

<https://doi.org/10.31043/2410-2733-2020-1-22-26>

УДК 639.245.3:612.018

Н. В. Инякина¹, А. А. Мусидрай², Е. В. Никиткина², Е. В. Мухачев¹, В. П. Политов², Г. В. Ширяев²

Вариабельность содержания сывороточного тестостерона у белух *Delphinapterus leucas* разных возрастов

Аннотация. В последнее время становится актуальным вопрос всестороннего изучения репродуктивной системы морских млекопитающих, в частности анализ гормональных изменений в организме китообразных в процессе их роста и развития. В данном исследовании определено содержание сывороточного тестостерона в образцах крови самцов белух *Delphinapterus leucas*.

Исследование проводили на белухах, содержащихся в полувольных условиях морского вольерного комплекса открытого типа на Баренцевом море. Образцы венозной крови получали от животных в возрасте от 5 до 10 лет, при этом особи моложе 7 лет считались неполовозрелыми. Всего обследовано 5 белух, получено 43 образца. Отбор проб крови осуществлялся из вентральной или дорсальной вены хвостового плавника с использованием вакуумной системы забора крови в пластиковые вакуумные пробирки. Объем образцов составлял от 3 до 12 мл нативной крови. Сыворотку крови для исследований получали путем центрифугирования взятых проб при 2000 об./мин в течение 10–15 мин. Из 8 мл нативной крови получали около 2,5–3 мл сыворотки. Замораживали, хранили и транспортировали до лаборатории при температуре –20°C. Содержание тестостерона в образцах определяли методом гетерогенного иммуноферментного анализа (ИФА).

Сравнительная оценка концентрации данного стероидного гормона у молодых и половозрелых животных показала положительную линейную корреляцию между уровнем секреции тестостерона и возрастом животного. Исследования показали, что половая зрелость самцов белух наступает к 8–10 годам при достижении уровня сывороточного тестостерона от 15 нмоль/л и выше.

Ключевые слова: морские млекопитающие, китообразные, белуха, тестостерон, возрастная корреляция, репродуктивный статус.

Авторы:

Инякина Наталья Валерьевна — старший научный сотрудник; e-mail: piratkanata@rambler.ru;

Мусидрай Артем Алексеевич — аспирант, младший научный сотрудник; e-mail: 13linereg@mail.ru;

Никиткина Елена Владимировна — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник; e-mail: nikitkinae@mail.ru;

Мухачев Евгений Владимирович — кандидат биологических наук, руководитель лаборатории; e-mail: piratkanata@rambler.ru;

Политов Владимир Петрович — научный сотрудник; e-mail: nikitkinae@mail.ru;

Ширяев Геннадий Владимирович — кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник; e-mail: GS-2027@yandex.ru.

¹ ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт прикладных проблем»; 191119, Россия, Санкт-Петербург, набережная Обводного канала, 29;

² ВНИИГРЖ — филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста», 196601, г. Санкт-Петербург, п. Тярлево, Московское шоссе, д. 55а.

Введение. Репродуктивное состояние морских млекопитающих является малоизученной и недостаточно освещенной областью современной российской науки, несмотря на значительное количество предприятий, специализирующихся в области

содержания, демонстрации и исследования морских животных в неволе (дельфинарии, зоопарки, океанариумы, морские научно-образовательные центры). Предпринимаемые меры по сохранению и защите водных биоресурсов, к которым отно-

сятся морские животные, обитающие в территориальных водах РФ [1], главным образом направлены на недопущение их изъятия из естественной среды обитания. Вместе с тем, такой подход к сохранению биологического разнообразия животного мира является односторонним и не гарантирует положительного результата.

Американские исследователи O'Brain с соавторами в своей работе [2] поднимают вопросы о важности и необходимости сочетания двух способов сохранения биологического разнообразия в морской среде — *in situ* и *ex situ*. Сохранение *in situ* означает сохранение экосистем и естественных мест обитания, а также поддержание и восстановление жизнеспособных популяций видов в их естественной среде. Как правило, подразумевается сохранение компонентов биологического разнообразия на особо охраняемых природных территориях: заповедниках, заказниках, национальных парках, памятниках природы. Под сохранением *ex situ* подразумевается сохранение компонентов биологического разнообразия вне их естественных мест обитания, а именно разведение диких животных в зоопарках и ведение генетических банков редких и исчезающих видов в лабораториях с целью восстановления популяций искусственным путем.

Таким образом, перспективным является всестороннее изучение репродуктивной системы морских млекопитающих, содержащихся в условиях неволи, с целью исследования возможности управляемого воспроизводства популяциями китообразных.

В данной работе проведены сравнительные гормональные исследования крови самцов белух различного возраста на содержание тестостерона для определения их полового статуса.

Наиболее популярное в настоящее время третье издание по медицине морских млекопитающих [3] в своем разделе о репродукции китообразных не содержит справочных данных о нормах содержания половых гормонов в крови самцов белух.

Известно, что андрогены, относящиеся к группе стероидных половых гормонов, крайне важны для реализации физиологических (в особенности репродуктивных) функций у животных и человека. Физиологическое значение функционального метаболизма тестостерона у всех млекопитающих заключается в усилении или качественной модификации гормонального сигнала. Он также необходим для индукции сперматогенеза в пубертатный период и его поддержания в зрелом возрасте, стимулирует размножение сперматогониев и мейоз сперматоцитов. Доказана роль тестостерона и его значение для нормального развития и общего ме-

таболизма в организме млекопитающих [4]. Большинство исследований подтверждает связь между количеством тестостерона и поведением животных и человека, как то проявлениями агрессии, конкурентным поведением между самцами, доминированием [5].

Результаты представленного в статье исследования могут найти практическое применение при определении текущего репродуктивного статуса самцов белух, в частности достижения половой зрелости, наиболее подходящих сроков отбора семени для создания криобанков и длительного хранения генетического материала от особей, представляющих наибольшую ценность в разведении и дальнейшей селекции (например, по их адаптивности или способности к обучению). Кроме того, выявление доминантных самцов в группе путем оценки уровня тестостерона наряду с анализом поведения может способствовать определению оптимального времени для спаривания с самками естественным путем.

Управляемое воспроизводство популяции китообразных в неволе позволит создать задел по сохранению биоразнообразия морских млекопитающих *ex situ*.

Материалы и методы. Проводили исследование группы белух, содержащихся в полувольных условиях морского вольерного комплекса открытого типа на Баренцевом море. Преимуществом такого типа содержания являются естественные для диких животных циклы смены дня и ночи, приливов и отливов, температуры воды и воздуха, а также естественное поддержание химического состава воды (соленость составляет от 30–34,5%).

Образцы венозной крови получали от обученных белух в возрасте от 5 до 10 лет, при этом особи моложе 7 лет считались неполовозрелыми. Всего было обследовано 5 белух, получено 43 образца.

Отбор проб крови осуществлялся из вентральной или дорсальной вены хвостового плавника (рисунки 1-2) с использованием вакуумной системы забора крови в пластиковые вакуумные пробирки типа «Improvacuter». Объем образцов составлял от 3 до 12 мл нативной крови.

Сыворотку крови для исследований получали путем центрифугирования взятых проб при следующих параметрах: 2000 об/мин в течение 10–15 мин. Из 8 мл нативной крови получали около 2,5–3 мл сыворотки. Полученный материал раскапывали в микроцентрифужные пробирки по объему не менее 0,6 мл в каждой. Замораживали, хранили и транспортировали до лаборатории при температуре –20 °С.

Содержание тестостерона в образцах определяли методом гетерогенного иммуноферментного

анализа (ИФА) с использованием анализатора «StatFax 2100» (Awareness Technology, США).

В каждом образце измерение тестостерона проводили дважды, рассчитывая среднее значение.

Полученные данные были проанализированы в программной среде MS Excel. Были определены индивидуальные средние показатели концентрации сывороточного тестостерона для каждой особи белухи.

Результаты и обсуждения. Полученные в ходе работы данные мы проанализировали, определили индивидуальные средние значения для каждого обследуемого животного. Результаты отображены в таблице 1.

Результаты анализа данных показывают положительную линейную корреляцию между уровнем

секреции тестостерона и возрастом животного, так что среднее значение, диапазон значений, а также максимальные концентрации гормона с возрастом значительно повышаются (рис. 3).

Известно, что половое созревание диких свободноживущих белух происходит по достижению ими 8–9 летнего возраста [6]. Белухи, содержащиеся в неволе, становятся половозрелыми в среднем в 13–15 лет [7, 8]. Нами показана динамика изменения содержания тестостерона в крови самцов белух с возрастом в процессе полового созревания в условиях содержания, максимально приближенных к естественным.

Выводы. Определение возраста китообразных, как и физиологического репродуктивного статуса, бывает затруднительным ввиду отсутствия дан-



Рис. 1. Обученная белуха по команде подает хвостовую лопасть тренеру для проведения манипуляции забора крови



Рис. 2. Отбор проб крови из вентральной хвостовой вены белухи

Таблица 1. Содержание тестостерона (нмоль/л) в крови самцов белух (*Delphinapterus leucas*) разного возраста

№ п/п	Животное, возраст	Кол-во проб	Тестостерон крови, нмоль/л		
			Среднее значение	SD	Макс. и мин значения
1	Белуха, 5–6 лет	9	1,16	±0,67	0,43–2,66
2	Белуха, 6–7 лет	4	3,56	±1,41	2,21–5,10
3	Белуха, 7–8 лет	12	6,80	±4,74	1,65–15,91
4	Белуха, 9 лет	13	9,43	±5,73	1,36–15,94
5	Белуха, 10 лет	5	17,01	±11,13	2,22–26,27

ных о происхождении животного. Полученные результаты впервые определяют взаимосвязь между концентрацией сывороточного тестостерона и возрастом самцов белух. Мы полагаем, что половая зрелость самцов белух наступает к 8–10 годам, когда уровень сывороточного тестостерона достигает концентраций от 15 нмоль/л и выше.

Сбор и систематизация данных о концентрации половых гормонов в крови китообразных позволит определять соответствующие референсные интервалы для оценки текущего репродуктивного статуса животных в зависимости от их возраста и времени года.

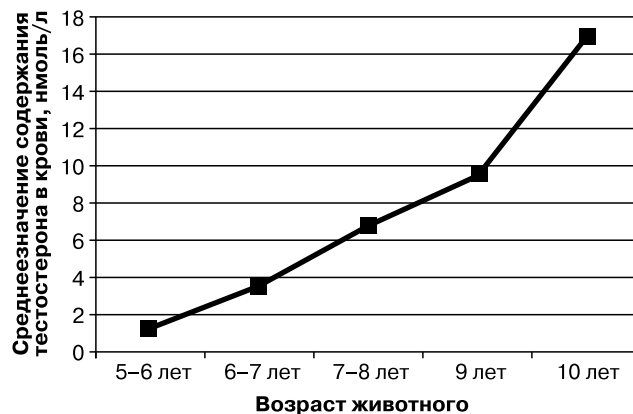


Рис. 3. Зависимость среднего значения содержания тестостерона в крови самцов белух от возраста

Работа проведена в рамках выполнения научных исследований Министерства науки и высшего образования РФ по теме № АААА-А18-118021990006-9

Литература

1. Федеральный закон «О животном мире» №52-ФЗ от 24.04.1995 г. (ред. от 07.02.2013 г.).
2. O'Brien J. K. The value of ex situ cetacean populations in understanding reproductive physiology and developing assisted reproductive technology for ex situ and in situ species management and conservation efforts / J. K. O'Brien, T. R. Robeck // International Journal of Comparative Psychology. — 2010. — № 23. — P. 227–248.
3. O'Brien J. K., Robeck T. R. & Atkinson S. Reproduction. In F.M.D. Gulland, L. A. Dierauf & K. L. Whitman (Eds), CRC Handbook of Marine Mammal Medicine. (3d ed.). Boca Raton: CRC Press. 2018. P. 169–207.
4. Амерханов Х. А. Содержание тестостерона и холестерина в сыворотке крови у быков-производителей в зависимости от типа продуктивности, возраста и сезона года / Х. А. Амерханов, А. И. Абилов, Г. В. Ескин, Н. А. Комбарова и др. // Сельскохозяйственная биология. — 2014. — № 2. — С. 59–66.
5. Delville Y. Testosterone facilitates aggression by modulating vasopressin receptors in the hypothalamus / Y. Delville, K. M. Mansour, C. F. Ferris // Physiology & Behavior. Elsevier. — 1996. — Vol. 60. — № 1. — P. 25.
6. Brodie P. F. A reconsideration of aspects of growth, reproduction and behavior of the white whale (*Delphinapterus leucas*) with reference to the Cumberland Sound, Baffin Island, population / P. F. Brodie // Journal of the Fisheries Research Board of Canada. — 1971. — № 28. — P. 1309–1318.
7. Robeck T. R. Reproduction, growth and development in captive beluga (*Delphinapterus leucas*) / Robeck T. R., S. L. Monfort, P. P. Calle et al. // Zoo Biology. — 2005. — № 24. — P. 29–49.
8. Montano G. M. Circulating anti-Mullerian hormone concentrations in relation to age and season in male and female beluga (*Delphinapterus leucas*) / G. M. Montano, T. R. Robeck, K. J. Steinman, J. K. O'Brien // Reproduction, Fertility and Development. — 2016. doi.org /10.1071/RD15537.

Inyakina N.¹, Musidray A.², Nikitkina E.², Mukhachev E.¹, Politov V.², Shiryayev G.²

Variability of the content of serum testosterone in belugas of *Delphinapterus leucas* of different ages

Abstract. Recently, the issues of a comprehensive study of the reproductive system of marine mammals, in particular the analysis of hormonal changes in the organism of cetaceans in the process of their growth and development has become urgent. In the present work, the content of serum testosterone in blood samples of male beluga whales *Delphinapterus leucas* was determined.

The studies were carried out on belugas kept in semi-free conditions of an open-air marine enclosure complex in the Barents Sea. Venous blood samples were obtained from animals aged 5 to 10 years, while individuals under 7 years old were considered immature. A total of 5 belugas were examined, 43 samples were obtained. Blood sampling was carried out from the ventral or dorsal vein of the caudal fin using a vacuum blood sampling system in plastic vacuum tubes. The volume of the samples ranged from 3 to 12 ml of native blood. Blood serum for research was obtained by centrifuging the samples at 2000 rpm for 10–15 minutes. About 2.5–3 ml of serum was obtained from 8 ml of native blood. It was frozen, stored and transported to the laboratory at a temperature of –20°C. The testosterone content in the samples was determined by the method of heterogeneous enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

A comparative assessment of the concentration of this steroid hormone in young and mature animals showed a positive linear correlation between the level of testosterone secretion and the age of the animal. Studies have shown that the sexual maturity of male beluga whales occurs by the age of 8–10, when serum testosterone levels of 15 nmol / L or higher are reached.

Keywords: marine mammals, cetacean, beluga whale, testosterone, age correlation, reproductive status.

Authors:

Inyakina N. — senior researcher; e-mail: piratkanata@rambler.ru;

Musidray A. — graduate student, junior research assistant; e-mail: 13linereg@mail.ru;

Nikitkina E. — PhD (Biol. Sci.), leading researcher; e-mail: nikitkinae@mail.ru;

Mukhachev E. — PhD (Biol. Sci.), head of the laboratory; e-mail: piratkanata@rambler.ru;

Politov V. — researcher; e-mail: nikitkinae@mail.ru;

Shiryaev G. — PhD (Agr. Sci.), senior researcher; e-mail: GS-2027@yandex.ru.

¹ Federal State Unitary Enterprise «State Research Institute applied problems»; 191119, Russia, St. Petersburg, embankment of the Obvodny Canal, 29;

² Russian research institute of farm animal genetics and breeding — branch of the L. K. Ernst Federal science center for animal husbandry; Russia, St. Petersburg, Pushkin, Moskovskoe shosse, 55a, 196601

References

1. Federal law «On the animal kingdom» №. 52-FZ dated 24.04.1995 (as amended on 07.05.2003).
2. O'Brien J. K. The value of ex situ cetacean populations in understanding reproductive physiology and developing assisted reproductive technology for ex situ and in situ species management and conservation efforts / J. K. O'Brien, T. R. Robeck // International Journal of Comparative Psychology. — 2010. — № 23. — P. 227–248.
3. O'Brien J. K., Robeck T. R. & Atkinson S. Reproduction. In F.M.D. Gulland, L. A. Dierauf & K. L. Whitman (Eds), CRC Handbook of Marine Mammal Medicine. (3d ed.). Boca Raton: CRC Press. 2018. P. 169–207.
4. Amerkhanov Kh. A. Serum testosterone and cholesterol content in bulls depending on the type of productivity, age and season of the year / Kh. A. Amerkhanov, A. I. Abilov, G. V. Eskin, N. A. Kombarova and others // Agricultural biology. — 2014. — №. 2. — P. 59–66.
5. Delville Y. Testosterone facilitates aggression by modulating vasopressin receptors in the hypothalamus / Y. Delville, K. M. Mansour, C. F. Ferris // Physiology & Behavior. Elsevier. — 1996. — Vol. 60. — № 1. — P. 25.
6. Brodie P. F. A reconsideration of aspects of growth, reproduction and behavior of the white whale (*Delphinapterus leucas*) with reference to the Cumberland Sound, Baffin Island, population / P. F. Brodie // Journal of the Fisheries Research Board of Canada. — 1971. — № 28. — P. 1309–1318.
7. Robeck T. R. Reproduction, growth and development in captive beluga (*Delphinapterus leucas*) / Robeck T. R., S. L. Monfort, P. P. Calle et al. // Zoo Biology. — 2005. — № 24. — P. 29–49.
8. Montano G. M. Circulating anti-Mullerian hormone concentrations in relation to age and season in male and female beluga (*Delphinapterus leucas*) / G. M. Montano, T. R. Robeck, K. J. Steinman, J. K. O'Brien // Reproduction, Fertility and Development. — 2016. doi.org /10.1071/RD15537.