

УДК 597.442.591.16.576.175.6

## ИЗМЕНЕНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ОЗИМОЙ ФОРМЫ РУССКОГО ОСЕТРА *ACIPENSER GUELDESTAEDTII* ВОЛГИ ПОСЛЕ ВЫДЕРЖИВАНИЯ И ГОРМОНАЛЬНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

© 2008 г. И. А. Баранникова\*, Л. В. Баюнова\*\*, Т. Б. Семенкова\*\*, И. В. Тренклер\*\*

\*Научно-исследовательский институт физиологии Санкт-Петербургского государственного университета

\*\*Центральная лаборатория по воспроизводству водных биоресурсов, Санкт-Петербург

\*E-mail: I\_A\_Bar@vd6221.spb.edu

Поступила в редакцию 27.04.2007 г.

Выявлены физиолого-биохимические показатели самцов и самок озимой формы русского осетра *Acipenser gueldenstaedtii* летнего и осеннего периодов хода в Волгу после длительного выдерживания (6–12 мес.) в низовьях реки. Подтверждена возможность развития половых желез и созревания после гормональной стимуляции при полном исключении речного периода миграции и при отсутствии экзогенного питания. В этот период происходят закономерные изменения содержания андрогенов, белка, глюкозы и холестерина в сыворотке крови, обеспечивающие необходимый уровень метаболизма и свидетельствующие о высокой адаптационной пластичности этих рыб.

В волжской популяции русского осетра *Acipenser gueldenstaedtii* в настоящее время, как и до гидростроительства на Волге, преобладают озимые формы (Баранникова, 1957; Баранникова и др., 2005). Ранний яровой осетр, заходящий в реку ранней весной с гонадами, близкими к зрелости, стал крайне малочисленным. Миграция озимого осетра начинается весной, продолжается летом и осенью; наиболее выражен летний ход (июль). Половые железы озимого осетра в начале весенне-летней миграции весьма далеки от зрелости. Осенью в Волгу заходят более зрелые рыбы. В последние годы озимый осетр является основным объектом разведения на осетровых рыбноводных заводах нижней Волги (Баранникова и др., 2005).

После отлова из реки озимые осетры содержатся на рыбноводных заводах в бассейнах или в прудах до завершения гаметогенеза и получения зрелых половых клеток весной будущего года. В течение всего периода выдерживания рыбы не питаются, и развитие половых желез происходит за счет эндогенных ресурсов. Использование для воспроизводства озимых форм осетра диктует необходимость изучения физиологического состояния производителей при исключении речного периода миграции и завершении гаметогенеза в ходе длительного выдерживания в низовьях реки при отсутствии экзогенного питания. В связи с этим была изучена динамика содержания в крови половых стероидов (тестостерон, 11-кетотестостерон) и ряда метаболитов, характеризующих обмен веществ (глюкоза, белок, холестерин) у рыб после отлова из реки, после разных сроков

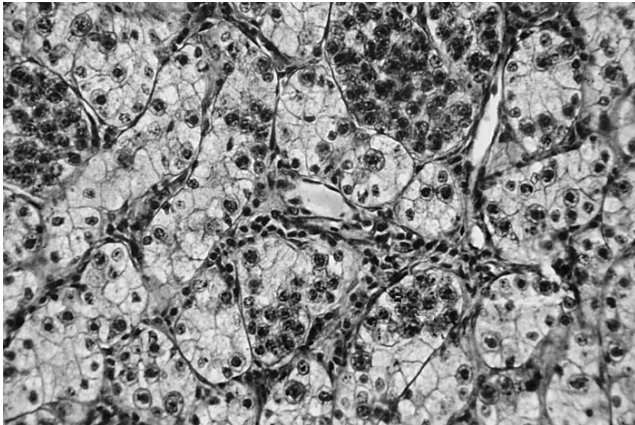
выдерживания и последующих гормональных воздействий.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

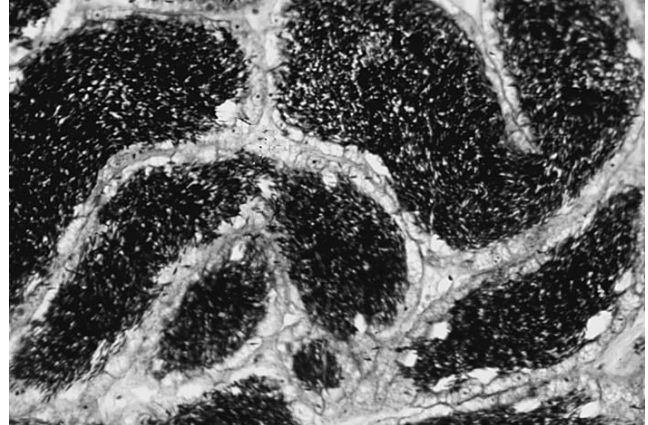
Самцов и самок осетра с гонадами III и III–IV стадии зрелости (СЗ) отбирали из уловов на лицевых тонях Волги в 2005–2006 гг. Абсолютная длина самок ( $n = 86$ ) составляла  $140 \pm 1.4$  см, масса –  $17.3 \pm 0.5$  кг; самцов ( $n = 24$ ) соответственно  $129 \pm 2.1$  см и  $9.7 \pm 0.3$  кг. Помимо крупных рыб, в качестве прилова отлавливались и более мелкие особи, имеющие гонады II СЗ. Абсолютная длина самок ( $n = 9$ ) составляла  $124 \pm 2.2$  см, масса –  $10.3 \pm 0.6$  кг; самцов ( $n = 8$ ) соответственно  $118 \pm 1.6$  см и  $7.5 \pm 0.17$  кг.

Длительное выдерживание озимых форм осетра проводилось на Александровском рыбноводном заводе, расположенном в дельте Волги. Озимых осетров летнего хода выдерживали с мая–июня по май следующего года, озимых осетров осеннего хода – с августа–сентября по май следующего года. Рыб содержали в пластиковых или бетонных бассейнах в основном при естественном температурном режиме.

Для гормональной стимуляции созревания самцов и самок использовали преимущественно сурфагон (синтетический аналог гонадолиберина). Препарат вводили самкам с помощью 2 инъекций. При первой инъекции вводили 1/15 часть общей дозы, при второй – разрешающую дозу. Интервал между инъекциями составлял 12 ч. Самцам гормональные препараты вводили в виде 3 инъекций с интервалами между воздействиями 3 сут. При 1-й и 2-й инъекциях вводили сурфагон,



**Рис. 1.** Участок семенника русского осетра *Acipenser gueldenstaedtii* озимой формы летнего хода в начале речного периода анадромной миграции. Сперматогонии, сперматоциты, начало очередной волны сперматогенеза. Увеличение  $\times 400$ .



**Рис. 2.** Участок семенника русского осетра *Acipenser gueldenstaedtii* озимой формы летнего хода после выдерживания в бассейнах в течение 11 мес. Сперматогенез завершен. В канальцах сперматозоиды. Увеличение  $\times 400$ .

при 3-й – глицериновый препарат гипофиза осетровых. В ряде случаев при 1-й инъекции вводили сурфагон, а при 2-й и 3-й – глицериновый препарат гипофиза осетровых, согласно ранее испытанным схемам (Груслова, Тренклер, 2001). Трехкратное инъектирование производителей позволяет получать сперму от одних и тех же самцов 2–3 раза. В результате от одного и того же самца получали значительно больше спермы, чем после однократного воздействия, что существенно для рыбоводного процесса.

Осетры с гонадами II СЗ после резервирования подвергались тем же гормональным воздействиям, что и озимые осетры, заходящие в реку для зимовки и размножения.

Материал был собран от рыб вскоре после вылова из реки и доставки на завод (май), а также после выдерживания в течение разных сроков (от 6 до 12 мес.). У самок образцы крови были взяты после созревания и овуляции; у самцов – после выдерживания перед первой инъекцией сурфагона и при завершении спермиации (от одних и тех же рыб). При прижизненном взятии проб кровь получали из хвостовой вены. В остальных случаях (при забое рыб) образцы крови брали из жаберной артерии. После отделения сыворотки образцы замораживали и хранили при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  до измерения концентрации стероидов и метаболитов. Для определения уровня гормонов в сыворотке крови применяли иммуноферментный твердофазный анализ (ELISA) с использованием модифицированных коммерческих наборов (Алкорбио, Санкт-Петербург) (Semenkova et al., 2002). Концентрации глюкозы и холестерина определяли энзиматическим колориметрическим методом. Концентрацию белка измеряли биуретовым методом. Анализ проводили с помощью

коммерческих наборов (Абрис Плюс, Санкт-Петербург). Оптическую плотность образцов измеряли на спектрофотометре E-LIZA MAT (DRG, США).

Для гистологического анализа кусочки семенников фиксировали в смеси Буэна с последующей заливкой в парафин. Срезы гонад окрашивали железным гематоксилином по Гейденгайну.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Физиологические характеристики самцов озимого осетра при выдерживании и гормональных воздействиях.** У самцов озимого осетра летнего хода в начале миграции вверх по течению (вскоре после отлова) гонады находились на II–III СЗ (рис. 1). Самцов с таким состоянием гонад выдерживали в бассейнах до весны следующего года. В течение этого периода произошло завершение сперматогенеза, и семенники достигли IV стадии зрелости (каналцы заполнены сперматозоидами) (рис. 2).

Содержание андрогенов (тестостерона и 11-кетотестостерона) повысилось в ходе выдерживания. У самцов IV СЗГ (стадии зрелости гонад) содержание андрогенов в сыворотке крови было достоверно выше, чем в начале миграции. Произошло также значительное увеличение концентрации холестерина и общего белка. Уровень глюкозы у рыб после выдерживания и в начале миграции был сходен (табл. 1).

После взятия образцов крови эти рыбы были проинъектированы гормональными препаратами с целью стимуляции спермиации. От всех самцов была получена сперма после трехкратных гормональных воздействий. После гормональных воздействий и завершения спермиации значительно

**Таблица 1.** Содержание андрогенов и ряда метаболитов в сыворотке крови самцов русского осетра *Acipenser gueldenstaedtii* при различном состоянии гонад, после выдерживания и гормональных воздействий в весенний период (май)

Группа рыб	СЗГ	№ пробы	Время взятия образцов крови	Содержание				
				тестостерона, нг/мл	11-кетотестостерона, нг/мл	глюкозы, ммоль/л	общего белка, г/л	холестерина, ммоль/л
Озимые летнего хода после отлова из реки	III	1	после доставки на завод	41.3 ± 10.9 (4)	29.5 ± 9.6 (4)	1.7 ± 0.3 (4)	26.3 ± 3.1 (4)	2.7 ± 0.3 (4)
Озимые летнего хода после выдерживания в бассейнах в течение 10–12 мес.	IV	2	до гормональной стимуляции	218.9 ± 26.4 (11)	81.4 ± 12.0 (7)	1.4 ± 0.3 (11)	44.2 ± 5.2 (11)	6.8 ± 0.3 (11)
	V	3	после гормональной стимуляции и спермиации	8.0 ± 1.1 (11)	48.6 ± 11.8 (7)	4.4 ± 0.5 (11)	26.7 ± 2.0 (11)	3.2 ± 0.3 (11)
Озимые осеннего хода после выдерживания в бассейнах в течение 6 мес.	IV	4	до гормональной стимуляции	208.5 ± 10.2 (5)	–	1.8 ± 0.5 (5)	38.3 ± 5.5 (5)	5.2 ± 0.3 (5)
	V	5	после гормональной стимуляции и спермиации	2.7 ± 0.2 (5)	–	2.1 ± 0.3 (5)	18.5 ± 0.3 (5)	2.2 ± 0.4 (5)

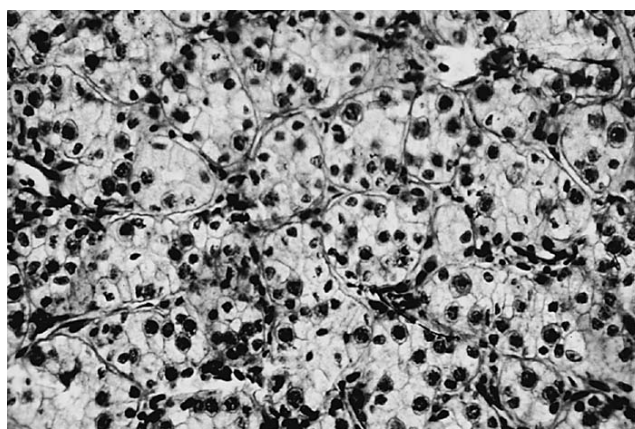
Примечание. Различия достоверны: по уровню тестостерона между пробами 1 и 2, 2 и 3, 3 и 5, 4 и 5 ( $p < 0.001$ ); по уровню 11-кетотестостерона между пробами 1 и 2 ( $p < 0.01$ ); по уровню глюкозы между пробами 2 и 3 ( $p < 0.001$ ), 3 и 4, 3 и 5 ( $p < 0.01$ ); по уровню общего белка между пробами 1 и 2, 2 и 3, 3 и 5, 4 и 5 ( $p < 0.01$ ); по уровню холестерина между пробами 1 и 2, 2 и 3, 4 и 5 ( $p < 0.001$ ), 2 и 4 ( $p < 0.01$ ). Здесь и в табл. 2 и 3: СЗГ – стадии зрелости гонад; в скобках указано число рыб.

снизились концентрации тестостерона, общего белка, холестерина и 11-кетотестостерона, а содержание глюкозы увеличилось (табл. 1).

Для получения зрелых половых клеток, кроме озимого осетра летнего хода, использовали озимого осетра осеннего хода после сравнительно более короткого периода выдерживания на заводе (6–8 мес.). Оказалось, что весной до гормональных воздействий содержание тестостерона в сыворотке крови этих рыб высокое и достоверно не отличается от показателей у озимого осетра летнего хода. Показатели содержания глюкозы и общего белка также близки. После гормональной стимуляции и спермиации у этой группы самцов наблюдалось резкое снижение содержания в сыворотке тестостерона, белка и холестерина (табл. 1).

Таким образом, у озимых самцов как летнего, так и осеннего периодов хода отмечены сходные изменения уровней тестостерона, холестерина и общего белка в ходе выдерживания и созревания после гормонального воздействия. Снижение содержания андрогенов в крови самцов после завершения спермиации неоднократно наблюдалось ранее как у русского осетра, так и у севрюги (*A. stellatus*) и белуги (*Huso huso*) (Баранникова, 2002; Semenkova et al., 2002; Bayunova et al., 2006).

**Физиологические характеристики самцов осетра на ранних стадиях зрелости и после гормональных воздействий.** У осетров II СЗ в гонадах из половых клеток присутствовали сперматогонии (рис. 3). Уровень андрогенов в сыворотке крови этих рыб не высок, что совпадает с наблюдениями на разных видах осетровых в природных условиях (Barannikova et al., 2004). После гормональных воздействий (в тех же дозах, как и зре-



**Рис. 3.** Участок семенника русского осетра *Acipenser gueldenstaedtii* II СЗГ. Сперматогонии. Увеличение ×400.

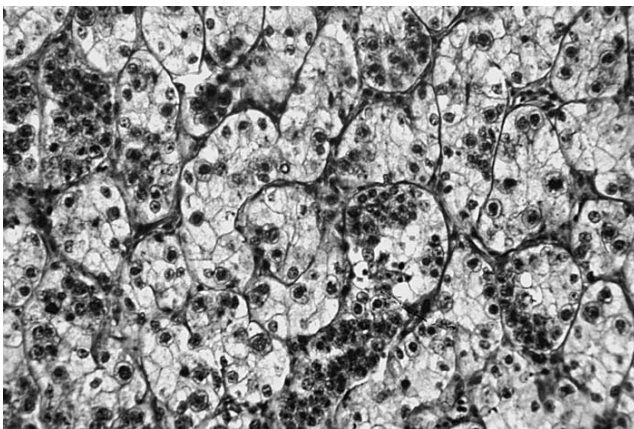
**Таблица 2.** Концентрации андрогенов и ряда метаболитов в сыворотке крови самцов русского осетра *Acipenser gueldenstaedtii* на ранних стадиях зрелости и после гормональных воздействий в весенний период (май)

Группа рыб	СЗГ	№ пробы	Время взятия образцов крови	Содержание				
				тестостерона, нг/мл	11-кетотестостерона, нг/мл	глюкозы, ммоль/л	общего белка, г/л	холестерина, ммоль/л
Особь после выдерживания в бассейнах в течение 10–12 мес.	II	1	до введения гормональных препаратов	17.9 ± 4.6 (3)	12.02 ± 5.6 (3)	2.31 ± 0.90 (3)	35.2 ± 1.4 (3)	4.5 ± 0.6 (3)
	II	2	после введения гормональных препаратов	18.1 ± 5.5 (5)	11.3 ± 3.0 (5)	0.34 ± 0.17 (5)	32.4 ± 1.8 (5)	4.62 ± 0.24 (5)
	II–III	3	до введения гормональных препаратов	29.8 ± 9.9 (3)	16.2 ± 4.5 (3)	1.1 ± 0.85 (3)	29.08 ± 9.3 (3)	2.95 ± 0.62 (3)
	II–III	4	после введения гормональных препаратов	69.6 ± 13.6 (3)	15.9 ± 9.8 (3)	2.5 ± 2.2 (3)	28.5 ± 4.7 (3)	2.82 ± 0.31 (3)
Особь после отлова из реки	II–III	5	после доставки на завод	45.2 ± 14.9 (4)	29.5 ± 9.6 (4)	2.83 ± 0.38 (4)	30.3 ± 4.7 (4)	2.88 ± 0.49 (4)

Примечание. По уровню тестостерона различия достоверны между пробами 2 и 4 ( $p < 0.05$ ), по уровню холестерина – между пробами 2 и 4 ( $p < 0.01$ ).

лым самцам осетра с целью получения спермы) не произошло достоверных изменений содержания андрогенов, холестерина и белка (табл. 2).

У части самцов после выдерживания в бассейнах наблюдались деления сперматогоний, появление сперматоцитов, т.е. отмечалось начало очередной волны гаметогенеза (II–III СЗГ) (рис. 4). Уровень тестостерона у этих рыб несколько выше, чем у осетров во II СЗГ, однако различие не-



**Рис. 4.** Участок семенника далекого от зрелости русского осетра *Acipenser gueldenstaedtii* после выдерживания в бассейнах. Деления сперматогоний, сперматоциты (II–III СЗГ). Увеличение ×400.

достоверно. После гормональных воздействий, аналогичных тем, которые применялись к самцам II СЗГ, у рыб II–III СЗГ наблюдалась четкая тенденция к повышению уровня тестостерона в сыворотке крови. Выявлены достоверно более высокие концентрации тестостерона у самцов II–III СЗГ по сравнению с особями II СЗГ после тех же воздействий. Это свидетельствует о различной реакции стероидогенной ткани гонад на одинаковое гормональное воздействие в зависимости от состояния воспроизводительной системы. У самцов осетра с гонадами II и II–III СЗ после выдерживания уровни тестостерона, 11-кетотестостерона и метаболитов не имели достоверных отличий от этих показателей у самцов с таким же состоянием гонад после доставки на завод с мест вылова (табл. 2).

**Физиологические характеристики самок осетра с различным состоянием гонад при выдерживании и гормональных воздействиях.** У самок II СЗГ после отлова из реки весной, до начала вителлогенеза, уровень тестостерона в сыворотке крови был низким, также как и у самцов с гонадами II СЗ. Возможно, отчасти это связано со стрессорным состоянием рыб при отлове. Однако после выдерживания на заводе в течение 12 мес. уровень тестостерона значительно повысился по сравнению с исходным состоянием. Существенных изменений уровня глюкозы, белка и холесте-

**Таблица 3.** Содержание тестостерона, глюкозы, белка и холестерина в сыворотке крови самок русского осетра *Acipenser gueldenstaedtii* с гонадами разных стадий зрелости, после выдерживания и гормональных воздействий в весенний период (май)

Группа рыб	СЗГ	№ пробы	Время взятия образцов крови	Содержание			
				тестостерона, нг/мл	глюкозы, ммоль/л	общего белка, г/л	холестерина, ммоль/л
Особь после отлова из реки	II	1	после доставки на завод	7.3 ± 0.5 (7)	2.9 ± 0.4 (7)	23.5 ± 1.7 (7)	2.4 ± 0.2 (7)
Особь после выдерживания в бассейнах в течение 10–12 мес.	II	2	до введения гормональных препаратов	24.9 ± 5.1 (4)	3.2 ± 1.0 (4)	27.7 ± 2.5 (4)	3.1 ± 0.5 (4)
	II	3	после введения гормональных препаратов	22.5 ± 6.4 (4)	3.9 ± 0.6 (4)	24.5 ± 0.9 (4)	2.6 ± 0.4 (4)
Озимые летнего хода после выдерживания в бассейнах в течение 10–12 мес.	V	4	после гормональной стимуляции и созревания	21.9 ± 4.2 (14)	1.7 ± 0.2 (14)	19.0 ± 1.7 (14)	4.3 ± 0.5 (14)
Озимые осеннего хода после выдерживания в бассейнах в течение 6 мес.	V	5	после гормональной стимуляции и созревания	9.4 ± 3.5 (4)	1.8 ± 0.3 (4)	14.8 ± 1.5 (4)	2.4 ± 0.6 (4)

Примечание. По уровню тестостерона различия достоверны между пробами 1 и 2 ( $p < 0.01$ ), 4 и 5 ( $p < 0.05$ ); по уровню холестерина – между пробами 4 и 5 ( $p < 0.05$ ).

рина в крови рыб в ходе выдерживания не выявлено.

Введение сурфагона самкам, которых выдерживали в течение 12 мес., не привело к изменениям концентраций тестостерона, белка, глюкозы и холестерина (табл. 3). У озимых самок как летнего, так и осеннего хода после длительного содержания на заводе, гормональной стимуляции и овуляции уровни тестостерона были невысоки, концентрация белка ниже, чем у самок II СЗГ (табл. 3).

Снижение содержания тестостерона в сыворотке крови самок при созревании и овуляции было также установлено для яровых и озимых форм осетра волжской популяции ранее; та же закономерность была выявлена у белуги и севрюги (Баранникова, 2002; Semenkov et al., 2002; Баранникова и др., 2005).

При сравнении содержания общего белка в сыворотке крови у самок и самцов отмечено, что этот показатель у самок достоверно ниже, чем у самцов той же группы (табл. 1, 3). Различия по уровню белка у самок и самцов были выявлены также у дунайской севрюги в речной период нерестовой миграции; у самцов отмечено более высокое содержание белка (Сеара et al., 2002).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При сравнении физиолого-биохимических показателей самок и самцов русского осетра при

различном состоянии гонад выявлен ряд закономерностей.

Концентрация холестерина в крови самцов и самок озимой формы русского осетра летнего хода после длительного выдерживания выше, чем у самцов и самок озимого осетра осеннего хода после более короткого периода выдерживания. Проведенные ранее сравнения между озимыми и яровыми формами осетра и белуги показали более высокое использование холестерина у яровых форм, по сравнению с озимыми после выдерживания в низовьях реки (Баранникова, 2002). Это, по-видимому, свидетельствует о различиях в потреблении эндогенных ресурсов, в частности, в липидном обмене в зависимости от продолжительности миграции и выдерживания.

Уровень тестостерона у озимых самцов русского осетра летнего и осеннего периодов хода после выдерживания в течение разного времени сходен и, вероятно, отражает степень подготовленности воспроизводительной системы к размножению.

После длительного выдерживания в условиях завода, при полном исключении речного периода миграции и при отсутствии экзогенного питания, у самок и самцов русского осетра происходит завершение процессов гаметогенеза, повышение уровня половых стероидов в крови и созревание под действием гормональной стимуляции. Это обеспечивается особенностями метаболизма и

свидетельствует о высокой адаптационной пластичности этих рыб.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Баранникова И.А. 1957. Биологическая дифференциация стада волго-каспийского осетра (в связи с задачами промышленного осетроводства в дельте Волги) // Уч. зап. Ленингр. гос. ун-та. № 228. Вып. 44. С. 54–71.
- Баранникова И.А. 2002. Гормональные характеристики осетровых на разных этапах репродуктивного цикла при современном состоянии экосистемы Каспийского бассейна // Современные проблемы Каспия. Астрахань: Изд-во КаспНИРХ. С. 40–43.
- Баранникова И.А., Байунова Л.В., Груслова А.Б. и др. 2005. Озимые формы в популяции осетра *Acipenser gueldenstaedtii* на Волге в современный период и возможности их воспроизводства // Вопр. ихтиологии. Т. 54. № 3. С. 369–374.
- Груслова А.Б., Тренклер И.В. 2001. Возможности повторного использования самцов русского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii* Br.) для рыбоводных целей //

Аквакультура осетровых рыб; достижения и перспективы развития. Астрахань: Изд-во Нова. С. 22–23.

- Barannikova I.A., Bayunova L.V., Semenkova T.B. 2004. Serum levels of testosterone, 11-ketotestosterone and oestradiol-17 $\beta$  in three species of sturgeon during gonadal development and final maturation induced by hormonal treatment // J. Fish. Biol. V. 64. Iss. 5. P. 1330–1338.
- Bayunova L.V., Barannikova I.A., Dyubin V.P. et al. 2006. Serum sex steroids and cortisol levels in the blood of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus* Pallas) during final maturation induced by LH-RH-analogs // J. Appl. Ichthyol. V. 22. P. 334–339.
- Ceapa C., Willot P., Le Menn F. et al. 2002. Plasma sex steroids and vitellogenin levels in stellate sturgeon (*Acipenser stellatus* Pallas) during spawning migration in the Danube River // J. Appl. Ichthyol. V. 18. P. 391–397.
- Semenkova T.B., Barannikova I.A., Kime D.E. et al. 2002. Sex steroid profiles in female and male stellate sturgeon (*Acipenser stellatus* Pallas) during final maturation induced by hormonal treatment // J. Appl. Ichthyol. V. 18. P. 375–381.