

Ключевые слова:

кровь, гомеостаз, стерлядь, рыбоводно-биологические показатели, физиолого-биохимические показатели, лейкоцитарная формула, садки

Keywords:

blood, homeostasis, sterlet, fish culture and biological indicators, physiological and biochemical indicators, leukocyte formula, cages

Оценка биоиндикаторов физиолого-биохимических показателей ремонтно-маточного стада осетровых рыб

DOI

Канд. биол. наук

А.Б. Ахмеджанова – ведущий инженер научно-исследовательской лаборатории «Осетроводство и перспективные объекты аквакультуры»; доктор биологических наук, профессор

С.В. Пономарев – профессор кафедры «Аквакультура и рыболовство», заведующий научно-исследовательской лабораторией «Осетроводство и перспективные объекты аквакультуры»;

аспирант **В.В. Вятчин** – кафедра «Аквакультура и рыболовство»; кандидат сельскохозяйственных наук, доцент **Ю.В. Федоровых** – кафедра «Аквакультура и рыболовство»;

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент **О.А. Левина** – кафедра «Аквакультура и рыболовство»;

аспирант **Е.А. Дутиков** – кафедра «Аквакультура и рыболовство» ФГБОУ ВО Астраханский государственный технический университет, Россия, Астрахань

@ aliyaakhmed14@gmail.com

ASSESSMENT OF BIOINDICATORS OF HOMEOSTASIS CONSTANTS REPAIRING STURGEON FISH STUFF

Candidate of Biological Sciences **A.B. Akhmedzhanova** – Leading Engineer of the Research Laboratory "Sturgeon breeding and promising aquaculture facilities"; Doctor of Biological Sciences, Professor **S.V. Ponomarev** – Professor of the Department of "Aquaculture and Fisheries", Head of the research Laboratory "Sturgeon breeding and promising aquaculture facilities"; postgraduate student **V.V. Vyatchin** – Department of "Aquaculture and Fisheries"; Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor **Yu.V. Fedorovykh** – Department of "Aquaculture and Fisheries"; Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor **O.A. Levina** – Department of "Aquaculture and Fisheries"; Postgraduate student **E.A. Dutikov** – Department of "Aquaculture and Fisheries" Astrakhan State Technical University, Astrakhan, Russia

The work is carried out within the framework of the grant of the President of the Russian Federation No. MK-158.2021.5.

More recently, sturgeon fish were classified as a national treasure of our country, since among the world's reserves, Russia accounted for up to 90%. Nevertheless, over the past 10-15 years there has been a catastrophic decline in sturgeon stocks in almost all water bodies of the country. The main reason for the widespread landslide decline in stocks of sturgeon fish is the excess of the withdrawal over the recruitment of generations. In conditions of anthropogenic pollution of water bodies, the creation of sturgeon broodstock using industrial methods of rearing is a way to preserve the gene pool of these most valuable representatives of the world ichthyofauna and obtain seedlings for commercial fish farming. In connection with the use of industrial methods of fish rearing, the need for their physiological control increases. One of the sensitive methods that allows you to quickly and accurately establish the physiological state of fish, as well as assess the conditions for their cultivation, is the physiological-biochemical, hematological method, the leukocyte formula, since blood is a polyfunctional system of the body that dynamically responds to all changes, both internal and external. Wednesday. The aim of the study is to determine the boundaries of the reference values in terms of physiological, biochemical, hematological indicators, as well as the leukocyte formula in aquatic organisms of different-age replacement broodstock of sterlet and the quality of conditions for its cultivation in the conditions of the cage complex.

Работа выполняется в рамках гранта Президента Российской Федерации № МК-158.2021.5.

В последнее время, по причине прекращения промысла осетровых рыб, товарное осетроводство является единственным источником получения пищевой продукции осетровых. Исходя из технологической схемы получения товарной продукции, существуют различные направления ведения осетрового хозяйства [1; 2; 3].

В мировой практике, в том числе и в России, примерно за последние два-три десятилетия достаточно интенсивное развитие получило товарное выращивание осетровых рыб с использованием широкого набора биотехнологий. В условиях юга России преимущественное культивирование чистых видов и гибридных форм осетровых рыб получило культивирование с использованием садковой биотехнологии. Скорее всего, это обусловлено климатическими условиями данного региона с преимуществом положительного годового баланса термического режима водоемов [2; 4].

Однако, наряду с положительными достижениями с использованием садковой биотехнологии, все же еще недостаточно глубоко исследованы физиолого-биохимические и гематологические показатели ремонтно-маточного стада осетровых рыб.

Цель исследования – определить границы референтных значений по физиолого-биохимическим, гематологическим показателям, а также лейкоцитарной формуле у гидробионтов разновозрастного ремонтно-маточного стада стерляди и качество условий ее выращивания в условиях садкового комплекса.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводились на осетровой ферме ООО «АРК Белуга» с апреля по сентябрь 2021 года. В качестве объектов исследования использовалась стерлядь (*Acipenser ruthenus*): группа младшего возраста в начале исследования (в апреле) возрастом 12 месяцев и в конце (в сентябре) в возрасте 17 месяцев, а также группа старшего возраста в начале (в апреле) возрастом 24 месяца и в конце исследования (в сентябре) возрастом 30 месяцев.

На протяжении всего периода исследования проводили постоянный контроль гидрохимических условий с помощью экспресс-методов фирмы Tetra. Максимальные значения температуры воды составили в июле 29,2°C, минимальные значения были в апреле. Содержание кислорода было на оптимальном уровне от 7,0-10,0 мг/л. Прогрев воды, а соответственно, и небольшое понижение насыщения кислородом, произошло в июле. Анализ результатов исследований параметров водной среды позволил установить, что содержание гидрохимических показателей соответствовало нормативным показателям для рыбоводных садковых хозяйств.

Плотность посадки в садки стерляди в возрасте 12 месяцев составила не более 10 кг/м². По мере роста рыбу пересаживали в другие садки, предварительно произведя сортировку. На ООО АРК «Белуга» летом стерлядь кормят влажными пастообразными кормами, состоящими на 50% из

Еще совсем недавно осетровые рыбы были отнесены в ранг национального достояния нашей страны, так как среди мировых запасов на долю России приходилось до 90%. Тем не менее, за прошедшие 10-15 лет произошло катастрофическое снижение запасов осетровых рыб практически во всех водоемах страны. Основная причина повсеместного обвального спада запасов осетровых рыб состоит в превышении изъятия над пополнением поколений. В условиях антропогенного загрязнения водоемов создание маточных стад осетровых с использованием индустриальных методов выращивания – это путь к сохранению генофонда этих ценнейших представителей мировой ихтиофауны и получения посадочного материала для товарного рыбоводства. В связи с применением индустриальных методов выращивания рыб повышается необходимость их физиологического контроля. Одним из чувствительных методов, позволяющих оперативно и точно устанавливать физиологическое состояние рыб, а также оценивать условия их выращивания, являются физиолого-биохимический, гематологический методы, лейкоцитарная формула, поскольку кровь является полифункциональной системой организма, динамично реагирующей на все изменения как внутренней, так и внешней среды. Цель исследования – определить границы референтных значений по физиолого-биохимическим, гематологическим показателям, а также лейкоцитарной формуле у гидробионтов разновозрастного ремонтно-маточного стада стерляди и качество условий ее выращивания в условиях садкового комплекса.

фарша малоценных рыб и на 50% из сухой кормосмеси или высокобелковыми сухими гранулами заводского производства. Кормовые затраты у двухлеток стерляди не превысили 3-5 кг на 1 кг прироста.

Фармакологическое действие препаратов и физиологическое состояние исследуемой молодежи оценивали по биохимическим показателям белкового, липидного и углеводного обменов, согласно разработанным методикам [5; 6; 7]. Подсчет лейкоцитарной формулы производили на сухих мазках, окрашенных с применением фиксатора-красителя по Май-Грюнвальду фирмы «Ольвекс-Диагностикум» [8]. На каждой мазке идентифицировали 200 лейкоцитов, с учетом их цитогенеза по классификации Н.Т. Ивановой [9]. Для измерения оптической плотности полученных проб использовали спектрофотометр Unicо 2100.

В ходе экспериментальной работы полученные данные статистически обрабатывали методом вариационной статистики с использованием программы Microsoft Excel 2016 [10]. При расчете применяли t-критерий Стьюдента, достоверными считались различия показателей при $p < 0,05; 0,01$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Оценить состояние организма в садковых условиях выращивания можно по физиолого-биохимическим показателям крови, которые выступают

в качестве специфических индикаторов физиологических или патологических изменений организма. Кровь, как наиболее лабильная ткань, быстро реагирует на влияние внешней среды и качество потребляемого корма, поэтому исследование показателей крови дает объективные оценки физиологического состояния рыб. Исследование гематологических показателей рыб имеет большое значение для обоснования адаптационных возможностей организма и оценки условий выращивания и кормления. Гематологические показатели объективно отражают физиологическое состояние рыб [11; 12].

В нагульный период концентрация гемоглобина была достаточно высокой для младшей группы – самые высокие показатели были характерны в мае; для старшей группы высокие показатели концентрации гемоглобина были характерны в июне (рис. 1). Достоверные различия в концентрации гемоглобина между группами наблюдались в мае и в июне ($p < 0,05$). Согласно динамике, отраженной на графике в апреле, были характерны самые низкие значения концентрации гемоглобина в крови, в сравнении с другими месяцами ($p < 0,05$), скорее всего концентрация гемоглобина была снижена из-за истощенного состояния рыб после зимовки. Для младшей и старшей групп в нагульный период были свойственны стабильно высокие значения концентрации гемоглобина. Колебания концентрации гемоглобина у обеих групп рыб находились в пределах физиологической нормы (65-74,5 г/л) [11]. Поскольку гемоглобин представляет собой показатель жизненной активности рыбы, как во внешней среде обитания, так и во внутренней среде организма, то стабильно высокие концентрации гемоглобина в пределах референтных значений свидетельствуют об активном состоянии метаболических процессов организма [12].

Скорость оседания эритроцитов показывает вязкость крови – чем меньше СОЭ, тем выше вязкость и удельный вес крови. В данном исследовании СОЭ колебалась у обеих групп от 2,5-3,5 мм/час и находилась в пределах физиологической нормы (1-6 мм/ч) [11; 12].

Достаточно информативным показателем, при оценке общего физиологического состояния организма, является лейкоцитарная формула крови, которая отражает не только физиологическое состояние рыб, но и некоторые стороны клеточного иммунитета. На мазках крови у обеих групп стерляди одиночно встречались тромбоциты двух видов: круглые – с малым содержанием цитоплазмы и овальные, веретенообразные – с большим количеством цитоплазмы. Доля овальных тромбоцитов преобладала над круглыми формами. На мазках крови у старшей и младшей групп рыб эритроциты встречались стабильно на всех мазках крови. Наряду со зрелыми эритроцитами были обнаружены и молодые.

Лейкоциты в крови разновозрастной стерляди были представлены восемью видами клеток: из агранулоцитов – большими и малыми лимфоцитами и моноцитами; из гранулоцитов – палочкоядерными и сегментоядерными нейтрофилами, сегментоядерными эозинофилами, промиелоцитами, нейтрофильными миелоцитами и метамиелоцитами.

Кровь разновозрастной стерляди носила лимфоидный характер. Доля лимфоцитов у младшей группы колебалась в пределах 74,6-83,8%. У старшей возрастной группы рыб, в период нахождения в ремонтном стаде, доля лимфоцитов составила 65,8-80,6%, а после перевода в маточное стадо – 72,9-84,2%.

На втором месте по количеству занимали нейтрофилы, находящиеся на различных стадиях цитогенеза. Их процент в апреле достоверно возрастал у старшей возрастной группы за счет увеличения нейтрофильных метамиелоцитов ($p < 0,01$). У младшей возрастной группы стерляди достоверных различий в динамике количества нейтрофилов не выявлено ($p > 0,05$). В крови младшей группы стерляди постоянно встречались моноциты и эозинофилы. На их долю приходилось 0,3-0,7 и 1,2-6,3%, в то время как у старшей возрастной группы стерляди моноциты встречались в августе и в сентябре и составили 0,1-0,9%, процентное соотношение эозинофилов недостоверно изменялось и колебалось в пределах 0,5-3,2%.

Индекс сдвига лейкоцитов у младшей группы стерляди на протяжении всего периода исследования находился в пределах «физиологической нормы», данный показатель составил 0,33%, что указывает на отсутствие патологических и воспалительных процессов в организме рыб. У старшей возрастной группы этот показатель также находился в пределах референтных значений и составил 0,38%.

Объективным методом контроля физиологического состояния является определение общего белка

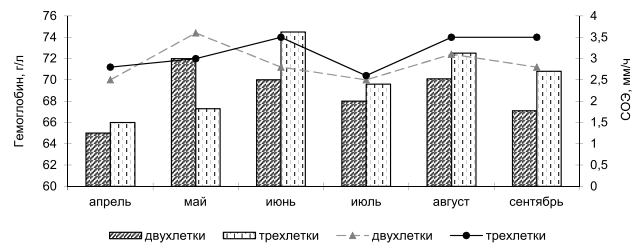


Рисунок 1. Динамика гематологических показателей крови *Acipenser ruthenus*
Figure 1. Dynamics of hematological parameters of blood *Acipenser ruthenus*

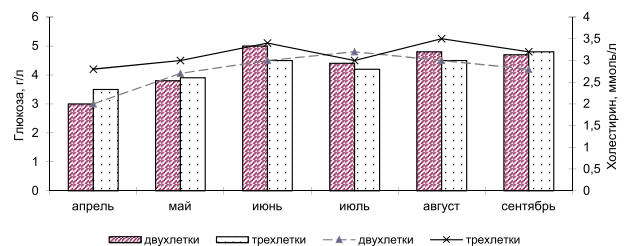


Рисунок 2. Динамика показателей глюкозы и холестерина в сыворотке крови *Acipenser ruthenus*
Figure 2. Dynamics of blood serum glucose and cholesterol levels *Acipenser ruthenus*

в крови, как биоиндикатора условий эффективного выращивания. Концентрация общего белка в сыворотке у исследованных групп стерляди оставалась высокой весь период исследования, за исключением апреля, когда данный показатель составил у младшей и старшей групп $25,0 \pm 1,4$ г/л и $27,0 \pm 1,6$ г/л, соответственно. Можно предположить, что такое низкое значение является последствием зимовки, когда при низкой температуре у рыб снижается потребность к пище, поэтому снизились значения концентрации общего белка.

Холестерин в гемолимфе у рыб, как и других животных, является одним из ключевых факторов состояния липидного обмена в организме. Он участвует в образовании половых гормонов и входит в состав клеточных мембран. Уровень холестерина в крови выше 3,5 г/л считается патологичным и свидетельствует о воздействии стрессорных факторов среды [13]. В нашем исследовании содержание холестерина в сыворотке крови рыб в обоих случаях исследования находилось в пределах референтных значений [11] (рис. 2).

У обеих групп стерляди значения концентрации глюкозы в сыворотке крови оказались статистически недостоверными ($p > 0,05$). Динамика глюкозы была в пределах физиологической нормы (3,5-4,8 г/л), что является результатом нормальной работы ферментативной системы, катализирующей трансформацию глюкозы [11].

Таким образом, в течение всего периода исследования были характерны стабильно высокие значения в концентрации общего сывороточного белка, холестерина и глюкозы, как у младшей, так и у старшей возрастной группы стерляди, что говорит о хорошей обеспеченности исследуемых рыб пищей и благоприятными условиями выращивания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На протяжении всего летнего периода выращивания у старшей и младшей групп сохранялся высокий уровень общего белка, холестерина и глюкозы (в пределах референтных значений). Значения этих показателей, как биоиндикаторов, свидетельствуют о качественных и благоприятных условиях выращивания, повышенном уровне обмена веществ.

У младшей и старшей возрастных групп стерляди лейкоцитарная формула носила лимфоидный характер. На первом месте были лимфоциты, на втором месте – нейтрофилы. Доля других форменных элементов у обеих групп не превысила 6%. Индекс сдвига лейкоцитов у обеих групп рыб на протяжении всего периода исследований находился в пределах референтных значений, что свидетельствует об отсутствии воспалительных процессов в организме рыб. Колебания концентрации гемоглобина у младшей и старшей групп находились в пределах физиологической нормы, что свидетельствует об активном состоянии метаболических процессов организма. Скорость оседания эритроцитов колебалась у обеих групп от 2,5-3,5 мм/час и находилась в пределах физиологической нормы (1-6 мм/ч), что говорит об отсутствии воспалительных и патологических изменений в организме исследуемых рыб.

ЛИТЕРАТУРА И ИСТОЧНИКИ

1. Александров С.Н. Садковое рыбководство / С.Н. Александров. — Москва: АСТ, 2005. — 270 с.
1. Alexandrov S.N. Sadkovoie fish farming / S.N. Alexandrov. - Moscow: ACT, 2005. - 270 p.
2. Козоца А.А. К оптимизации последствий зимовки на примере молоди русского осетра применительно к товарным хозяйствам садкового типа / А.А. Козоца, Ю.В. Алымов, А.Б. Ахмеджанова, Мибуро Закари // Аграрный научный журнал. — 2016. — № 6 — С. 15-20.
2. Kokosa AA To optimize the effects of hibernation on the example of Russian sturgeon in relation to commodity farms cage-type / AA Kokosa, Y. V. Alimov, A. B. Akhmedzhanova, Miburo Zachary // Agrarian scientific journal. — 2016. — № 6 — Pp. 15-20.
3. Васильева Л.М. Биологические и технологические основы товарного осетроводства: учебник / Л.М. Васильева, Н.В. Судакова. — Астрахань: Издательский дом «Астраханский университет», 2014. — 247 с.
3. Vasilyeva L. M. Biological and technological bases of commodity sturgeon breeding: textbook / L.M. Vasilyeva, N.V. Sudakova. - Astrakhan: Publishing house "Astrakhan University", 2014. - 247 p.
4. Козоца А.А. Сезонная динамика морфологических показателей на примере молоди русского осетра в связи с режимом кормления и составом комбикормов / А.А. Козоца, Ю.В. Алымов, А.Б. Ахмеджанова, Мибуро Закари Вестник // АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство. — 2017. - № 1. - С. 107 – 116.
4. Kokoza A.A. Seasonal dynamics of morphophysiological indicators on the example of the young Russian sturgeon in connection with the feeding regime and the composition of compound feeds / A.A. Kokoza, Yu.V. Alymov, A.B. Akhmedzhanova, Miburo Zakari Vestnik // AGTU. Series: Fisheries. - 2017. - No. 1. - Pp. 107 - 116.
5. Колб В.Г. Клиническая биохимия: пособие для врачей-лаборантов / В.Г. Колб, В.С. Камышников. — Минск: Беларусь, 1976. — 311 с.
5. Kolb V.G. Clinical biochemistry: a manual for laboratory doctors / V.G. Kolb, V.S. Kamyshnikov. - Minsk: Belarus, 1976— 311 p.
6. Fish bach F. A manual of laboratory diagnostic tests. 7thed / F. Fish bach, M. Dunning. —Lppincott Williams & Wilkins, 2004. — 1291 p.
7. Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor / P. Trinder // Ann Clin Biochem. — 1969. — P. 24 - 25.
8. Козинец Г.И. Атлас клеток крови и костного мозга / Г.И. Козинец. — Москва: Триада-Х, 1998. — 160 с.
8. Kozinets G.I. Atlas of blood cells and bone marrow / G.I. Kozinets. - Moscow: Triad-X, 1998. - 160 p.
9. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб / Н.Т. Иванова. — Москва: Легкая и пищевая промышленность, 1983 — 184 с.
9. Ivanova N.T. Atlas of fish blood cells / N.T. Ivanova. - Moscow: Light and food industry, 1983 - 184 p.
10. Катмаков П.С. Биометрия: учеб. пособие для вузов / П.С. Катмаков, В.П. Гавриленко, А.В. Бушов — Москва: Юрайт, 2019. — 177 с.
10. Katmakov P.S. Biometrics: studies. manual for universities / P.S. Katmakov, V.P. Gavrilenko, A.V. Bushov - Moscow: Yurayt, 2019. - 177 p.
11. Матишов Г.Г. Комплексный подход к проблеме сохранения и воспроизводства осетровых рыб Каспийского моря / Г.Г. Матишов, А.А. Козоца, Г.Ф. Металлов, П.П. Гераскин. — Ростов н/Д.: ЮНЦ РАН, 2017. — 352 с.
11. Matishov G.G. An integrated approach to the problem of conservation and reproduction of sturgeon fish of the Caspian Sea / G.G. Matishov, A.A. Kokoza, G.F. Metallov, P.P. Geraskin. - Rostov n/A: YUNTS RAS, 2017. - 352 p.
12. Головина Н.А. Гематология прудовых рыб / Н.А. Головина, И.Д. Тромбицкий — Кишинев: Штеница, 1989. — 85 с.
12. Golovina N.A. Hematology of pond fish / N.A. Golovina, I.D. Trombitsky - Chisinau: Shtinitza, 1989. - 85 p.
13. Гераскин П.П. Оценка физиологической подготовленности к репродуктивной функции domesticированных самок и выращенных от икры в искусственных условиях / П.П. Гераскин, А.В. Ковалева, В.А. Григорьев, А.В. Фирсова, М.В. Яицкая, В.Ж. Ветрова непосредственный // Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство. — 2019. - № 4. — С. 95 – 103. DOI 10.24143/2073-5529-2019-4-95-103.
13. Geraskin P.P. Assessment of physiological fitness for reproductive function of domesticated females and grown from eggs in artificial conditions / P.P. Geraskin, A.V. Kovaleva, V.A. Grigoriev, A.V. Firsova, M.V. Yaitskaya, V.ZH. Vetrova direct // Bulletin of the AGTU. Series: Fisheries. - 2019. - No. 4. - Pp. 95 - 103. DOI 10.24143/2073-5529-2019-4-95-103.