

УДК 577.1: 597

ДОЗО- И ХРОНОЗАВИСИМОЕ ВЛИЯНИЕ СВИНЦА НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ И СОСТОЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНО- АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ МОЛОДИ РУССКОГО ОСЕТРА (*ACIPENSER GUELLENSTAEDTI* BRANT)

© 2012 Д.У. Черкесова, А.И. Рабаданова, Г.Р. Мурадова, М.М. Габиров

Дагестанский государственный университет

Поступила в редакцию 09.05.2012

Изучено дозо- и хронозависимое влияние свинца на выживаемость, развитие и состояние окислительно-антиоксидантной системы молоди русского осетра. По достижении временного порога насыщения тела рыб ионами свинца выявлены морфодегенеративные изменения, замедление темпов роста, снижение массы тела, дозо- и хронозависимая летальность рыб, нейротоксические проявления. Окислительный стресс характеризуется фазными изменениями содержания малонового диальдегида, активности каталазы и суммарной антиоксидантной активности, свидетельствующие об активации защитных механизмов в определенные периоды свинцовой интоксикации.

Ключевые слова: *молодь, русский осетр, свинец, выживаемость, малоновый диальдегид, каталаза, суммарная антиоксидантная активность*

Среди загрязнителей биосферы тяжелые металлы относятся к числу важнейших, что связано в значительной мере с их биологической активностью. В ряду тяжелых металлов одни относятся к биогенным, необходимым для обеспечения нормальной жизнедеятельности биологических систем, другие металлы относятся к классу ксенобиотиков. При попадании в живой организм они приводят к его отравлению и гибели [8]. Антропогенные и естественные источники загрязнения тяжелыми металлами вызывают в биосфере или ее составляющих (воздухе, воде, почвах, живых организмов) увеличение содержания металлов-загрязнителей по сравнению с естественным, так называемым фоновым уровнем. Рыба – основной обитатель водных экосистем, продукт, используемый человеком, является завершающим звеном трофических цепей в своей среде

и поэтому отличается наибольшим накоплением металлов в своем организме. Эти обстоятельства выдвигают проблему загрязнения водоемов на одно из первых по экологической значимости мест, несмотря на то, что уровень содержания тяжелых металлов в гидросфере ниже, чем нефтепродуктов, ПАВ и других токсикантов [6]. Свинец относится к наиболее токсичным тяжелым металлам, загрязняющим среду обитания [8]. Он способен образовывать в организме стойкие депо, преимущественно в печени и костях (80-90%). Коварным последствием действия свинца является его способность заменять кальций в костях, являясь постоянным источником отравления в течение длительного времени. Огромную опасность свинец и его соединения представляют для обитателей водной среды. У рыб, в первую очередь, с токсикантом соприкасаются жабры и желудочно-кишечный тракт [4]. Являясь сильным энзиматическим ядом, свинец образует необратимые комплексы «энзим – свинец», что приводит к блокаде ионных каналов и нарушению механизмов активного транспорта ионов. Под воздействием свинца в крови рыб обнаружено снижение оксигемоглобина, увеличение дезокси- и метгемоглобина, активация перекисного окисления липидов [2].

Цель работы: изучение дозо- и хронозависимого влияния свинца на выживаемость, развитие и показатели окислительно-антиоксидантной системы молоди русского осетра (*Acipenser gueldenstaedti* Brant).

Черкесова Дилара Улубиевна, кандидат биологических наук, профессор кафедры анатомии, физиологии, гистологии. E-mail: ashty06@mail.ru

Рабаданова Амина Ибрагимовна, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры анатомии, физиологии, гистологии

Мурадова Гульзия Руслановна, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры анатомии, физиологии, гистологии. E-mail: gulka-2005@yandex.ru

Габиров Магомед Магомедович, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой анатомии, физиологии, гистологии. E-mail: magomedovol@mail.ru

Материалы и методы исследования.

Эксперименты проводили на молоди русского осетра в аквариумах емкостью 15 литров, где поддерживался необходимый кислородный и температурный режим. После предварительной акклимации рыб в опытные емкости добавляли возрастающие концентрации свинца (4,2; 8,4; 16,8 и 25,0 мг/л). Контролем служили рыбы, содержащиеся в чистой воде. Продолжительность эксперимента составила 30 дней. За экспериментальными объектами осуществляли визуальное наблюдение, отмечали особенности развития и поведенческие реакции. В определенные сроки инкубации (1, 5, 10 и 15 суток) необходимое для анализа число рыб (по 7 особей) извлекали из аквариума. Тушки рыб использовали для приготовления гомогенатов, в которых определяли содержание малонового диальдегида (МДА) [1], суммарную антиоксидантную активность (САА) [3] и активность каталазы [5]. Экспериментальные результаты подвергали статистическому анализу, достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Наши опыты показали, что использованные дозы свинца не являются остролетальными. Предельно допустимые концентрации свинца для рыб варьируют в зависимости от вида и возраста рыб в следующих пределах 0,1-10 мг/л. В течение первых двух суток в емкостях с

возрастающей концентрацией свинца не отмечена гибель рыб. На 3-и сутки только в аквариуме с высоким содержанием свинца (25,0 мг/л) выявлена 100% гибель молоди. Очевидно, для проявления летального действия свинца необходимо время, в течение которого токсикант накапливается в достаточном количестве в тканях и оказывает необратимые патологические изменения несовместимые с жизнью.

Основными путями прохождения тяжелых металлов в организм рыб являются жабры и пищеварительный тракт, а к органам, в которых происходит значительное накопление свинца, относятся печень, почки и жабры [6]. На 5-е сутки воздействия свинца независимо от его концентрации в среде во всех опытных емкостях наблюдали незначительную гибель молоди. При продолжительном воздействии свинца смертность рыб нарастала и на 10-е сутки составила 20%; 35%; 60% и 70%, обнаруживая положительную корреляцию от содержания в среде тяжелого металла (4,2; 8,4; 16,8 и 25,0 мг/л). На 15-сутки летальность рыб носила также дозозависимый характер и составила 30%; 50%; 70% и 80% соответственно. После 20 суток экспозиции гибель молоди была 100% только при высокой концентрации свинца (25 мг/л). В остальных емкостях дальнейших потерь молоди не наблюдали, и выживаемость рыб к 20 суткам составила 70%; 50% и 20%.

Таблица 1. Содержание МДА в тканях рыб (нМоль/л) при воздействии различных концентраций свинца

Условия опыта	Длительность опыта, сутки			
	1	5	10	15
контроль	51,2±1,7			
4,2 мг/л	50,0±0,1	50,4±0,9	80,3±0,2*	170,0±2,2*
8,4 мг/л	80,1±0,4*	70,1±0,3	140,2±2,9*	250,2±10,9*
16,8 мг/л	60,3±0,3	40,2±0,1	180,4±3,1*	120,4±5,4*
25,0 мг/л	70,0±1,1	50,0±0,3	120,1±3,2*	110,1±5,1*

Примечание: здесь и далее: «*» – достоверность различий по отношению к контролю

Начиная с 20 дня инкубации у оставшихся в живых рыб отмечали аномалии развития – искривление позвоночника, значительное в хвостовой части рыб, что является результатом перерождения костной ткани, нарушения обмена кальция и замещения его ионами свинца. У рыб наблюдали нарушение локомоций, гипертоническую возбудимость, появление маневренных движений, что свидетельствует о нейротоксическом действии свинца. Наряду с этими изменениями отмечали отставание в развитии, снижение массы тела (до 50%), подавление пищевых рефлексов. На основании вышеизложенного можно сделать заключение о высокой токсичности свинца для молоди русского осетра.

Вместе с тем имеют место внутривидовые особенности реакции рыб на воздействие свинца. Так, несмотря на развитие тяжелой формы катарического стресса, нейротоксические и морфодегенеративные процессы, значительное число особей молоди рыб русского осетра выдерживают свинцовую нагрузку в течение относительно продолжительного времени, что свидетельствует о вовлечении в общую реакцию организма на свинцовую интоксикацию защитных механизмов. Важная роль в формировании адаптационно-компенсаторных реакций организмов принадлежит окислительно-антиоксидантной системе. Изучение показателей этой системы в условиях длительного

воздействия свинца на молодь рыб показало, что в первые сутки экспозиции, независимо от количества свинца в среде, не происходит заметной активации ПОЛ и накопление МДА. При этом, несмотря на подавление активности

антиперекисного фермента каталазы, суммарная антиоксидантная активность повышается. Эта реакция сохраняется при всех использованных нагрузках свинца.

Таблица 2. Суммарная антиоксидантная активность в тканях рыб (мг%) при воздействии различных концентраций свинца

Условия опыта	Длительность опыта, сутки			
	1	5	10	15
контроль	73,2±0,7			
4,2 мг/л	83,8±0,4*	100,0±3,1*	70,6±2,3	56,6±0,8*
8,4 мг/л	76,0±3,2	89,6±1,9*	56,7±1,2*	67,4±0,8*
16,8 мг/л	82,3±0,3*	114,7±15,5*	52,3±0,8*	55,3±1,5*
25,0 мг/л	65,0±0,9*	87,5±4,7	60,1±2,2*	66,5±0,6*

На 5 сутки при воздействии возрастающих концентраций свинца (4,2; 8,4; 16,8 и 25,0 мг/л) значительно увеличивается количество МДА (почти в 4 раза при 16,8 мг/л), снижается уровень САА, что свидетельствует о развитии окислительного стресса. Проявление окислительного стресса в условиях интоксикации водной среды ионами свинца обнаружено у других видов рыб [7]. Вместе с тем в наших опытах адекватно активации ПОЛ происходит повышение активности каталазы, что можно рассматривать как защитно-приспособительную реакцию, направленную на сдерживание перекисидации липидов клеточных мембран. Инкубация молоди рыб в течение 10 суток характеризуется дальнейшим подъемом МДА, наиболее значительным при нагрузке свинца

8,4 мг/л. В этот период, по сравнению с контрольными значениями, сохраняется более низкий уровень САА, однако активность каталазы высокая и превышает значения контроля в 2,0 и 1,5 раза при содержании свинца 4,2 и 8,4 мг/л. Продолжительная до 20 суток экспозиции молоди сопровождается снижением уровня МДА по сравнению с предыдущими этапами инкубации, однако при содержании свинца 4,2 мг/л остается выше значений контроля. Это происходит на фоне подавления САА, а также снижения активности каталазы, что, на наш взгляд, указывает на срыв адаптационно-компенсаторных механизмов, обеспечивавших выживание рыб в условиях токсической нагрузки.

Таблица 3. Активность каталазы в тканях рыб (мкМоль H_2O_2 /г ткани / мин) при воздействии различных концентраций свинца

Условия опыта	Длительность опыта, сутки			
	1	5	10	15
контроль	0,51±0,037			
4,2 мг/л	1,15±0,16*	0,33±0,05*	0,78±0,02*	7,66±0,32*
8,4 мг/л	0,94±0,14*	0,47±0,03	0,97±0,02*	1,62±0,12*
16,8 мг/л	0,30±0,13*	0,32±0,04*	0,74±0,03*	0,79±0,04*
25,0 мг/л	0,30±0,14*	0,28±0,03*	0,63±0,03*	0,67±0,05*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Андреева, Л.И. Модификация определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л.И. Андреева, А.А. Кожемякин, А.А. Кушкин // Лаб. дело. 1988. №11. С.41-43.
2. Грубен, О.М. Взаимосвязь функционирования системы гемоглобина и перекисного окисления липидов в крови карпа при интоксикации / Докл. Нац. АН Украина, 1997. № 2. С.146-150.
3. Демчук, М.Л. Процессы перекисного окисления липидов при черепно-мозговой травме / М.Л. Демчук, Л.И. Левченко, М.Ш. Промыслов // Нейрохимия. 1990. Т.9. №1. С.108-110.
4. Евтушенко, Н.Ю. Особенности накопления тяжелых металлов в тканях рыб Кременчугского водохранилища / Н.Ю. Евтушенко, О.В. Данилко // Гидробиологический журнал. Водная токсикология. 1996. Т. 32. №4. С. 58-66.
5. Королюк, М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.К. Иванова, И.Г. Майорова, В.А. Токарева // Лаб. дело. 1988. № 4. С.44-47.
6. Костров, В.П. Отчет о научно-исследовательской работе: «Эколого-токсикологическая оценка состояния Южного Каспия и возможные его влияния на воспроизводство и качество рыбобропродукции осетровых рыб» / В.П. Костров, Г.С. Шлейфер, А.К. Магомедов. – Махачкала, 1990. С. 4-8.

7. Мусаев, Б.С. Биохимические показатели крови как маркеры развития оксидативного стресса в организме сеголеток карпа (*Cyprinus carpio* L.) в условиях интоксикации водной среды ионами свинца / Б.С. Мусаев, Г.Р. Мурадова, А.И. Рабаданова и др. // Известия Самарского научного центра Российской Академии наук. 2009. Т.11. №1 (5). С. 1087-1090.
8. Никифоров, М.В. Оценка влияния кадмия, цинка и свинца на выживаемость предличинки морских рыб / М.В. Никифоров, С.А. Черкашин // Электронный журнал «Исследовано в России» // <http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles/2004/040.pdf>

DOZE AND TIME-DEPENDENT LEAD INFLUENCE ON SURVIVAL RATE AND CONDITION OF OXIDIZING AND ANTI-OXIDATIC SYSTEM OF RUSSIAN STURGEON (*ACIPENSER GUELLENSTAEDTI* BRANT) YOUNG FISHES

© 2012 D.U. Cherkasova, A.I. Rabadanova, G.R. Muradova, M.M. Gabibov

Dagestan State University

It is studied the doze- and time-dependent lead influence survival rate, development and a condition of oxidizing and antioxidatic system of Russian sturgeon young fishes. On reaching the temporary threshold of saturation the fishes body by lead ions it was revealed morphogenetic changes, delay of growth rates, decrease in body weight, doze- and time-dependent lethality of fishes, neurotoxic manifestations. The oxidizing stress is characterized by phase changes of content of malonic dialdehyde, catalase activity and integral antioxidatic activity, testifying to activation the protective mechanisms during fixed periods of lead intoxication.

Key words: *young fishes, Russian sturgeon, lead, survival rate, malonic dialdehyde, catalase, integral antioxidatic activity*

Dilara Cherkasova, Candidate of Biology, Professor at the Department of Anatomy, Physiology, Histology. E-mail: ashty06@mail.ru

Amina Rabadanova, Candidate of Biology, Senior Lecturer at the Department of Anatomy, Physiology, Histology

Gulziya Muradova, Candidate of Biology, Senior Lecturer at the Department of Anatomy, Physiology, Histology. E-mail: gulka-2005@yandex.ru

Magomed Gabibov, Doctor of Biology, Professor, Head of the Department of Anatomy, Physiology, Histology. E-mail: magomedovol@mail.ru