

вестник ветеринарии. - 2018. - № 2. - С. 82-86.

4.Смолькина А.С., Орлова Д.А., Токарев А.Н., Калюжная Т.В. Органические продукты: понятие, требования к ним, нормативно-правовая база и перспективы развития. / А.С. Смолькина, Д.А.Орлова,

А.Н.Токарев, Т.В.Калюжная // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2018. - № 2. - С. 30-32.

5.Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции» (ТР ТС 033/2013) [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/499050562>.

Дата обращения 29.08.2018.

УДК: 639.312.

ТОКСИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ РЫБ К ОСНОВНЫМ ТИПАМ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДОЕМОВ

Аршаница Н.М. - ведущий науч. сотрудник, к.б.н.; Беляев Д.С.- аспирант, Стекольников А.А., к.б.н.; Гребцов М.Р.- аспирант, Каримов Б.К., д.б.н. ФГБНУ «ГосНИОРХ»

Ключевые слова: воспроизводство рыб, ранний онтогенез, токсикорезистентность, тест-вещества, профилактика. **Key words:** fish reproduction, early ontogenesis, toxicoresistance, test substances, prevention.

РЕФЕРАТ

Показано, что одними из основных причин снижения запасов рыб в естественных водоемах являются нарушение естественного воспроизводства и воздействие токсикологического фактора, который также негативно сказывается на функционировании рыбоводных заводов по воспроизводству ценных видов рыб для вселения в естественные водоемы и для индустриального рыбоводства.

Результаты исследований по сравнительной токсикорезистентности используемых в аквакультуре рыб в раннем онтогенезе к тест-веществам (серная кислота, едкий натр, сернистая медь, орто-крезол, хлористый натрий, мясо-пептонный бульон), отражающим основные типы загрязнений водоемов, показали, что при воздействии всех токсикантов, кроме хлористого натрия, рыбы, икра и личинки карпа наиболее устойчивы, лососевые занимают промежуточное положение, а сиговые наиболее чувствительны как в остром, так и в хроническом экспериментах. Отмечены особенности влияния тест-веществ. Предложены научно обоснованные меры профилактики.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из проблем XXI века в мировом масштабе является проблема пресной воды: её дефицит и качество. Небывалое по масштабам загрязнение водной среды – отличительная особенность XX столетия, и с этим наследием человечество вступило в XXI век. Водоемы оказались наиболее уязвимыми для загрязнения, поскольку токсиканты поступают в них со сточными водами, аэрогенным путем, с загрязненным поверхностным стоком, от судоходства, аварий и пр.

Загрязнение отрицательно отразилось на рыбохозяйственных водоемах, снизилось качество воды и по санитарно-гигиеническим критериям. Резко упали запасы рыб, особенно таких ценных видов, как сиговые и лососевые. Некоторые водоемы оказались практически непригодными для использования в рыбохозяйственных целях. Загрязнение сказалось и на такой реке, как Волга. По данным специалистов, река утрачивает способность к самоочищению, и если своевременно не принять меры, то в перспективе она мо-

жет утратить рыбохозяйственное значение с ухудшением санитарно-гигиенических критериев качества вод. В связи с этим Совет Министров РФ в 2017 г. принял специальное постановление по профилактике эколого-токсикологических последствий в бассейне реки, выделив на эти цели 245 млрд. руб. Из-за снижения запасов рыб в естественных водоемах интенсивно развиваются все формы рыбоводства, которое становится индустриальным. В Российской Федерации на октябрь 2017 г. действовало около 4 тыс. рыбоводных хозяйств, количество которых будет расти.

Исследования показали, что одним из важнейших факторов снижения запасов рыб в естественных водоемах является нарушение естественного воспроизводства, особенно из числа сиговых и лососевых с длительным периодом эмбрионального развития [1-3]. Вопрос воспроизводства рыб в настоящее время стал ключевым так как воспроизводство – начальное звено рыбопродукционного процесса, влияющего на численность популяций рыб в водоеме. Период раннего онтогенеза – критический в жизни рыб. Это связано с тем, что у рыб система иммунитета еще полностью не сформирована и способность к детоксикации и другим абиотическим факторам снижена по сравнению со взрослыми рыбами [19, 21]. Стадии раннего эмбриогенеза и переходный период личинок от эндогенного к экзогенному питанию – особенно чувствительные для рыб периоды по отношению к токсическому воздействию.

Следует также отметить, что токсиканты оказывают выраженное влияние на нарушение процесса остеогенеза и аномалию костной ткани. Поэтому наличие мёртвых икринок и молоди (личинок, мальков) с массовыми сколиозами и другими дефектами является показателем высокого уровня загрязнения среды обитания рыб.

Исследования, проведенные на водоемах Северо-Запада России, установили, что нарушение естественного вос-

производства рыб – обычное явление, а на загрязняемых акваториях число личинок с выраженными необратимыми патологиями достигает 30% и более [13, 20, 25, 26]. На таких акваториях ихтиофауна малочисленна, массово поражена токсикозом и представлена видами, устойчивыми к загрязнению. Заводское воспроизводство рыб также несёт большие потери от гибели рыб ввиду загрязнения источников водоснабжения [4]. Загрязнение поверхностных вод ксенобиотиками, металлами и другими токсикантами, распространяемыми аэрогенным путём, приняло глобальный характер.

Современная классификация загрязняющих веществ, поступающих в водоемы, в целом сходна с ранее данной Агентством по окружающей среде США, где представлены основные виды таких веществ: пестициды (ксенобиотики), металлы, кислоты, щелочи, соли, нефтепродукты, моющие вещества, фенолы и другие органические вещества [11, 17].

Исходя из того, что процесс загрязнения рыбохозяйственных водоемов стал неуправляемым, и учитывая возникшие проблемы в плане пастбищного и индустриального рыбоводства, возникла необходимость поиска путей по региональному использованию водоемов с учетом типа и уровня их загрязнения. Прежде всего это относится к проектированию и строительству рыбоводных хозяйств разного профиля (воспроизводство, товарное выращивание), а также к культивированию рыб, которые по-разному реагируют на действие различных загрязняющих веществ (особенно в период раннего онтогенеза), влияние которых до настоящего времени еще недостаточно изучено.

Токсикологическая паспортизация рыб – сложный и трудоемкий процесс, и настоящее исследование – одна из попыток внести ясность в этом направлении. В целевую задачу входило: дать токсикологическую характеристику карповым, лососевым и сиговым рыбам, используемым и внедряемым в рыбоводство, при действии стандартных тест-веществ.

Воздействие сублетальных концентраций некоторых тест-веществ и других токсикантов на радужную форель при трехмесячном эксперименте позволило выявить токсическое действие верхних из изученных концентраций у ряда веществ. Было установлено, что они в большинстве случаев отрицательно влияют на показатели роста радужной форели [6, 18]. Этот факт будет иметь значение при товарном выращивании рыбы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводились на карпе, белом амуре, радужной форели, стальноголового лосося, кижуче, пеляди и пелчире. В качестве тест-веществ использованы следующие вещества: медь сернокислая (чистая, № 4165-78), серная кислота (ч. ст. 4204-77), натр едкий (ЧДА), соль поваренная "гранатка", орто-крезол (ЧДА), МПБ (мясо-пептонный бульон, приготовленный в соответствии с методикой). При действии кислоты и щелочи изучались динамика гидрохимических показателей, а также острое действие тест-веществ на рыб. Продолжительность эксперимента – 16 суток. Все опыты проводились в однотипных условиях на сеголетках и годовиках рыб и по единой схеме. Границы токсического действия давались по следующим показателям: ЛК95; ЛК50; ЛК05 и концентрациям тест-веществ (мг/л). За основу оценки результатов экспериментов по количественным и качественным показателям при действии токсических веществ на водные организмы использовали общепринятые в водной токсикологии и ихтиологии руководства. [8, 12, 14-16, 22-24]. Для визуальной оценки клинического и патологоанатомического состояния рыб применяли три степени выраженности патологического процесса, характерного для токсикозов:

- 1 – слабая степень поражения с обратимостью процесса;
- 2 – средняя степень поражения, приводящая к последствиям;
- 3 – высокая степень поражения, обычно заканчивающаяся гибелью рыб, икры, личинок.

Эксперименты на инкубируемой икре и личинках проводили по общепринятой методике с учетом биологии вида. В отличие от рыб, с икрой и личинками осуществляли хронические эксперименты, т.е. от момента оплодотворения до перехода личинок на смешанное питание, где продолжительность опытов с икрой и личинками форели составляла 70–78 суток, пеляди – 120 и карпа – 10-14 суток. Это обстоятельство обеспечивало большую достоверность данных по сравнению с результатами, полученными на рыбах при острых экспериментах. Эксперименты проводились на жесткой (7,8 мг, экв/л) и мягкой (0,7 мг, экв/л) водах.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В таблице 1 представлены результаты исследований острого действия тест-веществ на особей карповых, лососевых и сиговых рыб.

При изучении влияния серной кислоты на рыб, действие которой лимитируется только по показателю pH, установлено и специфическое влияние ее для жесткой воды.

В мягкой воде гибель рыб происходит лишь при концентрациях кислоты, обеспечивающих показатель pH ниже 6,0, что соответствует содержанию ее от 25,7 мг/л и ниже. Иное действие серной кислоты наблюдается в жесткой воде. Концентрация 29,4 мг/л доводит показатель pH с 7,65 до 7,36, но не вызывает гибели рыб. При содержании кислоты 58,9 мг/л и pH 7,0 заметно проявляются клинические признаки токсикоза у рыб, гибнут единичные особи. Концентрация 110,4 мг/л при pH 6,67 приводит к массовой гибели всех подопытных рыб.

Таким образом, концепцию подразделения кислот на группу действующих только через изменение pH и на группу обладающих специфическим токсическим действием, не связанным с показателем pH, следует еще раз проверить и пересмотреть. Очевидно, необходима разработка ПДК сильных минеральных кислот по веществу для природных водоемов с жесткими водами, так как отсутствие ПДК ставит такие водоемы в неконтроли-

руемое положение при кислотном загрязнении.

Особенностью воздействия серной кислоты на рыб является очень быстрая реакция на присутствие токсиканта, заключающаяся в сильном возбуждении рыб и дискоординации движения, в отсутствии реакции на раздражители, в последующем угнетении и потере гидростатического равновесия. В мягкой воде у рыб наблюдается сильное ослизнение наружных покровов тела и жабр. Из таблицы 1 видно, что кислотное загрязнение водоемов наиболее опасно для сиговых рыб, особенно в мягкой воде. На основании данных таблицы по устойчивости к серной кислоте рыбы располагаются в следующем порядке: карп, амур, радужная форель, стальноголовый лосось, кижуч, пелчир, пелядь.

Аналогичные результаты получены в экспериментах с икрой и личинками при действии серной кислоты, где установлено, что наиболее устойчивы икра и личинки карпа, далее следует радужная форель и самая чувствительная пелядь (табл. 2). Заслуживает внимания тот факт, что токсичность серной кислоты в значительной мере зависит от жесткости воды, как это было показано на рыбах.

Так, в опытах с икрой и личинками карпа показано, что недействующий уровень pH в жесткой воде составляет 6,4; а в мягкой – 4,8. Это свидетельствует о том, что показатель pH не может быть единственным критерием оценки качества воды при загрязнении водоемов сильными кислотами.

Действие едкого натра на рыб также изучалось в мягкой и жесткой воде. В мягкой воде клиническое проявление токсикоза было заметно при концентрации вещества 8,4 мг/л и pH 9,55, а частичная гибель подопытных рыб наблюдалась при содержании едкого натра 12 мг/л и pH 10,0. Повышение концентрации вещества до 22,4 мг/л и pH до 10,5 вызвало массовую гибель всех видов рыб. Дальнейшее увеличение содержания щелочи до 42,4 мг/л (pH 11,0) привело к быстрой 100%-ной гибели всех видов подопытных рыб.

В жесткой воде концентрация щелочи 12 мг/л не превысила показатель pH 8,0 и не вызвала клинического реагирования подопытных рыб на присутствие токсиканта. Лишь содержание вещества 65,6 мг/л (pH 8,45) изменило заметную клиническую реакцию с последующей адаптацией и гибелью единичных особей. Только дальнейшее увеличение концентрации вещества в воде сдвинуло показатель pH за пределы допустимой нормы и привело к массовой гибели рыб.

Приведенные данные показывают, что действие щелочей в разных по жесткости водах по-разному проявляется на показателе pH и состоянии рыб. Если в мягкой воде их действие на рыб лимитируется показателем pH, то в жесткой не контролируется этим показателем до определенных границ концентрации. В мягкой воде токсикологический эффект более выражен. Для щелочного отравления рыб характерна также клиническая картина, что и для кислот, но без выраженной дискоординации движений. Коматозное состояние более длительное, чем при действии кислот. В мягкой воде наблюдаются сильное ослизнение рыб и кровотечение из жабр. Характерна отечность мягких бесчешуйных участков тела, особенно плавников с последующим разрушением их. При щелочном загрязнении водоемов следует иметь в виду факт заметного помутнения жесткой воды с последующим выпадением осадка (типа мелового).

Можно поэтому считать, что сиговые рыбы наиболее чувствительны к щелочному загрязнению водоемов, чем лососевые, а карповые наиболее устойчивы. По устойчивости к едкому натру исследованные виды рыб располагаются в следующем порядке: карп, белый амур, радужная форель, стальноголовый лосось, кижуч, пелчир, пелядь. При действии едкого натра на икру и личинок установлено, что токсикорезистентность их располагается в следующем порядке её убывания: карп, форель, пелядь, что подтверждают полученные результаты на рыбах.

В результате проведенных экспериментов с икрой и личинками карпа в

жёсткой и мягкой воде, при действии едкого натра, показано, что в мягкой воде не действующий уровень pH значительно выше, чем в жёсткой. Причиной этого является косвенное отрицательное влияние щелочи на икру, выражающееся, в частности, в блокировании оболочек икринок осадками кальция и других солей.

Действие сернокислой меди (медного купороса) в жёсткой воде в концентрации 3-4 мг/л вызывает гибель подопытных рыб, за исключением радужной форели (80%). Более низкие концентрации чётко показывают повышенную чувствительность сиговых рыб по сравнению с лососевыми и повышенную устойчивость карповых. Это проявлялось не только в выживаемости, но и в динамике отхода рыб, а также в токсикозе. В эксперименте по сравнительной токсичности сернокислой меди для сеголетков радужной форели в разных по жесткости водах четко прослеживается более высокая токсичность вещества в мягкой воде. При этом смещаются граница полной и частичной гибели рыб и степень проявления токсичности подопытных рыб.

Для действия медного купороса характерно наличие латентного периода продолжительностью до суток и более в зависимости от концентрации. Реакция на действие токсиканта у рыб проявляется в нарастании возбуждения, повышении активности и дискоординации движений. Возбуждение сменяется угнетением, снижением частоты дыхания и двигательной активности. У пораженных рыб, особенно у сиговых, в поведении прослеживаются клинические признаки асфиксии, что связано с поражением жаберной ткани. Проведённые эксперименты показали, что устойчивость исследованных видов рыб к сернокислой меди неодинакова. Если токсикорезистентность изученных лососевых оказалась на близком друг от друга уровне, то разница по сравнению с сиговыми существенна, что может иметь практическое значение и на сублетальном уровне.

В порядке понижения токсикорезистентности к сернокислой меди исследо-

ванные виды рыб располагаются в следующем порядке: карп, белый амур, радужная форель, стальноголовый лосось, кижуч, пелчир и пелядь. Аналогичные результаты были получены при действии сернокислой меди на икру и личинок, где наиболее устойчивыми оказались икра и личинки карпа, далее следует радужная форель и самая чувствительная пелядь.

Исследования с хлористым натрием проводились в диапазоне концентрации от 2 до 30 г/л при непосредственном помещении рыб из пресной воды. Содержание хлористого натрия в воде от 25 до 30 г/л вызывает 100%-ную гибель всех видов рыб. Гибель лососевых рыб несколько растянута во времени, особенно в концентрации 25 г/л, тогда как сиговые и карповые погибают в более короткие сроки не только в этой, но и в других действующих концентрациях. Клиническое проявление солевого отравления рыб связано с нарушением стабильности и ориентации, подавлением реакции. У погибающих рыб развиваются нервно-паралитические явления, признаки асфиксии, особенно чётко проявляемые у сиговых. Внешне у погибших рыб обнаруживаются очаги гиперемии и отдельные кровоизлияния на бесчешуйных участках тела. Особенностью действия хлористого натрия было развитие процесса, связанного с помутнением роговицы и хрусталика. Выраженный процесс патологии наблюдался в жаберной ткани, которая была гиперемизована, отёчна, умеренно ослизнена при наличии мелкоточечных кровоизлияний. По устойчивости к хлористому натрию (см. табл. 1) исследованные виды рыб располагаются в следующем порядке: кижуч, стальноголовый лосось, радужная форель, карп, белый амур, пелчир, пелядь.

Последовательность в устойчивости икры и личинок исследованных видов рыб при действии хлористого натрия несколько изменяется, подтверждая изменения в устойчивости взрослых рыб: на первое место выходит икра и личинки радужной форели, менее устойчив карп и самая уязвимая пелядь.

Представитель группы фенолов орто-крезол в концентрациях 10; 8 и 6 мг/л вызывает 100%-ную гибель всех видов подопытных рыб, за исключением кижуча в концентрации 6 мг/л и карповых. В более низких концентрациях проявляется дифференцированное действие токсиканта на выживаемость и динамику отхода различных видов рыб. Так, содержание орто-крезола 4 мг/л за период опыта вызывает гибель 30% форели, 60% лосося, 50% кижуча, 80% пелчира и 100% пеляди и не оказывает влияния на карповых рыб. Эти данные показывают, что карповые рыбы более устойчивы к орто-крезолу по сравнению с лососевыми и сиговыми.

Среди лососевых и сиговых выявлены видовые различия. Действие орто-крезола аналогично действию фенола (карболовой кислоты): возбуждение с дискоординацией движений сменяется потерей гидростатического равновесия с проявлением нервно-паралитических симптомов. Замедление и прекращение двигательной активности рыб отражаются на дыхательном ритме, остановка которого заканчивается гибелью рыб.

Степень выраженности, продолжительность и соотношение отдельных периодов клинического проявления токсикоза при различных концентрациях и у различных видов рыб различны и имеют некоторые особенности. Так, у сиговых рыб наступал уже прижизненный, а смертно более сильно выраженный S-образный или дугообразный изгиб тела, были более четко выражены признаки асфиксии.

Анализируя данные таблицы 1 о границах острого действия орто-крезола для карповых, лососевых и сиговых рыб по устойчивости, их можно расположить в следующем порядке: карп, амур, радужная форель, кижуч, стальноголовый лосось, пелчир, пелядь.

При действии орто-крезола на икру и личинок рыб получена аналогичная последовательность в устойчивости, где она располагается в порядке убывания: карп, радужная форель, пелядь. Межви-

довые различия достаточно велики (см. табл. 2), что очень важно при проектировании рыбохозяйственных объектов. Орто-крезол, являясь представителем органических загрязнителей с выраженными токсическими свойствами, вызывает массовую гибель эмбрионов на стадии, предшествующей выклеву. Этот факт можно объяснить образованием белого налёта на поверхности оболочек и способностью фенолов в длительных экспозициях накапливаться в живых организмах, что приводит к проявлению токсического эффекта.

Влияние органического вещества без специфических токсических свойств (МПБ – мясо-пептонный бульон, который в воде повышает сапробность) изучалось при двух температурных режимах ввиду того, что с повышением температуры все биохимические процессы идут более интенсивно. Исследовались концентрации МПБ от 0,04 до 2,56% (или 0,4-25,6 мг/л стандартного раствора).

Проведённые эксперименты показали, что МПБ является нестойким органическим соединением, легко окисляется биохимически путём. Процессы распада сопровождаются значительными изменениями химических и физических свойств воды. Это сказывается на уменьшении прозрачности, появлении желтоватой окраски, плёнки и ухудшении органолептических свойств воды. С повышением температуры интенсивность процессов возрастает. Биохимическое окисление сопровождается нарушением кислородного режима вплоть до полного исчезновения в концентрациях 0,32-1,28% (полисапробные условия) при температуре 19°C.

В опыте при более низкой температуре (10°C) граница полного исчезновения кислорода наблюдается только начиная с концентрации МПБ 0,96% и выше. Заморные явления, отмечаемые при высокой температуре, привели к нарушению естественного процесса нитрификации, и в результате обратного процесса – денитрификации – равновесие минеральных форм азота сместилось в сторону преобладания нитритного азота, количество которого в

Таблица 1
Граница острого токсического действия тест-веществ на представителей лососевых, сиговых и карповых рыб в остром эксперименте – 15 суток, ЛК₅₀

Виды рыб	Тест-вещество									
	H ₂ SO ₄ , мг/л		NaOH, мг/л		CuSO ₄ мг/л	NaCl, г/л	Орто- крезол, мг/л	МПБ t - 19°C %	МПБ t - 10°C %	
	Жест- кая	Мягкая	Жест- кая	Мяг- кая	Жест- кая	Жест- кая	Жесткая	Жесткая	Жесткая	
Карп	213,0	28,4	209,0	46,2	2,88	12,5	10,2	1,23	1,45	
Белый амур	155,0	26,4	182,0	31,2	2,76	10,8	9,1	0,86	0,88	
Форель	120,0	26,3	120,8	25,0	2,71	20,3	4,3	0,21	0,62	
Лосось	120,0	26,3	120,8	26,7	2,28	20,7	3,5	0,19	0,59	
Кижуч	115,0	26,0	100,5	25,0	2,28	22,7	4,0	0,19	0,48	
Пелчир	105,5	26,3	120,8	20,5	0,76	15,5	3,3	0,12	0,28	
Пелядь	82,3	26,0	86,9	16,6	0,57	12,1	2,8	0,11	0,25	

Таблица 2
Границы хронического действия тест-веществ для инкубируемой икры и личинок карпа, радужной форели и пеляди

Виды рыб	Показатели токсичности	Тест-вещество, тип воды, единицы измерения											
		H ₂ SO ₄				NaOH				CuSO ₄	NaCl	Орто-крезол	МПБ
		Жесткая		Мягкая		Жесткая		Мягкая		Жест-кая	Жест-кая	Жест-кая	Жест-кая
		мг/л	pH	мг/л	pH	мг/л	pH	мг/л	pH	мг/л	мг/л	мг/л	%
Карп	ЛК ₀₅	160,0	6,4	30,2	4,8	230,0	10,5	54,8	11,0	0,47	3500	37,50	0,520
Форель		143,0	6,3	-	-	79,0	9,3	-	-	0,03	6600	2,45	0,007
Пелядь		58,0	6,9	-	-	37,1	8,6	-	-	0,03	1300	0,20	0,008
Карп	ЛК ₅₀	230,0	5,7	35,5	4,0	278,0	10,7	71,0	11,2	0,86	5000	45,70	1,650
Форель		182,0	6,1	-	-	138,0	9,8	-	-	0,19	8700	9,00	0,050
Пелядь		63,0	6,7	-	-	51,2	8,8	-	-	0,17	3100	0,96	0,022
Карп	ЛК ₉₅	300,5	4,1	45,5	3,7	329,0	10,8	90,5	11,4	1,60	7100	54,80	2,260
Форель		247,0	5,6	-	-	245,0	10,3	-	-	0,63	11500	32,50	0,290
Пелядь		78,0	6,6	-	-	72,0	9,1	-	-	0,58	6500	7,95	0,060

концентрации 0,32% достигло 13,1 мг/л. Последний является депрессантом дыхания, он выводит из строя гемоглобин и тем самым усугубляет действие дефицита кислорода.

Результаты исследований показали, что МПБ чётко моделирует все процессы органического загрязнения водоемов. На характер и течение бактериальных процессов самоочищения основное влияние оказывают концентрации загрязняющего органического вещества и температура среды. При высоких температурах процессы самоочищения усиливаются за счёт увеличения числа сапрофитов (максимум их приходится на вторые сутки), что соответствует полисапробным условиям среды. Самоочищение не заканчивается даже на 16-е сутки. При пониженной температуре максимум сапрофитов приходится на четвёртые сутки эксперимента, что соответствовало бета-мезосапробным условиям.

Влияние МПБ на подопытных рыб чётко проявлялось клиническими признаками, указывающими на токсичность среды и дефицит кислорода, а также по выживаемости. Как видно из таблицы 1, границы действия МПБ на рыб при различных температурных режимах различны. При высокой температуре снизилась граница действия по выживаемости и клиническому реагированию. Сместились сроки гибели подопытных рыб. Если в летальных концентрациях при низкой температуре рыбы полностью погибали в период от двух до четырёх суток, то при повышении её они погибали в основном на вторые сутки опыта. Причиной гибели были накопление токсичных продуктов распада органического вещества и дефицит кислорода. Повышенная устойчивость карповых рыб к органическому загрязнению по сравнению с лососевыми и сиговыми оставалась неизменной при разных температурных режимах.

Особенностью токсического действия летальных концентраций МПБ на рыб является наличие латентного периода, длительность которого зависит от концентрации вещества и температуры сре-

ды, т. е. чем выше эти показатели, тем он короче. При исследованных режимах он длился не менее 12 ч и растягивался до суток и более.

Вторая особенность проявления токсикоза состоит в нарастании клинических признаков, что объясняется динамикой накопления токсичных продуктов распада органического вещества и снижением растворенного в воде кислорода. Клинические и патологоанатомические признаки токсикоза у рыб сочетают в себе элементы асфиксии и влияния токсических веществ, причём первые доминируют. Специфических патоморфологических признаков у рыб, подверженных действию МПБ, не обнаружено. По устойчивости к МПБ исследованные виды рыб располагаются в следующем порядке: карп, белый амур, радужная форель, стальноголовый лосось, кижуч, пелчир, пелядь. Патологоанатомическое исследование (вскрытие) рыб показало, что действие всех тест-веществ связано с нарушением гемодинамики.

Основная особенность действия МПБ на икру и личинок состоит в том, что он не только резко нарушает гидрохимический режим воды, но и оказывает побочный токсический эффект, являясь субстратом для массового развития грибов, микроорганизмов и простейших, которые в наших экспериментах оказали чётко выраженное прямое и опосредованное отрицательное действие на икру и личинок.

Как видно из таблицы 2, устойчивость икры и личинок исследованных видов рыб к МПБ располагается в следующем порядке ее убывания: карп, радужная форель, пелядь. Важно то обстоятельство, что резистентность рыб к МПБ повышается с возрастом, о чём свидетельствует сравнение полученных результатов на личинках и взрослых рыбах, что необходимо учитывать при этом типе загрязнения водоемов.

Таким образом, экспериментами подтверждено, что в искусственных условиях лососевые и сиговые рыбы являются типичными олигосапробами, что ставит

вопрос об очистке воды при загрязнении ее органическими веществами без токсических свойств. Следовательно, все показатели, характеризующие границу между олигосапробными и бетамезосапробными условиями, являются необходимыми для успешного выращивания этих рыб. При выборе источников водоснабжения наиболее чистую воду следует подавать в инкубаторы икры. В условиях рыбоводных хозяйств необходимо учитывать, что с понижением температуры воды могут создаваться условия для накопления органических веществ без токсических свойств, что создаёт потенциальные возможности изменения условий обитания рыб в последующем, особенно при повышении температуры.

Результаты проведенных экспериментов по влиянию тест-веществ на спермии радужной форели и пеляди позволили установить, что последние обладают значительно более высокой устойчивостью к воздействию исследованных веществ по сравнению с развивающейся икрой и рыбами. Особенно это ярко выражено при действии медного купороса и орто-крезола.

Например, недействующие концентрации этих веществ для спермиев превышают таковые для развивающейся икры и личинок пеляди, как установлено нами, по серной кислоте примерно в 6,5 раза; по едкому натру – в 3,5 раза; по сернокислой меди – в 1366 раз; по хлористому натрию – в 6 раз и по орто-крезолу – в 6400 раз.

Результаты проведенных опытов позволяют составить следующий ряд устойчивости рыб в раннем онтогенезе в порядке убывания: половые продукты – процесс оплодотворения – вылупившиеся личинки до перехода на смешанное питание – развивающиеся эмбрионы. Самой высокой устойчивостью к воздействию тест-веществ (за исключением хлористого натрия, где наиболее устойчивыми оказались икра и личинки радужной форели) обладают икра и личинки карпа, далее следуют радужная форель и самая чувствительная пелядь.

Хорошо известно, что воспроизводство рыб – исключительно важный момент в возобновлении их запасов в естественных водоемах. В последние годы часто наблюдается нарушение этого процесса, особенно по таким ценным видам, как лососевые и сиговые, у которых очень высокие требования к качеству воды. Одной из основных причин этого процесса является загрязнение водоемов, особенно тех участков, где происходит нерест. Не менее важное значение имеет воспроизводство рыб в рыбоводстве, при заводском методе получения посадочного материала, где токсикозы могут принимать особо острый характер из-за большой скученности икры и личинок в период инкубации.

В табл. 3 приведены пограничные (недействующие) концентрации тест-веществ для икры и личинок карпа, радужной форели и пеляди. В первых трех строках таблицы указаны пограничные концентрации для икры и личинок с момента осеменения до перехода вылупившихся личинок на смешанное питание. Следовательно, эти сведения прежде всего относятся к хозяйствам, занимающимся получением посадочного материала. Токсикорезистентность рыб к серной кислоте, едкому натру, сернокислой меди, хлористому натру и МПБ повышается с возрастом, поэтому данные табл. 3 для этих веществ можно принимать как недействующие для всего цикла выращивания рыб (от момента осеменения икры до получения товарной рыбы). В последней строке приведены недействующие концентрации тест-веществ для личиночного развития радужной форели с момента выклева до малька. Как видно, в этом случае степень загрязнения используемой воды солями тяжёлых металлов и органическими загрязняющими веществами без специфических токсических свойств может быть значительно выше.

Для остальных загрязняющих веществ, относящихся к указанным выше типам загрязнения, закономерности реагирования рыб (карповых, лососевых и сиговых) будут сохраняться, и установленную разницу в токсикорезистентности следует

Таблица 3

Недействующие концентрации тест-веществ для раннего онтогенеза карпа, радужной форели и пеляди с учётом клинических, морфологических и патологоанатомических показателей в жёсткой воде

Виды рыб	Типы экспозиции	Недействующие концентрации							
		H ₂ SO ₄		NaOH		CuSO ₄	NaCl	O-крезол	МПБ
		мг/л	pH	мг/л	pH	мг/л	мг/л	мг/л	%
Карп	Икра-личинка	147,2	6,5	35,2	9,0	0,250	1000	12,0	0,300
Форель		75,5	6,7	79,0	9,3	0,032	2000	2,0	0,005
Пелядь		51,5	7,0	37,1	8,6	0,015	500	0,2	0,005
Форель	Личинка-мальки	100,00	6,8	50,0	9,0	0,320	2000	2,0	0,160

учитывать при рыбохозяйственном использовании водоемов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что при действии всех тест-веществ (за исключением хлористого натрия) на икру, личинок и взрослых рыб карповые оказались самыми устойчивыми, промежуточное положение заняли лососевые; сиговые оказались наиболее чувствительными. По устойчивости к тест-веществам рыбы располагаются в следующем порядке: карп, белый амур, радужная форель, стальноголовый лосось, кижуч, пелчир, пелядь. При действии хлористого натрия самыми устойчивыми во всех периодах онтогенеза оказались лососевые рыбы, карповые заняли второе место; менее устойчивы сиговые.

Установлена зависимость величины границ токсикорезистентности икры, личинок и взрослых особей исследованных видов рыб для кислоты, щелочи и медного купороса от жесткости воды. Если токсическое действие серной кислоты на икру, личинок и взрослых рыб в мягкой воде в какой-то степени лимитируется показателем pH, то в жесткой обнаружено специфическое действие, не связанное с показателем pH, что указывает на необходимость разработки ПДК сильных кислот для природных водоемов, особенно с

жёсткими водами, так как отсутствие ПДК ставит их в неконтролируемое положение при кислотном загрязнении. Аналогичное явление, но менее выраженное обнаружено при действии едкого натра в жесткой воде.

Влияние органического вещества без токсических свойств (МПБ) на рыб связано с комплексным действием токсического начала и дефицита кислорода. Для икры и личинок отрицательное влияние оказывает стабильное развитие грибов, простейших и микроорганизмов. Самоочищение среды зависит от температурного фактора и концентрации вещества, что создаёт предпосылки для накопления органики и отдаленных отрицательных последствий для водных организмов.

Ранее экспериментально установлено, что действие сублетальных концентраций некоторых тест-веществ и других токсиантов на радужную форель чётко сказывается на показателях роста.

При влиянии тест-веществ на инкубируемую икру и личинок исследованных видов рыб установлено, что в концентрациях, не действующих по выживаемости, обнаруживается отрицательное воздействие, которое заключается в различных проявлениях патологии личинок: снижении их средней массы и длины, замедлении трансформации желтка, изменении

ритма сердцебиения и обводнении организма.

При изучении влияния тест-веществ на спермии, процесс оплодотворения, эмбрионов и вылупившихся личинок установлено, что токсикорезистентность рыб в раннем онтогенезе, включая половые продукты, расположена в таком порядке ее убывания: спермии – процесс оплодотворения – эмбрионы и личинки.

Таким образом, предложенная токсикологическая характеристика используемых в рыбоводстве видов рыб позволяет применять ее в практических целях для научно обоснованного размещения рыбоводных хозяйств на водоемах в зависимости от типа и уровня загрязнения их. Поскольку эксперименты на инкубируемой икре и личинках были хроническими, так как охватывали весь цикл развития – от момента оплодотворения до начала перехода личинок на смешанное питание, то для воспроизводства карповых, лососевых и сиговых рыб могут быть предложены следующие контрольные пограничные концентрации изученных тест-веществ (см. табл. 3).

Для остальных загрязняющих веществ мы предлагаем следующий способ установления условных пограничных концентраций для воспроизводства рыб: подсчитать поправочный коэффициент, разделив ПДК загрязняющего вещества на ПДК тест-вещества той же группы по характеру действия, затем умножить на полученный коэффициент соответствующие пограничные концентрации тест-вещества.

TOXICORESISTANCE TO THE MAIN TYPES OF WATER POLLUTION

Arshanitsa N., Belyaev D., Stekolnikov A., Grebtsov M., Karimov B.

ABSTRACT

It is shown that one of the main reasons for the reduction of fish stocks in natural waters is a violation of natural reproduction and one of the most important factors of this process is the impact of toxicological factors, the effect of which also adversely affects the functioning of hatcheries for the reproduction of valuable fish species for

introduction into natural waters and for industrial fish farming. The results of studies on the comparative toxicoresistance of fish used in aquaculture, in early ontogenesis to test substances reflecting the main types of pollution of water bodies showed (sulfuric acid, sodium hydroxide, copper sulphide, ortho-cresol, sodium chloride, meat-peptone broth) that the action of these test substances on the incubated eggs, larvae and fish of the family of carp, salmon and whitefish, established a pattern, namely: under the action of all toxicants, in addition to sodium chloride, fish, caviar and carp larvae are most stable, salmon occupy an intermediate position, and whitefish are the most sensitive in the acute and chronic experiments. The peculiarities of the influence of test substances. Scientifically based preventive measures are proposed.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аршаница, Н.М. Видовая чувствительность рыб к некоторым видам загрязнения водоемов / Н.М. Аршаница, Б.К. Каримов // Эколог. Проблемы рыбохоз. водоемов России / Материалы Всерос. науч. конф. с международ. участием. – Санкт-Петербург: изд. ГосНИОРХ, 2011. – С. 35–40.
2. Аршаница, Н.М. Влияние загрязнения на воспроизводство рыб / Н.М. Аршаница, О.А. Ляшенко // Тез. докл. Международ. конф. «Воспроизводство естественных популяций ценных видов рыб». – СПб. (20–22 апреля 2000 г.). – Санкт-Петербург: изд. ГосНИОРХ, 2010. – С. 12–14.
3. Аршаница, Н.М. Влияние токсикологического фактора на состояние промысловых рыб и их воспроизводство / Н.М. Аршаница, О.А. Ляшенко, А.В. Попов // Материалы XIV конф. по промышленной океанографии и промысловому прогнозированию (Калининград, 8–13 сентября 2008 г.). – Калининград, 2008. – С. 29–31.
4. Аршаница, Н.М. Влияние токсикологического фактора на состояние рыб в раннем онтогенезе в условиях рыбоводных заводов. Эколого-биологические проблемы вод и биоресурсов / Н.М. Аршаница, Д.А. Сиденков // Сб. науч. трудов Всерос. конф. – Ульяновск, 2007. – С. 209–214.

5. Аршаница, Н.М. Материалы ихтиотоксикологических исследований в бассейне Ладожского озера / Н.М. Аршаница // Сб. науч. трудов ГосНИОРХ. – 1988. – Вып. 285. – С. 12–23.
6. Аршаница, Н.М. Особенности токсического действия орго-крезола, нафталина и пентахлорфенолята натрия на разные стадии развития рыб / Н.М. Аршаница // В кн.: Проблемы водной токсикологии / Тез. докл. III Всесоюз. науч. конф. по водной токсикологии. – Петрозаводск, 1975. – С. 161–163.
7. Аршаница, Н.М. Оценка токсикологического состояния бухты Петрокрепость Ладожского озера на основании исследований рыб и биотестирования / Н.М. Аршаница, О.А. Ляшенко, М.Р. Гребцов, А.А. Стекольников // *Вопр. нормативно-правового регулирования в ветеринарии*, № 3. – 2017. – С. 154–158.
8. Аршаница, Н.М. Практика патологоанатомического исследования рыб в водной токсикологии / Н.М. Аршаница // Тез. докл. Симпозиума по водной токсикологии. – Л., 1969. – С. 14–17.
9. Аршаница, Н.М. Рыбы как индикаторы качества вод / Н.М. Аршаница, М.Р. Гребцов, А.А. Стекольников // *Международ. вестн. ветеринарии*, № 3. – Санкт-Петербург, 2017. – С. 66–72.
10. Аршаница, Н.М. Рыбы как индикаторы качества вод / Н.М. Аршаница // *Рыбохозяйственные водоемы России: фундаментальные и прикладные исследования / Материалы II Всерос. науч. конф. с международным участием.* – Санкт-Петербург (2–4 апреля 2018 г.). – С. 608–612.
11. Бертокс, П. Стратегия охраны окружающей среды от загрязнений / П. Бертокс, Д. Радд. – М.: Мир, 1973. – 604 с.
12. Горева В.А. Методика постановки опытов при изучении влияния токсикантов на рыб в раннем онтогенезе / В.А. Горева, Н.Н. Лизина, Ю.В. Ельшин // *Изв. ГосНИОРХ*. 1976. – Т. 109. – С. 115–117.
13. Гребцов, М.Р. Экологотоксикологическое состояние Волховской губы Ладожского озера / М.Р. Гребцов // *Вопр. нормативно-правового регулирования в ветеринарии*. – 2014. – № 3. – С. 229–235.
14. Лесников, Л.А. Методические указания по установлению предельно допустимых концентраций вредных веществ в воде рыбохозяйственных водоемов / Л.А. Лесников. – Л.: изд. ГосНИОРХ, 1973. – 39 с.
15. Лесников, Л.А. Принципы полуконечественной оценки при анализе влияний токсикантов на поведенческие реакции и патоморфологическое состояние водных организмов / Л.А. Лесников // Сб. науч. трудов ГосНИОРХ. – 1979. – Вып. 144. – С. 46–52.
16. Лукьяненко, В.И. Физиологический критерий и методы определения токсичности в ихтиологии / В.И. Лукьяненко // *Экспериментальная водная токсикология*, вып. 4. – Рига, 1973. – С. 9–29.
17. Моисеенко, Т.И. Водная экотоксикология. Теоретические и прикладные аспекты / Т.И. Моисеенко. – Москва: Наука, 2009. – 399 с.
18. Мосевич, М.И. К обоснованию предельно допустимой концентрации анилина для рыбохозяйственных водоемов / М.И. Мосевич, Н.М. Аршаница [и др.] // *Изв. ГосНИОРХ*. – 1976. – Т. 109. – С. 101–109.
19. Никольский, Г.В. Экология рыб / Г.В. Никольский. – Москва, 1974. – 445 с.
20. Огородникова, В.А. Распределение и численность ранней молоди массовых видов рыб в южной части Ладожского озера / В.А. Огородникова, О.Н. Суслопарова // Сб. науч. трудов ГосНИОРХ. – 1995. – № 314. – С. 234–240.
21. Попов, П.А. Оценка экологического состояния водоемов методами ихтиоиндикации / П.А. Попов. – Новосибирск, 2002. – 268 с.
22. Родина, А.Г. Методы водной микробиологии. Практическое руководство / А.Г. Родина. – Москва–Ленинград: Наука, 1965.
23. Рыжков, Л.П. Морфофизиологические закономерности и трансформация веществ и энергии в раннем онтогенезе пресноводных лососевых рыб / Л.П. Рыж-

ков. – Петрозаводск, 1976. – 288 с.
24. Сладечек, В. Общая биологическая схема качества воды / В. Сладечек // Сб. “Санитарная и техническая гидробиология”. – Москва: Наука, 1970.
25. Стекольников, А.А. Особенности сезонного эколого-токсикологического состояния реки Волхов / А.А. Стекольников // Вопр. нормативно-правового регу-

лирования в ветеринарии. – 2014. – № 3. – С. 229–235.

26. Федорова, Г.В. Влияние токсических веществ на популяции сигов / Г.В. Федорова, Н.М. Аршаница // V Всесоюз. конф. по водной токсикологии (Одесса, 18-22 апреля 1988 г.) / Тез. докл. – Москва, 1988. – С. 36–37.

УДК 636.03+636.084/.087+ 579.8 +57.063.7

АНАЛИЗ ЦЕЛЛЮЛОЗОЛИТИЧЕСКОЙ МИКРОФЛОРЫ РУБЦА КОРОВ МЕТОДОМ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ПО ГЕНУ 16S рРНК

Крупин Е.О., кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник, заведующий отделом агробиологических исследований, Шакиров Ш.К., доктор сельскохозяйственных наук, профессор, главный научный сотрудник отдела агробиологических исследований, Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук»

Ключевые слова: корова, пищеварение, микробиота, секвенирование, ДНК, метабеном. **Key words:** cow, digestion, microbiota, sequencing, DNA, metagenome

РЕФЕРАТ



Исследования выполнены в ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН, Казанском (Приволжском) федеральном университете, ООО «Агрофирма Рассвет» Кукморского района Республики Татарстан на дойных коровах холмогорской породы татарстанского типа. Исследование продолжалось с 27 по 90 день лактации до завершения периода раздоя. Животных разделили на четыре группы по 20 голов в каждой. Дойные коровы первой (контрольной) группы получали основной хозяйственный рацион (ОР). Животные второй, третьей, четвертой (опытных) групп дополнительно к ОР получали экспериментальный кормовой концентрат. Данный концентрат состоял из комплекса ферментов, пробиотических микроорганизмов, L-карнитина, сапропеля, взятых в определенном соотношении, в количестве 100, 150 и 200 г на одну голову в сутки соответственно, который скормливали отдельно, как самостоятельный компонент рациона в утреннее кормление.

Состав экспериментальной кормовой добавки разработан, а ее необходимое количество произведено в ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН. Анализ микрофлоры рубца осуществляли методом секвенирования по гену 16S рРНК на платформе IlluminaMiSeq в Казанском (Приволжском) федеральном университете. Исследованиями установили, что применение коровам в составе рационов кормления экспериментальной кормовой добавки не оказывало видимого влияния на состав микрофлоры рубца в целом, но повлияло на