

0- 810706

На правах рукописи



**Шуман
Леонид Александрович**

**ГИСТОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ И
РЕПРОДУКЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ У РЫБ
В ВОДОЕМАХ ОБЪ-ИРТЫШСКОГО БАССЕЙНА
С РАЗЛИЧНОЙ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКОЙ**

03.02.06 – ихтиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва, 2015

Работа выполнена в Центре экологических исследований и реконструкции биосистем Института Биологии Тюменского государственного университета

Научный руководитель:

доктор биологических наук, доцент
Селюков Александр Германович
ФГБОУ ВПО «Тюменский государственный университет», профессор кафедры зоологии и эволюционной экологии животных

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор
Решетников Юрий Степанович
ФГБУН «Институт проблем эволюции и экологии имени А.Н. Северцова», РАН (ИПЭЭ РАН), вед. науч. сотр.

НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА
КФУ



0000944528

кандидат биологических наук
Пьянова Светлана Владимировна
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» (ФГБНУ «ВНИРО»), вед. науч. сотр.

Ведущая организация:

ФГБНУ «Государственный научно-исследовательский институт озерного и речного рыбного хозяйства» (ФГБНУ «ГосНИОРХ»)

Защита состоится «15» мая 2015 г. в 11⁰⁰ ч. на заседании диссертационного совета Д 307.004.01 при Всероссийском научно-исследовательском институте рыбного хозяйства и океанографии (ФГБНУ «ВНИРО») по адресу: 107140 г. Москва, ул. Верхняя Красносельская, д. 17.

Факс 8-499-264-91-76, электронный адрес: sedova@vniro.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБНУ «ВНИРО»: http://www.vniro.ru/files/disser/2014/shyman_dissertaciya.pdf

Автореферат разослан «03» апреля 2015 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
канд. биол. наук

Марина Александровна Седова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В последнее время остро обозначилась проблема загрязнения водной среды, истощения водных биоресурсов, среди которых существенную роль играют рыбные запасы. Рыбы являются ценным пищевым ресурсом и, в большинстве случаев представляя высшие трофические звенья водных экосистем, на протяжении всей жизни аккумулируют различные поллютанты, поступающие в среду в результате человеческой деятельности. Разработка полезных ископаемых, индустриальные, сельскохозяйственные и бытовые сбросы, трансграничные потоки загрязнений и т. д., приводят к эвтрофированию, закислению водоёмов, появлению в них токсичных веществ (Моисеенко, 2008), что, в конечном итоге, оказывает негативное воздействие на рыб.

Западносибирский регион – важнейшая нефтегазовая провинция страны, и ущерб, наносимый водным биоресурсам (прежде всего популяциям рыб) добычей углеводородов, постоянно возрастает. Воды рек Западной Сибири на всём протяжении загрязнены нефтепродуктами, концентрация которых на отдельных участках превышает 190 ПДК (Брызгалов, Иванова, 2009). Воды Оби ежегодно выносят около 120 тыс. тонн нефтепродуктов (Калинин, 2001; Хорошавин 2010), что составляет примерно 2,5% от общемирового поступления нефтепродуктов в окружающую среду из антропогенных источников (Wilson, LeBlanc, 1998). При этом водные экосистемы северной Евразии обладают сравнительно низкими темпами биогеохимических процессов и слабой способностью экосистем к самовосстановлению, т.е. характеризуются повышенной чувствительностью к неблагоприятным антропогенным воздействиям.

В настоящее время в мировой науке уделяется большое внимание изучению влияния различных токсикантов и других факторов среды на водные организмы, среди которых рыбы имеют первостепенное значение (Adams, 2002; Stephensen et al., 2003; Hagger et al., 2006; Diniz et al, 2011).

В экотоксикологических исследованиях широко используются гистопатологические биомаркеры, обладающие высокой чувствительностью и характеризующие состояние таких органов-мишеней как жабры, почки и печень, которые отвечают за дыхание, выделение, аккумуляцию и биотрансформацию ксенобиотиков в организме (Au, 2004; Hinton et al., 2008; Schlenk et al., 2008).

Главным условием устойчивого существования популяции является её репродукционный потенциал, обусловленный как численностью и структурой популяции, так и физиологическими особенностями функционирования репродуктивной системы, определяющими индивидуальную плодовитость (Шатуновский, Рубан, 2009). Поэтому гистологические исследования

репродуктивной системы рыб из загрязнённых акваторий весьма актуальны для оценки устойчивости и репродукционного потенциала популяции.

Цель работы состояла в оценке морфофункциональных преобразований внутренних органов и репродукционного потенциала сиговых, карповых и окунёвых рыб в разнотипных водоемах Обь-Иртышского бассейна с различной антропогенной нагрузкой.

Задачи:

1) Изучить морфофизиологическое состояние и гистопатологии внутренних органов пеляди и сига-пыжьяна из Нижней Оби и Северной Сосьвы, плотвы и окуня – из озера Обь-Иртышского бассейна (в пределах Тюменского региона) с различной степенью антропогенного загрязнения.

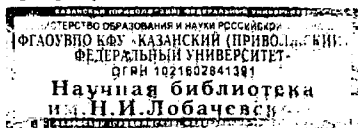
2) Оценить связь морфологических и гистопатологических показателей исследуемых рыб с естественными и антропогенными факторами среды.

3) У изучаемых рыб Обь-Иртышского бассейна провести анализ репродуктивных показателей, анатомических и гистологических аномалий половых желёз.

4) Проанализировать влияние гидрохимического режима водоемов бассейна Средней и Нижней Оби и гистопатологического состояния внутренних органов на гаметогенез и формирование индивидуального репродукционного потенциала рыб.

Научная новизна. Впервые проведён комплексный сравнительный анатомо-физиологический и гистологический анализ рыб разных экологических и систематических групп, наиболее часто встречающихся в речных и озёрных экосистемах из разных природных зон Обь-Иртышского бассейна – пеляди, сига-пыжьяна, плотвы и окуня, с учётом климатических, гидрологических, гидрохимических и токсикологических факторов. Получены новые данные по гистопатологиям рыб, в зависимости от степени и продолжительности антропогенной нагрузки на экосистему. С использованием разработанной нами методики учета ооцитов разных генераций исследована связь между индивидуальными репродуктивными показателями особей и степенью патологических изменений соматических органов. Показано влияние гистопатологического состояния внутренних органов пеляди Обского бассейна на вероятность пропуска ими нереста.

Практическая значимость. Полученные результаты могут найти применение в системе биоиндикации состояния водоёмов для оценки ущерба, наносимого водным экосистемам промышленными предприятиями и добычей углеводородного сырья в Западной Сибири. Данные по индивидуальным репродуктивным показателям и методические подходы по их получению могут быть использованы для оценки репродукционного потенциала популяций рыб



Обь-Иртышского бассейна, прогнозирования изменения численности популяций, определения допустимых уловов и т. д.

Положения, выносимые на защиту

1. Репродукционный потенциал обских сиговых рыб формируется в течение летнего сезона, когда часть популяции может оказаться в загрязненных акваториях, что приводит к снижению воспроизводительной способности популяции и повышению вероятности пропуска нереста.

2. Морфофункциональное состояние рыб Обь-Иртышского бассейна в современных условиях в значительной степени обусловлено не столько интоксикацией нефтепродуктами, сколько сопутствующей трансформацией гидрохимических параметров водоёма под влиянием загрязнения.

Личный вклад автора. Автор участвовал в большинстве экспедиций по сбору ихтиологического материала, выполнял общий биологический и гистологический анализы, разработал методику учета ооцитов с применением конфокальной микроскопии толстых срезов яичника, целиком выполнил статистическую обработку и интерпретацию результатов исследования.

Апробация работы. Основные положения работы докладывались и обсуждались на международных и всероссийских совещаниях: первой международной конференции молодых учёных NACEE, г. Тюмень, 2009; VII, VIII международных научно-производственных совещаниях по биологии, биотехнике разведения и состоянию запасов сиговых рыб (Тюмень, 2010, 2013); всероссийской конференции с международным участием: «Физиологические, биохимические и молекулярно-генетические механизмы адаптаций гидробионтов», Борок, 2012; международной научной конференции, посвящённой 100-летию ГОСНИОРХ «Рыбохозяйственные водоёмы России», Санкт-Петербург, 2014; на заседаниях кафедры зоологии и эволюционной экологии животных Тюменского государственного университета.

Публикации. Результаты исследований отражены в 12 публикациях, в том числе в 5 статьях научных журналов из списка ВАК, а также в статьях научных сборников и тезисах докладов на международных и всероссийских конференциях.

Объём и структура работы. Диссертация изложена на 179 страницах, включает 2 таблицы, 67 рисунков (включая 89 микрофотографий), а также 23 приложения; состоит из введения, четырёх глав, обсуждения, выводов и списка литературы, включающего 219 источников, из которых 59 иностранных авторов.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность научному руководителю д.б.н. А.Г. Селюкову за ценные советы и помощь в планировании работы, проведении экспедиционных работ и обработке результатов исследования. Автор также выражает благодарность аспирантам кафедры

зоологии и эволюционной экологии животных Тюменского государственного университета И.С. Некрасову, Л.С. Пашиной и В.А. Киселевой за участие в сборе и обработке материалов исследования, к.б.н. Д.Н. Кырову – за ценные советы и выполненный им анализ концентраций тяжёлых металлов в органах рыб. Отдельную благодарность автор выражает руководителю лаборатории качества вод и устойчивости водных экосистем ТюмГУ, созданную в рамках проекта «Качество вод в условиях антропогенных нагрузок и изменения климата в регионах Западной Сибири», чл.-корр. РАН, д.б.н. Т.И. Моисеенко за предоставленную возможность сбора и анализа ихтиологического материала и общее руководство междисциплинарным проектом.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Приводится обзор литературы о морфофункциональном состоянии рыб в различных экологических условиях. Дается климатогеографическая характеристика района исследований, рассматриваются литературные данные о климатических, гидрологических и гидрохимических условиях в речных и озёрных системах Обь-Иртышского бассейна, анализируется антропогенное загрязнение рассматриваемых акваторий (Очерки по гидрологии ..., 1953; Уварова, 1998; Лезин, 1999, 2011; Калинин, 2001; Экология рыб..., 2006; Темерев, 2008; Романова и др., 2009; Брызгалов, Иванова, 2009; Хорошавин, 2010; Кремлёва, Моисеенко, 2012 и др.).

Проанализированы литературные данные о морфофункциональных показателях и гистопатологических изменениях жабр, печени, почек и гонад рыб под воздействием различных поллютантов (Амниева, 1984; Матей, 1987, 1990, 1993; Моисеенко, 1987; Moiseenko et al., 1993; Решетников, 1994; Heath, 1995; Решетников и др., 1999; Bernet et al., 1999; Моисеенко, Лукин, 1999; Hinton et al., 2001; Pacheco, Santos, 2002; Лукин, Шарова, 2002; Селюков, 2002 а,б, 2007; Wilson, 2002; Lawrence et al., 2003; Au, 2004; Романов и др., 2006; Моисеенко, Шарова, 2006; Srivastava et al., 2012; Riou et al., 2012; Fricke et al., 2012; Agamy, 2012; Galus et al., 2013a,b; Jinling Cao et al., 2013; Емельянова и др., 2014; Лукина, 2014 и др.).

Приводятся литературные сведения об особенностях гаметогенеза, половых циклов и репродуктивной стратегии рыб в различных экологических условиях (Персов, 1972; Никольский, 1974; Кузьмин, Крупкин, 1976; Wallace, Selman, 1981; Селюков, 1986, 1989, 2012; Моисеенко, 2002; Бабий, Сергеева, 2003; Rowe, 2003; Исаков, Селюков, 2005, 2010; Шилова, Шатуновский, 2005; Шатуновский, 2006; Большаков, Моисеенко, 2009; Шатуновский, Рубан, 2009; Моисеенко, 2010 и др.).

Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сбор материала проводили в 2011-2012 гг. в разноширотных водоёмах Тюменской области. Пробы отбирали в августе в озёрах Тундровой зоны полуостровов Ямал и Гыданский, в июле-августе – в озёрах Северотаежной (Пягунто), Среднетаёжной (Рангетур, Томталяктур, Качнылор, Ентльлор, Польтур, Белое), Южнотаежной (Сыровский Сор, Долгий Сор) и Северной лесостепной (Угрюмово) природно-климатических зон. При начале анадромной миграции сиговых из Обской губы их отлов проводили в устьевой зоне Оби у пос. Ямбура (май-июнь 2012 г.), во время нагула в Северной Сосьве (июль, 2012 г.) и во время нерестовой миграции на Нижней Оби – у пос. Белогорье (сентябрь, 2012 г.)

Для анализа выбраны виды, принадлежавшие к разным систематическим и экологическим группам: планктофаг пелядь *Coregonus peled* (Gmelin), бентофаг сиг-пыжьян *Coregonus lavaretus pidschian* (Gmelin), бентофаг и хищник окунь *Perca fluviatilis* L., эврифаг плотва *Rutilus rutilus* L.

Рыб подвергали визуальному анализу, измеряли и взвешивали; определяли общую массу тела, массу гонад и массу тела без внутренностей, стадии зрелости гонад определяли по О.Ф. Сакун и Н.А. Буцкой (1968) с модификациями (Селюков, 1989). Содержание гемоглобина (г/л) в крови, отобранной из гемального канала, определяли на гемоглобинометре Минигем 523, готовили препараты мазков крови. Для гистологического анализа участки жабр, печени, почек, кишечника и гонад фиксировали в смесях Буэна и Бродского.

Препарировали участки жабр, печени, почек, мышц и позвоночника для определения тяжёлых металлов в лаборатории биохимических механизмов адаптации Тюменского государственного университета методом атомно-адсорбционной спектроскопии.

Количество рыб, отобранных для всех видов анализа, составило 682 экземпляра (табл. 1).

Гистологический анализ органов проводили по стандартным гистологическим методикам (Ромейс, 1953; Микодина и др., 2009), срезы окрашивали железным гематоксилином по Гейденгайну. Подсчёт ооцитов разных генераций на срезах яичников осуществляли с использованием методики поправочных коэффициентов, в соответствии с которой учитываются диаметры клеток, и относительное количество ооцитов определённой группы вычисляется по формуле:

$$N_i(\%) = \left(\frac{n_i}{D_i t} : \sum_{i=1}^n \frac{n_i}{D_i t} \right) \times 100, \quad (1)$$

где N_i (%) – относительное количество ооцитов данной группы, %; n – количество размерных групп ооцитов; D – диаметр ооцитов данной группы.

Таблица 1.

Объём собранного материала

Природная Зона/Река	Вид	Количество особей	Количество препаратов	
Озёрные системы				
Арктическая тундра	Сиг - пыжьян	65	315	
Северная тайга	Окунь	30	150	
Средняя тайга	Плотва	103	280	
	Окунь	276	586	
Южная тайга	Окунь	45	30	
	Плотва	55	20	
Северная лесостепь	Окунь	14	70	
Речные системы				
р. Обь	Устье Оби	Пелядь	51	255
		Сиг-пыжьян	32	160
	Нижняя Обь	Пелядь	35	175
р. Северная Сосьва	Пелядь	79	211	
Итого	12 озёр, 3 речных акватории	4 вида	682	2252

Тотальный учёт ооцитов проводили на толстых (0.5-1 мм) срезах яичника по разработанной нами методике: срезы окрашивали флуоресцентными красителями (акридиновый оранжевый, родамин и др.) и анализировали на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе LSM 510Meta с использованием аргонового ($\lambda=488\text{nm}$) и гелий-неонового ($\lambda=543\text{nm}$) лазеров. При помощи программного обеспечения LSM 510 строили трёхмерные модели участков яичника, подсчитывали и анализировали все превителлогенные и вителлогенные ооциты на всю глубину среза.

При анализе гистологических препаратов вычисляли индекс патологии органа, рассчитываемый из суммы долей каждой патологии, умноженной на т.н. коэффициент значимости (Bernet, 1999). Коэффициент значимости присваивали каждой патологии, в зависимости от её опасности для здоровья рыбы и функции органа.

При анализе гематологических препаратов проводили подсчет клеток белой крови: на каждом препарате случайным методом выбирали 50 участков

размером 100×135 мкм. Учитывали количество особей с патологиями клеток и рассчитывали их долю от числа всех особей.

Всего с использованием разных методов было изготовлено 2252 препарата.

Для статистического анализа использовали программный пакет STATISTICA Statsoft, Inc. (v.6, 2006) и MS Excel (2007). Рассчитывали коэффициент корреляции рангов Спирмана и непараметрический критерий Манна-Уитни. Корреляционный анализ концентраций тяжёлых металлов проводили на одновозрастных особях. Различия между выборками определяли с 95% доверительной вероятностью безошибочных прогнозов.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Пелядь и сиг-пыжьян

В июне – сентябре 2012 г. нами были исследованы три группы обской полупроходной пеляди: из устья Оби в начале анадромной миграции (июнь) после зимовки в Обской губе; особи, нагуливающиеся в притоке Оби – Северной Сосьве (июль) и рыбы из Нижней Оби во время нерестовой миграции (сентябрь). В работе приведены результаты исследований речной популяции сига-пыжьяна из устьевой зоны Оби и озерных – из оз. Гольцовое (Гыданский п-ов) и оз. Лангтибейто (п-ов Ямал). Исследованные озёра считались условно-чистыми, находились вне зоны интенсивного антропогенного влияния, отчего морфофункциональное состояние сига-пыжьяна в них можно считать фоновым по отношению к обской популяции.

Размерно-весовые показатели изученных групп пеляди для одновозрастных самцов и самок различаются незначительно. Гонадосоматический индекс у самцов и самок исследованных групп закономерно возрастает с июня по сентябрь, а интенсификация вителлогенеза наблюдается во второй половине исследуемого периода.

У всех изученных особей пеляди и сига-пыжьяна наблюдаются те или иные гистопатологии внутренних органов, наиболее распространёнными из которых были утолщения ламелл и десквамация респираторного эпителия в жабрах (рис. 1а), некроз тканей в печени (рис. 1б), соединительнотканное разрастания в почках (рис. 1в).

При сравнении степеней патологичности внутренних органов пеляди установлено, что индексы патологий печени и почек пеляди из Северной Сосьвы достоверно выше (рис. 2). В ее жабрах достоверно чаще ($p < 0,95$), чем у других групп, отмечали гиперплазию и лизис клеток респираторного эпителия, охватывавших до 30% участков органа. В печени чаще встречали разрастания соединительной ткани, а в почках также достоверно чаще выявляли

меланомакрофагальные центры, воспаление, нефрокальцитоз, фиброэластоз, некроз и др.



Рис. 1. Наиболее распространённые патоморфологические изменения внутренних органов пеляди Обского бассейна:

а – утолщение терминалей респираторных ламелл (выделенная зона), десквамация эпителия и аневризмы (стрелки) в жабрах пеляди, устье Оби, x100;

б – разрушение печёночной ткани (стрелка), там же, x200;

в – фиброэластоз кровеносного сосуда (стрелка) и боуменовой капсулы (две стрелки) в почках, там же, x200

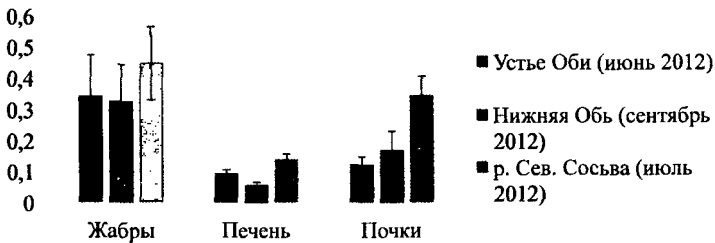


Рис. 2. Индекс гистопатологий внутренних органов пеляди в разных участках бассейна Нижней Оби

Возможно, более высокие значения показателей патологичности органов пеляди в Северной Сосьве связаны с загрязнением вод тяжелыми металлами, в частности, кадмием, для которого на отдельных участках этой реки зафиксировано трёхкратное превышение ПДК (Романова, 2009).

У сига-пыжьяна из озёр арктической тундры, характеризующихся низким уровнем антропогенной нагрузки, количество патологий внутренних органов оставалось незначительным, их площадь на срезах не превышала 1%, но у речных особей этого вида из Оби, как и у обской пеляди, отмечены более высокие индексы гистопатологий (10-30%).

В гонадах обской пеляди значительных гистологических нарушений не выявляли. В яичниках пеляди из устья Оби (июнь) старшей генерацией половых клеток были ооциты фазы вакуолизации цитоплазмы, в строме гонады присутствовали опустевшие фолликулы от прошлого нереста (рис. 3а). У самок, нагуливающих в Северной Сосьве, число вителлогенных ооцитов возрастало, между ними располагались многочисленные превителлогенные ооциты очередных генераций (рис. 3б). В период нерестовой миграции (сентябрь) яичники пеляди находились в IIIв стадии зрелости, большую часть гонады занимали вителлогенные ооциты (рис. 3в).

Гистологический анализ гонад обской пеляди позволил заключить, что пик гаметогенеза у самцов приходится на завершение нагульного сезона (сентябрь), а вителлогенез самок растянут почти на весь вегетационный период и нерестовую миграцию (конец мая - сентябрь), что является следствием большей энергозатратности оогенеза, по сравнению со сперматогенезом. Это может служить дополнительным подтверждением того, что именно репродукционный потенциал самок является показателем, лимитирующим воспроизводство популяции.

Анализ размерного распределения ооцитов у пеляди, находящихся на разных этапах анадромной миграции (рис. 4), позволил уверенно заключить, что нерестовой фонд ооцитов начинает формироваться ещё во время зимовки в Обской губе. При начале анадромной миграции у производителей, отловленных в устьевой зоне Оби, нерестовой фонд ещё не полностью отделён от резервного фонда и представлен как ооцитами фазы вакуолизации цитоплазмы, так и крупными превителлогенными ооцитами.

У самок, нагуливающих в Северной Сосьве, формирование нерестового фонда половых клеток ещё продолжается. Наличие клеток, уже выделившихся из резервного фонда, но ещё не достигших размеров или стадии развития ооцитов нерестового фонда означает, что отдельные превителлогенные ооциты из резервного фонда в продолжение всего нагульного периода продолжают переходить к вителлогенезу и пополнять нерестовой фонд. У мигрирующих на нерест особей формирование нерестового фонда ооцитов завершается, однако многие ооциты нерестового фонда ещё не достигли дефинитивных размеров.

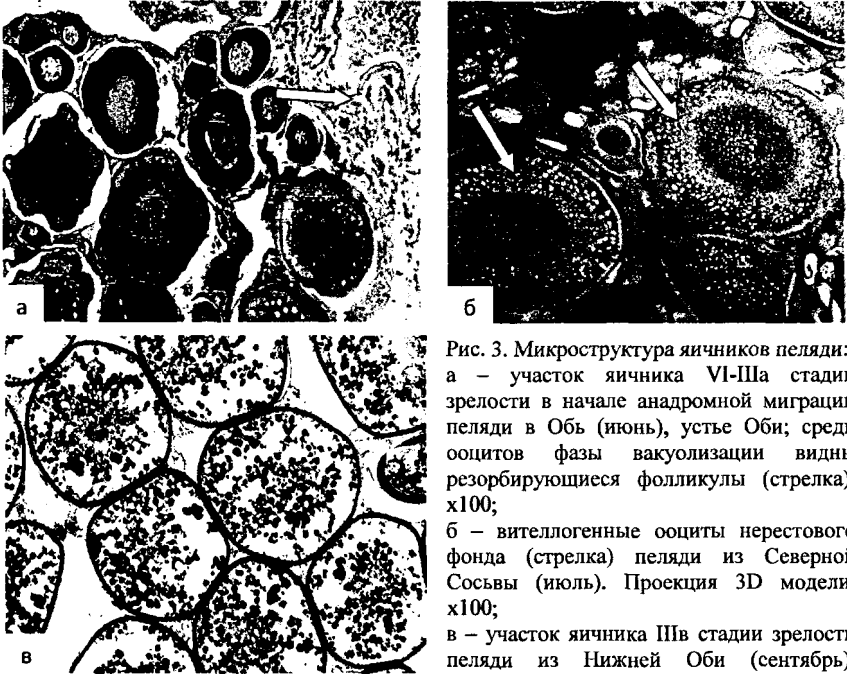


Рис. 3. Микроструктура яичников пеляди: а – участок яичника VI-IIIa стадии зрелости в начале анадромной миграции пеляди в Обь (июнь), устье Оби; среди ооцитов фазы вакуолизации видны резорбирующиеся фолликулы (стрелка), $\times 100$; б – вителлогенные ооциты нерестового фонда (стрелка) пеляди из Северной Сосьвы (июль). Проекция 3D модели, $\times 100$; в – участок яичника IIIv стадии зрелости пеляди из Нижней Оби (сентябрь), многочисленные вителлогенные ооциты фазы интенсивного накопления желтка, $\times 20$

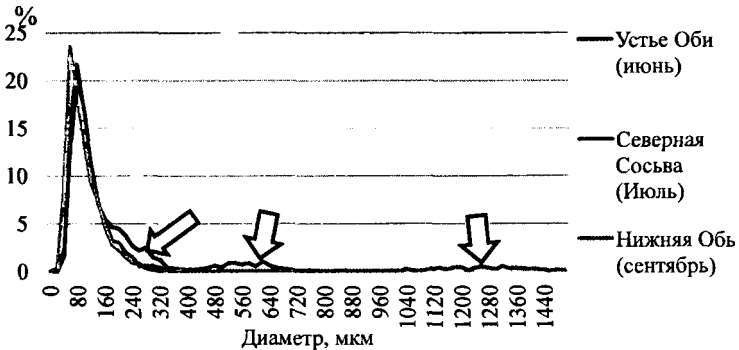


Рис. 4. Распределение по размерам ооцитов в яичниках пеляди в разных участках летне-осеннего периода. Стрелками показан нерестовый фонд ооцитов

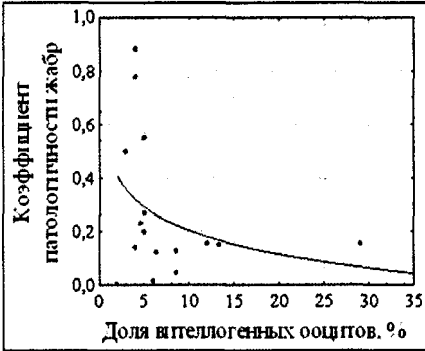


Рис. 5. Связь репродуктивных и гистопатологических показателей обской пеляди во время нерестовой миграции

Корреляционный анализ репродуктивных показателей и гистопатологий внутренних органов демонстрирует отрицательную связь гистопатологических индексов как с долей ооцитов нерестового фонда, так и с их диаметрами. В значительной степени данная закономерность проявляется у особей во время нерестовой миграции (рис. 5).

У части половозрелых самок (11%) пеляди из р. Северная Сосьва в гонадах присутствовали только превителлогенные ооциты. Такие самки пропустят предстоящий нерестовый сезон. Кроме того, у

пеляди из Северной Сосьвы была выявлена группа самок (23%), в гонадах которых присутствовали вителлогенные ооциты, хотя и в малом количестве. Эти особи с некоторой вероятностью также могут пропустить нерестовый сезон. У пропускающих нерест самок и у самок, пропускающих его с некоторой вероятностью, показатели гистологических патологий внутренних органов оказываются достоверно выше, чем у нерестящихся особей (рис. 6).

Концентрация тяжёлых металлов в тканях пеляди в начале анадромной миграции после зимовки в Обской губе значительно варьировала (табл. 2). Кадмий в наибольшей степени накапливался в почках, в печени его содержание было невелико, а в жабрах, костных и мышечных тканях его концентрация была незначительной. Для свинца и ртути характерно возрастание концентрации в ряду: скелет – мышцы – жабры – печень – почки, но разница между этими тканями была невелика. Корреляционный анализ показал, что тяжёлые металлы, особенно ртуть, накапливаются в организме с возрастом ($r = 0,7...0,9$).

Связь гистопатологий внутренних органов с накоплением в них тяжёлых металлов была в основном слабой или средней. Патологии жабр слабо скоррелированы с накоплением в них тяжёлых металлов ($r = 0,3...0,4$), но тесно – с концентрацией свинца кадмия и ртути в скелете и мышцах ($r = 0,7...0,8$), что может означать длительный, аккумулирующий характер гистологических повреждений, сохраняющихся даже после прекращения воздействия.

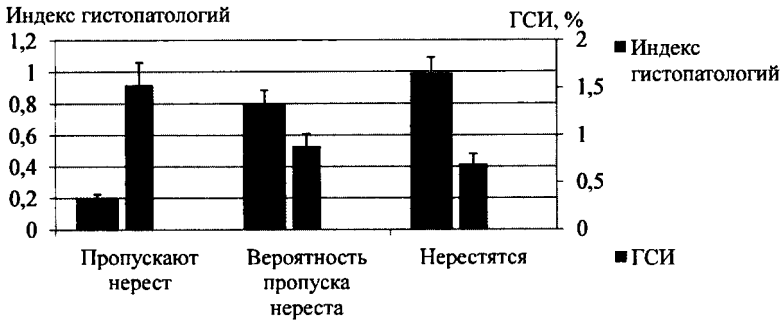


Рис. 6. Индекс гистопатологий внутренних органов и гонадо-соматический индекс самок пеляди с различной вероятностью пропуска нереста

Таблица 2.

Содержание тяжёлых металлов в тканях и органах пеляди в устье Оби

Орган	Металл, мкг/г сухого веса		
	Ртуть	Свинец	Кадмий
печень	0,021±0,012	0,146±0,082	0,116±0,031
почки	0,022±0,007	0,158±0,148	0,791±0,41
жабры	0,006±0,002	0,107±0,024	0,02±0,01
скелет	0,003±0,001	0,087±0,009	0,002±0,001
мышцы	0,007±0,003	0,118±0,010	0,003±0,001

Сходная картина наблюдается и для печени: гистопатологии этого органа слабо связаны с накоплением в них тяжёлых металлов, но имели среднюю корреляцию ($r = 0,5$) с концентрацией металлов в скелетных и мышечных тканях, т.е. в тканях, способных сохранять в себе следы этих поллютантов длительное время после интоксикации, нередко — хронической. Гистопатологические изменения почек, являющихся основным органом выведения из организма тяжёлых металлов, имели слабую корреляцию с накоплением тяжёлых металлов во всех изученных тканях.

Корреляции содержания тяжёлых металлов с репродуктивными показателями являются более тесными, чем с гистопатологиями соматических органов. Возможно, это обусловлено двойным характером влияния на гаметогенез: через угнетение поллютантами гипоталамо-гипофизарно-гонадной эндокринной системы и через снижение энергетических резервов организма вследствие токсического стресса.

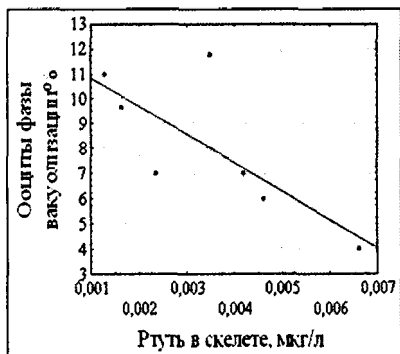


Рис. 7 Связь накопления ртути в скелете пеляди при начале анадромной миграции с долей ооцитов нерестового фонда

Характерным является то, что кадмий и свинец вызывают сокращение количества превителлогенных ооцитов ($r = -0,82 \dots -0,94$), относящихся к резервному фонду половых клеток, а ртуть — сокращение количества ооцитов старшей генерации, нерестового фонда ($r = -0,75$, рис. 7). На размеры же ооцитов отрицательно влияют все исследованные металлы, в особенности свинец ($r = -0,94$) и кадмий ($r = -0,88$).

Концентрации кадмия, ртути и свинца у обского сига-пыжьяна в разных тканях были различны, и уменьшались в ряду: почки — печень — жабры — мышцы — скелет. По сравнению с обской пелядью, у сига-пыжьяна концентрация кадмия во внутренних органах была заметно больше: в почках у отдельных особей она достигала 2 мкг/г. Очевидно, что различия в накоплении кадмия у пеляди и сига-пыжьяна являются следствием различий в характере питания этих видов: пелядь — планктофаг, сиг-пыжьян — бентофаг.

Корреляционный анализ показал, что кадмий и, в меньшей степени, свинец имели тенденцию накапливаться с возрастом и, соответственно, коррелировали с размерно-весовыми показателями ($r = 0,4 \dots 0,7$). Отметим также, что накопление тяжёлых металлов во внутренних органах, особенно в мышцах и костных тканях, приводило к снижению концентрации гемоглобина в крови ($r = -0,9$). Корреляции концентраций тяжёлых металлов во внутренних органах и их патологий у сига-пыжьяна были менее выраженными, чем у пеляди ($r = 0,3 \dots 0,4$).

3.2 Окунь

Для выявления связи качества вод и репродукционного потенциала озерной ихтиофауны нами были проведены исследования популяций окуня и плотвы из озёр таежной зоны Западной Сибири в пределах Тюменского региона, характеризующихся разной степенью антропогенной нагрузки.

Исследованные озёра значительно различаются по гидрологическому и гидрохимическому режимам, кормовой базе, присутствию поллютантов и продолжительности вегетационного периода, что находит отражение в

различиях морфофункциональных параметрах и их гистопатологических изменениях у населяющих эти водоемы особей окуня.

Анатомо-морфологические аномалии внутренних органов чаще всего встречались в печени, менее часто – в жабрах, и очень редко – в гонадах. В почках и сердце отклонения визуально не выявлялись. Наиболее часто аномалии встречались у окуня из озёр Угрюмово (до 90% особей) и Долгий Сор (у 40% рыб). В озёрах Пягунто, Качнылор, Ентльлор, Польштур, Белое, считавшихся условно-загрязнёнными, аномалии встречались у 20-30% рыб, а в озёрах Томталяхтур, Рангетур, Сырковый Сор – не превышали 20%.

При гистологическом анализе внутренних органов показано, что наибольшее количество патогистологических изменений в жабрах наблюдали у окуня из озёр Угрюмово (Северная Лесостепь) и Пягунто (Северная Тайга). В этих озёрах коэффициент патологичности достигал 0,5-0,6, что равносильно полному выведению из функционирования 15-20% респираторного эпителия. Достаточно высоким оказался коэффициент патологичности жабр окуня из условно-чистого оз. Рангетур (0,3). Патологичность жабр окуня из озёр Ентльлор, Польштур и Белое была относительно низкой.

Коэффициент патологичности печени продемонстрировал другую тенденцию: в оз. Рангетур он был низким, и возрастал в ряду Ентльлор-Пягунто-Польштур-Угрюмово-Белое.

Патологичность почек окуня была наибольшей в озёрах Угрюмово, Белое, Ентльлор, Пягунто. В почках окуня из озёр Рангетур и Польштур патологий было достоверно меньше.

В целом, у окуня из озёр, принятых нами за условно-загрязнённые (неблагоприятный по ряду компонентов гидрохимический режим, окружённые промышленной инфраструктурой) оказывается достоверно больше патологий, чем у окуня из условно-чистых озёр (рис. 8).

Наибольшее влияние на морфофункциональное состояние изученных популяций оказывают такие поллютанты как стронций, цинк, медь, нитраты, нитриты и нефтепродукты. Индексы гистопатологий почек имеют положительную связь с концентрацией натрия в воде, что происходит, вероятно, из-за их повышенной активности по поддержанию ионно-осмотического баланса.

Для выявления закономерностей влияния гидрохимических параметров водоёма на биологические показатели окуня нами был проведен многомерный факторный анализ. Кроме того, был выполнен факторный анализ гидрохимических показателей и индексов гистопатологий отдельно для каждого исследованного органа (жабр, печени, почек).

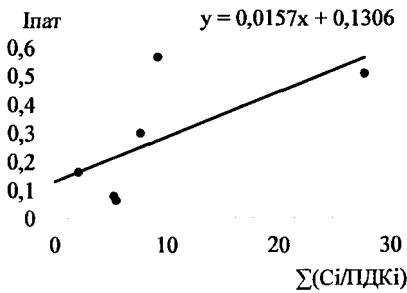


Рис. 8. Зависимость индекса гистопатологий внутренних органов в популяциях окуня от суммы нормированных к ПДК концентраций поллютантов в озёрах

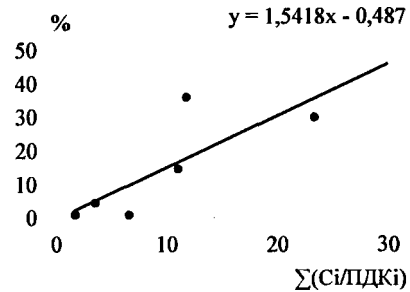


Рис. 9. Зависимость доли рыб с патологиями в популяциях плотвы от суммы нормированных к ПДК концентраций поллютантов в озёрах

В ходе анализа было установлено, что анатомо-морфологические отклонения внутренних органов (прежде всего жабр) связаны с концентрациями веществ, обычно не являющихся токсикантами и в значительной степени определяющими общую минерализацию водоёма (Ca, Na, Cl и др.), а гистопатологические изменения внутренних органов скоррелированы с концентрациями токсичных элементов, таких как цинк, никель или стронций. Характерным является то, что концентрация нефтепродуктов в воде не повышает количество патологий как на организменном, так и на гистологическом уровнях.

3.3 Плотва

В пределах Обь-Иртышского бассейна этот вид распространён достаточно широко, и в наших исследованиях он встречался в озёрах Томталятур, Рангетур, Ентльор, Польштур, Сырковый Сор и Долгий Сор. Гистопатологический анализ проводили для плотвы из условно чистого озера Рангетур и условно загрязнённого – Польштур, для плотвы из остальных озёр был выполнен только общий биоанализ.

Анатомо-морфологические отклонения были наиболее характерны для жабр и печени, менее типичны – для гонад и отсутствовали в почках и сердце. Больше всего аномалий было зафиксировано у плотвы из озёр Томталятур и Долгий Сор. Гистопатологический анализ жаберного аппарата плотвы из озёр Польштур и Рангетур показал высокую степень изменений. Установлена высокая доля разрушенных и подвергшихся десквамации участков филламентов. Среди нарушений отмечены утолщение и слияние ламелл, деструкция ламелл и большей части филламента, десквамация ламелл и вставочного эпителия и, реже,

аневризмы. В печени практически у всех рыб встречались некроз и кавернизация печёночной ткани, жировая дистрофия отдельных участков органа, разрастания соединительной ткани вокруг кровеносных сосудов и желчных протоков. Почти все типы аномалий печени чаще встречались у плотвы из оз. Полынтур. Отличительной особенностью печени плотвы в этом водоеме было наличие апоптирующих гепатоцитов.

Показано, что морфофункциональные и гистопатологические показатели плотвы существенно зависят от антропогенной нагрузки на водоём (рис. 9).

Для выявления закономерностей влияния гидрохимических параметров водоёма на биологические показатели плотвы нами был выполнен многомерный факторный анализ. При оценке его результатов установлено, что такие показатели воды как концентрация нитратов, хрома, марганца, железа, кадмия объединяются в один фактор, коррелирующий с патологиями печени, концентрации нитритов и алюминия объединяются в фактор, коррелирующий с патологиями жабр, а концентрации аммония, калия, фтора и ртути объединяются в один фактор с патологиями гонад. Согласно факторному анализу, концентрация нефтепродуктов в воде исследованных озёр не повышает патологичность внутренних органов плотвы, как ранее отмечено для окуня.

Плотва, являясь эврифагом, подвержена воздействию различных загрязняющих веществ органической и неорганической природы, что проявляется как на анатомо-морфологическом уровне, в виде аномалий строения внутренних органов, так и на гистологическом – в виде дегенеративных процессов в различных тканях организма. В целом, все эти патологии проявляются тем сильнее, чем больше концентрация поллютантов в воде. Корреляционный анализ показывает, что патологии внутренних органов приводят к снижению размеров ооцитов старшей генерации и доли ооцитов нерестового фонда, т.е. антропогенное загрязнение снижает репродукционный потенциал популяций плотвы.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ

Водоёмы Обь-Иртышского бассейна отличаются большим разнообразием абиотических и биотических условий. Уровень антропогенной нагрузки на разные акватории также существенно различается, поэтому для формирования представлений о здоровье рыб Обь-Иртышского бассейна и их репродукционном потенциале необходимо исследование множества акваторий из разных природных зон с различной степенью загрязнённости.

При оценке гистопатологических изменений внутренних органов пеляди и сига-пыжьяна было установлено, что у мигрирующих на нерест особей (Нижняя Обь) встречаемость патологий и показатели патологичности жабр, печени, почек

ниже, чем у рыб из Северной Сосьвы, что может быть вызвано загрязнением воды и донных отложений тяжёлыми металлами. В Нижней Оби исследуемые сиговые рыбы подвержены слабому воздействию нефтезагрязнений и среднему – тяжёлых металлов.

Было показано, что влияние антропогенного загрязнения на репродукционный потенциал сиговых рыб осуществляется посредством снижения индивидуального репродукционного потенциала особей и увеличения вероятности пропуска нереста частью половозрелых самок популяции.

Для выявления связи между качеством вод и репродукционным потенциалом популяции были проведены исследования окуня и плотвы из озёр таежной зоны Западной Сибири, характеризующихся разной степенью антропогенной нагрузки. Поскольку озёрные популяции достаточно локальны, а условия среды в озёрах более стабильны, чем в речных системах, для озёрных популяций можно выявлять устойчивые связи: концентрация токсикантов – гистопатологии внутренних органов – репродукционный потенциал популяции.

В целом, количество и частота встречаемости патологий внутренних органов у плотвы и окуня находятся в зависимости от количества поллютантов. В их воздействии не было выявлено видовой специфичности: у обоих видов, оказавшихся в одинаковых условиях, несмотря на разницу в занимаемых ими экологических нишах, отмечена сходная степень патологичности внутренних органов. У рыб в пределах каждой популяции прослеживается отрицательная связь гистопатологий и доли половых клеток нерестового фонда, что вызывает снижение их репродукционного потенциала.

В основе антропогенного воздействия на изученные озёра таежной зоны лежит добыча углеводородного сырья, но связь морфофункционального состояния изученных рыб с концентрацией нефтепродуктов в воде очень слабая, хотя они и обнаружены во всех изученных водоёмах, в трёх из которых концентрация нефтепродуктов превышает ПДК. Возможно, главным фактором риска для популяций рыб, подвергшихся влиянию загрязнений, является не столько нефтяное загрязнение, сколько сопутствующие трансформации местообитаний, гидрохимических параметров водоёма, сообществ гидробионтов и т. д. Одной из причин такой трансформации может являться закисление водоёма или его эвтрофирование, поскольку многие изученные нами озёра обладали низким рН и высокими концентрациями биогенных элементов в воде.

Таким образом, изученные представители сиговых, окунёвых и карповых рыб Западной Сибири находятся под влиянием антропогенного загрязнения разной интенсивности, что проявляется в ухудшении их морфофункционального состояния, проявлении гистопатологий внутренних органов, снижении репродуктивных показателей. У видов, для которых характерно явление

пропуска нерестовых сезонов, вероятность нереста в текущем году уменьшается при увеличении патологичности внутренних органов, вызванном токсическим воздействием, а у особей, нерестящихся в текущем сезоне, снижается индивидуальный репродукционный потенциал.

ВЫВОДЫ

1. У пеляди и сига-пыжьяна из Нижней Оби анатомо-морфологические аномалии и гистопатологические изменения жаберного аппарата, печени и почек незначительны в устьевой зоне и более глубокие и частые – в условиях Северной Сосьвы, где они вызваны интоксикацией рыб тяжёлыми металлами, преимущественно кадмием, в значительном количестве накапливаемомся в воде и донных отложениях этой реки.

2. Концентрация кадмия, ртути и свинца в жабрах, печени, почках, мышцах и скелете пеляди и сига-пыжьяна из Нижней Оби сравнительно невелика, а характер корреляционных связей между количеством данных тяжёлых металлов в жабрах, печени, почках и гистопатологиями в этих органах свидетельствует о токсическом воздействии данных металлов на сиговых рыб Обь-Иртышского бассейна.

3. Формирование нерестового фонда ооцитов обских пеляди и сига-пыжьяна начинается во время зимовки в Обской губе, продолжается в период летнего нагула и завершается во время нерестовой миграции в сентябре; репродукционный потенциал участвующих в нересте текущего года особей снижается по мере возрастания гистопатологий в жабрах, печени и в меньшей степени – в почках.

4. Повышенное количество гистопатологических изменений в жабрах, печени и почках, вызванное интоксикацией организма тяжёлыми металлами, увеличивает вероятность пропуска нерестового сезона половозрелыми самками пеляди (Северная Сосьва).

5. В популяциях окуня и плотвы из озёр Обь-Иртышского бассейна индексы гистопатологий внутренних органов и количество особей с патологиями клеток крови положительно коррелирует с концентрацией поллютантов в воде.

6. В исследуемых озёрах таежной зоны Западной Сибири гистопатологии жабр, печени и почек окуня и плотвы не имеют достоверной связи с концентрацией нефтепродуктов в воде и донных отложениях, но коррелируют с суммой нормированных к ПДК концентраций загрязнителей не углеводородной природы; патологии внутренних органов у окуня связаны с накоплением в воде стронция, никеля, кобальта и цинка, у плотвы - кадмия, ртути и алюминия.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК

1. Селюков А.Г., Шуман Л.А., Ефремова Е.В. Применение установок замкнутого водоснабжения для формирования маточных стад сиговых рыб (на примере тугуна) // Вестник Тюменского государственного университета. 2010. №7. С. 122 - 129.
2. Ефремова Е.В., Селюков А.Г., Шуман Л.А. Особенности дифференцировки пола и формирования фонда половых клеток в раннем оогенезе муксуна *Coregonus muksun* (Pallas) // Вестник Тюменского государственного университета. 2011. № 6. С. 46 - 55.
3. Селюков А.Г., Шуман Л.А., Некрасов И.С. Состояние гонад у лососевидных рыб в субарктических озёрах Ямала и Гыдана // Вестник Тюменского государственного университета. 2012. № 6. С. 31 - 40.
4. Селюков А.Г., Моисеенко Т.И., Шуман Л.А., Некрасов И.С. Морфофункциональное состояние сиговых рыб (*Coregonidae*) в устье Оби как интегральная оценка условий их обитания // Вестник Тюменского государственного университета. 2012. № 12. С. 135 - 147.
5. Шуман Л.А., Некрасов И.С., Селюков А.Г. Морфофункциональные корреляции окуна *Perca fluviatilis* L. в загрязнённых озёрах Среднего Приобья // Вестник Тюменского государственного университета. 2013. № 12. С. 128 - 139.

Публикации в других изданиях

6. Беспоместных Г.Н., Ефремова Е.В., Карасёва Т.А., Шуман Л.А. Оценка состояния репродуктивной системы и печени тугуна (*Coregonus tугun*) в условиях установки замкнутого цикла // Вопросы аквакультуры. Тез. докл. Первой конф. молодых учёных НАСБЕ. Тюмень. 2009. С. 120.
7. Селюков А. Г., Шуман Л.А., Ефремова Е.В., Беспоместных Г.Н. Применение УЗВ для формирования маточного стада сиговых рыб // Матер. 7 Междунар. научно-производств. совещ. Биология, биотехника разведения и состояние запасов сиговых рыб. Тюмень: ФГУП Госрыбцентр. 2010. С. 250 - 254.
8. Селюков А.Г., Шуман Л.А. Морфофункциональное состояние лососевидных рыб субарктических озёр Ямала и Гыдана // Матер. Всеросс. конф. с междунар. участием. Физиологические, биохимические и молекулярно-генетические механизмы адаптаций гидробионтов. Борок. 2012. С. 316 – 320.
9. Некрасов И.С., Селюков А.Г., Шуман Л.А., Вылежинский А.В. Гистофизиологические характеристики сиговых рыб в субарктических озёрах Гыдана и Ямала // Матер. 8 Междунар. научно-производств. совещ. Биология,

биотехника разведения и состояние запасов сиговых рыб. Тюмень: Госрыбцентр. 2013. С. 159 – 165.

10. Шуман Л.А., Селюков А.Г., Киселёва В.А., Некрасов И.С. Морфофункциональные корреляции внутренних органов обской пеляди в период анадромной и нерестовой миграции // Матер. 8 Междунар. научно-производств. совещ. Биология, биотехника разведения и состояние запасов сиговых рыб. Тюмень: Госрыбцентр. 2013. С. 244 – 248.

11. Шуман Л.А., Селюкова А.А., Некрасов И.С., Чудаев А.В. Формирование индивидуальной плодовитости пеляди в Северной Сосьве в период летнего нагула // Матер. междунар. научной конф., посвящ. 100-летию ГосНИОРХ. Рыбохозяйственные водоёмы России: фундаментальные и прикладные аспекты. С-Пб. 2014. С. 807 - 814.

12. Шуман Л.А., Селюков А.Г. Гистологические изменения органов пеляди Нижней Оби в условиях современного загрязнения // Матер. междунар. научной конф., посвящ. 100-летию ГосНИОРХ. Рыбохозяйственные водоёмы России: фундаментальные и прикладные аспекты. С-Пб. 2014. С. 1140 - 1150.

Подписано к печати:
17.03.2015

Формат: 60×84 1/16
Объем: 1,5 п. л.

ФГБНУ «ВНИРО»
Копировально-множительное бюро
107140, г. Москва,
ул. В.Красносельская, 17

Заказ № 285

Тираж: 100

102