

ВЛИЯНИЕ ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ^{137}Cs НА РОСТОВЫЕ И ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ДВУХЛЕТОК КАРПА

А. С. Потрохов, Е. Н. Волкова, В. В. Беляев, О. Г. Зиньковский

Институт гидробиологии НАН Украины, Киев

Изучено влияние ^{137}Cs и рационов кормления рыб на содержание нуклеиновых кислот, белков, липидов, гликогена, диеновых конъюгатов, гидроперекисей липидов, малонового диальдегида в печени, мышцах, селезенке рыб. Показано, что после 106-суточного выращивания рыб содержание ^{137}Cs снизилось с 3000 - 3500 до 30 - 60 Бк/кг. При этом не отмечено негативного влияния повышенных концентраций радиоцезия в рыбах на выживаемость, линейный и весовой рост карпов, а также патологических нарушений физиолого-биохимического состояния рыб.

В комплексе антропогенных факторов, воздействующих на рыб, особое внимание уделяется фактору радиоактивного загрязнения водоема. Обычно действие этого фактора находится во взаимосвязи с уровнем трофности водоема и температурой окружающей среды.

В последнее время обсуждается вопрос о возможности использования для получения товарной продукции рыбоводных прудов в районах Чернобыльской зоны. Поэтому целью наших исследований было установить влияние повышенного содержания ^{137}Cs в тканях рыб при кормлении рыб и без него на физиолого-биохимические показатели.

Материал и методы исследований

Исследование влияния ^{137}Cs и рационов питания рыб на рост и физиолого-биохимические показатели карпа проводилось в экспериментальных водоемах. Биологическим материалом служили годовики карпа средней массой 45 г; ^{137}Cs вводили одноразово, перорально в желатиновом растворе, 150 Бк на экземпляр. Рыбы находились в условиях различных рационов питания (за счет естественной кормовой базы и при кормлении комбикормами). Продолжительность экспериментов составляла 3,5 мес.

Эксперимент проведен в следующих вариантах:

- 1) контроль, без кормления рыб;
- 2) рыбам введен ^{137}Cs , без кормления;
- 3) рыбам введен Cs^{137} , кормление рыб из расчета 1,5 % комбикормов от массы тела рыб;

- 4) рыбам введен ^{137}Cs , кормление рыб из расчета 5 % комбикормов от массы тела рыб.

Содержание РНК в органах и тканях определяли спектрофотометрически после щелочного гидролиза РНК [5]. Количество ДНК измеряли спектрофотометрически по Спирину [5]. Влияние факторов среды на свободнорадикальные процессы в организме рыб изучалось на основе регистрации диеновых конъюгатов [7], гидроперекисей липидов [6], малонового диальдегида [8].

Цифровой материал обработан статистически.

Результаты исследований и их обсуждение

В результате исследований установлено, что введение 150 Бк ^{137}Cs годовикам карпа средней массой 45 г не влияло на их выживаемость. Ростовые показатели в большей мере зависели от рациона питания рыб. Наибольшие значения весового и линейного роста наблюдались при максимальном кормлении рыб. Средняя длина рыб в данных условиях составляла 34,9 см, а масса - 1127 г (табл. 1).

Таблица 1. Характеристика рыб при завершении эксперимента

Вариант эксперимента	Длина малая, см		Высота, см		Масса, г		Коэффициент упитанности		¹³⁷ Cs, Бк/экз.		¹³⁷ Cs, Бк/кг	
	М	m	М	m	М	m	М	m	М	m	М	m
1	29,3	0,8	9,7	0,4	626	51	2,47	0,04	0,90	0,28	1,39	0,33
2	30,2	1,6	10,4	0,4	670	40	2,47	0,22	18,6	4,56	30,24	7,45
3	26,2	0,6	8,6	0,2	471	27	2,62	0,10	26,58	1,17	56,91	3,07
4	34,9	0,7	12,2	0,1	1127	58	2,64	1,38	33,91	1,38	30,93	1,00

Примечание. М - среднее значение величины; m - ошибка среднего значения.

Высшие коэффициенты упитанности отмечены у рыб, которые на протяжении вегетационного периода подкармливались гранулированными комбикормами.

В связи с благоприятностью температурного режима в вегетационный период (июнь – октябрь) часть двухлеток карпа (самцы) созрела и к осени имела текущие половые продукты. Доля созревших самцов карпа в контрольной и опытной группах рыб не отличалась и составляла 45 – 50 %. Таким образом, не наблюдалось отрицательного влияния повышенного содержания ¹³⁷Cs в тканях рыб на воспроизводительную систему самцов карпа.

В разных сериях эксперимента у рыб отмечена остаточная концентрация ¹³⁷Cs от 30,2 до 56,9 Бк/кг, у контрольной группы рыб она составляла 1,4 Бк/кг.

Изменения количества нуклеиновых кислот в тканях рыб является отображением глубинных изменений метаболизма на уровне функционирования генома. Связь между действием антропогенных факторов или же изменений других условий среды (не антропогенного происхождения) с изменениями содержания нуклеиновых кислот и их соотношением прослеживается и довольно тщательно освещена в научных работах ряда авторов. Соотношение РНК/ДНК достаточно адекватно отображает изменения активности метаболизма рыб [2, 12] и зависит от активности роста, стадии развития, возраста [13]. В ряду других физиолого-биохимических показателей содержание нуклеиновых кислот преимущественно более тесно коррелирует [9 – 11] и более адекватно отображает состояния метаболизма рыб и его изменения в ответ на действие разнообразных антропогенных факторов [2, 3, 11]. Это свидетельствует о том, что выбранные нами показатели являются довольно чувствительными и в значительной мере адекватно отображают изменения активности генома рыб в ответ на внешнее действие или патологию.

Анализ данных по содержанию нуклеиновых кислот и их соотношению в тканях карпов показал, что количество ДНК находилось в обратной зависимости от линейного и весового роста рыб. Рыбы с меньшими темпами роста характеризовались большим содержанием ДНК в мышцах, печени и селезенке карпов (рис. 1).

Приведенный факт объясняется тем, что содержание ДНК на клетку особи остается неизменным, а по мере роста организма размер клеток увеличивается, соответственно уменьшается количество ДНК на 1 г ткани.

По содержанию РНК в тканях рыб и соотношению РНК/ДНК можем судить об уровне протекания метаболических процессов в организме. Как видно из рис. 1, большее количество РНК в мышцах, печени и селезенке отмечалось у рыб, которых на протяжении эксперимента не подкармливали комбикормами. Таким образом, к окончанию эксперимента в организмах рыб данных групп не завершились активные метаболические процессы, и рыбы продолжали находиться в стадии подготовки к зимовке. В то же время радиационный фактор не влиял на общий уровень метаболических процессов. При сравнении результатов эксперимента с нашими натурными исследованиями, проведенными на водоеме-охладителе ЧАЭС, можно отметить, что как в первом случае, так и во втором повышенное содержание РНК в тканях рыб и рост соотношения РНК/ДНК в большей мере зависели от уровня трофности водоема.

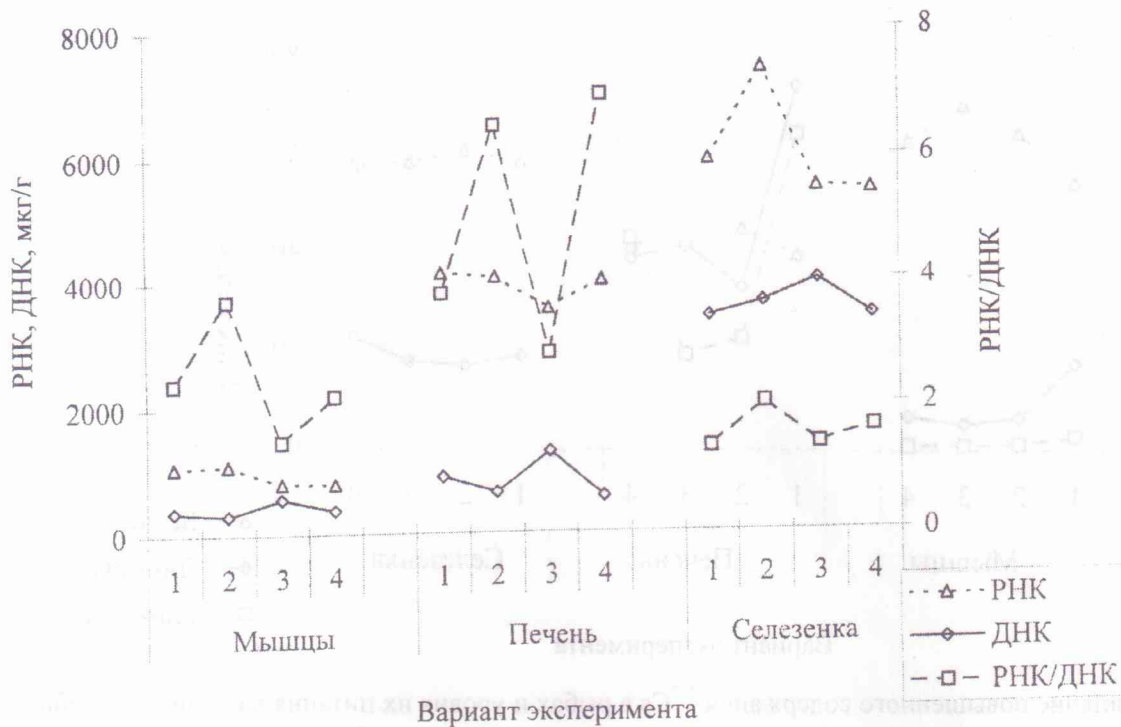


Рис. 1. Влияние повышенного содержания ^{137}Cs в рыбах на количество нуклеиновых кислот в органах и тканях карпа при различных рационах питания: 1 – контроль, без кормления рыб; 2 – рыбам введен ^{137}Cs , без кормления; 3 – рыбам введен Cs^{137} , кормление рыб из расчета 1,5 % от массы тела рыб; 4 – рыбам введен ^{137}Cs , кормление рыб из расчета 5 % от массы тела рыб.

Экспериментальные данные показывали, что у рыб с большей остаточной концентрацией ^{137}Cs в тканях снижалось накопление запасных энергетических веществ (липидов, гликогена) в мышцах и печени, в некоторых случаях даже при лучшей обеспеченности кормами. Если в отношении мышечной ткани данный факт можно объяснить простым перераспределением процентного состава белков, липидов и гликогена, то для печени рыб отмечалось достоверное воздействие повышенного содержания ^{137}Cs в организме (рис. 2). Аналогичную тенденцию наблюдали и для уровня содержания липидов в печени рыб из водоема-охладителя по отношению к этому же показателю прудовых рыб.

Изученные показатели энергетического и пластического обмена свидетельствовали о том, что рыбы находились в условиях стресса под влиянием факторов различной природы.

Известно, что сопротивляемость водных организмов к стрессам во многом зависит от сбалансированного функционирования защитных систем и, прежде всего, антиоксидантной [14].

Ряд факторов внешней среды (ультрафиолетовое облучение, ионизирующая радиация, ионы поливалентных металлов и др.), а также активные перекисные метаболиты, которые продуцируются организмами, могут влиять на интенсивность свободнорадикальных процессов и перекисного окисления липидов (ПОЛ), которые в норме находятся под антиоксидантным контролем [1].

Образование избыточного количества перекисных продуктов, который имеет место при развитии патологии, приводит к нарушению структурной и функциональной организации клеточных мембран, изменению их проницаемости и ионного баланса в клетках, разбалансированию окислительного фосфорилирования, окислению тиольных групп белков и дезактивации ферментов [4].

В тех случаях, когда уровень факторов окружающей среды в той или другой акватории значительно превышает фоновые величины, в антиоксидантной защите гидро-

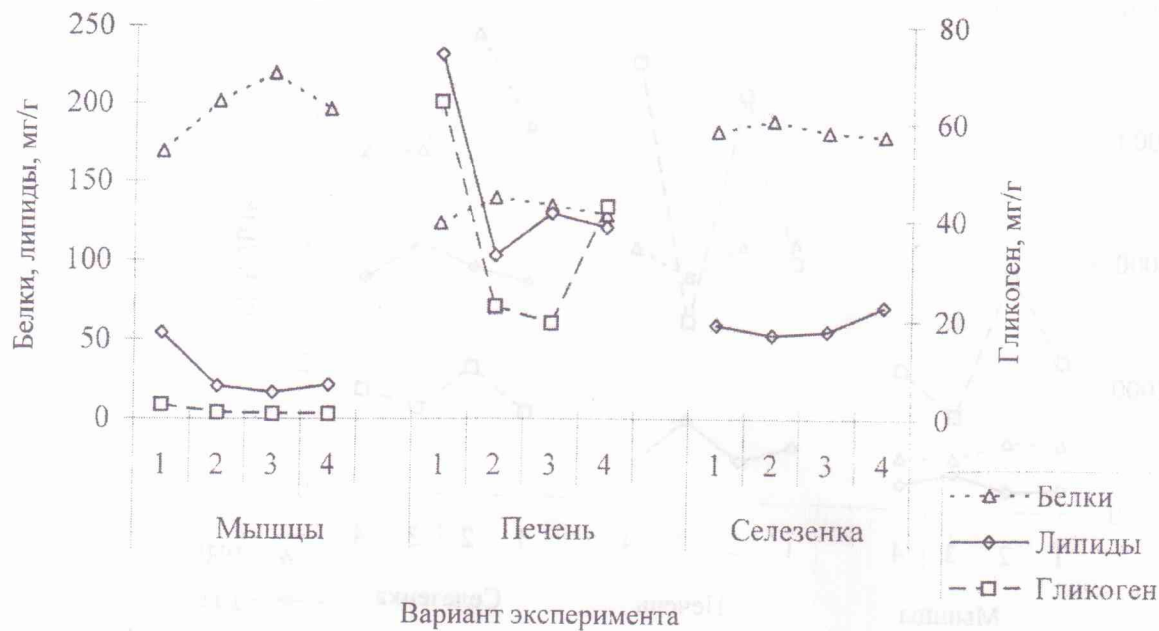


Рис. 2. Влияние повышенного содержания ^{137}Cs в рыбах и уровня их питания на количество общих белков, липидов, гликогена в органах и тканях карпа (условные обозначения те же, что и для рис. 1).

бионтов наблюдается сбой, который ведет к активации процессов перекисного окисления липидов [1]. Поскольку в норме для каждого вида характерный свой уровень ПОЛ, то изменения процессов свободнорадикального окисления липидов позволяет определить глубину стресса или патологии.

Из основных продуктов ПОЛ диеновые конъюгаты появляются на начальных этапах окисления. Интенсивность их образования в значительной мере отображает глубину и силу стресса и несколько меньше зависит от степени активности защитных механизмов антиоксидантной системы. Таким образом, мы можем рассматривать содержание диеновых конъюгатов как величину, которая тесно связана с силой действующего фактора и находится под меньшим влиянием компенсаторных, адаптивных механизмов.

Одним из промежуточных продуктов ПОЛ являются их гидроперекиси. Гидроперекиси липидов обнаруживаются на более поздних этапах перекисного окисления. Процесс их образования в меньшей степени отображает силу влияния фактора, вызывающего изменения ПОЛ, и является результатом двух противоположно направленных процессов – возрастания интенсивности ПОЛ под действием внешних факторов и, соответственно, им инициированных антиоксидантных компенсаторных механизмов. Это означает, что показатели содержания гидроперекисей липидов характеризуют взаимодействие окислительных и антиокислительных процессов.

Малоновый диальдегид – один из наиболее важных конечных продуктов перекисного окисления липидов. Соотношение содержания диеновых конъюгатов и малонового диальдегида позволяет судить о механизмах изменения образования гидроперекисей липидов.

По степени накопления продуктов перекисного окисления липидов можно судить о сбалансированности защитных систем к действию факторов окружающей среды. Если рассмотреть данные по содержанию диеновых конъюгатов и гидроперекисей липидов в перерасчете на 1 г ткани, то они свидетельствовали лишь об уровне протекания метаболических процессов в организме (рис. 3). У рыб с большими показателями обменных процессов, если судить по содержанию РНК и соотношению РНК/ДНК в тканях, количество диеновых конъюгатов и гидроперекисей липидов значительно выше, т.е. наблюдалась

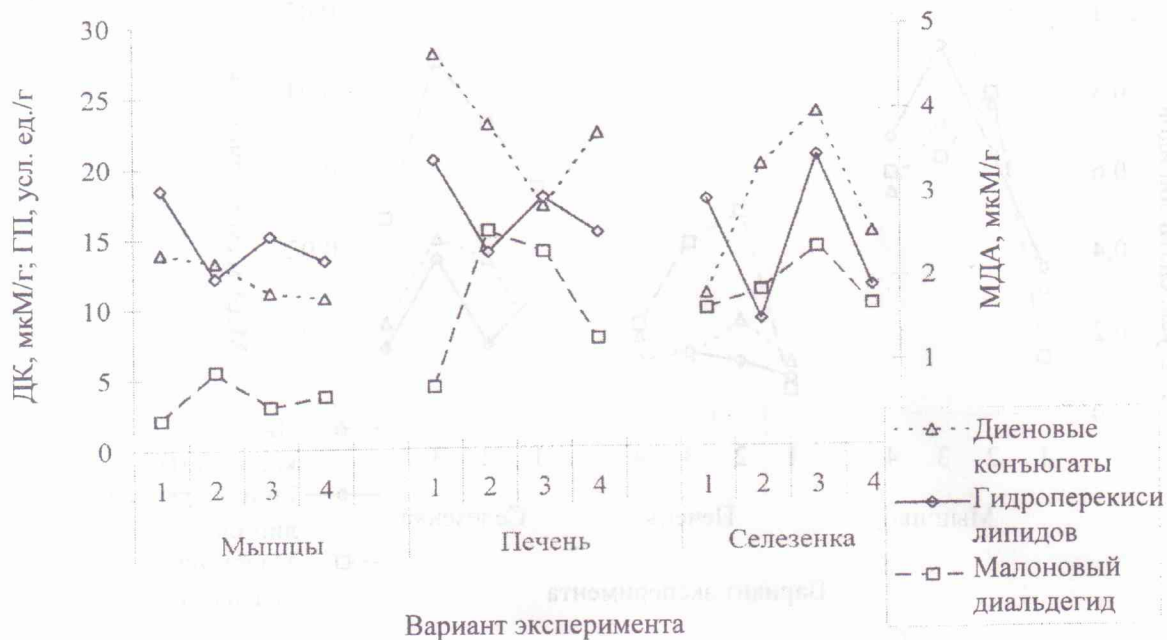


Рис. 3. Влияние повышенного содержания ^{137}Cs в рыбах и уровня их питания на показатели ПОЛ органов и тканей карпа, на 1 г сырой массы (условные обозначения те же, что и на рис. 1).

зависимость между уровнем трофности водоема и активностью метаболических процессов у рыб. В то же время количество малонового диальдегида у рыб, которым был введен ^{137}Cs , свидетельствовало об отрицательном влиянии повышенных уровней радиации на антиоксидантную систему рыб. Этот факт более свойственен мышечной ткани и печени рыб. В селезенке карпов, как наиболее метаболически активном органе рыб, это явление отмечено лишь для высшей удельной активности ^{137}Cs (3-й вариант эксперимента, 56,9 Бк/кг).

Более точно степень действия факторов среды на показатели ПОЛ органов и тканей рыб можно определить при рассмотрении этих данных в перерасчете на массу липидов конкретного органа и ткани. При этом исключаются процессы синтеза и распада веществ в организме (уровня активности метаболических процессов). На основании данных эксперимента (рис. 4) возможно отметить, что из двух рассмотренных факторов среды (введение 150 Бк ^{137}Cs на один экземпляр и уровень трофности водоема) доминирующим являлся первый. Все показатели ПОЛ в мышцах, печени, селезенке рыб в экспериментальных условиях достоверно отреагировали на повышенный уровень радиации в тканях в направлении увеличения степени накопления продуктов ПОЛ в рыбах (табл. 2 - 4). Таким образом, наблюдалось снижение антиоксидантных процессов в организме рыб. Аналогичные изменения по показателям ПОЛ отмечались в натуральных исследованиях на водоемоохладителе ЧАЭС. Увеличение рационов кормления рыб несколько снижало уровни накопления продуктов ПОЛ в тканях рыб, изменение которых наиболее четко проявлялось в селезенке карпа.

Таким образом, в экспериментальных водоемах на рыб воздействовал ряд факторов среды (радиационный и уровень трофности), которые существенно влияли на их физиолого-биохимическое состояние. Рыбы находились в состоянии адаптации к условиям существования, о чем свидетельствовали изменения биохимических показателей, а именно содержания и соотношения нуклеиновых кислот, количества общих белков, липидов и гликогена, изменения показателей перекисного окисления липидов в органах и тканях рыб. Патологических нарушений физиолого-биохимического состояния рыб нами не отмечено.

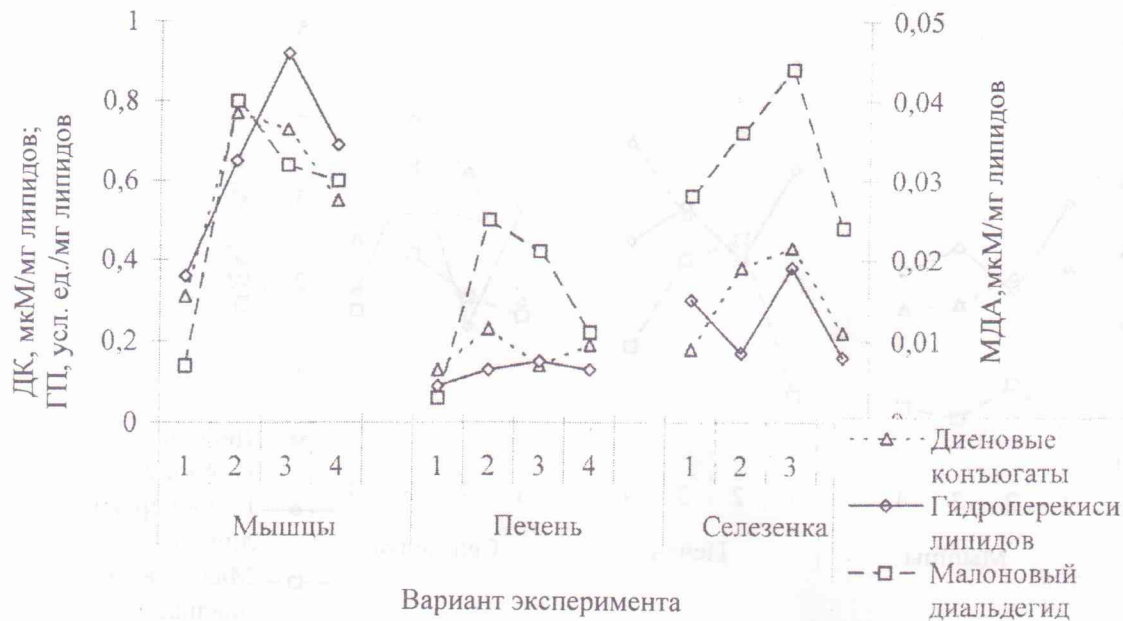


Рис. 4. Влияние повышенного содержания Cs¹³⁷ в рыбах и уровня их питания на показатели ПОЛ тканей карпа, на 1 мг липидов (условные обозначения те же, что и на рис. 1).

Таблица 2. Корреляционная матрица зависимостей физиолого-биохимических показателей мышц карпов с активностью ¹³⁷Cs и между собой

Показатели	A _m	РК	РНК	ДНК	РНК/ДНК	Гл.	Лип.	ДК	ГЛ	МДА
A _m	-	-	-	-	-	-0,48	-0,66	-	-	0,52
РК	-	-	-0,42	-	-0,51	-0,47	-	-	-	-
РНК	-	-0,42	-	-	0,86	-	-	-	-	-
ДНК	-	-	-	-	-0,55	-	-	-	-	-
РНК/ДНК	-	-0,51	0,86	-0,55	-	-	-	-	-0,44	-
Гл.	-0,48	-0,47	-	-	-	-	-	-	-0,48	-
Лип.	-0,66	-	-	-	-	-	-	-0,59	-0,60	-0,55
ДК	-	-	-	-	-	-	-0,59	-	0,56	0,64
ГЛ	-	-	-	-	-0,44	-0,48	-0,60	0,56	-	-
МДА	0,52	-	-	-	-	-	-0,55	0,64	-	-

Примечание. A_m - остаточная активность ¹³⁷Cs; РК - рацион кормления; РНК - содержание РНК; ДНК - содержание ДНК; Гл. - содержание гликоген; Лип. - содержание липидов; ДК - содержание диеновых конъюгатов; ГЛ - содержание гидроперекисей липидов; МДА - содержание малонового диальдегида.

Таблица 3. Корреляционная матрица зависимостей физиолого-биохимических показателей селезенки карпов с активностью ¹³⁷Cs и между собой

Показатели	A _m	РК	РНК	ДНК	РНК/ДНК	ДК	ГЛ	МДА
A _m	-	-	-	-	-	-	0,62	-
РК	-	-	-	-	-	0,51	-	-
РНК	-	-	-	-	0,85	-	-	-
ДНК	-	-	-	-	-0,45	-0,60	-	0,42
РНК/ДНК	-	-	0,85	-0,45	-	-	-	-0,49
ДК	-	0,51	-	-0,60	-	-	-0,46	-
ГЛ	0,62	-	-	-	-	-0,46	-	-
МДА	-	-	-	0,42	-0,49	-	-	-

Примечание. То же, что и для табл. 2.

Таблица 4. Корреляционная матрица зависимостей физиолого-биохимических показателей печени карпов с активностью ^{137}Cs и между собой

Показатели	A_m	РК	РНК/ДНК	Белок	Лип.	Гл.	ДК	ГЛ	МДА
A_m	–	–	–	–	-0,76	-0,86	–	–	0,69
РК	–	–	–	–	-0,40	–	–	–	–
РНК/ДНК	–	–	–	–	–	–	0,44	–	–
Белок	–	–	–	–	–	–	0,55	–	0,56
Лип.	-0,76	-0,40	–	–	–	0,69	-0,52	-0,49	-0,68
Гл.	-0,86	–	–	–	0,69	–	–	–	-0,73
ДК	–	–	0,44	0,55	-0,52	–	–	–	0,59
ГЛ	–	–	–	–	-0,49	–	–	–	0,52
МДА	0,69	–	–	0,56	-0,68	-0,73	0,59	0,52	–

Примечание. То же, что и для табл. 2.

Таким образом, в экспериментальных водоемах на рыб воздействовал ряд факторов среды (радиационный и уровень трофности), которые существенно влияли на их физиолого-биохимическое состояние. Рыбы находились в состоянии адаптации к условиям существования, о чем свидетельствовали изменения биохимических показателей: содержания и соотношения нуклеиновых кислот, количества общих белков, липидов и гликогена, изменения показателей перекисного окисления липидов в органах и тканях рыб. Патологических нарушений физиолого-биохимического состояния рыб нами не отмечено.

Выводы

1. Введение 150 Бк ^{137}Cs на один экземпляр не оказывало существенного влияния на активность метаболических процессов в организме рыб.
2. Показатели нуклеинового обмена рыб наиболее зависят от уровня трофности водоема. При этом в условиях низкой трофности водоемов, несмотря на завершение вегетационного периода, протекали активные метаболические процессы в организме рыб, находившихся в стадии подготовки к зимовке.
3. Отмечена тенденция к снижению накопления энергоемких веществ (липидов, гликогена) органами и тканями рыб из экспериментальных водоемов под влиянием повышенной остаточной удельной активности ^{137}Cs в рыбах.
4. Данные по показателям перекисного окисления липидов указывают на то, что под влиянием повышенных уровней радиации в экспериментальных условиях нарушалось равновесие между активностью антиоксидантных систем и ходом свободнорадикальных процессов в организме рыб, что находило свое отображение в повышении уровней накопления продуктов ПОЛ в органах и тканях рыб.
5. Увеличение рационов кормления рыб содействовало достижению равновесия между антиоксидантными и свободнорадикальными процессами в их тканях.
6. Начальная активность ^{137}Cs 3000 – 3500 Бк/кг массы рыб (150 Бк/экз.) не оказывала существенного влияния на выживаемость, линейный и весовой рост годовиков карпа.
7. Не отмечено отрицательного влияния введения 150 Бк ^{137}Cs на один экземпляр на воспроизводительную систему самцов карпа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бобкова А.И. Образование гидроперекисей липидов как тест-показатель при оценке токсичности морской воды // Гидробиол. журн. – 1997. – Т. 33, № 5. – С. 87 – 92.
2. Желябовская С.М. Динамика нуклеиновых кислот и белка в раннем онтогенезе осетровых рыб // Экол. физиол. и биохимия рыб: Тез. докл. VII Всесоюз. конф., Ярославль, май 1989 г., т. 2. – Рыбинск, 1989. – С. 135 – 136.

3. *Иванов В.Н., Звездина Т.Ф.* Действие различных концентраций свинца, меди и цинка на хромосомы клеток эмбрионов и предличинок черноморской камбалы-калкана // Генетика промысловых рыб и объектов аквакультуры: Материалы 2-го Всесоюз. совещ. по генет. селекции и гибридизации рыб, Ростов-на-Дону, 16 – 20 марта 1981 г. – М.; 1983. – С. 78 – 82.
4. *Козлов Ю.П., Данилов В.С., Каган В.Е.* Свободнорадикальное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Изд-во Московск. ун-та, 1972. – 88 с.
5. *Методы биологии развития.* Экспериментально-эмбриологические, молекулярно-биологические и цитологические. – М.: Наука, 1974. – 619 с.
6. *Романова Л.А., Стальная И.Д.* Метод определения гидроперекисей липидов с помощью тиоцианата аммония // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 65 – 66.
7. *Стальная И.Д.* Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 63 – 64.
8. *Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г.* Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитировой кислоты // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66 – 68.
9. *Winston G.W., Di Giulio R.T.* Prooxidant and antioxidant mechanism in aquatic organisms // Aquatic Toxicol. – 1991. – Vol. 19. – P. 137 – 161.
10. *Pinkney A.E., Matteson L.L., Wright P.A.* Effects of tributyltin on survival, growth, morphometry and RNA-DNA ratio of larval striped bass *Morone saxatilis* // Oceans'88 Proc. Partnership. Mar. interests, Baltimore, Md., 3. – N.Y., 1987. – P. 087.
11. *Pinkney A.E., Matteson L.L., Wright P.A.* Effects of tributyltin on survival, growth, morphometry and RNA-DNA ratio of larval striped // Arch. Environ. Contam. and Toxicol. – 1990. – Vol. 19, No. 2. – P. 235 – 240.
12. *Shukla J.P., Pandey K.* Channa punctatus. Effect of sublethal concentration of zinc sulphate on the growth rate of fingerlings of Channa punctatus (Broch), a freshwater murrel // Acta hydrochim et hydrobiol. – 1986. – Vol. 14, No. 6. – P. 677 – 680.
13. *Sivertsen A., Irgensen I., Rosenlund Grethe., Vadstein Olav.* Nucleic acid content of plaice eggs (*Preuronecetes platessa* L.) at different development stages // Rapp. et proc.-verbb. reun. Cons. int. explor. mer., 1989. – Vol. 191. – P. 445.
14. *Westerman M.E., Holf G.J.* The RNA-DNA ratio measurement of nucleic acids in larval sciaenops ocellatus // Contrib. Mar. Sci. – 1988. – Vol. 30, suppl. – P. 117–124.

ВПЛИВ ПЕРОРАЛЬНО ВВЕДЕНОГО ^{137}Cs НА РОСТОВІ ТА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ДВУЛІТОК КОРОПА

О. С. Потрохов, О. М. Волкова, В. В. Беляев, О. Г. Зиньковский

Вивчено вплив підвищеного вмісту ^{137}Cs у тканинах коропів і раціонів годівлі риби на кількість нуклеїнових кислот, білків, ліпідів, глікогену, дієнових кон'югатів, гідроперекисів ліпідів, малонового діальдегіду в печінці, м'язах, селезінці риби. Показано, що після 106-добового вирощування риби вміст ^{137}Cs знизився з 3000 - 3500 до 30 - 60 Бк/кг. При цьому не відзначено негативного впливу підвищених концентрацій цезію в рибах на життєздатність, лінійний і ваговий ріст коропів, а також патологічних порушень фізіолого-біохімічного стану риби.

INFLUENCE OF PERORAL INSERTION OF ^{137}Cs ON GROWTH, PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BIENNIAL CARP

O. S. Potrohov, E. N. Volkova, V. V. Belyaev, O. G. Zinkovsky

The influence of the increased content ^{137}Cs in the tissues of carp and rations of fishes feeding on the amount of nucleic acids, proteins, lipids, glycogen, diene conjugate, hydroperoxides of lipids, malonic dial in a liver, muscles, spleen of fishes is studied. It is shown that after 106-day's cultivation of fishes the content ^{137}Cs has decreased with 3000 - 3500 till 30 - 60 Bq/kg. At that negative influence of the increased concentrations of cesium in fishes on a survival rate, linear and weight growth of carp, and also pathological dysfunctions of a physiological-biochemical state of fishes is not marked.

Поступила в редакцію 12.02.03,
после доработки – 01.07.03.