

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АНАЛИЗА СОДЕРЖАНИЯ ПОЛОВЫХ СТЕРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ ДЛЯ РАННЕГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОЛА У ОСЕТРОВЫХ

Т.Б. Семенкова<sup>1</sup>, Л.В. Баюнова<sup>1</sup>, Н.Н. Колмаков<sup>1</sup>, И.А. Баранникова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Центральная лаборатория по воспроизводству водных биоресурсов, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 24, <sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9 [epl@it4257.spb.edu](mailto:epl@it4257.spb.edu)

Формирование маточных стад осетровых предусматривает создание в искусственных условиях популяции, имеющей в своем составе производителей и ремонтных особей, количественный и половой состав которых обеспечивает получение необходимого количества молоди для целей рыбоводства или товарного выращивания. Для успешного решения данной задачи необходима сортировка рыб по полу на ранних этапах развития воспроизводительной системы, контроль темпа развития гонад и общего физиологического состояния рыб. Проблема ранней идентификации пола у осетровых весьма актуальна, и предпринимаются попытки ее решения с использованием различных технологий. Широкую известность получила методика использования ультразвукового исследования (УЗИ). Для определения пола рыб с помощью УЗИ необходимо учитывать ряд параметров, в том числе возраст, размер и характер питания рыб, сезон проведения исследования, видовую принадлежность. Метод УЗИ позволяет диагностировать пол рыб, начиная с определенной массы, различной для разных видов. Так, например, для стерляди это 300-600 г, для белуги - 8-12 кг (Chebanov, Chmug, 2005). Недостатками метода УЗИ являются высокая стоимость оборудования и необходимость высокой квалификации персонала. Исследователями в области молекулярной биологии разрабатывается методика быстрого определения пола у рыб с помощью

анализа генов (т.н. сох-генов), определяющих половую принадлежность рыб. Для определения пола достаточно получить очень небольшие образцы тканей, однако данная методика требует значительных предварительных исследований генов осетровых и в настоящее время далека от завершения (Hett, Ludwig, 2005).

Широкое распространение среди исследователей получил метод ранней идентификации пола путем определения уровня половых стероидных гормонов в крови рыб с прижизненным взятием проб. Динамика половых стероидов, в первую очередь тестостерона (Т), 11-кетотестостерона (11КТ) и эстрадиола (Е2), исследуется у осетровых на протяжении последних лет как в России, так и за рубежом (Баранникова и др., 1990, 1997, 2005; Ахундов, 1997; Cuisset et al., 1991; Сeara et al., 2002; Webb et al., 2002; Barannikova et al., 2004; Feist et al., 2004). Полученные данные отражают изменения уровня половых стероидов в ходе развития гонад и при созревании рыб, а также позволяют оценить видовую специфику. Использование метода ранней идентификации пола с помощью определения уровня половых стероидов целесообразно на базе лабораторий, обладающих соответствующими методиками определения содержания половых гормонов и накопленной информацией о динамике этих гормонов в ходе полового цикла осетровых.

Исследование содержания Т, 11КТ и Е2 у трех видов осетровых на разных стадиях зрелости гонад, выловленных в Каспийском море и в дельте Волги, показало, что у всех исследованных видов содержание Т и 11КТ невысоко и у самок, и у самцов с гонадами на II стадии зрелости. На данной стадии зрелости не было выявлено достоверных различий между самками и самцами, однако, отмечена некоторая тенденция к более высокому уровню Т и 11КТ у самцов. У самцов русского осетра уровень 11КТ был достоверно выше, чем у самок и обнаружена корреляция между содержанием Т и 11КТ. Концентрации Т и 11КТ значительно увеличиваются по мере развития гонад у всех исследованных видов. У рыб с гонадами на III - IV стадии зрелости эти показатели значительно выше у самцов, чем у самок у белуги и русского осетра, а у севрюги отмечена аналогичная тенденция. Четкая положительная корреляция между уровнем Т и 11КТ выявлена для самцов белуги, для самок и самцов севрюги. Абсолютные значения уровня андрогенов были выше у севрюги, чем у белуги и русского осетра.

Концентрация Е2 у самок русского осетра и севрюги с гонадами на II стадии зрелости невелика и значительно увеличивается в период вителлогенеза (III стадия зрелости гонад). После завершения вителлогенеза уровень Е2 у самок значительно снижается. У самцов уровень Е2 остается очень низким на всех стадиях развития гонад.

Уровень Т и 11КТ исследовали у самок и самцов северодвинской стерляди, выловленной в р. Северная Двина и выращенной на Солзенском рыболовном заводе с целью формирования маточного стада. Рыбы, выращенные на заводе, обследовались в возрасте от 3 до 10 лет. У всех исследованных самок (возраст от 3 до 10 лет) гонады находились на II стадии зрелости. Уровень Т повышался с возрастом рыб почти в четыре раза, уровень 11КТ существенно не изменялся. Самцы в возрасте 3 и 4 лет с гонадами на II стадии зрелости имели значительно более высокий уровень Т и 11КТ в крови по сравнению с самками. Все обследованные самцы в возрасте от 5 до 10 лет имели зрелые гонады (IV стадия зрелости) и отвечали спермацией на гормональное воздействие. Зрелые особи встречались также среди двухгодовалых самцов. При сравнении самцов маточного стада с гонадами на IV стадии зрелости с дикими зрелыми самцами важно отметить, что уровень андрогенов у самцов маточного стада был весьма высок и значительно превышал этот показатель у диких рыб. У диких самок с гонадами на IV стадии зрелости уровень Т был в два раза ниже, чем у зрелых самцов из естественных условий.

Таким образом, в ходе развития гонад уровень половых стероидов у осетровых повышается. Уровень андрогенов (Т и 11КТ) в ходе гаметогенеза выше у самцов, а уровень эстрадиола значительно выше у самок во время вителлогенеза. Концентрации Т и 11КТ у стерляди с гонадами на II стадии зрелости, а у русского осетра 11КТ, значительно выше у самцов по сравнению с самками. У белого осетра содержание Т у рыб с гонадами на II стадии зрелости превышало его содержание у самок, и этот показатель был успешно использован для ранней идентификации пола в аквакультуре (Webb et al., 2002). Анализ содержания в крови Т и 11КТ может быть использован для предварительной ранней идентификации пола, а показатель содержания Е2 позволяет достоверно выявить самок на стадии вителлогенного роста ооцитов. Важно учитывать, что у зрелых самцов в условиях аквакультуры уровень тестостерона может, в ряде случаев, в несколько раз превышать этот показатель у диких зрелых самцов.

Для успешного применения метода в условиях конкретного рыбоводного предприятия необходимы:

1. Анализ содержания Т, 11КТ и Е2 в ходе развития гонад у различных видов осетровых при формировании маточных стад.
2. Анализ содержания Т, 11КТ и Е2 в ходе развития гонад у осетровых в условиях конкретного рыбоводного предприятия.
3. Мониторинг состояния воспроизводительной системы с помощью измерения содержания Т, 11КТ и Е2 в условиях конкретного рыбоводного предприятия с целью идентификации пола и характеристики темпа развития воспроизводительной системы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ахундов М.М. Пластичность дифференцировки пола у осетровых рыб.- Баку: Элм. - 1997.-200с.
2. Баранникова И.А., Баюнова Л.В., Колмаков Н.Н., Семенкова Т.Б. Динамика стероидных гормонов в крови при гормональной стимуляции созревания у северодвинской стерляди (*Acipenser ruthenus* L) //Вопр. ихтиол.- 2005. - Т.45.- № 1.- С. 124-131.
3. Баранникова И.А., Баюнова Л.В., Саенко И.И. Динамика половых стероидных гормонов у осетра (*Acipenser gueldenstaedti* Br.) при различном состоянии гонад в начале анадромной миграции в Волгу // Вопр. ихтиологии. - 1997. - Т. 37.- № 3.- С. 400-406.
4. Баранникова И.А., Буковская О.С., Дюбин В.П. Гормональные характеристики осетра при современном состоянии экосистемы Волго-Каспийского бассейна.- В кн.: Физиолого-биохимический статус волго-каспийских осетровых в норме и при расслоении мышечной ткани.- 1990.- Рыбинск: ИБВВ. АН СССР. - С. 100-109.
5. Barannikova I.A., Bayunova L.V., Semenkova T.B. Serum levels of testosterone, 11-ketotestosterone and estradiol-17 $\beta$  in three species of sturgeon during gonadal development and final maturation induced by hormonal treatment // Journal of Fish Biology.- 2004.- Volume 64.-Issue 5 . - P. 1330 - 1338.
6. Ceapa C., Willot P., Le Menn F., and Davail-Cnisset B. Plasma sex steroids and vitellogenin levels in stellate sturgeon (*Acipenser stellatus* Pallas) during spawning migration in the Danube River// J. Appl.Ichthyol.- 2002.- V. 18.- P. 391-396.
7. Chebanov, M.S., Chmyr, Yu. N. Early sexing and staging of farmed and wild sturgeon juveniles by using ultrasound technique.- In: Abs of 5<sup>th</sup> International Symposium on Sturgeon.- 2005.- P. 33.
8. Cuisset B., Pelissero C., Nunez Rodrigues J., Le Menn F. Use of plasma 11-KT for sex determination in Siberian sturgeon *Acipenser baeri* B.- In: A.P.Scott, S.P.Sumpter et al. (eds.) Proc. 4<sup>th</sup> International Symposium on the reproductive physiology of fish. University of East Anglia, Norwich, UK. P. 272.

9. *Feist G.W.; Van Eenennaam, J.P.; Doroshov, S.I.; Schreck, C.B.; Schneider, R.P. Fitzpatrick, M.S.* Early identification of sex in cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus*, using plasma steroid levels// *Aquaculture*.- 2004.- V. 232. - P. 581-590.

10. *Hett A.K., Ludwig A.* Sox genes in sturgeon .- In: Abs of 5<sup>th</sup> International Symposium on Sturgeon. -2005.-P. 159-160.

11. *Webb, M. A.H.; Feist, G.W.; Foster, E.P.; Schreck, C.B. and Fitzpatrick, M.S.* Potential classification of sex and stage of gonadal maturity of wild white sturgeon using blood plasma indicators// *Transactions of the American Fisheries Society*. - 2002. - V. 131.- P. 132-142.