



005015678

На правах рукописи

УДК 597-11:597.553.2

**Ганжа
Екатерина Викторовна**

**ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ЛОСОСЕВЫХ РЫБ ПРИ
ИСПОЛЬЗОВАНИИ БИОТЕХНОЛОГИЙ**

Специальность 03.02.06 – ихтиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

1 МАР 2012

Москва - 2012 г.

Работа выполнена во Всероссийском научно-исследовательском институте
рыбного хозяйства и океанографии (ФГУП «ВНИРО»)

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Микодина Екатерина Викторовна
ФГУП «ВНИРО»

Официальные
оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Шатуновский Михаил Ильич
ФНБУ ИПЭЭ РАН

кандидат биологических наук
Метальникова Ксения Владимировна
ФГУП «ВНИРО»

Ведущая организация: Биологический факультет Московского
государственного университета им. М.В.
Ломоносова (МГУ)

Защита состоится « 16 » марта 2012 г. в 11 часов на заседании
диссертационного совета Д 307.004.01 при Всероссийском научно-
исследовательском институте рыбного хозяйства и океанографии (ФГУП
«ВНИРО») по адресу: 107140, г. Москва, ул. Верхняя Красносельская, д. 17.

Факс 8-499-264-91-76, электронный адрес sedova@vniro.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Всероссийского научно-
исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии.

Автореферат разослан « 15 » февраля 2012 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета
кандидат биологических наук



М.А. Седова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В ихтиологии существуют методы, позволяющие направленно изменять некоторые свойства рыб, в том числе физиологические: гибридизация и селекция (Николюкин, 1952, 1972; Бурцев, 1983; Черфас, Цой, 1984; Кирпичников, 1987), гиногенез (Черфас, Илясова, 1980; Грунина и др., 1998; Бадртдинов и др., 2008; Thorgaard, 1983; Thorgaard et al., 1981; Ihssen et al., 1990), полиплоидизация (Гомельский, Грунина, 1988; Арефьев, 1998; Васильев и др., 2005; Benfey, 1996; Piferrer, 2001; Koenig et al., 2011), инверсия пола (Гомельский, Черфас, 1982; Метальникова, 1992, 1995; Thorgaard, 1983; Chevassus et al., 1988; Piferrer, Donaldson, 1991; Piferrer et al., 1993; Krisfalusi, Cloud, 1999). Зачастую эти методы применяют в аквакультуре (Hulata, 2001) как биотехнологии для увеличения объёмов продукции рыбоводства и решения глобальной продовольственной проблемы в будущем. Трансгенез – биотехнологическое новшество, создающее генно-модифицированные (ГМ) организмы (Арефьев, 1998; Кузнецов и др., 2004; Pandian, 2001), в том числе, для применения в агропромышленном комплексе и рыбоводстве в составе комбикормов (Ганжа и др., 2011). Риски использования ГМ источников (ГМИ) в кормах связывают с возможными непредвиденными эффектами, обусловленными целенаправленным переносом искусственной генной конструкции в донорский организм (Жученко, 2003; Куликов, 2004; Cellini et al., 2001; Diao et al., 2006). Использование такого сырья в комбикормах может негативно повлиять на физиологическое состояние рыб как их потребителей (Herme et al., 2005; Sagstad et al., 2007).

Влияние традиционных и новых биотехнологий на рыб можно оценивать по биохимическим показателям, характеризующим протекающие внутриорганизменные реакции (Шатуновский, 1987; Tietz et al., 1995). Количественные и качественные изменения этих показателей, обусловленные геномными, гормональными и иными манипуляциями, характеризуют адаптивный ответ особи (Карпевич, 1998; Назаренко, Кишкун, 2000), и могут быть использованы как маркёры её физиологического состояния.

Биохимические маркёры гидробионтов уже применяют в водной токсикологии (Немова, Высоцкая, 2004; Немова, 2005; Цветков, 2009; Немова и др., 2011), детально изучены свойства многих белков крови рыб (Лукьяненко, 1971; Андреева, 1997). Биохимические показатели рыб в большинстве случаев оценивают трудоёмкими аналитическими методами, а данных, полученных экспресс-методами, ещё недостаточно для комплексной оценки их физиологического состояния, в том числе при использовании различных биотехнологий. Поиск новых достоверных маркёров функционального состояния рыб – объектов биотехнологий, и создание их референсных каталогов остаётся актуальной задачей.

Целью настоящей работы является комплексный анализ физиологического состояния лососевых рыб в связи с применением различных биотехнологий.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

- 1) оценить влияние окружающей среды на физиологическое состояние самок радужной форели *Oncorhynchus mykiss* (= *Parasalmo mykiss*) разной плоидности в высокогорных условиях тропиков;
- 2) определить биохимические и цитометрические показатели диплоидной и триплоидной гиногенетической радужной форели;
- 3) охарактеризовать по биохимическим показателям физиологическое состояние самок триплоидной радужной форели из однополого стада после гормональной инверсии пола;
- 4) изучить биохимические показатели производителей кижуча *Oncorhynchus kisutch* во время нерестовой миграции;
- 5) оценить наличие/отсутствие ГМИ в рыбных комбикормах, используемых в отечественной и зарубежной аквакультуре.

Научная новизна. Впервые проведён комплексный анализ физиологического состояния лососевых рыб по ряду биохимических маркёров. Проведено сравнение по этим показателям самок однополрой диплоидной и триплоидной радужной форели при культивировании в высокогорных условиях

южного Вьетнама, её триплоидных инверсантов, а также производителей кижуча из водоёмов, отличающихся гидролого-морфологическим режимом. Впервые выявлена иммунореактивность в крови лососевых рыб к специфическим факторам гуморального иммунитета и гонадотропным гормонам человека. Впервые проанализированы комбикорма для рыб на присутствие в их составе ГМИ.

Практическое значение. Подготовлены материалы для создания унифицированной референсной базы биохимических маркёров для комплексной оценки физиологического состояния ценных видов лососевых рыб. Рекомендованы проведение импактного мониторинга ГМИ в комбикормах для рыб, их маркировка подобно пищевой продукции и разработка методов и критериев оценки их воздействия на рыб.

Апробация работы. Основные результаты исследований представлены на II международной научно-практической конференции «Повышение эффективности использования водных биологических ресурсов» (Москва, 2008), V международном конгрессе «Биотехнология состояние и перспективы развития» (Москва, 2009), международной конференции «Arctic marine ecosystems in an era of rapid climate change» (Тромсø, 2009); III международной конференции с элементами школы для молодых учёных, аспирантов и студентов «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов» (Петрозаводск, 2010), Всероссийской молодежной конференции «Вклад молодых учёных в рыбохозяйственную науку России» (Санкт-Петербург, 2010), а также III международной конференции «Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб» (Борок, 2011).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 15 работ, три из них в изданиях, рекомендованных ВАК.

Основные положения, выносимые на защиту:

1) Гиногенез, полиплоидизация, гормональная инверсия пола и специфические условия южного Вьетнама влияют на содержание биохимических показателей в крови радужной форели, характеризующих её

физиологическое состояние.

2) Производители кижуча из разных водоёмов, во время нерестовой миграции, отличаются по содержанию ряда биохимических показателей в крови.

3) Производители комбикормов часто включают в их состав ГМИ, не указывая этого в доступной форме, что является риском для физиологического состояния рыб, потребляющих такие корма.

Структура и объём диссертации. Диссертация состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 506 источников, из которых 308 на иностранных языках. Работа изложена на 189 страницах текста, содержит 10 рисунков и 21 таблицу.

Благодарности. Искренне благодарю моего научного руководителя д.б.н., профессора Е.В. Микодину за всестороннюю помощь и советы при работе над диссертацией. Приношу глубокую благодарность академику Д.С. Павлову (ИПЭЭ РАН), д.б.н. В.П. Васильеву (ИПЭЭ РАН), Нгуен Ти Хуан Ту (НИИ Аквакультуры №3, Республика Вьетнам) за предоставленную возможность сбора материала; д.б.н., профессору А.О. Касумяну и д.б.н. А.Б. Бурлакову (МГУ им. М.В. Ломоносова) за ценные советы; к.б.н. Е.Д. Павлову (ИПЭЭ РАН), Во Тхи Ха (Российско-Вьетнамский Тропический Центр) за участие в совместной экспедиции; д.с.-х.н. Я. Коуржилу (VURN JU, Чешская Республика) за предоставленные образцы комбикормов; сотрудникам ФГУП «ВНИРО»: д.б.н. Н.В. Кловач, к.б.н. Б.П. Смирнову, к.б.н. А.Г. Новосадову и А.В. Новосадовой за помощь в сборе материала.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Обзор литературы

Рассмотрены особенности физиологии рыб при манипуляциях с геномом и при искусственной инверсии пола. Приведены данные по основным биохимическим показателям крови рыб и их функциональным значениям на разных этапах жизненного цикла. Описаны способы внедрения генных

конструкций в организм-реципиент, оценены риски манипуляций с геномом, приведена правовая нормативная база по трансгенезу.

Глава 2. Материал и методики

Объектами исследования являлись радужная форель и кижуч (табл. 1). Материал по гиногенетической диплоидной ($2n$) и триплоидной ($3n$) форели собран в 2009–2010 гг. на базе высокогорного (1485 м над уровнем моря) рыбного хозяйства в южном Вьетнаме, куда икру импортировали из США, Финляндии и Венгрии. Изучали инверсантов триплоидной радужной форели американского происхождения, на которую в раннем онтогенезе, воздействовали метилтестостероном (МТ) в течение 3.0 мес – инверсанты I (*ИИ*) и 2.5 мес – инверсанты II (*ИИИ*). Контролем (*К*) послужили рыбы, выращенные из той же партии икры, не подвергавшиеся гормональному вмешательству. Кроме этого, в 2010 г. изучено потомство (вьетнамская генерация), полученное от скрещивания самок финского происхождения с самцами, завезёнными из северного Вьетнама.

Таблица 1. Характеристика материала

Вид	Район сбора проб	Год	Пол	Возраст	Биологический анализ	Содержание глюкозы	БХ маркёры	Цитометрия	
									Число рыб
Радужная форель	Экспериментальное рыбноводное хозяйство Клонг-Кланх, при НИИ аквакультуры № 3 (RIA 3), Республика Вьетнам	2009	♀	1+	10	10	10	–	
				0+*	18/20**	18/20**	–	–/20**	
		2010		0+***	21	12	12	12(6)****	
				1+	<i>К</i>	88	53	20	34(7)****
					<i>ИИ</i>	60	48	20	–
					<i>ИИИ</i>	75	41	14	–
2+	12	12	12	12(6)****					
Кижуч	р. Б. Воровская, западное побережье п-ова Камчатка	2007	♂	2.1-3.1	11	9	9	–	
			♀		16	10	10	–	
	♂		1.1-2.1	24	12	12	–		
	♀		1.1-3.1	41	12	12	–		

Примечание: «БХ маркёры» – биохимические маркёры. Жирным курсивом выделены триплоидные рыбы. «–» – измерения не проводили; * – сеголетки вьетнамской генерации, ** – до слэша – количество рыб, исследованных в возрасте 5 мес, после слэша – в возрасте 7 мес; *** – сеголетки венгерской генерации; **** – перед скобками измерение ядер эритроцитов (5483 измерения), в скобках – измерение площади эритроцитов и расчёт ядерно-плазменного отношения (351 измерение).

Кижуча изучали в период нерестовой миграции в устье р. Большая Воровская – дикая популяция, и на оз. Большой Вилюй вблизи Вилюйского лососевого рыбоводного завода (ВЛРЗ) – «вилюйское» стадо.

На форелевом хозяйстве измеряли температуру воды термодатчиками iButton DS-19229, содержание кислорода оксиметром Hanna HI 9147, pH - Hanna pHep HI 98128. Биологический анализ рыб, расчёт коэффициента упитанности по Кларк (КУ) и гонадо-соматического индекса (ГСИ) проводили по Правдину (1966). Цитометрию эритроцитов (площадь эритроцитов, диаметр и площадь их ядер) у форели измеряли при помощи программы Image J по рекомендациям Васильева с соавторами (Васильев и др., 2005) и Власова с соавторами (Wlasow et al., 2004). Ядерно-плазматическое отношение (ЯПО) рассчитывали по Апаликовой (2008). Цитометрию осуществляли на окрашенных азур-эозином по Романовскому мазках крови под микроскопом Leica DC при ув. 10×100. Статистическая обработка материала выполнена с использованием MS Excel 2003. Достоверность различий определяли по критерию Стьюдента.

В крови рыб изучали биохимические маркёры – показатели белкового метаболизма, гуморального иммунитета, гонадотропные и половые стероидные гормоны (табл. 1). Кровь прижизненно отбирали из хвостовой вены в пробирки с ЭДТА и центрифугировали 7 минут при 3000 об/мин, плазму хранили при минус 12–18 °С. Показатели определяли в трёх повторностях, используя биохимический анализатор Biochem SA (НТИ, США), фотометр Immunochem-2100, инкубатор-шейкер Immunochem-2200 и мойку Immunochem-2600 (НТИ, США). Концентрацию глюкозы в цельной крови измеряли глюкометром Ascensia Entrust (Bayer).

Анализ ГМИ растительного происхождения в 17 отечественных и 16 импортных комбикормах проведён в аккредитованной лаборатории ООО «Компания Биоком» методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с применением «сухих» наборов реагентов «РТ-ПЦР-ядро» в амплификаторе SMART-Cycler II. В образцах определяли маркёры ГМИ (35S-промотор и NOS-

терминатор), которые идентифицировали с помощью праймеров сои линии 40-3-2, кукурузы линии MON 810 и GA21. Для количественного определения использовали маркёры ДНК сои и ДНК ГМО сои линии 40-3-2 (табл. 2).

Таблица 2. ГМИ-скрининг исследованных комбикормов

Метод изучения кормов	Год				
	2006	2007	2008	2009	2010
Выявление маркёра трансгеноза	6*	6	4	12	5
Идентификация трансгена	3	3	–	5	–
Количественное выявление трансгена	3	3	–	5	–

Примечание: * – количество образцов; идентификацию и количественное определение трансгена осуществляли только при выявлении маркёра трансгеноза.

Глава 3. Физиологическое состояние радужной форели при культивировании в условиях южного Вьетнама

3.1. Абиотические условия выращивания радужной форели

Радужную форель культивировали в прудах с каскадным типом водоснабжения и водозабором из двух горных речек, при стабильном фотопериоде (12 ч ночь: 12 ч день). Средняя температура воды с апреля по июнь составляла на водозаборе 18.0 (16.5–20.2) °С, а в последнем пруду каскада – 20.8 (17.5–26.7) °С, что приемлемо для выращивания сеголеток форели, но не для её созревания, размножения и развития в раннем онтогенезе (Голованов и др., 1992; Зеленников, 1999; Peterson, Meador, 1994; Pankhurst et al., 1996; Pornsoping et al., 2007). Более того, зарегистрированная максимальная температура воды считается критической даже для выживания данного вида (Rodgers, Griffiths, 1983). В течение суток температура в прудах изменялась на 5 °С, со значительным ассиметричным смещением суточных температур: максимум наблюдался с 15 до 16 час, минимум – утром с 6 до 8 час, по сравнению с условиями в естественном ареале вида (Голованов и др., 1992; Sutterlin, Stevens, 1992). Среднее содержание кислорода в воде утром было выше (6.6–7.1 мг/л), чем днём (7.0–8.5 мг/л). Часто содержание кислорода снижалось до 5.4 мг/л, что можно считать границей толерантности для выживания радужной форели. Средний рН варьировал около 7, соответствуя норме.

3.2. Биологические показатели и анатомические нарушения диплоидной и триплоидной радужной форели

Биологические показатели диплоидных сеголеток вьетнамской генерации достоверно увеличивались ($p < 0.001$) с возрастом (табл. 3). КУ у рыб этих возрастных групп был близким к 0.9 % ($p > 0.05$). Триплоидные сеголетки форели были достоверно крупнее ($p < 0.001$), чем диплоидные в 5-ти и 7-ми месячном возрасте, КУ сеголеток разной пloidности практически не различался. Гонады у этих рыб представлены тонкими непрозрачными тяжами массой менее 0.1 г. Диплоидные двухлетки были достоверно крупнее ($p < 0.001$), чем триплоидные особи (табл. 3). Длина и масса инверсантов форели III были достоверно больше, чем у II и у рыб в контроле ($p < 0.001$); КУ выше у рыб, потреблявших МТ 2.5 мес, в контроле он самый низкий. Гонады у 3л форели в возрасте 1+ в основном представлены длинными тонкими непрозрачными тяжами с массой менее 0.5 г, в контроле только у одной особи она составляла 6.1 г. У инверсантов выявлены многочисленные морфологические аномалии половых желёз: перетяжки, фрагментация, различия между правой и левой гонадами по размеру. Их форма соответствует яичникам, а текстура – как у семенников.

Таблица 3. Биологические показатели исследованной радужной форели

Пloidность	Происхождение	Возраст	Длина, см	Масса, г	Масса гонад, г	КУ, %	
2п	вьетнамское	5 мес	11.8 ± 0.22 9.8–13.3	17.1 ± 0.69 10.0–21.7	–*	0.90 ± 0.025 0.57–1.07	
		7 мес	14.8 ± 0.21 12.3–16.4	35.3 ± 1.53 21.1–51.8	–*	0.94 ± 0.009 0.87–1.00	
	финское	1+ (2009 г.)	39.5 ± 0.48 36.7–42.5	841 ± 32.6 610–990	3.6 ± 0.42 2.0–6.6	1.23 ± 0.028 1.09–1.36	
		2+ (2010 г.)	49.4 ± 0.67 46.0–53.4	1521 ± 55.2 1200–1870	117.7 ± 18.59 10.8–208.0	1.06 ± 0.018 0.95–1.15	
3п	венгерское	0+	18.2 ± 0.44 14.7–21.5	66.6 ± 4.20 38.3–109.5	–*	1.00 ± 0.016 0.81–1.10	
	американское	1+	K	33.4 ± 0.35 24.8–53.8.0	390 ± 10.4 133–622	0.4 ± 0.14 0.1–6.1	0.93 ± 0.011 0.29–1.10
			III	33.5 ± 0.37 26.2–39.0	409 ± 16.1 156–698	0.8 ± 0.14 0.1–3.7	0.95 ± 0.022 0.67–1.96
			III	36.2 ± 0.22 31.2–39.2	527 ± 11.7 308–724	1.6 ± 0.23 0.1–7.3	1.00 ± 0.015 0.82–1.79

Примечание: Здесь и далее над чертой – среднее значение показателя и его ошибка, под чертой – пределы варьирования показателя. * – рыбы с массой гонад менее 0.1 г.

У *2n* трёхлеток радужной форели выявлена широкая вариабельность массы гонад (10.8–208.0 г), что обусловлено частичной овуляцией или тотальной резорбцией ооцитов текущей генерации. У некоторых особей началось формирование ооцитов следующей генерации.

У некоторых особей отмечены аномалии строения тела – асимметричное расположение плавников, полиморфные плотные образования под кожей, отсутствие одного или двух глаз.

3.3. Биохимические показатели крови радужной форели

Содержание глюкозы. У всех исследованных рыб выявлена гипергликемия – высокий уровень глюкозы (Г) в крови (табл. 4). У *2n* форели (1+ и 2+) и *3n* сеголеток содержание Г варьирует в меньшей степени (в 2–2.3 раза), чем у *2n* сеголеток вьетнамской генерации и *3n* двухлеток (в 5–8 раз). Диплоидные сеголетки в возрасте 7 мес имеют несколько большее ($p > 0.05$) содержание Г, чем в 5 мес. Наименьшее содержание Г в крови выявлено у диплоидных двухлеток ($p < 0.05$), наибольшее – у производителей ($p < 0.001$).

Таблица 4. Содержание глюкозы (ммоль/л) в крови радужной форели

Диплоидная				Триплоидная*			
вьетнамская генерация (0+)*		финское происхождение		венгерское происхождение, 0+	американское происхождение, 1+		
5 мес	7 мес	1+**	2+*		К	И I	И II
7.9±0.45	8.5±0.79	6.9±0.20	9.0 ± 0.44	7.4 ± 0.37	7.2 ± 0.27	7.8 ± 0.33	7.9 ± 0.33
1.7–10.5	4.3–19.2	4.8–10.8	6.2–14.1	5.1–9.5	2.0–16.1	2.2–16.9	3.8–18.1

Примечание: * – содержание глюкозы в цельной крови; ** – содержание глюкозы в плазме.

У *2n* и *3n* двухлеток содержание Г в крови достоверно не отличается. У *3n* радужной форели отмечено повышение концентрации Г в крови двухлеток (контрольная группа) по сравнению с сеголетками. Гормональные манипуляции при инверсии пола приводят к увеличению уровня Г в крови подопытных рыб, различия достоверны уже при использовании МТ в течение 2.5 мес ($p < 0.1$) по сравнению с рыбами не потреблявшими гормон. Высокая концентрация глюкозы в крови радужной форели разной плоидности, вероятно, обусловлена нарушением обмена веществ у стада в целом в связи с применяемой

технологией кормления, является индикатором хронического стрессового состояния организма, отражающего нестандартные условия выращивания.

Показатели белкового метаболизма. Наибольшая концентрация общего белка (ОБ) и альбумина (А) в крови выявлена у двухлеток (2n) финского происхождения (рис. 1). К возрасту 2+ ОБ снижается почти в 4 раза, А – в 7 раз ($p < 0.01$), что, вероятно, связано с аномалиями в формировании репродуктивной системы. Полученные результаты соответствуют данным литературы, указывающим на зависимость этих показателей от возраста, пола и зрелости особи (Пустовит, Пустовит, 2005; Rehulka et al., 2005). Они характеризуют адаптацию организма к воздействиям внешних факторов, в том числе использование несбалансированного корма (Palmer, Ryman, 1972; Mlay et al., 2007; Inyang et al., 2010; Kopp et al., 2011). У всех 3n рыб среднее содержание ОБ и А сходно с 2n трёхлетками.

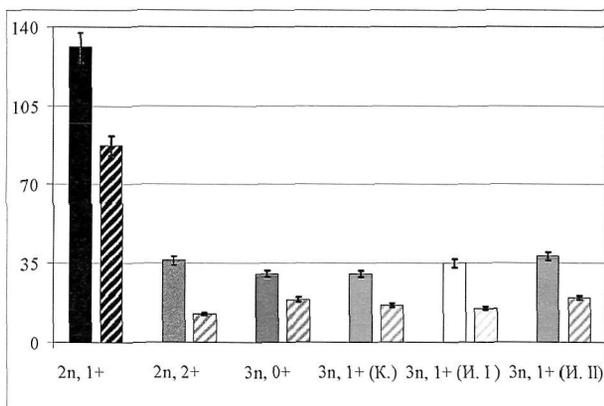


Рис. 1. Содержание ■ – общего белка (г/л) и ▨ – альбумина (г/л) в крови радужной форели разной плоидности (2n и 3n), в возрасте 0+, 1+, 2+, и при инверсии пола («К.» – контроль, «И. I» – инверсанты I, «И. II» – инверсанты II).

Выявлена отрицательная зависимость между содержанием ОБ и Г, и положительная – между ОБ и КУ, что, вероятно, обусловлено глюконеогенезом (Virtanen, 1987). Процентное отношение «ОБ : А» в плазме крови 2n рыб составляет 66.5% (1+) и 34.5% (2+), у 3n сеголеток венгерского происхождения – 62.6%, у форели американского происхождения (К) – 54.3%, и по 38.3% у особей после инверсии пола – ИI, ИII. Видна тенденция к повышению этого показателя у триплоидных самок по сравнению с инверсантами и его снижение

при созревании самок (2n 2+). У всей изученной гиногенетической 3n форели отношение «ОБ : А» ниже, чем у диплоидной, культивируемой в субтропиках, по данным литературы (79.1%) (Yousefian et al., 2010). Вероятно, снижение соотношения происходит за счёт увеличения глобулиновой фракции.

У диплоидной радужной форели в возрасте 1+ и 2+ выявлены различия в содержании креатинина (КР) (табл. 5), что может быть обусловлено качеством кормов. У 2n рыб выявлена положительная связь между содержанием КР и ОБ и отрицательная с А. У 3n рыб уровень КР варьировал в меньшей степени, чем у 2n. У инверсантов отмечено достоверное повышение уровня КР ($p < 0.01$) и сужение пределов варьирования данного показателя по сравнению с контролем.

Таблица 5. Содержание маркёров белкового обмена в крови радужной форели

Показатель	Диплоидная		Триплоидная			
	фишское происхождение		венгерский источник, 0+	американское происхождение, 1+		
	1+	2+		К	И I	И II
Мочевина, мг/дл	—*	9.0 ± 0.51 3.6–14.8	7.5 ± 1.01 1.7–23.7	6.6 ± 0.39 1.7–12.9	10.0 ± 0.39 4.4–16.8	7.8 ± 0.42 2.8–13.7
Креатинин, мкмоль/л	20.8 ± 3.67 0.9–80.9	234.6 ± 17.88 59.3–386.4	108.3 ± 6.80 88.2–127.1	142.9 ± 9.92 53.7–320.4	196.6 ± 8.99 60.7–306.1	199.4 ± 10.32 91.0–324.9

Примечание: * – показатель не измеряли.

Концентрация мочевины (М) в крови изученных рыб выше, чем у радужной форели, культивируемой в умеренной зоне (3.2–4.6 мг/дл) (Kopp et al., 2011). Вероятно, это связано с качеством и количеством потребляемого корма, а также усилением метаболизма в организме пойкилотермных животных в высокогорных условиях тропиков. У триплоидов-инверсантов содержание М достоверно больше ($p < 0.05$), чем в контроле. У триплоидов уровень М снижается с возрастом, а у подопытных рыб определена положительная дозозависимая связь продолжительности воздействия МТ с уровнем М (табл. 5).

Гуморальные факторы иммунитета. Содержание С-реактивного белка (СРБ) в крови 2n двухлеток радужной форели достоверно выше, чем у рыб из всех исследованных групп (табл. 6), причём оно снижается с возрастом и у 2n, и у 3n особей. Стоит отметить, что содержание СРБ, неспецифического маркёра воспаления, более 2.0 мг/л предполагает наличие патологии в организме

(Ramos, Smith, 1978; Liu et al., 2004; Ganzha, Mikodina, 2009). При отсутствии видимых симптомов заболевания, у большей части изученной форели, возможно, что воспалительный процесс локализован в пищеварительном тракте и обусловлен использованием комбикормов, разработанных для культивирования радужной форели в пределах естественного ареала, а также интенсивным режимом кормления.

Таблица 6. Содержание СРБ и иммуноглобулина Е в крови радужной форели

Показатель	Диплоидная		Триплоидная			
	финское происхождение		венгерский источник, 0+	американское происхождение, 1+		
	1+	2+		контроль	И I	И II
СРБ, мг/л	5.8 ± 0.69 0.3–18.6	1.6 ± 0.08 0.6–2.7	1.5 ± 0.09 0.3–2.5	1.1 ± 0.08 0.0–3.2	2.0 ± 0.08 0.7–3.8	1.8 ± 0.07 0.2–2.5
Ig E, мМЕ/мл	15.6 ± 2.54 0.0–83.0	0.1 ± 0.04 0.0–0.9	0.1 ± 0.07 0.0–1.6	0.2 ± 0.06 0.0–1.6	0.2 ± 0.06 0.0–2.4	0.2 ± 0.09 0.0–1.9

Примечание: Здесь и далее по тексту нулевое минимальное значение показателя в знаменателе отражает предел чувствительности методик, использованных для выявления соответствующего биохимического маркера (СРБ – 1 мг/мл, Ig E – 5 мМЕ/мл), и не свидетельствует о полном отсутствии этого показателя в крови отдельных особей.

В крови радужной форели выявлена специфическая иммунореактивность к иммуноглобулинам (Ig) А, М, G и Е человека (табл. 6, рис. 2). Это указывает на наличие Ig данных классов, либо белков функционально аналогичных им у рыб. Известно, что в крови рыб содержатся иммуноглобулины (Лукьяненко, 1971; Микряков, 1991; Кондратьева и др., 2001; Андреева, Дмитриева, 2011), которые некоторыми исследователями разделены на классы: IgM или IgM-подобный белок, IgD, IgZ/IgT, IgW/IgX и IgH (Wilson et al., 1985; Koumansvandiepen et al., 1995; Warr 1995; Bernstein et al. 1996; Hordvik et al., 1997, 1999; Danilova et al., 2005; Hansen et al., 2005; Savan et al., 2005; Vasely et al., 2006). Однако существует мнение, что Ig рыб не распределяются на классы или признаётся существование только класса М (IgM-like) (Suzuki et al., 1997; Van Muiswinkel, 2008).

У радужной форели преобладает фракция IgG (рис. 2) и его количество уменьшается с возрастом у особей разной ploidy (p<0.001). Отмечена положительная взаимосвязь содержания IgG с ОБ и А в крови. Количественно IgA достоверно (p<0.001) преобладал у 2п двухлеток (рис. 2), у 3п был ниже,

чем у диплоидов. У инверсантов уровень Ig A и G ниже, чем в контроле ($p < 0.001$), т.е. воздействие стероидного гормона (MT) в раннем онтогенезе снижает выработку антител во взрослом состоянии (Suzuki et al., 1997; Hou, 2001).

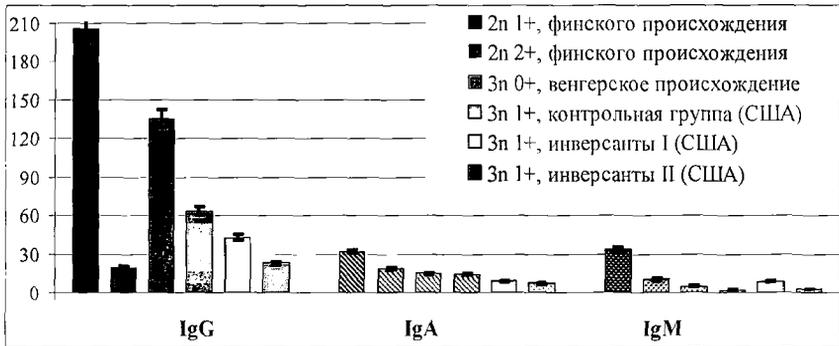


Рис. 2. Содержание Ig (мг/мл) классов G, A, M в крови радужной форели.

Общее содержание Ig в крови рыб взаимосвязано с условиями среды, что отмечено и другими исследователями (Zapata et al., 1992; Suzuki et al., 1997). Процентное распределение Ig у всей изученной форели в целом следующее: IgA – 10–20%, IgM – 2–15%, IgG – 70–85%, за исключением 2n 2+ – IgA и M – 40%, а IgG – 20%.

IgE выявлен у менее половины изученных рыб, его содержание было незначительным, за исключением 2n 1+ (табл. 6), и, вероятно, отражает их индивидуальное состояние.

Содержание гонадотропных гормонов. В крови радужной форели выявлена иммунореактивность к фолликулостимулирующему (ФСГ) и лютеинизирующему (ЛГ) гормонам человека, являющихся аналогами гонадотропных гормонов (ГТГ) I и II у рыб, соответственно (Бурлаков, 2002; Макеева, 1992; Suzuki et al., 1988 a, b; Okuzava, 2002). ГТГ детектированы не у всех изученных рыб, за исключением ФСГ у 2n двухлеток – 15.7 ± 5.80 (1.2–43.8) мМЕ/мл. У трёхлеток форели ФСГ найден только у 50% рыб и был низким (0.4 ± 0.19 мМЕ/мл). ЛГ у 2n рыб в возрасте 1+ составлял 7.1 ± 4.54 (0.0–44.3) мМЕ/мл (50% рыб), в 2+ – выявлен в небольшом количестве у 17% особей.

У триплоидной радужной форели ФСГ определён только у некоторых особей, его среднее содержание было максимальным у инверсантов II (2.1 мМЕ/мл) и достоверно не отличалось от контроля и других групп. ЛГ у триплоидов выявлен в следовых концентрациях и не у всех особей, однако у III его количество было меньше, чем у III ($p < 0.05$). У отдельных триплоидных рыб ФСГ достигал 25.6 мМЕ/мл в 0+, у двухлеток – 7.5 мМЕ/мл (K), 9.7 мМЕ/мл (II) и 38.2 мМЕ/мл (III), т.е. гонадотропный статус у особей одного возраста различается, на что указывал ещё Фёдоров (1997).

Содержание ГТГ у диплоидной радужной форели в возрасте 1+ достоверно выше ($p < 0.05$) и варьирует в больших пределах, чем у одновозрастных триплоидов, что соответствует гормональному статусу у других триплоидных видов культивируемых рыб (Benfey, 1999; Tiwary et al., 2001).

Известно, что уровень ЛГ в крови рыб может изменяться от недетектируемого у молоди до высокого у рыб в преднерестовом состоянии, в то время как ФСГ выявляется на всех этапах онтогенеза (Макеева, 1992; Фёдоров, 1997; Swanson et al., 1991; Tyler et al., 1991, 1997; Amano et al., 1992, 1993). Вероятно, выявленный низкий уровень ЛГ у изученных рыб, связан с отмеченными патологиями в их гонадах. У производителей овуляция икры, видимо, приводит к снижению уровня ГТГ в их крови, а его сохранение индуцирует резорбцию части ооцитов в гонадах радужной форели уже на II–III стадиях зрелости (Павлов, 2011). Таким образом, выявленная концентрация ГТГ в крови радужной форели изученных групп отражает выявленные аномалии в строении половых желёз и их функционировании как у диплоидной, так и у триплоидной радужной форели.

Содержание половых стероидных гормонов. Половые стероидные гормоны – тестостерон (Т) и эстрадиол (Э) выявлены в крови радужной форели всех изученных групп, но их содержание значительно варьировало, за исключением Т у 2п особей в возрасте 1+ (табл. 7). У диплоидных рыб средняя концентрация Т и Э в крови трёхлеток возрастает на порядок ($p < 0.001$) по сравнению с 2п двухлетками (см. табл. 7), что обусловлено созреванием их

гонад и соответствует данным литературы (Фёдоров, 1997; Груслова, 2004; Fostier, 1983; Suzuki et al., 1988). Вариабельность стероидных гормонов отражает индивидуальное состояние репродуктивной системы у отдельных особей. Высокий уровень Т у 2n самок, вероятно, связан с тем, что он является предшественником эстрогенов (Kuo et al., 1988; Saeed et al., 2010) и повышается при увеличении Э в крови 2+ рыб.

Таблица 7. Содержание половых стероидных гормонов в крови форели

Гор- мон	Диплоидная форель		Триплоидная форель			
	финское происхождение		Венгерский источник, 0+	американское происхождение, 1+		
	1+ (2009 г.)	2+ (2010 г.)		К	Н I	Н II
Т, нг/мл	5.6 ± 0.09 5.1–6.1	45.3 ± 17.24 3.4–191.7	124.9 ± 21.05 18.0–434.4	8.2 ± 0.38 2.7–16.3	87.2 ± 18.46 6.9–814.5	12.0 ± 1.36 5.0–67.0
Э, пг/мл	51.7 ± 10.84 5.1–113.8	686.2 ± 386.98 169.8–4901.6	–*	94.9 ± 4.05 63.1–161.0	88.7 ± 4.25 67.2–183.9	109.4 ± 6.17 67.5–227.4

Примечание: * – показатель не измеряли.

У 3n гиногенетической радужной форели самое высокое содержание Т выявлено у сеголеток, что, вероятно, обусловлено нарушением функционирования их репродуктивной системы в связи с использованием технологии триплоидизации (Benfey, 1999), либо неполным индуцированием гиногенеза, когда часть рыб может быть представлена самцами (Dillon, 1988). Содержание Т в крови 3n двухлеток радужной форели различно во всех группах ($p < 0.001$) и варьирует в широких пределах (см. табл. 7). У Н I, потреблявших МТ 3 мес, Т значительно увеличивается по сравнению с контролем, что указывает на его накопительный эффект. Концентрация Э у Н II достоверно выше, чем у Н I ($p < 0.001$) и варьирует в меньшей степени, чем Т. Следует отметить высокий уровень Э у 3n 1+, представленных стерильными особями (Павлов, 2011), по сравнению с 2n фертильными самками (1+), что свидетельствует о способности гормонсекретирующих клеток в гонадах триплоидов синтезировать половые стероиды даже при отсутствии половых клеток. Выявленную особенность секреторных клеток гонад 3n радужной форели мы не объясняем воздействием МТ в раннем онтогенезе в связи с низким качеством половых желёз в контрольной группе, не подвергавшейся его влиянию. У двухлеток 3n радужной форели среднее содержание Т и Э выше

($p < 0.001$), чем у $2n$ 1+. Это не соответствует данным литературы о том, что содержание половых стероидных гормонов в крови одновозрастных рыб у $3n$ меньше, чем у $2n$ (Benfey, 1999; Tiwary et al., 2001). По нашему мнению, данные различия связаны с пониженным содержанием ГТГ в их крови и с механизмом обратной связи в гормональной регуляции.

Другими факторами, влияющими на концентрацию исследованных гормонов у радужной форели различной плоидности, могут быть специфические условия её выращивания в условиях южного Вьетнама – фотопериод и температура. Показано, что нарушение фотопериода блокирует высвобождение ГТГ в кровь, несмотря на их синтез и накопление в гипофизе (Amano, 1993; Amano et al., 1997; Billard et al., 1978), нарушается ритмичность (Чазов, Исаченков, 1974; Радченко, 1993) и возникает гормональный дисбаланс. В результате дисбаланса происходит смещение сроков размножения, десинхронизация созревания половых продуктов, индивидуальная и групповая широкая вариабельность концентрации соответствующих гормонов, у радужной форели, которая является высоко пластичным видом (Игнатьева, 1975; Busack, Gall, 1980).

3.4. Цитометрические показатели эритроцитов радужной форели

У $3n$ радужной форели разного возраста цитометрические показатели эритроцитов достоверно больше ($p < 0.001$), чем у $2n$ рыб (табл. 8), за счёт дополнительного набора хромосом (Апаликова, 2008; Лебедева, 2007; Янкова, 2006; Wlasow et al., 2004; Woznicki, Kuzminski, 2002). Диаметр ядра эритроцитов у триплоидных сеголеток в 1.3 раза больше, чем у диплоидных (0+), а площадь самого эритроцита и его ядра – в 1.9 раз. У $3n$ двухлеток отмечено наибольшее варьирование этого показателя, и примерно 20% рыб имеют диаметры эритроцитов, сходные с таковыми у $2n$, что, вероятно, связано с их триплоидией. Сходное ядерно-плазменное отношение (ЯПО) у $2n$ особей и $3n$ сеголеток указывает на морфологическую идентичность их эритроцитов, не смотря на отличающиеся размеры этих клеток. Увеличение ЯПО у $3n$ 1+

характеризуется уменьшением цитоплазматического материала относительно ядерного по сравнению с диплоидными и более молодыми особями.

Таблица 8. Цитометрические показатели эритроцитов радужной форели

Плоидность	Происхождение	Возраст	Диаметр ядра эритроцита, мкм	Площадь ядра эритроцита (S_2), мкм ²	Площадь эритроцита (S_3), мкм ²	ЯПО ($\frac{S_3}{S_2}$)
2n	вьетнамское	0+	5.6 ± 0.40 4.0–9.0	46.7 ± 2.7 31.4–62.8	244.5 ± 8.78 188.4–301.4	0.19 ± 0.014 0.12–0.30
	финское	2+	6.3 ± 0.02 4.0–9.0	87.4 ± 3.64 65.9–100.5	453.0 ± 16.44 376.8–552.6	0.19 ± 0.008 0.14–0.25
3n	венгерское	0+	7.4 ± 0.03 5.5–9.4	88.3 ± 2.62 75.4–109.9	467.9 ± 11.41 395.6–552.6	0.18 ± 0.004 0.16–0.21
	американское (контроль)	1+	8.9 ± 0.04 6.0–14.0	145.5 ± 4.93 113.0–172.7	657.5 ± 51.71 379.9–1121.0	0.24 ± 0.018 0.15–3.55

В крови 3n рыб обнаружены специфические нарушения эритроцитов, редко встречающиеся у диплоидов (Wlasow et al., 2004) – сегментированные ядра (5.8% у 0+, 9.6% у 1+), амитоз (1.9% – у 0+, 2.1% – у 1+).

Глава 4. Биологические и физиологические показатели производителей кижуча из разных водоёмов п-ова Камчатка

Биологические показатели кижуча. Во время нерестовой миграции средняя длина и масса тела у самцов дикого кижуча больше ($p < 0.001$), чем у самок (табл. 9), их гонады находились на III–IV стадии зрелости. ГСИ у самок достоверно выше ($p < 0.001$), чем у самцов, а КУ у диких самцов достоверно больше ($p < 0.001$), чем у «виллойских». Производители из оз. Б. Виллой имели гонады на IV стадии зрелости, а ГСИ и КУ самок были выше ($p < 0.05$), чем у самцов (табл. 9). ГСИ «виллойских» производителей достоверно выше ($p < 0.05$), чем у диких.

Таблица 9. Биологические показатели производителей кижуча

Водоём	Пол	AC, см	AD, см	Масса, г	ГСИ, %	КУ, %
р. Б.Воровская	самцы	64.9 ± 1.61 58.0–74.5	60.2 ± 1.56 54.0–70.0	3625 ± 237.9 2844–5432	7.70	1.32
	самки	63.3 ± 0.70 59.0–68.0	59.2 ± 0.64 55.0–63.5	3298 ± 110.7 2698–4231	10.98	1.30
оз. Б.Виллой	самцы	63.1 ± 1.19 51.5–71.0	58.9 ± 1.10 48.5–66.5	2952 ± 177.1 1650–4220	23.30	1.15
	самки	60.1 ± 0.79 52.0–69.0	56.4 ± 0.80 48.0–66.5	2811 ± 122.9 1560–4600	50.81	1.28

По устному сообщению Б.П. Смирнова в оз. Б.Виллой преобладали особи в возрасте 2.1. В р. Б.Воровской возрастная структура производителей кижуча была сходной.

Биохимические показатели крови производителей кижуча. Выявлена отрицательная взаимосвязь по содержанию ОБ и КР у самок и самцов производителей различного происхождения. Так, у самок дикого кижуча уровень ОБ ниже в 1.8 раз ($p < 0.001$), а КР лишь несколько выше, чем у самцов и варьирует в больших пределах, в то время как у «виллойского» кижуча наблюдается обратная зависимость. При этом, у диких самцов содержание ОБ и КР достоверно выше ($p < 0.05$), чем у «виллойских», а у самок из р. Б. Воровская достоверно больше лишь содержание креатинина ($p < 0.05$). Вероятно, это связано с особенностями функционирования осморегуляторной системы диких рыб, выловленных в устье реки, где солёность воды может изменяться в течение суток от 0 до 25 ‰, по сравнению с «виллойским» кижучем, находившимся в воде солёностью от 8 до 20 ‰ в зависимости от глубины (Горин, 2007, 2009, 2012).

Средняя концентрация СРБ в крови самок и самцов кижуча одинакова, но у самцов варьирует в больших пределах. Уровень СРБ у дикого кижуча выше (4.7 мг/л), чем у «виллойского» – 3.5 мг/л ($p < 0.05$). У производителей из оз. Б. Виллой выявлена положительная связь между СРБ и ГСИ, коэффициент корреляция у самок – 0.84 и у самцов – 0.94. Вероятно, величина этого показателя связана со степенью их созревания и продолжительностью нерестовой миграции. Среднее содержание IgE у самцов дикого кижуча достоверно выше ($p < 0.05$), чем у самок и «виллойских» самцов (рис. 3а). Поскольку при биологическом анализе рыб не было выявлено большого количества паразитов, с которыми связывают данный показатель, мы предполагаем, что установленное содержание IgE в их крови является нормальным для данного вида, и необходимо для высокой иммунной защиты организма во время совершения миграции и последующего нереста.

Титр антиядерных антител (титр-АНА), характеризующий аутоиммунные заболевания, в крови кижуча выявлен впервые. У кижуча из обеих групп данный показатель превышает 1.1 и достоверно не различается, что указывает на наличие аутоиммунного процесса в их организме и согласуется с моноциклическостью этих рыб. У самок и самцов диких и «виллойских» рыб титр-АНА незначительно различается ($p > 0.05$), что свидетельствует об отсутствии половой специфичности проявления апоптоза.

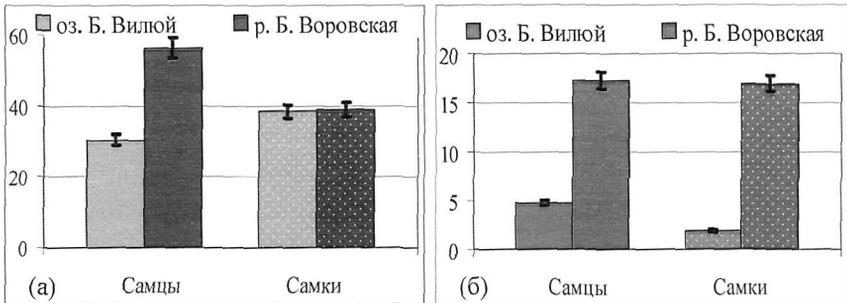


Рис. 3. Содержание (а) IgE (МЕ/мл) и (б) ФСГ (мМЕ/мл) в крови производителей кижуча из р. Б. Воровская и оз. Б. Виллой.

Половая специфичность по содержанию ФСГ у дикого кижуча отсутствует, а у «виллойских» самок концентрация ФСГ в 2.5 раза меньше ($p < 0.05$), чем у самцов (рис. 3б). У самцов из дикой популяции ФСГ в 3.6 раз выше ($p < 0.05$), чем у «виллойских», а у самок выше в 9 раз ($p < 0.05$). Кроме этого, у «виллойских» рыб выявлена положительная корреляция по содержанию ФСГ и ОБ (у самок – 0.67, у самцов – 0.70), что, вероятно, обусловлено завершением созревания их половых продуктов. Полученные результаты отражают динамику гонадотропных гормонов у диких производителей по мере приближения к завершающим этапам гаметогенеза. У рыб из оз. Б. Виллой ФСГ завершает свою функцию, его концентрация резко снижается, и начинает преобладать ЛГ, регулирующий овуляцию и спермиацию. Среднее содержание ЛГ и пределы его варьирования в крови «виллойских» самцов кижуча несколько выше, чем у самок, что отражает более раннюю готовность к нересту самцов.

Глава 5. Изучение комбикормов на наличие/отсутствие в их составе ГМИ

Важным аспектом, оказывающим влияние на физиологическое состояние культивируемых рыб, являются корма, содержащие сырьё растительного происхождения (Гамыгин, Щербина, 2006). В связи с интенсивным внедрением трансгенных технологий в промышленное растениеводство, наличием ГМИ в пищевой продукции и комбикормах для сельскохозяйственных животных (Сергеев и др., 2007), мы предположили возможность добавления ГМ компонентов в комбикорма для рыб (Микодина, Ганжа, 2008). Перед осуществлением оценки влияния экзогенных трансгенов на рыб потребовалось установить наличие их в кормах. Для этого выполнено изучение 33-х кормов, применяемых в пресноводной аквакультуре. В 11 образцах были обнаружены нуклеотидные последовательности, характеризующие присутствие ГМИ растительного происхождения – 35S-промотор и *NOS*-терминатор (рис. 4). Подавляющее число (более 90 %) комбикормов, содержащих ГМИ, были зарубежного производства, и только один корм – отечественный.

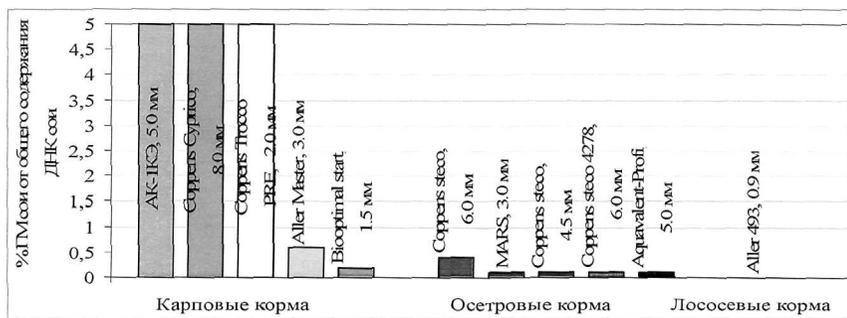


Рис. 4. Процентное содержание ГМ сои линии 40-3-2 (ГМ картофель и ГМ кукуруза в образцах не выявлены) в комбикормах разного типа.

При идентификации маркёров трансгенеза было обнаружено, что трансгенным компонентом кормов является ГМ соя линии 40-3-2 или Roundar Ready, разработанная в 1995 г. компанией «Monsanto Co» (США). Соя данной линии устойчива к большим дозам системного гербицида – глифосата, известного под торговой маркой Roundar, и способна аккумулировать его в своих тканях (Ганжа и др., 2011). Наибольшее количество трансгенной сои

обнаружено в кормах для карповых рыб (более 5%), в осетровых – оно не превышает 0.4%, наименьшее – в кормах для лососевых рыб, по количеству расценённое нами как контаминация (рис. 4).

В РФ обязательна маркировка только пищевой продукции, полученной с использованием ГМИ, если их содержание составляет 0.9 % и выше (СанПиН 2.3.2.1078-01, СанПиН 2.3.2.1842-04). На упаковках всех исследованных кормов отсутствовала маркировка о наличии/отсутствии ГМИ, поскольку комбикорма не являются пищевыми продуктами и не регулируются соответствующими нормативами независимо от выявленного количества ГМИ. Этим пользуются некоторые фирмы-производители, не приводя таких сведений (Ганжа и др., 2011). Более того, иногда комбикорма, в составе которых указана соя, в действительности не содержат этот ингредиент (Микодина, Ганжа, 2008). Это свидетельствует о недобросовестности производителей, относительно предоставления информации о составе кормов и риске их применения в рыбоводстве. Тем не менее, продукция, полученная с применением ГМИ или содержащая такие организмы, для использования в сельском хозяйстве подлежит регистрации Россельхознадзором (Приказ Минсельхоза РФ № 466 от 06.10.2009 г.; постановление Правительства РФ № 327 от 30.06.2004 г. в редакциях) с выдачей сертификата соответствия (ФЗ № 313 от 30.12.2008). На данный момент в РФ для нужд рыбоводства зарегистрированы соевый шрот из сои линии 40-3-2 (учётная серия №77/32-А3-2.8/00109, регистрационный №КГМ-А3-2.8/0090), и корм «Аллер Форель», содержащий сою этой же линии (учётная серия №19/208-Е1-2.8/00113, регистрационный № КГМ-Е1-2.8/0094). Таким образом, соя линии 40-3-2, выявленная в изучаемых образцах, является разрешённым ГМ сырьём, но данные корма не внесены в реестр Россельхознадзора, а последствия их применения на физиологическое состояние рыб-потребителей остаются неизвестными.

Риск наличия сои линии 40-3-2 в комбикормах для рыб заключается в изменениях её метаболических качеств за счёт модификации генома (Herme et al., 2005; Nielsen et al., 2005; Ermakova, 2006, 2007; Sagstad et al., 2007) и

негативном воздействии глифосата, накопленного в её тканях (Горовая, 2011), на физиологию организма (Жиденко, 2009, 2011; Голованова, Папченкова, 2009; Папченкова и др., 2009). Оценка физиологической реакции рыб при потреблении ГМ кормов затруднена из-за сложности приобретения трансгенных организмов и их чистых линий для грамотной постановки эксперимента. В этой ситуации важными критериями могут стать биохимические маркёры, характеризующие функциональный статус рыб и его изменение. При исследовании радужной форели и кижуча из «виллойского» стада учитывали, что в использованных при их культивировании комбикормах ГМИ нами не выявлены. Это позволяет рекомендовать полученные нами биохимические маркёры как фоновые для импактного мониторинга последствий применения трансгенных источников в аквакультуре и разработке сертифицированной методики оценки этого предполагаемого риска.

ВЫВОДЫ

1. Гиногенетические диплоиды радужной форели (1+), выращиваемые за пределами ареала, достоверно отличаются от гиногенетических триплоидов (1+) повышенным содержанием в крови общего белка, альбумина, С-реактивного белка, иммуноглобулинов А, G, М и Е, лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормонов, и, напротив, пониженной концентрацией креатинина, тестостерона и эстрадиола.

2. У двухлетних гиногенетических триплоидов радужной форели после воздействия метилтестостероном в крови достоверно увеличено содержание креатинина, мочевины, С-реактивного белка и тестостерона, но понижен уровень иммуноглобулинов А и G.

3. При инверсии пола у триплоидов гиногенетической радужной форели под воздействием экзогенного метилтестостерона в течение 2,5 мес. происходит нормализация метаболических и регуляторных гормональных показателей. При аналогичном воздействии в течение 3 мес. эти процессы менее выражены.

4. Постоянный фотопериод и высокая температура воды при культивировании радужной форели независимо от её плоидности, возраста и гормональных манипуляций приводят к хроническому стрессу и гормональной дисфункции в организме.

5. Показатели белкового обмена и факторы иммунитета у кижуча из р. Большой Воровской выше, чем из оз. Большой Вилюй, что характеризует динамику нерестовой миграции, а содержание ФСГ отражает его готовность к нересту.

6. В крови исследованных групп радужной форели и кижуча выявлена иммунореактивность к специфическим факторам иммунитета и гонадотропным гормонам человека, что указывает на наличие у рыб функционально аналогичных белков.

7. В 30% рыбных комбикормов, из которых 90% произведены за рубежом, выявлена трансгенная соя линии 40-3-2, что может представлять риск для функционального состояния рыб-потребителей.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК

Микодина Е.В., Ганжа Е.В. 2008. Генетически модифицированные источники в искусственных кормах для рыб // Рыбное хозяйство. №2. С. 84–87.

Сытова М.В., Харенко Е.Н., Микодина Е.В., Ганжа Е.В., Дмитриева Е.А. 2009. Показатели безопасности и содержание генетически модифицированных источников овариальной жидкости осетровых рыб // Рыбпром. №1. С. 39–42.

Ганжа Е.В., Банникова М.А., Фёдорова Л.М., Микодина Е.В. 2011. Аквакультура и трансгенные технологии: области применения и проблемы безопасности (обзор) // Сельскохозяйственная биология. № 4. С 16–30.

Публикации в прочих изданиях

Ганжа Е.В. 2008. Биохимические показатели крови тихоокеанских лососей р. Большая Воровская (Западная Камчатка) // Повышение эффективности использования ВБР. М.: ВНИРО. С. 197–200.

Микодина Е.В., Бурлаченко И.В., Волков А.А., **Ганжа Е.В.**, Банникова М.А. 2009. К вопросу о прослеживаемости ГМИ в продукции рыбоводства // «Биотехнология состояние и перспективы развития». Ч. 2. С. 112 – 113.

Микодина Е.В., **Ганжа Е.В.**, **Павлов Е.Д.** 2010. Некоторые биохимические показатели двухгодовиков триплоидной радужной форели в условиях южного Вьетнама // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Петрозаводск: КарНЦ РАН. С. 117–119.

Ганжа Е.В., Банникова М.А. 2010. Генетически модифицированные организмы (ГМО): новый глобальный вызов для аквакультуры // Труды ВНИРО. Т. 148. С. 86–104.

Ганжа Е.В., Микодина Е.В., Во Тхи Ха. 2010. Некоторые показатели иммунитета радужной форели *Oncorhynchus mykiss*, выращенной при воздействии постоянно высоких температур // Тез. докл. Всерос. молодежной конф. «Вклад молодых ученых в рыбохоз. науку России». СПб. С. 35–38.

Ганжа Е.В. 2011. Некоторые показатели иммунитета триплоидной радужной форели *Oncorhynchus mykiss* при её культивировании в условиях южного Вьетнама // Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб. Борок – Москва. С. 90-94.

Ganzha E., Mikodina E. 2009. Blood Serum Proteins of Pink, Chum, Coho and Sockeye Salmon from Two South Kamchatka Water Bodies // Arctic marine ecosystems an era of rapid climate change. Tromsø. P. 124.

Подписано в печать 09.02.2012

Объем 1,5 п.л.

Тираж 100 экз.

Заказ № 117

Издательство ФГУП «ВНИРО»
107140, Москва, В. Красносельская, 17