

На правах рукописи



**Беличева
Лидия Александровна**

**БИОМАРКЕРЫ В ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА ВОД
ПРИ РАЗНОТИПНОМ АНТРОПОГЕННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ**

03.02.08 – экология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата
биологических наук

Петрозаводск – 2011

Работа выполнена в Учреждении Российской академии наук Институте
водных проблем Севера Карельского научного центра РАН
(ИВПС КарНЦ РАН)

Научный руководитель доктор биологических наук, профессор
ЛУКИН Анатолий Александрович

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
БОЛОТОВА Наталья Львовна

доктор биологических наук,
СТЕРЛИГОВА Ольга Павловна

Ведущая организация Федеральное государственное унитарное
предприятие Полярный научно-
исследовательский институт морского
рыбного хозяйства и океанографии
им. Н.М. Книповича

Защита состоится «18» мая 2011 года в 14 часов на заседании диссер-
тационного совета (Д 212.190.01) при Петрозаводском государственном
университете по адресу: 185910, Республика Карелия, г. Петрозаводск,
пр. Ленина, 33. Факс: 88142578464

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Петрозаводского го-
сударственного университета. Автореферат размещен на сайте www.petrso.ru

Автореферат разослан «15» апреля 2011 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета,
кандидат биологических наук, доцент



И. М. Дзюбук

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Проблема сохранения окружающей среды в условиях интенсивного освоения природных ресурсов с каждым годом приобретает все большую значимость, так как уровень техногенной нагрузки на природные системы ежегодно возрастает. В XX веке сотни тысяч тонн органических соединений, таких как ПАУ (полициклические ароматические углеводороды), ПХБ (полихлорированные бифенилы), ХОП (хлорорганические пестициды), и неорганических (тяжелые металлы) было произведено и частично выброшено в окружающую среду. Большинство из этих соединений плохо разлагаются, десятилетиями циркулируют в природе и воздушным путем переносятся на огромные расстояния (Кондратьев, Донченко 1999; Григорьев Кондратьев, 2001).

Часто коллектором многих из перечисленных веществ являлись и являются водные объекты. Мониторингу за состоянием водных экосистем уделяется много внимания, и поиск методов, позволяющих эффективно оценить уровень загрязнения и выявить его источники, является весьма актуальным. По словам А.Ф. Алимова (2000), «важнейшими задачами гидроэкологии можно считать оценку состояния и прогнозирования возможных изменений водных экосистем под влиянием внешних, особенно антропогенных факторов, определение оптимальных условий и степени эксплуатации экосистем».

В связи с этим особый интерес вызывает возможность использования биологических маркеров в качестве инструментов для оценки качества вод. Имеется множество определений термина «биомаркеры», однако в общем смысле под биомаркерами понимаются любые показатели, отражающие взаимодействие биологической системы и потенциально вредного фактора, который может иметь химическую, физическую или биологическую природу (Van der Oost et al., 2003). В данной работе мы используем определение, которое рассматривает в качестве биомаркера любую ответную реакцию организма, проявляющуюся на суборганизменном уровне, способную засвидетельствовать наличие какого-либо изменения под влиянием факторов различной природы. Биомаркеры дают возможность оценить состояние и выявить ответные реакции организма на происходящие в окружающей среде изменения, что позволяет оперативно получить достоверную информации о степени негативного воздействия.

Биохимические и патофизиологические нарушения могут быть выявлены у различных гидробионтов, однако показатели физиологического

состояния рыб чаще используются в диагностике последствий загрязнения вод (Моисеенко, 2010). В силу ряда причин рыбы признаны наиболее удобными и репрезентативными объектами для биомониторинга загрязнения водных экосистем (Немова, Высоцкая, 2004; Van der Oost et al., 2003).

Цель работы: исследование ответных реакций организма рыб в условиях разнотипного и разноуровневого антропогенного воздействия.

Задачи:

1. Провести гистологический анализ органов и тканей рыб, обитающих в разных регионах Европейского Севера России.

2. Дать характеристику патологических изменений и уровня их развития у рыб из исследуемых районов.

3. Изучить сходства и различия патологических изменений в органах и тканях разных видов рыб.

4. Выявить последствия антропогенной нагрузки на организм рыб на основе гистологического анализа.

5. Оценить информативность и надежность биомаркеров как индикаторов для оценки качества вод.

Научная новизна. Впервые на территории Европейского Севера России с использованием гистологических биомаркеров проведен сравнительный анализ качества вод в водоемах и водотоках, отличающихся степенью антропогенной нагрузки, гидрологическими и гидрохимическими показателями. Модифицирована классификация ответных реакций рыб в зависимости от регрессивного или прогрессивного характера выявленных изменений. Установлено, что характер и степень повреждения органов и тканей зависят от их структурно-функциональных особенностей, природы и силы повреждающего фактора, а также от реактивности организма. На основе анализа состояния организма рыб доказано, что независимо от типа загрязнения и вида рыб (сиговые *Coregonidae*, карповые *Cyprinidae*, окуневые *Percidae*) в органах появляются патологии сходного характера. При этом заболевания, имеющие общие клинико-морфологические проявления, могут различаться по этиологии и патогенезу. Установлено, что доминирующие виды, которые могут не принадлежать к одной систематической группе, но являются преобладающими, наиболее адекватно отражают происходящие в окружающей среде изменения.

Практическая значимость работы. Результаты исследования могут быть использованы при проведении работ по оценке воздействия и расчету ущербов водным экосистемам, как на стадии проектирования хозяйственной деятельности, так и при ее осуществлении; при экологической

экспертизе последствий выбросов загрязняющих веществ в водные объекты, при разработке программ мониторинга за состоянием окружающей среды. Объективность и надежность биомаркеров позволяет использовать результаты данной работы для оценки и прогноза состояния популяции рыб, а также при комплексной экотоксикологической характеристике водных объектов.

Апробация работы. Материалы работы представлены и обсуждены на I региональном семинаре «Связь образования и науки в подготовке новых кадров» (Петрозаводск, 2009), XIV международной конференции EAAP «Disease of fish and shellfish» (Прага, 2009), IV Международной научной конференции, посвящённой памяти профессора Г.Г. Винберга «Современные проблемы гидроэкологии» (Санкт-Петербург, 2010), Международной научно-практической конференции «Гармония Севера: человек и природа. Взгляд молодых» (Петрозаводск, 2010).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 6 работ, в том числе 2 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК.

Объем и структура работы. Работа состоит из введения, 6 глав, заключения, выводов, списка литературы и приложения. Диссертация изложена на 197 страницах (в том числе 19 страниц приложения), содержит 26 таблиц и 57 рисунков. Библиографический список включает 267 источников, в том числе 137 иностранных.

Благодарности. Автор выражает искреннюю признательность научному руководителю д.б.н. А.А. Лукину и научному консультанту Ю.Н. Шаровой за всестороннюю помощь, ценные советы и рекомендации; сотрудникам лаборатории гидрохимии и гидрогеологии, гидробиологии, географии и гидрологии ИВПС КарНЦ РАН за проявленный интерес к работе, конструктивные замечания и предложения; сотрудникам Научно-исследовательского центра Экологической безопасности РАН за предоставленную возможность прохождения стажировки и выполненные анализы; сотрудникам СевНИИРХ ПетрГУ Щурову И.Л., Широкову В.А.; заведующему лабораторией экологической физиологии животных ИБ КарНЦ РАН Илюхе В.А. за разностороннюю помощь при подготовке диссертационной работы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. РОЛЬ БИОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

В главе приведены литературные данные, освещающие основные вопросы использования биологических маркеров: рассмотрена их роль как индикаторов, отражающих состояние окружающей среды; приведена

классификация и список основных используемых на сегодняшний день биомаркеров у рыб; изложены современные требования, предъявляемые к уже разработанным биомаркерам; рассмотрены некоторые преимущества и недостатки их использования.

2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования являлись организмы рыб водоемов Европейского Севера, обитающих в условиях разнотипного и разноуровневого загрязнения.

В основу диссертации положены материалы, собранные в ходе проведения комплексных научных исследований на водоемах и водотоках Республики Карелия (Выгозерское водохранилище; р. Лососинка; р. Неглинка), Республики Коми (бассейн р. Печоры; р. Кара) и Архангельской области (оз. Холмовское), в летний период с 2006 по 2010 гг. (рис. 1). На Выгозерском водохранилище и бассейне р. Печоры были выбраны участки с различным уровнем антропогенной нагрузки. В Выгозерском водохранилище вылов рыб проводился в северной и южной части водоема. В бассейне р. Печоры для проведения исследований были выбраны – приток I порядка (р. Уса, о. Ды-Бож) и притоки II порядка (р. Колва, р. Сыня), а также дельта р. Печора (губы Коровинская и Голодная, р-н деревни Месино).



Рис. 1. Карта исследуемых водоемов и водотоков:

- 1 – Бассейн р. Печоры;
- 2 – р. Кара;
- 3 – Выгозерское водохранилище;
- 4 – р. Лососинка,
- 5 – р. Неглинка,
- 6 – оз. Холмовское

В процессе работы проводилась диагностика, патологоанатомическое вскрытие и гистологический анализ органов и тканей рыб (табл. 1). Состояние организма рыб диагностировали на основе патолого-морфологического метода (Аршаница, Лесников, 1987; Кашулин, Лу-

кин, 1992; Лукин, 1995), включающего клинические, патологоанатомические и гистологические исследования. Визуальный осмотр и патологоанатомическое вскрытие проводили у живых, только что выловленных рыб. Отбор проб для гистологического анализа прекращался через 20 минут после извлечения рыбы из воды. Органы сразу же фиксировались с использованием жидкости Буэна. Обработка проб проводилась по общепринятым гистологическим методикам (Роскин, Левинсон, 1957; Волкова, Елецкий, 1982). В ходе микроскопического исследования для каждого органа анализировалось как минимум три среза. Микроскопирование осуществлялось при увеличении $\times 50$, $\times 100$, $\times 200$, $\times 320$.

Таблица 1

Объем материала для гистологического анализа

Водоем	Год	Вид рыб	Органы и ткани	Количество проб
р. Печора	2008	сиг, язь	жабры, печень, почки	129
р. Кара	2010	европейский хариус	жабры, печень, почки	15
Выгозерское водохранилище	2007, 2010	лещ, плотва, окунь, судак	жабры, печень, почки	84
р. Лососинка	2009	голец усатый, обыкновенный подкаменщик	жабры, печень, почки	87
р. Неглинка	2009	голец усатый	жабры, печень, почки	36
оз. Холмовское	2010	Окунь	жабры, печень, почки	21

Полученные данные обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики с использованием пакетов программ MS Excel и Statgraphics. Для сравнения различий между группами использовали непараметрический критерий (U) Вилксона-Манна-Уитни (Коросов, Горбач, 2007).

3. ФИЗИКО-ГЕОГРАФИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ, ХАРАКТЕРИСТИКА КАЧЕСТВА ВОД И АНТРОПОГЕННЫЕ ФАКТОРЫ

Физико-географическое описание районов исследования и характеристика качества вод

В данном разделе представлена характеристика ландшафтно-географических зон и водных объектов, расположенных на этой территории. Приводится краткое описание гидрологии исследуемых водоемов и водотоков и некоторые гидрохимические показатели (табл. 2).

Таблица 2

**Некоторые гидрохимические показатели исследуемых водных объектов
(Онежское озеро, 1999; Состояние водных объектов..., 2007;
собственные данные и др.)**

Показатели	Бассейн реки Печоры	Выгозерское водохранилище	Река Лососинка	Река Неглинка	Озеро Холмовское
Минерализация, мг/л	<150	19,1-40,0	37,0	81,0	<131
Цветность, град.	20-150	60-120	115	140	нет данных
pH	7,1-7,81	6,0-7,1	7,49-7,65	5,84-7,54	8,2-8,5
ПО, мгО/л	5-30	11,3-18,0	13,6	15,4	нет данных
Азот общий, мг/л	0,118-0,363	0,47	0,60	1,7	нет данных
Азот аммонийный мг/л	0,4-0,8	0,02-0,07	0,34-0,36	0,53-0,61	0,39-0,73
Фосфор общий, мг/л	0,073-0,182	0,005-0,018	0,04	0,072	0,012

Последствия антропогенной нагрузки

Представлена общая история антропогенного воздействия на исследуемые водные объекты. Приведены данные по содержанию загрязняющих веществ в воде, а также по превышению установленных ПДК для рыбохозяйственных водоемов (табл. 3). Более подробно дано описание содержания загрязняющих веществ в бассейне р. Печоры и оз. Холмовском, для которых были проведены исследования по содержанию ПАУ, ПХБ, нефтепродуктов (НП), тяжелых металлов, цианотоксинов.

Таблица 3

**Некоторые показатели, по которым наблюдается превышение ПДК
для рыбохозяйственных водоемов в исследуемых водных объектах
(Состояние водных объектов..., 2007; Государственный доклад..., 2010;
собственные данные и др.)**

Бассейн реки Печора	Выгозерское водохранилище	Река Лососинка	Река Неглинка	Озеро Холмовское
НП Fe, Mn Cu, Zn NH ₄ ⁺	НП Fe Zn, Cu	НП Fe, Mn Zn, Cu	НП, Fe, Mn Cu, Zn NH ₄ ⁺ , NO ₂ ⁻	Fe, Mn гексахлорбензол

Было показано, что каждый из исследованных нами водоемов и водотоков, за исключением р. Кары, характеризуется высокой степенью и разным типом антропогенной нагрузки.

В бассейне р. Печоры основным источником загрязнения является нефть и ее производные (ХОС, ПХБ и ПАУ), алюминий и некоторые тяжелые металлы (Sr, Pb, Mn и др.) (Лукин и др., 2000).

В Выгозерском водохранилище – сточные воды Сегежского ЦБК, содержащие взвешенные вещества, сульфатный лигнин, сульфаты, хлориды, фосфаты, нитраты и нитриты, фенолы, анионные поверхностно-активные вещества, органических сернистые соединения, сероводород, метанол и др. (Государственный доклад..., 2010). В последние годы возросло значение Выгозерского водохранилища, как транспортной артерии, что привело к увеличению судоходства и, как следствие, попаданию льяльных вод и нефтепродуктов в водоем.

Реки Лососинка и Неглинка, являясь приемниками ливневого стока города и отдельных предприятий, испытывают многофакторное загрязнение, связанное с промышленным и бытовым водопользованием. Наряду с загрязнением нефтепродуктами в этих водотоках, отмечено загрязнение тяжелыми металлами (Fe, Mn, Zn, Cu и Pb) (Государственный доклад..., 2010; и др.).

Основная проблема для экосистемы оз. Холмовского – коммунальные и хозяйственно-бытовые стоки населенных пунктов, расположенных по берегам водоема, что вызывает активные процессы эвтрофирования, о чем свидетельствует интенсивное многолетнее цветение сине-зеленых водорослей. Превышение ПДК в водоеме отмечено по Fe, Mn, гексахлорбензолу. В пробах воды были выявлены кофеин, присутствие которого в воде является показателем поступления в озеро бытовых стоков, и цианотоксины.

Река Кара не испытывает техногенной нагрузки, однако мелкодисперсные взвешенные вещества, регулярно появляющиеся в реке в период снеготаяния и дождевых осадков, могут оказывать определенное негативное влияние на гидробионтов.

4. ИХТИОФАУНА

В главе представлены данные об ихтиофауне исследуемых водоемов и водотоков. На основе анализа литературных и собственных данных для каждого водного объекта приведен список видов.

Анализ ихтиофауны позволил выявить доминирующие в каждом водоеме и водотоке виды.

По количеству видов, входящих в состав семейства, в четырех из шести исследуемых водных объектов доминируют карповые (табл. 4). Они определяют видовое разнообразие рыбной части сообщества на 25% в бассейне р. Печоры, 28% – в Выгозерском водохранилище, 31% – в р. Лососинке и 33% – в оз. Холмовском. Исключением является рыбное сообщество р. Кары, видовое разнообразие которого на 29% определяется сиговыми.

Таблица 4

Количество видов принадлежащих различным семействам

Семейства	Бассейн реки Печоры	Река Кара	Выгозерское водохранилище	Река Лососинка	Река Неглинка	Озеро Холмовское
Миноговые (Petro- myzontidae)	2	2	1	1	1	0
Осетровые (Acipenseridae)	2	0	0	0	0	0
Лососевые (Salmonidae)	4	2	1	1	1	0
Сиговые (Coregonidae)	6	7	2	0	0	0
Хариусовые (Thymallidae)	2	2	1	1	0	1
Корюшковые (Osmeridae)	2	1	1	0	0	1
Щуковые (Esocidae)	1	1	1	1	0	1
Речные угри (Anguillidae)	1	0	0	0	0	0
Карповые (Cyprinidae)	9	1	5	5	0	3
Балиторевые (Balitoridae)	1	0	0	1	1	0
Налимевые (Lotidae)	1	1	1	1	1	1
Колошковые (Gasterosteidae)	1	1	1	2	1	0
Окуневые (Percidae)	2	2	3	2	0	2
Керчаковые (Cottidae)	1	3	1	1	0	0
Камбаловые (Pleuronectidae)	1	1	0	0	0	0

Примечание: жирным шрифтом выделены семейства, виды которых являются доминирующими по численности в соответствующих водных объектах.

Видовой состав рыбной части сообществ в исследуемых водных объектах Европейского Севера формируется из представителей семи фаунистических комплексов. По числу видов в комплексе ведущее положение занимают бореальный равнинный, бореальный предгорный и арктический пресноводный комплексы.

Интерес вызывает особое положение подкаменщика обыкновенного, являющегося «краснокнижным» видом. Из всех исследованных водных

объектов эта рыба не встречена нами только в р. Неглинке и оз. Холмовском. В остальных исследуемых водотоках и водоемах этот вид вполне обычен, а р. Каре даже многочисленен. Все это вызывает сомнение в редкости данного вида и, как следствие, в его статусе «краснокнижного». Вопрос о целесообразности занесения этого вида в число редких и нуждающихся в охране поднимается и другими исследователями (Королев, Решетников, 2004).

5. ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА РЫБ НА ОСНОВЕ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ

Река Печора и ее притоки

Гистологический анализ органов рыб, населяющих нижнюю часть бассейна р. Печоры (верхний и дельтовый участки реки), показал широкий спектр патологических изменений. При этом большинство аномалий диагностировались у рыб независимо от их местообитания и вида, однако частота встречаемости изменений и уровень их развития варьировали (рис. 2-4). Некоторые из выявленных патологических нарушений у особей, принадлежащих к различным видам или обитающих на разных участках реки, достоверно различались (рис. 2-4).

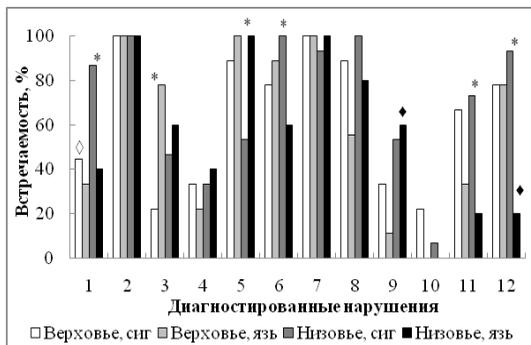


Рис. 2. Частота встречаемости основных патологических изменений в жабрах рыб различных участков бассейна р. Печоры: * - различия между сигагами и язями достоверны; ◇ - различия между сигагами из двух исследуемых участков достоверны; ◆ - различия между язями из двух исследуемых участков достоверны; 1 – гипертрофия клеток; 2 – гиперплазия клеток; 3 – кровоизлияния; 4 – аневризмы; 5 – гиперемия кровеносных сосудов (далее – к.с.); 6 – гемолиз эритроцитов; 7 – некроз клеток; 8 – отек эпителия; 9 – фиброз; 10 – неоплазия; 11 – образование слизи; 12 – искривление респираторных ламелл

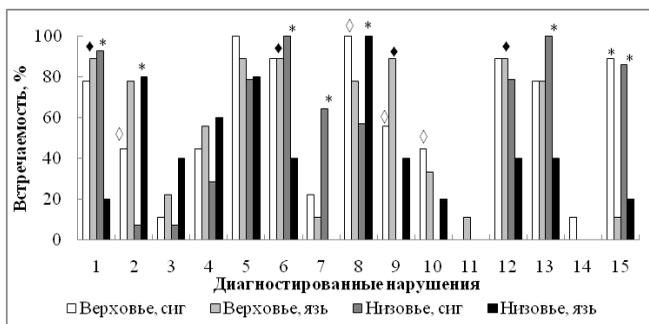


Рис. 3. Частота встречаемости основных патологических изменений в печени рыб различных участков бассейна р. Печоры: * – статистические различия между ситами и язями достоверны; ◇ – статистические различия между ситами из двух исследуемых участков достоверны; ◆ – статистические различия между язями из двух исследуемых участков достоверны; 1 – утолщение стенок к.с.; 2 – фиброз желчных протоков; 3 – гиперплазия желчных протоков; 4 – кровоизлияния; 5 – гиперемия к.с.; 6 – гемолиз эритроцитов; 7 – гепатоциты с пикнотизированными ядрами; 8 – некроз гепатоцитов; 9 – вакуолизация гепатоцитов; 10 – кистозная дегенерация; 11 – липоциты; 12 – мелано-макрофагальные центры (далее – ММЦ); 13 – очаги инфильтрации лимфоцитами; 14 – фиброз; 15 – повышенная митотическая активность

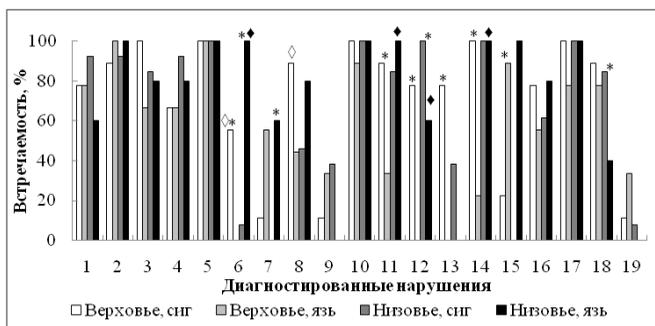


Рис. 4. Частота встречаемости основных патологических изменений в почках рыб различных участков бассейна р. Печоры: * - различия между ситами и язями достоверны; ◇ - различия между ситами из двух исследуемых участков достоверны; ◆ - различия между язями из двух исследуемых участков достоверны; 1 – утолщение стенок к.с.; 2 – кровоизлияния; 3 – гиперемия к.с.; 4 – гемолиз эритроцитов; 5 – некроз гемопоэтической ткани; 6 – образование новых нефронов; 7 – липоциты; 8 – фиброз; 9 – гранулема; 10 – ММЦ; 11 – расширение капилляров клубочка; 12 – расширение пространства боуеновой капсулы; 13 – утолщение стенки клубочка; 14 – дегенерация клубочка; 15 – отслоение эпителия от базальной мембраны канальца; 16 – отложения в просвете канальца; 17 – разрастание соединительной ткани вокруг канальца; 18 – вакуолизация эпителия канальца; 19 – некроз канальцев

При микроскопировании срезов органов рыб р. Печоры были выявлены случаи их заражения экто- и эндопаразитами. В жабрах наблюдали присутствие паразитарных амieb и инфузорий. В верхнем участке реки доля сигов и язей, подвергшихся паразитарной инвазии, составляла 22%. В дельтовом участке паразиты наблюдались у 7% сигов и 40% язей. Почечные канальцы большинства исследованных сигов были инфицированы спорами микроспоридий: частота встречаемости рыб, подверженных паразитарной инвазии, составляла 55% в верховьях и увеличивалась до 84% в низовьях реки.

Река Кара

Диагностика жабр европейского хариуса р. Кара выявила наличие ряда изменений различного типа. У 40% рыб отмечали появление небольших очагов гиперплазии и вакуолизации клеток, а также интраваскулярного гемолиза эритроцитов. У 60% особей были диагностированы отек респираторного эпителия, аневризмы, гиперемия к.с. и искривления респираторных ламелл; у 20% – неопластические изменения и кровоизлияния. У 40% рыб в жабрах было диагностировано несколько видов эндо- и эктопаразитов, среди которых в частности были выявлены паразитарные инфузории.

Определенные нарушения нормальной структуры были обнаружены в печени. У 20% рыб наблюдали утолщение стенок к.с., кровоизлияния в паренхиму и небольшие очаги некроза клеток. У 40% особей отмечали фиброз желчных протоков и нарушение архитектоники органа; у 60% – интраваскулярный гемолиз эритроцитов, а также появление небольших очагов регенерации гепатоцитов. У всех исследуемых рыб были зафиксированы гиперемия к.с. и появление гепатоцитов с пикнотизированными ядрами.

Микроскопический анализ почек также выявил признаки развития патологических изменений. У особей отмечали появление гломерулопатий: расширение капилляров (у 80% особей) и пролиферацию мезенгиальных клеток (у 40%) клубочка, носившие фокально-сегментарный характер. В ходе исследования были выявлены признаки тубулопатий: некроз канальцев, разрастание соединительной ткани вокруг канальцев, пикноз ядер канальцевого эпителия (у 20%); а также появление отложений в просвете канальцев (у 100%). Кроме того, изменения были зафиксированы и в интерстициальной ткани: у 20% рыб наблюдали появление липоцитов; у 40% - развитие гранулем и некроз ткани; у 60% – кровоизлияний; у 80% - структур, характерных для процесса образования новых нефронов; у 100% - ММЦ, содержащие пигменты меланин и гемосидерин.

Выгозерское водохранилище

У рыб Выгозерского водохранилища был выявлен широкий спектр сходных патологических изменений (рис. 5-7). При этом частота встречаемости диагностированных изменений у рыб из различных участков не различалась, что свидетельствует об активной миграции рыб по акватории водохранилища.

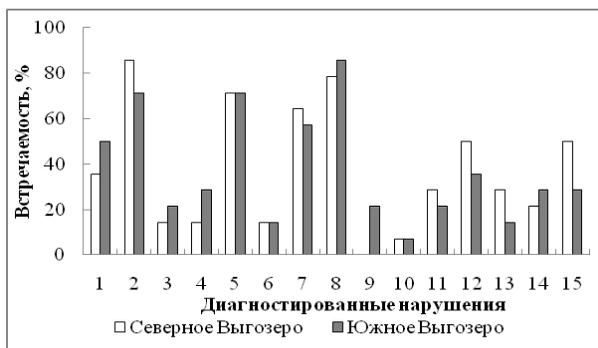


Рис. 5. Частота встречаемости основных патологических изменений в жабрах рыб различных участков Выгозерского водохранилища: 1 – гипертрофия клеток; 2 – гиперплазия клеток; 3 – кровоизлияния; 4 – аневризмы; 5 – гиперемия к.с.; 6 – гемолиз эритроцитов; 7 – некроз клеток; 8 – отек эпителия; 9 – инфильтрация лейкоцитов; 10 – фиброз; 11 – вакуолизация клеток; 12 – образование слизи; 13 – эозинофильные отложения в клетках; 14 – искривление респираторных ламелл; 15 – укорочение респираторных ламелл

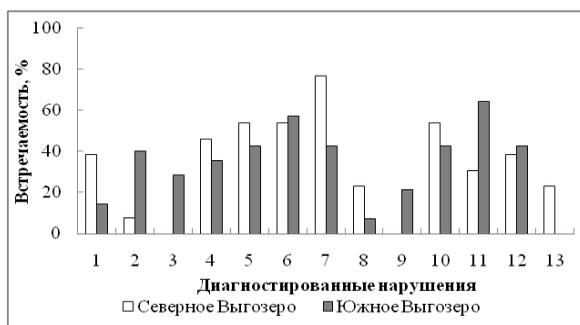


Рис. 6. Частота встречаемости основных патологических изменений в печени рыб из различных участков Выгозерского водохранилища: 1 – утолщение стенок к.с.; 2 – фиброз желчных протоков; 3 – кровоизлияния; 4 – гиперемия к.с.; 5 – гемолиз эритроцитов; 6 – гепатоциты с пикнотизированными ядрами; 7 – некроз гепатоцитов; 8 – вакуолизация гепатоцитов; 9 – кистозная дегенерация; 10 – ММЦ; 11 – очаги инфильтрации лимфоцитами; 12 – островки регенерации гепатоцитов; 13 – неоплазия

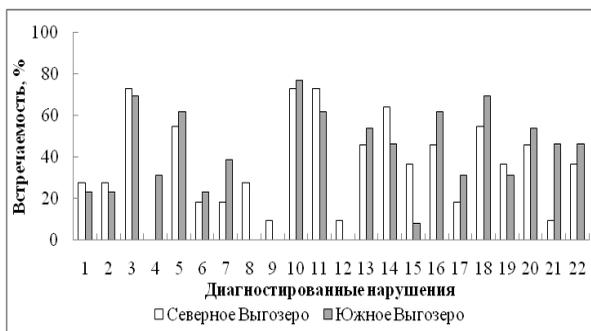


Рис. 7. Частота встречаемости основных патологических изменений в почках рыб Выгозерского водохранилища: 1 – утолщение стенок к.с.; 2 – гиперемия к.с.; 3 – кровоизлияния; 4 – гемолиз эритроцитов; 5 – некроз гемопозитической ткани; 6 – образование новых нефронов; 7 – липоциты; 8 – фиброз; 9 – гранулема; 10 – ММЦ; 11 – расширение капилляров клубочка; 12 – расширение пространства боуменовой капсулы; 13 – пролиферация клеток клубочка; 14 – дегенерация клубочка; 15 – эозинофильные массы в клубочке; 16 – отслоение эпителия от базальной мембраны канальца; 17 – отложения в просвете канальца; 18 – эозинофильные массы в просвете и эпителии канальца; 19 – разрастание соединительной ткани вокруг канальца; 20 – вакуолизация эпителия канальца; 21 – пикноз ядер эпителия канальца; 22 – некроз канальцев

При микроскопировании органов было выявлено наличие эндо- и эктопаразитов. В жабрах рыб были отмечены микроспоридии и инфузории (36% особей в северной и 7% в южной части водохранилища); в печени – присутствие от 1 до 3 паразитарных цист (15% рыб северного и 21% южного Выгозера); в почках – цисты паразитов и ксеномы, развивающихся под влиянием микроспоридий (18 и 38% северного и южного Выгозера, соответственно), а также микроспоридии в просвете канальцев у 9% особей северной части водохранилища.

Река Лососинка

В р. Лососинке объектами исследования были два вида - усатый голец и бычок подкаменщик. Гистологический анализ внутренних органов рыб выявил наличие изменений различных типов у обоих исследуемых видов (рис. 8-10). Частота встречаемости некоторых аномалий у особей различных видов достоверно различалась (рис. 8-10).

На гистологических срезах у рыб р. Лососинки наблюдалось присутствие в органах экто- и эндопаразитов. Паразитарная инвазия диагностирована в жабрах у 76% гольцов и 33% подкаменщиков; в печени - у 71% гольцов и 50% подкаменщиков, в почках - 61% гольцов и 75% подкаменщиков.

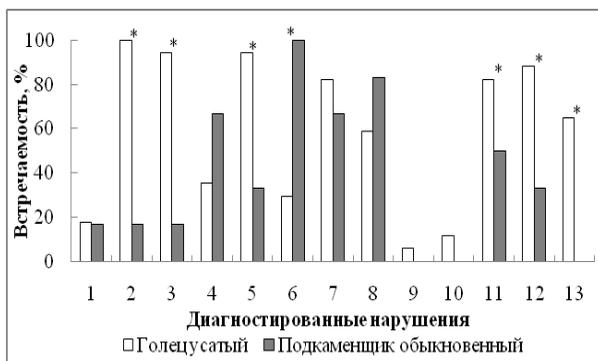


Рис. 8. Частота встречаемости основных патологических изменений в жабрах усатого голца и подкаменщика обыкновенного р. Лососинки: * - различия между видами достоверны; 1 – гипертрофия клеток; 2 – гиперплазия клеток; 3 – кровоизлияния; 4 – аневризмы; 5 – гиперемия к.с.; 6 – отек эпителия; 7 – гемолиз эритроцитов; 8 – некроз клеток; 9 – фиброз; 10 – неоплазия; 11 – ММЦ; 12 – искривление респираторных ламелл; 13 – укорочение респираторных ламелл

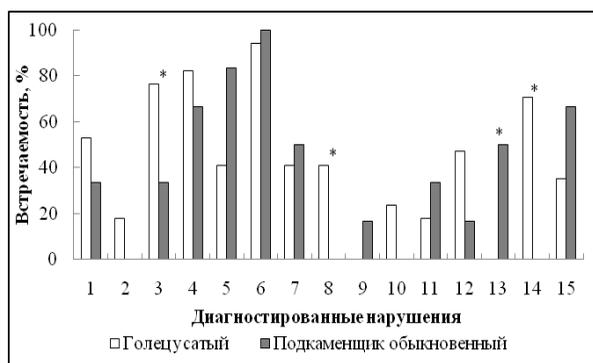


Рис. 9. Частота встречаемости основных патологических изменений в печени усатого голца и подкаменщика обыкновенного р. Лососинки: * - различия между видами достоверны; 1 – утолщение стенок к.с.; 2 – фиброз желчных протоков; 3 – гиперемия к.с.; 4 – гемолиз эритроцитов; 5 – гепатозиты с пикнотизированными ядрами; 6 – некроз гепатоцитов; 7 – вакуолизация гепатоцитов; 8 – ММЦ; 9 – очаги инфильтрации лимфоцитами; 10 – липоциты; 11 – нарушение архитектоники; 12 – неоплазия; 13 – очаги осветленных клеток; 14 – островки регенерации гепатоцитов; 15 – повышенная митотическая активность

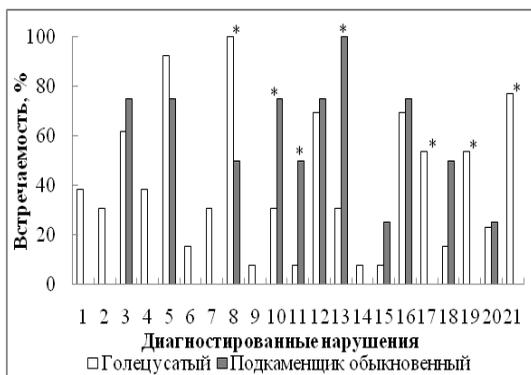


Рис. 10. Частота встречаемости основных патологических изменений в почках усатого гольца и подкаменщика обыкновенного р. Лососинки: * - различия между видами достоверны; 1 – утолщение стенок к.с.; 2 – гиперемия к.с.; 3 – гемолиз эритроцитов; 4 – кровоизлияния; 5 – некроз гемопоэтической ткани; 6 – образование новых нефронов; 7 – жировые клетки; 8 – ММЦ; 9 – неоплазия; 10 – расширение капилляров клубочка; 11 – утолщение стенки клубочка; 12 – пролиферация клеток клубочка; 13 – дегенерация клубочка; 14 – эозинофильные массы в клубочке; 15 – отслоение эпителия от базальной мембраны канальца; 16 – отложения в просвете канальца; 17 – эозинофильные массы в просвете и эпителии канальца; 18 – разрастание соединительной ткани вокруг канальца; 19 – вакуолизация эпителия канальца; 20 – пикноз ядер эпителия канальца; 21 – некроз канальцев

Река Неглинка

Анализ жабр, печени и почек усатых гольцов, населяющих р. Неглинку, выявил различные морфофункциональные изменения нескольких типов.

В жабрах рыб наблюдали очаговую гипертрофию и гиперплазию клеток (у 33 и 92 % особей соответственно), кровоизлияния (у 58%), единичные аневризмы (у 75%) и гиперемию к.с. (у 92%), отек респираторного эпителия (у 50%), некроз клеток эпителия (у 50%), гемолиз эритроцитов (у 58%), фиброз (у 25%), появление слизи (у 8%) и ММЦ, содержащих пигмент гемосидерин (у 92%), а также локальное искривление и укорочение респираторных ламелл (у 92 и 67% рыб соответственно).

Изменения нормальной структуры были зафиксированы и в печени. Чаще всего у рыб отмечались небольшие очаги некроза паренхимы (82%

особей), интраваскулярный гемолиз эритроцитов (63%), гиперемия к.с. (54%) и очаги базофильных клеток (54%). Несколько реже в печени фиксировали утолщение стенок к.с. и нарушение архитектоники органов (45%), появление гепатоцитов с пикнотизированными ядрами (36%), а также вакуолизацию клеток (27%) и развитие неопластических изменений (27%). У некоторых рыб был выявлен фиброз желчных протоков (18%), появление ММЦ (9%), липоцитов (18%) и кистозной дегенерации (9%).

Гистологический анализ почек продемонстрировал у обследованных особей признаки развития гломерулонефрита: расширение капилляров клубочка (42% особей), пролиферацию клеток (58%) и дегенерацию клубочков (33%). У рыб также отмечалось появление аномалий канальцев: отслоение эпителия от базальной мембраны (42%), отложения и эозинофильные массы в просвете канальцев (67 и 8 % соответственно), разрастание соединительной ткани вокруг канальцев (33%), вакуолизация клеток и пикноз ядер канальцевого эпителия (25 и 8 %), некроз канальцев (33%). В паренхиме органа у 25% усатых гольцов были выявлены утолщение стенок к.с. и гемолиз эритроцитов; у 33% - гиперемия к.с.; у 58% - кровоизлияния; у 17% - структуры, характерные для образования новых нефронов; у 75% - некроз ткани; у 92% - ММЦ; у 67 % – липоциты; у 50% - гранулемы.

Кроме того, в жабрах у 8% рыб было диагностировано присутствие паразитарных инфузорий. У 63% рыб паразитарная инвазия наблюдалась в паренхиме печени и в желчных протоках, у 17% - в почечных канальцах и клубочках.

Озеро Холмовское

У рыб оз. Холмовского гистопатологические изменения были выявлены во всех исследованных органах. В жабрах рыб чаще всего диагностировали гиперемии к.с. (75%) и гипертрофию отдельных клеток (62%). У половины исследованных особей фиксировали небольшие очаги гиперплазии клеток, отек респираторного эпителия, появление аневризм; у 38% - кровоизлияния и некроз клеток.

Определенные изменения также были выявлены в печени рыб. У всех особей наблюдали появление гепатоцитов с пикнотизированными ядрами, у 57% – очаги инфильтрации лимфоцитов, у 43% – очаги осветленных клеток. Некроз ткани и кистозная дегенерация органа были выявлены у 28%. У 14% рыб отмечали утолщение стенок к.с., гиперплазию и фиброз желчных протоков, гиперемии к.с., вакуолизацию гепатоцитов, островки регенерации клеток, а также появление ММЦ и липоцитов.

Микроскопический анализ почек показал развитие изменений во всех структурных элементах органа. В интерстициальной ткани у 33% рыб были выявлены кровоизлияния, некроз и структуры, характерные для процесса образования новых нефронов, у 17% особей появление лимфоцитов, у 50% – ММЦ. Структурные аномалии канальцев включали отложения и появление эозинофильных масс в просвете канальцев (у 33 и 83% особей соответственно), пикноз ядер канальцевого эпителия и некроз канальцев (у 50% рыб), а также разрастание соединительной ткани вокруг канальцев и вакуолизация эпителия (у 67%). К признакам развития гломеруллопатии относились выявленные нами у 33% расширенные капилляры и дегенерация клубочков, а также пролиферация клеток, отмеченная у 83%.

При микроскопировании в жабрах 12% окуней были выявлены паразитарные инфузорий, а у 50% обследованных рыб в почках были обнаружены цисты паразитов.

6. ИНФОРМАТИВНОСТЬ И НАДЕЖНОСТЬ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ БИОМАРКЕРОВ

Целостность функционирования организма определяется работой органов обеспечивающих специфические функции, поэтому нарушение этой работы может отражать или болезненное состояние, или воздействие каких-либо токсичных веществ, что также ведет к нарушениям жизнедеятельности и появлению патологий.

В исследованных нами районах, различающихся по типу и уровню антропогенной нагрузки, в органах был отмечен широкий спектр патологических изменений. Независимо от особенностей химической структуры действующих загрязняющих веществ, реакция организма во многом носила сходный характер. У всех рыб, обитающих в очагах загрязнения, был выявлен целый ряд сходных аномалий: гипертрофия и некроз клеток жаберного эпителия, кровоизлияния и аневризмы в жабрах, появление ММЦ и вакуолизированных клеток в печени, фиброз желчных протоков, некроз почечных канальцев и вакуолизация канальцевого эпителия, расширение капилляров клубочка и т.д. Общность патологий в очагах загрязнения, расположенных в разных частях земного шара, при разнородной техногенной нагрузке отмечалась и другими исследователями (Schwaiger et al., 1997; Triebkorn et al., 2008; Myers et al., 1994; Stehr et al., 1997; Khan et al., 1994; Teh et al., 1997 и др.).

Наряду с общими изменениями в органах рыб диагностировались

нарушения, характерные лишь для отдельных районов: гиперплазия желчных протоков отмечалась только у рыб бассейна р. Печоры и оз. Холмовского, неопластическое перерождение почек – у рыб р. Лососинки, инфильтрация лейкоцитами и появление эозинофильных гранул в клетках жаберного эпителия – у рыб Выгозерского водохранилища. То есть, при всей стереотипности ответных реакций, у особей, обитающих в условиях разнородной техногенной нагрузки можно выделить некоторые тонкие различия.

Изменения, свидетельствующие о присутствии в среде факторов, неблагоприятно влияющих на состояние организма рыб, были выявлены во всех исследуемых водных объектах. Биомаркеры воздействия токсичных соединений, обладающих мутагенными и канцерогенными свойствами (появление очагов базофильных и осветленных клеток, неопластические изменения, гиперплазия желчных протоков в печени), были отмечены во всех исследуемых водных объектах, за исключением р. Кары. Это свидетельствует о хронической техногенной нагрузке на водные объекты и присутствии в исследуемых экосистемах соответствующих загрязняющих веществ.

Несмотря на сходность реакций у разных видов рыб, существует некоторое отличие в заболеваемости между видами. При сравнении частоты появлений патологических изменений в органах усатых гольцов и обыкновенных подкаменщиков, обитающих в р. Лососинке, было выявлено, что ряд изменений достоверно чаще фиксировались у усатого гольца (рис. 8-10). В исследованиях, проведенных на р. Печоре, также были установлены значимые различия в появлении нарушений в исследуемых органах сигов и язей (рис. 2-4).

В условиях загрязнения возрастает роль паразитов в появлении некоторых патологий, сходных с обнаруженными в очагах загрязнения. При этом вспышку численности дают наиболее устойчивые к загрязнению виды (Евсеева, 2001; Overstreet, Howse, 1977; Khan, 1991; Khan, Thulin, 1991), например, паразитарные инфузории, выявленные в наибольшем количестве у рыб р. Лососинки.

Большая часть диагностированных патологических изменений (фиброз жабр, печени, почек; гломерулонефрит; фиброз и гиперплазия желчных протоков и др.) свидетельствует о том, что гидробионты в данных водоемах подвергаются хроническому сублетальному воздействию. При этом ряд обнаруженных аномалий (аневризмы и некроз респираторных ламелл в жабрах; тромбы в сосудах; вакуолизация клеток почечных канальцев и др.) говорит об острой реакции

организма рыб, вызванной недавними изменениями в окружающей среде. Обнаруженные нарушения дают основание предполагать, что на фоне хронического загрязнения в водных объектах происходят спорадические единовременные выбросы токсичных загрязняющих веществ.

Проведенные в бассейне р. Печоры исследования показали, что органы рыб из верховья и дельтовой части реки, отличаются по частоте встречаемости целого ряда патологических изменений (рис. 2-4), что согласуется с данными об уровне антропогенной нагрузки на эти участки.

Полученные данные подтверждают высокую чувствительность органов рыб к качеству окружающей среды и надежность использования гистопатологических изменений как биомаркеров состояния окружающей среды независимо от природы действующего фактора. Однако диагностика выявленных патологий может свидетельствовать только о степени неблагоприятности в природных системах. Мы можем говорить об остром или хроническом протекании заболевания, т.е. выявлять качественные, но не количественные изменения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Структурные нарушения в органах и тканях рыб дают представление об общем состоянии здоровья рыб и происходящих в окружающей среде изменениях.

Все обнаруженные в органах и тканях аномалии могут быть отнесены к двум группам. Первая группа включает изменения, являющиеся результатом прямого воздействия токсических веществ на организм (например, некроз и пикноз ядер клеток), вторая – компенсаторные реакции организма, выполняющие защитные функции (гиперплазия клеток в жабрах, инфильтрация лимфоцитов, появление ММЦ и др.).

Мы модифицировали классификации, предложенные рядом авторов (Шарова, Лукин, 2005; Bernet et al., 1999; Voorman et al., 1997; Nero et al., 2006), и объединили весь спектр патологических реакций рыб, регистрируемых в водоемах Европейского Севера России в 5 групп:

1. Нарушения кровообращения: кровоизлияния (нарушение целостности стенки сосудов); гиперемия (увеличение кровенаполнения вследствие затруднения оттока крови по венам, либо увеличения притока крови по

артериям); аневризма (расширение просвета сосуда на ограниченном участке, обусловленное разрушением стенки сосуда).

2. Регрессивные изменения – процессы, следствием которых является ограничение функции или гибель органа: атрофия (уменьшение объема органа и снижение его функций); дистрофия (нарушение трофики – комплекса механизмов, обеспечивающих метаболизм и сохранность структур клеток и тканей); некроз (гибель отдельных клеток, участков тканей, части органа или целого органа); повреждения ядер (кариопикноз, кариорексис).

3. Прогрессивные изменения – процессы, направленные на компенсацию функций поврежденного органа: гипертрофия (увеличение объема органа, ткани, клеток, сопровождающееся усилением их функций); гиперплазия (увеличение количества клеток и внутриклеточных структур).

4. Воспаление – процесс, характеризующийся в местах повреждения органа изменением кровообращения и повышением сосудистой проницаемости в сочетании с дистрофией тканей и пролиферацией клеток.

5. Неоплазия – нерегулируемое размножение клеток, не достигающих созревания: доброкачественные; злокачественные.

Эффективность применения гистологических биомаркеров определяется возможностью использования их как общих показателей состояния здоровья рыб и качества окружающей среды. Включение тканевых биомаркеров в программу комплексного мониторинга качества окружающей среды дает возможность более точно оценивать и прогнозировать последствия антропогенного воздействия на экосистемы. Проведение исследований на тканевом уровне, подразумевает идентификацию патологий и дисфункций в различных системах организма, что позволяет включать гистологические биомаркеры не только в программу экологического, но и медико-биологического мониторинга.

ВЫВОДЫ

1. Диагностика состояния органов и тканей рыб с использованием гистологических методов выявляет патологические изменения как индивидуальный ответ на техногенную нагрузку. Эти показатели являются биологическими маркерами и могут служить для оценки качества среды обитания.

2. В условиях техногенного загрязнения у рыб возникают пролиферативные, дегенеративные, воспалительные, циркуляторные изменения, механизмы и причины, появления которых различаются, но клинко-мор-

фологические признаки являются общими, что позволяет считать их стереотипными ответными реакциями.

3. В ряде районов наряду с неспецифическими ответными реакциями, у рыб диагностируются характерные изменения органов, свидетельствующие о присутствии в окружающей среде загрязняющих веществ, способных вызывать развитие неопластических процессов.

4. Различия в частоте появления морфофункциональных изменений определяются чувствительностью отдельных видов к многофакторному техногенному загрязнению. В связи с этим для исследованных водных объектов можно рекомендовать виды-индикаторы, которые наиболее полно будут отражать изменения, происходящие в окружающей среде. Для оценки качества водной среды в бассейне р. Печоры рекомендуется использовать сиговых рыб, а для малых водотоков Карелии – усатого гольца.

5. Доминирующие виды могут не принадлежать к одной систематической группе, но, являясь преобладающими, они наиболее адекватно отражают происходящие в окружающей среде изменения.

6. Подкаменщик обыкновенный не является редким видом, а встречается часто и довольно устойчив к действию загрязняющих веществ, что вызывает сомнение в его статусе «краснокнижного» вида.

7. Гистологические биомаркеры могут свидетельствовать об уровне и продолжительности антропогенного воздействия. Объективность гистопатологических индикаторов не зависит от химической природы действующего фактора, что предполагает их использование совместно с гидрохимическими, биохимическими и другими методами.

8. Для получения объективной картины, наиболее полно отражающей состояние окружающей среды, с использованием организменных биомаркеров следует проводить комплексную диагностику трех функционально важных органов: жабр, печени и почек.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Лукин А.А., Шарова Ю.Н., Беличева Л.А. Оценка состояния организма рыб при загрязнении водных экосистем нефтепродуктами и отходами целлюлозно-бумажного производства // Рыбное хозяйство. – 2010. – № 6. – С. 47–52.

2. Lukin A., Sharova J., Belicheva L., Camus L. Assessment of fish health status: effects of contamination // Ecotoxicology and Environmental Safety. – 2011. – Vol. 74, № 3. – С. 355–365.

3. Lukin A.A., Sharova J.N., Belicheva L.A. Assessment of fish health status under

the long term oil pollution // 14th EAFP International conference «Diseases of Fish and Shelfish». Abstracts. Prague, 2009. С. 182.

4. *Беличева Л.А.* Оценка состояния малых водотоков урбанизированных территорий на основе использования биомаркеров // Современные проблемы гидроэкологии: тез. докл. 4-й Междунар. науч. конф. посвящ. памяти проф. Г.Г. Винберга. Санкт-Петербург, 2010. С.21.

5. *Беличева Л.А., Шарова Ю.Н.* Ответные реакции организма рыб на загрязнение вод стоками ЦБК // Первые международные Беккеровские чтения: сб. науч. тр. по мат. конф. в 2 ч. Волгоград, 2010, Ч.2. С.201-203.

6. *Беличева Л.А., Шарова Ю.Н.* Ответная реакция организма рыб на хроническое загрязнение вод (на примере реки Печоры) // Водная среда: обучение для устойчивого развития. Петрозаводск, 2010. С. 143–148.

Подписано в печать 13.04.2011. Формат 60x84¹/₁₆.
Гарнитура «Times New Roman».
Уч.изд. л. 1,1. Усл. печ. л. 1,4.
Тираж 100 экз. Изд. № 192. Заказ 951.

Карельский научный центр РАН
Редакционно-издательский отдел
185003, г. Петрозаводск, пр. А. Невского, 50