetzlar». Освещение микропрепаратов производилось галогеновым осветителем «Linvatec-2» (мощность 10-240 Вт). Дополнительное контрастирование гистопрепаратов осуществлялось с помощью мультиформного фильтра ФГПМ-2,5*.

Микроснимки выполнены камерой «NikonF-70» с применением бинокулярной насадки 1,6^x и компьютерного определителя экспозиции съёмки «Minolta-EK». Корректирующая обработка полученных микроснимков была проведена с помощью компьютерных программ «AdobePhotochopCS 2», «MicrosoftOfficePictureManager», «FSViewer».

Изложение основного материала исследования. Результаты гистологических исследований позволили установить, что гепатоциты у личинок стерляди составляют около 87% клеточного состава органа. Для клеток данного типа характерен весьма низкий коэффициент истинной пролиферации, что позволяет отнести их к категории «растущих эпителиоцитов».

Показано, что в начальном периоде перехода личинок на экзогенное питание (возраст 4-6 суток) становление печени как органа ещё не завершено, ввиду чего строение его достаточно упрощённое (рис. 1).

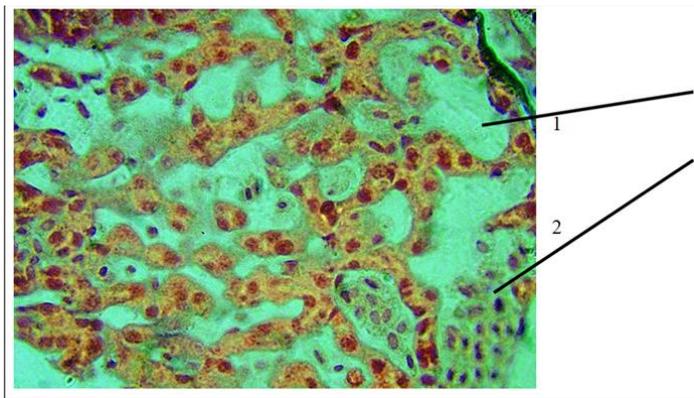


Рис. 1. Паренхима печени личинки стерляди. Начало экзогенного питания
1 – гепатоцит; 2 – синусоид.
Гематоксилин Эрлиха, фукселлинХарта (в модификации).
Корректирующий фильтр ФГПМ-2,5*. Иммерсия, 700^x.

Согласно данным рисунка 1, аморфные тяжи клеток печени разделены широкими синусоидами. Отдельные синусоиды выстланы эндотелиоцитами и окружены пространствами Диссэ.

Синусоидный капилляр представляет собой неравномерно расширенный сосуд, диаметр которого несколько больше такового типичных гемакапилляров [9, 12]. Эндотелиоциты отличаются небольшим количеством цитоплазмы, палочковидными, резко гиперхроматично окрашенными ядрами. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что в начале личиночного этапа развития стерляди отдельные лакуны печени лишены характерной эндотелиальной выстилки (рис. 2).

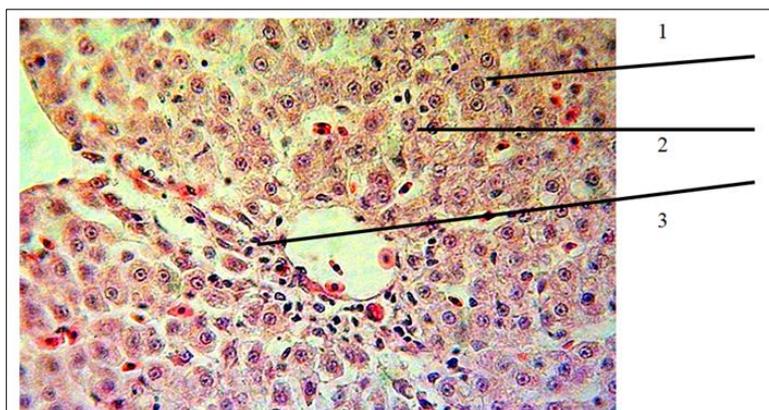


Рис. 2. Развитие сосудов печени личинки стерляди
1 – гепатоцит; 2 – синусоид без эндотелия; 3 – синусоид с эндотелием.
Гематоксилин Эрлиха, фукселинХарта (в модификации). Корректирующий
фильтрФГПМ-2,5*. Иммерсия, 700^x.

Как видно из содержания данного рисунка, гепатоциты с центрально расположенным сферическим ядром базофильны. Нуклеола легко различима. Местно, среди периферически расположенных гепатоцитов начинают формироваться первые жёлчные протоки, состоящие из одного слоя каёмчатых эпителиоцитов.

По завершении формирования сосудистой сети, в цитоплазме гепатоцитов присутствуют многочисленные мелкие липидные капли и происходит активное запасание гликогена (рис. 3).

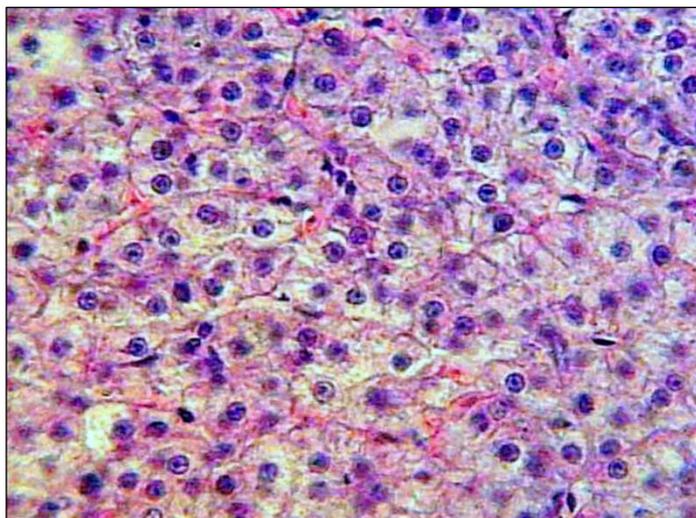
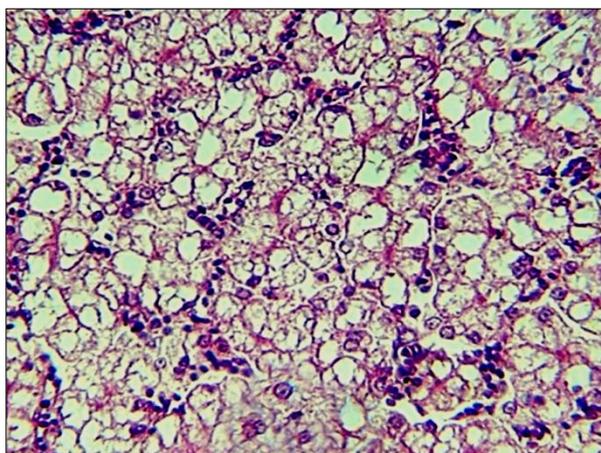


Рис. 3. Паренхима печени личинки стерляди
в период аккумуляции липидов и гликогена
Гематоксилин Эрлиха, фукселинХарта (в модификации).
Корректирующий фильтрФГПМ-2,5*. Иммерсия, 700^x.

Гистологическая картина, видимая на рисунке 3, показывает некоторую «стёртость» зонального строения органов период становления узкой клеточной функции, что демонстрирует возрастные особенности строения паренхимы печени данного вида.

Факторами, определяющими тип и количество запасных веществ в печени, являются качество питания и пищевая активность, что находится в зависимости от сезона и возраста особи [7, 8, 10, 11]. На 9 сутки личинки стерляди питаются исключительно экзогенно: при отсутствии такого питания личинки погибают. Таким образом, данный период в развитии личинок считается критическим, что уже само по себе оправдывает усиление синтетической активности паренхимы органа.

Наблюдения показывают, что у 16-суточных личинок печень практически полностью сформирована. Популяция гепатоцитов в этот период отличается выраженным полиморфизмом клеток и ядер. Большинство (95%) гепатоцитов содержит вакуоли разной степени зрелости, причём в отдельных участках паренхимы форма жиросодержащих клеток может варьировать. Примечательно, что относительно немногочисленное в начальный период личиночного развития количество синусоидных капилляров на данном этапе развития сравнительно велико (рис. 4).



*Рис. 4. Липосодержащие клетки печени 16-суточной личинки стерляди
Гематоксилин Эрлиха, фукселинХарта (в модификации).
Корректирующий фильтрФГПМ-2,5*. 400^x.*

На данном рисунке отчётливо заметно активное формирование периферических жёлчных протоков, часть из которых ещё имеет облитерированный просвет. В каудальной зоне органа фиксируется усиление секреции жёлчи (рис. 5).

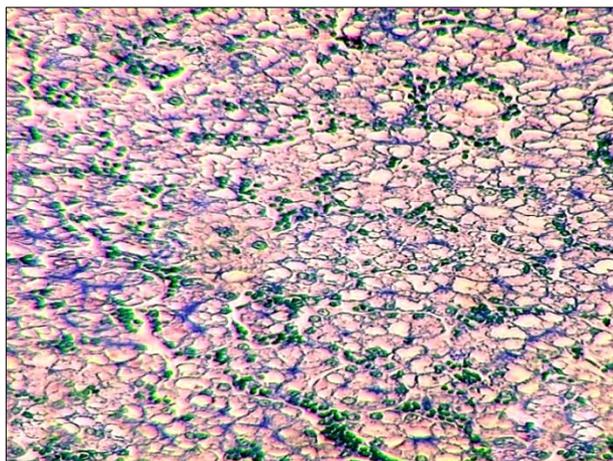


Рис. 5. Паренхима печени стерляди в конечной стадии личиночного развития. Секреция жёлчи. Реакция Р. Лилли. 300^x

Исходя из вышесказанного, по мере резорбции желтка, в клетках печени личинок депонируются включения гликогена и липидов, что совпадает с развитием желудочных желез, носит зональный характер и может служить адаптацией, повышающей выживаемость особей при неблагоприятных кормовых условиях [2].

Выводы и предложения. Детальное изучение ранних этапов онтогенеза и требований, предъявляемых организмом к внешней среде, являются одним из условий сохранения популяции стерляди. Пролонгированный личиночный период, сложное его прохождение до начала малькового периода – особенность развития хрящевых ганоидов, определённо ингибирующая их освоение в качестве объекта аквакультуры. Объективное гистологическое заключение, проведенное в рамках ихтиологических и экологических исследований, открывает реальные возможности развить и усовершенствовать практику охраны редких и исчезающих видов рыб.

МІКРОРІВНЕВІ ЗМІНИ ПЕЧІНКИ СТЕРЛЯДІ (*ACIPENSER RUTHENUS*) У РАНЬОМУ ПОСТНАТАЛЬНОМУ ОНТОГЕНЕЗИ

Козій М.С., Шерман І.М.

Наведено результати гістологічного моніторингу формування структури печінки стерляді на початкових етапах постнатального онтогенезу. Достовірно визначено, що печінка здійснює основну роль в біохімічних перебудовах трофічних компонентів.

У періоді переходу личинок на екзогенне харчування становлення печінки як органа не завершено. Гепатоцити складають 87% від клітинного складу органу. Низький коефіцієнт проліферації дозволяє віднести гепатоцити

до категорії зростаючих епітеліоцитів. Клітинні тяжі розділені широкими синусоїдами. Ендотеліоцити капілярів мають невелику кількість цитоплазми і різко пофарбовані паличкоподібні ядра. Окремі лакуни печінки позбавлені ендотеліальної вистилки. Серед периферичних гепатоцитів формуються перші жовчні протоки. У фіналі формування судинної мережі в цитоплазмі гепатоцитів присутні численні дрібні ліпідні краплі і відбувається активне запасання глікогену. Гістологічна картина показує стертість зональної будови органу в період становлення вузької клітинної функції.

Якість харчування і харчова активність визначають в печінці тип і кількість запасних речовин. Перехід на активне екзогенне харчування вважається критичним. Ця обставина виправдовує посилення синтетичної активності паренхіми органу. В даний період печінка повністю сформована. Кількість синусоїдних капілярів порівняно велике. Активно формуються периферичні жовчні протоки. Спостерігається посилення секреції жовчі. Популяція гепатоцитів в цей період становить 95%. Клітини містять вакуолі різного ступеня стиглості. Запас жовтка у личинок виснажується. Депонування глікогену і ліпідів в клітинах печінки личинок збігається з розвитком шлункових залоз, що може бути розглянуто як адаптація, яка підвищує виживаність особин при несприятливих кормових умовах.

Результати гістологічних досліджень ранніх стадій онтогенезу стерляді затребувані для своєчасного виявлення відхилень у розвитку молоді. Питання підвищення життєстійкості молодих особин є важливим в розвитку і вдосконаленні практики охорони рідкісних і зникаючих видів риб.

Ключові слова: гістологічна структура, онтогенез, стерлядь, личинка, екзогенне харчування, печінка, адаптація.

MICROLEVEL CHANGES IN THE LIVER OF *ACIPENSER RUTHENUS* IN EARLY POSTNATAL ONTOGENESIS

Koziy M.S., Sherman I.M.

The results of histological monitoring of the formation of the structure of the liver of the sterlet at the initial stages of postnatal ontogenesis are presented. It is reliably determined that the liver plays a major role in the biochemical rearrangements of trophic components.

In the period of transition of larvae to exogenous nutrition, the formation of the liver as an organ is not completed. The hepatocytes make up 87% of the cellular composition of an organ. A low proliferation coefficient allows the hepatocytes to be classified as growing epithelial cells. Cell strands are separated by wide sinusoids. Capillary of the endotheliocytes have a small amount of cytoplasm and sharply stained rod-shaped nuclei. Individual lacunae of the liver are devoid of endothelial lining. Among the peripheral of the hepatocytes, the first bile ducts form. At the end of the formation of the vasculature in the cytoplasm of hepatocytes, numerous small lipid drops are present and glycogen is actively stored. The histological picture shows the abrasion of the zonal structure of the organ during the formation of a narrow cellular function.

Nutrition quality and nutritional activity determine the type and amount of reserve substances in the liver. The transition to active exogenous nutrition is considered critical. This circumstance justifies an increase in the synthetic activity of the organ parenchyma. During this period, the liver is fully formed. The number of sinusoidal capillaries is relatively large. Actively formed peripheral bile ducts. Increased secretion of bile is observed. The hepatocyte population in this period is 95%. Cells contain vacuoles of varying degrees of maturity. The stock of yolk in the

larvae is depleted. The deposition of glycogen and lipids in the cells of the liver of the larvae coincides with the development of the gastric glands and can be considered as an adaptation that increases the survival of individuals under adverse food conditions.

The results of histological studies of the early stages of sterlet ontogenesis are in demand for the timely detection of abnormalities in the development of juveniles. The issue of increasing the viability of young individuals is important in developing and improving the practice of protecting rare and endangered fish species.

Key words: histological structure, ontogenesis, sterlet, larva, exogenous nutrition, liver, adaptation.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аквакультура Норвегии: от научных экспериментов – к промышленным масштабам. *Рыбное хозяйство*. 2009. № 4. С. 46-48.
2. Журавлева Н.Г., Праздников Е.В. Эмбриологические основы инкубации икры и выращивания личинок морской камбалы. Методические рекомендации. Мурманск: ММБИ, 1989. С. 28-35.
3. Козий М.С. Оценка современного состояния гистологической техники и пути усовершенствования изучения ихтиофауны: монография. Херсон: Олди-плюс, 2009. 310 с.
4. Ларина Т.М., Журавлёва Н.Г. Развитие марикультуры рыб в северных странах. *Вестник МГТУ*. 2009. Т. 12. № 2. С. 344-349.
5. Салмова Н.А., Журавлева Н.Г. Морфологическое строение печени и поджелудочной железы молоди трески (*Gadusmorthua* L.) в условиях искусственного выращивания. *Вестник МГТУ*. 2012. Т. 15. №3. С. 551-558.
6. Состояние мирового рыболовства и аквакультуры. Рим: FAO, Департамент рыболовства и аквакультуры ФАО. 2010. 246 с.
7. Baragi V., Lovell R. Digestive enzyme activities in striped bass from first feeding through larva development. *Trans. Am. Fish. Soc.* 1986. V.115. P. 478-484/
8. Boulhic M., Gabaudan J. Histological study of the organogenesis of the digestive system and swim bladder of the docersolea (*Soleasolea* L. 1758). *Aquaculture*. 1992. V.102. P. 373-396.
9. Geyer H.J. Die morfologie, histologie en ultrastruktuur van die pancreas, lewer en galblaas van die algoeoder *Oreochromismossambicus* (Peters). M. Sc. thesis, Rand Afrikans University, South Africa. 1989. P.59-95.
10. Hung S.S., Groff J.M., Lutes P.B., Alkins F.K. Hepatic and intestinal histology of juvenile white sturgeon fed different carbohydrates. *Aquaculture*. 1990. V.87. P. 349-360.
11. Hyvaeriner H., Holopainen I., Piironen J. Anaerobic wintering of crucian carp (*Carassiuscarassius* L.) annual dynamics of glycogen reserves in nature. *Biochemical Physiol.* 1985. V.82. P. 797-803.
12. Morrison Carrol N. Histology of the Atlantic cod, *Gadusmorthua*: an atlas. In: eleutheroembryo and larva. NRC CNRC National Research,

Canada, part four, 1993. URL: <http://www.bio.umass.edu/biology/kunkel/fish/cod/gadusproposal.html>.

REFERENCES

1. Akvakul'tura Norvegii: ot nauchnyh jeksperimentov – k promyshlennym masshtabam. (2009). (Norway's aquaculture: from scientific experiments to industrial scale). *Rybnoe hozjajstvo*. no. 4. P. 46-48. [in Russian]
2. Zhuravleva N.G., Prazdnikov E.V. (1989). *Jembriologicheskie osnovy inkubacii ikry i vyrashhivanija lichinok morskoy kambaly* (Embryological basis of incubation of eggs and the cultivation of larvae of sea flounder). Metodicheskie rekomendacii. Murmansk: MMBI. P. 28-35. [in Russian]
3. Kozij M.S. (2009). *Ocenka sovremennogo sostojanija gistologicheskoy tehniki i puti usovershenstvovanija izuchenija ihtiofauny* (An assessment of the current state of the histological techniques and ways to improve the study of the ichthyofauna): monografija. Herson: Oldi-pljus. [in Russian]
4. Larina T.M., Zhuravljova N.G. (2009). *Razvitie marikul'tury ryb v severnyh stranah* (The development of fish mariculture in the Nordic countries). *Vestnik MGTU*. V.12. no. 2. P. 344-349. [in Russian]
5. Salmova N.A., Zhuravleva N.G. (2012). *Morfologicheskoe stroenie pecheni i podzheludochnoj zhelezy molodi treski (Gadusmorthua L.) v uslovijah iskusstvennogo vyrashhivanija* (Morphological structure of the liver and pancreas of young cod (*Gadusmorthua L.*) in conditions of artificial cultivation). *Vestnik MGTU*. V.15. no. 3. P. 551-558. [in Russian]
6. *Sostojanie mirovogo rybolovstva i akvakul'tury* (2010). (The State of World Fisheries and Aquaculture). Rim: FAO, Departament rybolovstva i akvakul'tury FAO. [in Russian]
7. Baragi V., Lovell R. (1986). Digestive enzyme activities in striped bass from first feeding through larva development. *Trans. Am. Fish. Soc.* V.115. P. 478-484.
8. Boulhic M., Gabaudan J. (1992). Histological study of the organogenesis of the digestive system and swim bladder of the docersolea (*Soleasolea L. 1758*). *Aquaculture*. V.102. P. 373-396.
9. Geyer H.J. (1989). Die morfologie, histology en ultrastruktuur van die pancreas, lewer en galblaas van die algoeder *Oreochromismossambicus* (Peters). M. Sc. thesis, Rand Afrikans University, South Africa. P. 59-95.
10. Hung S.S., Groff J.M., Lutes P.B., Alkins F.K. (1990). Hepatic and intestinal histology of juvenile white sturgeon fed different carbonhydrates. *Aquaculture*. V.87. P. 349-360.

11. Hyvaeriner H., Holopainen I., Piironen J. (1985). Anaerobic wintering of crucian carp (*Carassius carassius* L.) annual dynamics of glycogen reserves in nature. *Biochemical Physiol.* V.82. P. 797-803.
12. Morrison Carrol N. (1993). Histology of the Atlantic cod, *Gadus morthua*: an atlas. In: eleutheroembryo and larva. NRC CNRC National Research, Canada. Part 4. URL: <http://www.bio.umass.edu/biology/kunkel/fish/cod/gadusproposal.html>.