

МЕТОД ОЦЕНКИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ОСЕТРОВЫХ РЫБ В УСЛОВИЯХ АКВАКУЛЬТУРЫ

С. С. Астафьева, А. К. Аюпова, Л. М. Васильева

*ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет»,
г. Астрахань, ул. Татищева, 20 а, 414056, Россия
т.+7 (8512) 485343 e-mail: bios94@mail.ru*

METHOD FOR EVALUATING PHYSIOLOGICAL STATE OF STURGEONS UNDER THE AQUACULTURE CONDITIONS

S. S. Astafyeva, A. K. Ayupova, L. M. Vasilyeva

*«Astrakhan State University», Astrakhan, Tatishcheva Str., 20 a, Russia.
Phone: +7 (8512) 485343, e-mail: bios94@mail.ru*

Резюме. Проведено обследование стерляди и русского осетра с целью оценки их физиологического состояния методом морфологического анализа биологических жидкостей (краевой дегидратации). Для верификации полученных данных были определены основные гематологические и биохимические показатели крови рыб. Установлена информативность метода краевой дегидратации при оценке физиологического состояния рыбы и ее адаптационных возможностей.

Ключевые слова: осетровые рыбы, физиологические показатели крови, краевая дегидратация, норма и патология.

Abstract. Examination of a sterlet and the Russian sturgeon for the purpose of assessment of their physiological state is conducted by method of the morphological analysis of biological liquids (a edge dehydration). For verification of the obtained data the key hematological and biochemical indicators of blood of fishes were defined. The informational content of a method of a regional dehydration at assessment of a physiological condition of fish and her adaptation opportunities is established.

Keywords: sturgeons, physiological parameters of blood, edge dehydration, norm and pathology.

Введение. Интенсификация процессов рыбоводства на современном уровне развития требует нового взгляда на проблемы диагностики состояния рыб на всех этапах выращивания. К применяемым методикам оценки физиологического статуса рыб предъявляются строгие требования по их информативности, нетравматичности, доступности в исполнении и возможности получать результат в короткие сроки.

Традиционно физиологически значимые сведения о состоянии рыб извлекается из биологических жидкостей (кровь, слизь и т.п.) биохимическими (химический состав, активность отдельных компонентов и др.), иммунологическими и физико-химическими (плотность, электропроводность, спектральные характеристики и т.п.) методами. Однако использование указанных подходов позволяет получить лишь фрагментарную информацию о состоянии организма. Анализ структурных характеристик биологических жидкостей с использованием методов клиновидной и краевой дегидратации дает возможность осуществлять многопараметрический мониторинг состояния, т.к. структурная форма твердой фазы биологических жидкостей представляет собой информационный комплекс, позволяющий отличить физиологическую картину от патологической, установить характер происходящих в организме изменений, определить его устойчивость к внешним воздействиям и оценить эффективность проводимых профилактических и лечебных мероприятий.

При краевой дегидратации капля исследуемого материала помещается между предметным и покровным стеклами для создания аналитической (оптической) ячейки, в которой обеспечивается постепенное испарение воды из данного образца. В этих условиях компоненты, содержащиеся в биологической жидкости, создают центры кристаллизации и образуют структуры определенной конфигурации и размера.

В настоящее время в ходе многочисленных исследований убедительно показано, что использование методов краевой и клиновидной дегидратации позволяет наблюдать даже самые начальные трансформации молекулярных структур без «инкубационного периода», необходимого для изменений на клеточном, органном и/или системном уровнях. Следовательно, морфологический анализ биологических жидкостей открывает возможности для ранней регистрации изменений, происходящих в организме.

На основании вышеизложенного, целью настоящего исследования являлось определение возможности использования анализа структурно-

оптических свойств сыворотки крови осетровых рыб методом краевой дегидратации для оценки их физиологического состояния.

Материалы и методы. Были обследованы двухгодовики стерляди *Acipenser ruthenus* – 10 особей (средняя масса - $240 \pm 3,5$ г); годовики и двухгодовики русского осетра *Acipenser gueldenstaedtii* – 20 особей (средняя масса $185,5 \pm 10,0$ и $452,5 \pm 14,9$ г, соответственно). Исследования стерляди проводили в апреле (после периода продолжительной зимовки), а особей русского осетра - в июне, в период наиболее благоприятных гидрохимических показателей водной среды для осетровых рыб. Кровь брали прижизненно путем пункции хвостовой вены. С помощью метода краевой дегидратации проведено изучение структурно-оптических свойств сыворотки крови осетровых рыб [1,2]. С целью верификации полученных данных в крови определяли содержание гемоглобина и эритроцитов, а также в сыворотке крови оценивали концентрацию холестерина, глюкозы и общего белка унифицированными методами [3].

Результаты исследований и обсуждение. Взятие крови для физиолого-биохимического анализа у двухлетков стерляди осуществлялось в апреле, после продолжительного зимнего содержания. Содержание гемоглобина в сыворотке крови двухлетков стерляди составляло в среднем $65,12 \pm 13,24$ г/л. Данный показатель варьировал от 60,2 до 71,5 г/л. Количество эритроцитов было на уровне $0,73 \pm 0,3 \times 10^{12}$ л⁻¹. Показатель общего белка сыворотки крови после зимовки у стерляди был $24,35 \pm 4,23$ г/л. Концентрация холестерина в сыворотке крови изменялась в пределах $3,45 \div 8,35$ ммоль/л при среднем значении $5,157 \pm 0,6483$ ммоль/л, коэффициент вариации составил 37,7 %. Отмеченная повышенная вариабельность показателей холестерина отражает пониженную устойчивость части рыб обследованной группы к длительному периоду пониженных температур и дальнейшую затрудненную адаптацию обменных процессов к изменяющимся условиям.

Содержание глюкозы в сыворотке крови двухлетков стерляди изменялось в пределах $1,51 \div 4,12$ ммоль/л при среднем значении $3,144 \pm 0,2753$ ммоль/л. Коэффициент вариации составил 26,3 %.

Анализ физиологического состояния русского осетра выполняли в июне, после полной их адаптации после зимовки к условиям содержания, в период наиболее благоприятных гидрохимических показателей водной среды для осетровых рыб, при которых отмечаются наибольшая интенсивность обменных процессов, отражающаяся на увеличении активности рыб и роста массы тела (температура воды 20°C , содержание кислорода в воде 6,8 мг/л).

Содержание гемоглобина в крови у двухлетков русского осетра немного снизилось по сравнению с весенними показателями и составляло $58,4 \pm 4,85$ г/л. У годовиков русского осетра данный показатель понизился до $52,4 \pm 6,15$ г/л. Аналогичная тенденция была установлена и для показателя общего сывороточного белка крови у двухлетков русского осетра, который понизился до $23,1 \pm 3,15$ г/л. У годовиков при этом произошло небольшое увеличение данного показателя по сравнению с весенними данными до $25,14 \pm 4,6$ г/л. Однако, полученные изменения не были достоверными, а проявлялись как тенденция. Достоверные изменения в сторону снижения по сравнению с весенними данными были отмечены по показателям липидного и углеводного обменов.

В группе двухлетков русского осетра холестерин варьировал в пределах $1,23 \div 2,10$ ммоль/л при среднем значении $1,586 \pm 0,0947$ ммоль/л (коэффициент вариации 18,9 %). Содержание холестерина в плазме крови годовиков русского осетра составлял от 1,42 до 2,26 ммоль/л (среднее значение $1,967 \pm 0,0978$ ммоль/л). Коэффициент вариации был невысоким и составлял 14,9 %.

Невысокая вариабельность содержания холестерина свидетельствует об удовлетворительном физиологическом состоянии всех обследованных особей русского осетра. Равномерность показателей и отсутствие

достоверных различий между показателями сывороточного холестерина двухлетков и годовиков русского осетра подтверждает благоприятные условия содержания рыб, так как на величину показателя холестерина в первую очередь влияют условия содержания и кормления, и, как правило, не отражаются возрастные особенности.

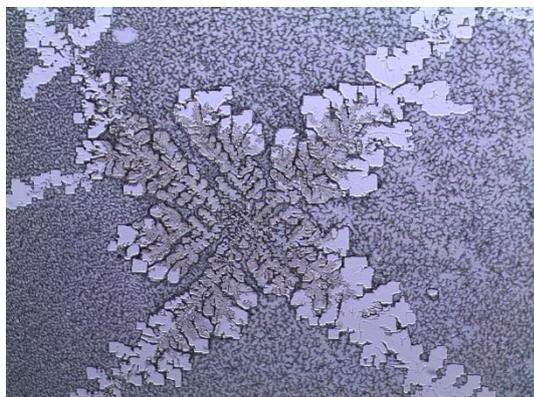
У двухлетков русского осетра показатели глюкозы сыворотки крови варьировали в пределах $0,6 \div 2,9$ ммоль/л при среднем значении $1,857 \pm 0,2152$ ммоль/л (коэффициент вариации 18,9 %). Содержание глюкозы в плазме крови годовиков русского осетра составлял от 0,69 до 4,05 ммоль/л (среднее значение $2,101 \pm 0,3456$ ммоль/л). Коэффициент вариации был высоким и составлял 46,5 %.

Высокая вариативность признака содержание глюкозы в сыворотке крови годовиков указывает на индивидуальные особенности рыб данной возрастной группы реагировать на влияние стресс-факторов, возникающих при осуществлении рыбоводных манипуляций во время выращивания.

Полученные результаты по гематологическим и биохимическим показателям были сопоставлены с материалами изучения структурно-оптических свойств сыворотки крови обследованных осетровых рыб. Анализ данных позволил установить основные морфологические типы структур твердой фазы сыворотки крови осетровых рыб. В аналитических ячейках наблюдались пластинчатые, дендритные и переходные формы кристаллов, представлены на рисунке.

Характерным признаком твердой фазы сыворотки крови стерляди (таблица) являлось присутствие пластинчатых структур (отмечены во всех образцах), имеющих значительный разброс по величине: от мелких образований до крупных, занимающих значительную площадь аналитических ячеек. Несколько реже встречались переходные формы кристаллов (60 % случаев). Дендритные структуры зарегистрированы в 30% случаев. У годовиков русского осетра также отмечена высокая частота встречаемости пластинчатых структур (90%). Однако, при этом,

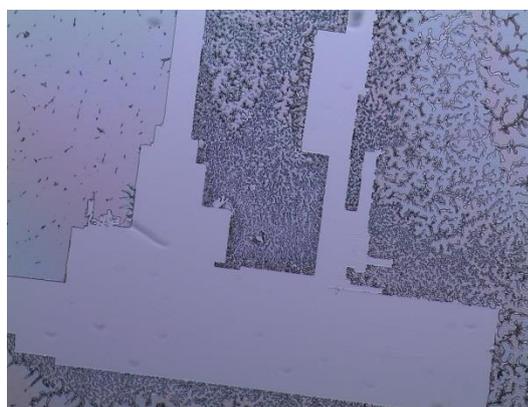
значительно возросло количество наблюдений дендритных и переходных форм кристаллов (90% и 100% соответственно) по сравнению с таковым у двухлеток стерляди.



а.



б.



в.



г.

**Рисунок. - Морфотипы кристаллов сыворотки крови осетровых рыб:
а, б – дендритные, в – пластинчатый, г – переходные**

Постоянными морфологическими элементами твердой фазы сыворотки крови двухлеток русского осетра являлись дендритные и переходные структуры (100% сл.). Пластинчатые формы зарегистрированы у 2 из 10 обследованных особей.

Существует мнение, что конфигурация кристаллов, образуемых в условиях аналитической ячейки (метод краевой дегидратации), представляет собой естественную систему индикации метаболических процессов, протекающих как при физиологических, так и при патологических состояниях.

Таблица. Распределение морфологических типов кристаллов сыворотки крови у обследованных рыб

Группы	Возраст	Морфологические типы кристаллов (%)		
		Пластинчатые	Дендритные	Переходные
Стерлядь	2	100	30	60
Русский осетр	1	90	90	100
Русский осетр	2	20	100	100

Согласно литературным данным, наличие дендритных и переходных кристаллических структур характерно для физиологического состояния гомеостаза, присутствие паутинчатых и пластинчатых форм – для патологических состояний. Указывается, что паутинчатые структуры являются маркером гипоксии, пластинчатые – маркером деструктивных изменений, происходящих в организме. Кроме этого, считается, что формирующим материалом пластинчатых структур является холестерин, что позволяет объяснить их преобладание в морфологической картине сыворотки крови при гиперхолестеринемии.

Проведенное нами исследование показало, что в аналитических ячейках сыворотки крови обследованных рыб присутствуют как структуры – показатели нормы (дендритные и переходные), так структуры, указывающие на патологические изменения (пластинчатые).

У большинства двухлетков русского осетра морфологическая картина сыворотки крови свидетельствовала о физиологическом состоянии гомеостаза. У годовиков русского осетра и двухлетков стерляди в структуре твердой фазы сыворотки крови отмечались маркеры деструктивных изменений. Вероятно, что у двухлетков стерляди присутствие данных структур в 100% случаев может быть связано со значительным накоплением в организме продуктов метаболизма, обусловленным предшествующим продолжительным периодом содержания рыб при низких температурах, что подтверждается результатами биохимического исследования. У годовиков русского осетра формирование пластинчатых структур может указывать на низкий уровень адаптационных

механизмов молодых осетров при стрессовых воздействиях. Полученные результаты морфологического изучения твердой фазы сыворотки крови этой группы рыб согласуются с таковыми изучения уровня глюкозы, высокая вариабельность которого в сыворотке крови у данных особей также указывала на их низкую устойчивость к стрессу.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют об информативности метода краевой дегидратации при оценке физиологического состояния рыбы и ее адаптационных возможностей. Выявленные факты показывают возможность использования данного метода с целью своевременного выявления и предупреждения снижения резистентности особей к условиям содержания и своевременного принятия мер по их корректировке. Предлагаемая методика является нетравматичной, доступной и не сложной в выполнении. Для ее реализации используется незначительное количество доступного биологического материала, не требуется специализированной лаборатории, дорогостоящей аппаратуры, реактивов, красителей, что может свидетельствовать о перспективности применения такого метода в рыбоводстве.

Список использованных источников

1. Краевой, С. А. Диагностика по капле крови. Кристаллизация биожидкостей / С. А. Краевой, Н. А. Колтовой. – М. ; Смоленск : Электрон. математ. и медикобиол. журн. «Математическая морфология», 2016. – Кн. 2 : Кристаллизация сыворотки крови методом закрытой капли (краевая дегидратация). –120 с.
2. Способ тестирования физиологического состояния осетровых рыб : пат. RU 2602662 / А. К. Аюпова, С. С. Астафьева, Л. М. Васильева, А. З. Юсупова. – Оpubл. 20.11.2016.
3. Лабораторные методы исследований в клинике : справочник / В. В. Меньшиков [и др.] ; под ред. В. В. Меньшикова. – М. : Медицина, 1987. – 365 с.