

КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ ПОДГОТОВЛЕННОСТИ И РЕПРОДУКТИВНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ОСЕТРОВЫХ (*ACIPENSERIDAE*) В СОВРЕМЕННЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

Ч.А. Мамедов^{1*}, А.А. Мехтиеv², Г.М. Палатников², Г.Г. Кулиева¹

¹Бакинский Государственный Университет, Баку, Азербайджан

²Институт Физиологии им. А.И. Караева НАНА, Баку, Азербайджан

CRITERIA FOR EVALUATION OF PHYSIOLOGICAL READINESS AND REPRODUCTIVE FEATURES OF STURGEON FISH BREEDERS (*ACIPENSERIDAE*) IN MODERN ECOLOGICAL CONDITIONS

Ch.A. Mamedov, A.A. Mekhtiev, G.M. Palatnikov, G.G. Guliyeva (Baku State University; Institute of Physiology, Azerbaijan National Academy of Sciences, Baku, Azerbaijan)

Резюме. Физиолого-биохимическими исследованиями было показано, что содержание общих сывороточных белков в крови самок персидского (Куринского) осетра, использовавшихся в рыбоводных целях на ОРЗ Азербайджана в 2016-ом году, колебалось в пределах 20,0-40,5 г/л. У большинства использованных самок количество микроядер в эритроцитах крови составляло 0–3 шт./1000 эритроцитов, что свидетельствовало о благополучном генотоксическом состоянии. Было также установлено, что определение количества микроядер в эритроцитах крови производителей осетровых, наряду с другими экспресс методами (физиолого-биохимические показатели, поведенческие реакции на половые феромоны) может служить очень чувствительным и надежным экспресс методом при определении их физиологической зрелости до гормональной стимуляции, а также прогнозировании степени выживаемости выращенной в заводских условиях молоди.

Abstract. It has been established, that the maintenance of the total serum proteins in the blood of female sturgeons, used for the fish-breeding purposes in Sturgeon Hatcheries of Azerbaijan in 2016 year, changed within the limits of 20,0-40,5 g/l. In the most of the used sturgeon fish breeders the quantity of micronuclei in erythrocytes of blood of female sturgeon was 0-3 per 1000 erythrocytes, that testifies about their favorable genotoxic conditions. It has been also established, that study of quantity of micronuclei in the erythrocytes of sturgeon breeders along with others express by methods (physiological and biochemical indicators, behavioral response of mature males to female sex pheromone) can serve as a very sensitive and reliable express method on definition of their physiological maturity before hormonal stimulation and also forecasting of a degree of survival rate of industrial juveniles.

Ключевые слова: осетровые, производители, эритроциты, микроядро, белки, репродуктивное состояние.

Keywords: sturgeons, breeders, erythrocytes, micronucleus, proteins, reproductive state.

***Чингиз Мамедов**, к.б.н., доцент, Бакинский Государственный Университет, AZ1141, 3. Халилов 23, Баку, Азербайджан, e-mail: m_chingiz@yahoo.com

Поступила в редакцию: 15 Марта 2017

1. Введение

Исследования, проведенные ранее [1, 3, 5, 9] показали, что на осетровых рыбоводных заводах прикаспийских регионов заготавливают для рыбоводных целей производителей осетровых с различным функциональным состоянием, в том числе и не пригодных для искусственного получения потомства. Кроме того, изменение экологической обстановки на водоеме повлияло и на биохимические показатели функционального состояния самок, характеризующие формирование половых продуктов.

В связи с нехваткой производителей осетровых рыб для обеспечения работы рыбоводных предприятий в последние годы отбор производителей осуществляется на тоневых участках или прибрежных зонах Каспийского моря без тщательного физиологического анализа, а физиологическое состояние и степень зрелости производителей осетровых рыб в условиях ОРЗ часто определяются по их внешним морфологическим признакам. Часть производителей осетровых, заготовленных для рыбоводных целей по этому принципу не реагирует на гормональную инъекцию или отдает половые продукты низкого рыбоводного качества. В связи с этим возникает необходимость в уточнении критериев подготовленности самок к восприятию гормональных инъекций.

По сведениям научных исследований последних лет, в целях прогнозирования репродуктивных особенностей производителей осетровых рыб, в качестве экспресс методов наряду с физиолого-биохимическими показателями могут быть использованы также данные о количестве микроядер в эритроцитах периферической крови [9, 12, 13] и проявление самцами реакции на половые феромоны самок [6, 7, 15]. Целью настоящей работы являлось изучение морфофизиологических и репродуктивных особенностей производителей осетровых в период получения половых продуктов, а также основных рыбоводно-биологических показателей выращенной бассейновым способом заводской молоди.

2. Материал и методика

Исследование функционального состояния производителей осетровых рыб, использующихся для получения половых продуктов, проводилось нами в период рыбоводного сезона на Хыллинском ОРЗ в 2016-ом году совместно с сотрудниками Института физиологии НАН Азербайджана.

Для изучения функционального состояния производителей осетровых рыб было использовано 11 половозрелых самок персидского (Куринского) осетра (*Acipenser persicus Borodin*), выловленные в разных зонах прибрежного участка Каспийского моря. Определение общего белка в сыворотке крови производителей осетровых рыб осуществляли по методу Бредфорда [10]. С этой целью сыворотку крови, взятую в момент получения половых продуктов, разводили в 1000 раз 0,7%-ным физиологическим раствором для холоднокровных животных. Затем к 1 мл разбавленной

сыворотки крови добавляли 1 мл 0,01%-ного раствора Кумаси ярко голубого G-250 и измеряли поглощения на длине волны 595 нм на спектрофотометре СФ-46. Полученные значения поглощения белков сыворотки крови переводили в концентрационные величины с помощью кривой зависимости поглощения на длине волны 595 нм от концентрации бычьего сывороточного альбумина.

Кровь для мазка брали из хвостовой вены в период получения половых продуктов. Мазки крови высушивались при комнатной температуре, а затем окрашивались по Романовскому-Гимза. С помощью светового микроскопа, на окрашенных препаратах подсчитывали количество микроядра в эритроцитах. Для каждой особи подсчитывали по 4000 эритроцитов. Полученные данные статистически обрабатывались [4].

3. Результаты исследований и обсуждение

Количество белка в сыворотке крови у производителей осетровых рыб и их репродуктивные показатели показаны в таблице 1. Как видно из таблицы 1, все самки осетровых (за исключением самки № 9) под воздействием гормональной стимуляции созрели, и от них было получено зрелая икра разного рыбоводного качества. Общее количество полученной икры от самок осетровых рыб составляло 19,0-22,0 % массы их тела.

Количество икринок в 1 грамме икры у I группы у производителей (самки под номерами 3; 4; 5; 6; 7 и 8) колебалось между 45-55 шт. Икра, полученная от I группы рыб, имела более высокий процент оплодотворения. Количество белка в сыворотке крови выше перечисленных самок варьировалось от 20,0 г/л до 40,5 г/л. А количество микроядер в эритроцитах (за исключением самки № 3) составляло от 0 до 3,0 шт. на 1000 эритроцитов, что свидетельствует о благополучном генотоксическом состоянии подопытных рыб.

Несмотря на высокую оплодотворяемую способность (97,4%) икры, полученной от самки № 3, выход однодневных личинок от живой икры (75%), а также выживаемость личинок и молоди при их выращивании бассейновым способом до стандартной навески было относительно ниже (71%), чем у предыдущих рыб.

Самки осетровых рыб, относящиеся к I группе (за исключением самки №8) были заготовлены в районе Ленкоранско-Астаринской зоны Каспийского моря и до гормональной инъекции почти 1 месяц выдерживались в бетонных бассейнах Хыллинского ОРЗ.

Самки персидского (Куринского) осетра (№ 1; 2) условно были отнесены ко II группе рыб. Процент оплодотворения икры, полученной от этих рыб, составлял 70,5% и 73,7%, соответственно. Самки II группы рыб были заготовлены в районе Аляты-Хыдырлинской зоны Каспийского моря. Количество белка в сыворотке крови II группы рыб составляло 20,5 г/л и 34,0 г/л, соответственно (Таб. 1). А количество микроядер в их эритроцитах, соответственно, составляло 0 и 1,0 на 1000 эритроцитов (Рис. 1).

Икра, полученная от III группы рыб (№ 9; 10 и 11), либо было не пригодной для рыбоводного использования (0 % оплодотворения - № 9), либо имела низкий процент оплодотворения (40% оплодотворения - № 10; 11). Самки III группы рыб были заготовлены в районе Ленкоранско-Астаринской зоны Каспийского моря и на протяжении 11-23 суток до гормональной инъекции выдерживались в заводских условиях. Количество белка в сыворотке их крови составляло 28,0 г/л, 36,5 г/л и 40,5 г/л, соответственно. А количество микроядер в эритроцитах составляло, соответственно, 1,0, 80,5 и 40,5 штук на 1000 эритроцитов. Относительно высокие показатели микроядер в эритроцитах последних двух самок (№ 10; 11) свидетельствует о влиянии на них какого-либо генотоксического фактора.

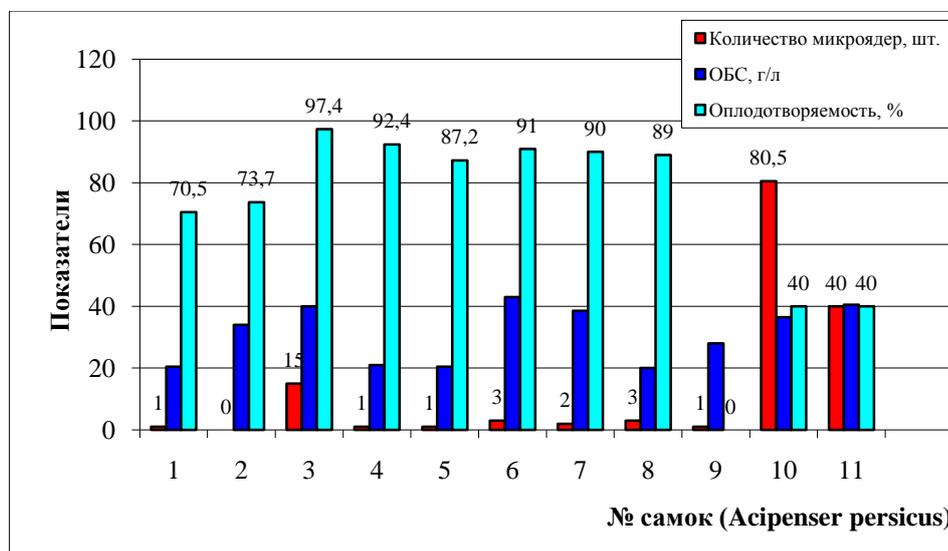


Рис. 1. Физиологические и репродуктивные особенности самок персидского (Куринского) осетра в 2016 году

Анализ функционального состояния самок персидского (Куринского) осетра, заготовленных для искусственного воспроизводства потомства, показал их разнородность. Аналогичные результаты были получены и ранее [1, 9].

В современных условиях в силу ряда обстоятельств на осетровые рыбоводные заводы часто попадают неполноценные в рыбоводном отношении производители и в большинстве случаев уверенное определение степени их физиологического состояния и готовности к размножению на основании внешних признаков затруднено или невозможно. И очень часто оказывается, что молодь, полученная от таких производителей-нежизнестойка [3, 5, 8, 9].

Весьма актуальным является прогнозирование и оценка возможного влияния тех или иных веществ на живые организмы, в частности на рыб. Обычно для этого используют тесты на выживаемость изучаемых видов в различных концентрациях тестируемых веществ. Однако данный метод не

учитывает отсроченные последствия воздействия этих веществ на последующие поколения животных перенесших такое воздействие. Иными словами, не учитывается возможное генотоксическое влияние.

Таблица 1.

Рыбоводно-биологические и физиолого-биохимические показатели самок персидского (Куринского) осетра на ОРЗ Азербайджана в 2016-ом году

№	Вид и пол рыбы	Длина тела L/l, см	Масса тела, P, кг	Количество полученной икры, кг	Количество икринок в 1 гр., шт.	Масса одной икринки, мг	Процент оплодотворения, 17 ст.	Количество белка в сыворотке крови, г/л
1	Осетр ♀	184/167	43	9,0	62	14	70,5	20,5
2	Осетр ♀	190/170	42	7,8	52	17	73,7	34
3	Осетр ♀	181/166	31	6,85	45	16	97,4	40
4	Осетр ♀	193/176	42	8,35	53	15	92,4	21
5	Осетр ♀	172/156	35	6,75	55	15	87,2	20,5
6	Осетр ♀	151/143	25	5,45	47	16	91	43
7	Осетр ♀	174/157	31	6,2	56	14	90	38,5
8	Осетр ♀	199/178	45	7,6	46	16	89	20
9	Осетр ♀	161/149	29	0	46	17	(0)	28
10	Осетр ♀	179/165	42	6,4	49	16	40	36,5
11	Осетр ♀	171/155	38	6,0	55	14	40	40,5

Для оценки такого влияния, вначале для млекопитающих, а затем и для других животных, был разработан микроядерный тест [14, 16]. В основе этого метода лежит следующее явление: под воздействием того или иного генотоксического фактора, в клетках организма происходит деления хромосом. В результате деления от хромосом отрываются фрагменты. Эти ацентрические обрывки хромосом, т.е. фрагменты без центромер, не могут в дальнейшем участвовать в делении клетки. Вокруг этих фрагментов формируется оболочка, и они выбрасываются из ядра в цитоплазму, где их можно обнаружить в виде так называемых микроядер.

Как показали многочисленные исследования [2, 11, 17] микроядерный тест является высокочувствительным показателем генотоксического воздействия для самых разнообразных абиотических факторов среды. Необходимо также отметить, что генотоксическими факторами среды, способствующие образованию микроядер в эритроцитах, могут быть не

только загрязнение среды, но и другие абиотические факторы (стрессовые факторы, физические травмы, условия выдерживания и т. д.).

В проведенных нами исследованиях изучалось генотоксическое состояние самок персидского (Куринского) осетра на основе микроядерного теста. На основе полученных результатов в других исследованиях [6, 7, 15] обнаружена связь между проявлением реакции на половые феромоны и высокими рыбоводными характеристиками самцов. Это особенность, несомненно, отражает физиологическое состояние рыб, их гормональный статус и уровень зрелости половых желез.

4. Выводы

Установлено, что содержание общих сывороточных белков в крови самок персидского (Куринского) осетра ОРЗ Азербайджана в 2016-ом году колебалось в пределах 20,0-40,5 г/л. У большинства самок осетровых рыб количество микроядер в эритроцитах крови составляло 0–3,0 шт./1000 эритроцитов, что свидетельствовало о благополучном генотоксическом состоянии использованных производителей.

Было также установлено, что определение количества микроядер в эритроцитах крови производителей осетровых может служить очень чувствительным и надежным экспресс методом при определении их физиологической зрелости до гормональной стимуляции, а также прогнозировании степени выживаемости выращенной в заводских условиях молоди.

Литература

1. Гераскин П.П., Аксенов В.П., Металлов Г.Ф., Журавлева Г.Ф., Чухонкина Г.А., Даютова Е.В., Мухамбеталиева А.Ж., (1999) Физиологическая полноценность самок севрюги, используемых для искусственного получения потомства, *Рыбохозяйственные исследования на Каспии: Результаты НИР за 1999 год*. Астрахань, 296-300.
2. Гришанин А.К., (1996) Определение мутагенности гидравлического удара микроядерным методом при исследовании эритроцитов *Carassius auratus L* (Cyprinidae), *Биология внутренних водоемов. Информ. Бюллетень*, 1, 94-96.
3. Кокоза А.А., Чакалгана Д.А., Мамедов Ч.А., Кириллов Д.Е., Михайлова М.В. и др., (1999) Основные результаты НИР по проблеме развития пастбищной аквакультуры, *Рыбохозяйственные исследования на Каспии: Результаты НИР за 1998 год*, Астрахань, 252-277.
4. Лакин Г.Ф., (1990) Биометрия, Москва, Высшая школа, 352 с.
5. Мамедов Ч.А., Гаджиев Р.В., Ахундов М.М., (2009) Новые технологии осетроводства в Азербайджане, Баку, Элм, 260 с.
6. Мамедов Ч.А., Касумян А.О., (2010) Реакция самцов осетровых на половые феромоны самок, *Материалы Международной научной конференции «Поведение рыб»*, Борок, 214-217.
7. Мамедов Ч.А., Касимов Р.Ю., (2011), Половые феромоны самок осетровых (*ACIPENSERIDAE*) и их влияние на поведенческую реакцию зрелых самцов,

- Труды Национального Комитета Азербайджана «Человек и Биосфера», Вып. 7, 219-230.*
8. Мильштейн В.В., (1975) Осетроводство, Москва, Пищевая промышленность, 128 с.
 9. Палатников Г.М., Аббасова А.Р., Мамедов Ч.А., Касимов Р.Ю., (2004) Оценка качества производителей осетровых по микроядерному тесту, *Материалы III Международной. научно-практической конференции. «Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития», Астрахань, 200-202.*
 10. Скоупс Р., (1985) Методы очистки белков, Москва, «Мир», 360 с.
 11. Яковлев А.Ф., Тюкачев М.В., Кравцов В.Ю., Донская П.В., Попова А.А., (1996) Частота эритроцитов с микроядрами в периферической крови рыб семейства осетровых, *40-я научно-техническая конференция проф.-препод. состава Астраханского Гос. Тех. Университета, Астрахань, 60-61.*
 12. Bickham J.W., (1990) Flow cytometry as a technique to monitor the effects of genotoxins on wildlife populations, In *Situ Evaluation of Biological Hazards of Environmental Pollutants*. Ed. by S.S.Sandhu et al. Plenum Press, N.Y., 97-108.
 13. Bickham J.W., Palatnikov G.M., Kasimov R.Yu., (2002), Evolution of genotoxic effect of pollutants on ichthyofauna with application of express method, *Scientific Technical Periodical*, 11, 228-230.
 14. Heddle J.A., (1973) A Rapid in vivo test for chromosomal damage, *Mutation Research.*, 18, 187-190.
 15. Kasumyan A.O., Mamedov Ch.A., (2011) Behavioral response of mature males of Acipenseridae to female sex pheromone, *Journal of Ichthyology*, 51(6), 457-465.
 16. Schmid W., (1975) The micronucleus test, *Mutation Research*, 31, 9-15.
 17. Takai Akinori, Fujikava Kazua, (1998) Induction of micronuclei in gill cells and erythrocytes of medaka *Oryzias latipes* by X-rays, *J. Radiat. Res.*, 39(4), 380.