

На правах рукописи

БЕСПОМЕСТНЫХ
Галина Николаевна

**ФОРМИРОВАНИЕ СИСТЕМ ОРГАНОВ У СИГОВЫХ РЫБ
(genus *COREGONUS*) ПОД ВЛИЯНИЕМ ПРИРОДНЫХ И
АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ РАЗНОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ**

03.00.16 – экология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Тюмень, 2007

Работа выполнена в *Центре экологических исследований и реконструкции биосистем* биологического факультета Тюменского государственного университета

Научный руководитель: кандидат биологических наук, доцент,
Селюков Александр Германович

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,
Бурлаков Александр Борисович

кандидат биологических наук, доцент
Бойко Елена Григорьевна

Ведущая организация: Институт экологии растений и животных
УрО РАН

Защита состоится 27 февраля 2007 г. в ___:___ на заседании диссертационного совета Д 212.274.08 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора биологических наук в Тюменском государственном университете по адресу: 625043, г. Тюмень, ул. Пирогова, 3, ТюмГУ, биологический факультет.

Тел: 8(3452) 46-78-96

Факс: 8 (3452) 46-78-96

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Тюменского государственного университета.

Автореферат разослан «27» января 2007 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

С.Н. Гашев

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Многофакторное антропогенное воздействие на гидроэкосистемы Обь-Иртышского бассейна приняло угрожающие масштабы. В отдельных участках Средней и Нижней Оби количество нефтепродуктов и других токсикантов неорганической и органической природы превышает ПДК в десятки и сотни раз [Экологич. состояние ..., 1996-2003]. Это сопровождается радикальными изменениями гидрохимического режима, вызывает деградацию экосистем, снижение биоразнообразия, замену высокопродуктивных биоценозов малопродуктивными. Рыбы, как конечное трофическое звено водных экосистем, часто являются их ключевыми компонентами и принимают на себя основную тяжесть техногенной нагрузки. В последние годы многими исследователями отмечались вызванные различными загрязнениями патоморфологические изменения печени, гонад, почек, жаберного аппарата и других органов сиговых рыб [Селюков и др., 1994; Селюков, 1997, 2002 а,б; Савваитова и др., 1995; Чеботарева и др., 1996, 1997; Моисеенко, Лукин, 1999; Лукин, Шарова, 2002 и др.]. Уровень аномалий и гибель рыб возрастают, если объектами поражения становятся ранние стадии развития [Данильченко, 1977; Миронов и др., 1992; Кошелева и др., 1994; Таликина и др., 1999-2004; White et al, 1999; Smoker et al, 2000; Руднева и др., 2003 и др.]. В проводимых исследованиях авторами выявлялось состояние функционально важных систем организма, определялись степень и характер поражения, его критические нагрузки, изучались механизмы происходящих нарушений. Принимая безусловную необходимость подобных работ, считаем не менее важным проведение поиска высокоэффективных методов реабилитации, не оказывающих на организмы и экосистемы побочных патогенных влияний.

Внимание исследователей неоднократно обращалось на эффекты малых и сверхмалых доз – низкие и сверхнизкие концентрации БАВ, низкоинтенсивные излучения [Казначеев, Михайлова, 1981; Цой и др., 1985; Бурлакова, 1994; Казначеев и др., 1997; Popp, Chang, 1998; Бурлаков и др., 1999, 2000 и др.]. Применение электромагнитных полей, близких по амплитуде и частоте к

естественным, нормализующих развитие живых организмов в экстремальных условиях, может рассматриваться в качестве одного из подходов, повышающих их устойчивость.

Цель. Исследование формирования систем органов экологически различных видов сиговых рыб под влиянием природных и антропогенных факторов разной интенсивности.

Для достижения поставленной цели решали следующие **задачи**:

1. Изучить видоспецифичность морфологических параметров тугуна, пеляди, муксуна, сига-пыжьяна и чира на этапе вылупления методами многомерной статистики.
2. Проанализировать цитоморфологические особенности и формирование фонда первичных гоноцитов в эмбриогенезе короткоциклового тугуна и длиннотциклового чира при субпороговых температурах.
3. Исследовать динамику эмбрионального развития вьюна, как модельного объекта, в условиях нефтяного загрязнения под влиянием слабых импульсных магнитных полей (СИМП).
4. Охарактеризовать специфику гонадогенеза у интактной и активированной СИМП молоди сиговых рыб в условиях загрязнения среды нефтепродуктами.
5. Оценить влияние СИМП на развитие головного и спинного мозга, сердца, печени, кишечника и туловищной мускулатуры в постэмбриональном онтогенезе сиговых рыб при их содержании в растворах нефти и фенола.

Научная новизна. Проведено сравнительное исследование особенностей распределения и цитоморфологии первичных гоноцитов в эмбриогенезе короткоциклового планктофага-тугуна и длиннотциклового бентофага-чира при инкубации в контрастных температурных режимах.

Исследовано влияние водорастворимой фракции нефти (ВРФН) и фенола на формирование жизненно важных органов в раннем онтогенезе сиговых – планктофагов тугуна и пеляди, планктобентофага-муксуна, бентофагов сига-пыжьяна и чира – и выявлена их видоспецифическая реакция на данные токсиканты. Установлены режимы применения слабых импульсных магнитных

полей, повышающих неспецифическую резистентность молоди сиговых рыб. Показана возможность нивелирования слабыми импульсными магнитными полями поражения сиговых рыб фоновыми концентрациями нефтепродуктов на ранних этапах онтогенеза.

Положения, выносимые на защиту:

1. В эмбриогенезе сиговых рыб количество первичных гоноцитов, их цитометрические параметры и темп миграции в область формирования гонад варьируют в широком диапазоне у разных видов и в значительной степени обусловлены температурными флуктуациями.
2. Влияние фоновых концентраций ВРФН и фенола на гонадогенез молоди сиговых рыб видоспецифично, наименьшей токсикорезистентностью характеризуется репродуктивная система тугуна, наибольшей – муксуна.
3. Системы органов молоди разных видов сиговых рыб различаются степенью токсикорезистентности, которое возможно повысить воздействием на предличинок слабых импульсных магнитных полей.

Практическая значимость. Показана благоприятная, повышающая устойчивость молоди сиговых рыб к экстремальным абиотическим факторам (ВРФН и фенол), роль слабых импульсных магнитных полей определенных диапазонов и интенсивности. Технические системы (Т-101 и Т-102), генерирующие слабые импульсные магнитные поля, целесообразно включать в схемы производственного цикла на действующих и проектируемых рыбоводных предприятиях, в особенности расположенных в зонах повышенного экологического риска. Установленное их положительное влияние на ранние стадии наименее резистентных и наиболее чувствительных к воздействию токсикантов рыб открывает перспективы распространения данного подхода для их реабилитации в наиболее кризисных регионах.

Результаты исследований используются при чтении лекций и проведении практических занятий по спецкурсам «Экология рыб» и «Антропогенное воздействие на гидробиоценозы» на кафедре зоологии и ихтиологии Тюменского госуниверситета.

Апробация работы. Основные результаты работы докладывались и обсуждались на VI Всероссийском научно-производственном совещании «Биология, биотехника разведения и промышленного выращивания сиговых рыб» (Тюмень, 2001); VIII и IX Международном симпозиуме «Биология и разведение сиговых рыб» (Рованиemi, Финляндия, 2002; Ольштын, Польша, 2005); I-III Международных Форумах по проблемам науки, техники и образования (Москва 2003, 2004, 2005); XVI Всероссийской научно-практической конференции «Словцовские чтения» (Тюмень, 2004); на конференции молодых ученых «Экология в меняющемся мире» (Екатеринбург, 2006); на заседаниях кафедры зоологии и ихтиологии Тюменского государственного университета (2003-2006).

Публикации. По теме диссертационного исследования опубликовано 18 работ.

Структура диссертации. Диссертация изложена на 175 страницах, содержит 56 рисунков, 8 таблиц, 34 приложения; включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, четыре главы результатов, обсуждение и выводы. Список литературы включает 190 источников, из них 34 на иностранных языках.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе приводятся публикации – монографии, обзорные и оригинальные статьи – отечественных и зарубежных авторов, разрабатывающих проблему устойчивости и надежности функционирования репродуктивной системы в раннем онтогенезе рыб при оптимальных и экстремальных условиях. Рассматриваются вопросы формирования ряда жизненно важных органов под влиянием природных и техногенных факторов различной интенсивности. Анализируются современные методы повышения выживаемости ранних стадий развития рыб.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводились в Центре экологических исследований и реконструкции биосистем биологического факультета Тюменского государственного университета в течение 2001-2005 гг.

В 2002-2003 гг. был поставлен эксперимент по формированию репродуктивной системы у тугуна (*C.tugun*) и чира (*C.nasus*) при повышенных – субпороговых – температурах инкубации. В качестве контроля были использованы зародыши этих же видов из Тобольского инкубационного цеха. Для исследования формирования репродуктивной системы эмбрионов фиксировали в смеси Буэна с интервалом 10-15 суток.

В марте-апреле 2004 и 2005 гг. было поставлено 4 серии экспериментов на модельном объекте – вьюне (*Misgurnus fossilis*) – с целью выявления характера и глубины поражения ВРФН (0,25 мг/л – 5ПДК_{рбхз}) этого вида в эмбриональный период с проверкой возможности ее ослабления слабыми импульсными магнитными полями (СИМП). В каждую серию вводили по 1800-5900 эмбрионов вьюна от одной пары производителей в разных вариантах по три повторности в каждом. Достоверность различий распределения эмбрионов по стадиям определяли с помощью непараметрического критерия λ Колмогорова–Смирнова.

В апреле-июне 2004 и 2005 гг. проводили опыты по воздействию токсикантов (ВРФН, фенол) и СИМП на развитие сиговых рыб с наиболее детальным изучением формирования репродуктивной системы. Доставленную на этапе вылупления из Тобольского инкубационного цеха молодь тугуна, пеляди (*C.peled*), муксуна (*C.muksun*) и сига-пыжьяна (*C. lavaretus pidschian*) поместили в термостатированную камеру (+4...+5,5°C) с прозрачной дверцей, обеспечивавшей естественную фотопериодичность. Перед экспериментом личинок всех видов разделили на три группы. Первая оставалась контрольной, вторая (1 вариант) и третья (2 вариант) были помещены в стеклянные емкости с водорастворимой фракцией нефти. Каждые 3-4 сут проводили смену нефтяной эмульсии. До перевода в ВРФН молодь во 2 варианте в течение 80 мин.

обрабатывали СИМП с частотами 930-950/230-235 кГц, генерируемыми приборным комплексом «Т-101» (ТУ 4237-001-29646556-99), по технологии «Телос» [Солодилов, 2000, 2001]. Напряженность магнитного поля не более $2,0 \times 10^{-5}$ А/м. Прочие условия описаны ранее [Селюков, Беспоместных, 2006].

В серии опытов 2005 г. (был также введен чир) обработка СИМП молоди 2 варианта была проведена дважды, после перехода личинок на смешанное питание и после ее перевода в ВРФН. В качестве дополнительного поражающего фактора был выбран раствор фенола (0.05 мг/л – 10 ПДК_{рбхз}). Используемые концентрации ВРФН и фенола являются фоновыми для Обь-Иртышского бассейна или несколько превышают их.

Для гистологического анализа [Ромейс, 1953] молодь фиксировали в смеси Буэна; под бинокляром МБС-10 (20×) зародышей освобождали от оболочек, желточного мешка и, как остальную молодь, проводили через спирты возрастающей концентрации, бутанол, хлороформ-парафин и заливали в парафин. Гистологические срезы в тангенциальной и фронтальной проекциях приготавливали на микротоме МС-2; на «МЗП-01 ТЕХНОМ» при -18°C . Срезы толщиной 5-6 мкм окрашивали железным гематоксилином по Гейденгайну.

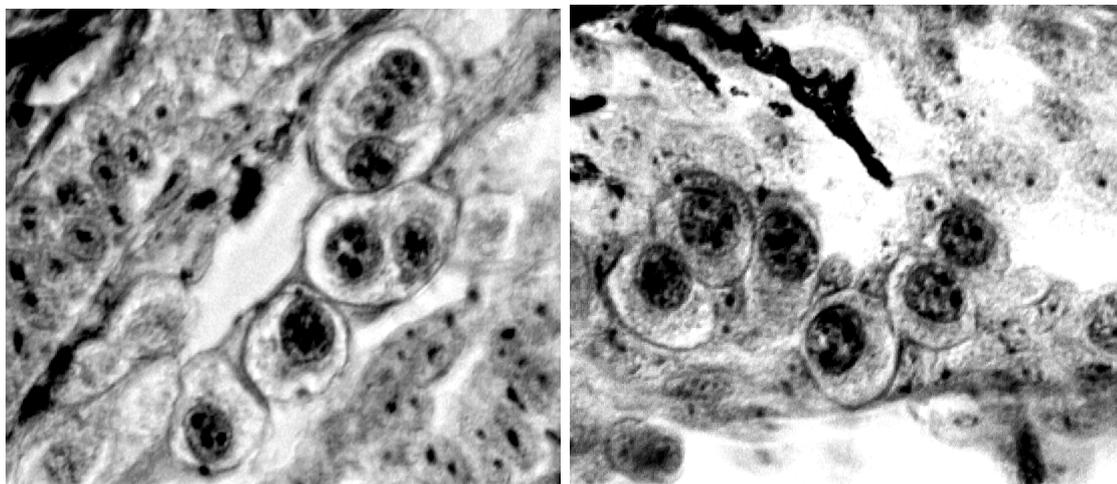


Рис. 1. Характер ядер (а) и расположение ППК (б) у сиговых рыб.

С использованием видеокамеры DP 300, установленной на микроскопе «Micros» (Об.10×,40×,100×, ок. 10×) и программы «Мекос-Ц1» проводили цитометрию гоноцитов, их ядер, рассчитывали ядерно-плазматическое отношение. Учитывали клетки с полиморфными, 1, 2, 3 и более ядрами (рис.1а) и расположение гоноцитов в гонаде по 1, по 2, по 3 и более в группах (рис.1б).

Для морфометрического анализа молодь сиговых рыб в 2004 г. на этапе вылупления фиксировали в 2% формалине и проводили промеры по 16 параметрам: *L* - зоологическая (общая) длина тела; *L1* -длина до конца хорды; *AA*- антеанальное расстояние; *H* - наибольшая и *HM* - наименьшая высота тела; *CL* - длина хвостового стебля; *BS* - наибольшая толщина тела; *C* - длина головы; *R* - длина рыла; *OC* - горизонтальный диаметр глаза; *OP* - заглазничное расстояние; *OO* - межглазничное расстояние; *HC* - наибольшая высота головы; *PL* - длина грудного плавника; *LVS* - длина желточного мешка; *HVS* - высота желточного мешка. На голове (*mfc*), желточном мешке (*mfs*), спинной (*mfd*) и брюшной (*mfv*) сторонах тела подсчитывали меланофоры.

Результаты промеров анализировали с использованием пакета STATISTICA StatSoft, Inc. (6,0): вычисляли основные статпоказатели, проводили кластерный и дискриминантный анализы. Группировку признаков в кластерном анализе осуществляли методом взвешенной средней связи в метрике «1-г Пирсона». Дискриминантный анализ проводили в трех вариантах: полном и пошаговом («с включением» и «исключением» переменных).

Общий объем исследованной молоди сиговых рыб составил 1403 особи. Из них в 2002-2005 гг. морфометрический анализ был проведен на 128 экз. тугуна, 187 – речной пеляди, 159 – муксуна, 176 – сига-пыжьяна и 175 – чира; гистологический – на 115 экз. тугуна, 107 – речной пеляди, 99 – муксуна, 104 – сига-пыжьяна и 113 – чира. Серии опытов на выюне были поставлены на 8310 эмбрионах в 2004 г. и 4277 – в 2005 г.

Глава 3. Морфологическая характеристика сиговых рыб и формирование фонда половых клеток

В первой части главы приводятся морфометрические особенности сиговых рыб разных экологических групп на этапе вылупления и с использованием методов многомерной статистики анализируется степень их дивергенции на этом переломном этапе онтогенеза.

Все сиговые рыбы рода *Coregonus* подразделяются на сигов-планктофагов и сигов-бентофагов. Именно по характеру питания происходила межвидовая и

внутривидовая дивергенция этой группы [Решетников, 1980]. Так, в пределах вида *Coregonus lavaretus* мало-, средне- и многотычинковые виды различаются по характеру питания, а число тычинок является важнейшим систематическим признаком, имеющим наибольший таксономический вес [Решетников, Андреев, 1977]. Многотычинковые планктофаги рода *Coregonus* в водоемах Западной Сибири представлены сибирской ряпушкой, тугуном, омулем и пелядью (subgenus *Leucichthys*), малотычинковые бентофаги – сигом-пыжьяном и чиром (subgenus *Coregonus sensu stricto*). К промежуточной группе, но входящий во второй подрод, может быть отнесен планктобентофаг-муksун – многотычинковый вид с нижним ртом. На рис. 2 можно проследить взаимоотношение представителей разных видов сиговых рыб на этапе вылупления.

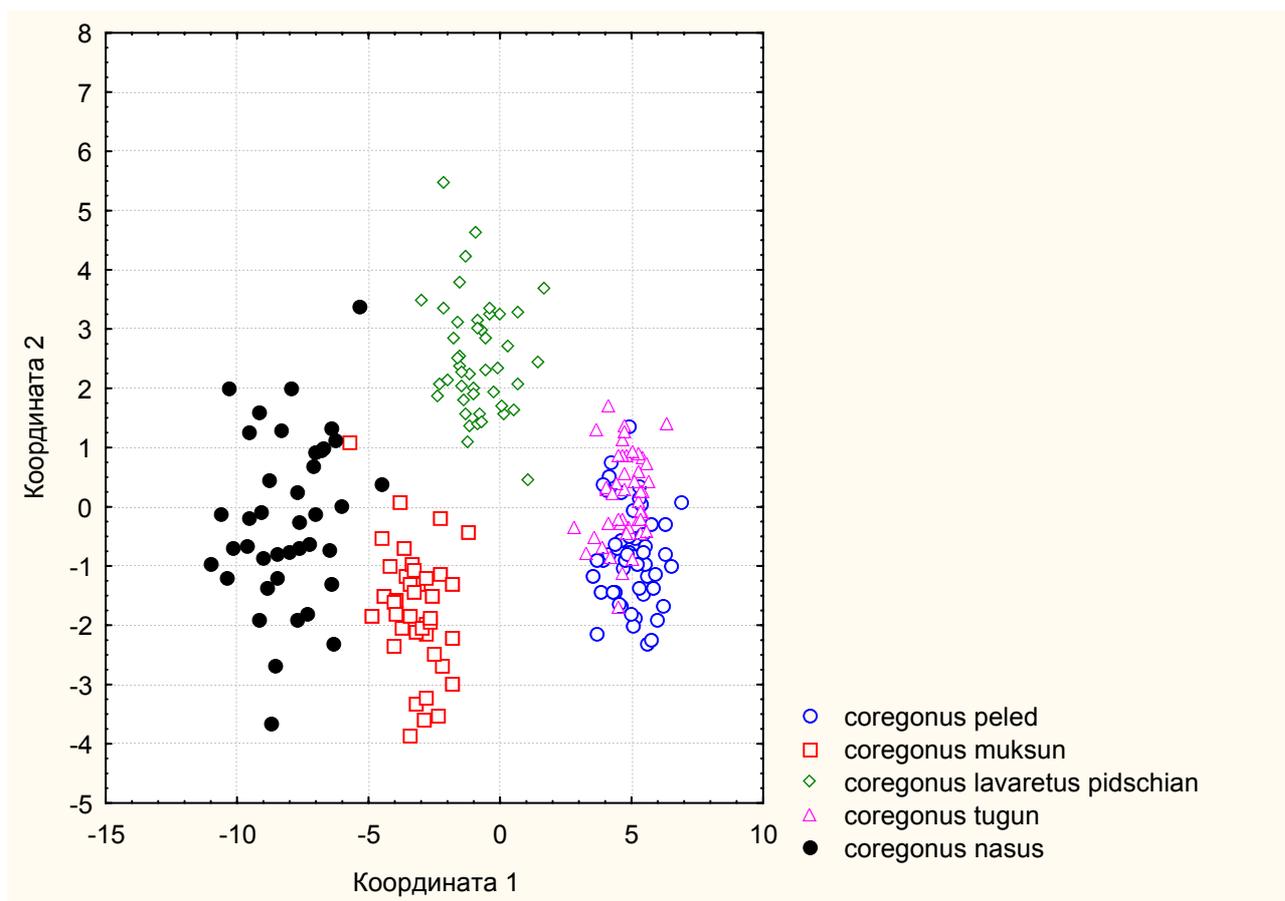


Рис. 2. Положение классов, полученных на основе классификации в координатах полного дискриминантного анализа

Во втором разделе анализируется формирование линии половых клеток в эмбриогенезе своеобразных морфо-экологических антиподов рода *Coregonus* – тугуна и чира – при нормальных и субпороговых температурах.

Проведенные исследования показали, что у более эвритермного тугуна повышенные температуры инициировали более интенсивный рост первичных гоноцитов и их ядер, но угнетали их численность и темп формирования. При этом количество расположенных по двое (сдвоенных) ППК у опытных особей почти вдвое превышало их число в контроле. Отметим, что в период эмбрионального развития у тугуна и чира количество первичных гоноцитов возрастало при полном отсутствии митозов, но отчетливо проявлялись картины амитотической активности.

У эмбрионов stenothermного чира количество ППК к моменту вылупления сокращалось, а при повышенных температурах проходило более интенсивно; в данном варианте было значительно больше сдвоенных и даже строенных половых клеток, число которых к моменту вылупления резко снижалось. В отличие от тугуна, у зародышей чира при повышенных и нормальных температурах цитометрические параметры ППК не различались, только в опытном варианте фиксировалось большее число ядрышек. Появление амитозов в условиях субпороговых температур может считаться показателем экстремальности условий при формировании репродуктивной системы.

В третьем разделе главы характеризуется цитометрические показатели и динамика численности половых клеток у молоди сиговых рыб в постэмбриональный период. Изучена видовая специфика раннего гаметогенеза тугуна, пеляди, муксуна, сига-пыжьяна и чира.

На этапе вылупления у разных видов сиговых рыб в различные годы наблюдений количество первичных гоноцитов характеризовалось высокой вариабельностью, наибольшее варьирование было свойственно чире, наименьшее – муксуну. По числу ППК виды распределялись следующим образом: муксун > чир > тугун > пелядь > сиг-пыжьян. Наибольшие размеры ППК были у тугуна (18.3 ± 0.36 мкм), им уступали предличинки чира ($16,8 \pm 0,21$

мкм), а у речной пеляди (15.3 ± 0.17 мкм), муксуна (15.7 ± 0.18 мкм) и сига-пыжьяна (15.7 ± 0.32 мкм) цитометрические параметры не различались.

Среди сиговых тугун характеризуется быстрым темпом гонадогенеза, скопления гоний у этого вида наблюдались уже в возрасте 30 суток. У других сиговых рыб в это время отмечались только первые митозы: у чира и сига-пыжьяна, по нашим данным, в 40 суток, у пеляди и муксуна митозов не обнаруживали, но по литературным данным первые митозы у пеляди отмечены в 30 суток [Селюков, 1986], у сига-пыжьяна – в 45 суток [Кошелева, Мигаловский, 1991].

Глава 4. Влияние ВРФН на эмбриогенез вьюна и его модификация слабыми импульсными магнитными полями

Для установления степени поражения ранних стадий развития рыб одним из широко распространенных токсикантов – водорастворимой фракцией нефти – были проведены исследования на эмбрионах вьюна, признанном модельном объекте биологии развития. Обработка эмбрионов этого вида слабыми импульсными магнитными полями (СИМП), используемыми в качестве протекторного фактора, была предпринята с целью подбора оптимальных режимов при работе с молодью сиговых рыб в условиях хронического загрязнения среды нефтепродуктами.

Было поставлено несколько серий экспериментов. В I серии была проведена обработка СИМП неоплодотворенной икры с последующим переводом в разные концентрации ВРФН (от 0,05 до 2,5 мг/л) после оплодотворения. По каждой концентрации было два варианта: контроль+ВРФН (1 вариант) и ВРФН+СИМП (2 вариант).

В большинстве концентраций ВРФН наблюдалось повышение выживаемости зародышей во 2 варианте, вызванное, очевидно, активизацией репарационных возможностей организма вследствие совместного действия ВРФН и СИМП.

Во II серии эксперимента анализировались синхронность, % аномалий развития и выживаемость зародышей, обработанных СИМП на этапе

оплодотворения и переведенных в раствор нефти концентрацией 0,25 мг/л (5 ПДК) на 5-6 стадии эмбриогенеза. В ходе эмбриогенеза отмечали замедление темпа и снижение синхронности развития, а после вылупления предличинок – снижение % уродств и повышения выживаемости, хотя и недостоверное, вследствие трехкратной повторности.

В *III серии* обработка СИМП эмбрионов вьюна проводилась на стадии 2-4 бластомеров, а их перевод в ВРФН – на 5-6 стадии. В этом опыте темп развития эмбрионов на стадиях обрастания желтка бластодермой замедлялся, но при формировании хвостового стебля синхронность развития возрастала. Сохранялась тенденция снижения количества погибших зародышей.

При обработке СИМП зародышей вьюна на 5-6 стадии и их переводом в среду с ВРФН на 6-7 стадии (*IV серия*) отмечали рассинхронизацию и замедление темпа эмбриогенеза, что было вызвано перестройкой метаболизма эмбрионов с последующим достоверным снижением % уродств и отхода.

Проведенные эксперименты по активизации СИМП токсикорезистентности эмбрионов вьюна с тенденцией повышения их выживаемости в ВРФН, позволили спланировать аналогичные исследования на сиговых рыбах.

Глава 5. Влияние нефтепродуктов на становление фонда половых клеток в постэмбриогенезе сиговых рыб и их активизация СИМП

В эксперименте по воздействию нефтепродуктов на ранний онтогенез сиговых рыб изучались не зародыши, что оказалось невозможным по причине продолжительного эмбриогенеза (180-200) сут, а предличинки, личинки и мальки в постэмбриональный период. Были исследованы формирование репродуктивной системы, степень ее резистентности и характер активизации этого процесса слабыми импульсными магнитными полями молоди сиговых рыб при ее поражении нефтепродуктами.

ВРФН – 0.25 мг/л. Исследованиями показано, что ВРФН оказывает угнетающее воздействие на только что вылупившуюся молодь *тугуна*, но

именно на данном этапе воздействие слабыми импульсными магнитными полями наиболее результативно. У молодежи во 2 варианте возрастало общее число гоноцитов, в т.ч. увеличивалось количество «двуядерных» клеток (амитозов) и митозов; гонии составляли 8,3% от общего числа половых клеток.

При переходе тугуна на внешнее питание его устойчивость к нефтяному поражению возрастала. Однако если одновременно проводилось воздействие несколькими факторами, в том числе двукратная обработка СИМП, генеративные показатели и стрессоустойчивость такой молодежи снижались. Очевидно, это обусловлено повышенной чувствительностью данного вида и его низкой толерантностью. У *пеляди* стресс от одновременного воздействия ВРФН и СИМП был менее значителен; реакция генеративной системы проявилась в резком увеличении фонда половых клеток, а затем более медленном, в сравнении с 1 вариантом (контроль+ВРФН), снижении в условиях хронического нефтяного воздействия.

На молодежь *муксуна*, помещенную в ВРФН до перехода на активное питание (1 вариант), нефтяной фактор оказывал большее поражающее воздействие, чем на пелядь, которое нивелировалось однократной обработкой СИМП (2 вариант). В серии 2005 г. после двукратного применения СИМП, в возрасте 22 суток количество первичных гоноцитов у муксуна из 2 варианта в ВРФН было меньше чем в первом, но уже в 30 суток их число значительно превышало количество ППК у молодежи из 1 варианта; эта тенденция сохранялась до конца эксперимента. Митозов гониев не было обнаружено, однако в течение всего рассматриваемого периода у молодежи муксуна обоих вариантов отмечались «двуядерные» и сгруппированные клетки.

При воздействии ВРФН на предличинок *сига-пыжьяна* до их перехода на внешнее питание практически вся молодежь погибла в течение 7-9 суток. Негативное действие ВРФН, оказываемое на молодежь сига-пыжьяна до ее перехода на внешнее питание ослаблялось применением СИМП. Одновременное воздействие токсиканта и СИМП после ее перехода на активное питание стимулировало глубокие адаптивные перестройки и

сопровождалось достоверным снижением фонда половых клеток в сравнении с 1 вариантом. Однако уже через неделю фонд ППК возрастал, превышая число гоноцитов в 1 варианте и достигая контрольного уровня, а к концу эксперимента превышая и его. В обеих опытных партиях у 40-суточных мальков отмечалось сходное количество «двуядерных», двоядерных и строенных гоноцитов.

У личинок *чира*, помещенных в ВРФН в возрасте 10 суток, к 22 суткам количество ППК снизилось с 36 до 18,6, а в 30 – до 15,4. В формирующихся гонадах присутствовали единичные группы гоноцитов, но к концу опыта их число возросло до 35.

После однократной обработки перешедших на активное питание личинок *чира* СИМП с их последующим переводом в среду с ВРФН, количество ППК у этих особей в возрасте 22 суток снизилось до 13,5 шт., в 30 суток возросло до 50,3, а к концу эксперимента число ППК и гониев достигло 100,5, достоверно ($p < 0,05$) превысив количество половых клеток во всех остальных партиях.

У дважды обработанной магнитными полями молоди *чира* и помещенной в нефтяной раствор, в 22 суток число ППК сократилось до минимального уровня (12,3), однако после периода адаптации уже к 30 суткам их количество утроилось ($p < 0,05$). К 40-суточному возрасту их число вновь снижалось (до 25,2), но при этом увеличивалась доля одиночных, полиморфноядерных, «двуядерных» и «трехъядерных» гоноцитов.

Таким образом, нефтяное поражение *чира* после его перехода на активное питание приводило к временному угнетению его генеративной системы с последующим компенсаторным развитием, превышающем контроль. Воздействие СИМП после перехода на внешнее питание, но перед нефтяным поражением, поначалу сопровождалось падением генеративной активности, а затем столь же высоким и устойчивым ее нарастанием, кратно превышающем репродуктивный потенциал в сравниваемых вариантах.

Видоспецифическая реакция репродуктивной системы молоди сиговых рыб, подвергнутой нефтяному воздействию на разных этапах

постэмбрионального онтогенеза, проявляется в различной динамике фонда гоноцитов, доли полиморфноядерных, «многоядерных» и сгруппированных клеток. Однако после адаптации к токсиканту фоновой концентрации наблюдалось компенсаторное возрастание резервного фонда половых клеток. Сходное явление отмечалось у молодежи в таком же растворе токсиканта, но однократно обработанной слабыми импульсными магнитными полями, после чего превышало контроль у чира и, в меньшей степени у сига-пыжьяна. Используемые интенсивность магнитного поля, несущая и модулирующая частоты ЭМП, при однократной экспозиции до перехода молодежи на внешнее питание активировали повышение численности гоноцитов с преобладанием над 1 вариантом и контролем в большей (чир) или меньшей (сиг-пыжьян, пелядь, муксун) степени. Двукратная экспозиция СИМП переведенной в нефтяной раствор молодежи приводила к существенно более значимому снижению числа ППК и более продолжительному восстановлению их численности.

Следующей задачей было выявление реакции этой системы на воздействие другим органическим токсикантом – фенолом.

В результате проведенных исследований хронического воздействия на молодежь сиговых рыб фенола концентрацией 0,05 мг/л (10 ПДК) и совместного с ним воздействия слабыми импульсными магнитными полями, были выявлены видоспецифические особенности реакции их генеративной системы.

Так, у молодежи *тугуна*, гонадогенез которого уже на ранних этапах постэмбрионального развития проходит наиболее интенсивно среди остальных сиговых рыб, на этапе вылупления отмечаются митозы, а раствор фенола поначалу его только ускоряет. Используемые СИМП активизируют адаптационные процессы, временно снижая темп гонадогенеза у тугуна.

Напротив, более медленное развитие генеративной системы у *пеляди*, усугубляемое ее переводом в раствор фенола, а во 2 варианте и дважды обрабатываемой СИМП, в дальнейшем сменялось ускорением. В целом сходная картина протекания адаптационных изменений генеративной функции отмечается у *муксуна*, хотя этому виду свойственен более интенсивный

темп формирования генеративной системы, несколько напоминающий гонадогенез тугуна. Высокая активность формирования репродуктивной системы в условиях фенольной интоксикации отчетливо прослеживается у обработанного СИМП *сига-пыжьяна*, на фоне низкого количества половых клеток отмечается их высокая функциональная активность. Такая же по характеру, но более высокая по степени проявления корреляция числа гоноцитов у молоди в растворе фенола с ее активизацией СИМП оказалась свойственной *чире*. Временное угнетение репродуктивной системы, проявлявшееся в значительном снижении числа гоноцитов, сменялось ее высокой активностью, достоверно превосходившей остальные варианты.

Кажущееся позитивным влияние фенола на ранний гонадогенез вызвано активизацией им ресурсов организма, которые после продолжающегося воздействия будут израсходованы и приведут к гибели, что постоянно отмечалось при учете отхода молоди в растворах с нефтепродуктами. Результаты исследования хорошо вписываются в теорию общего адаптационного синдрома Г.Селье [1960].

Глава 6. Состояние жизненно важных органов молоди сиговых рыб в условиях загрязнения среды нефтепродуктами.

Протекторное действие слабых импульсных магнитных полей

В ходе экспериментов проводились исследования патоморфологических изменений органов формирующихся важнейших систем после перевода молоди сиговых рыб в растворы нефтепродуктов.

В серии 2004 г., молодь сиговых была помещена в ВРФН в возрасте 2-5 суток после вылупления (1 вариант). Спустя 7-9 суток после начала эксперимента был установлен 100% отход опытных личинок *сига-пыжьяна*, полная гибель молоди тугуна пришлось на третью неделю после вылупления. В сходных условиях содержания более жизнестойкими были личинки пеляди и муксуна, что свидетельствовало о различной видовой резистентности этих видов к нефтяному поражению

Проведенный гистологический анализ личинок сиговых рыб продемонстрировал существенные расхождения в состоянии внутренних органов. Наименее пораженными сердце, головной и спинной мозг, печень, желудочно-кишечный тракт и жаберный аппарат оказались у муксуна.

В отличие от них, у импактной молодежи тугуна через 12-14 суток после перевода в ВРФН отмечали нарушения в состоянии исследуемых органов. В головном и спинном мозге просматривалась обширная зона некротизированных нейронов, кариопикноз (рис.3а,б). Наиболее значимые отклонения у личинок

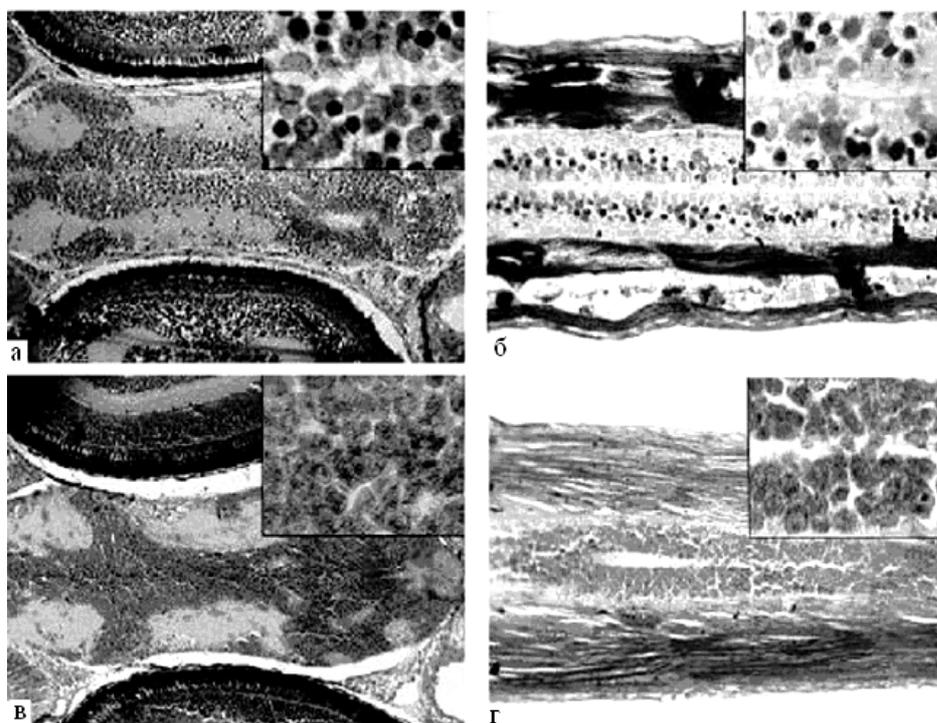


Рис. 3. Состояние головного и спинного мозга у 15 сут. личинок тугуна: а, б - 1 вариант, в, г - 2 вариант.

тугуна 1 варианта отмечались в туловищной мускулатуре (рис. 4а). Дегенерация туловищной мускулатуры, известная для осетровых рыб как м и о п а т и я , считается следствием накопления токсикантов различной природы [Алтуфьев и др., 1992], т.н. «кумулятивный политоксикоз».

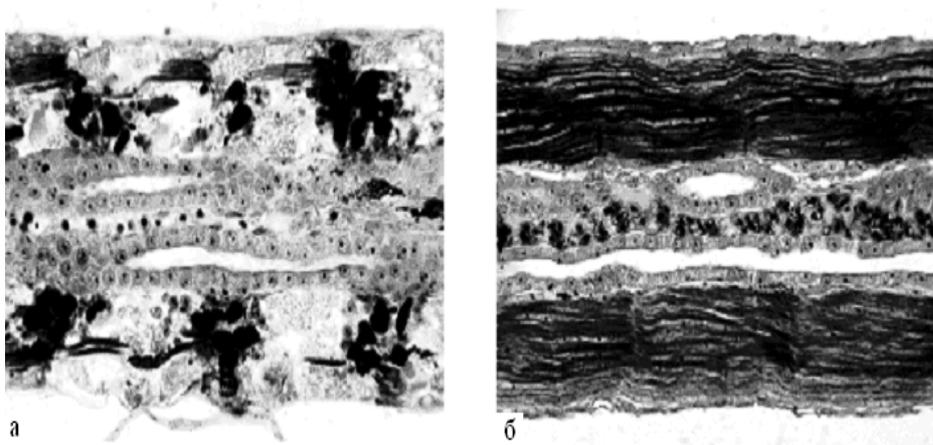


Рис. 4. Деструкция туловищной мускулатуры у тугуна:
а - 1 вариант, б - 2 вариант.

В противоположность нервной, сердечно-сосудистой и мышечной системам в желудочно-кишечном тракте и печени патологических изменений не было выявлено. А среди молодежи исследованных видов сиговых рыб их способность противостоять данному агрессивному токсиканту снижалась в ряду: пелядь > муксун > тугун > сиг-пыжьян.

В серии 2005г. эксперимент был поставлен на молодежи сиговых после их перехода на активное питание. В этой серии, как и в предыдущей, реакция на нефтяное поражение отчетливо проявлялась в морфо-функциональных характеристиках печени и желудочно-кишечного тракта. У молодежи всех изученных видов в растворе нефти вначале резко сокращалось количество липидных капель в гепатоцитах, отчего эти клетки становились в 1.5-2 раза меньше контрольных, затем на месте дегенерирующих клеток появлялись каверны, а липидных вакуолей почти не оставалось. Воздействие нефтепродуктами пришлось на молодежь после ее перехода на активное питание, что и вызвало описанные изменения пищеварительной системы. В противоположность ЖКТ и печени, сердечно-сосудистая, нервная и мышечная системы характеризовались повышенной резистентностью, обусловленной возросшей устойчивостью молодежи, миновавшей этот критический период постэмбрионального онтогенеза.

Наибольшая выживаемость, как и в серии 2004 г., была свойственна муксуну и пеляди, наименьшая – тугуну, а сиг-пыжьян и чир занимали промежуточное положение.

В 2004 г. проводилось сравнительное изучение 1 (контроль+ВРФН) и 2 (ВРФН+СИМП) вариантов молоди тугуна, пеляди, сига-пыжьяна и муксуна.

У молоди *тугуна* были два пика отхода – через 5 и 14 суток (рис. 5а),

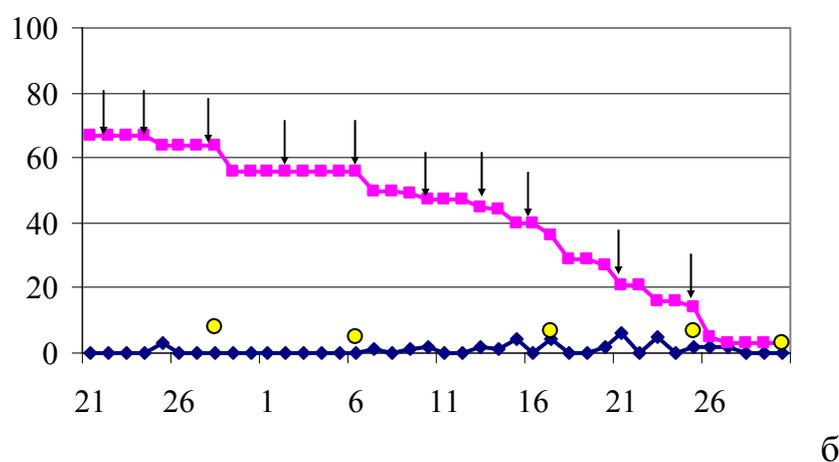
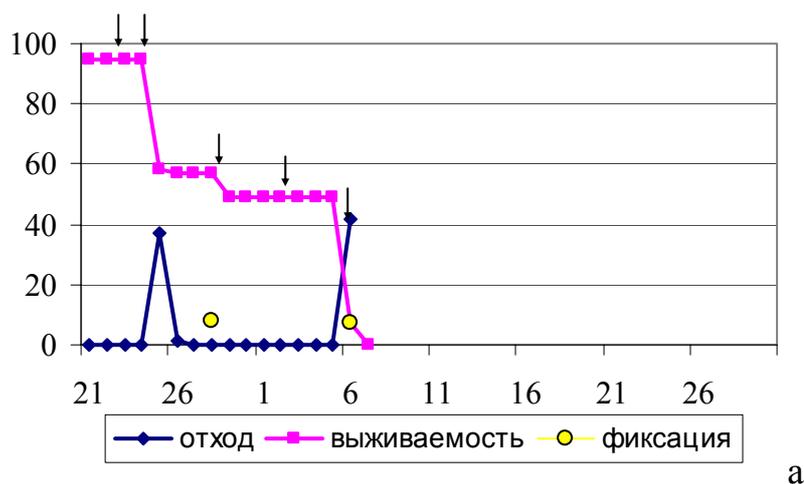


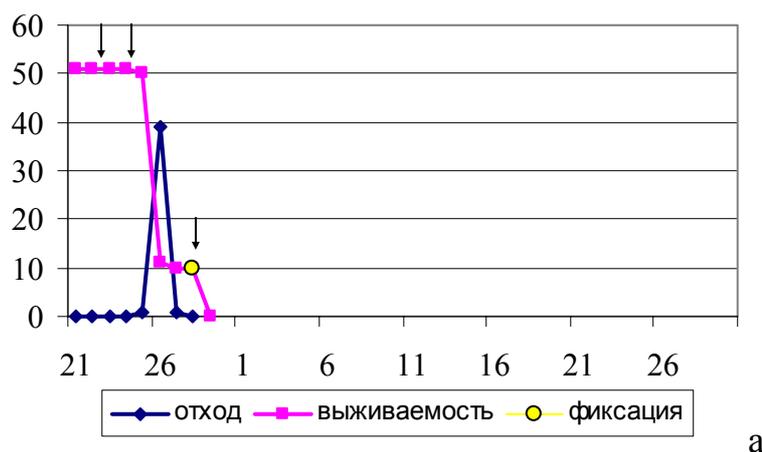
Рис. 5. Динамика отхода и выживаемости молоди тугуна
а – 1 вариант, б – 2 вариант.

которые и привели к полной его гибели. Описанные патоморфологические изменения внутренних органов тугуна в 1 варианте оказались несвойственны молоди этого вида, прошедшей обработку СИМП – 2 вариант [Селюков, Беспоместных, 2006]. Гистологический анализ состояния жизненно важных органов этой молоди, зафиксированной в возрасте 28 суток, отклонений от контроля не выявил, несмотря на продолжающуюся смену растворов нефти. К концу эксперимента, т.е. к 40 суткам, подопытные мальки прошли уже

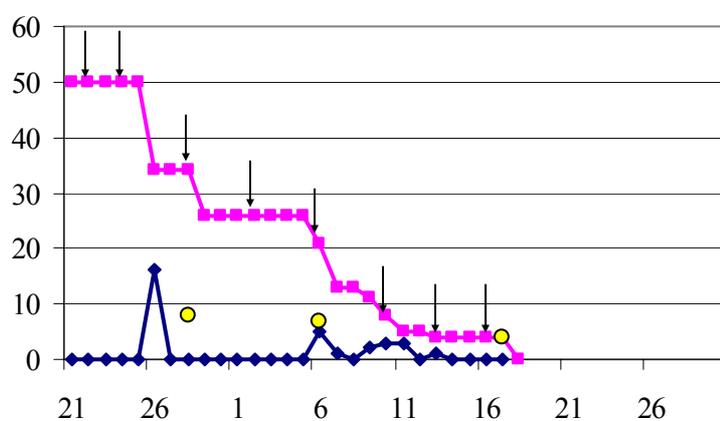
десятикратную смену нефтяного раствора (рис. 5б). Однако ни в структуре головного и спинного мозга (рис. 3 в,г), ни в состоянии печени и мышц (рис. 4б) отличий 2 варианта от контроля не было установлено. У продолжавшей питаться подопытной молодежи нарушений в слизистой заполненного пищевыми массами кишечника также не наблюдали.

Отсутствие отчетливых морфологических различий в состоянии основных систем у личинок *п е л я д и* в обоих вариантах обусловлено в целом высокой степенью неспецифической резистентности.

Влияние ВРФН на личинок *с и г а - п ы ж ь я н а* в 1 варианте уже через 7-9 суток привело к их полной гибели, тогда как отход обработанной СИМП молодежи оставался в пределах нормы (рис. 6 а,б). Ее полная гибель произошла спустя 24 суток после начала эксперимента.



а



б

Рис. 6. Динамика отхода и выживаемости молодежи сига-пыжьяна
а – 1 вариант, б – 2 вариант.

У отличавшейся высокой жизнестойкостью молоди муксуна гистологический анализ не выявил существенных различий в состоянии систем органов в контроле и обеих опытных партиях. В связи с этим следует констатировать в целом значительно более высокую степень токсикорезистентности муксуна, обусловленную видовой спецификой.

Проведенное в ходе двухлетних экспериментов сравнительное изучение молоди сиговых рыб разных экологических групп, обработанной сверхслабыми импульсными магнитными полями и развивавшейся в условиях хронического нефтяного загрязнения, подтвердило активирующую роль СИМП в формировании адаптационного потенциала. Так, активизация внутренних ресурсов молоди тугуна, актуально обладавшего сравнительно невысокими токсикорезистентными качествами, стало возможным вследствие применения СИМП. Однако применение данного подхода на завершающих этапах эмбриогенеза и при вылуплении (2004 г.) оказывается эффективнее двукратной экспозиции: после вылупления и перехода на активное питание (2005 г.).

В серии работ 2005 г. исследовалось также состояние систем органов молоди сиговых рыб в условиях поражения фенолом и их реабилитация СИМП.

Продолжительное пребывание молоди после перехода на активное питание в условиях фенольного загрязнения выявило наиболее чувствительные системы внутренних органов – печень, как основной орган детоксикации, желудочно-кишечный тракт, через слизистую которого осуществляется наиболее интенсивное взаимодействие со средой, и мышцы – активная локомоторная составляющая опорно-двигательной системы. Среди молоди изученных видов наиболее резистентными к фенолу оказались планктобентофаг муксун и бентофаг чир, наименее устойчивым – типичный планктофаг тугун, планктофаг с широким спектром питания пелядь и бентофаг сиг-пыжьян по степени устойчивости заняли промежуточное положение.

У молоди пеляди, сига-пыжьяна и чира, обработанной СИМП и развивавшейся в условиях фенольного загрязнения, в отличие от молоди в 1 варианте, отклонений в изученных органах не выявлялось.

ВЫВОДЫ

1. На этапе вылупления молодь сиговых рыб р. *Coregonus* характеризуется низкой скоррелированностью морфометрических признаков; на основе дискриминантного анализа виды отчетливо делятся на две группы: более однородную (тугун–пелядь) и менее компактную (сиг-пыжьян–муксун–чир).

2. Сокращение эмбриогенеза тугуна и чира при повышенных температурах инкубации на 1.5-2 месяца сопровождалось достоверным увеличением размеров первичных гоноцитов, но замедлением темпа их формирования у тугуна, снижением числа ППК у чира; у эмбрионов обоих видов возрастало число амитозов ППК.

3. В постэмбриональный период наиболее интенсивное формирование фонда половых клеток свойственно тугуну, меньшей интенсивностью гаметогенеза, по мере убывания, характеризуются: муксун > пелядь > чир > сиг-пыжьян; в их гонадах присутствовали полиморфноядерные, дву- и трехъядерные одиночные и «сгруппированные» гоноциты.

4. Хроническое воздействие фоновых концентраций ВРФН (0.25 мг/л) и фенола (0.05 мг/л) на развивающуюся молодь сиговых рыб подавляет их репродуктивную систему, степень поражения которой возрастает в ряду: пелядь – муксун – чир – тугун – сиг-пыжьян.

5. Функционально значимые органы и системы органов (сердце, головной и спинной мозг, печень, кишечник, соматическая мускулатура) у молоди сиговых рыб в условиях хронического загрязнения нефтепродуктами в постэмбриональном онтогенезе в наибольшей степени поражаются у тугуна и сига-пыжьяна, в меньшей степени – у муксуна, пеляди и чира.

6. Подавление ВРФН темпа, синхронности развития, выживаемости и доли полноценных зародышей вьюна возможно понизить применением слабых импульсных магнитных полей на ранних стадиях эмбриогенеза.

7. В условиях хронической фенольной интоксикации развитие репродуктивной системы обработанной СИМП молоди сиговых рыб, после кратковременного спада численности гоноцитов, характеризовалось

компенсаторным возрастанием ее активности, в наибольшей мере проявившейся у чира и сига-пыжьяна.

8. Повышение неспецифической токсикорезистентности молоди сиговых рыб применением СИМП, до их перехода на смешанное питание, в большей степени было свойственно наименее устойчивым к воздействию нефтепродуктами тугуну и сигу-пыжьяну.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ

1. Селюков А.Г., Бондаренко О.М., Вторушин М.Н., Беспоместных Г.Н. Коррекция сверхслабыми магнитными полями генеративной функции у сигов-планктофагов в постэмбриональном онтогенезе // Вестник Тюменского государственного университета. Тюмень. 2003. №2. С.53-61.
2. Селюков А.Г., Беспоместных Г.Н., Селюкова Г.П. Экологическая пластичность морфологических признаков в раннем онтогенезе сиговых рыб (*Coregonidae*) Обь-Иртышского бассейна // Вестник Тюменского государственного университета. Тюмень. 2005. №5. С.163-173.
3. Селюков А.Г., Беспоместных Г.Н. Протекторное действие слабых импульсных магнитных полей в раннем онтогенезе тугуна *Coregonus tugun (Pallas)* в условиях хронического нефтяного загрязнения // Экология. 2006. №5. С. 365-371.

Статьи

4. Селюков А.Г., Вторушин М.Н., Бондаренко О.М., Беспоместных Г.Н. Морфодинамические корреляции в раннем онтогенезе сиговых рыб под влиянием слабых магнитных полей // Сб. “Биология и биотехника разведения сиговых рыб”. Тюмень, 2001. С.160-162.
5. Беспоместных Г.Н., Селюков А.Г. Влияние температуры и слабых магнитных полей на соматическое и генеративное развитие сиговых рыб (*Coregonidae*) в раннем онтогенезе // Лучшие выпускные квалификационные работы 2003 года (сб. статей). Часть 1. Естественно-научное и экономическое направления. Тюмень: Изд-во ТюмГУ, 2003. С. 99 – 111.

6. Селюков А.Г., Бондаренко О.М., Вторушин М.Н., Беспоместных Г.Н. Коррекция слабым магнитным полем генеративной системы и роста у пеляди и муксуна в постэмбриональный период // Труды Международного Форума по проблемам науки, техники и образования. Том 2. Москва.2003. С.109-110.
7. Селюков А.Г., Беспоместных Г.Н., Бондаренко О.М., Вторушин М.Н. Влияние субпороговых температур инкубации на развитие гоноцитов и соматический рост пеляди и тугуна в постэмбриональном онтогенезе // Труды Международного Форума по проблемам науки, техники и образования. Том 2. Москва.2003. С.115-116.
8. Селюков А.Г., Беспоместных Г.Н., Исаков П.В. Видоспецифическая резистентность молоди сиговых рыб (*Coregonidae*) к нефтяному загрязнению // Труды Международного Форума по проблемам науки, техники и образования. Том 3. Москва. 2004 С.62-63.
9. Селюков А.Г., Солодилов А.И., Беспоместных Г.Н., Шарапова Н.В.. Модифицирующее влияние слабых импульсных магнитных полей на молодь сиговых рыб при нефтяном загрязнении // Труды Международного Форума по проблемам науки, техники и образования. Том 3. Москва. 2004 С.61-62.
10. Селюков А.Г., Беспоместных Г.Н. Активация слабыми магнитными полями адаптационных механизмов молоди сигов-планктофагов к нефтяному воздействию // Актуальные проблемы экологической физиологии, биохимии и генетики животных: Материалы Междунар. научн. конф. Саранск, 2005. С.211-214.
11. Селюков А.Г., Беспоместных Г.Н., Солодилов А.И. Повышение резистентности к нефтяному поражению молоди сигов-бентофагов слабыми магнитными полями // Актуальные проблемы экологической физиологии, биохимии и генетики животных: Материалы Междунар. научн. конф. Саранск, 2005. С.215-217.
12. Беспоместных Г.Н. Формирование репродуктивной системы сигов-планктофагов в постэмбриогенезе при повышенных температурах // Труды

Международного Форума по проблемам науки, техники и образования. Том 3. Москва. 2005. С.52-53.

13. Селюков А.Г., Беспоместных Г.Н. Состояние жизненно важных органов сиговых рыб (*Coregonidae*) в постэмбриональном онтогенезе в условиях хронического фенольного загрязнения // Труды Международного Форума по проблемам науки, техники и образования. Том 3. Москва. 2005. С.53-55.

14. Селюков А.Г., Беспоместных Г.Н. Повышение токсикорезистентности молоди сиговых рыб сверхслабыми импульсными магнитными полями в условиях хронического загрязнения среды фенолом // Труды Международного Форума по проблемам науки, техники и образования. Том 3. Москва. 2005. С.55-56.

Тезисы

15. Selyukov A.G., Vtorushin M.N., Bondarenko O.M., Bespomestnykh G.N. Application of weak-magnetic field during embryonic development of Coregonid fish to increase their biotolerance // VIII Intern.Sympos.Biol. and Manag. of Coregonid fishes. Finland, Rovaniemi. 2002. P.46.

16. Селюков А.Г., Беспоместных Г.Н., Шарапова Н.В. Повышение резистентности сиговых рыб к нефтяному воздействию под влиянием слабых импульсных магнитных полей // Матер. XVI Всеросс.научно-практич. конф. Тюмень. 2004. С. 27-28.

17. Bespomestnykh G.N., Selyukov A.G. Formation of germ cells in early ontogeny of plankton-eating coregonid fish at different temperatures // IX Intern. Sympos. Biol. and Manag. of Coregonid fishes. Poland, Olsztyn. 2005. P.87.

18. Selyukov A.G., Bespomestnykh G.N. The species-specific resistance of Coregonids' young to oil's effect // IX Intern. Sympos. Biol. and Manag. of Coregonid fishes. Poland, Olsztyn. 2005. P.144.