

8,8 ± 1,63% to 27,6 ± 8,94% in the fish of experimental group 2). The correlation coefficient between the number of morphologically changing of erythrocytes and time of residence in the polluted water in fish experimental group 1 was 0,88 ± 0,04 for micronuclei and 0,80 ± 0,9 for other abnormalities at $p < 0, 01$. For the experimental group 2 fish correlation coefficient was 0,51 ± 0,11 and 0,35 ± 0,08, $p < 0.01$. The intensity and speed of growth of changes in red blood cells decreases with increasing degree of water pollution that can be explained by the heavy lesion of blood-forming organs, the cessation of hematopoiesis and decreased cellular adaptation of red blood cells of the second group of fish.

Сведения об авторах:

Мешалкин Даниил Юрьевич, студент Вологодской государственной молочнохозяйственной академии имени Н.В. Верещагина; д. 2, ул. Шмидта, с. Молочное, Вологда, Вологодская область, Россия, 160555; тел.: +7(900)556-24-48; e-mail: 1.16.02.94@mail.ru

Лаврентьев Павел Андреевич, студент Вологодской государственной молочнохозяйственной академии имени Н.В. Верещагина; д. 2, ул. Шмидта, с. Молочное, Вологда, Вологодская область, Россия, 160555; тел.: +7(900)534-61-95; mailto:vologda-agility@mail.ru

Фомина Любовь Леонидовна, канд. биол. наук, доцент Вологодской государственной молочнохозяйственной академии имени Н.В. Верещагина; д. 2, ул. Шмидта, с. Молочное, Вологда, Вологодская область, Россия, 160555; тел.: +7(921)122-17-63; e-mail: fomina-luba@mail.ru

Author affiliation:

Meshalkin Daniel Yur'evich, Student of Vologda State Dairy Farming Academy named after N.V. Vereshchagin; h. 2, Schmidt str., p. Molochnoe, Vologda region, Russia, 160555; phone: +7(900)556-24-48; e-mail: 1.16.02.94@mail.ru

Laurent'ev Pavel Andreevich, Student of Vologda State Dairy Farming Academy named after N.V. Vereshchagin; h. 2, Schmidt str., p. Molochnoe, Vologda region, Russia, 160555; phone: +7(900)534-61-95; mailto:vologda-agility@mail.ru

Fomina Lyubov' Leonidovna, Ph. D. in Biology, Associate Professor of Vologda State Dairy Farming Academy named after N.V. Vereshchagin; h. 2, Schmidt str., p. Molochnoe, Vologda region, Russia, 160555; phone: 8-921-122-17-63; e-mail: fomina-luba@mail.ru

УДК 597.5831

Сергеева С.Г., Корниенко Г.Г.

МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СОЗРЕВАНИЯ АЗОВСКОЙ ТАРАНИ *RUTILUS* *RUTILUS L.*

Ключевые слова: тарань, гонады, яйцеклетки, стадия зрелости, гонадосоматический индекс (ГСИ), икротетание, фолликул, патология созревания, резорбция

Резюме: Для оценки состояния запасов и качества производителей проводится многолетний мониторинг состояния популяции тарани, одного из ценных промысловых видов Азовского бассейна. В качестве индикаторов физиологического состояния рыб использовали такие показатели как содержание белка, влаги, жира в мышцах, печени и гонадах. Гистологические исследования гонад проводили по общепринятым методикам. Изучено состояние и особенности созревания половых желез, оснащенность организма запасными и лабильными веществами на каждом этапе жизненного цикла самок тарани – преднерестового, нерестового, посленерестового, нагульного, зимовального. Описаны различные нарушения развития половых желез, которые в современный период затрагивают до 10-20% половозрелых самок в популяции. Наиболее часто отмечались такие патологии, как дегенерация прерителлогенных ооцитов, вителлогенных ооци-

тов, вакуолизация цитоплазмы. Реже встречалась массовая (тотальная) резорбция ооцитов периода вителлогенеза, асинхронность развития гонад. Показано, что гонады самок с тотальной резорбцией ооцитов претерпевают липоидную дегенерацию (жировое перерождение), в результате чего самки теряют свою воспроизводительную способность как минимум на 2 года. Одной из причин нарушения нормального развития половых продуктов является резкая смена температур воды при значительном похолодании, как в преднерестовый, так и в нерестовый период, а также отсутствие необходимых условий для нереста. Описанные в работе нарушения созревания гонад приводят к снижению репродуктивного потенциала популяции азовской тарани.

Введение

В настоящее время тарань является одним из самых массовых промысловых видов рыб бассейна Азовского моря. Состояние запасов азовской тарани зависит от многих факторов, однако ведущими являются экологические условия, необходимые для нормального протекания созревания половых продуктов. Для каждого периода жизненного цикла тарани свойственна определенная стадия зрелости яичника, которая протекает при сочетании определенных факторов среды обитания, таких, например, как температура и соленость воды, наличие определенного корма. При отсутствии хотя бы одного из этих факторов происходит нарушение нормального развития половых желез. Тарань обладает широкой экологической пластичностью и высокой устойчивостью к воздействиям неблагоприятных факторов среды. Однако в современных условиях при существующей антропогенной нагрузке у представителей данного вида рыб обнаруживаются многочисленные отклонения в развитии и формировании половых желез.

Целью настоящей работы явилось изучение созревания самок тарани Азовского бассейна, описание выявленных патологий развития половых продуктов. Такие исследования имеют большое практическое значение, так как позволяют оценивать состояние популяции и прогнозировать качественные изменения тарани как ценного объекта промысла.

Материалы и методы исследований

Основа данного исследования – многолетний материал, который собирали в Таганрогском заливе, Ясенском заливе, Бейсугском и Ейском лиманах Азовского моря во время зимовки, нерестовых миграций, летнего и осеннего нагула тарани. Обследовано более 1000 рыб, изготовлено и описано 200 гистологических препаратов, для оценки физиологического состояния обработано более 6000 проб.

Каждый экземпляр тарани, взятый для анализа, измеряли, определяли пол, оцени-

вали общую экстерьерную характеристику. Пробы тканей (навеской до 50 г) замораживали и сохраняли в холодильнике при температуре - 15° С. В качестве индикаторов физиологического состояния рыб использовали такие показатели как содержание белка, влаги, жира в мышцах, печени и гонадах. Оценку состояния гонад проводили в полевых условиях, делали фотографии половых желез и описывали морфологическое состояние гонад. Для гистологического анализа образцы тканей гонад фиксировали в 10%-ном растворе формалина или смеси Буэна. После проводки через спирты возрастающей концентрации, ксилол, снегоподобную массу (парафин в ксилоле) делали парафиновую заливку. После парафиновой заливки на санном микротоме делали срезы тканей толщиной не более 7 мкм. Гистологические срезы окрашивали по методу Маллори [1]. Фиксированные препараты срезов тканей микроскопировали с помощью микроскопов «Olympus» (Япония) и «Jenamed» (Германия) при увеличении $\times 10 \times 20$. Диаметр ооцитов измеряли с помощью окуляр-микрометра. Степень зрелости половых продуктов оценивали на основании макроскопических признаков и гистологического анализа [2, 3]. При микроскопировании образцов тканей определяли наличие/отсутствие отклонений в гистоструктуре половых желез. Измеряли диаметры ооцитов, изучали строение их оболочек, структуру цитоплазмы (степень вакуолизации, диаметры желтковых гранул, параметры жировых включений), положение ядра в ооците, количество и расположение ядрышек, состояние фолликулярного эпителия и других тканей яичников [4].

Все методики, используемые при исследовании показателей, характеризующих физиолого-биохимическое состояние рыб, изложены в двух методических пособиях [3, 5]

Результаты и обсуждение

У самок тарани, как и у всех весенне-нерестующих рыб, жизненный цикл состо-

ит из нескольких периодов: преднерестового, нерестового, посленерестового, нагульного, зимовального. В соответствии с этими периодами происходят изменения яичников, которые связаны с присутствием в них определенных комплексов половых клеток, находящихся на разных фазах развития.

Яичники тарани имеют вид парных мешков. Оболочка состоит из соединительной ткани и гладкой мускулатуры. От наружных стенок оболочки внутрь яичника отходят пластины, несущие яйцеклетки. По центру яйценосных пластинок проходит тяж соединительной ткани и кровеносные сосуды. В строме тяжа расположены яйцеклетки. В центральной части тяжа располагаются более крупные клетки, ближе к краям – самые молодые яйцеклетки. По краям пластинок расположены клетки зародышевого эпителия. Между яйценосными пластинами расположены участки полости яичника, которые соединяются с полостью яйцевода, наполненного овариальной жидкостью. Яйцевод лежит на спинной стороне яичника. Морфологические части яичника изменяются незначительно.

Процесс созревания яичников тарани претерпевает шесть стадий развития [6].

В яичнике **I стадии зрелости** имеются яйцеклетки периода синаптенной фазы и яйцеклетки ювенильной фазы. В этой стадии яичники находятся только раз в течение жизни самки. Яичники этой стадии имеют вид тонких стекловидных тяжей, на поверхности яичника кровеносные сосуды отсутствуют или выражены очень слабо. Полость яичника также выражена слабо. По краям пластин расположен зародышевый эпителий, далее лежат яйцеклетки периода синаптенной фазы. Яйцеклетки ювенильной фазы составляют основную массу яичника I стадии зрелости. Они имеют угловатую форму, тесно прилегают друг к другу, располагаются ближе к середине яйценосных пластин. В ювенильный период визуально определить пол рыбы очень трудно. В этот период происходит интенсивный линейный рост. У молоди содержание белка (80-100 мг/г) и жира (3-4%) в теле невысокое, количество мезентериального жира также небольшое. В гонадах содержание белка и жира минимальное.

Самки тарани созревают, как правило, на третьем году жизни. У впервые созревающих самок яичник переходит из I стадии во **II стадию**. У повторно созревающих са-

мок яичник переходит во **II стадию зрелости** по окончании VI стадии, то есть после икрометания. Макроскопически яичник II стадии зрелости имеет вид прозрачно-стекловидных тяжей желтовато-зеленоватого цвета. В яичниках II стадии зрелости имеются все яйцеклетки периода синаптенной фазы и малого роста. Основная его масса состоит из яйцеклеток в фазе однослойного фолликула. Полость яичника хорошо выражена. Гонады во **II стадии** у неполовозрелых самок отличаются от гонад повторно нерестующих размерами, яичники повторно нерестующих самок более крупные, кровеносные сосуды гонад и соединительнотканые тяжи более развиты. **Стадия II у половозрелых особей** начинается после окончания VI стадии, то есть с мая, и продолжается по июнь-июль. После икрометания наблюдается рассасывание пустых фолликулов и дегенерация невыметанных икринок. Этот процесс может продолжаться до 1.5 месяцев. За это время яйцеклетки фазы однослойного фолликула успевают увеличиться в размерах.

У неполовозрелых особей II стадия развития гонад продолжается примерно до августа третьего лета жизни, то есть 12-14 месяцев. У рыб всех возрастов период после нереста характеризуется усиленным питанием, ускорением роста. Степень наполнения кишечника достигает 4-5 баллов. Содержание белка в мышцах в это время высокое – 160-180 мг/г. Происходит накопление жира в брюшной полости. У половозрелых рыб гонадосоматический индекс составляет 0.5-0.6%.

Стадия зрелости яичника **III наступает** у тех самок, которые должны отнереститься в ближайшем нерестовом периоде, то есть на следующий год. Яичник **III стадии зрелости** имеет округлую форму, немного расширяющуюся к краевой части. Кровеносные сосуды, расположенные вдоль яичника, хорошо развиты и имеют многочисленные ответвления. Гонады III стадии зрелости характеризуется присутствием всего комплекса яйцеклеток яичника II стадии зрелости и клеток фазы первоначального накопления желтка. Эти клетки крупные, они располагаются ближе к полости яичника и краям яйценосных пластин. Продолжительность созревания гонад III стадии длится 1-1.5 месяца (до конца августа). Рыбы активно питаются (наполнение кишечника 3-5 баллов). Количество жира достигает 2-3% от массы тела (5 баллов). Жир обволакивает внутренности и поверхность гонад. Одновременно

происходит накопление жира в мышцах до 10% и печени до 45-48%, а также в яичниках до 20%. О высокой интенсивности питания свидетельствует и высокий уровень липидов в крови. Содержание липидов может достигать 3000 и более мг%. Гонадосоматический индекс в этот период составляет 2.7-3.0%.

Осенью яичники начинают увеличиваться. Это происходит за счет того, что яйцеклетки переходят из фазы первоначального накопления желтка в фазу наполнения желтком. Этот процесс начинается синхронно во всех клетках этой генерации и происходит в короткий срок. Далее наблюдается синхронный рост яйцеклеток фазы наполнения желтком. Таким образом, яичники переходят в **IV стадию зрелости**. Яичники IV стадии зрелости сильно увеличиваются в объеме по сравнению с яичниками III стадии и занимают большую часть брюшной полости, их оболочки плотные и упругие. Икринки имеют многогранную или округлую форму, тесно прилегают друг к другу. Кровеносные сосуды развиты и имеют многочисленные ответвления. Яйцеклетки находятся в фазе наполнения желтком. Вся порция яйцеклеток, которая должна быть выметана весной, хорошо просматривается уже осенью. Таким образом, в яичниках IV стадии зрелости присутствует весь комплекс яйцеклеток яичника **II стадии зрелости и яйцеклеток III-IV стадии зрелости, наполненных желтком**. Стадия зрелости IV у тарани наступает с октября и продолжается до марта-апреля. Всю зиму яичники находятся в **IV стадии зрелости**. В морфологическом отношении различий между яйцеклетками осенью и весной почти нет, однако отмечается увеличение всей гонады. Если в осенний период ГСИ самок составляет 7-10%, то весной он достигает 15-28%. Такое увеличение происходит в результате большого накопления желтка в яйцеклетках за зимний период. Диаметр зрелых ооцитов у тарани перед нерестом составляет 0.8-1.6 мм с модальной группой 1.1-1.2 мм.

Осенью рыбы продолжают активно питаться (наполнение кишечника 3-4 балла). Однако содержание мезентериального жира значительно уменьшается (2-3 балла). Количество белка и жира в мышцах находится на уровне летних значений, жирность печени снижается до 20-28%. В гонадах происходит рост количества белка. В сыворотке крови отмечается значительное увеличение содержания холестерина, предшественника половых гормонов, и ли-

пидов (430-570 мг% и 2000-2500 мг% соответственно). За зиму, в зависимости от температурных условий, происходят траты запасных веществ, связанные как с созреванием половых продуктов, так и с обеспечением процессов жизнедеятельности. В холодные зимы, когда рыба практически не питается, эти траты значительные. Однако в теплые зимы зачастую также происходит большой расход трофических веществ, что связано с повышенной двигательной активностью тарани. К весне значительно снижается содержание жира в печени (до 8-10%) и мышцах (до 4-6%), иногда уменьшается содержание белка в мышцах. В гонадах содержание белка достигает максимальных значений (220-240 мг/г), содержание жира несколько снижается (8-10%).

Переход гонад из **IV в V стадию** совершается очень быстро, в течение нескольких дней. Начало перехода характеризуется появлением прозрачных икринок, первоначально отделенных, потом небольших групп икринок, и, наконец, они заполняют вначале отдельные участки, а затем весь яичник. Первое появление прозрачных икринок в яичнике показывает, что зрелость всего яичника наступит в ближайшее время.

Все икринки становятся прозрачными, имеют правильную шарообразную форму. На гистологических препаратах зрелых яичников видно, что в ооцитах капли жира и зерна желтка равномерно распределяются в цитоплазме, около оболочек клеток видна четкая зона вакуолей. В некоторых клетках видно микропиле, что свидетельствует о высокой степени зрелости гонад. В V стадии зрелости присутствует весь комплекс яйцеклеток яичника **II стадии зрелости** и зрелые яйцеклетки. Вследствие очень больших размеров зрелых яйцеклеток, они на срезах яичника занимают преобладающее место, между ними разбросаны сравнительно редкие, более молодые яйцеклетки. Довольно трудно обнаружить и правильное расположение яйценосных пластинок, которые деформируются вследствие больших размеров зрелых яйцеклеток. Икрометание у тарани единовременное, выметывание созревших яйцеклеток происходит в течение короткого времени. После икрометания самки истощенные, у них снижается содержание белка, холестерина и липидов в сыворотке крови, а также количество жира в мышцах и печени.

После икрометания в яичнике остается весь комплекс яйцеклеток, характерных

для яичника **II стадии зрелости**. Кроме того, в нем имеются многочисленные фолликулы, оставшиеся после выхода из них зрелых яйцеклеток, а также редкие невыметанные яйцеклетки, которые подвергаются постепенной резорбции. Яичники значительно уменьшаются в размерах, кажутся дряблыми, мягкими на ощупь и имеют багрово-красную окраску. Оболочка плотная, часто встречаются невыметанные икринки беловатого цвета. Гонадосоматический индекс в этот момент составляет 1-1.5%. В яичниках **VI стадии зрелости** имеется весь комплекс яйцеклеток яичника **II** стадии зрелости и пустые фолликулы. То есть в яичнике половозрелых рыб постоянно имеется весь комплекс яйцеклеток **II** стадии зрелости.

Переход яичников из **VI** во **II** стадию зрелости совершается постепенно. Окраска яичников переходит из багрово-красной вначале в розоватую, затем розовато-стекловидную и, наконец, приобретает желтовато-зеленоватый цвет и прозрачный вид, характерный для **II стадии зрелости** гонад. Уже через несколько дней после икрометания в полости тела наблюдается отложение жира, который вскоре покрывает внутренности. По окончании резорбции пустых фолликулов яичник переходит во **II стадию зрелости**, и **годовалый цикл** изменений яичника начинается снова.

Иногда при созревании самок отмечаются различные патологии развития половых желез, что связано с действием различных факторов окружающей среды. Наши наблюдения за созреванием самок тарани показывают, что нарушения развития яичников затрагивают 10-20% половозрелых самок тарани. Встречаемые нами патологии гонад не являются видоспецифичными, резорбция гонад встречается у судака, пиленгаса и других видов рыб Азовского моря. Наиболее часто встречающимися патологиями яичников являются дегенера-

ция превителлогенных ооцитов, вителлогенных ооцитов, вакуолизация цитоплазмы. Резорбция ооцитов может быть нормальным процессом, если наблюдается у отнерестившихся особей и при установлении конечной плодовитости, и патологических, если происходит у созревших самок [7, 8].

Количество половых клеток и темп их формирования зависит от температуры воды [9]. В условиях затяжной теплой осени, когда рыбы усиленно питаются, происходит активное усвоение запасных веществ. В такие годы в осенний период среди ооцитов отмечается до 5-10% резорбирующих клеток. В отдельных ооцитах отмечается накопление желтка. Однородность состояния ооцитов достигается за счет резорбции зрелых яйцеклеток. Такую резорбцию единичных ооцитов можно рассматривать как норму в гаметогенезе рыб [10]. Однако массовая (тотальная) резорбция ооцитов периода вителлогенеза, по мнению многих исследователей, является реакцией воспроизводительной системы самок на изменение качества водной среды и свидетельствует о нарушении условий размножения [11-14].

Гонады самок с тотальной резорбцией ооцитов затем претерпевают липоидную дегенерацию (жировое перерождение). Среди обследованных нами рыб встречались самки с такими нарушениями созревания гонад. На рис. 1 представлены гонады самки тарани с текущей тотальной резорбцией.

На гистологических препаратах видно, что в резорбирующих ооцитах сильно утолщены оболочки яйцеклеток, ядра еще сохраняют округлую форму, но их оболочки приобретают волнообразную структуру (рис. 2).

По ряду причин нерест таких самок не произошел. На рис. 3 представлена фотография гонад, а на рис. 4 гистограмма рас-



Рис.1. Динамика появления микроядер в эритроцитах рыб опытных групп



Рисунок 2. Срез гонады самки тарани с резорбцией ооцитов
 а – скопление жировой ткани, б – резорбированные ооциты,
 в – ооциты протоплазматического роста

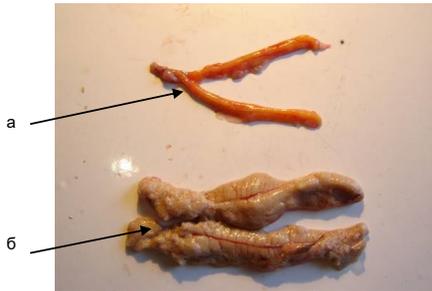


Рисунок 3. Гонады самок тарани, апрель 2013 г.
 а – патология развития; б – норма

пределаения размеров ооцитов самки с липоидной дегенерацией гонад (масса 124 г, длина 18.3 см, ГСИ 1.8%). Для примера на рисунке представлены гонады самки массой 127 г и длиной 18.0 см с нормальным развитием гонад, ГСИ 14.0%. В таком состоянии яичники, представленные на рис. 3, находятся на следующий год после того, как самка не отнерестилась. При анализе гистологического препарата выявляются резорбированные половые клетки, кото-

рые слились друг с другом в единую массу, их структура уже не видна, лишь отдельные ооциты сохраняют целостность оболочек. В поле зрения отмечаются единичные ооциты протоплазматического роста с нормальной структурой (рис. 4).

Ооциты протоплазматического роста размером 0.1-0.2 мм, которые обычно присутствуют в яичниках и составляют генерацию следующего года, на яйцесных пластинах не отмечаются. Низкий

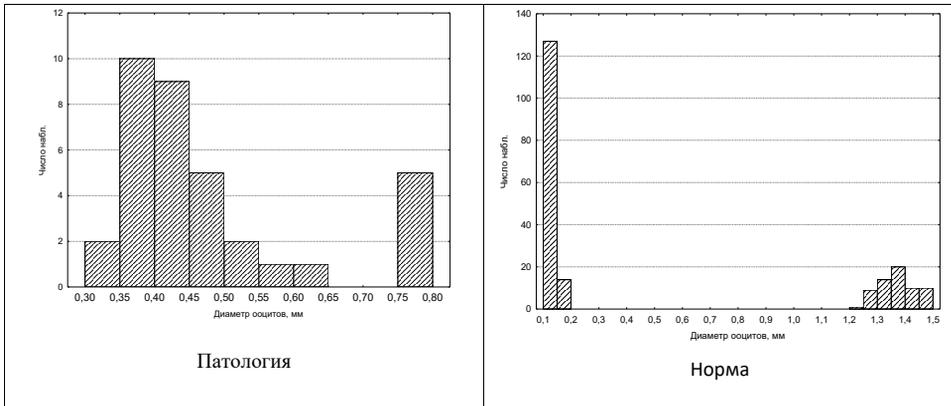


Рисунок 4. Распределение размеров ооцитов с патологией и нормой развития гонад

гонадосоматический индекс (1,8%) и наличие мелких икринок диаметром 0,35-0,8 мм позволяют предположить, что произошла остановка в развитии ооцитов на начальных стадиях трофоплазматического роста, о чем также свидетельствуют биохимические показатели: сниженное на 40% количество белка и повышенная жирность икры (53%). У самок с нормальным развитием гонад содержание жира в икре составляет 8-10%. Самки с липоидной дегенерацией гонад пропускают как минимум два нерестовых сезона. В этом случае, если по ряду причин самка не отнерести-лась, происходит дегенерация зрелых яйцеклеток, которые должны были созреть и быть выметанными во время очередного нереста. Резорбция дегенерированных яйцеклеток продолжается, как правило, до 3 месяцев. Процессы резорбции зрелых клеток не дают возможности расти яйцеклеткам новой генерации. Они остаются в фазе однослойного фолликула до весны следующего года. Только через год гонады получают возможность развиваться, а ооциты достигают зрелости только к весне второго года. Продолжительность созревания

гонад II стадии зрелости в этом случае продолжается до 10-12 месяцев. Таким образом, самки могут восстановиться только через 2 года, они пропускают два нерестовых сезона. В летний период (июль) в морских рейсах мы отмечали до 10% рыб длиной 16,5-18 см с гонадами II стадии зрелости с низкими значениями гонадосоматического индекса (менее 0,3%).

Достаточно редко встречается такая патология, как асинхронное развитие яичников. На рис. 5 представлены гонады самки возрастом 4 года. Одна гонада была незрелая, в ней отмечены ооциты II стадии зрелости, в другой гонаде – резорбированные ооциты IV стадии зрелости.

В результате развития описанных патологических процессов некоторое количество производителей теряют свою воспроизводительную способность. Одной из причин нарушения нормального развития половых продуктов является резкая смена температур воды при значительном похолодании, как в преднерестовый, так и в нерестовый период, а также отсутствие необходимых условий для нереста

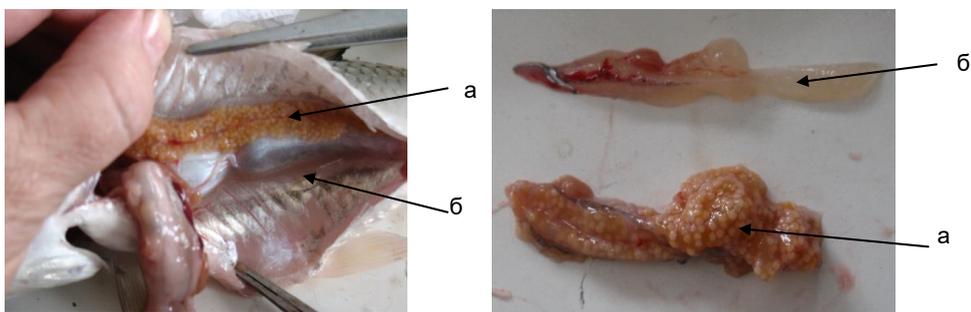


Рисунок 5. Гонады самки тарани в весенний период 2014 г.
а – тотальная резорбция ооцитов; б – гонада во II стадии зрелости

Выводы

Для определенных этапов жизненного цикла самок тарани свойственна определенная стадия зрелости яичника. Половой цикл, нормальное течение которого важно для существования вида, является необходимым для биологии рыбы и определяет в основных чертах ее поведение. Каждая стадия протекает при определенных экологических условиях, таких как температура, соленость, качество и количество кормовых организмов. После нереста рыб происходит усиленное питание и накопления жира, ускорение роста тела. В период развития и созревания половых

продуктов происходит прекращение питания рыб и почти полное прекращение их роста. При отсутствии хотя бы одного из необходимых экологических условий обитания происходит нарушение нормального развития половых желез, что не дает тарани возможности нормально отнереститься, вызывает дегенерацию и последующую резорбцию невыметанной икры и нарушает нормальное течение полового цикла. Это сказывается и на дальнейшем поведении производителей, которые, вместо того, чтобы заходить на нерест, остаются в море, в результате чего снижается репродуктивный потенциал популяции.

Библиографический список:

1. Роскин Г.И. Микроскопическая техника / Г.И. Роскин // - М.: Сов. Наука, 1951. - 447 с.
2. Сакун О.Ф. Определение стадий зрелости и изучение половых циклов рыб / О.Ф. Сакун, Н.А. Буцкая // - М.: Изд-во «Рыбное хозяйство», 1963. - 84 с.
3. Физиолого-биохимические и генетические исследования ихтиофауны Азово-Черноморского бассейна / Методическое руководство. - Ростов-на-Дону: Эверест, 2005. - 100 с.
4. Трусов В.З. Некоторые особенности созревания и шкала зрелости половых желез осетра / В.З. Трусов // Тр. ВНИРО. - 1964. - Т. 56. - Вып. 3. - С. 69 - 78.
5. Методы рыбохозяйственных и природоохранных исследований в Азово-Черноморском бассейне / - Краснодар: ООО «Просвещение-Юг», 2005. - 352 с.
6. Мейен В.А. Годовой цикл изменений яичников воibly Северного Каспия / В.А. Мейен // Тр. ВНИРО. - 1940. - Т. XI. - Ч. II. - С. 99-114.
7. Макеева А.П. Эмбриология рыб / А.П. Макеева // М.: Наука, 1992.
8. Фалеева Т.И. Анализ атрезии ооцитов у рыб в связи с адаптивным значением этого явления / Т.И. Фалеева // Вопросы ихтиологии. - 1965. - Т. 5. - Вып. 3.
9. Селюков А.Г. Морфофункциональные изменения рыб бассейна средней и нижней Оби в условиях возрастающего антропогенного влияния / А.Г. Селюков // Вопросы ихтиологии. - 2012. - Т. 52. - №5. - С. 581-600.
10. Кузьмин А.Н. Развитие половых желез у самок неевского проходного сига (*Coregonus lavaretus* L.) / А.Н. Кузьмин, А.М. Чуватова // Изв. ГосНИОРХ. - 1975. - Т. 104.
11. Акимова Н.В. Систематизация нарушений воспроизводства осетровых (*Acipenseridae*) при антропогенном воздействии / Н.В. Акимова, Г.И. Рубан // Вопросы ихтиологии. - 1996. - Т. 36. - №1.
12. Моисеева Е.Б. О нарушениях строения половых желез у самок осетровых (*Acipenseridae*) Азовского моря / Е.Б. Моисеева, С.И. Федоров, Н.А. Парфенова // Вопросы ихтиологии. - 1997. - Т. 37. - № 5.
13. Чеботарева Ю.И. Аномалии в строении воспроизводительной системы самок рыб Норило-Пясинских водоемов Таймыра / Ю.И. Чеботарева, С.П. Савоскул, К.А. Савваитова // Вопросы ихтиологии. - 1997. - Т. 37. - №2.
14. Минеев А.К. Некоторые гистологические нарушения гонад у головешки-ротана (*Perccotus glenni* Dibovski, 1877) бычка-кругляка (*Neogobius melanostomus* Pallas, 1814) Саратовского водохранилища / Минеев А.К. // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. - 2009. - Т. 11. - №1.

References:

1. Roskin G.I. Mikroskopicheskaya tehnika [Microscopic technique] / G.I. Roskin // - M.: Sov. Nauka, 1951. - 447 s.
2. Sakun O.F. Opredelenie stadiy zrelosti i izuchenie polovyih tsiklov ryib [Determination of the maturity stages and the study of sexual cycles of fish] / O.F. Sakun, N.A. Butskaya // - M.: Izd-vo «Ryibnoe hozyaystvo», 1963. - 84 s.
3. Fiziologo-biohimicheskie i geneticheskie issledovaniya ihtiofauny Azovo-Chernomorskogo basseyna [Physiological, biochemical and genetic studies of the ichthyofauna of the Azov-Black sea basin] / Metodicheskoe rukovodstvo. - Rostov-na-Donu: Everest, 2005. - 100 s.
4. Trusov V.Z. Nekotorye osobennosti sozrevaniya i shkala zrelosti polovyih zhelez osetra [Some features of the maturation and scale of maturity of the gonads of sturgeon] / V.Z. Trusov // Tr. VNIRO. - 1964. - T. 56. - Vyip. 3. - S. 69 - 78.
5. Metodyi ryibohozyaystvennyh i prirodoohrannyih issledovaniy v Azovo-Chernomorskom basseyne [Methods of fisheries and environmental research in the Azov-Black sea basin] / - Krasnodar: OOO «Prosveshchenie-Yug», 2005. - 352 s.
6. Meyen V.A. Godovoy tsikl izmeneniy yaichnikov voblyi Severnogo Kaspiya [The annual cycle of changes in the ovaries of roach in the Northern Caspian] / V.A. Meyen // Tr. VNIRO. - 1940. - T. XI. - Ch. II. - S. 99-114.
7. Makeeva A.P. Embriologiya ryib [Embryology of fish] / A.P. Makeeva // M.: Nauka, 1992.
8. Faleeva T.I. Analiz atrezii ootsitov u ryib v svyazi s adaptivnym znacheniem etogo yavleniya [Analysis of atresia of oocytes in fish to the adaptive value of this phenomenon] / T.I. Faleeva // Voprosy ihtologii. - 1965. - T. 5. - Vyip. 3.
9. Selyukov A.G. Morfofunktsionalnye izmeneniya ryib basseyna sredney i nizhney Obi v usloviyah vozrastayushchego antropogennogo vliyaniya [Morphofunctional changes of the fishes of the basin of the middle and lower Ob in the conditions of increasing anthropogenic impact] / A.G. Selyukov // Voprosy ihtologii. - 2012. - T. 52. - # 5. - S. 581-600.
10. Kuzmin A.N. Razvitiye polovyih zhelez u samok nevskogo prohodnogo siga (*Coregonus lavaretus* L.) [Development of the gonads in females of the Nevsky passage of whitefish (*Coregonus lavaretus* L.)] / A.N. Kuzmin, A.M. Chuvatova // Izv. GosNIORH. - 1975. - T. 104.
11. Akimova N.V. Sistematzatsiya narusheniy vosproizvodstva osetrovyyih (*Acipenseridae*) pri antropogennom vozdeystvii [Ordering of violations reproduction of sturgeon (*Acipenseridae*) under anthropogenic impact] / N.V. Akimova, G.I. Ruban // Voprosy ihtologii. - 1996. - T. 36. - #1.
12. Moiseeva E.B. O narusheniyah stroeniya polovyih zhelez u samok osetrovyyih (*Acipenseridae*) Azovskogo morya [Violations of the structure of the gonads in females of sturgeons (*Acipenseridae*) of the Azov sea] / E.B. Moiseeva, S.I. Fedorov, N.A. Parfenova // Voprosy ihtologii. - 1997. - T. 37. - #5.
13. Chebotareva Yu.I. Anomalii v stroenii vosproizvoditel'noy sistema'y samok ryib Norilo-Pyasinskih vodoemov Taymyra [Anomalies in the structure of the female reproductive system of fish Norilo-Pyasinsky water bodies of Taymyr] / Yu.I. Chebotareva, S.P. Savoskul, K.A. Savvaitova // Voprosy ihtologii. - 1997. - T. 37. - #2.
14. Mineev A.K. Nekotorye gistologicheskie narusheniya gonaed u goloveshki-rotana (*Perccotus glenni* Dibovski, 1877) bychka-kruglyaka (*Neogobius melanostomus* Pallas, 1814) Saratovskogo vodohranilishcha [Some of the histological disorders of the gonads at the embers-Rotana (*Perccotus glenni* Dibovski, 1877) bull-logs (*Neogobius melanostomus* Pallas, 1814) in the Saratov reservoir] / Mineev A.K. // Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk. - 2009. - T. 11. - #1.

Sergeeva S.G., Kornienko G.G.

MORPHOPHYSIOLOGICAL SPECIFICITIES OF MATURATION OF THE AZOV ROACH *RUTILUS RUTILUS L*

Key Words: roach, gonads, ovicellis, stage of maturity, gonadosomatic index, spawning, follicle, maturation pathology pathological ripening, resorption

Abstract: A multi-year monitoring has been conducted of the roach, one of valuable commercial species in the Azov Sea basin, in order to assess their population stocks and the quality of roach breeders. Such parameters as content of protein, moisture and fat in muscles, liver and gonads are studied to reveal physiological status of fish. Histological analysis is done by generally accepted methods. We have studied specificities of gonad ripening and availability of reserved and labile substances at each stage of the life cycle of roach females, i.e. during prespawning, spawning, postspawning, feeding and wintering periods. Anomalous development of gonads occurred nowadays in 10-20% of mature females has been considered. The most frequently observed pathologies are degeneration of previtellogenic and vitellogenic oocytes and cytoplasmic vacuolization. Total resorption of oocytes at vitellogenetic stage and asynchronism of gonad development are not so frequent. Female gonads with total resorption of oocytes are shown to undergo lipid degeneration due to which the females lose their reproductive abilities for at least two years. One of the reasons of such a disfunction is a sharp change of water temperatures when weather becomes too cold during prespawning and spawning periods; the absence of necessary conditions for spawning also disturbs the proper development of gonads. The disturbances described have brought on the decreased reproductive potential of the Azov Sea roach.

Сведения об авторах:

Корниенко Галина Гавриловна, доктор биол. наук, заведующая отделом генетико-биохимического мониторинга ФГБНУ Азовского научно-исследовательского института рыбного хозяйства (АзНИИРХ); д. 21в, ул. Береговая, Ростов-на-Дону, Россия; тел.: 8-918-511-00-87

Сергеева Светлана Григорьевна, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела генетико-биохимического мониторинга ФГУП АзНИИРХ; д. 21в, ул. Береговая, Ростов-на-Дону, Россия; тел.: 8-919-881-81-69; e-mail: sgs1301@yandex.ru

Author affiliation:

Kornienko Galina Gavrillovna, D. Sc in Biology, Head at the Department of genetic and biochemical Monitoring of FSBSI Azov Research Institute of Fisheries (AzRIF); 21B, Beregovaya str., Rostov-on-Don city, Russia; phone.: 8-918-511-00-87

Sergeeva Svetlana Grigorievna, Ph. D. in Biology, Leading Researcher at the Department of genetics and biochemical Monitoring FSBSI Azov Research Institute of Fisheries (AzRIF); 21B, Beregovaya str., Rostov-on-Don city, Russia; phone.: 8-919-881-81-69; e-mail: sgs1301@yandex.ru

УДК: 619:616-078

Колодий И.В., Ключников А.Г., Аксенова П.В., Ермаков А.М.

РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ПЦР ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ БАКТЕРИЙ РОДА *WOLBACHIA* У СОБАК С *D. IMMITIS*

Ключевые слова: дирофиляриоз, инвазия, бактерии рода *Wolbachia*, ПЦР, диагностика, праймеры

Резюме: Универсальность, высокая чувствительность и относительная простота исполнения ПЦР, а также отсутствие данных о распространенности бактерий рода *Wolbachia* у собак с

D. immitis в Ростовской области, диктует актуальность разработки тест-системы на основе ПЦР для обнаружения этих бактерий у собак с диروفилариозом и оценки ее специфичности.

В результате проведенных исследований, нам удалось сконструировать видоспецифичные праймеры *Wolb.F* (5' - ata-aca-gca-gga-atg-ggt-ggt - 3') и *Wolb.R* (5' - tca-cgc-act-cta-ttt-gct-gca - 3'), фланкирующие участок в 590 пар нуклеотидов, и определить оптимальные условия проведения ПЦР для обнаружения бактерий рода *Wolbachia* у собак с *D. immitis*. Специфичность разработанной тест-системы была подтверждена путем сравнительного анализа результатов определения ДНК *W. pipientis*, полученных из периферической крови собак, с ДНК *Borrelia burgdorferi*, а также с ДНК, выделенной непосредственно от самок *D. immitis*.

Введение

Бактерии-эндосимбионты уже сейчас поражают воображение своей необычайно широкой распространенностью среди беспозвоночных, в особенности членистоногих, и тем разнообразием фенотипических эффектов, которые они способны вызывать у колонизируемых ими организмов. Как грамотрицательная бактерия *Wolbachia* может играть важную роль в патогенезе диروفилариоза и иммунном ответе на эту инфекцию. Изучены возможные последствия массового высвобождения *Wolbachia* у хозяина, инфицированного диروفилариями. *Wolbachia* высвобождается как из живых, так и из мертвых (естественная гибель) гельминтов, а также в процессе обновления популяции микрофилярий и при фармакологических вмешательствах. При исследовании специфических антител к *Wolbachia* было обнаружено, что у собак с циркулирующими микрофиляриями иммунный ответ более выражен, чем у собак со скрыто протекающей инфекцией, - это подтверждает гипотезу, что обновление популяции личинок служит важным источником *Wolbachia* у собак, больных диروفилариозом. Показано, что *Wolbachia*, выделенная из *D. immitis*, стимулирует хемокинез нейтрофилов собаки и выработку ими провоспалительных цитокинов [1].

У тех видов филярий, которые служат хозяевами для *Wolbachia*, инфицированность составляет 100 %. Бактерии передаются от самки потомству. *Wolbachia* повышает жизнеспособность и плодовитость зараженных самок; снижает плодовитость незараженных, сдвигает соотношение полов в популяции хозяев в сторону преобладания самок. Дело в том, что *Wolbachia* не может передаваться со спермиями [2, 3, 4]. *Wolbachia* может элиминироваться из взрослых гельминтов в процессе антибиотикотерапии животного-хозяина. Многочисленные исследования показали, что различные протоколы лечения и дозы препаратов (наиболее эффективными представляются тетрациклин и его синтетические производные) способны резко

снизить численность эндосимбионтов или элиминировать их из организма гельминта. Такое уничтожение *Wolbachia* оказывает антифиляриозные эффекты, что может послужить ключом для новых стратегий лечения филяриозов [5].

Хотя природа воздействия вольбахий на нематоду-хозяина неизвестна [6], введение антибиотиков позвоночному хозяину, пораженному филяриями, приводит к нарушению процесса линьки микрофилярий, снижению репродуктивных способностей взрослых нематод и, в конце концов, к гибели взрослых гельминтов [7]. Было показано, что зависимость филярий от вольбахий открывает значительные перспективы контроля филярий с помощью антибиотиков [5,8]. Известно также, что вызываемые паразитизмом филярий воспалительные реакции связаны скорее с ответом позвоночного на белки поверхности вольбахий, чем ответом собственно на нематод [9,10].

Одним из современных методов диагностики на сегодняшний день является полимеразная цепная реакция (ПЦР). Универсальность, высокая чувствительность и относительная простота исполнения ПЦР, а также отсутствие данных о распространенности бактерий рода *Wolbachia* у собак с *D. immitis* в Ростовской области, диктует актуальность разработки тест-системы на основе ПЦР для обнаружения этих бактерий у собак с диروفилариозом и оценки ее специфичности.

Материалы и методы исследований

После клинического осмотра 76 собак, у которых в анамнезе была установлена потеря массы тела, снижение активности, утомляемость, бледность слизистых оболочек, повышение скорость наполнения капилляров, наличие сухого кашля, одышка, асцита, а также отсутствие терапии антибиотиками тетрациклинового ряда в течение последних 3-х лет, была выделена группа животных (n=45) с микрофиляриемией, установленной при помощи модифицированного метода Кнотта. Все пробы крови, положительные на микрофиля-

риемлю были протестированы при помощи иммунохроматографического метода на наличие антигена *D.immitis*. В результате была выделена группа животных (n=37) с подтвержденной сердечно-легочной формой дирофиляриоза. Из выделенной группы животных в ходе работы 3 собаки пало, после чего им было проведено патологоанатомическое вскрытие для выделения половозрелых *D.immitis*.

Выделение ДНК из крови и нематод проводили с использованием коммерческого набора «ДНК-Сорб-В» вариант 50 (ООО «ИнтерЛабСервис»). Анализ нуклеотидных полноразмерных геномов и участков различных генов *Wolbachia*, взятых из базы данных GenBank (NCBI) последовательностей, проводили с применением па-

кета прикладных программ «BioEdit 6.0». Специфичность выбранных праймеров теоретически изучали с использованием компьютерной программы BLAST. Сконструированные праймеры были синтезированы и очищены в ЗАО «Синтол» (г. Москва).

Результаты и обсуждение

Нуклеотидные последовательности генов-мишеней для ПЦР были получены из баз данных NCBI GenBank (AJ010272, AJ010273, AJ495000, AY523519 и AJ131709). В результате выравнивания нуклеотидных последовательностей *spe* гена *Wolbachia pipientis* было выявлено несколько протяженных районов 100%-ной идентичности нуклеотидной последовательности между

Таблица. Характеристика праймеров, использованных для идентификации *W.pipientis*

№	<i>Wolbachia</i> 5'-3'	T	Длина
Wolb.F	5'-ATAACAGCAGGAATGGGTGGT-3'	62	21
Wolb.R	5'-TCACGCACTCTATTTGCTGCA-3'	62	1

всеми штаммами, которые и были избраны в качестве мишеней для отжига праймеров и проб. Видоспецифичные праймеры *Wolb.F* (5' - ata-aca-gca-gga-atg-ggt-ggt - 3') и *Wolb.R* (5' - tca-cgc-act-cta-ttt-gct-gca - 3') фланкировали участок в 590 пар нуклеотидов (п.н.).

ПЦР для выявления ДНК *Wolbachia* электрофоретическим методом проводили

в реакционной смеси объемом 25 мкл, содержащей 10 мкл деионизированной воды, 5 мкл 5×ПЦР буфера, 2 мкл 25 мМ MgCl₂, по 1 мкл прямого и обратного праймеров (10 пмоль), 0,5 мкл зонда (5 пмоль), 0,5 мкл dNTPs (10 пмоль), 0,25 ед. Taq полимеразы, 5 мкл исследуемой ДНК. Рассчитанные видоспецифичные праймеры для выявления ДНК имели высокую температуру отжига

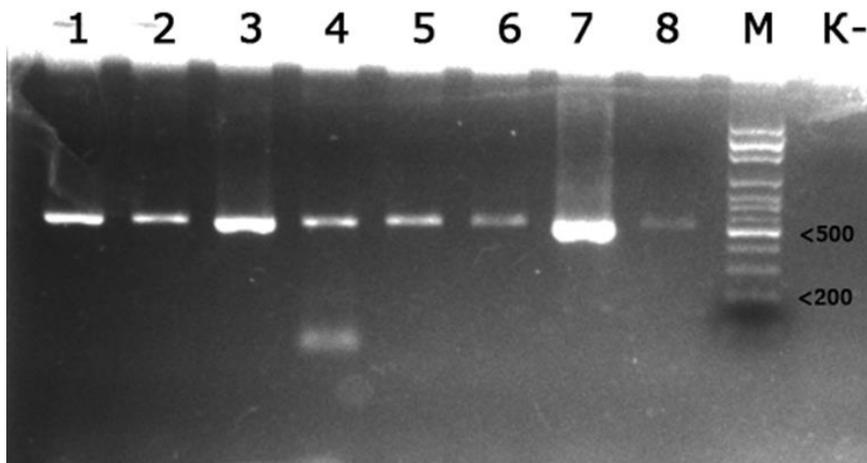


Рис.1. Детекция продуктов амплификации в агарозном геле (ДНК крови собак с микрофиляриемией (дорожка 1-6), ДНК *D.immitis* (дорожка 7-8), М – маркер молекулярной массы, (К-) – отрицательный контроль)

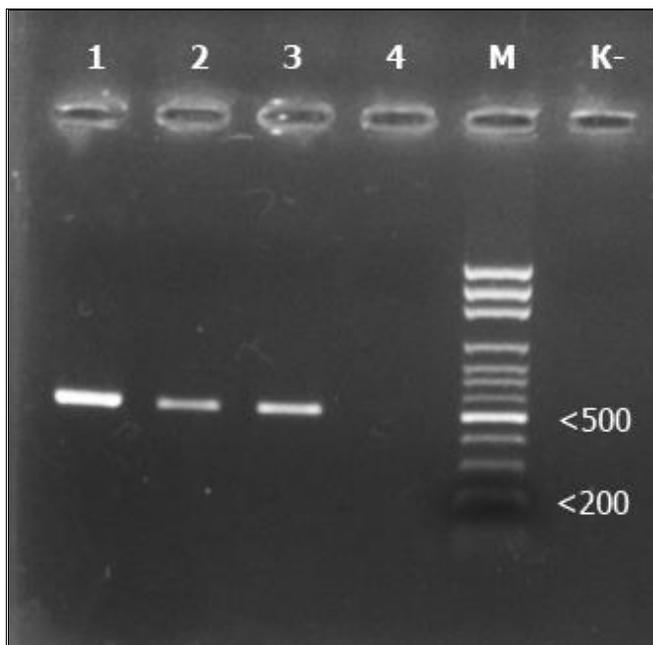


Рис. 2. Электрофореграмма продуктов амплификации ДНК самок *D.immitis* (дорожка 1), ДНК крови собак с микрофиляриемией (дорожка 2-3) и ДНК *Borrelia burgdorferi* (дорожка 4) с видоспецифичными праймерами *Wolb.F* и *Wolb.R*

62 °С, что позволило значительно снизить время постановки реакции, но не повлияло на её специфичность. Амплификация проводилась в следующем режиме: предварительная денатурация при 95°С в течение 1 минута, затем 40 циклов, включающих этапы 1) денатурация при 95°С – 15 секунд, отжиг праймеров при 62°С – 15 секунд, 3) элонгация при 72°С – 15 секунд (таблица 3).

Учет результатов ПЦР анализа проводили по наличию или отсутствию на электрофореграмме специфических полос амплифицированной ДНК (рисунок 1). Положительными считали образцы, которые содержали специфическую светящуюся полосу на уровне 590 п.н.

Для проверки специфичности реакции обоих *Wolb.F* и *Wolb.R* праймеров в качестве контроля использовали ДНК *Borrelia burgdorferi* (Ростовская областная ветеринарная лаборатория), а также ДНК, выделенную непосредственно от самок *D.immitis*. Ампликоны из 590 пар нуклеотидов были получены во всех пробах, со-

держащих ДНК, выделенных от самок *D.immitis* (дорожка 1) и из крови собак с микрофиляриемией (дорожка 2-3) (рисунок 2).

Заключение

В результате проведенных исследований были сконструированы видоспецифичные праймеры *Wolb.F* (5' - ata-aca-gca-gga-atg-ggt-ggt - 3') и *Wolb.R* (5' - tca-cgc-act-cta-ttt-gct-gca - 3'), фланкирующие участок в 590 пар нуклеотидов, оптимальный температурно-временной профиль программы амплификации составил: 95 °С - 3 мин - 1 цикл; 95 °С - 15 с - 40 циклов; 62 °С – 15 с - 40 циклов; 72 °С - 15 с - 40 циклов, 72 °С - 2 мин - 1 цикл. Специфичность разработанной тест-системы была подтверждена путем сравнительного анализа результатов определения ДНК *W. pipientis*, полученных из периферической крови собак, с ДНК *Borrelia burgdorferi*, а также с ДНК, выделенной непосредственно от самок *D. immitis*.

Библиографический список:

- McHaffie J. *Dirofilaria immitis* and *Wolbachia pipientis*: a thorough investigation of the symbiosis responsible for canine heartworm disease // *Parasitology research.* – 2012. – V. 110. – P 499-502.
- Kozek W.J., Gonzalez Jr., Amigo L.A. *Mappe parasitologiche-8. Wolbachia of Dirofilaria immitis: an historical perspective and morphological characteristics.* – Zagreb.: Giuseppe Cringoli, 2007.
- Пьянова А. М., Василевич Ф. И. Значение эндосимбионта *Wolbachia* в развитии и диагностике диروفилариоза // *Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные.* - № 1.- 2008. – С. 37-39.
- Ястреб В. Б., Павлова Е. В. Эндосимбионт филя-

- рий бактерия Wolbachia и ее возможная роль в диагностике и лечении диروفилариоза // Теория и практика паразитарных болезней животных. – 2010. – №. 11. – С.517-521.
5. Rossi M.I.D., Paiva J., Bendasc, A., Mendes-de-Almeida, F., Knackfuss, F., Miranda, M., Guerrero, J., Fernandes, O., Labarthea, N., Effects of doxycycline on the endosymbiont Wolbachia in *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856). Naturally infected dogs. *Veterinary Parasitology*. – 2010. – V. 174. – P.119–123.
 6. Fenn, K., Blaxter, M. Wolbachia genomes: revealing the biology of parasitism and mutualism. *Trends in Parasitology*. – 2006. – V.22. – P. 61-65.
 7. Strbing U., Lucius, R., Hoerauf, A., Pfarr, K.M. Mitochondrial genes for heme-dependent respiratory chain complexes are up-regulated after depletion of Wolbachia from filarial nematodes. *International Journal for Parasitology* – 2010. – V. 40. – P. 1193–1202.
 8. Taylor M.J., Cross H.F., Ford L., Makunde W.H., Prasad G.B.K.S., Bilo K. Wolbachia bacteria in filarial immunity and disease. // *Parasite Immunol.* – 2001. – V.23. – P.401–409.
 9. Bazzocchi C., Genchi C., Paltrinieri S., Lecchi L., Mortarino M., Bandi C. Immunological role of the endosymbionts of *Dirofilaria immitis*: the Wolbachia surface protein activates canine neutrophils with production of IL-8. // *Vet Parasitol.* – 2003. – V.117. – P.73–83.
 10. Morchon R., Ferreira A.C., Martin-Pacho J., Montoya A., Mortarino M., Genchi C., Simon F. Specific IgG antibody response against antigens of *Dirofilaria immitis* and its Wolbachia endosymbiont bacterium in cats with natural and experimental infections. // *Vet Parasitol.* – 2004. – V.125. – P. 313–321.

References:

- 1-2. Vide supra.
3. Pjanova A. M., Vasilevich F. I. Znachenie jendosimbionta Wolbachia v razvitiu i diagnostike dirofiljarioza // Rossijskij veterinarnyj zhurnal. Melkie domashnie i dikiye zhivotnye. – №91. – 2008. – S. 37-39.
4. Jastreb V. B., Pavlova E. V. Jendosimbiont filjarij bakterija Wolbachia i ee vozmozhnaja rol' v diagnostike i lechenii dirofiljarioza // Teorija i praktika parazitarnyh boleznej zhivotnyh. – 2010. – №. 11. – S.517-521.
- 5-10. Vide supra.

Kolodiy I.V., Kluchnikov A. G., Aksenova P.V., Ermakov A.M. PCR TEST DEVELOPING ON THE BASIS FOR DETECTION OF BACTERIA GENUS WOLBACHIA IN DOGS WITH *D. IMMITIS*

Key Words: Dirofilariasis, invasion, bacteria of the genus *Wolbachia*, PCR, diagnosis, primers

Abstract: At the moment, scientific data on the prevalence of bacteria of the genus *Wolbachia* in dogs with *D.immitis* in the Rostov region are absent. Nevertheless, the diagnosis dirofilariasis permanently placed in veterinary clinics. Universality, high sensitivity, and relative ease of execution causes PCR test development relevant for the detection of these bacteria in dogs with dirofilariasis. As a result of the research, we were able to construct a species-specific primers Wolb.F (5'-ata-aca-gca-gga-atg-ggt-ggt-3') and Wolb.R (5'-tca-cgc-act-cta-ttt-gct-gca-3'), flanking the site to 590 bp, and to determine the optimal conditions for the PCR for the detection of bacteria of the genus *Wolbachia* in dogs with *D.immitis*. new test specificity was confirmed by a comparative analysis of the results of DNA detection *W. pipientis*, derived from peripheral blood of dogs with DNA *Borrelia burgdorferi*, and also with DNA isolated directly from *D.immitis* females.

Сведения об авторах:

Колодий Ирина Владимировна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник Северо-Кавказского зонального научно-исследовательского ветеринарного института, 0, шоссе Ростовское, Новочеркасск, Россия, 346421

Ключников Александр Геннадьевич, канд. вет. наук, ветеринарная клиника «Вита», г.Ростов-на-Дону, e-mail: alex-roz@mail.ru

Аксенова Полина Владимировна, доктор биологических наук, зав. лабораторией Северо-Кавказского зонального научно-исследовательского ветеринарного института, Новочеркасск, e-mail: polinax-1@mail.ru

Ермаков Алексей Михайлович, доктор биологических наук, профессор, Донской государственной технической университет, заведующий кафедрой «Биология и общая патология», 344010, Ростов, пл. Гагарина, 1, e-mail: amermakov@ya.ru

Author affiliation:

Kolodiy I.V., Ph.D. in Biology, North-Caucasian Zonal Research Veterinary Institute, 0, Highway Rostov, NovoCherkassk, Russia, 346421

Kluchnikov A. G., Ph. D. in Veterinary Medicine, Vet Clinic «Vita», e-mail: alex-roz@mail.ru

Aksenova P.V., Sc.D. in Biology, North-Caucasian Zonal Research Veterinary Institute, NovoCherkassk, e-mail: polinax-1@mail.ru

Ermakov A.M., Sc.D. in Biology, Professor, Don State Technical University, Head of the Chair «Biology and Pathonomy», e-mail: amermakov@ya.ru