

УДК 597 : 615.9

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ КАРБОФОСА
НА ГОДОВИКОВ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РЫБВ.А.Прокопенко, Л.Д.Житенева,
Н.П.Сокольская, Т.И.Калужная,
В.П.Завгородняя, Л.Н.Исаева

Широкое применение химических средств защиты растений неизбежно приводит к попаданию ядохимикатов в рыбохозяйственные водоемы. Особенно часто пестициды присутствуют в воде прудовых хозяйств наиболее развитой южной сельскохозяйственной зоны. Кроме того, иногда практикуется профилактическая обработка прудов карбофосом. Поэтому возникла необходимость изучить действие токсикантов на организм рыб. Было установлено, что реакция рыб разных видов на присутствующие в воде токсины неодинакова (Лукьяненко, Флеров, 1965; Попова, 1970а, б; Житенева, Сокольская, Калужная, 1974). Цель наших ихтиотоксикологических исследований заключалась в выявлении видовой чувствительности рыб к карбофосу. Без таких исследований невозможно рациональное использование ядохимикатов для профилактики и лечения рыб от многих паразитарных заболеваний.

Карбофос-0,0-диметил- S - (1,2-дихлорэтоксиэтил) дитиофосфат - широко распространенный фосфорорганический препарат, применяемый в сельском хозяйстве, рыбоводстве и лесоводстве. В опытах использовали технический 30%-ный препарат в пределах концентраций от 0,005 до 0,5 мг/л активно действующего начала.

Тестобъектами служили годовики наиболее распространенных видов прудовых рыб - карпа, белого толстолобика и бестера. Применяли гематологические, биохимические и гистологические методы исследования. Плотность посадки в экспериментальных емкостях - 2 экз./л. В опыты брали по 70 экз. рыб каждого вида. Сроки экспозиции - от 1 до 3 суток.

Первые сутки. В растворе карбофоса концентрацией 0,5 мг/л отход бестера начался уже через семь минут после начала опыта, а через два часа все рыбы погибли. Гистологический анализ печени рыб показал расширение и кровенаполнение всех центральных и междольковых вен и венозных капилляров. Обнаружены некротические участки, характеризующиеся карioreксисом ядер печеночных клеток и резким уплотнением цитоплазмы. Выявлены инфильтраты, состоящие из клеток лимфоидного типа, эозинофильных лейкоцитов; в этой же зоне местами границы печеночных клеток неразличимы, многие из них распались. В почках произошел отек сосудистых клубочков, между их петлями — скопление эритроцитов. Отмечены дистрофические изменения почечных канальцев, выраженные в увеличении клеток, вакуолизации их цитоплазмы и увеличении ядер, зафиксировано много безъядерных клеток, часть которых распалась, превратившись в бесформенную массу.

Гибель белого толстолобика в растворе этой концентрации началась через 3 ч. Каких-либо изменений во внутренних органах рыб за это время обнаружить не удалось. Лейкоцитарная формула была близка к контрольной. Тем не менее в клетках крови появились признаки некроза (ядра эритроцитов в состоянии пикноза и карioreксиса). Часто встречались эритроциты, близкие к гемолизу, некоторые из них — безъядерные. Наблюдалась агглютинация лейкоцитов и тромбоцитов. К концу суток все рыбы погибли. К этому времени на теле и у основания грудных и спинного плавников появились точечные кровоизлияния. Внутренние органы (передний отдел кишечника и печень) гиперемировались. Произошли изменения и в лейкоцитарной формуле. Содержание полиморфоядерных лейкоцитов повысилось с 13 до 24%, нейтрофилов — с 0,5 до 2,6%. Ядра в эритроцитах деградировали и распадались. Как в красной, так и в белой крови встречались клетки с вакуолизированными ядрами и цитоплазмой.

Реакция карпа на концентрацию карбофоса 0,5 мг/л представляет особый интерес. Беспокоевое движение через 40 мин. пребывания в растворе сменилось вялостью, отдельные особи приняли боковое положение, и уже к концу первого часа начался отход рыбы. Жаберные лепестки стали темно-фиолетовыми. Через два часа в периферической крови произошли значительные изменения. Появилось много молодых форм белой крови (лимфо-

и лейкобластов), содержание полиморфноядерных лейкоцитов резко колебалось (9-26%). Наблюдались фестончатость эритроцитов и смещение ядер. Печень стала анемичной, паренхима ее уплотнилась, что привело к спаду венозных капилляров. В сыворотке крови снизилось содержание белка (с 9 до 4 мг%). Отмечено также резкое снижение в крови уровня сахара (с 70 до 4%), что, вероятно, связано с инактивацией фермента фосфоорилазы, вызывающей мобилизацию гликогена. В результате дистрофического изменения эпителия почечных канальцев просветы их заполнились отмершими клетками. Местами клетки его лишились связей, сильно скались, цитоплазма их вакуолизировалась. Сосудистые клубочки очень сильно отекали, селезенка наполнилась кровью. Между скоплениями ретикулогистиоцитов оказалось большое количество пигмента коричневатого-желтого цвета (цероида). К концу третьего часа все рыбы погибли.

В растворе карбофоса концентрацией 0,05 мг/л бестер концентрировался у дна аквариума. Отход его начался через два часа. Анализ отсавшихся в живых особей показал, что в печени начались дистрофические изменения и произошло нарушение кровообращения, выразившееся в гиперемии и медких диапедезных кровоизлияниях. Печеночные клетки набухли, приняли округлую форму, границы между ними сгладились. В слабоокрашенной цитоплазме просматривались мелкие и крупные вакуоли, содержащие жир. Сосудистые клубочки в почках отекали, просветы капсул Шумлянского заполнились однородной массой, в которой отчетливо различались отдельные клетки. Границы эпителиальных клеток почечных канальцев были размыты, отдельные клетки без ядер сильно увеличены и слабо окрашены. Появились некротические зоны с большим числом клеток лимфоидного типа. Содержание белка в сыворотке крови повысилось с 1,9 до 2,2 г%, тогда как содержание в ней сахара снизилось до едва уловимых следов. Кровь свертывалась настолько быстро, что сделать мазки не удалось. Через пять часов все рыбы погибли.

Белый толстолобик жил в растворе этой концентрации в течение суток и внешне ничем не отличался от контрольных рыб. Вскрытия, сделанные через 20 ч. после начала опыта, обнаружили на стенках кишечника и печени рыб точечные кровоизлияния. На мазках крови было много деградирующих эритроцитов. Количество молодых клеток, представленных полихроматофильными формами, не превышало 2,3%. Одновременно с этим участились случаи

амитотического деления клеток красной крови. В белой крови оказалось много лимфо- и лейкобластов; лейкоцитарная формула осталась близкой к контрольной.

Карп при погружении в раствор концентрацией 0,05 мг/л держался у поверхности. За первый день опыта отход его составил 20%. В конце суток контуры многих эритроцитов стали фестончатыми, ядра сместились и начали распадаться, в результате патологических амитозов появились безъядерные осколки цитоплазмы. Патологическое деление было характерно и для клеток белой крови. Количество полиморфноядерных лейкоцитов увеличилось до 15,5%, эозинофилов (за счет появления молодых форм) — до 26%. Цитоплазма в клетках красной и белой крови вакуолизировалась. Четко проявились патологические изменения в печени: клетки ее набухли и приняли округлую форму; расширились и наполнились кровью венозные капилляры. Уровень гликогена повысился с 5 до 20 мг%, содержание сахара в сыворотке возросло с 14 до 67%, количество общего белка уменьшилось с 5 до 2,8 мг%. В почках отмечены увеличение просветов капсул Шумлянско-го и дистрофия некоторых канальцев. В селезенке увеличилось количество пигментированных ретикулогистиоцитов.

В растворе карбофоса самой низкой концентрации — 0,005 мг/л — изменений в поведении рыб всех трех видов не наблюдалось, в течение первых суток ни одна рыба не погибла. Более глубокие анализы показали, что у бестера в периферической крови произошло увеличение размеров части эритроцитов (с 8 x II до 16 x 25 мкм) и они находились в предгеолизном состоянии. Значительная доля молодых форм эритроцитов (5,9%) свидетельствовала об активности эритропоэза. Размеры полиморфноядерных лейкоцитов и эозинофилов уменьшились (с 8,5–10,5 до 5,5–7,0 мкм и с 10–13 до 7–9 мкм соответственно). Доля полиморфноядерных лейкоцитов возросла в среднем до 19,5% (при значительных индивидуальных колебаниях — от 8,5 до 30%). Наблюдалось дистрофическое изменение почечной паренхимы. В межабулярных просветах обнаружены инфильтраты из гистиоцитов, нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитов. При резко выраженной жировой дистрофии ядра многих клеток печени с незначительным остатком цитоплазмы сдвинулись к периферии и находились в состоянии пикноза и лизиса. Содержание гликогена в печени было стабильным — 1,5 мг%, количество сахара в сыворотке крови уменьшилось с 30 до 5–10 мг%. Уровень белка в

крови снизился с 1,9 до 0,9 г%. В отдельных участках почечных канальцев между клетками эпителия исчезли границы, цитоплазма этих клеток вакуолизировалась.

У некоторых особей белого толстолобика отмечалась гиперемия переднего отдела кишечника. В периферической крови появилось большое количество молодых форм эритроцитов и лейкоцитов. Лейкоцитарная формула не отличалась от контрольной, хотя наблюдались индивидуальные колебания в содержании полиморфноядерных лейкоцитов (4 - 24,5%). Значительных изменений в морфологии крови не обнаружено.

У карпа лейкоцитарная формула также была близка к контрольной. Изредка на мазках встречались ядерные тени. В отдельных эритроцитах сместились ядра и началась вакуолизация цитоплазмы. В печени капилляры расширились и наполнились кровью. Содержание гликогена в печени и сахара в сыворотке крови увеличилось соответственно от 5 до 40 мг% и от 14 до 16 мг%. Наблюдалось некоторое снижение количества белка в сыворотке крови - с 5 до 3,4 мг%. В почках произошли патологические изменения, заключающиеся в расширении сосудистых клубочков и гипертрофии интерстициальной ткани, в которой были видны глыбки цероида.

В т о р ы е и т р е т ь и с у т к и. В растворе карбофоса концентрацией 0,5 мг/л к концу первых суток все подопытные рыбы погибли, поэтому в дальнейшем продолжались исследования особей, содержащихся в растворах более низких концентраций. В растворе 0,05 мг/л к началу вторых суток в живых остались только белый толстолобик и карп.

У белого толстолобика к концу опыта появились кровоизлияния по всему кишечнику и печени, которая стала дряблой, анемичной и приобрела бледно-глинистый оттенок. Усилились патологические изменения в клетках красной крови. Ядра в эритроцитах деградировали, лизировали. Вакуолизация ядра и цитоплазмы лейкоцитов и эритроцитов была ярко выражена. Количество полиморфноядерных лейкоцитов повысилось с 8,5 до 16,6%, а нейтрофилов - с 0,5 до 2,2%.

У карпа отмечена гиперемия почек. Местами в них наблюдались точечные кровоизлияния. Процесс свертывания крови ускорился. Расширился спектр патологических изменений в клетках крови. Ядра лейкоцитов были гиперсегментированы, лизиро-

ваны. Гемолиз эритроцитов принял массовый характер (местами в поле зрения - сплошные участки ядерных теней). Там, где клетки еще сохранились, ядра приняли поперечное положение, сместились и находились в состоянии карioreкcиса. Встречалось много делящихся эритроцитов. Количество нейтрофилов по сравнению с первыми сутками вновь снизилось с 5,2 до 1,7%. Количество полиморфноядерных лейкоцитов осталось большим - 15,4%. В печени усилилась гиперемия мелких сосудов, просветы которых были заполнены бесформенной массой гемолизированных эритроцитов. Местами наблюдалась зернистая дистрофия печеночных клеток. В печени произошла некоторая мобилизация гликогена (количество его снизилось до 2 мг%), что, вероятно, привело к повышению концентрации сахара в сыворотке крови до 82%. Количество белка по сравнению с первыми сутками повысилось. В почках резко расширилась полость сосудистых клубочков, местами нарушилась структура почечных канальцев. Интерстициальная ткань была сильно гипертрофирована. Исчезли грани между почечными канальцами и соединительной тканью.

В растворе карбофоса концентрацией 0,005 мг/л у бестера к концу опыта эритропоэз почти прекратился. Доля ортохромных эритроцитов возросла с 94,1 (в первые сутки опыта) до 99%. В периферическом русле уменьшилось количество патологически измененных клеток. Очищению крови от них способствовало увеличение числа фагоцитирующих форм. Доля полиморфноядерных лейкоцитов возросла до 30%. Гистологический анализ печени показал мозаичность ее структуры. Среди нормальных темноокрашенных клеток ее встречались крупные с "пенистой" цитоплазмой. Ядра лизировали или находились в состоянии карioreкcиса. Венозные капилляры расширились и наполнились кровью. Вокруг крупных сосудов появились некротические зоны с инфильтратами, состоящими из различных форменных элементов белой крови. Часто среди печеночных клеток можно было видеть глыбки желтого цвета. Количество гликогена в печени и белка в сыворотке крови к концу опыта оставалось на том же уровне, что и в первые сутки, в то время как уровень сахара достиг 40,5%. В почках наблюдалась вакуолизация эпителиальных клеток почечных канальцев (как цитоплазмы, так и ядер).

У белого толстолобика патоморфологические изменения клеток крови были слабо выражены и остались в основном в пределах нарушений, происшедших в первые сутки. Тем не менее на-

блюдались спад эритропоеза и вакуолизация цитоплазмы эритроцитов. У единичных особей отмечались незначительные точечные кровоизлияния в печени.

У карпа к концу опыта патологические изменения в крови усилились. Эритроциты и лейкоциты оказались с вакуолизированной цитоплазмой. Большинство эритроцитов имело фестончатые контуры. В печени, помимо гиперемии мелких сосудов, выявлены случаи диапедезного кровоизлияния. Гликоген в печени снизился до 4 мг%, в то время как уровень сахара в сыворотке крови достиг 4г%. Содержание белка несколько снизилось (до 2,5 г%). В почках по-прежнему отмечались расширение и отек сосудистых клубочков. В сильно гипертрофированную интерстициальную ткань были вкраплены глыбки желтоватого пигмента (цериода).

К концу опыта не использованные для анализов особи бестера, белого толстолобика и карпа остались живыми.

Таким образом, карбофос в пределах изучаемых концентраций, действуя на годовиков рыб разных видов, вызывает в их организме различные изменения, усиливающиеся с повышением концентраций препарата и увеличением экспозиции. Значительные изменения происходят в красной крови, начинается дегградация эритроцитов. Особенно характерна вакуолизация клеток как красной, так и белой крови. Изменения в лейкоцитарной формуле сопровождаются увеличением доли полиморфноядерных лейкоцитов и нейтрофилов. Образование макроцитов и нарушение осмотической резистентности эритроцитов приводят к гемолизу. Подобные нарушения при действии на рыб пестицидов наблюдали и другие исследователи (Метелев, 1971, 1972; Попова, 1970а, б и др.).

Патоморфологические изменения, обнаруженные во внутренних органах, в первую очередь связаны с нарушением в них кровообращения. В печени наблюдаются гиперемия мелких сосудов и диапедезные кровоизлияния, в почках — расширение и отек сосудистых клубочков.

Одновременно происходят дистрофические некротические изменения паренхиматозных тканей. В результате токсикоза в них идет образование цериода, являющегося продуктом самоокисления патологически накопленных ненасыщенных жирных кислот (Факторович, 1959).

Несмотря на сходное проявление токсикоза у подопытных видов бестер, белый толстолобик и карп обладают разной степенью чувствительности к одним и тем же концентрациям карбофоса.

В наивысшей испытанной концентрации препарата (0,5 мг/л) отход бестера начался через семь минут и полная гибель его наступила через два часа. У карпа первые особи погибли через час, в течение последующих двух – трех часов погибли остальные. У белого толстолобика к этому времени начали отходить только первые особи и гибель всех остальных закончилась к концу первых суток.

Наступившая в течение первых часов гибель бестера подтверждается патоморфологическими изменениями в его органах (некротические зоны в печени, дистрофические изменения в почках). В то же время у карпа в почках обнаружено скопление цероида, а в печени – уплотнение паренхимы и спад венозных капилляров. Нарушение кровообращения в этом органе, видимо, и привело к снижению уровня белка в сыворотке крови. Уменьшение в сыворотке крови содержания сахара, а в печени – гликогена, вероятно, связано с активной мышечной работой (стремительное движение карпа при погружении в раствор токсиканта), приводящей к расходованию углеводных ресурсов. Функциональные изменения в процессах кроветворения (усиление лейкопоза) привели к сдвигу лейкоцитарной формулы за счет увеличения полиморфноядерных лейкоцитов. Значительные колебания этого показателя у отдельных экземпляров карпа (от 9 до 26%) свидетельствуют об индивидуальной реакции особей, находящихся в одной среде.

У белого толстолобика аналогичные сдвиги в белой крови произошли только к концу первых суток. В первые часы патологические изменения были обнаружены в морфологии клеток красной крови (некроз ядер эритроцитов).

Для бестера в течение первых пяти часов оказалась губительной концентрация карбофоса 0,05 мг/л. Повышение уровня белка в сыворотке крови, по всей вероятности, связано с началом распада тканей. Карп и белый толстолобик в этих условиях продолжали жить. Видовые патоморфологические изменения, прослеженные в органах рыб, содержащихся в растворе этой концентрации, близки к наблюдавшимся при действии наивысшей концентрации токсиканта, но менее резко выражены. Различия в ре-

акции видов рыб на пестицид подтверждаются и гематологическими показателями. Если у карпа в течение первых суток повышение активности лейкопоза приводит к значительному сдвигу лейкоцитарной формулы, то у белого толстолобика за то же время появление молодых клеток белой крови еще не вызывает изменений в состоянии этих форм. На вторые сутки у карпа усиливаются патоморфологические изменения в клетках красной крови, и спектр их значительно шире, чем у белого толстолобика.

Видовая специфика рыб проявляется и при действии на них токсиканта низкой концентрации (0,005 мг/л).

У бестера в растворе карбофоса этой концентрации также возникают патологические изменения, связанные с нарушением структуры ткани. В первые сутки они выражены слабо, но на протяжении опыта они усиливаются (мозаичность структуры печеночной ткани, некротические зоны вокруг крупных сосудов, большое скопление цериода). И здесь некротические изменения сопровождаются повышением уровня белка в сыворотке крови с 1,4 до 2,2 г%. Деграция паренхимы органа могла способствовать нарушению ферментативной функции печени, что должно было отразиться на углеводном обмене. Уровень сахара в сыворотке крови у бестера почти вдвое ниже, чем у карпа, у которого только к концу опыта возникает дистрофия печеночных клеток. На протяжении всего времени действия пестицида данной концентрации на карпа в его печени отмечалась лишь гиперемия мелких сосудов. Если у бестера изменения в почках связаны с вакуолизацией эпителиальных клеток (цитоплазмы и ядер), то у карпа они вызваны расширением сосудистых клубочков и накоплением цериода.

По гематологическим показателям также прослеживаются видовые особенности реакции рыб на карбофос слабого разведения.

У бестера уже в первые сутки наблюдаются повышение активности эритропоза и сдвиги в лейкоцитарной формуле, выраженные в увеличении доли полиморфноядерных лейкоцитов и уменьшении их размеров. Эритроциты находятся в предгемолизном состоянии. К концу опыта прекращается образование молодых клеток эритробластического ряда, а количество полиморфноядерных лейкоцитов резко возрастает (до 30%).

У карпа во время опыта отмечено повышение полиморфно-ядерных лейкоцитов. Изменения в картине крови, которые за первые сутки выразились в вакуолизации эритроцитов, смещении ядер и появлении ядерных теней, в экспозиции усилились - вакуолизация захватила и клетки белой крови.

У белого толстолобика в первые сутки произошло лишь некоторое оживление эритропоеза. В морфологии клеток патологических изменений не отмечено. Только к концу эксперимента стали обнаруживаться эритроциты с вакуолизированной цитоплазмой; эритропоез ослабился.

Таким образом, среди трех исследуемых видов рыб наиболее чувствителен к карбофосу бестер. Возможно, это объясняется тем, что он гибрид, и тем, что в условиях прудового рыбоводства его рано переводят на искусственный, часто недоброкачественный корм. Хотя известно, что осетровые рыбы достаточно пластичны.

Карп и белый толстолобик оказались менее чувствительны к данному токсиканту. Однако оценить действие этого пестицида на них сложнее. Если карп в растворе 0,05 мг/л к концу первых суток отвечает резким увеличением количества полиморфноядерных лейкоцитов и нейтрофилов, то у белого толстолобика повышается лишь количество лейко- и лимфобластов. Лейкоцитарная формула у него остается близкой к контрольной. К концу опыта у карпа количество полиморфноядерных лейкоцитов и нейтрофилов уменьшилось, а у белого толстолобика количество их увеличилось, тогда как в растворе карбофоса концентрацией 0,005 мг/л и у карпа, и у белого толстолобика с продлением экспозиции идет постепенное накопление этих клеток.

В ы в о д ы

1. В реакциях бестера, карпа и белого толстолобика на карбофос в концентрациях от 0,005 до 0,5 мг/л проявляется видовая специфика. Наиболее чувствителен к этому токсиканту бестер.

2. Карбофос в концентрации 0,5 мг/л в течение нескольких часов вызывает гибель рыб всех трех исследуемых видов.

3. В растворах карбофоса 0,05 и 0,005 мг/л карп и белый толстолобик не погибают, но в их органах возникают патологические и функциональные изменения, степень которых зависит от концентрации пестицида и времени его действия.

Л и т е р а т у р а

- Ж и т е н е в а Л.Д., С о к о л ь с к а я Н.П., К а л ь у ж н а я Т.И. Токсическое заболевание у молоди рыб прудового комплекса под влиянием химических агентов. - "Биология промысловых рыб и беспозвоночных на ранних стадиях развития", Мурманск, 1974, с.86-98.
- Л у к ь я н е н к о В.И., Ф л е р о в В.А. Видовые особенности чувствительности и устойчивости пресноводных рыб к фенолу. - "Гидробиологический журнал", 1965, т.1, № 2, с.17-21.
- М е т е л е в В.В. Токсичность пестицидов для рыб, механизм действия, методы индикации. - "Экспериментальная водная токсикология", 1971, вып.2, с.104-123.
- М е т е л е в В.В. Гематологические и биохимические исследования при оценке токсичности пестицидов для рыб. - "Труды ВНИИВС", 1972, т.43, с.227-231.
- П о п о в а Г.В. К вопросу о влиянии пестицидов на рыб. - "Экспериментальная водная токсикология", 1970а, вып.1, с.24-28.
- П о п о в а Г.В. Гематологические показатели при оценке токсичности пестицидов для рыб. - "Экспериментальная водная токсикология", 1970б, вып.1, с.19-23.
- Ф а к т о р о в и ч К.А. О патогенезе "липидной" дегенерации печени у радужной форели. - "Научно-технический бюллетень ВНИОРХ", 1959, № 8, с.55-58.

Comparative evaluation of the influence of malathion on yearlings of some species of fish.

V.A.Prokopenko, L.D.Zhiteneva,
N.P.Sokolskaya, T.I.Kalyuzhnaya
V.F.Zavgorodnyaya, L.N.Isaeva.

S u m m a r y

Specific features are displayed in the responses of bester, carp and silver carp to malathion applied in concentrations ranged from 0.005 to 0.5 mg/l. The character and extent of pathological changes in fish depend on concentrations of malathion and time of exposure. Bester are most sensitive to the pesticide. The concentration of 0.5 mg/l is lethal to the three species.