

на правах рукописи

Абтахи Бехруз

**ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА РАЗВИТИЕ
РАННИХ СТАДИИ ОСЕТРОВЫХ РЫБ, ВЫПУСКАЕМЫХ С ОРЗ
В СЕВЕРНЫЙ КАСПИЙ**

Специальность 03.00.10 - Ихтиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва - 1998

Работа выполнена во Всероссийском научно-исследовательском институте
рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО)

Департамент по рыболовству
Минсельхозпрода Российской Федерации

Научный руководитель - кандидат биологических наук Соколова С.А.

Официальные оппоненты -

доктор биологических наук, профессор Душкина Л.А.

доктор биологических наук, профессор Симаков Ю.Г.

Ведущая организация - Всероссийский научно-исследовательский институт
пресноводного рыбного хозяйства (ВНИИПРХ)

Защита состоится 13/II 1998 г. в ____ часов на заседании
диссертационного совета Д.117.01.02 во Всероссийском научно-
исследовательском институте рыбного хозяйства и океанографии по адресу:
107140, г. Москва, В. Красносельская, 17 а.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ВНИРО

Автореферат разослан ____ 1998 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

кандидат биологических наук

Астафьева А.В.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Вследствие нарастающего загрязнения и осложнения экологических условий в реках и морских акваториях изучение различных аспектов ихтиотоксикологии и экологии осетровых в настоящее время привлекает большое внимание исследователей (Иванов и др., 1995; Распопов и др., 1995). Особенно повысился интерес к этим работам после 80-х годов, когда наблюдалось расслоение мышечной ткани производителей и ухудшение качества икры, что объяснялось загрязнением Волго - Каспийского бассейна. В 1987 году это явление приобрело массовый характер, и в отдельные месяцы оно имело место практически у всех выловленных особей русского осетра (Лукьяненко, 1990). Деструктивные поражения мышечной ткани в больших объемах от массы тела могут оказаться несовместимыми для жизни отдельных особей и видов рыб в целом (Евгеньева, 1990), что может привести к таким нежелательным явлениям, как сокращение количества нерестов, нарушение процесса созревания икры, а может быть и к гибели всего осетрового стада (Басурманов, 1990). Многими авторами утверждается связь между этими нарушениями и загрязнением водной среды (Головин и др., 1990, Кириллова, 1990, Павельева и др., 1990, Taylor, 1988, Ragels, 1988, Yavety, 1988, Сухопарова и др., 1990, Сухопаровой и др., 1986, Васильева, 1990, Гераскин и др., 1990, Суботкин, 1990, Семенов и др., 1991), что требует более полных знаний о качестве среды обитания и воспроизводства осетровых рыб, особенно на ранних стадиях развития.

Цель и задачи работы. Цель работы - Оценить уровень загрязнения воды р. Волги в районе водозаборов осетровых рыбоводных заводов (ОРЗ), оценить качество икры, личинок а также молоди, выпускаемой с ОРЗ в Каспийской бассейн в весенне - летний сезон 1995 -96 г.г. Цель работы определила задачи работы:

1. Выявить уровень токсикологического состояния воды в районе водозаборов ОРЗ методом биотестирования.
2. Определить концентрации тяжелых металлов, хлороорганических пестицидов и нефтяных углеводородов в воде, поступающей на ОРЗ.
3. Определить содержание тяжелых металлов в тканях молоди белуги, русского осетра и севрюги, выращенной на ОРЗ.
4. Оценить гематологические показатели (гемоглобин и общий белок) выпускаемых с ОРЗ молоди.
5. Изучить нарушения морфогенеза зародышей, личинок и молоди рыб на ОРЗ.
6. Оценить эффективность действие биологически активных веществ в качестве защиты икры (зародышей) и личинок осетровых рыб при токсическом воздействии тяжелых металлов, фенолов и пестицидов.

Новизна работы. Получены данные за 1995-1996 г. по содержанию различных токсических веществ (соли тяжелых металлов, пестициды, нефтеорганические загрязнения) в воде 6 осетровых рыбоводных заводов Астраханской области. Определено содержание тяжелых металлов в тканях

молоди осетровых (белуга, русский осетр и севрюга), выращиваемых на рыбоводных заводах. Определены морфологические нарушения в развитии зародышей, личинок и молоди осетровых рыб. Впервые показана возможность защиты эмбрионов, личинок и молоди осетровых от воздействия токсических факторов при помощи биологически активных веществ (в частности, фитогормона эпина).

Практическая и научная значимость работы. Полученные результаты могут служить основой для дальнейшего мониторинга за содержанием загрязняющих веществ в воде в районе осетровых рыбоводных заводов, а также для мониторинга морфологических изменений икры, личинки и молоди на разных этапах рыбоводного процесса. Практический интерес представляют предложения по использованию в рыбоводстве некоторых биологически активных веществ, в частности, фитогормона эпина.

Данные о содержании токсических веществ в разных участках р. Волги и в тканях молоди различных осетровых рыбоводных заводов, а также данные о характере нарушений эмбрионального и личиночного развития осетровых под влиянием антропогенного воздействия, могут войти в лекционные и практические курсы обучения студентов рыбохозяйственных специальностей ВУЗов.

Апробация работы. Основные положения диссертации докладывались в лаборатории морской экологии ВНИРО, на Конференциях профессорско-преподавательского состава Астраханского Государственного Технического Университета 1996 и 1997 гг., на Международной конференции «Проблемы экологии в медицине» (Астрахань, 1996), на Всероссийском съезде гидробиологов (Казань, 1996), на Всероссийском съезде ихтиологов (Астрахань, 1997).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 5 работ, 2- в печати.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, трех глав, обсуждения результатов, выводов и списка использованной литературы. Работа включает страниц машинописного текста, таблиц и рисунков. Библиография содержит названий, из них на русском языке.

Глава 1. Обзор литературы

В обзоре литературы приводятся данные по возможному воздействию токсикантов на ранние этапы жизни рыб, чувствительность рыб к токсикантам на ранних стадиях развития, наиболее часто используемые критерии интоксикации рыб. Обсуждаются вопросы адаптации рыб к токсическим веществам и воздействие биологически активных веществ на организм рыб, повышающее их жизнестойкость в неблагоприятной среде обитания. Отдельно приводятся литературные данные по влиянию загрязнения на осетровых рыб и современное экологическое состояние Волго-Каспийского бассейна.

Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В диссертации представлены материалы полевых работ и экспериментальных исследований, проведенных в Астраханской области на осетровых рыбоводных заводах (ОРЗ) в период рыбоводного сезона 1995-96 г.г.

2.1. Объекты исследования. В качестве объектов исследования использовались сперма, икра, личинка и молодь осетровых рыб, а так же - воды ОРЗ.

Полевые работы. Пробы воды для определения ее токсичности методом биотестирования, оценки концентраций тяжелых металлов в воде, хлорорганических пестицидов и нефтепродуктов отбирали два раза в месяц (начало, середина) в районе водозаборов шести астраханских осетровых рыбоводных заводов. Анализы проводили во ВНИРО в секторе эколого-токсикологических исследований.

Пробы неоплодотворенной икры отбирали в инкубационном цехе (при вскрытии самки), личинок на выклеве (из инкубационных аппаратов), личинок при переходе на активное питание (перед посадкой в выростные пруды). Молодь отбирали на выпуске ее из прудов в реку.

Для оценки морфологических аномалий пробы икры, личинок и молоди фиксировали 4% формалином. Дальнейшую обработку и исследование проб проводили в Москве в ИПЭЭ РАН.

Замороженные пробы молоди рыб исследовали на содержание тяжелых металлов в тканях рыб во ВНИРО.

У молоди при выпуске ее в реку определяли гематологические показатели (гемоглобин, эритроциты, белок). В работе участвовали сотрудники КаспНИРХ.

Все указанные выше исследования являются одним из звеньев комплексной многолетней работы сектора эколого-токсикологических исследований ВНИРО в этом районе.

Экспериментальные работы. Исследование влияния трех БАВ - биологически активных веществ (эпин, энкад, СКБ) на разные стадии эмбриогенеза осетровых рыб для оценки возможного повышения выживаемости личинок в экстремальных токсических условиях среды (присутствие повышенных концентраций загрязняющих веществ) проводили на Кизанском осетровом рыбоводном заводе в составе студентов и аспирантов Астраханского государственного технического университета (АГТУ) под руководством проф. А.В. Витвицкой в период рыбоводного сезона.

В тех же экстремальных условиях исследовалось время подвижности сперматозоидов под влиянием эпина. В таблицах и в тексте приводится концентрация эпина в пересчете на эпибрассинолид.

В качестве загрязняющих веществ использовали остротоксичные концентрации меди, цинка, кадмия, фенола, ксилыла, ПХБ и ялана.

2.2. Методы исследования качества воды, поступающей на осетровые рыбоводные заводы.

Изучение токсичных свойств воды проводили методами биотестирования, а также количественного определения тяжелых металлов и органических веществ. Всего обработано 116 проб

Воду биотестировали на двух лабораторных пресноводных тест-объектах: одноклеточных протококковых водорослях *Chlorella vulgaris* и ветвистоусых рачках *Daphnia magna* (представили трофических уровней - фито- и зоопланктон).

Критерием токсичности при анализе воды на водорослях служило изменение уровня замедленной флуоресценции (ЗФ) по отношению к контролю, характеризующее скорость фотосинтеза водорослей (Методические рекомендации..., 1987). В качестве критерия токсичности при анализе на дафниях служила выживаемость рачков (РД 118-02-90, 1991). Продолжительность биотестирования - трое суток. Нетоксичной считалась вода, в которой подавление замедленной флуоресценции или гибель рачков не превышала 20%; вода, для которой величина этих показателей варьировала от 20 до 34% считалась малотоксичной; 35-49% - среднетоксичной; 50% и более - высокотоксичной.

Определение количества тяжелых металлов в воде (Fe, Zn, Cu, Mn, Cd, Ni, Pb) проводили на атомно-абсорбционном спектрофотометре АА-855 с точностью 0.0001 мкг/л.

Определение количества хлорорганических пестицидов в воде (α -ГХЦГ, γ -ГХЦГ, ДДЕ, ДДД, ДДТ) исследовали методом газовой хроматографии на газовом хроматографе фирмы «Янако».

Определение количества нефтяных углеводородов проводили методом газовой хроматографии фирмы «Varian».

Оценка качества икры, личинок и молоди осетровых рыб. Качество икры, личинок и молоди рыб оценивали по их морфологическим изменениям (Детлаф, 1981). Гистологическую обработку проводили по общепринятой методике (Роскин, Левинсон, 1967). Физиологическое состояние молоди - по гематологическим показателям (Остроумова, 1957; Калашникова, 1976) и по степени накопления тяжелых металлов в её тканях (Морозов, 1974).

2.4. Исследование влияния биологически активных веществ на ранние стадии онтогенеза осетровых в экспериментальных токсических условиях.

Биологически активные вещества (БАВ), используемые в работе: 1995 г. использованы сублимированный препарат из сыворотки крови кур (СКБ), содержащий комплекс нейропептидов биостимулирующего и регулирующего действия, в концентрации 400 мг/л; препарат эпин, в концентрации 10^{-4} мг/л в пересчете на действующее вещество фитогормон эпибрасинолид, известный в растениеводстве как мощный регулятор иммунной системы и стимулятор роста; препарат "Энкад", представляющий

собой набор олигонуклеотидов - продуктов специфического ферментативного гидролиза дрожжевой РНК, в концентрации 5 мг/л. Исползованные нами концентрации препарата для осетровых рыб были ранее подобраны сотрудниками Центра экологических биотехнологий в предварительных исследованиях на Александровском осетровом рыбоводном заводе (Витвицкая, Никоноров, 1995).

В работах 1996 г. был использован только эпин в концентрациях 10^{-7} и 10^{-4} мг/л в пересчете на эпибрасинолид. Всего проведено 18 экспериментов на белуге (5250 икринок), 9 на осетре (900 личинок) и 43 на севрюге (3400 икринок, 400 личинок).

Обработка икры и личинок осетровых биологически активными веществами. Соответствующие БАВ использовали дважды: 1) сначала их добавляли до концентрации 10^{-4} мг/л в воду, куда затем приливали сперму и, вместе с активированной спермой, добавляли в тазы с икрой (полусухой метод оплодотворения), 2) затем в той же концентрации добавляли в суспензию ила, которым проводили обесклеивание икры. Соответственно, время воздействия БАВ на икру составляло 3 мин (период осеменения) + 45 мин (период обесклеивания вручную и в аппаратах). Далее эта икра или личинки, полученные из нее использовались в эксперименте. Кроме того, в эксперименте использовались личинки, икра которых не была обработана БАВ. В этом случае БАВ добавляли сразу в экспериментальный раствор в соответствующих концентрациях, куда помещали личинок.

Условия проведения эксперимента. Икра. По 30-40 икринок белуги, осетра или севрюги, обработанных или не обработанных биологически активными веществами, помещали в чашки Петри с токсическими растворами (концентрации каждого токсиканта указаны в соответствующих таблицах раздела 3.3.) и проводили инкубацию согласно «Методическим рекомендациям..., ВНИРО, 1986» в инкубационном цехе при соблюдении оптимальных температурных условий инкубации икры. Ежедневно токсические растворы в чашках Петри сливали и заменяли на свежеприготовленные во избежание заметных изменений концентрации токсикантов за счет испарения воды и накопления метаболитов. Подсчет погибших эмбрионов проводили через 48-144 часов.

Личинки. В токсикологических экспериментах использовались личинки русского осетра и севрюги в возрасте 1-2 дня после выклева, икра которых обрабатывалась эпином (или предварительно не обрабатывались эпином).

Эксперименты проводили на выростной базе в пластиковых прозрачных прямоугольных аквариумах (объем 4 л). Время экспозиции - 24-56 ч.

Сперма осетровых. Эксперименты в 3-х повторностях проведены на образцах спермы от 5 самцов белуги в чистой воде, в растворах токсиканта и в растворах эпина и определенного токсиканта. Фиксировали время прекращения движения последних сперматозоидов в каждом образце.

Статистическую обработку материалов проводили по критерию Стьюдента (Аксютин, 1968).

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Исследование качества воды на Астраханских ОРЗ.

Определение общей токсичности воды методом биотестирования. Биотестирование - является методом определения общей токсичности воды по ответной реакции организмов (тест - объектов) на неблагоприятное состояние среды обитания (по совокупности всех присутствующих веществ).

Обобщенные результаты анализа качества воды по критерию её токсичности представлены на в таблице 1.

Таблица 1.

Обобщение результатов биотестирования воды водозаборов ОРЗ в 1995 - 96 г *

ОРЗ	год	Уровень токсичности				
		апрель	май	июнь	июль	август
ЛОРЗ**	1995	В.Т***	Нетокс.	Нетокс.	М.Т.	Ср.Т.
	1996	М.Т	М.Т	Нетокс.	Нетокс.	-
БОРЗ	1995	М.Т	Нетокс.	Нетокс.	Ср.Т.	-
	1996	М.Т	М.Т	Нетокс.	Нетокс.	-
КОРЗ	1995	В.Т	Нетокс.	Нетокс.	-	-
	1996	В.Т.	Ср.Т.	Нетокс.	-	-
СОРЗ	1995	Ср.Т.	-	-	М.Т.	-
	1996	В.Т.	Ср.Т.	Нетокс.	М.Т	-
ЖОРЗ	1995	-	-	Нетокс.	-	-
	1996	М.Т	М.Т	-	-	-
АОРЗ	1995	Ср.Т.	-	-	-	-
	1996	В.Т.	М.Т	Нетокс.	-	-

Примечание: *В тексте диссертации предоставлены количественные показатели. ** ЛОРЗ, Лебяжий; БОРЗ, Бертюльский; КОРЗ, Кизанский; СОРЗ, Сергиевский; ЖОРЗ, Житнинский; АОРЗ, Алексанровский. ***В.Т.-высокотоксичная; Ср.Т. - среднетоксичная; М.Т - малотоксичная; Нетокс.-нетоксичная;“-” - нет исследований.

Полученные результаты показывают, что в весенний период (апрель - май) вода, поступающая на осетровые рыболовные заводы, характеризуется повышенной токсичностью (часто вода высоко- и среднетоксичная). Наиболее благополучный период - июнь, когда вода не проявляет токсических свойств, затем в июле качество воды снова начинает ухудшаться, проявляется незначительная токсичность (вода малотоксичная, единично - среднетоксичная).

Изучение концентраций токсических веществ в воде ОРЗ. Тяжелые металлы. В таблице 2. приведены средние результаты концентраций тяжелых металлов за рыболовный сезон (апрель - август) на водозаборах разных заводов.

Таблица 2.

Средние концентрации тяжелых металлов (апрель - август) в воде водозаборов осетровых рыболовных заводов в 1995 - 96 г.г. мкг/л.

Завод		Fe	Zn	Cu	Mn	Ni	Pb	Cd
	ПДК	50.0	10.0	1.00	10.0	10.0	6.0	5.00
ЛОРЗ	1995	29.4	35.3	2.31	2.91	2.56	4.27	0.36
	1996	12.6	21.8	3.7	4.2	1.99	5.05	0.71
БОРЗ	1995	25.5	39.0	6.41	2.03	2.26	3.68	0.24
	1996	10.7	33.5	2.59	4.63	1.16	4.01	0.52
СОРЗ	1995	24.8	18.4	5.71	4.33	2.89	5.83	0.39
	1996	14.4	9.62	1.91	2.25	0.69	4.32	0.48
КОРЗ	1995	17.6	14.4	4.66	1.81	2.30	2.33	0.40
	1996	14.1	10.7	2.42	5.79	1.59	4.38	0.53
АОРЗ	26.04.95*	66.0	45.8	14.8	5.48	7.38	4.75	0.78
	1996	15.8	20.0	6.11	6.96	1.94	5.91	0.82
ЖОРЗ	3.06.95*	47.8	6.5	4.53	1.05	0.78	0.9	0.23
	1996	46.6	19.8	4.08	10.23	1.35	6.45	0.75

Примечание: * - одно исследование

На всех водозаборах ОРЗ в 1995- 96 гг. наблюдалось превышение ПДК цинка и меди, периодически - превышение ПДК свинца марганца и железа.

По абсолютному содержанию металлов в воде по убыванию их концентрации можно расположить в ряд: Fe > Zn > Cu ≅ Mn > Pb > Ni > Cd.

Хлорорганические пестициды. Уровень отмеченных концентраций соответствует фоновому уровню, который наблюдается в районе водотоков Астраханской области в предыдущие годы (отчеты эколого-токсикологического сектора ВНИРО)

Концентрации ХОП весной значительно выше, чем в конце рыболовного сезона. Наиболее высокие концентрации ХОП наблюдаются на водозаборе Лебяжьего и Бертюльского ОРЗ (в среднем 0.09 нг/л) α-ГХЦГ, 0.04 - 0.07 γ-ГХЦГ, 0.26 - 0.55 ДДТ. Приблизительно тот же уровень ДДТ (0.25 нг/л) в воде у Сергиевского завода.

Нефтяные углеводороды. По результатам исследования на водозаборах КОРЗ и БОРЗ показано, что по суммарному содержанию нефтяных углеводородов ПДК наблюдалось незначительное превышение только в пробах воды (апрель - июнь) водозабора Кизанского ОРЗ (0.057 - 0.054 мг/л). При спуске воды из прудов концентрация нефтяных углеводород (0.036 мг/л) оказалась ниже ПДК, что естественно, так как в процессе сукцессии пруда происходит бактериальное разложение нефтяных углеводородов.

В пробах воды водозабора и в воде прудов БОРЗ завода содержание углеводородов не превышало ПДК.

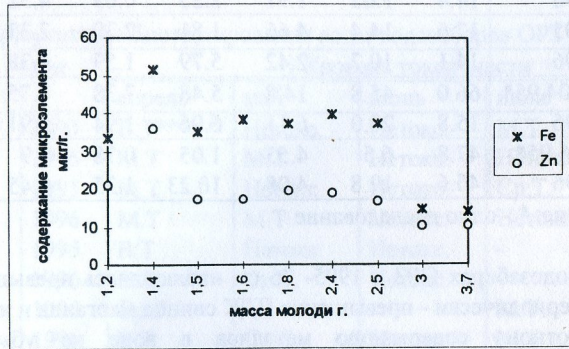
3.2. Исследование качества икры, личинок, молоди на ОРЗ.

Микроэлементный состав тканей выпускаемой молоди осетровых рыб. Микроэлементный состав может служить одной из характеристик физиологического состояния молоди.

В результате исследований отмечается закономерное уменьшение концентраций тяжелых металлов в тканях молоди с увеличением их размера (в качестве примера рис. 1).

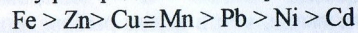
Рис. 1.

Соотношение веса и накопления тяжелых металлов в тканях молоди севрюги.



Таким образом, по характеру содержания тяжелых металлов в тканях молоди осетровых рыб не отмечается нарушений физиологического состояния.

Накопление отдельных микроэлементов в тканях молоди рыб повторяет картину распределения содержания тяжелых металлов в воде:



Выявить зависимость накопления тяжелых металлов от видовой принадлежности молоди не удалось.

При сравнении допустимых концентраций (ДОК) тяжелых металлов для пищевых продуктов (в том числе для рыбопродуктов) мы видим превышение этих величин для свинца (незначительное в 1.2 - 1.4 раза) и для железа (в 1.4 - 2 раза, в одном случае в 5 раз). Но величина ДОК характеризует пригодность продукта для употребления в пищу, не отражая физиологическое состояние гидробионтов.

Физиологическое состояние молоди осетровых рыб, по гематологическим показателям. Согласно полученным данным гематологические показатели, характеризующие состояние молоди при выпуске в речную систему, находились в пределах нормы. Величины концентраций варьируют для гемоглобина - от 2.3 до 4 г%, сывороточного белка - от 1.0 до 2.3 г%. Число эритроцитов в крови изменяется в пределах - 0.45 - 0.77 млн/мм³ (белуга, осетр); 0.7 - 0.9 млн/мм³ (севрюга).

В целом состояние молоди по гематологическим показателям можно оценить как удовлетворительное. Сопоставив полученные данные с результатами за ряд прошлых лет (отчеты эколога - токсикологического сектора ВНИРО), мы не обнаружили каких-либо изменений в сторону ухудшения качества рыболовной продукции, выпускаемой в Северной Каспии.

Исследование морфологии икры, личинок, молоди осетровых рыб. Состояние зрелой неоплодотворенной икры волжских осетровых (белуга, севрюга, русский осетр). Отмеченные аномалии можно подразделить на две основные группы: 1) морфологические и 2) физиологические.

Первые - встречаются у всех исследованных нами самок, вторые - только у части.

Морфологические нарушения (1. деформация яйцеклеток; 2. нарушения в структуре оболочек; 3. их неравномерное окрашивание; 4. нехарактерные включения в желтке) по нашему мнению не являются губительными и существенным образом не скажутся на оплодотворении и эмбриогенезе, некоторые из них связаны с артефактами, возникающими при гистологической обработке (разрывы оболочек).

Вторая группа нарушений - **физиологических** - включает икру с преждевременно образовавшимся перивителлиновым пространством и партеногенетическим развитием неоплодотворенной икры. Икра с этими нарушениями никогда не оплодотворится и не будет развиваться, эти икринки непременно погибнут.

Исследования показали, что не более 20-24% икринок у части самок элиминирует при оплодотворении, остальные - жизнеспособны. Высокий процент морфологических аномалий, не приводящих непосредственно к гибели икры, может служить показателем степени неблагополучия среды обитания для производителей. Следует отметить, что аналогичные морфологические аномалии в строении яйцеклеток отмечены также у осетровых рыб, обитающих в сибирских реках (Акимова, Рубан, 1993).

Исследование морфологических показателей личинок. Наблюдаемые аномалии можно условно разделить на 4 основных групп:

1) нарушения морфологии тела (недоразвитие и уродливая форма, глаз, обонятельного органа, головы, плавниковой каймы, жаберные крышки, укороченные усиков);

2) нарушения формирования внутренних органов (главного мозга, печени, кишечника, сердца, околосердечной полости);

3) нарушения в строении мышечной ткани (недоразвитие миофибрилл в миотомах);

4) наросты на эпителии тела, плавниках, хвосте.

Все обнаруженные аномалии в развитии личинок осетровых рыб не приводят непосредственно к гибели личинок, однако свидетельствуют об ухудшении физиологического состояния особей.

Общее количество аномалий, обнаруженных нами, у личинок осетровых рыб, а также количество аномалий, встречавшихся на каждом заводе в отдельности, приводится в таблице 3. Большее количество типов аномалий обнаружено нами у личинок севрюги (13-25) по сравнению с личинками осетра (15-16).

Таблица 3.

Количество типов аномалий личинок осетровых рыб на различных заводах Астраханской области.

Вид	год	стадия	Общ.	ЛОРЗ	КОРЗ	БОРЗ	СОРЗ	АОРЗ	ЖОРЗ
Осетр	1995	36-39	15	9	7	0	6	н. д.	н. Д.
		42-46	15	11	5	3	6	н. д.	н. Д.
	1996	36-39	16	н. Д.	6	н. д.	6	н. д.	9
		42-46	16	н. Д.	3	3	3	н. д.	14
Сев- рюга	1995	36-39	13	8	5	н. д.	6	5	0
		42-46	23	14	5	н. д.	12	0	7
	1996	36-39	22	4	15	н. д.	6	5	18
		42-46	25	5	12	9	8	6	13

Примечание: н.д. нет данных, 0 нет аномалии

По частоте встречаемости все аномалии можно разделить на массовые и единичные.

Массовые аномалии на этапе вылупления для всех видов осетровых рыб одни и те же: водянка мозга и нарушение строения плавниковой каймы (ее узость и скрюченность). У личинок при переходе на активное питание водянка мозга не встречалась.

Нарушения в строении плавниковой каймы личинок были массовыми для осетровых рыб как на этапе вылупления, так и при переходе на активное питание.

Кроме того, у личинок при переходе на активное питание массовыми аномалиями являлись: несращение перемычек обонятельных органов и аномалии глаз - катаракты.

У белуги в 96 г. отмечались мелкие белые наросты на эпителии и плавниках.

В 1995 - 96 годах у всех исследованных личинок отмечалась аномалия в строении мышечной ткани. Этиологию этой аномалии предстоит еще уточнить. Следует отметить, что такое же аномальное строение мышц наблюдается в последние 3 года и у осетровых из сибирских рек.

В целом, следует считать, что у осетровых рыб большинство встречающихся аномалий или не выходят за рамки нормативов отхода.

Исследование морфологических показателей молодежи осетровых рыб, выпускаемых с ОРЗ. Выявленные аномалии можно разделить на массовые и единичные. Массовыми аномалиями в 1996 г. являлись:

катаракта глаз (частичная или полная слепота), несращение перемычек обонятельных органов.

В 1995 году несращение перемычек обонятельных органов отмечалась в редких случаях.

Обобщая результаты исследования молодежи следует отметить, что в среднем по заводам Астраханской области количество здоровой выпускаемой молодежи севрюги составило 60%. Высокий процент здоровой молодежи севрюги наблюдается на КОРЗ и БОРЗ (92.5 и 85.9% соответственно), а также на ЖОРЗ (96.8), более низкий - на ЛОРЗ и АОРЗ (46.9 и 51.4% соответственно).

Количество здоровой молодежи осетра в среднем составило 40%. Однако этот показатель может быть занижен, т.к. количество анализируемых проб было невелико (до 3-х проб с завода), что не позволяет охарактеризовать качество молодежи по отдельным заводам. Вся исследованная молодежь белуги не имела морфологических аномалий.

3.3. Исследование влияния биологически активных веществ (БАВ) на ранние стадии онтогенеза осетровых в экстремальных токсикологических условиях

Влияние 3-х биологически активных веществ (СКБ, эпин, энкад) на выживаемость икры (эмбрионов) севрюги при инкубации ее в токсических условиях показало, что статистически значимое повышение выживания икры обнаружено только в партиях, прошедших предварительную обработку эпином 10^{-4} мг/л. Полученные данные послужили основанием для более детальных исследований воздействия на эмбриогенез именно эпина, выполненных в дальнейшем на икре и личинках осетровых рыб.

Влияние эпина на выживаемость икры (эмбрионов) белуги, осетра, севрюги при инкубации ее при повышенных концентрациях тяжелых металлов (Cu, Cd) и органических токсикантов (фенол, ксилол, ПХБ). На икре белуги, русского осетра и севрюги показано, что предварительная обработка ее эпином в период осеменения и обесклеивания достоверно повышает выживаемость эмбрионов при их инкубации в растворах солей меди (0.01-2.5) и кадмия (0.01-1.0), особенно в высоких концентрациях этих токсикантов, где наблюдается значительный отход эмбрионов.

Испытания эпина в качестве защиты против органических токсикантов - фенола (карболовой кислоты), ксилола и полихлорбифенила (ПХБ) при концентрациях близких к $ЛК_{50}$ также показали наиболее выраженное воздействие этого БАВ именно в тех токсических растворах, где наблюдался наиболее сильный отход эмбрионов (в частности, в растворах фенола).

Исследования, проведенные на икре севрюги, свидетельствуют о том, что обработка эпином наиболее эффективна: в период осеменения и обесклеивания; при обработке икры на вторые сутки после осеменения, отмеченный положительный эффект заметно меньше.

Выживаемость личинок осетра и севрюги, обработанных эпином при инкубации в повышенных концентрациях токсических веществ. Однодневные личинки осетра и севрюги, икра которых предварительно обрабатывалась эпином, подвергались воздействию высоких концентрации меди (0.62-5 мг/л) в течении 48 часов.

Личинки севрюги оказались более чувствительным по сравнению с русским осетром, их полная гибель наблюдалась в концентрации меди 1 мг/л. Выживаемость личинок осетра в этой концентрации - около 70%. Тем не менее при воздействии эпина выживаемость личинок достоверно повысилась в концентрациях, близких к ЛК₅₀ у личинок осетра до 30% (1.25 мг/л), у личинок севрюги в среднем 15% и 50% (соответственно в концентрациях 0.5 и 0.25 мг/л).

Личинки осетра и севрюги, икра которых не обрабатывалась эпином, так же подвергалась воздействию различных токсикантов. В присутствии эпина выживаемость личинок оказалась повышенной в растворах фенола в 3 раза, меди - в 4.4 раза, ялана - в 2 раза. Повышение выживаемости личинок в смеси данных токсикантов статистически не достоверно в одном случае из-за высокой дисперсии между опытными растворами, в другом случае смесь оказалась настолько остротоксичной, что действие эпина было явно недостаточным.

Выживаемость личинок севрюги данные представлены с медью на рис 2.

Таким образом, присутствие малых доз эпина (10⁻⁷ мг/л) в остротоксичных растворах загрязняющих веществ кадмия (0.2 мг/л), меди (1 мг/л), ялан (2 мг/л), фенол (3 мг/л) существенно повышает выживаемость личинок осетровых в этих растворах.

Время подвижности спермиев белуги в растворах различных токсикантов и влияние на него эпина. Сравнение времени подвижности спермиев белуги (от момента активации до полной остановки) в растворах токсикантов разной концентрации (фенол 0.1, 25 мг/л, ксилол 0.1, 25 мг/л, кадмий 1.0, 0.005 мг/л, медь 0.01, 10 мг/л и ялан 0.01, 10 мг/л), разведенных на чистой воде и на растворе эпина 10⁻⁷ мг/л показало, что практически во всех исследованных токсикантах, в указанных концентрациях, присутствие эпина повышало время подвижности спермиев белуги: в феноле почти в два раза, в ксилоле - 1.12-1.38 раза, в ялане - в 2.3 раза, в меид - от 1.1 до 2 раза. В кадмии увеличения подвижности спермиев не обнаружено.

Результаты, полученные в растворах токсикантов без эпина и с эпином представлены на рис. 3.

Выживаемость личинок севрюги при воздействии Cu 1 мг/л

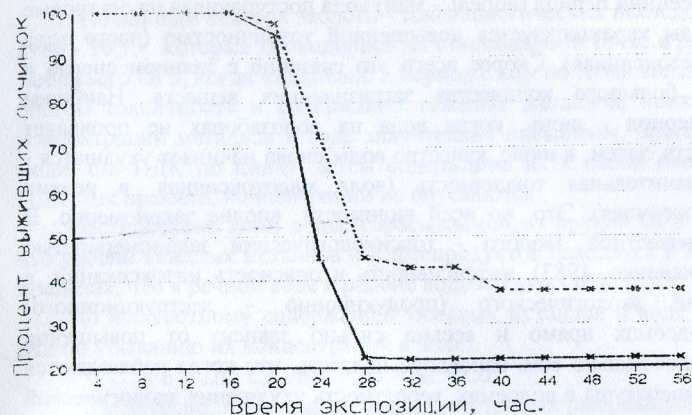


Рис. 2

—×— Без эпина - - - × - - - С эпином 10⁻⁷ мг/л

Среднее время подвижности спермы белуги в норме и при обработке эпином

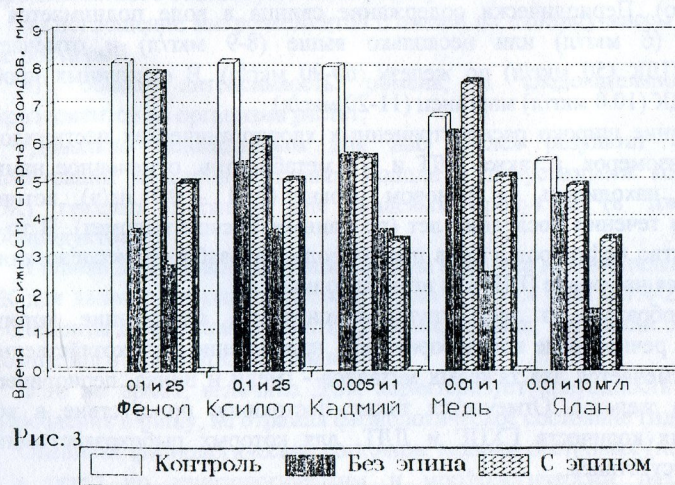


Рис. 3

□ Контроль ▨ Без эпина ▩ С эпином

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследования, проведенные в Астраханской области в 1995 - 1996 г.г. показали, что в весенний период (апрель - май) вода поступающая на осетровые рыбоводные заводы характеризуется повышенной токсичностью (часто вода высоко - и среднетоксичная). Скорее всего это связано с таянием снегов и смывом в реку большого количества загрязняющих веществ. Наиболее благополучный период - июнь, когда вода на водозаборах не проявляет токсических свойств, затем, в июле, качество воды снова начинает ухудшаться - проявляется незначительная токсичность (вода малотоксичная, в редких случаях - среднетоксичная). Это, по всей видимости, вполне закономерно. В соответствии с известной эколого - токсикологической закономерностью (Патин, 1979; Лукияненко, 1983), интенсивность и опасность интоксикации, а также нарушение экологического (продукционно - деструкционного) равновесия в водоёмах прямо и весьма сильно зависит от повышения температуры. Следовательно есть основание полагать, что когда наблюдаются максимальные температуры в водоемах, вероятность ухудшения экологической и эколого - токсикологической ситуации велика. Именно такую картину мы наблюдаем в июле, при наиболее высокой температуре воды.

Параллельно с оценкой общей токсичности воды мы исследовали содержание в воде тяжелых металлов (Fe, Zn, Cu, Mn, Cd, Ni, Pb), хлорорганических пестицидов (α -ГХЦГ, γ -ГХЦГ, ДДЕ, ДДД, ДДТ) и нефтяных углеводородов

В течении всего периода исследований, совпадающего с рыбоводным процессом на осетровых заводах (апрель - август), в воде постоянно отмечается концентрации цинка и меди превышающие ПДК (в среднем 2 - 3 и 2 - 6 ПДК соответственно). Периодически содержание свинца в воде поднимается до уровня ПДК (6 мкг/л) или несколько выше (8-9 мкг/л) и отмечается превышении ПДК (50 мкг/л) по железу (60-90 мкг/л). В единичных пробах превышает ПДК (10.0 мкг/л) марганец (11-20 мкг/л).

Содержание широко распространенных хлорорганических пестицидов - ГХЦГ и его изомеров, а также ДДТ и его метаболитов, отмеченное нами в пробах воды, находилось на фоновом уровне (0.01 - 0.7 нг/л), который наблюдается в течении последних лет (по данным Роскомгидромет). В то же время количество нефтепродуктов в пробах воды водозаборов, исследованных нами, находится на уровне ПДК или несколько ниже.

Таким образом из трех групп токсикантов, содержание которых оценивалось в речной воде водозаборов ОРЗ, превышение рыбохозяйственных нормативов отмечается для тяжелых металлов - (меди и цинка, периодически для свинца и железа). Отмечается также постоянное присутствие в воде незначительных количеств ГХЦГ и ДДТ, для которых рыбохозяйственный норматив - «отсутствие».

Отмеченные в речной воде токсиканты и другие загрязняющие вещества, которые нами не исследовались, так же способствуют повышению общей токсичности воды в начале и конце рыбоводного сезона.

По данным сектора эколого - токсикологических исследований ВНИРО за 1986 - 90 г.г. которые проводились на стационарной точке в районе водозабора Лебяжьего ОРЗ, когда ежедневно в период с мая по июль вода исследовалась на общую токсичность и содержание тяжелых металлов, показано, что весной концентрации металлов в воде значительно повышены, достигают 30 ПДК по меди, 6-8 ПДК по цинку, затем содержание их к осени снижается, но ниже ПДК, как правило, концентрации не опускаются.

Исследование нами воды, сбрасываемой из прудов ОРЗ в реку, показало, что уровни тяжелых металлов и нефтепродуктов находятся в этой воде в тех же пределах, что в речной воде в районе водозаборов ОРЗ.

По абсолютному содержанию тяжелых металлов в воде можно составить ряд по убыванию их концентраций в воде:



Характерно, что в тканях молоди осетровых рыб, выпускаемой из прудов, сохраняется та же тенденция в распределении металлов. В то же время выявить зависимость накопления тяжелых металлов от видовой принадлежности молоди не удалось. Для этого необходимо продолжать исследования и обобщить за разные годы результаты значительного количества проб. При сопоставлении массы молоди с количеством микроэлементов в их организме - установлено, что с повышением размера и массы молоды, количество микроэлементов в их тканях уменьшается. Это согласуется с имеющимися на данный момент представлениями об общих закономерностях тенденциях изменения микроэлементного состава рыб от их размеров:

- а) поглощение микроэлементов с пищей на единицу массы снижается по мере роста рыб,
- б) общая интенсивность обмена, а следовательно, выведение микроэлементов из организма растет,

Довольно неожиданным для нас явился результат сопоставления концентраций металлов в тканях молоди с допустимыми концентрациями (ДОК) тяжелых металлов для пищевых продуктов (в том числе для рыбопродуктов).

В тканях молоди концентрации свинца и железа незначительно превышают ДОК для данных металлов: соответственно в 1.2-1.4 раза и 1.4-2 раза. Именно эти элементы в воде превышают ПДК эпизодически, в отличии от постоянного превышения в воде ПДК цинка и меди.

В то же время, величина ДОК характеризует пригодность продукта для употребления в пищу, не отражая физиологическое состояние гидробионтов.

Оценивая физиологическое состояние молоди осетровых (перед выпуском их в реку) по гематологическим и морфологическим показателям, мы характеризуем его как удовлетворительное, поскольку концентрация

гемоглобина, общего сывороточного белка, числа эритроцитов оказались в пределах нормы (соответственно 2.3 - 4 г%; 1.0- 2.3 %, 0.45 - 0.77 млн/мм³ для белуги и осетра, 0.7 - 0.9 млн/мм³ для севрюги).

Обнаруженные у молоди морфологические аномалии в период исследования можно разделить на массовые и единичные. К массовым относится катаракта глаз (частичная или полная слепота), к единичным (отмечена в 1995 г.) - несращение перемычки обонятельных органов. Эта аномалия относится к наследуемым морфологическим изменениям (Кирпичников, 1987), является устойчиво повторяющейся, отражающей изменение в организме, возникающие возможно, под влиянием какого - либо постоянного прессинга. Есть так же мнение (лекция проф. А.О. Касумяна, 1997), что данная аномалия при массовой проявлении может быть следствием бактериальной инфекции эпидерма.

Наиболее массовой и опасной аномалией является слепота (точечная или полная), которая частично вызвана инвазией паразитов в хрусталике глаза (метацеркарии рода *Diplostomum*), а частично имеет неясную этиологию (возможно интоксикацию). Слепота мальков отмечалась как в 1995, так и в 1996 г.г.

В среднем по заводам Астраханской области среди выпущенной молоди в 1996 г. здоровой молоди белуги было 100% (не имели морфологических аномалий); молоди осетра - 40%, севрюги - 60%.

Исследование состояния зрелой неоплодотворенной икры волжских осетровых (белуга, севрюга, русский осетр) показало, что не более 24% икринок у части самок элиминирует при оплодотворении, остальные жизнеспособны. В то же время, высокий процент отмеченных морфологических аномалий икры может служить показателем степени неблагоприятия среды обитания производителей. Среди морфологических аномалий отмечаются деформация яйцеклеток, нарушения в структуре оболочек (расслоение, разрывы), неравномерное их окрашивание, нехарактерные включения в желтке, партеногенетическое развитие клеток образование под оболочками перивителлинового пространства. заполненного перивителлиновой жидкостью (окрашивается в голубой цвет анилиновым синим, который входит в состав красителя Маллори).

Аналогичные морфологические аномалии в строении яйцеклеток отмечены также у осетровых рыб, обитающих в сибирских реках (Акимова и др., 1993)

Исследование морфологических показателей личинок на стадии массового выклева (стадия 36-39) и при переходе на активное питание (стадия 42-46) можно условно разделить на 4 основных групп: нарушение морфологии тела (недоразвитие и уродливая форма глаз, обонятельного органа, головы, плавниковой каймы, жаберные крышки, укорочены усики); нарушение формирования внутренних органов (главного мозга, печени, кишечника, сердца, околосердечной полости); нарушение в строении мышечной ткани

(недоразвитие миофибрил в миотомах); наросты на эпителии тела, плавниках, хвосте, скорее всего паразитарной этиологии, но не вирусной, поскольку нет данных о вирусных поражениях осетровых.

Большее количество аномалий обнаружено нами у личинок севрюги (13 - 25) по сравнению с личинками осетра (15 - 16). Это скорее всего является следствием того, что севрюга более подвержена воздействию неблагоприятных факторов среды обитания (инкубация в период повышения температуры воды). Данные по белуге мы не обсуждаем из - за малого количества отобранных (и обработанных) проб.

Среди обследованных нами 6 заводов в 1995 г. наибольшее число видов аномалий обнаружено у осетра и севрюги Лебяжьего завода, а в 1996 г. - у осетра Житнинского завода.

В целом, следует считать, что у осетровых рыб большинство встречающихся аномалий не увеличивает нормативный отход.

Как показали результаты исследований - хорошее состояние икры в дальнейшем характеризуется наименьшими морфологическими нарушениями у личинок (например состояние икры севрюги и личинок севрюги на ЛОРЗ в 1996 г.).

Отход икры, личинок, количество морфологических аномалий не является постоянной величиной. Эти показатели меняются не только от года к году, но и значительно варьируют на разных заводах, иногда отход отдельных партий икры или личинок достигает большой величины. Это связано как с качеством икры отдельных производителей, так и с экстремальными абиотическими условиями (перепад температуры; повышенная температура воды, когда усиливается токсические свойства воды и т.д.)

Поэтому в настоящее время идет поиск возможных путей снизить отрицательное влияние среды на ранние стадии онтогенеза рыб. Одним из направлений поиска является возможность исследования биологически активных веществ (БАВ).

Выполненные нами работы по исследованию защитных свойств на ранние стадии онтогенеза осетровых биологически активного вещества эпина были начаты на основании ранее проведенного комплекса исследований в Астраханском государственном университете, в которых было показано общее благоприятное воздействие этого вещества на выживаемость икры, личинок и молодь осетровых при экстремальных абиотических условиях: резкое повышение температуры воды, дефицит кислорода (Витвицкая, Никоноров, 1995; Егоров, Витвицкая, 1995; Витвицкая, 1996). Поэтому данная часть диссертационной работы носила в значительной степени поисковый характер и ставила перед собой задачу выявить на качественном уровне наличие или отсутствие защитного действия этого вещества в токсических растворах загрязняющих веществ разной природы, для разных видов и стадий онтогенеза осетровых. Этим объясняется, возможно, недостаточно подробный анализ каждого из поднимавшихся вопросов. Тем не менее, существенно то, что при

постановке самых разноплановых экспериментов на икре, личинках, сперме того или иного вида осетровых, мы приходили к положительному заключению о благоприятном влиянии эпина на жизнедеятельность организма в остротоксических условиях. Это позволило нам сделать вывод о перспективности дальнейших исследований по применению эпина.

ВЫВОДЫ

1. Показано, что в весенний период (апрель - май), когда начинают работу осетровые рыболовные заводы, речная вода в районе водозаборов характеризуется повышенной токсичностью. Токсичность воды отмечается так же, но в меньшей степени, в конце рыболовного сезона - в июле.

2. Наблюдается на протяжении всего периода исследований (апрель - июль 1995 - 1996 г.г.) превышение ПДК меди и цинка (в 2-3 раза) в воде водозаборов ОРЗ. Периодически на уровне ПДК и несколько выше находятся свинец и железо, в единичных пробах - марганец. Остальные исследованные металлы - никель, кадмий - уровень ПДК не превышали.

По убыванию абсолютных концентраций ионов металлов в речной воде они располагаются в ряд: $Fe > Zn > Cu \approx Mn > Pb > Ni > Cd$.

3. Отмечено аналогичное распределение микроэлементов в тканях молоди осетровых, выпускаемых с ОРЗ: $Fe > Zn > Cu \approx Mn > Pb > Ni > Cd$.

Не выявлена зависимость накопления тяжелых металлов от видовой принадлежности молоди осетровых.

Установлено, что с повышением размера и массы исследованной молоди осетровых, количество микроэлементов в её тканях уменьшается.

Отмечено превышение в тканях молоди осетровых допустимых концентраций (ДОК) для пищевых продуктов (в том числе для рыбопродуктов) свинца и железа соответственно в 1.2-1.4 и 1.4-2 раза.

4. Показано, что по гематологическим показателям (в пределах оптимума), а так же по морфологическим отклонениям (массовое отклонение - слепота - 19%, единичное - несращение перемычки обонятельных органов) физиологическое состояние молоди осетровых, выпускаемых с ОРЗ в реку можно оценить как удовлетворительное.

5. Отмечены морфологические аномалии неоплодотворенной икры осетровых рыб: деформация яйцеклеток, нарушения в структуре оболочек (расслоение, разрывы), неравномерное окрашивание (при гистологической обработке икры), нехарактерные включения среди желтка, партеногенетическое развитие клеток, образование под оболочками перивителлинового пространства, заполненного перивителлиновой жидкостью (окрашивается в голубой цвет за счет анилинового синего, входящего в состав красителя Маллори). При этом не более 24% икринок у части самок элиминируют при оплодотворении, остальные жизнеспособны.

Отмечены морфологические аномалии у личинок на стадии массового выклева и перехода на активное питание: нарушения морфологии тела;

нарушения формирования внутренних органов; в строении мышечной ткани; наросты на эпителии тела, плавниках, хвосте.

Большее количество аномалий обнаружено у личинок севрюги (13 - 25) по сравнению с личинками осетра (15 - 16).

6. Показано, что синтетический фитогормон эпибрассинолид (препаративная форма «эпин») обладает выраженным эффектом повышения жизнестойкости ранних стадий онтогенеза осетровых рыб.

Обработка икры осетровых на стадии осеменения и обесклеивания или личинок в возрасте 1-3 суток) эпином в концентрации 10^{-4} - 10^{-7} мг/л (в пересчете на эпибрассинолид) повышает выживаемость икры (5-40%) и личинок (18-40%), увеличивает время подвижности спермиев (12-100%) в экстремально высоких концентрациях (LD_{50} за 48-144 ч) различных токсикантов: тяжелых металлов Cu, Zn, Cd, фенола, ксилола, пестицида - ялана, а так же их смесей.

1. Абтахи Б. Возможности использования биологически активных веществ для защиты зародышей и личинки осетровых от токсических поражений. //Тез. XXXX науч. -тех. конф. проф. преп. сост. АГТУ, Астрахань. 1996. С. 84-85.
2. Абтахи Б., Витвицкая Л.В. Возможность использования фитогормонов - иммуномодуляторов для защиты икры, личинок и молоди осетровых от токсических воздействий на рыбоводных заводах. //Тез. докл. Первого всероссийского конгресса ихтиологов. 1997 г. С. 304-305.
3. Витвицкая Л.В., Абтахи Б. Возможность использования иммуномодуляторов для снижения терратогенеза у осетровых при неблагоприятных воздействиях. //Структурные преобразования органов и тканей на этапах онтогенеза в норме и при воздействии антропогенных факторов. Проблемы экологии в медицине. Мат. междунар. конф. Астрахань, 1996 г. С. 38.
4. Витвицкая Л.В., Никоноров С.И, Тихомиров А.М., Загрийчук В.П., Абтахи Б., чл.-корр. РАН Воробьева Э.И. Влияние некоторых токсикантов на поведение молоди русского осетра и токсикопротекторные эффекты биологически активных веществ. //Доклады Российской Академии наук. 1997. Т. 352, N 6. С. 842-844.
5. Соколова С. А., Сторожук Н. Г., Горюнова В. Б., Старцева А. И., Абтахи Б. Оценка токсических свойств воды, поступающей на осетровые рыбоводные заводы р. Волги// Съезд Гидробиологического общества РАН, Казань 1996. С.79-80.

Находятся в печати:

6. Абтахи Б. Возможности использования эпина для защиты зародышей и личинки осетровых от токсических поражений.//Тез. XXXXI науч. -тех. конф. проф. преп. сост. АГТУ, Астрахань. 1997.
7. Витвицкая Л.В., Б. Абтахи. Исследование последствий обработки икры осетровых рыб биологически активными веществами.//Вестник АГТУ, 1997 г.