

ЗООЛОГИЯ

УДК 595.341.4:57.017.64+577.112

*А. М. Андреева, И. П. Рябцева, И. И. Руднева, В. Г. Шайда,
Н. Е. Ламаш, А. Э. Дмитриева*

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ОСМОТИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ У РАЗЛИЧНЫХ ПО ЭКОЛОГИИ *TELEOSTEI**

Одной из основных функций крови является транспорт необходимых для жизнедеятельности организма соединений к клеткам и тканям. С транспортной функцией крови тесно связана дыхательная. В ее обеспечении участвуют плазма и форменные элементы. Основным носителем дыхательной функции в крови является белок гемоглобин, локализованный в эритроцитах; в других тканях ее выполняют другие белки из семейства глобинов [1–5].

Для функционирования гемоглобина, заключенного в эритроцит, важна целостность последнего. У всех позвоночных имеет место разнокачественность эритроцитов по резистентным характеристикам (осмотической и кислотной), которая формируется в результате действия на организм внешних и внутренних факторов. У человека в норме гемолиз эритроцитов начинает происходить в 0,46–0,42%-ном растворе NaCl, полный гемолиз — в 0,32–0,3%-ном NaCl. Снижение осмотической резистентности эритроцитов происходит вследствие изменений структурных и функциональных свойств мембран эритроцитов, возникающих при старении организма, заболеваниях, обусловленных накоплением скрытых структурных повреждений в белково-липидном каркасе мембран низко- и высокостойких эритроцитов [6].

Андреева Алла Михайловна — заведующая ЦКП «Молекулярные технологии» ИБВВ РАН; e-mail: aam@ibiw.yaroslavl.ru

Рябцева Ирина Павловна — научный сотрудник, ИБВВ РАН, ЦКП «Молекулярные технологии»; e-mail: aam@ibiw.yaroslavl.ru

Руднева Ирина Ивановна — главный научный сотрудник, ИнБЮМ НАН Украины, отдел ихтиологии; e-mail: svg-41@mail.ru

Шайда Валентин Григорьевич — главный научный сотрудник, ИнБЮМ НАН Украины, отдел ихтиологии; e-mail: svg-41@mail.ru

Ламаш Нина Евгеньевна — старший научный сотрудник, Институт биологии моря им. А. В. Жирмунского ДВО РАН; e-mail: aam@ibiw.yaroslavl.ru

Дмитриева Александра Эльдаровна — аспирант, старший лаборант, ИБВВ РАН, ЦКП «Молекулярные технологии»; e-mail: aam@ibiw.yaroslavl.ru

* Работа поддержана РФФИ (проект № 10–04–00954-а).

© А. М. Андреева, И. П. Рябцева, И. И. Руднева, В. Г. Шайда, Н. Е. Ламаш, А. Э. Дмитриева, 2013

Эритроциты рыб по осмотической резистентности уступают таковым у млекопитающих: признаки гемолиза у них могут появляться уже при небольших разведениях физиологического раствора (0,9–0,81%-ный NaCl), массовый гемолиз эритроцитов половозрелых рыб происходит, как правило, при 0,63–0,54%-ном NaCl [7]. Резистентные характеристики эритроцитов рыб, как и человека, зависят от стадии зрелости: молодые эритроциты имеют более высокую осмотическую и кислотную резистентность по сравнению со старыми формами [8, 9]. На резистентные показатели эритроцитов рыб влияют многие факторы: в их числе физиологическое состояние, старение [10]; питание, липидный состав кормов [11–13]; стрессы [14–16]; pH, температура, токсиканты [17–22] и др. Сезонные колебания процессов формирования эритроцитов рыб не вписываются в какие-то выраженные закономерности [22]. Некоторые авторы отмечают видоспецифичный характер показателей красной крови и их независимость от естественной динамики температуры воды [23].

Целью данной работы являлось исследование сезонной изменчивости осмотической резистентности эритроцитов рыб и сравнительный анализ данного показателя у представителей пресноводных, морских, солоноватоводных и проходных *Teleostei*.

Материалы и методы исследования

В качестве объектов исследования использовали *Teleostei*:

1) пресноводных — леща *Abramis brama* L. (30 экз.), карася серебряного *Carassius auratus* L. (15 экз.), плотву *Rutilus rutilus* L. (30 экз.), синца *Abramis ballerus* L. (20 экз.), густеру *Blicca bjoerkna* L. (5 экз.), чехонь *Pelecus cultratus* L. (5 экз.), уклейку *Alburnus alburnus* L. (10 экз.), щуку обыкновенную *Esox lucius* L. (13 экз.), судака обыкновенного *Stizostedion lucioperca* L. (10 экз.), отловленных в Рыбинском водохранилище; а также леща и плотву в возрасте 0⁺–4⁺ (60 экз.), содержащихся в прудах;

2) морских — скорпену *Scorpena porcus* L., бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* P., бычка-мартовика *Mesogobius batrachocephalus* P., морского налима *Gaidropsarus mediterraneus* L., зеленушку *Symphodus tinca* L., рыбу-звездочета *Uranoscopus scaber*, султанку обыкновенную *Mullus barbatus* L. из Черного моря (36 экз.);

3) солоноватоводных — тюльку черноморско-каспийскую *Clupeonella cultriventris* N., отловленную в Рыбинском водохранилище (10 экз.);

4) проходных — мелкочешуйную (*Tribolodon brandtii* D.) и крупночешуйную (*Tribolodon hakonensis* G.) красноперок угай из Японского моря (15 экз.).

У пресноводных рыб кровь отбирали в весенний, летний и осенний периоды; у тюльки из Рыбинского водохранилища — в сентябре; у рыб из Черного моря — в мае — июне; у красноперки из Японского моря — в мае и октябре.

В выборке из Рыбинского водохранилища присутствовали молодь и половозрелые рыбы, из прудов — сеголетки, молодь и половозрелые лещ и плотва; среди черноморских рыб — рыбы с гонадами 2-й (морской налим), 3-й и 4-й (бычки, скорпена), 5-й (султанка, бычки, звездочет, скорпена, зеленушка) стадий зрелости; среди красноперок были самцы и самки 2-й (октябрь) и 3–5-й (май) стадий зрелости гонад, а также отнерестившиеся особи (май); выборка тюльки была представлена самцами и самками с гонадами 4-й стадии зрелости.

Отбор крови и эритроцитов. Кровь у рыб отбирали из хвостовых сосудов, для получения сыворотки кровь отстаивали при 8 °С, для получения плазмы ее собирали

в пробирки с 1%-ным раствором гепариноида. Отстоявшуюся после отбора плазмы эритроцитарную массу трехкратно отмывали физиологическим раствором, центрифугировали и использовали в работе.

Регистрация гемоглобина. Гемоглобин получали после отмывания эритроцитов в физиологическом растворе, последующего гемолиза в дистиллированной воде и центрифугирования в течение 10 мин при 2 тыс. об/мин. Для разрушения молодых эритроцитов, не гемолизирующих в дистилляте, использовали ультразвук (ультразвуковая установка УЗДН-2Т, Россия). Гемоглобин регистрировали спектрофотометрически по наличию спектров и поглощению в области γ_1 -полосы Сорэ: окси-гемоглобин поглощал при $\lambda_{\text{макс}}$ 412–414 нм, мет-гемоглобин — при $\lambda_{\text{макс}}$ 406–408 нм.

Изучение осмотической резистентности эритроцитов. Осмотическую резистентность эритроцитов изучали по их гемолизу в гипотонических растворах NaCl. Гемолиз проводили в течение 15 мин в растворах с разным разбавлением исходного 0,9%-ного раствора NaCl (0,9; 0,81; 0,72; 0,63; 0,54; 0,45; 0,36; 0,27; 0,18 и 0,09% NaCl), а также в дистиллированной воде. Эффективность гемолиза эритроцитов оценивали по поглощению отцентрифугированных образцов в области γ_1 -полосы Сорэ.

Микроскопические исследования клеток крови. Для оценки физиологического состояния рыб анализировали мазки крови. Препараты окрашивали по Романовскому—Гимза при общем увеличении $\times 1400$. В каждой мазке анализировали не менее 500 клеток эритроидного ряда [24].

Электрофоретический анализ белков. Электрофорез белков сыворотки, плазмы крови и гемоглобина проводили в диск-электрофорезе. Для расчета относительного содержания внеклеточного гемоглобина в крови образцы сыворотки и плазмы разгоняли в диск-электрофорезе, окрашивали бензидином (для идентификации гемоглобина) и Coomassie R-250 (окрашивание белка); окрашенные красителем Coomassie гели денситометрировали. Рассчитывали относительное содержание гемоглобина в каждой лунке. Результаты обрабатывали статистически. В небольших выборках ($n < 8$) рассчитывали величины $M \pm SE$.

Результаты исследования и их обсуждение

1. Оценка состояния крови у половозрелых рыб в процессе ее отбора и хранения в весенне-летний и осенний периоды

1.1. Морские рыбы. При отстаивании в условиях 8 °С тридцати шести образцов сыворотки крови от семи видов черноморских рыб, отловленных в весенне-летний период, не было выявлено ни одного случая гемолиза эритроцитов, за исключением одной пробы с кровью зеленушки.

1.2. Пресноводные рыбы. В весенне-летний период сыворотка и плазма крови синца, леща, уклейки и густеры в основном были гемолизированы; у леща встречались негемолизированные образцы крови. У синца и леща относительное содержание внеклеточного гемоглобина в сыворотке варьировало от 0,02 до 50% и выше. У синца летом внутрисосудистый гемолиз эритроцитов носил перманентный характер, у плотвы и чехони гемолиз эритроцитов также имел место, но не носил перманентного характера. В осенне-зимний период, наряду с гемолизированными образцами крови, мы получали и негемолизированные образцы сыворотки и плазмы данных видов. В сыворотке крови щуки внеклеточный гемоглобин отсутствовал, за исключением одного случая,

у судака в летний период встречались гемолизированные образцы плазмы и сыворотки.

При хранении негемолизированных образцов сыворотки над ступком крови при 8°C гемолиз эритроцитов у рыб происходил в разные сроки: у леща, как правило, в течение суток; у плотвы — спустя сутки; у судака — через 2–3 суток; у щуки — через 2–6 суток с начала отстаивания сыворотки; следы гемолиза эритроцитов появлялись через 2–3 суток и в сыворотке серебряного карася. Эти показатели сохранялись для рыб, отловленных как в летний, так и в осенний периоды.

В период подготовки к нересту у рыб с гонадами 4-й стадии зрелости (щука, лещ, плотва) были отобраны сыворотка и плазма крови. Эритроциты таких рыб оказались в высокой степени устойчивыми к гемолизу: в сыворотке и плазме над осадком эритроцитов следы гемолиза не появлялись в течение семи дней (рис. 1).

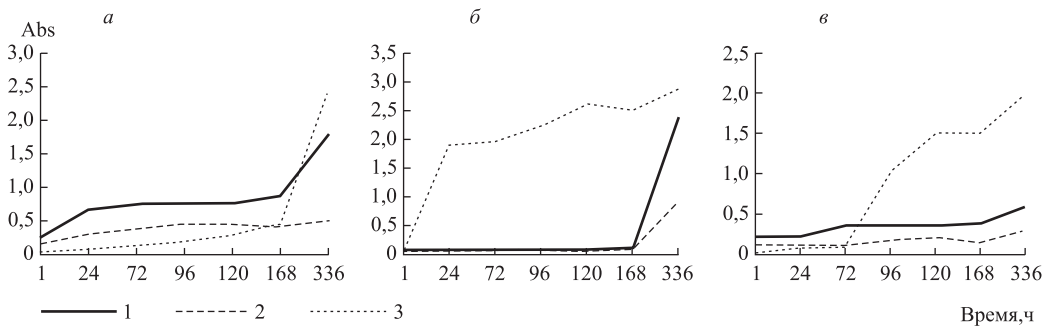


Рис. 1. Динамика гемолиза эритроцитов при отстаивании сыворотки (1) и плазмы (2) над осадком эритроцитов и в физиологическом растворе (3) при температуре 8°C у плотвы (а), леща (б) и щуки (в) в преднерестовый период

По оси абсцисс — время в часах; по оси ординат — поглощение в области Сорэ (Abs). (Пояснения в тексте.)

1.3. Тюлька. Плазма тюльки над осадком эритроцитов оставалась негемолизированной неделю при температуре хранения 8°C, спустя некоторое время гемолиз эритроцитов произошел одновременно во всех 10 пробах.

1.4. Красноперка. Плазма красноперки, отловленной в октябре, отстаивалась после отбора крови при 8°C без следов гемолиза; следы гемолиза эритроцитов появились в плазме через четыре дня после отбора крови. У рыб, отловленных в мае, начавшая отстаиваться плазма также не имела следов гемолиза. Однако майские пробы крови с гепарином хранились три дня при 8°C и один день (4-й по счету после отбора крови) при более высокой температуре в связи с трудностями доставки проб в лабораторию; на 4-й день после отбора крови в узкой полоске плазмы, примыкающей к осадку форменных элементов, были замечены следы гемолиза во всех 13 образцах.

Таким образом, негемолизированные образцы плазмы и сыворотки крови надежно удавалось получить только у морских рыб (весеннее-летний период), тюльки (сентябрь) и красноперки (май, октябрь), что характеризует их эритроциты как относительно устойчивые. У пресноводных костистых рыб выявлена широкая вариабельность по данному показателю — от видов с перманентным гемолизом эритроцитов (синец) до видов с устойчивыми эритроцитами (щука). Основная масса отобранных

для анализа видов занимала промежуточное положение по этому показателю (лещ, плотва, судак и др.); весенне-летние образцы крови отличались меньшей устойчивостью эритроцитов к гемолизу в условиях отбора крови и ее хранения.

2. Особенности осмотической резистентности эритроцитов у рыб в весенне-летний и осенний периоды

2.1. Морские рыбы. Практически у всех морских видов, отловленных в весенне-летний период, удалось сохранить в негемолизированном виде эритроциты в процессе их отмывания. В физиологическом растворе наиболее устойчивыми оказались эритроциты скорпены, практически не гемолизирующие в течение 15 мин эксперимента. У других видов (морского налима, султанки, звездочета, бычка-мартовика и бычка-кругляка) в течение 15 мин в физиологическом растворе эритроциты гемолизировали в той или иной степени.

У султанки, бычка-мартовика и морского налима выявлена дифференциация эритроцитов по осмотической резистентности (рис. 2).

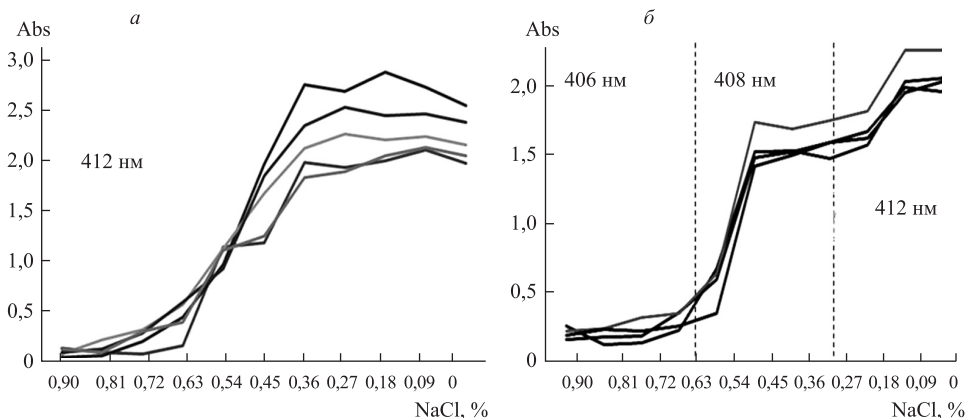


Рис. 2. Кривые осмотической резистентности эритроцитов скорпены (а, экз.) и бычка-мартовика (б, экз.)

По оси абсцисс — концентрация NaCl (в %); по оси ординат — поглощение в области Сорэ (Abs). Вертикальные пунктиры разделяют эритроциты на фракции, содержащие мет-(406, 408 нм) и окси-(412 нм) гемоглобины (то же для рис. 3 и рис. 4).

Так, у морского налима обнаружено три фракции эритроцитов: 1) первыми в диапазоне 0,9–0,72%-ного NaCl гемолизировали эритроциты с мет-гемоглобином ($\lambda_{\text{макс}} = 408$ нм); 2) вторыми в диапазоне 0,72–0,0%-ного NaCl — эритроциты с мет- и окси-гемоглобином ($\lambda_{\text{макс}} = 410$ нм); 3) третью фракцию составили молодые эритроциты, не гемолизирующие даже в дистиллированной воде. На подсушенном зафиксированном спиртом неокрашенном мазке эти эритроциты под микроскопом выглядели как круглые клетки эритроидного ряда.

У бычка-мартовика старые, зрелые и молодые формы эритроцитов также гемолизировали дифференцированно: 1) первая, менее устойчивая фракция — в 0,9–0,64%-ном NaCl (406 нм); 2) вторая в диапазоне 0,56–0,27%-ного NaCl (408–410 нм) и 3) третья в диапазоне 0,18–0,0%-ного NaCl (412 нм) (см. рис. 2).

У скорпены, звездочета и бычка-кругляка гемоглобин из различающихся по осмотической резистентности фракций эритроцитов был только в окси-форме (412–414 нм).

2.2. Пресноводные рыбы. Эритроциты большинства исследованных пресноводных видов, отловленных в разные сезоны, гемолизировали или имели следы гемолиза в физиологическом растворе уже в первые 15 мин. Так, гемолиз эритроцитов леща и плотвы в физиологическом растворе при 8 °С происходил перманентно, о чем свидетельствует непрерывное нарастание абсорбции в области Сорэ. При этом эритроциты леща и плотвы начинали гемолизировать, как правило, через сутки, у щуки через шесть суток. В преднерестовый период у щуки эритроциты в физиологическом растворе гемолизировали через трое суток, у леща — в течение суток; между тем при отстаивании плазмы и сыворотки — через семь дней (см. рис. 1).

У щук, отловленных летом, эритроциты начинали гемолизировать в 0,9–0,81%-ном растворе NaCl, массовый гемолиз происходил в 0,5%-ном NaCl. У щук, отловленных осенью, эритроциты начинали гемолизировать в 0,72%-ном NaCl, массовый гемолиз также происходил в 0,5%-ном NaCl. У щук, отловленных летом, при гемолизе всех эритроцитов выделялся только окси-гемоглобин, а у осенних щук первыми в диапазоне 0,9–0,81%-ный NaCl гемолизировали эритроциты с мет-гемоглобином (406 нм), далее, в диапазоне 0,72–0,45%-ного NaCl — эритроциты с мет- и окси-гемоглобином (408–410 нм), и последними в диапазоне 0,27–0,0%-ного NaCl — эритроциты с окси-гемоглобином (414 нм) (рис. 3).

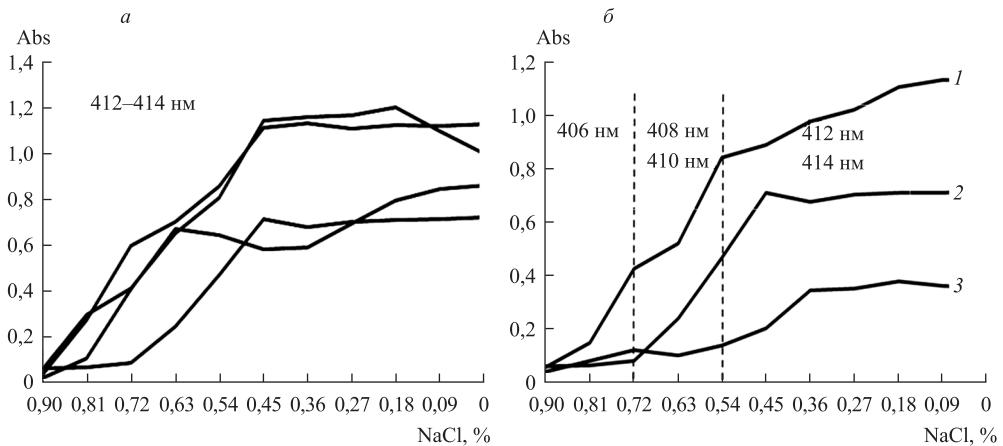


Рис. 3. Кривые осмотической резистентности эритроцитов щуки в летний (а) и осенний периоды (б):

а — неполовозрелые щуки; б — самка, 3-я стадия зрелости гонад (1); половозрелая щука, стадия не определена (2); сеголетки (3).

У половозрелой плотвы из водохранилища в весенне-летний период массовый гемолиз эритроцитов происходил в 0,45%-ном NaCl, у леща и синца был размыт в диапазоне 0,72–0,27%-ного NaCl. У половозрелых леща и плотвы из прудов (возраст 3⁺ и 4⁺) в весенний и осенний периоды эритроциты различались по осмотической резистентности: гемолиз эритроцитов осенних рыб начинался в 0,63–0,54%-ном NaCl, весенних рыб — в 0,72%-ном NaCl. Показатели резистентности эритроцитов осенних рыб из

Рыбинского водохранилища совпадали с таковыми для рыб из прудов. Объяснить сезонные различия резистентности эритроцитов можно не столько температурными показателями воды, сколько фактором питания: весенний материал зимовал в прудах, где рыбы не питались более шести месяцев, а осенние рыбы в нагульных прудах активно питались все лето, что не могло не сказаться на прочности мембран их эритроцитов.

Гемоглобин, освобождающийся из гемолизированных молодых и зрелых эритроцитов половозрелых синца, леща и плотвы в весенне-летний период был только в окси-форме (412–414 нм). При этом молодые эритроциты синца в отличие от леща и плотвы не гемолизировали даже в дистиллированной воде. Осмотическая резистентность молодых эритроцитов синца варьировала по сезонам: у летнего синца молодые эритроциты не гемолизировали, а у осенних синцов молодые эритроциты гемолизировали и в слабых растворах NaCl, и в воде.

Наиболее устойчивыми к гемолизу оказались эритроциты сеголетков и годовичков (лещ, плотва): они начинали гемолизировать в 0,27%-ном NaCl; эритроциты двухлеток — в 0,36%-ном NaCl. На третьем году жизни осмотическая резистентность эритроцитов достигала минимальных дефинитивных показателей.

2.3. Тюлька. У тюльки обнаружено несколько фракций эритроцитов, различающихся по устойчивости к гемолизу: неустойчивая фракция, содержащая мет-гемоглобин, начинала гемолизировать в 0,72%-ном NaCl, более устойчивая фракция, содержащая окси-гемоглобин, гемолизировала в 0,45%-ном NaCl.

2.4. Красноперка. Эритроциты красноперок, отловленных в мае, были дифференцированы по устойчивости к гемолизу: менее устойчивая фракция гемолизировала в диапазоне 0,81–0,63%-ного NaCl, более устойчивая — в 0,63–0,36%-ном NaCl, обе фракции высвобождали только окси-гемоглобин (412–414 нм) (рис. 4). При доставке проб в лабораторию прошел гемолиз наименее устойчивой фракции эритроцитов. Измерение абсорбции в области Сорэ в этих образцах гемолизированной плазмы над осадком эритроцитов также показало наличие только окси-гемоглобина.

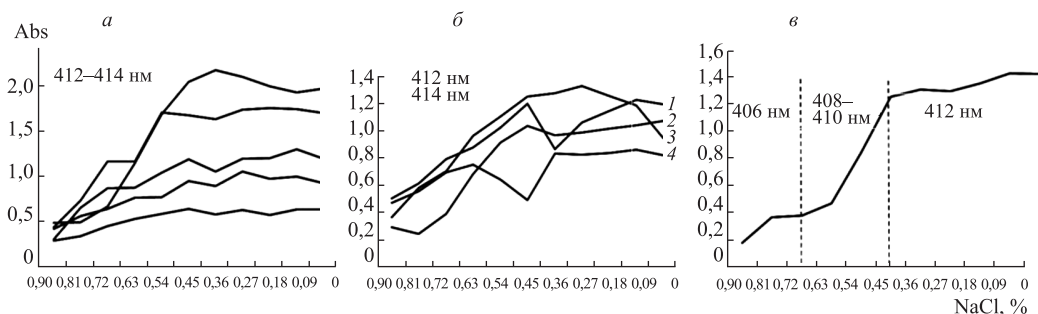


Рис. 4. Осмотическая резистентность эритроцитов красноперки, отловленной в мае (а, б) и октябре (в), у самок (а) и самцов: ♂II (в); ♂IV (1, 2) (б); ♂III (3) (б); ♂отнерестившихся (4) (б)

У красноперки, отловленной в октябре, первая фракция эритроцитов гемолизировала в диапазоне 0,9–0,63%-ного NaCl, освобождая мет-гемоглобин (406–408 нм), вторая — в 0,63–0,36%-ном NaCl с мет- и окси-гемоглобином (410 нм), третья — в 0,36–0,0%-ном NaCl с окси-гемоглобином (412 нм). При этом в отличие от майских образцов молодые эритроциты октябрьской красноперки не гемолизировали в дистиллированной воде. Разрушали их с помощью ультразвука, содержащийся в них гемоглобин был

в окси-форме. Достоверных отличий эритроцитов по показателям резистентности у крупночешуйной и мелкочешуйной красноперок не выявлено.

Итак, проведенный сравнительный анализ показателей резистентности эритроцитов у разных представителей *Teleostei* позволил выявить некоторые закономерности:

1) снижение солёности водной среды в целом коррелировало со снижением устойчивости эритроцитов рыб к гемолизу;

2) выявлена широкая вариабельность резистентности эритроцитов у пресноводных рыб. Различия коррелировали с экологическими особенностями видов: у активных и хищных рыб эритроциты были более прочными (хищник-засадчик — щука, хищник-пелагофил — судак), у менее подвижных нехищных видов — менее прочными, гемолиз крови у таких рыб носил зачастую перманентный характер (планктофаг — синец, бентофаг-мезобентофил — лещ, всеядный зоофаг — плотва);

3) эритроциты рыб в весенне-летний период отличались меньшей устойчивостью к внутрисосудистому гемолизу по сравнению с осенним периодом;

4) среди половозрелых пресноводных рыб, находящихся в разных фазах репродуктивного цикла, высокие показатели осмотической резистентности эритроцитов отмечены у рыб с гонадами 4-й стадии зрелости;

5) в онтогенезе леща и плотвы максимальные показатели осмотической резистентности эритроцитов в гипотонических растворах NaCl выявлены у сеголетков и годовичков; не выявлено ни одного случая внутрисосудистого гемолиза эритроцитов у сеголетков;

6) в весенне-летний период у молоди и половозрелых рыб (пресноводных, морских, проходной красноперки) выявлено по несколько фракций эритроцитов, различающихся по осмотической резистентности; все они содержали только окси-гемоглобин. Осенью у рыб (пресноводные, красноперка) обнаружено несколько различающихся по резистентности фракций эритроцитов, одни из которых содержали мет-, другие — окси-гемоглобин;

7) практически во всех группах рыб отмечено формирование разнокачественной устойчивости к гемолизу молодых и зрелых эритроцитов: старые эритроциты, содержащие мет-гемоглобин, и зрелые эритроциты, содержащие окси-гемоглобин, были менее устойчивы к гемолизу по сравнению с молодыми эритроцитами, содержащими окси-гемоглобин. Молодые эритроциты были неоднородны по резистентным свойствам.

Выявленные закономерности предполагают участие факторов солёности воды, образа жизни, питания, репродуктивной фазы и стадии онтогенеза в формировании разнокачественности эритроцитов рыб по параметру осмотической резистентности. Сезонная изменчивость резистентных параметров эритроцитов формируется в результате сочетания этих факторов. При этом роль каждого фактора не всегда была однозначной. Иллюстрацией тому являются два примера.

— У солоноватоводного вида — тюльки, отловленной в пресных водах Рыбинского водохранилища, резистентность эритроцитов при хранении была максимальной среди исследованных пресноводных и морских *Teleostei*. В то же время у красноперок, которые, подобно тюлке, исторически формировались как солоноватоводные виды (в доледниковую фазу Японское море представляло собой мелководный пресноводный водоем, впоследствии испытавший осолонение) [25, 26], эритроциты оказались значительно менее устойчивыми к хранению, чем у тюльки.

— Что касается образа жизни, то широкая вариабельность резистентности эритроцитов рыб действительно коррелировала с разными экологическими особенностями видов; однако касалось это только пресноводных рыб, а у морских рыб такая корреляция явно не прослеживалась.

Эти два примера указывают на наличие специфичности параметров резистентности эритроцитов как на уровне видов, так и на уровне групп видов, населяющих тот или иной биотоп.

Фактор питания однозначно влиял на устойчивость эритроцитов рыб и из водохранилища, и из прудов, вследствие чего осенняя выборка рыб, нагулявшихся в течение лета, имела более прочные к гемолизу мембраны эритроцитов. Вероятно, причина этого кроется в сезонной динамике температуры воды, которая опосредованно действует на кроветворную ткань через пищевую активность вида [27]. Между тем непосредственное повышение температуры инкубации эритроцитов щуки в экспериментах *in vitro* приводило к снижению их осмотической резистентности [9].

Что касается роли репродуктивной фазы, то из полученных данных не складывается полного представления о преобразованиях резистентных свойств эритроцитов в течение репродуктивного цикла. Для оценки роли этого фактора требуются специальные исследования. В обзоре А. А. Солдатова [22] отмечено, что в нерестовый период физиологические системы рыб претерпевают радикальные изменения [28, 29], направленность которых может быть разной даже в рамках одного и того же вида; однако у некоторых видов никаких существенных изменений в данный период не происходит. В той же работе отмечено, что предшествующий нересту режим питания вносит существенные коррективы в параметры красной крови нерестящихся рыб [30].

Выводы

1. Снижение солености водной среды в целом коррелировало со снижением устойчивости эритроцитов рыб к гемолизу.
2. Показатели резистентности эритроцитов у пресноводных рыб коррелировали с экологическими особенностями видов: у активных и хищных рыб эритроциты были более прочными, у менее подвижных нехищных видов — менее прочными.
3. Эритроциты рыб в весенне-летний период отличались меньшей устойчивостью к внутрисосудистому гемолизу по сравнению с осенним периодом.
4. Среди половозрелых пресноводных рыб наиболее высокие показатели осмотической резистентности эритроцитов отмечены у рыб с гонадами 4-й стадии зрелости.
5. В онтогенезе леща и плотвы максимальные показатели осмотической резистентности эритроцитов в гипотонических растворах NaCl выявлены у сеголетков и годовичков.
6. В весенне-летний период у молоди и половозрелых рыб выявлена разнокачественность эритроцитов по осмотической резистентности; при этом все эритроциты содержали только окси-гемоглобин. Осенью различающиеся по резистентности фракции эритроцитов содержали мет- или окси-гемоглобин.
7. Молодые и зрелые эритроциты различались по устойчивости к гемолизу: старые эритроциты, содержащие мет-гемоглобин, и зрелые эритроциты, содержащие окси-гемоглобин, были менее устойчивы к гемолизу по сравнению с молодыми эритроцитами,

содержащими окси-гемоглобин. Молодые эритроциты были неоднородны по резистентным свойствам.

8. Сезонная изменчивость резистентных параметров эритроцитов формируется в результате сочетания многих факторов, среди которых — соленость, образ жизни, питание, репродуктивная фаза, стадия онтогенеза, видоспецифичность и др.

Литература

1. Weber R. E., Vinogradov S. N. Nonvertebrate hemoglobins: functions and molecular adaptations // *Physiol. Rev.* 2001. Vol. 81. P. 569–628.
2. Burmester T., Ebner B., Weich B., Hankeln T. Cytoglobin: a novel globin type ubiquitously expressed in vertebrate tissues // *Mol. Biol. Evol.* 2002. Vol. 19. P. 416–421.
3. Burmester T., Hankeln T. Neuroglobin: A respiratory protein of the nervous system // *News Physiol. Sci.* 2004. Vol. 19. P. 110–113.
4. Ancestral hemoglobins in Archaea / Freitas T. A., Hou S., Dioum E. M., Saito J. A., Newhouse J., Gonzalez G., Gilles-Gonzalez M. A., Alam M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. Vol. 101. P. 6675–6680.
5. Roesner A., Fuchs C., Hankeln T., Burmester T. A. Globin gene of ancient evolutionary origin in lower Vertebrates: evidence for two distinct globin families in animals // *Mol. Biol. and Evol.* 2005. Vol. 22(1). P. 12–20.
6. Попова И. Е. Изучение структурных свойств эритроцитов крови новорожденных при оксидативном стрессе, вызванном гипоксией: дис. ... д-ра биол. наук. Воронеж, 2007. 250 с.
7. Андреева А. М., Рябцева И. П., Лукьяненко В. В. Адаптации дыхательной функции крови у пресноводных костистых рыб // Матер. 28-й Междунар. конф. «Биол. рес. Белого моря и внутренних водоемов европейского Севера». Петрозаводск: КарНЦ РАН. 2009. С. 33–39.
8. Иванов А. А. Физиология рыб. М.: Мир, 2003. 284 с.
9. Андреева А. М., Рябцева И. П. Механизмы адаптаций дыхательной функции крови у *Teleostei* // *Вопр. ихтиологии.* 2011. Т. 51, № 6. С. 834–843.
10. Serpunin G. G., Likhatchyova O. A. Use of the ichthyohaematological studies in ecological monitoring of the reservoirs // *Acta Vet. Brno.* 1998. Vol. 67. P. 339–345.
11. Kiron V., Takeuchi T., Watanabe T. The osmotic fragility of erythrocytes in rainbow trout under different dietary fatty acid status // *Fish. Sci.* 1994. Vol. 60. P. 93–95.
12. Messager J. L., Stephan G., Quentel C., Baudin-Laurencin F. Effects of dietary oxidized fish oil and antioxidant deficiency on histopathology, haematology, tissue and plasma biochemistry of sea bass *Dicentrarchus labrax* // *Aquat. Living Resour. Vivantes Aquat.* 1992. Vol. 5. P. 205–214.
13. Obach A., Quentel C., Laurencin F. B. Effect of alpha-tocopherol and dietary oxidized fish oil on the immune response of sea bass // *Dis. Aquat. Org.* 1993. Vol. 15. P. 175–185.
14. Селье Г. Очерки об общем адаптационном синдроме. М.: Медгиз, 1960. 254 с.
15. Effects of daily managements stress on haematology and blood rheology of the gilthead seabream / Pages T., Gomez E., Suner O., Viscor G., Tort L. // *J. Fish Biol.* 1995. Vol. 46. P. 775–786.
16. Микряков Д. В., Микряков В. Р., Силкина Н. И. Изменение морфофизиологических показателей иммунокомпетентных органов карпа *Syrpinus carpio* под влиянием гормона стресса // *Вопросы ихтиологии.* 2007. Т. 47, № 3. С. 418–424.
17. Алексеев Г. А., Берлинер Г. Б. Гемоглобинурии. М.: Медицина, 1972. 248 с.
18. Идельсон Л. И., Дидковский Н. Д., Ермильченко Г. В. Гемолитические анемии. М.: Медицина, 1975. 254 с.
19. Потемкин В. В. Эндокринология. М.: Медгиз, 1986. 432 с.
20. Файнштейн Ф. Э., Козинец Г. И., Бахрамов С. М., Хохлова М. П. Болезни системы крови. Ташкент: Медицина, 1987. 319 с.
21. Knorr M. B., Thorud K. Toxicity of ammonia to Atlantic salmon (*Samo salar* L.) In seawater — effect on plasma osmolality, ion, ammonia and glucose levels and hematologic parameters // *Comp. Biochem. Physiol.* 1966. Vol. 113A. P. 375–381.
22. Солдатов А. А. Особенности организации и функционирования системы красной крови рыб // *Журн. эвол. биохим. и физиол.* 2005. Т. 41, № 3. С. 217–224.
23. Seasonal intrathymic erythropoietic activity in trout / Alvarez F., Flano E., Villena A. J., Zapata A., Razquin B. E. // *Dev. Comp. Immunol.* 1994. Vol. 18. P. 409–420.

24. Иванова Н. Т. Атлас клеток крови рыб (сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб). М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983. 184 с.
25. Lindberg G. U. Quaternary period in light of biogeographical data. Moscow—Leningrad: USSR Academy of Sciences Publisher, 1955. 334 p.
26. Nishimura S. Origin of the Japan Sea. Tokyo: Tsuijishokan, 1974. 249 p.
27. Galindez E. J., Aggio M. C. The spleen of *Mustelus schmitti* (Chondrichthyes, Triakidae): a light and electron micriscopic study // Ichthyol. Res. 1998. Vol. 45. P. 179–186.
28. Маслова М. Н., Солдатов А. А., Тавровская Т. В. Сезонная динамика состояния системы красной крови некоторых черноморских рыб // Журн. эвол. биохим. и физиол. 1988. Т. 24. С. 516–521.
29. Маслова М. Н., Тавровская Т. В. Динамика сезонных изменений в системе красной крови низших позвоночных: сезонная динамика эритропоэза у форели *Salmo gairdneri* // Журн. эвол. биохим. и физиол. 1991. Т. 27. С. 796–798.
30. Values of haematological indices of wells (*Silurus glanis* L.) in relationship to the level of nutrition during the pre-spawning period / Svobodova Z., Kolarova J., Modra H., Vajcova V., Hamackova J., Kouril J., Kozak P. // Acta Vet. Brno. 1998. Vol. 67. P. 235–242.

Статья поступила в редакцию 13 июня 2013 г.