

Оригинальная статья / Original article

УДК 597.554.3.591.111

DOI: 10.18470/1992-1098-2024-2-7



Генотоксические эффекты в клетках крови осетровых рыб (Acipenseridae) в условиях садкового хозяйства дельты Волги

Анна В. Конькова, Дина Р. Файзулина, Юлия М. Ширина, Иван А. Богатов

Астраханский государственный университет имени В. Н. Татищева, Астрахань, Россия

Контактное лицо

Анна В. Конькова, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории «Аквакультура и гидробиология», доцент кафедры биотехнологии, биоэкологии, почвоведения и управления земельными ресурсами, Астраханский государственный университет имени В. Н. Татищева; 414056 Россия, г. Астрахань, ул. Татищева, 20а. Тел. +79275513010

Email avkonkova@yandex.ruORCID <https://orcid.org/0000-0003-4957-2969>**Формат цитирования**

Конькова А.В., Файзулина Д.Р., Ширина Ю.М., Богатов И.А. Генотоксические эффекты в клетках крови осетровых рыб (Acipenseridae) в условиях садкового хозяйства дельты Волги // Юг России: экология, развитие. 2024. Т.19, N 2. С. 69-81. DOI: 10.18470/1992-1098-2024-2-7

Получена 8 ноября 2023 г.

Прошла рецензирование 25 ноября 2023 г.

Принята 27 ноября 2023 г.

Резюме

Целью настоящей работы явилась оценка степени генотоксического влияния среды обитания на особей русского осетра и стерляди, выращиваемых в условиях садкового хозяйства дельты Волги, с помощью микроядерного и ДНК-комет тестов.

Кровь у особей русского осетра и стерляди была отобрана прижизненно. Тест ДНК-комет выполняли щелочным методом. Количество эритроцитов с микроядрами определяли микроскопически. Для оценки физиологического состояния осетровых рыб использовали общепринятые гематологические и биохимические методики.

В исследованной выборке рыб на мазках крови количество эритроцитов с микроядрами в среднем составило у русского осетра $3,20 \pm 1,24 \%$, у стерляди – $5,25 \pm 1,18 \%$. Доля ДНК в хвосте кометы у эритроцитов русского осетра составила $3,99 \%$, у стерляди – $6,48 \%$. Величины показателей момента хвоста и момента Оливе так же были ниже у русского осетра. Среди эритроцитов стерляди можно отметить более гетерогенную картину повреждения ДНК. Показатель длины хвоста кометы у особей стерляди оказался ниже, чем у русского осетра, видимо при повреждении ДНК эритроцитов стерляди образовывались более крупные фрагменты этих молекул. Физиологическое состояние особей стерляди можно охарактеризовать как нормальное, а русского осетра как удовлетворительное, в связи с выявленными отклонениями в значениях некоторых гематологических и биохимических показателей крови.

Изучив влияние среды на особей осетровых рыб, содержащихся в условиях садковой аквакультуры в дельте Волги методом микроядерного и ДНК-комет тестов можно сделать вывод об отсутствии острого генотоксического влияния в момент исследования.

Ключевые слова

Русский осетр, стерлядь, микроядро, ДНК-кометы, гематологические и биохимические показатели крови.

Genotoxic effects in blood cells of sturges (Acipenseridae) grown in conditions of cage farming of the Volga delta, Russia

Anna V. Konkova, Dina R. Faizulina, Yulia M. Shirina and Ivan A. Bogatov

Astrakhan State Tatishchev University, Astrakhan, Russia

Principal contact

Anna V. Konkova, Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher, Laboratory of Aquaculture and Hydrobiology, Associate Professor, Department of Biotechnology, Bioecology, Soil Science and Land Management, Astrakhan State Tatishchev University; Tatishcheva St, Astrakhan, Russia 414056.

Tel. +79275513010

Email avkonkova@yandex.ru

ORCID <https://orcid.org/0000-0003-4957-2969>

How to cite this article

Konkova A.V., Faizulina D.R., Shirina Yu.M., Bogatov I.A. Genotoxic effects in blood cells of sturges (Acipenseridae) grown in conditions of cage farming of the Volga delta, Russia. *South of Russia: ecology, development*. 2024; 19(2):69-81. (In Russ.) DOI: 10.18470/1992-1098-2024-2-7

Received 8 November 2023

Revised 25 November 2023

Accepted 27 November 2023

Abstract

The purpose of this work was to assess the degree of genotoxic influence of the habitat on individuals of Russian sturgeon and sterlet raised in cage farming conditions in the Volga delta, using micronucleus and DNA comet tests.

The blood of the individual Russian sturgeon and sterlet was shaved off during their lifetime. A comet DNA test was performed using the alkaline method. The number of erythrocytes with micronuclei was determined microscopically. To assess the physiological state of sturgeons, conventional hematological and biochemical methods were used.

In the samples of fish blood smears studied, the average proportion of erythrocytes with micronuclei was 3.20 ± 1.24 ‰ in Russian sturgeon and 5.25 ± 1.18 ‰ in sterlet. The proportion of DNA in the comet tail in erythrocytes of Russian sturgeon was 3,99 %, and in sterlet 6, 48 %. The values of tail moment and Olivet moment were also lower in Russian sturgeon. Among sterlet erythrocytes, a more heterogeneous pattern of DNA damage can be noted. The length of the comet tail in sterlet individuals turned out to be lower than in Russian sturgeon: apparently, larger fragments of these molecules were formed when the DNA of sterlet erythrocytes was damaged. The physiological state of sterlet individuals can be characterised as normal, and that of the Russian sturgeon as satisfactory, due to the deviations identified in the values of some hematological and biochemical blood parameters.

Having studied the influence of the environment on individual sturgeon kept in cage aquaculture conditions in the Volga delta using micronuclear and DNA comet tests, we can conclude that there was no acute genotoxic effect at the time of the study.

Key Words

Russian sturgeon, sterlet, micronucleus, DNA comets, hematological and biochemical blood parameters.

ВВЕДЕНИЕ

Численность естественных популяций некоторых видов рыб дельты реки Волги и Каспийского моря в настоящее время значительно сокращается, на фоне действия разноплановых факторов этот процесс затронул и каспийских осетровых. В условиях снижения запасов рыб получает активное развитие аквакультура этих видов ихтиофауны в различных водоемах рыбохозяйственного значения, в том числе и в водоемах Астраханской области. Назначение аквакультуры в данном регионе определяется двумя направлениями – искусственное воспроизводство с целью пополнения естественных запасов и товарное осетроводство для насыщения потребительского рынка ценной рыбной продукцией. Перспективным направлением в товарном осетроводстве является выращивание в садковых линиях на открытых водоемах [1].

При всех преимуществах садкового выращивания осетровых рыб на открытых водоемах (сокращение затрат на капитальное строительство, не требуется изъятие значительных площадей земли, экономия на электроэнергии) следует отметить возможное негативное влияние естественной среды воды дельты р. Волга, в связи с напряженной экологической обстановкой. Основным источником поступления загрязняющих веществ в дельту – сток речных вод. Несмотря на то, что в последние годы потоки некоторых загрязняющих веществ заметно уменьшились, особенно нефтяных углеводородов, хлорорганических соединений и меди из тяжелых металлов, качество вод в дельте Волги по комплексной оценке загрязненности в настоящее время определено классом “грязная вода”. По-прежнему локально отмечают превышение предельно допустимых концентраций в волжских водах для тяжелых металлов (железо, медь, цинк, ртуть, никель), фенолов, нефтепродуктов. По большинству перечисленных ингредиентов специалисты определяют загрязнение как “характерное”, а по никелю – “единичное” [2–3].

Вышеперечисленные токсиканты обладают свойством генотоксичности, в том числе и в отношении рыб [4–6]. Генотоксическое влияние подразумевает процесс, включающий прямое и косвенное воздействие на структурную целостность ДНК. Последствия генотоксического влияния могут включать в себя повреждения ДНК (например, образования аддуктов ДНК и одно- или двухцепочечных разрывов), эффекты, связанные с мутагенезом (“незаконный” синтез ДНК, то есть внеплановый, хромосомные транслокации) и как итог индукция мутаций (генных, хромосомных, геномных, рекомбинационных) [7–8]. Клетки распознают повреждения ДНК и инициируют ответ в виде репарации этих молекул. Механизмы восстановления повреждений ДНК высококонсервативны у позвоночных, однако, отмечается видоспецифичность в процессах и мишенях репарации ДНК. У рыб описывают первичные пути репарации повреждений ДНК – эксцизионная репарация оснований и нуклеотидов, гомологичная рекомбинация и нехомологичное соединение концов [9].

Подавляющее большинство повреждений ДНК репарируются. Однако, редко, но возникают нерепарируемые повреждения ДНК [10]. Частота их возникновения в том числе зависит и от степени генотоксического влияния внешних факторов среды. К

методам, которые в настоящее время применяются при анализе генотоксического воздействия, можно отнести оценку следующих цитогенетических характеристик: абберации хромосом, сестринские хроматидные обмены, микроядра, ДНК-кометы, нарушения мейоза. К наиболее распространенным следует отнести только два из вышеприведенных, а именно анализ частот микроядер и ДНК-комет тест [11].

Преимущества кометного анализа – это высокая чувствительный метода, его способность обнаруживать начальные и неспецифические повреждения ДНК в клетке, он более быстрый, чем другие доступные методы обнаружения разрывов цепей, относительно недорогостоящий и способный обнаруживать раннее воздействие генотоксикантов [12]. Тест на наличие микроядер, возникающих либо в результате поломки хромосом во время клеточного деления, либо в результате потери хромосом при повреждении во время анафазы, дает возможность оценить генотоксический ответ клеток на сложные смеси загрязнителей окружающей среды [13]. Метод ДНК-комет и микроядерный тест часто дополняют друг друга [14].

Осетровые обладают необычайной геномной пластичностью. Однако такая пластичность требует высокоэффективной репарации ДНК [15]. Таким образом, целью настоящей работы явилась оценка степени генотоксического влияния среды на особей русского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt, 1833) и стерляди (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758), выращиваемых в условиях садкового хозяйства дельты р. Волга, с помощью микроядерного и ДНК-комет тестов, и попытка охарактеризовать насколько геном изученных рыб устойчив к этому воздействию, в том числе с учетом общей оценки физиологического состояния рыб на основе результатов гематологических исследований и биохимических анализов крови.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования были проведены в мае 2023 г. Сбор материала осуществлен в условиях садкового рыбоводного комплекса крестьянско-фермерского хозяйства Ю.С. Полякова, расположенного на рукаве Хурдун (нижняя зона дельты реки Волга) в Астраханской области, в Икрянинском районе около села Икряное (координаты 46°06'03"–46°00'03"с. ш., 47°44'36"–47°32'56" в. д.), Россия. У 20 особей русского осетра (возраст 3 года, средняя масса 592,20±89,07 г и абсолютная длина 59,60±2,50 см) и у 20 особей стерляди (возраст 4–5 лет, средняя масса 569,00±39,15 г и абсолютная длина 51,05±1,28 см) прижизненным методом с помощью шприца была отобрана кровь из гемального канала.

Гепаринизированные образцы крови (1:50) были использованы для определения количества гемоглобина, эритроцитов (подсчет в камере Горяева), скорости оседания эритроцитов (на СОЭ-метре Панченкова ПР-3) и проведения анализа ДНК-комет щелочным методом [16–18]. Для проведения метода ДНК-комет предметные стёкла покрывали тонким слоем агарозы. 10 мкл крови смешивали с 1 мл фосфатно-солевого буфера+1м МЭДТА, далее 10 мкл разведенной таким образом крови смешивали с 90 мкл лавковой агарозы (42° С) и раскапывали на подготовленные слайды агарозы. Затем в течение 60 минут проводили лизис (2,5М NaCl, 100мМ ЭДТА,

10мМ Трис, 1 % Тритон X-100, pH 10, 4° С). После лизиса препараты помещали в горизонтальную камеру для электрофореза (Helicon SE-1, УИП Эльф-4, Россия), заполненную щелочным буфером (0,3М NaOH, 1мМ ЭДТА, pH>13) и оставляли на 20 минут для расплетения нитей ДНК. Затем в течение 15 минут проводили процедуру электрофореза при напряжении 25 V и силе электрического тока 300 А. После слайды промывали в нейтрализационном буфере (0,4 М Трис-HCl, pH 7,5) и окрашивали бромистым этидием (4 мкг/мл, 4° С). Слайды с агарозой просматривали на флуоресцентном микроскопе (Carl Zeiss Axioscope 5, Германия). Для одной особи просматривали по 50 комет и с помощью программы TriTek CometScore 2.0.0.38 (TriTek Corp. <http://trittekcorp.com>) оценивали следующие показатели: долю ДНК в хвосте, момент хвоста, момент Оливе и длину хвоста [19].

Препараты свежей крови были использованы для приготовления мазков и образцов сыворотки. Свежие мазки крови были фиксированы в растворе этилового спирта (96°) и окрашены по Романовскому-Гимзе. На мазках крови микроскопически были определены лейкоцитарная формула, патологии эритроцитов и проведен микроядерный тест [17; 20]. В каждом препарате просматривали 1000 эритроцитов и вычисляли частоту встречаемости эритроцитов с микроядрами – МЯ [21–23]. Так же были проведены измерения клеток красной крови (по 100 клеток каждой особи рыб). У эритроцитов были определены следующие показатели: большая ось эритроцита (мкм), малая ось эритроцита (мкм), большая ось ядра (мкм), малая ось ядра (мкм), большая ось микроядра (мкм), малая ось микроядра (мкм), а также расстояние от микроядра до основного ядра и до клеточной мембраны [24].

В образцах сыворотки крови с применением общепризнанных фотометрических методов исследования был определен ряд биохимических показателей, отраженных в табличном материале и обработанном на специализированном лабораторном оборудовании (спектрофотометр Экрос ПЭ5300, Россия, биохимический анализатор Chem Well-2902 V+, США). Были использованы готовые наборы реагентов («Агат», «Ольвекс диагностикум», Россия). Все полученные числовые данные подвергались статистической

обработке и представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего, достоверность различий рассчитывали с помощью t-критерия Стьюдента при нормальном распределении данных или с помощью критерия Манна-Уитни при ненормальном (Excel, Microsoft Office 2019, SigmaStat 3.5.). Корреляцию рассчитывали согласно ранговому коэффициенту Спирмена, так как часть данных имела ненормальное распределение.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В исследованной выборке рыб на мазках крови количество эритроцитов с МЯ в среднем составило у русского осетра $3,20 \pm 1,24 \%$, у стерляди – $5,25 \pm 1,18 \%$. При этом у последней группы рыб данный показатель был достоверно выше ($p \leq 0,05$). Помимо этого, количество МЯ в одном эритроците у стерляди также было выше. Так, у русского осетра встречалось не более 1 МЯ в одной клетке эритроидного ряда, в то время как у стерляди – достигало 2 МЯ (рис. 1). Размеры эритроцитов, основного ядра и МЯ представлены в (табл. 1).

Размеры эритроцитов стерляди и русского осетра в исследуемом садковом хозяйстве совпадали с размерами аналогичных клеток в исследованиях других авторов как речной и морской популяции осетровых в Волго-Каспийском районе [25; 26], а также выращиваемых в системе УЗВ [27], в различных экспериментальных условиях [28]. Измерения на фиксированных мазках крови не искажают реальную картину размеров клеток, так как ранее было установлено, что между размерами большой и малой осей ядер эритроцитов фиксированных и живых клеток крови рыб отсутствуют значительные различия [24; 28; 29]. При сопоставлении клеток красной крови было установлено, что размеры эритроцитов русского осетра были достоверно выше эритроцитов стерляди, при этом во всех видах промеров. Помимо этого, закономерности выявлены в таких показателях как малая ось основного ядра (больше в группе эритроцитов без МЯ у русского осетра) и большая ось основного ядра (больше в группе эритроцитов с МЯ у стерляди), табл. 1.

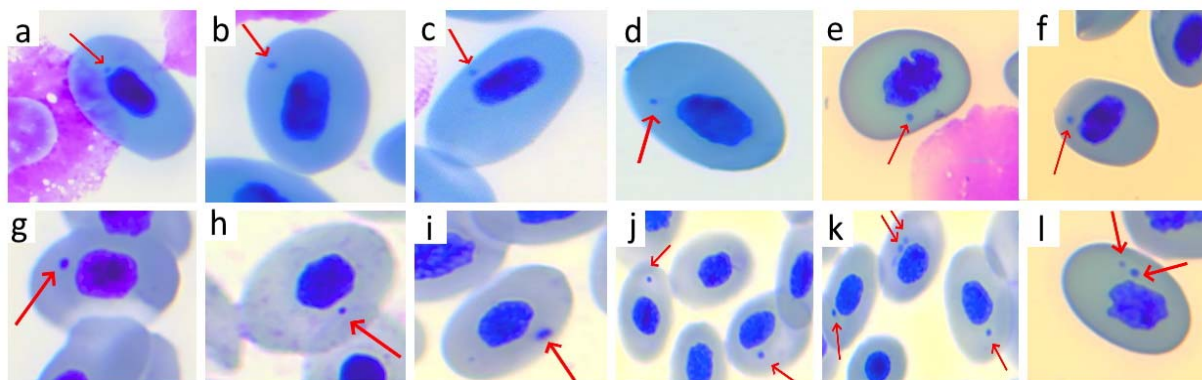


Рисунок 1. Эритроциты русского осетра (а–f) и стерляди (g–l) в условиях садкового хозяйства, 2023 г. Ув. 10x100, иммерсия, стрелкой указано расположение микроядра

Figure 1. Erythrocytes of Russian sturgeon (a–f) and sterlet (g–l) in cage farming conditions, 2023 Increase 10x100, immersion, the arrow indicates the location of the microkernel

Таблица 1. Размеры эритроцитов, основного ядра и микроядер особей русского осетра и стерляди в условиях садкового хозяйства, 2023 г.**Table 1.** Sizes of erythrocytes, main nucleus and micronuclei of Russian sturgeon and Sterlet specimens in cage farming conditions, 2023

| Показатели Index | Русский осетр / Russian sturgeon | | | | Стерлядь / Sterlet | | | |
|--|--|-------------------|---|-------------------|--|-------------------|---|-------------------|
| | Эритроциты с микроядрами Erythrocytes with micronucleus | | Эритроциты без микроядер Erythrocytes without micronucleus | | Эритроциты с микроядрами Erythrocytes with micronucleus | | Эритроциты без микроядер Erythrocytes without micronucleus | |
| | M ± m | Диапазон Range | M ± m | Диапазон Range | M ± m | Диапазон Range | M ± m | Диапазон Range |
| Большая ось клетки (мкм) Cell major axis (µm) | 16,63 ± 0,27 | 16,13 – 17,06 | 17,96 ± 0,99 | 16,20 – 18,01 | 13,05 ± 0,50 | 11,79 – 14,18 | 12,30 ± 0,05** | 11,00 – 13,50 |
| Малая ось клетки (мкм) Cell minor axis (µm) | 10,18 ± 0,67 | 9,03 – 11,34 | 11,50 ± 0,67 | 9,50 – 11,73 | 8,50 ± 0,21 | 7,97 – 8,96 | 8,02 ± 0,30 | 7,50 – 8,55 |
| Большая ось ядра (мкм) Nuclear major axis (µm) | 7,66 ± 0,51 | 6,65 – 8,33 | 7,88 ± 0,70 | 6,70 – 8,50 | 5,50 ± 0,13 | 5,29 – 5,86 | 4,91 ± 0,35** | 4,53 – 5,71 |
| Малая ось ядра (мкм) Nuclear minor axis (µm) | 5,06 ± 0,37 | 4,62 – 5,80 | 6,78 ± 0,12* | 4,70 – 6,01 | 3,22 ± 0,20 | 2,68 – 3,62 | 3,19 ± 0,20 | 2,67 – 3,62 |
| Большая ось микроядра (мкм) Micronucleus major axis (µm) | 1,13 ± 0,26 | 0,73 – 1,63 | - | - | 0,90 ± 0,04 | 0,84 – 1,00 | - | - |
| Малая ось микроядра (мкм) Micronucleus minor axis (µm) | 0,75 ± 0,22 | 0,41 – 1,15 | - | - | 0,56 ± 0,10 | 0,44 – 0,84 | - | - |
| Расстояние от микроядра до основного ядра (мкм) Distance from micronucleus to main nucleus (µm) | 1,75 ± 0,44 | 1,16 – 2,60 | - | - | 1,71 ± 0,35 | 1,10 – 2,66 | - | - |
| Расстояние от микроядра до клеточной мембраны (мкм) Distance from micronucleus to cell membrane (µm) | 2,31 ± 0,50 | 1,32 – 2,95 | - | - | 1,36 ± 0,47 | 0,20 – 2,30 | - | - |

Примечание: * – достоверность различий $p \leq 0,05$ (между особями русского осетра), ** – достоверность различий $p \leq 0,05$ (между особями стерляди)

Note: * – significance of differences $p \leq 0.05$ (between individuals of Russian sturgeon), ** – significance of differences $p \leq 0.05$ (between individuals of Sterlet)

МЯ в эритроцитах были зарегистрированы как рядом с основным ядром, так отдалены от него, располагаясь у края. Варианты расположения микроядра в эритроцитах особей русского осетра и стерляди представлено на рис. 1. В зависимости от удаления МЯ от основного ядра и клеточной мембраны было рассчитано процентное соотношения эритроцитов с МЯ, имеющих пристеночное или центральное расположение (критерием являлся расстояние равное прямой линии, соединяющей основное ядро-МЯ-клеточную мембрану, и составляющей длине расположения МЯ менее $\frac{1}{4}$ этого расстояния). У русского осетра доля эритроцитов с пристеночным расположением МЯ и у основного ядра составила 81,25 % и 18,75, у стерляди – 68,52 % и 31,48 % соответственно виду локализации МЯ.

В целом результаты микроядерного теста на основе выявленного среднего количества эритроцитов с МЯ у обследованных осетровых рыб был относительно на невысоком уровне. По имеющимся литературным данным, у особей русского осетра, содержащихся в контроле, уровень МЯ не превышал 3 %, в то время

когда в ходе экспериментального воздействия донных осадков Бакинской бухты, загрязненных тяжелыми металлами и нефтеуглеводородами, он достигал 12–15 % [30]. При этом следует отметить, что если у обследованных особей осетра в садковом хозяйстве выявленное количество эритроцитов МЯ схоже с приведенными выше сведениями, то у стерляди этот показатель был в 1,6 раза выше, что может указывать на то, что стерлядь, которая находилась с русским осетром в одинаковых условиях, более подвержена действию потенциальных неблагоприятных факторов.

Если учитывать процентное соотношение эритроцитов с МЯ относительно общего числа эритроцитов, то полученные показатели (0,32 % у русского осетра и 0,53 % у стерляди) также свидетельствовали о низкой вероятности мутагенеза и генотоксичности среды обитания рыб, так как ранее было установлено, что вероятность появления эритроцитов с МЯ при спонтанном мутагенезе может быть высокой при появлении более 0,5–1,0 % клеток с МЯ [31–32].

Помимо МЯ в эритроцитах обследованных осетровых рыб были выявлены такие патологии как анизоцитоз (микро), ядра-тени, инвагинация ядра, гипохромазия, появление шистоцитов, кариорексис, пикноз, вакуолизация цитоплазмы эритроцитов (табл. 2). В целом уровень выявленных нарушений с учетом обратимости некоторых процессов и особенностей естественных процессов гемопоэза в момент проведения исследований не выходил за пределы явных отклонений физиологического состояния рыб [20]. Лейкограмма обследованных особей носила лимфоидный характер, у обоих видов рыб преобладали в кровотоке зрелые лимфоциты, в меньшей степени были приставлены моноциты, нейтрофилы, эозинофилы (табл. 2). При этом последние две группы лейкоцитарного ряда были зафиксированы на разных

стадиях своего развития, а у стерляди количество нейтрофилов было достоверно выше по сравнению с русским осетром. Основная функция нейтрофилов – защита организма от инфекции и одновременно от токсического воздействия, у эозинофилов – фагоцитоз в том числе бактерий, способность адсорбировать многие токсические продукты белковой природы и разрушать их. Также на мазках был зарегистрирован распад эозинофилов на гранулы. Для осетровых рыб распыление эозинофила на гранулы указывает о недоброкачественности корма, об отсутствии в нем фосфатидов, несбалансированности по белку [20]. В целом лейкограмма обследованных рыб свидетельствовала об активации защитной системы организма на неблагоприятные факторы.

Таблица 2. Патологии эритроцитов и лейкограмма особей русского осетра и стерляди в условиях садкового хозяйства, 2023 г.

Table 2. Pathologies of erythrocytes and leukogram of individuals of Russian sturgeon and Sterlet in cage farming conditions, 2023

| Показатели Index | Русский осетр Russian sturgeon | Стерлядь Sterlet |
|--|-----------------------------------|---------------------|
| Развитие эритроцитов / Development of erythrocyte | | |
| Эритробласт, 10^{-3} / Erythroblast, 10^{-3} | 2,33 ± 0,88 | 4,67 ± 1,12 |
| Барофильный нормобласт, 10^{-3} / Basophilic normoblasts, 10^{-3} | 1,00 | 5,00 ± 1,00 |
| Патология эритроцитов / Pathology of erythrocytes | | |
| Анизоцитоз (микро), 10^{-3} / Anisocytosis (micro), 10^{-3} | 2,00 | 1,00 |
| Ядра-тени, 10^{-3} / Nuclear shadows, 10^{-3} | 9,20 ± 1,71 | 12,20 ± 2,06 |
| Инвагинация ядра, 10^{-3} / Invagination of nucleus, 10^{-3} | 2,00 | 1,57 ± 0,30 |
| Гипохромазия, 10^{-3} / Hypochroasia, 10^{-3} | 14,67 ± 6,89 | 6,00 |
| Шистоцит, 10^{-3} / Schistocyte, 10^{-3} | 3,33 ± 1,86 | 1,91 ± 0,72 |
| Кариорексис, 10^{-3} / Karyorrhexis, 10^{-3} | 0,00 | 1,67 ± 0,42 |
| Пикноз, 10^{-3} / Pyknose, 10^{-3} | 0,00 | 1,29 ± 0,29 |
| Вакуолизация цитоплазмы эритроцитов, 10^{-3} / Vacuolization of the erythrocyte cytoplasm, 10^{-3} | 3,00 | 0,00 |
| Микроядро, 10^{-3} / Micronucleus, 10^{-3} | 3,20 ± 1,24 | 5,25 ± 1,18* |
| Лейкограмма / Leukogram | | |
| Лимфоцит (зрелый), % / Lymphocyte (mature), % | 95,00 ± 0,63 | 94,20 ± 0,59 |
| Моноцит, % / Monocyte, % | 0,60 ± 0,10 | 1,10 ± 0,33 |
| Нейтрофил метамиелоцит, % / Neutrophil metamyelocyte, % | 1,00 ± 0,50 | 3,35 ± 0,57* |
| Нейтрофил сегментоядерный, % / Segmented neutrophil, % | 0,80 ± 1,00 | 0,30 ± 0,10 |
| Нейтрофил палочкоядерный, % / Neutrophil stab, % | 1,20 ± 1,00 | 0,90 ± 0,66 |
| Эозинофил метамиелоцит, % / Eosinophil metamyelocyte, % | 0,40 | 0,20 |
| Эозинофил сегментоядерный, % / Segmented eosinophil, % | 1,00 ± 0,50 | 0,00 |
| Тромбоциты / Thrombocytes | | |
| Тромбоциты, 10^{-3} / Thrombocytes, 10^{-3} | 22,00 ± 21,00 | 12,70 ± 3,22 |

Примечание: * – различия статистически значимые при $p \leq 0,05$
Note: * – significance of differences $p \leq 0,05$

У изучаемых особей осетровых рыб отмечены ядра эритроцитов с различным уровнем повреждения ДНК согласно методу ДНК-комет (табл. 3; рис. 2).

Средний уровень ДНК в хвосте кометы у особей стерляди оказался выше в 1,6 раза чем, у особей русского осетра. Доля мигрировавшей ДНК отражает количество повреждений, то есть чем выше процент ДНК в хвосте кометы, тем более повреждены молекулы ДНК в ядре клетки [33; 34]. Соответственно у стерляди были выше показатели момента хвоста и момента Оливе. Момент хвоста учитывает и количество и размеры мигрировавших в хвост фрагментов ДНК, показатель рассчитывается как произведение длины хвоста и доли мигрировавшей ДНК/100. Несмотря на значительную разницу этого показателя у стерляди и русского осетра различия были не достоверны. Момент

Оливе особенно полезен для описания гетерогенности повреждения ДНК внутри клеточной популяции [33]. То есть среди эритроцитов стерляди можно отметить более разнородную картину повреждения ДНК. Так доля ДНК в хвосте кометы у стерляди варьировала от 0 до 95,36 %, тогда как у русского осетра отмечена минимальная доля мигрировавшей в хвост ДНК 0 %, а максимальная всего 23,49, что в 4 раза ниже максимального значения отмеченного, для особей стерляди. А вот показатель длины хвоста кометы у особей стерляди оказался ниже, чем у русского осетра. Длина хвоста кометы указывает на размер фрагментов, образующихся в результате разрывов молекулы: чем длиннее хвост, тем меньше размеры фрагментов. То есть можно предположить, что при повреждении ДНК эритроцитов стерляди образовывались более крупные

фрагменты этих молекул, чем в эритроцитах русского осетра. Длина хвоста кометы у стерляди варьировала от 0 до 100 рх, у русского осетра от 0 до 42 рх.

Таблица 3. Показатели ДНК-комет эритроцитов особей русского осетра и стерляди в условиях садкового хозяйства, 2023 г.

Table 3. Indicators of DNA comets of erythrocytes of individuals of Russian sturgeon and Sterlet in cage farming conditions, 2023

| Показатели Index | Русский осетр Russian sturgeon | Стерлядь Sterlet |
|--------------------------------------|-----------------------------------|---------------------|
| Доля ДНК в хвосте, % / Tail DNA, % | 3,99±0,32* | 6,48±0,28* |
| Момент хвоста / Tail moment | 0,32±0,06 | 0,65±0,12 |
| Момент Оливе / Olive moment | 1,14±0,12* | 1,51±0,11* |
| Длина хвоста, пкс. / Tail length, px | 3,68±0,42* | 3,03±0,24* |

Примечание: * – различия статистически значимые при $p \leq 0,05$
Note: * – significance of differences $p \leq 0.05$

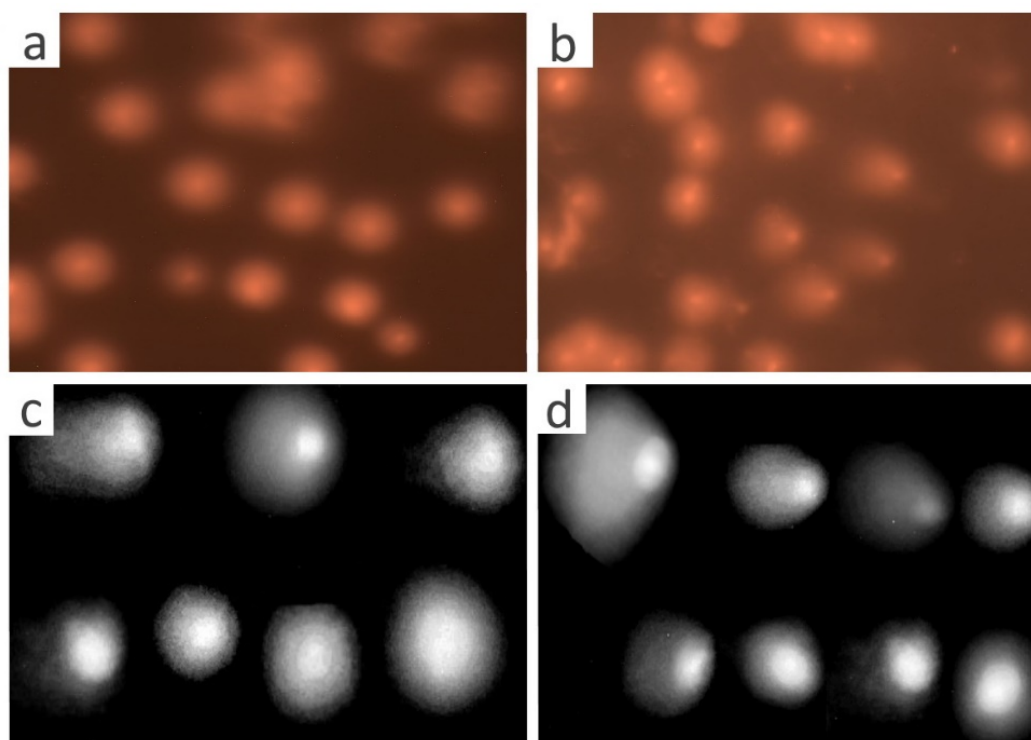


Рисунок 2. ДНК-кометы эритроцитов русского осетра (а, с) и стерляди (b, d) с разной степенью повреждения ДНК (в условиях садкового хозяйства, 2023 г.). Ув. 10x20 (а, b – изображения с микроскопа; с, d – изображения клеток крови при обработке в программе TriTek CometScore 2.0.0.3)

Figure 2. DNA comets of Russian sturgeon (a, c) and sterlet (b, d) erythrocytes with varying degrees of DNA damage (in cage farming conditions, 2023). Increase 10x20 (a, b – images from a microscope; c, d – images of blood cells when processed in the TriTek CometScore 2.0.0.3 program)

Таким образом, несмотря на то, что особи русского осетра и стерляди находятся в одних и тех же условиях садкового хозяйства и испытывают одинаковое по силе и степени воздействия негативное влияние загрязнения воды дельты Волги повреждения молекул ДНК эритроцитов этих рыб было достоверно различными. Следовательно, можно предположить, что механизмы репарации поврежденной ДНК у русского осетра в какой-то степени эффективнее и оперативнее, чем у стерляди.

В среднем показатели, полученные методом ДНК-комет, отражающее генотоксическое влияние внешней среды у изученных особей русского осетра и стерляди были на не высоком уровне, то есть оказались значительно ниже, по сравнению с тем, что можно наблюдать у видов рыб, подвергающихся токсическому воздействию и практически соответствовали данным

получаемых в эритроцитах рыб из нетронутых природных районов [12]. Marie-Laure Acolas с соавторами [35] изучая долю ДНК в хвосте кометы у европейского осетра (Франция) получили в среднем 2–4 % и охарактеризовали эти цифры как очень низкие. Ievgeniia Gazo с соавторами [15] изучая влияние генотоксикантов на молодь стерляди на ранних этапах развития в контрольных, то есть оптимальных искусственных условиях выращивания, получили значение доли ДНК в хвосте от 3,5 до 11 %.

Достоверные различия так же были обнаружены между гематологическими и биохимическими показателями крови русского осетра и стерляди, которые отображены в таблице 4. Уровень гемоглобина и количества эритроцитов у особей стерляди оказался значительно выше, чем у русского осетра, соответственно СОЭ у последних было выше. Показа-

тели белкового и углеводного обменов (общий белок, альбумин и глюкоза) у рыб двух этих видов оказались примерно на одном уровне, достоверно не отличались и соответствовали референсным значениям [36]. Изученные показатели липидного профиля сыворотки крови осетровых рыб (триглицериды, холестерин и β -липопротеиды) достоверно отличались, причем у русского осетра все они были ниже, чем у стерляди. Снижение содержания холестерина в крови часто происходит вследствие уменьшения кормовых объектов животного происхождения или в результате ухудшения работы печени. Триглицериды – основной источник энергии в клетки, при недостаточном питании

уровень этого показателя снижается [37]. У русского осетра этот показатель оказался в 2 раза ниже минимального референсного значения [38]. Макроэлементы кальций и фосфор указывают на работу различных гомеостатических механизмов в организме осетровых рыб, они необходимы для выработки энергии, регуляции работы почек, мышечной и нервной системы, а также для роста костей [39]. И в этом случае у русского осетра средние показатели этих биохимических компонентов были ниже, чем у стерляди, однако и у тех и у других рыб входили в пределы референсных значений и показателей здоровых рыб, выращиваемых в искусственных условиях [38; 40].

Таблица 4. Гематологические и биохимические показатели крови особей русского осетра и стерляди в условиях садкового хозяйства, 2023 г.

Table 4. Hematological and biochemical blood parameters of Russian sturgeon and Sterlet individuals in cage farming conditions, 2023

| Показатели / Index | Русский осетр Russian sturgeon | Стерлядь Sterlet |
|--|-----------------------------------|---------------------|
| Гемоглобин, г/л / Hemoglobin, g/l | 30,58±0,55* | 72,29±4,37* |
| СОЭ, мм/ч / ESR, mm/h | 5,60±1,69 | 2,89±0,37 |
| Общее количество эритроцитов, млн/мкл / Total number of erythrocytes, mln/ μ l | 0,54±0,09* | 1,52±0,11* |
| Общий белок, г/л / Total protein, g/l | 25,42±2,57 | 27,83±1,60 |
| Альбумин, г/л / Albumin, g/l | 12,80±1,32 | 16,69±1,31 |
| Глюкоза, ммоль/л / Glucose, mmol/l | 1,06±0,15 | 0,92±0,39 |
| Триглицериды, ммоль/л / Triglycerides, mmol/l | 1,84±1,44* | 7,19±0,93* |
| Холестерин, ммоль/л / Cholesterol, mmol/l | 1,24±0,32* | 2,99±0,29* |
| β -липопротеиды, г/л / β -lipoproteins, g/l | 0,71±0,43* | 1,24±0,27* |
| Фосфор, ммоль/л / Phosphorus, mmol/l | 2,62±0,23* | 3,86±0,28* |
| Кальций, ммоль/л / Calcium, mmol/l | 1,10±0,14* | 1,96±0,11* |
| Мочевина, ммоль/л / Urea, mmol/l | 1,52±0,32* | 0,92±0,14* |
| Мочевая кислота, мкмоль/л / Uric acid, μ mol/l | 55,82±8,68* | 31,64±4,55* |
| Активность АЛТ, Ед/л / ALT activity, U/l | 6,28±1,10* | 69,96±6,13* |
| Активность АСТ, Ед/л / AST activity, U/l | 152,52±11,11* | 99,01±8,39* |
| Активность ГГТ, Ед/л / GGT activity, U/l | 5,42±1,47 | 4,25±0,78 |
| Активность щелочной фосфатазы, Ед/л / Alkaline phosphatase activity, U/l | 289,64±31,08* | 158,62±18,81* |
| Активность ЛДГ, Ед/л / LDH activity, U/l | 488,12±51,01* | 880,92±42,66* |

Примечание: * – различия статистически значимые при $p \leq 0,05$ /
Note: * – significance of differences $p \leq 0,05$

Количество мочевины, конечного продукта азотистого обмена и катаболизма белков может использоваться в качестве индикатора для выявления метаболических нарушений. У русского осетра этот показатель был достоверно выше, чем у стерляди, но входил в пределы референсных значений [38]. Мочевая кислота у рыб в крови так же является конечным продуктом обмена (образуется в результате распада макроэргических соединений). Ранее было показано, что низкое содержание мочевой кислоты (на фоне высокого содержания аскорбиновой кислоты и нормального токоферола) образуют в крови рыб особую антиоксидантную защитную систему против перекисного окисления липидов [41]. Но у русского осетра этот показатель превысил референсные значения (3,57–38,66 мкмоль/л) [38].

Аминотрансферазы (АЛТ и АСТ) играют существенную роль в общем обмене веществ, способствуя единому течению белкового, липидного и углеводного обменов. Фермент ГГТ является мембраносвязанным и энергозависимым энзимом, транспортирующим аминокислоты и пептиды в клетки [36]. Уровень активности ЛДГ может отразить степень физической активности рыб и их роста, адаптационный

потенциал в том числе и к загрязнению водной среды [42]. У русского осетра отмечено достоверно более низкие показатели уровня АЛТ и ЛДГ, причем активность АЛТ была немного ниже референсного значения (12–137 Ед/л) [38]. Ферменты у рыб имеют довольно широкий диапазон значений и реактивно реагируют на различные стресс факторы. В общем в основном все изученные показатели активности ферментов крови у двух этих видов осетровых рыб входили в пределы референсных значений показателей здоровых рыб, выращиваемых в искусственных условиях [38; 40; 43].

В целом, совокупность изученных гематологических и биохимических показателей дает возможность оценить физиологическое состояние особей осетровых рыб – стерляди как нормальное, а русского осетра как удовлетворительное, в связи с выявленными отклонениями в значениях некоторых показателей.

Проведя корреляционный анализ между генотоксическими показателями, полученными методами микроядерного теста и ДНК-комет, а также общими биологическими, гематологическими и биохимическими показателями были получены некоторые достоверные средние и высокие коэффициента. У

русского осетра между количеством эритроцитов с МЯ и уровнем глюкозы в крови выявлена отрицательная взаимосвязь ($r=-0,92$, $p=0,01$). Между уровнем мочевины и моментом хвоста коэффициент корреляции составил $1,00$ ($p=0,01$), между величиной активности АЛТ, уровнем альбумина и длиной хвоста выявлен высокий уровень корреляции $r=1,00$ и $0,88$ соответственно ($p=0,01-0,03$). У стерляди обнаружена достоверная отрицательная взаимосвязь между количеством эритроцитов с МЯ и количеством эритроцитов $r=-0,49$ ($p=0,02$), а также положительная с количеством клеток с кариорексисом $r=0,50$ ($p=0,02$). Выявлена достоверная корреляция между количеством нейтрофильных метамиелоцитов ($r=-0,45$, $p=0,02$), моноцитов ($r=0,44$, $p=0,04$) и длиной хвоста кометы. Момент хвоста, момент Оливе и длина хвоста проявили взаимосвязь с эозинофильными метамиелоцитами ($r=0,49-0,54$, $p=0,01$). Так же выявлена достоверная корреляция между уровнем гемоглобина и долей ДНК в хвосте $r=0,54$ ($p=0,01$), между уровнем кальция и моментом Оливе $r=0,67$ ($p=0,04$). Между количеством эритроцитов с МЯ у особей стерляди, а также длиной хвоста и моментом Оливе выявлена положительная достоверная корреляция ($r=0,45$, $p=0,04$). Следовательно, учитывая полученные суммарные данные о взаимосвязи повреждения ДНК и показателей крови, для уменьшения генотоксических эффектов в организме осетровых рыб необходимо контролировать их физиологическое состояние, в том числе иммунитет. Так, например, уровень кальция, альбумина в крови возможно регулировать путем полноценного сбалансированного кормления.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, изучив влияние среды на особей осетровых рыб, содержащихся в условиях садковой аквакультуры в дельте Волги методами микроядерного и ДНК-комет тестов можно сделать вывод об отсутствии острого генотоксического влияния в момент проведения исследования, а к влиянию хронического воздействия токсикантов, постоянно присутствующих в водах дельты Волги геном изученных осетровых рыб достаточно устойчив. Эритроциты особей русского осетра характеризовались достоверно более низкими изученными генотоксическими показателями, чем эритроциты стерляди. Однако, как показали литературные данные даже в оптимальных условиях для стерляди характерны более широкий диапазон показателей, характеризующих повреждение ДНК в клетке. Общее физиологическое состояние русского осетра вызывает необходимость осуществления более тщательного контроля и применения реабилитационных мер. К тому же, применение таких мер вероятно снизит уровень повреждения ДНК, так как корреляционный анализ показал достоверную взаимосвязь некоторых биохимических компонентов крови, характеризующих здоровье рыб и показателей ДНК-комет.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00151 «Разработка и внедрение высокоточного метода прижизненной оценки генотоксических эффектов у объектов аквакультуры для своевременной коррекции их

физиологического состояния на основе применения микроядерного теста и теста ДНК-комет», <https://rscf.ru/project/23-26-00151/>.

ACKNOWLEDGMENT

The study was carried out within the framework of and with the financial support of the Russian Science Foundation grant № 23-26-00151 "Development and implementation of a high-precision method for intravital assessment of genotoxic effects in aquaculture objects for the timely correction of their physiological state based on the use of a micronucleus test and a DNA comet test", <https://rscf.ru/project/23-26-00151/>.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Васильева Л.М. Состояние осетроводства Нижнего Поволжья // Материалы Международного научного форума «Каспий XXI века: пути устойчивого развития», Астрахань, 19–20 февраля, 2020. Астрахань: Изд-во «Астраханский университет», 2020. С. 185–188.
2. Загрязняющие вещества в водах Волжско-Каспийского бассейна / Отв. ред. Бреховских В.Ф., Островская Е.В. Астрахань: Издатель Сорокин Р.В., 2017. 406 с.
3. Петреченкова В.Г., Радованова И.Г. Загрязнение устьевой области р. Волги // Водные ресурсы. 2020. Т. 47. N 2. С. 208–217. <https://doi.org/10.31857/S0321059620020121>
4. Li Y., Qu M., Sun L., Wu Y., Chen Y., Chen H., Kong Z., Liu Z. Genotoxicity study of phenol and o-cresol using the micronucleus test and the comet assay // Toxicological & environmental chemistry. 2005. V. 87. N 3. P. 365–372. <https://doi.org/10.1080/02772240500043264>
5. Vanzella T., Reis Martinez C., Colus I. Genotoxic and mutagenic effects of diesel oil water soluble fraction on a neotropical fish species // Mutation research. 2007. V. 631. N 1. P. 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2007.04.004>
6. Hussain B., Sultana T., Sultana S., Masoud M., Ahmed Z., Mahboob S. Fish eco-genotoxicology: Comet and micronucleus assay in fish erythrocytes as in situ biomarker of freshwater pollution // Saudi journal of biological sciences. 2018. V. 25. N 2. P. 393–398. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.11.048>
7. Bohne J., Catomen T. Genotoxicity in gene therapy: A report on vector integration and designer nucleases // Current opinion in molecular therapeutics. 2008. V. 10. N 3. P. 214–223.
8. Ревазова Ю.А., Илюшина Н.А. К вопросу о негенотоксических канцерогенах // Токсикологический вестник. 2021. Т. 29. N 4. С. 51–55. <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2021-29-4-51-55>
9. Kienzler A., Bony S., Devaux A. DNA repair activity in fish and interest in ecotoxicology. A review // Aquatic toxicology. 2013. V. 134–135. P. 47–56. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.03.005>
10. Hoesjmakers J. DNA repair mechanisms // Maturitas. 2001. V. 38. N 1. P. 17–23. [https://doi.org/10.1016/s0378-5122\(00\)00188-2](https://doi.org/10.1016/s0378-5122(00)00188-2)
11. Крысанов Е.Ю., Орджоникидзе К.Г., Симановский С.А. Цитогенетические индикаторы при оценке состояния окружающей среды // Онтогенез. Т. 49. N 1. 2018. С. 41–46. <https://doi.org/10.7868/S0475145018010056>
12. Frenzilli G., Nigro M., Lyons B. The Comet assay for the evaluation of genotoxic impact in aquatic environments //

- Mutation research. 2008. V. 681. P. 80–92. DOI: 10.1016/j.mrrev.2008.03.001
13. Bolognesi C., Hayashi M. Micronucleus assay in aquatic animals // *Mutagenesis*. 2011. V. 26. P. 205–213. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq073>
14. Vasquez M. Combining the in vivo comet and micronucleus assays: a practical approach to genotoxicity testing and data interpretation // *Mutagenesis*. 2010. V. 25. N 2. P. 187–199. <https://doi.org/10.1093/mutage/gep060>
15. Gazo I., Franěk R., Šindelka R., Lebeda I., Shivaramu S., Pšenička M., Steinbach C. Ancient sturgeons possess effective dna repair mechanisms: influence of model genotoxicants on embryo development of sterlet, *Acipenser ruthenus* // *International journal of molecular sciences*. 2021. V. 22. N 1. P. 1–6. <https://doi.org/10.3390/ijms22010006>
16. Singh N., McCoy M., Tice R., Schneider E. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells // *Experimental cell research*. 1988. V. 175. N 1. P. 184–191. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(88\)90265-0](https://doi.org/10.1016/0014-4827(88)90265-0)
17. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб (сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб). М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1983. 184 с.
18. Оценка генотоксических свойств методом ДНК-комет *in vitro*: Методические рекомендации. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011. 16 с.
19. Olive P., Banáth J. The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells // *Nature protocols*. 2006. V. 1. N 1. P. 23–29. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.5>
20. Житенева Л.Д. Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб. Ростов-на-Дону: Ростовское книжное издательство, 1989. 109 с.
21. Schmidt W. The micronucleus test // *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*. 1975. V. 31. N 1. P. 9–15. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(75\)90058-8](https://doi.org/10.1016/0165-1161(75)90058-8)
22. Mersh J., Beauvais M.N., Nagel P. Induction of micronuclei in haemocytes and gill cells of zebra mussels, *Dreissena polymorpha*, exposed to clastogens // *Mutation Research*. 1996. V. 371. P. 47–55. [https://doi.org/10.1016/s0165-1218\(96\)90093-2](https://doi.org/10.1016/s0165-1218(96)90093-2)
23. Крюков В.И. Анализ микроядер и ядерных аномалий в эритроцитах рыб, амфибий, рептилий и птиц: критерии выявления и типирования. Научно-методическое пособие. Красноярск: Научно-инновационный центр, 2023. 94 с. <https://doi.org/10.58351/230110.2023.91.54.003>
24. Vytyutskyy D., Kholodnyy V., Flajšhans M. 3-D structure, volume, and DNA content of erythrocyte nuclei of polyploid fish // *Cell Biology International*. 2014. V. 38. N 6. P. 708–715. <https://doi.org/10.1002/cbin.10247>
25. Лепилина И.Н., Романов А.А., Федорова Н.Н. Некоторые гематологические показатели стерляди в речной и морской периоды жизни // *Вестник Астраханского государственного технического университета*. 2006. N 3. С. 145–150.
26. Лепилина И.Н. Морфологический состав периферической крови предличинки осетровых // *Вестник Оренбургского государственного университета*. 2006. N 4(54). С. 101–105.
27. Серпунин Г.Г., Сементина Е.В., Савина Л.В. Характеристика крови стерляди разного возраста, выращиваемой в установке замкнутого водоснабжения // *Осетровое хозяйство*. 2009. N 3. С. 46–51.
28. Flajšhans M., Psenicka M., Rodina M., Tesitel J. Image cytometric measurements of diploid, triploid and tetraploid fish erythrocytes in blood smears reflect the true dimensions of live cells // *Cell Biol. Intern*. 2011. V. 35. P. 67–71. <https://doi.org/10.1042/CBI20100198>
29. Ballarin L., Dall'oro M., Bertotto D., Libertini A., Francescon A., Barbaro A. Haematological parameters in *Umbra cirrosa* (Teleostei, Sciaenidae): a comparison between diploid and triploid specimens // *Comp. Biochem. Physiol. A*. 2004. V. 138. P. 45–51. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2004.02.019>
30. Bickham J.W., Rowe G.T., Palatnikov G., Mekhtiev A., Mekhtiev M., Kasimov R.Y., Hauschultz D. W., Wickliffe J.K., Rogers W.J. Acute and genotoxic effects of baku harbor sediment on russian sturgeon, *acipenser guildensteidti* // *Bulletin of environmental contamination and toxicology*. 1998. V. 61. P. 512–518. <https://doi.org/10.1007/s001289900792>
31. Ильинских Н.Н., Ильинских И.Н., Некрасов В.Н. Использование микроядерного теста в скрининге и мониторинге мутагенов // *Цитология и генетика*. 1988. T. 22. N 7. С. 67–72.
32. Ильинских Н.Н., Новицкий В.В., Ванчугова Н.Н., Ильинских И.Н. Микроядерный анализ и цитогенетическая нестабильность. Томск: Издательство Томского Университета, 1992. 272 с.
33. Olive P., Banáth J. Induction and rejoining of radiation-induced DNA single-strand breaks: «tail moment» as a function of position in the cell cycle // *Mutation research*. 1993. V. 294. N 3. P. 275–283. [https://doi.org/10.1016/0921-8777\(93\)90010-e](https://doi.org/10.1016/0921-8777(93)90010-e)
34. Стяжкина Е.В., Обвинцева Н.А., Шапошникова И.А., Тряпицына Г.А., Стукалов П.М., Пряхин Е.А. Оценка уровня повреждения и репарации ядерной ДНК у плотвы (*Rutilus rutilus* L.) из водоемов с разным уровнем радиоактивного загрязнения // *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2012. T. 52. N 2. С. 198–206.
35. Acolas M., Davail B., Gonzalez P., Jean S., Clérandeau C., Morin B., Gourves P., Daffe G., Labadie P., Perrault A., Lauzent M., Pierre M., Le Barh R., Baudrimont M., Peluhet L., Le Menach K., Budzinski H., Rochard E., Cachot J. Health indicators and contaminant levels of a critically endangered species in the Gironde estuary, the sturgeon // *Environmental science and pollution research*. 2020. V. 27. N 4. P. 3726–3745. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05139-5>
36. Пронина Г.И., Корягина Н.Ю. Референсные значения физиолого-иммунологических показателей гидробионтов разных видов // *Вестник АГТУ. Серия Рыбное хозяйство*. 2015. N 4. С. 103–108.
37. Войкина А.В., Сергеева С.Г., Лисовская В.В., Жарынина И.И. Некоторые биохимические показатели сыворотки крови пиленгаса *Planiliza haematocheila* (Temminck & Schlegel, 1845) Азовского моря в 2019 // *Материалы II Международной научно-практической конференции «Биологическое разнообразие: изучение, сохранение, восстановление, рациональное использование»*, Керчь, 27–30 мая, 2020. Керчь: ООО «Издательство типография «Ариал», 2020. С. 274–278.
38. Cassel S.E., Yanong R.P.E., Pouder D.B., Rodriguez C., Mylniczenko N., Thompson P.M., Stilwell N.K., Heym K.J., Harmon T., Stacy N.I. Reference intervals for blood analytes

- of adult aquarium-housed russian sturgeon *Acipenser gueldenstaedtii* // *Journal of aquatic animal health*. 2021. V. 33. N 1. P. 33–43. <https://doi.org/10.1002/aah.10116>
39. Lall S., Hardy R., Kaushik S. Fish nutrition (fourth edition). Academic Press. 2022. P. 469–554. <https://doi.org/10.1016/C2018-0-03211-9>
40. Bavi Z., Zakeri M., Mousavi S., Yavari V. Effects of dietary taurine on growth, body composition, blood parameters, and enzyme activities of juvenile sterlet (*acipenser ruthenus*) // *Aquaculture nutrition*. 2022. V. 2022. Article ID: 1713687. <https://doi.org/10.1155/2022/1713687>
41. Xue C., Yu G., Hirata T., Sakaguchi M., Terao J. Antioxidative Activity of Carp Blood Plasma on Lipid Peroxidation // *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*. 1998. V. 62. N 2. P. 201–205. <https://doi.org/10.1271/bbb.62.201>
42. Гераскин П.П., Металлов Г.Ф., Аксенов В.П., Дубовская А.В., Файзулина Д.Р., Галактионова М.Л. Использование биологических индикаторов для оценки загрязненности морской среды в районах расположения ликвидированных поисково-разведочных скважин // *Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе*. 2009. N 9. С. 55–58.
43. Мирошникова Е.П., Аринжанов А.Е., Киякова Ю.В., Мирошникова М.С., Маленкина К.А., Мирошников И.С. Гематологические параметры молоди стерляди на фоне совместного использования культуры *Bacillus subtilis* и наночастиц сплава Cu-Zn // *Животноводство и кормопроизводство*. 2018. N 3. С. 100–109.
- REFERENCES**
- Vasil'eva L.M. Sostoyanie osetrovodstva Nizhnego Povolzh'ya [State of sturgeon farming in the Lower Volga region]. *Materialy Mezhdunarodnogo nauchnogo foruma «Kaspii XXI veka: puti ustoychivogo razvitiya», Astrakhan', 19–20 fevralya 2020* [Materials of the International Scientific Forum “Caspian Sea of the XXI century: ways of sustainable development”, Astrakhan, 19–20 February 2020]. Astrakhan', Astrakhanskii universitet Publ., 2020, pp. 185–188 (In Russian)
 - Brekhovskikh V.F., Ostrovskaya E.V., eds. *Zagryaznyayushchie veshchestva v vodakh Volzhsko-Kaspiiskogo basseina* [Pollutants in the waters of the Volga-Caspian basin]. Astrakhan, Sorokin R.V. Publ., 2017, 406 p. (In Russian)
 - Petrenchenkova V.G., Radovanova I.G. Pollution of the mouth area of the river. Volga. *Water resources*, 2020, vol. 47, no. 2, pp. 208–217. (In Russian) <https://doi.org/10.31857/S0321059620020121>
 - Li Y., Qu M., Sun L., Wu Y., Chen Y., Chen H., Kong Z., Liu Z. Genotoxicity study of phenol and o-cresol using the micronucleus test and the comet assay. *Toxicological & environmental chemistry*, 2005, vol. 87, no. 3, pp. 365–372. <https://doi.org/10.1080/02772240500043264>
 - Vanzella T., Reis Martinez C., Colus I. Genotoxic and mutagenic effects of diesel oil water soluble fraction on a neotropical fish species. *Mutation research*, 2007, vol. 631, no. 1, pp. 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2007.04.004>
 - Hussain B., Sultana T., Sultana S., Masoud M., Ahmed Z., Mahboob S. Fish eco-genotoxicology: Comet and micronucleus assay in fish erythrocytes as in situ biomarker of freshwater pollution. *Saudi journal of biological sciences*, 2018, vol. 25, no. 2, pp. 393–398. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.11.048>
 - Bohne J., Catomen T. Genotoxicity in gene therapy: A report on vector integration and designer nucleases. *Current opinion in molecular therapeutics*, 2008, vol. 10, no. 3, pp. 214–223.
 - Revazova Yu.A., Ilyushina N.A. On the issue of non-genotoxic carcinogens. *Toxicological Bulletin*, 2021, vol. 29, no. 4, pp. 51–55. (In Russian) <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2021-29-4-51-55>
 - Kienzler A., Bony S., Devaux A. DNA repair activity in fish and interest in ecotoxicology. A review. *Aquatic toxicology*, 2013, vol. 134–135, pp. 47–56. DOI: 10.1016/j.aquatox.2013.03.005
 - Hoeijmakers J. DNA repair mechanisms. *Maturitas*, 2001, vol. 38, no. 1, pp. 17–23. [https://doi.org/10.1016/s0378-5122\(00\)00188-2](https://doi.org/10.1016/s0378-5122(00)00188-2)
 - Krysanov E.Yu., Ordzhonikidze K.G., Cytogenetic indicators in assessing the state of the environment. *Ontogenesis*, 2018, vol. 49, no. 1, pp. 41–46. (In Russian) <https://doi.org/10.7868/S0475145018010056>
 - Frenzilli G., Nigro M., Lyons B. The Comet assay for the evaluation of genotoxic impact in aquatic environments. *Mutation research*, 2008, vol. 681, pp. 80–92. DOI: 10.1016/j.mrrrev.2008.03.001
 - Bolognesi C., Hayashi M. Micronucleus assay in aquatic animals. *Mutagenesis*, 2011, vol. 26, pp. 205–213. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq073>
 - Vasquez M. Combining the in vivo comet and micronucleus assays: a practical approach to genotoxicity testing and data interpretation. *Mutagenesis*, 2010, vol. 25, no. 2, pp. 187–199. <https://doi.org/10.1093/mutage/gep060>
 - Gazo I., Franěk R., Šindelka R., Lebeda I., Shivaramu S., Pšenička M., Steinbach C. Ancient sturgeons possess effective dna repair mechanisms: influence of model genotoxicants on embryo development of sterlet, *Acipenser ruthenus*. *International journal of molecular sciences*, 2021, vol. 22, no. 1, pp. 1–6. <https://doi.org/10.3390/ijms22010006>
 - Singh N., McCoy M., Tice R., Schneider E. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental cell research*, 1988, vol. 175, no. 1, pp. 184–191. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(88\)90265-0](https://doi.org/10.1016/0014-4827(88)90265-0)
 - Ivanova N.T. *Atlas kletok krovi ryb (sravnitel'naya morfologiya i klassifikatsiya formennykh elementov krovi ryb)* [Atlas of fish blood cells (comparative morphology and classification of the formed elements of fish blood)]. Moscow, Light and food industry Publ., 1983, 184 p. (In Russian)
 - Otsenka genotoksicheskikh svoystv metodom DNK-komet in vitro: Metodicheskie rekomendatsii* [Assessment of genotoxic properties by the DNA comet method in vitro: Methodological recommendations]. Moscow, Federal Center for Hygiene and Epidemiology Rospotrebnadzor Publ., 2011, 16 p. (In Russian)
 - Olive P., Banáth J. The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells. *Nature protocols*, 2006, vol. 1, no. 1, pp. 23–29. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.5>
 - Zhiteneva L.D. *Atlas normal'nykh i patologicheskii izmenennykh kletok krovi ryb* [Atlas of normal and pathologically altered fish blood cells]. Rostov-on-Don, Rostov Book Publ., 1989, 109 p. (In Russian)
 - Schmidt W. The micronucleus test. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related*

- Subjects*, 1975, vol. 31, no. 1, pp. 9–15.
[https://doi.org/10.1016/0165-1161\(75\)90058-8](https://doi.org/10.1016/0165-1161(75)90058-8)
22. Merish J., Beauvais M.N., Nagel P. Induction of micronuclei in haemocytes and gill cells of zebra mussels, *Dreissena polymorpha*, exposed to clastogens. *Mutation Research*, 1996, vol. 371, pp. 47–55.
[https://doi.org/10.1016/s0165-1218\(96\)90093-2](https://doi.org/10.1016/s0165-1218(96)90093-2)
23. Kryukov V.I. *Analiz mikroyader i yadernykh anomalii v eritrotsitakh ryb, amfibii, reptilii i ptits: kriterii vyyavleniya i tipirovaniya* [Analysis of micronuclei and nuclear abnormalities in the erythrocytes of fish, amphibians, reptiles and birds: criteria for detection and typing]. Krasnoyarsk, Research and Innovation Center Publ., 2023. 94 p. (In Russian)
<https://doi.org/10.58351/230110.2023.91.54.003>
24. Bytutsky D., Kholodny V., Flajshans M. 3-D structure, volume, and DNA content of erythrocyte nuclei of polyploid fish. *Cell Biology International*, 2014, vol. 38, no. 6, pp. 708–715. <https://doi.org/10.1002/cbin.10247>
25. Lepilina I.N., Romanov A.A., Fedorova N.N. Some hematological parameters of sterlet in the river and sea periods of life. *Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta* [Bulletin of the Astrakhan State University]. 2006, no. 3, pp. 145–150. (In Russian)
26. Lepilina I.N. Morphological composition of the peripheral blood of sturgeon prelarvae. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta* [Bulletin of the Orenburg State University]. 2006, no. 4(54), pp. 101–105. (In Russian)
27. Serpunin G.G., Sementina E.V., Savina L.V. Characteristics of the blood of sterlet of different ages grown in a closed water supply system. *Osetrovoe khozyaistvo* [Sturgeon farming]. 2009, no. 3, pp. 46–51. (In Russian)
28. Flajshans M., Psenicka M., Rodina M., Tesitel J. Image cytometric measurements of diploid, triploid and tetraploid fish erythrocytes in blood smears reflect the true dimensions of live cells. *Cell Biology International*, 2011, vol. 35, pp. 67–71. <https://doi.org/10.1042/CBI20100198>
29. Ballarin L., Dall'oro M., Bertotto D., Libertini A., Francescon A., Barbaro A. Haematological parameters in *Umbrina cirrosa* (Teleostei, Sciaenidae): a comparison between diploid and triploid specimens. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2004, vol. 138, pp. 45–51. DOI: [10.1016/j.cbpa.2004.02.019](https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2004.02.019)
30. Bickham J.W., Rowe G.T., Palatnikov G., Mekhtiev A., Mekhtiev M., Kasimov R.Y., Hauschultz D.W., Wickliffe J.K., Rogers W.J. Acute and genotoxic effects of baku harbor sediment on russian sturgeon, *acipenser guildensteidti*. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 1998, vol. 61, pp. 512–518.
<https://doi.org/10.1007/s001289900792>
31. Il'inskikh N.N., Il'inskikh I.N., Nekrasov V.N. The use of micronucleus test in screening and monitoring of mutagens. *Tsitologiya i genetika* [Cytology and Genetics]. 1988, vol. 22, no. 7, pp. 67–72. (In Russian)
32. Il'inskikh N.N., Novitskii V.V., Vanchugova N.N., Il'inskikh I.N. *Mikroyadernyi analiz i tsitogeneticheskaya nestabil'nost'* [Micronucleus analysis and cytogenetic instability]. Tomsk, Tomsk University Publ., 1992, 272 p. (In Russian)
33. Olive P., Banáth J. Induction and rejoining of radiation-induced DNA single-strand breaks: «tail moment» as a function of position in the cell cycle. *Mutation research*, 1993, vol. 294, no. 3, pp. 275–283.
[https://doi.org/10.1016/0921-8777\(93\)90010-e](https://doi.org/10.1016/0921-8777(93)90010-e)
34. Styazhkina E.V., Obvintseva N.A., Shaposhnikova I.A., Tryapitsyna G.A., Stukalov P.M., Pryakhin E.A. Assessment of the level of damage and repair of nuclear DNA in roach (*Rutilus rutilus* L.) from water bodies with different levels of radioactive contamination. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya* [Radiation Biology. Radioecology]. 2012, vol. 52, no. 2, pp. 198–206. (In Russian)
35. Acolas M., Davail B., Gonzalez P., Jean S., Clérandeau C., Morin B., Gourves P., Daffe G., Labadie P., Perrault A., Lauzent M., Pierre M., Le Barh R., Baudrimont M., Peluhet L., Le Menach K., Budzinski H., Rochard E., Cachot J. Health indicators and contaminant levels of a critically endangered species in the Gironde estuary, the sturgeon. *Environmental science and pollution research*, 2020, vol. 27, no. 4, pp. 3726–3745. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05139-5>
36. Pronina G.I., Koryagina N.Yu. Reference values of physiological and immunological parameters of hydrobionts of different species. *Vestnik AGTU. Seriya Rybnoe khozyaistvo* [Vestnik ASTU. Series Fisheries]. 2015, no. 4, pp. 103–108. (In Russian)
37. Voikina A.V., Sergeeva S.G., Lisovskaya V.V., Zharynina I.I. Nekotorye biokhimicheskie pokazateli syvorotki krovi pilengasa *Planiliza haematocheila* (Temminck & Schlegel, 1845) *Azovskogo morya v 2019* [Some biochemical parameters of the blood serum of the *planiliza haematocheila* (Temminck & Schlegel, 1845) of the Azov Sea in 2019]. *Materialy II Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii «Biologicheskoe raznoobrazie: izuchenie, sokhranenie, vosstanovlenie, ratsional'noe ispol'zovanie», Kerch', 27–30 maya 2020* [Materials of the II International Scientific and Practical Conference “Biological Diversity: Study, Conservation, Restoration, Rational Use”, Kerch, 27–30 May 2020]. Kerch', Arial Publ., 2020, pp. 274–278 (In Russian)
38. Cassel S.E., Yanong R.P.E., Pouder D.B., Rodriguez C., Mylniczenko N., Thompson P.M., Stilwell N.K., Heym K.J., Harmon T., Stacy N.I. Reference intervals for blood analytes of adult aquarium-housed russian sturgeon *Acipenser gueldenstaedtii*. *Journal of aquatic animal health*, 2021, vol. 33, no. 1, pp. 33–43.
<https://doi.org/10.1002/aah.10116>
39. Lall S., Hardy R., Kaushik S. *Fish nutrition* (fourth edition). Academic Press, 2022, pp. 469–554.
<https://doi.org/10.1016/C2018-0-03211-9>
40. Bavi Z., Zakeri M., Mousavi S., Yavari V. Effects of dietary taurine on growth, body composition, blood parameters, and enzyme activities of juvenile sterlet (*acipenser ruthenus*). *Aquaculture nutrition*, 2022, vol. 2022, article id: 1713687.
<https://doi.org/10.1155/2022/1713687>
41. Xue C., Yu G., Hirata T., Sakaguchi M., Terao J. Antioxidative Activity of Carp Blood Plasma on Lipid Peroxidation. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 1998, vol. 62, no. 2, pp. 201–205. <https://doi.org/10.1271/bbb.62.201>
42. Geraskin P.P., Metallov G.F., Aksenov V.P., Dubovskaya A.V., Faizulina D.R., Galaktionova M.L. The use of biological indicators to assess marine pollution in the areas where abandoned exploration wells are located. *Zashchita okruzhayushchei sredy v neftegazovom komplekse* [Environmental Protection in the Oil and Gas Complex]. 2009, no. 9, pp. 55–58. (In Russian)

43. Miroshnikova E.P., Arinzhanov A.E., Kilyakova Yu.V., Miroshnikova M.S., Malenkina K.A., Miroshnikov I.S. Hematological parameters of juvenile sterlet against the background of the combined use of *Bacillus subtilis* culture

and alloy nanoparticles Cu-Zn. *Zhivotnovodstvo i kormoproizvodstvo* [Animal husbandry and feed production]. 2018, no. 3, pp. 100–109. (In Russian)

КРИТЕРИИ АВТОРСТВА

Все авторы в равной степени участвовали в написании рукописи и несут ответственность при обнаружении плагиата, самоплагиата или других неэтических проблем.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

All authors are equally participated in the writing of the manuscript and are responsible for plagiarism, self-plagiarism and other ethical transgressions.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

NO CONFLICT OF INTEREST DECLARATION

The authors declare no conflict of interest.

ORCID

Анна В. Конькова / Anna V. Konkova <https://orcid.org/0000-0003-4957-2969>

Дина Р. Файзулина / Dina R. Faizulina <https://orcid.org/0000-0001-6789-6102>

Юлия М. Ширина / Yulia M. Shirina <https://orcid.org/0000-0001-6459-5435>

Иван А. Богатов / Ivan A. Bogatov <https://orcid.org/0000-0002-5739-1538>