

УДК (546.39:597):591.526

*А. С. Потрохов***РАЗНОРОДНОСТЬ ВЫЖИВАЕМОСТИ КАРПОВЫХ РЫБ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ АММОНИЯ**

Исследована разнородность по устойчивости к аммонийному азоту генетически полиморфной популяции амурского чебачка, инбредной популяции карпа и линейной выборки белого амура. Показано, что большие адаптивные способности к действующему фактору имеют рыбы, у которых проявляется повышенная гетерозиготность, часть особей может выживать при токсической нагрузке и стать основой новой популяции рыб, резистентной к действию ионов аммония.

Ключевые слова: разнородность, жизнеспособность, токсичность, ионы аммония, рыбы.

Известно, что степень устойчивости организма к действию факторов окружающей среды является генетически predetermined, но ее наследование может быть различным [3]. Так, общая жизнеспособность рыб тесно связана с гетерозиготностью и моно- или полигенным гетерозисом. Повышенная гетерозиготность у рыб способствует увеличению жизнеспособности, тесный инбридинг более чем на 10% за поколение снижает жизнеспособность [9]. Между различными выборками одного вида рыб найдены большие отличия по устойчивости к инсектицидам и фенолам [7, 11].

Естественно предположить, что в генетически более разнородных и полиморфных популяциях рыб некоторые особи обладают большей толерантностью к действующим агентам, а остальные менее стойкие. Следовательно, при изменении условий окружающей среды часть особей популяций элиминирует, а более резистентные, имеющие явные физиологические преимущества в адаптации к сложившимся условиям, выживают.

Наиболее распространенными токсикантами водной среды являются ионы аммония и аммиак. Рыбы подвергаются воздействию значительных концентраций аммонийного азота как в результате природных, техногенных катастроф, так и при нарушении технологии их интенсивного выращивания [4]. Азотсодержащие соединения имеют широкий спектр токсического действия на организм [1, 10].

Есть виды рыб, которые толерантны к определенным токсическим веществам, в частности к аммиаку и ионам аммония, они выдерживают значите-

© Потрохов А. С., 2010

льные их концентрации. Обычно эти рыбы имеют хорошо развитые системы детоксикации и выведения азотистых соединений из организма через жабры и почки. Одним из представителей рыб, стойких к действию минеральных форм азота, является карп (*Cyprinus carpio* L.). Другие же виды могут проявлять значительно меньшую устойчивость к повышению содержания аммония в воде. Обычно эти виды являются реофильными, требующими высокого содержания кислорода в воде и в процессе своей эволюции не выработали соответствующих или достаточно активных механизмов детоксикации высокого содержания азотистых веществ в организме, прежде всего в плазме крови. В первую очередь это рыбы, относящиеся к семейству лососевых.

В результате эволюции у рыб выработались достаточно эффективные и интенсивные механизмы адаптации к действию азотистого загрязнения — механизмы детоксикации, экскреции, изоляции от поступления экзогенного аммония. Уровень содержания аммония во внешней среде, превышение которого вызывает полную гибель всей популяции (или выборки) рыб при длительной их экспозиции, и является границей адаптивных возможностей популяции. Поскольку активность механизмов детоксикации, экскреции и других компенсаторных механизмов, противодействующих развитию токсикоза, генетически предопределена, то мы вправе ожидать, что более генетически полиморфные популяции рыб содержат в своем составе больше особей, у которых толерантность к действию токсиканта существенно превышает среднее значение для выборки. Оставшиеся в живых особи имеют возможность составить основу новой, соответствующей обстоятельствам популяции рыб при ее восстановлении.

Целью данной работы являлось выяснить, в какой степени генетическая разнообразность популяции разных видов рыб влияет на их устойчивость к действию аммонийного азота.

Материал и методика исследований. Объектами исследований были амурские чебачки (*Pseudorasbora parva* Schlegel) из природной популяции, карпы (*Cyprinus carpio* L.), имеющие близкородственное происхождение, и особи белого амура (*Ctenopharyngodon idella* Val.), полученные от одной родительской пары, из искусственных популяций. Все рыбы были в возрасте от одного до двух месяцев.

До проведения экспериментов рыб содержали в прудах, куда подавали воду из р. Рось. Средняя минерализация воды составляла 513 мг/дм³, содержание ионов аммония — 0,23 мг N/дм³, нитритов — 0,03 мг N/дм³, нитратов — 0,16 мг N/дм³, рН воды — 8,3, содержание кислорода в воде 8—10 мг O/дм³ [6]. Таким образом, преадаптация рыб к действующему фактору отсутствовала.

Для создания заданных концентраций ионов аммония использовали его хлоридную соль. Токсический эффект ионов аммония на рыб исследовали в диапазоне концентрации от 24,1 до 261,0 мг N/дм³. Содержание основных ионов в водной среде составляло: HCO₃⁻ — 285 мг/дм³, SO₄²⁻ — 30, Cl⁻ — 32, Ca²⁺ — 57, Mg²⁺ — 26, Na⁺ — 26, K⁺ — 6 мг/дм³ [6]. Создавали благоприят-

ные для рыб условия по содержанию кислорода в воде (10—12 мг О/дм³), температурный режим находился в пределах 21—24°C, величина рН воды не превышала 8,4.

Определение токсического эффекта ионов аммония на рыб проводили в остром эксперименте (до 140 ч). Каждые 24 ч заменяли растворы веществ в экспериментальных емкостях. В 10-литровые сосуды помещали по 50—100 рыб. Масса подопытных рыб составляла: белый амур — 200—300 мг, карп — 400—500 мг, амурский чебачок — 500—600 мг. За состоянием рыб проводили круглосуточное наблюдение. Соотношение массы растворов и биологического материала не превышало 200:1 и не могло существенно сказаться на результатах экспериментов. В ходе проведения опытов рыб не кормили.

Исходя из положений, выдвинутых В. Ю. Урбахом [5], мы учитывали альтернативный эффект, то есть, абстрагируясь от изменения поведения, частоты локомоторных движений и других показателей, учитывали только гибель рыб под действием токсического фактора. Достижение эффекта гибели рыб фиксировали непосредственно в момент прекращения дыхательных движений жаберных крышек. Смертность рыб (эффект токсического действия) рассчитывали по доле рыб, погибших в данный промежуток времени. Результаты исследований обрабатывали с помощью программы «Statistica 5.5».

Результаты исследований и их обсуждение

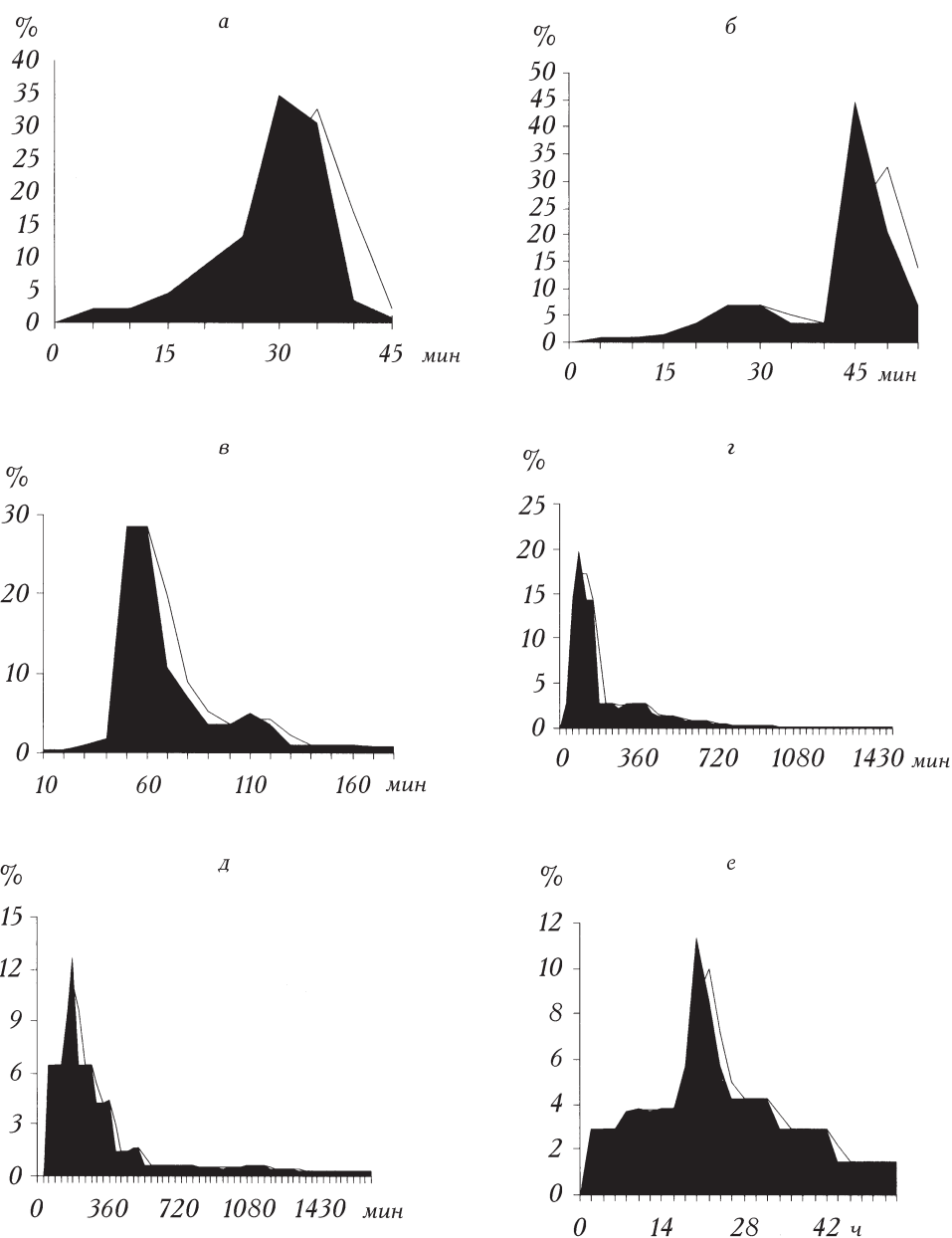
Действие токсических веществ на организм рыб протекает, как правило, в две фазы развития общего токсикоза. Первая фаза интоксикации развивается достаточно быстро, является суммой реакций химического стресса, определяется концентрацией и дозой соединения, скоростью его поступления в организм рыб и меньше зависит от химической природы самого токсиканта. Вторая фаза — это развитие специфической интоксикации, она представляет собой сумму процессов нарушения функционирования систем организма и его реакций на субклеточном, клеточном, тканевом и органном уровне. Эта фаза токсикоза определяется специфическими, свойственными для данного конкретного вещества путями воздействия на организм и полностью зависит от его химического строения [4, 12]. Так, известно, что аммиак и ионы аммония по своему физиологическому действию относятся к токсикантам локального, гемолитического и нервнопаралитического действия [2, 13].

Значительное повышение концентрации аммонийных соединений в воде сопровождается явлениями химического стресса рыб, и в частности нервнопаралитическими проявлениями, которые часто заканчиваются летальным исходом. Наиболее характерными симптомами стресса при действии токсических веществ являются учащение сердцебиения, усиление интенсивности дыхания, повышенная и хаотическая локомоторная активность [8]. На последних стадиях развития стресса наблюдается снижения подвижности рыб, резкое подавление активности дыхания и смерть.

При воздействии повышенных концентраций ионов аммония на молодь белого амура мы отмечали постепенное нарастание токсического эффекта по мере накопления аммония в организме рыб (рис. 1). Явных проявлений стресса — повышенной возбудимости, увеличения дыхательных движений у рыб не отмечалось. Во всех вариантах эксперимента четко прослеживался концентрационнозависимый эффект между содержанием аммония в воде и смертностью рыб. Если при концентрации 130 мг N/дм³ пик смертности белого амура наблюдался через 30 мин, то при более низком содержании аммония 98,1 мг N/дм³ — через 45 мин, 65,4 мг N/дм³ — 60—70 мин, 48,4 — 60—90 мин, 32,7 — 150 мин, 24,1 мг N/дм³ — через 20 ч экспозиции. При максимальных концентрациях аммония 196,3 и 261,7 мг N/дм³ молодь белого амура погибла в первые минуты эксперимента.

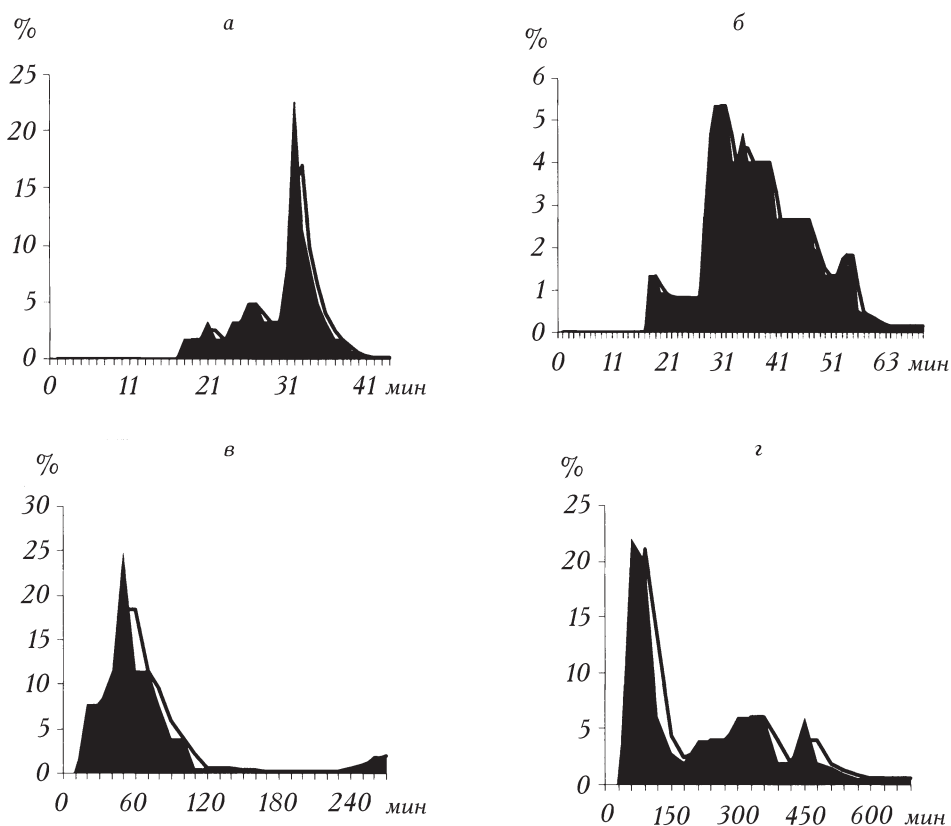
Вне зависимости от содержания ионов аммония в воде смертность молоди белого амура от одной родительской пары графически выражается нормальным (биномиальным) распределением. Дополнительных пиков возрастания смертности на графиках в данном случае не наблюдалось. Таким образом, по устойчивости к действующему фактору выборка являлась однородной. Данный факт свидетельствует о генетической однородности подопытных рыб. Причиной этого является их общее происхождение от одной родительской пары. В данной выборке рыб равномерно присутствовали менее стойкие к ионам аммония особи и более стойкие. Различия по толерантности рыб к действию аммонийного азота колебались в узких пределах. При достаточно низких концентрациях аммония — от 24,1 до 32,7 мг N/дм³ выживаемость рыб была высокой на протяжении продолжительного времени, некоторые особи доживали до конца эксперимента, при их пересаживании в чистую воду внешние проявления токсикоза не наблюдались уже через 1 ч.

Молодь карпа по сравнению с белым амуром более устойчива к повышению уровня содержания минерального азота в воде (рис. 2). Она достаточно долго выживала при максимальных концентрациях азота в воде (261,7 и 196,3 мг N/дм³) — до 60 мин, а при более низких концентрациях аммония (32,7 и 24,1 мг N/дм³) — более 4 сут. Так же как и в опытах с белым амуром, токсическое действие аммонийного азота и смертность, связанная с этим фактором, более существенно по сравнению со стрессовой составляющей негативного эффекта. Общая интоксикация организма рыб проявлялась по мере проникновения в организм аммонийного азота, что заканчивалось их гибелью. В то же время, несмотря на свое близкородственное происхождение, эта выборка карпа, представленная одной породной линией, не была столь однородна по степени устойчивости к действующему фактору. И принцип нормального, биномиального распределения наследуемых признаков по устойчивости к действующему фактору несколько нарушался. Это наиболее наглядно иллюстрируют кривые смертности рыб под действием более «умеренных» концентраций аммонийного азота, когда отмечаются два пика гибели рыб. То есть отмечается наличие двух разнородных по устойчивости к действию аммонийного азота групп рыб. Для каждой из этих групп карпа характерны свои кривые смертности. Данный факт свидетельствует о том, что в искусственной популяции карпа присутствуют рыбы с генетически предопределенной устойчивостью к токсическому влиянию



1. Фактическая смертность молоди белого амура от одной родительской пары под действием повышенных концентраций аммонийного азота за интервал времени, в % от общего количества ($n = 69-105$): *a* — 130,8 мг N/дм³; *б* — 98,1; *в* — 65,4; *г* — 48,4; *д* — 32,7; *е* — 24,1 мг N/дм³.

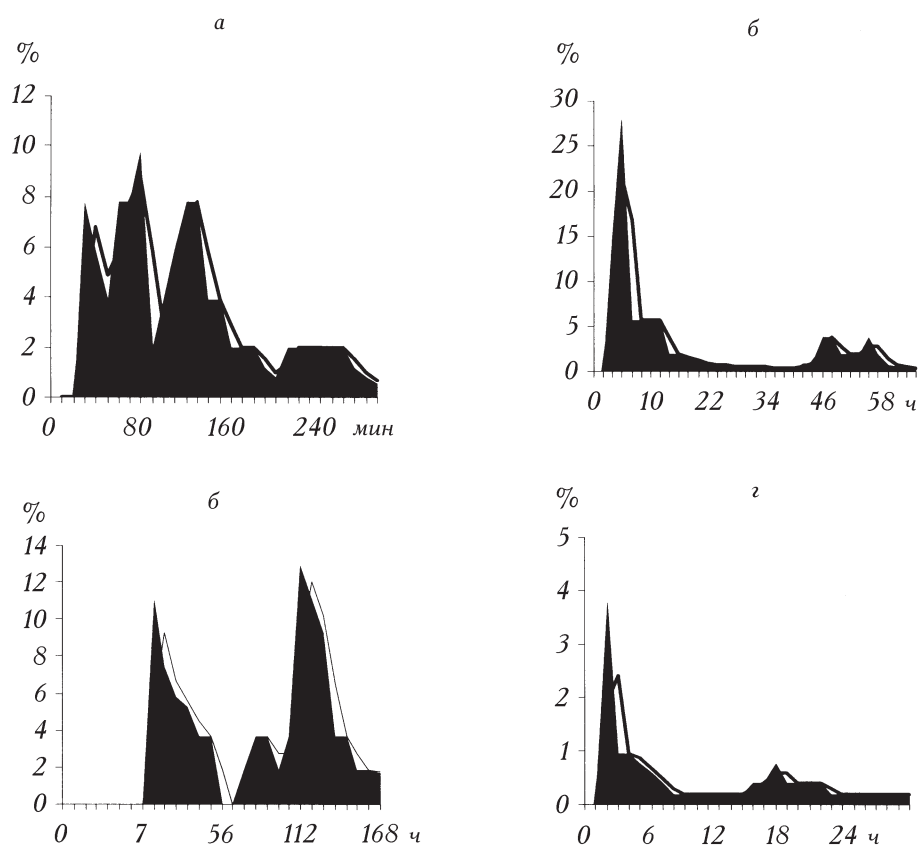
минерального азота. Именно эти особи смогут выживать при ухудшении условий окружающей среды по данному фактору и в дальнейшем стать основой для воспроизводства потомства, более стойкого к загрязнению водоемов аммонийным азотом.



2. Фактическая смертность молоди карпа из искусственной популяции под действием повышенных концентраций аммонийного азота за интервал времени, в % от общего количества ($n = 100-124$): а — 196,3 мг N/дм³; б — 130,8; в — 98,1; г — 65,4 мг N/дм³.

Амурский чебачок по степени устойчивости к воздействию высших концентраций аммонийного азота (196,3, 261,7 мг N/дм³) занимает промежуточное положение между двумя предыдущими видами рыб. При более низких концентрациях аммонийного азота (24,1, 32,7 мг N/дм³) их гибель была несущественной (до 13% от всех особей). Однако данный вид достаточно сильно подвержен гибели в результате действия стрессовой составляющей токсического эффекта ионов аммония. При помещении в токсичную среду рыбы начинали хаотически двигаться, резко усиливались дыхательные движения жаберных крышек, часть особей погибала. В связи с этим кривые смертности чебачков во временном масштабе несколько смещены в левую сторону, что вызвано гибелью части рыб в результате развития стресса (рис. 3).

Также наблюдалось концентрационно-зависимое воздействие аммонийного азота на рост смертности рыб. Так, при содержании аммонийного азота в воде в количестве 261,7 мг N/дм³ все рыбы погибали в течение 97 мин, 196 мг N/дм³ — 170 мин, 130,8 мг N/дм³ — 290 мин, 98,1 мг N/дм³ — 19 ч, 65,4 мг N/дм³ — 66 ч. Для чебачков из природной популяции при всех кон-



3. Фактическая смертность молоди амурского чебачка из природной популяции под действием повышенных концентраций аммонийного азота за интервал времени, в % от общего количества ($n = 106-118$): а — 130,8 мг N/дм³; б — 65,4; в — 48,5; г — 32,7 мг N/дм³.

центрациях аммония характерно наличие двух, а иногда трех групп рыб, отличающихся по степени положительного ответа (гибели) на токсическую нагрузку. Поэтому кривые смертности представлены наложением нескольких бимоминальных распределений гибели рыб в результате действия аммонийной нагрузки.

Таким образом, в природной популяции, при наличии большой гетерозиготности и малой степени инбридинга, генетически обусловленная устойчивость рыб к действию ионов аммония представлена более широким спектром. Однако даже в природной популяции амурского чебачка численно преобладают особи с достаточно низкой толерантностью к действующему фактору. Более стойкие особи составляют меньшую часть выборки (19,6—37,5%).

Рыб можно условно разделить на три группы, исходя из показателя чувствительности к токсическому действию аммонийного азота:

- особо чувствительные особи, гибнущие в основном в результате химического стресса (62,5—80,4%);
- чувствительные особи, смерть которых наступает исключительно в результате специфического токсикоза организма (6,3—33,2%). При своевременном переносе этих рыб в чистую воду гибель особей прекращается и через 2 ч они начинают активно питаться;
- слабо чувствительные особи (4,3—13,3%), которые в условиях острого эксперимента и достаточно высокой концентрации аммонийного азота (от 24,1 до 32,7 мг N/дм³) приспособливаются, восстанавливают нормальное поведение и питаются. В этих условиях их гибели не наблюдается. Именно эти особи могут составить основу новой популяции, выжившей в экстремальных условиях действия высоких концентраций аммонийного азота водной среды.

Таким образом очевидно, что генетически более полиморфная популяция амурского чебачка имеет большие адаптивные способности к условиям повышения содержания аммонийного азота в воде, чем инбредная популяция карпа или линейная выборка белого амура, что обеспечивает ей более вероятное выживание и распространение в местах, где наблюдается значительное поступление аллохтонного азота.

Заключение

Как показали наши исследования, разнородность популяции рыб существенным образом влияет на ее устойчивость к действию аммонийного азота. В более разнородных группах рыб (амурский чебачок из природной популяции) присутствуют особи, которые толерантны к повышению содержания в воде ионов аммония. При этом они выдерживают значительную их концентрацию — до 32,7 мг N/дм³ (32 ПДК). Количество особей в популяции, устойчивых к загрязнению, меньше (в 2—10 раз) и зависит от концентрации аммонийного азота в воде.

При близкородственном скрещивании рыб (белый амур) и в искусственных популяциях на основе однолинейных производителей рыб (карп) генетический полиморфизм по устойчивости к аммонийному азоту сужается. В результате этого адаптационные возможности выборки рыб к влиянию ионов аммония существенно падают.

**

Досліджено різномірність за стійкістю до амонійного азоту генетично поліморфної популяції амурського чебачка, інбредної популяції коропа і лінійної вибірки білого амура. Показано, що більші адаптивні спроможності до діючого чинника мають риби, у яких виявляється підвищена гетерозиготність, частина особин може виживати при токсичному навантаженні і стати основою нової популяції риб, резистентної до дії іонів амонію.

**

*Heterogeneity on stability to ammonium of genetically polymorphous population of top-mouth gudgeon (*Pseudorasbora parva* Schlegel), inbred population of carp and linear selection of grass carp is investigated. It has been established that the large adaptive capacities for an operating factor are characteristic for those fish that show an increased heterozygosity. A portion of individuals can survive at toxic loadings and become a basis for new population of fishes, which are resistant to the action of ammonium ions.*

**

1. Грубінко В.В. Адаптивні реакції риб до дії аміаку водного середовища: Автореф. дис. ... докт. біол. наук. — К., 1995. — 44 с.
2. Зиньковский О.Г., Потрохов А.С., Евтушенко Н.Ю. Применение антистрессовых и обездвиживающих веществ в промышленном рыбоводстве и при экспериментальной работе с рыбами. — К.: Ин-т гидробиологии НАН Украины, 2000. — 75 с.
3. Курпичников В.С. Генетика и селекция рыб. — Л.: Наука. — 1987. — 518 с.
4. Метелев В.В., Канаев А.И., Дзасохова Н.Г. Водная токсикология. — М.: Колос, 1971. — 247 с.
5. Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. — М.: Медицина, 1975. — 295 с.
6. Хільчевський В.К., Курило С.М., Дубняк Є.М. та ін. Гідроекологічний стан річки Рось. — К.: Ніка-Центр, 2009. — 116 с.
7. Angus R.A. Phenol tolerance in populations of mosquitofish *Poeciliopsis monachalucida*: a tissue graft analysis // Trans. Amer. Fish. Soc. — 1983. — Vol. 33, N 1. — P. 27—40.
8. Hill J.V., Forster M.E. Cardiovascular responses of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) during rapid anaesthetic induction and recovery // Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol. — 2004. — Vol. 137, N 2. — P. 167—177.
9. Kincaid H.L. Inbreeding in salmonids // Fish salmonid genetics: status in aquaculture. — Seattle, 1980. — 42 p.
10. Lloyd R. Pollution and freshwater fish // Fishing News Books. — 1992. — 176 p.
11. Macek K.J., Sanders H.O. Biological variation in the susceptibility of fish and aquatic invertebrates to DDT // Trans. Amer. Fish. Soc. — 1970. — Vol. 99, N 1. — P. 89—90.
12. Marking L.L. Procedures for use of freshwater fishes in the development of reproducible toxicological information // Natl. Cancer. Inst. Monogr. — 1984. — Vol. 65. — P. 195—199.
13. Tilak K.S., Lakshmi S.J., Susan T.A. The toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to the fish, *Catla catla* (Hamilton) // J. Environ. Biol. — 2002. — Vol. 23, N 2. — P. 147—149.