

ВСЕСОЮЗНЫЙ ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МОРСКОГО
РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА И ОКЕАНОГРАФИИ (ВНИРО)

На правах рукописи

УДК
597-148.11*(597:615.9)

АХМЕДОВА Татьяна Петровна

АЗОТИСТЫЙ ОБМЕН ГОЛОВНОГО МОЗГА РЫБ
ПРИ ДЕЙСТВИИ ТОКСИКАНТОВ

Специальность 03.00.10 - ихтиология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва, 1987

Работа выполнена в лаборатории прикладной зоологии
и токсикологии Дагестанского отделения Каспийского
научно-исследовательского института рыбного хозяйства
(Даг.отделение КаспНИИРХ)

Научный руководитель: доктор биологических наук,
профессор
В.И. ЛУКЬЯНЕНКО

Научный консультант: доктор биологических наук,
профессор
Э.З. ЭМИРЪЕВ

Официальные оппоненты: доктор биологических наук
А.Ф. КАРПЕВИЧ
кандидат биологических наук
С.А. СОКОЛОВА

Ведущая организация: Институт биологии Карельского
филиала АН СССР

Защита диссертации
на заседании специа-
лизованного
исследовательского
океанографии по ад-

С диссертацией

Автореферат

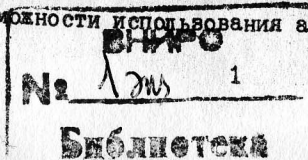
Учен
специалист
канд.

А.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Повсеместно нарастающее загрязнение внутренних водоемов и мирового океана такими "глобальными", т.е. широко распространенными и опасными токсикантами, как нефть и нефтепродукты, фенолы, тяжелые металлы, пестициды, детергенты (Нельсон-Смит, 1977, Патин, 1979, Лукьяненко, 1967, 1983), ставит перед необходимостью значительной активизации исследований в области водной и рыбохозяйственной токсикологии. По мнению большинства ведущих токсикологов основной путь предотвращения дальнейшего загрязнения и снижения уже имеющегося чрезвычайно высокого уровня - это биологическая регламентация поступления в водоемы различных групп токсических веществ с помощью предельно-допустимых концентраций (ПДК). Для обоснованного суждения о степени токсичности различных веществ, механизмах их действия на водных животных и надежного обоснования величин их ПДК в сравнительно короткие сроки необходимо пользоваться чувствительными критериями оценки токсичности, в частности, физиолого-биохимическими показателями, значение которых становится все более очевидным.

Особая роль принадлежит ихтиотоксикологическим исследованиям, поскольку рыбы представляют собой наиболее высокоорганизованных водных животных (исключая морских млекопитающих) с дифференцированной нервной системой, осуществляющей связь организма со средой. Оптимальное ее функционирование возможно только при нормальном ходе обменных процессов в этой системе. Важнейшим биохимическим индикатором функционального состояния головного мозга является система освобождения и связывания аммиака, чутко реагирующая на различные неблагоприятные внешние воздействия. Тем не менее специальных исследований, направленных на выявление возможности использования азотистого обмена в голов-



ном мозге рыб для оценки токсичности различных веществ в острых и хронических опытах до сих пор не проводилось, а имеющиеся литературные сведения по этому вопросу немногочисленны.

Цель исследований. Изучить особенности азотистого обмена головного мозга у разных по уровню организации каспийских видов рыб в норме и под влиянием токсикантов. Выявить характер и выраженность изменений различных показателей азотистого обмена головного мозга (содержание аминокислот, глутамина, глутаминовой, гамма-аминомасляной, аспарагиновой кислот, лабильных и прочно-связанных амидных групп белков) под влиянием различных групп токсикантов. Обосновать возможность использования избранных биохимических показателей для оценки токсического эффекта отдельных веществ и при разработке нормативов содержания этих веществ в морской воде.

Научная новизна. Впервые получены данные о состоянии азотистого обмена головного мозга различных видов рыб Каспия в норме и при воздействии наиболее распространенных и опасных загрязнителей морской среды: ртути, пестицидов, растворенной и сырой нефти, отдельных компонентов пластовых вод. Выявлено сходство и различия в реакции неодинаковых по уровню организации групп рыб (хрящевые ганоиды и костистые) на отдельные токсиканты. Доказана высокая чувствительность показателей азотистого обмена головного мозга рыб к действию токсических веществ различной химической природы.

Практическое значение. Экспериментально обоснована возможность использования различных показателей азотистого обмена головного мозга в качестве биохимических индикаторов токсического действия на рыб, они могут служить эффективным тестом при оценке последствий загрязнения водной среды. Результаты наших исследований совместно с другими материалами лаборатории легли

в основу разработанных и утвержденных "Главрыбводом" предельно-допустимых концентраций семи токсических веществ (ртуть, растворенные фракции нефти, нафтенат натрия, иод, бром, стронций, линурон), которые включены в приложение к "Правилам охраны поверхностных вод от загрязнения сточными водами", что позволит законодательно ограничить поступление этих веществ в морскую среду и будет способствовать сохранению чистоты Каспия.

Апробация работы. Результаты работы были доложены на Ученом Совете Даг. отделения КаспНИИРХ (1980), на Отчетной Сессии КаспНИИРХа (1980), на 5 Всесоюзной конференции по экологической физиологии и биохимии рыб (1982), на заседании проблемной лаборатории нейробиологии Дагестанского государственного университета (1985).

Публикации. Основное содержание диссертации изложено в 17 опубликованных работах.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 164 страницах машинописного текста, содержит 23 рисунка, 24 таблицы, состоит из введения, 4 глав (обзор литературы, материал и методика, собственные экспериментальные данные, обсуждение результатов исследований) и выводов. Список литературы включает 226 наименований, из них 51 - зарубежных авторов.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Эксперименты проводили на трехлетках осетра *Acipenser gildenstädti* Brangt, бычка-кругляка *Neogobius melanostomus affinis* Eich, вобли *Rutilus rutilus caspicus* Jak и годовиках вобли, отловленных в водах Дагестанского побережья Каспия при помощи ставных сетей и волокуш.

Для опытов использовали нетравмированную рыбу в хорошем физиологическом состоянии, отобранную по принципу аналогов. Перед экспериментом ее выдерживали в условиях аквариальной в

течение 10-15 суток для адаптации к новым условиям. Постоянное количество кислорода в воде поддерживали путем ее аэрации, температуру в аквариальной - кондиционированием воздуха, температура воды - 18-20°C. Рыб кормили живыми бокоплавами.

Опыты ставили в эмалированных ваннах емкостью 150 и 400 литров. В воду в нужные сроки вносили необходимое количество токсикантов, поддержание постоянной концентрации которых осуществляли путем регулярной смены токсических растворов в соответствии с константой распада токсиканта. Контрольными были опыты на таких же рыбах, содержащихся в аналогичных условиях, но без добавления токсиканта. В каждой временной точке анализировали пробы 4 (осетр) - 8 рыб, а в опытах с бычком-кругляком и молодь воблы ввиду малой навески мозга на каждый анализ приходилось брать 3-4 рыбы, количество анализов в этом случае 6-7. Все варианты опытов проведены в трех повторностях. Длительность экспериментов составляла от 15 до 30 суток, причем отбор проб производили в разные сроки экспозиции. В качестве токсикантов использованы соединения органической (линурон, нефть, нафтенат натрия) и неорганической (ртуть, стронций, иод, бром) природы в широком диапазоне концентраций.

Для получения гомогенатов мозга подопытных рыб быстро декапитировали, голову замораживали жидким азотом для прекращения ферментативных процессов в нервной ткани, извлеченный головной мозг растирали в ступке и экстрагировали 5% трихлоруксусной кислотой. После центрифугирования в надосадочной жидкости производили определение содержания аммиака, глутамина, свободных аминокислот, в осадке после его обезвоживания и очистки от липидов - количество амидных групп белков.

Определение содержания аммиака и глутамина производили фенолгипохлоритным методом Р.Броуна, Г.Дуда (Brown, Duda et al,

1957) в сосудах Зелигсона (Seligson, Seligson, 1951), в один отсек которых помещали 0,3 мл безбелкового центрифугата, в другой - 0,3 мл 50% раствора карбоната калия. Флакончик, находящийся в горизонтальном положении, осторожно закрывали пробкой со стеклянной палочкой, смоченной 1н серной кислотой, переворачивали в вертикальное положение и оставляли на 18-20 часов для извлечения аммиака из центрифугата мозга. По истечении времени стеклянные стержни сливали 5 мл дистиллированной воды, не содержащей аммиак (для чего ее перегоняли над ортофосфорной кислотой), и добавляли реактивы в следующей последовательности: 1 мл фенол-фосфата, 1 мл нитропруссид натрия, 1 мл карбоната натрия, 1 мл гипохлорита натрия. Содержимое пробирок помещали в кипящую водяную баню на 5 минут и после охлаждения производили определение оптической плотности растворов на ФЭК-60 при длине волны 575-630 мкм. Полученную величину экстинкции переводили в количество азота аммиака по калибровочной кривой, полученной со стандартными растворами сернокислого аммония.

Определение содержания глутамина в безбелковых экстрактах мозга производили после 10-минутного гидролиза в 2н серной кислоте при 100°C, применяя вышеописанную фенол-гипохлоритную методику. Количество аммиака глутамина вычисляли по разности между содержанием аммиака в гидролизате и свободным аммиаком.

Определение содержания аминокислот производили методом электрофореза на бумаге (Dose, 1957). Безбелковый экстракт освобождали от ТХУ, дважды извлекая ее эфиром, 1 мл упаривали досуха на водяной бане и растворяли в 0,2 мл воды. 0,02 мл раствора наносили на полоски хроматографической бумаги, смоченные пиридинацетатным буфером (рН 5,4), которые помещали в камеру для электрофореза при напряжении 100 в/см и силе тока 1,5 мА/см на 2,5-3 часа. Форегрaммы фиксировали в сушильном

шкафу при 90°C, проявляли 0,2% ацетоновым раствором нингидрина и высушивали при 100–110°C в течение 15 минут. После элирования 5 мл 10% раствора ацетона производили количественное определение содержания аминокислот на ФЭК-60 при длине волны 540–575 мкм. Стандартные кривые строили по фореграммам растворов определенных концентраций глутаминовой, гамма-аминомасляной и аспарагиновой кислот.

Определение содержания амидных групп производили в белках мозга, отмытых рядом органических растворителей (для обезжиривания и очистки от липидов) в следующей последовательности: 5% раствором трихлоруксусной кислоты, ацетоном, хлороформ-метаноловой смесью, этиловым спиртом, спиртово-эфирной смесью, эфиром. Полученные белки высушивали на воздухе в течение суток и растирали в ступке, в таком состоянии их можно хранить на холоде в течение месяца.

Для количественного определения амидных групп проводили гидролиз белков с 1н серной кислотой. После 10-минутного и 2-часового гидролиза и центрифугирования отбирали по 0,3 мл центрифугата в сосудики Зелитсона и, применяя фенол-гипохлоритную методику, определяли освободившийся аммиак. По азоту аммиака, отщепившегося после 10-минутного гидролиза, находили азот лабильных амидных групп, разность же между азотом аммиака 2-часового и 10-минутного гидролиза даст азот прочносвязанных амидных групп (Гершеневич, Кричевская, 1980).

Все полученные данные подвергнуты вариационно-статистической обработке по методу малой выборки (Шевченко и др, 1970, Кокунин, 1975, Плохинский, 1978, Лакин, 1980). Определяли: среднее арифметическое $\bar{M}$, среднюю квадратическую ошибку среднего арифметического m , среднее квадратическое отклонение σ , коэффициент вариации V , достоверность различия P .

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ

В норме содержание азотистых метаболитов в головном мозге изученных видов рыб колеблется в довольно широких пределах. Наиболее существенные различия обнаружены между костистыми (вобла, бычок-кругляк) и хрящевыми ганоидами (осетр). Так, концентрация глутамина в мозговой ткани осетра меньше, чем у костистых, а содержание других показателей азотистого обмена (аминокислоты, амидные группы белков), напротив, у хрящевых ганоидов значительно выше, чем у костистых. У всех видов рыб концентрация глутаминовой кислоты значительно превышает количество остальных аминокислот.

Влияние металлов на рыб. Безвредная концентрация двухлористой ртути по параметру выживаемости в 30-суточных опытах составила: для половозрелой воблы и бычка-кругляка 0,02, а для молодежи воблы и осетра 0,01 мг/л. По данным же биохимических исследований последняя концентрация как и вдвое меньшая (0,005 мг/л) приводит к серьезным нарушениям азотистого обмена головного мозга исследованных рыб. Так, ртутная интоксикация вызывает значительное накопление в мозговой ткани осетра свободного аммиака, содержание которого в отдельные сроки опыта в 3–4 раза превышает контрольный уровень. Одновременно отмечено снижение уровня глутамина, глутаминовой и гамма-аминомасляной кислот, но в ходе эксперимента содержание аминокислот возрастает, приближаясь к контрольным значениям. Сумма амидных групп белков мозга осетра существенно не изменяется при ртутной интоксикации, но изменяется соотношение лабильных и прочносвязанных амидных групп – количество первых несколько снижается, вторых – возрастает.

В головном мозге костистых рыб (вобла, бычок-кругляк), содержащихся в растворах ртути, также отмечается усиление распада глутамина, следствием чего является накопление свободного амми-

ака и глутаминовой кислоты. У обоих видов рыб обнаружено снижение уровня ГАМК и возрастание амидированности белков мозга. Во все сроки исследования отмечено достоверное различие с контролем почти всех изученных показателей азотистого обмена головного мозга подопытных рыб.

Проведенный для выяснения роли возрастного фактора у рыб при ртутной интоксикации эксперимент с молодью воблы не выявил принципиальных различий в азотистом обмене рыб обоих возрастных групп, некоторые отличия имеются лишь в степени проявления токсического эффекта: молодь оказалась менее чувствительной к воздействию ртути. У всех подопытных рыб отмечено снижение уровня ГАМК в головном мозге, что свидетельствует о преобладании процессов возбуждения в нервной ткани, поскольку данная аминокислота является нейромедиатором торможения.

В целом можно отметить, что исследованные концентрации ртути вызывают значительные нарушения нормального течения азотистого обмена головного мозга рыб, который и к концу эксперимента не нормализуется за исключением отдельных показателей.

В 30-суточных экспериментах испытывалось влияние стронция в диапазоне концентраций от 10 до 50 мг/л на показатели азотистого обмена осетра и воблы. У обоих видов рыб отмечено накопление свободного аммиака в ткани головного мозга, снижение содержания глутамина и ГАМК. Как и при ртутной интоксикации у осетра наблюдается снижение количества глутаминовой кислоты, у воблы – возрастание, которое, однако, к концу эксперимента нормализуется. Наиболее значительные нарушения азотистого обмена обнаружены у рыб при воздействии максимальных концентраций стронция: в их головном мозге содержится вдвое большее количество аммиака и вдвое меньшее – глутамина по сравнению с контрольными рыбами.

Осетр оказался резистентнее к данному токсиканту по сравне-

нию с воблой, у него достоверное отклонение изученных показателей на 30 суток опыта обнаруживается лишь при максимальной концентрации – 50 мг/л, в то время как у воблы аналогичный эффект отмечен при 25 мг/л. Минимальная из исследованных концентраций (10 мг/л) в течение всего эксперимента не оказывает влияния на азотистый обмен мозга обоих видов рыб.

Влияние галогенов на рыб. В отличие от других токсикантов иод даже в больших концентрациях не вызывает существенного снижения выживаемости подопытных рыб в первые 10 суток опыта, что, очевидно, объясняется способностью организма регулировать поступление иода до определенной концентрации, а избыток вывести через почки. В хронических экспериментах достоверного снижения выживаемости не отмечается у исследованных видов рыб в концентрациях до 6,0 мг/л, а 100% гибель бычка-кругляка и воблы вызывает концентрация 18 мг/л, осетра – 10 мг/л.

Эксперименты по влиянию иода в концентрациях от 0,5 до 5,0 мг/л на азотистый обмен головного мозга воблы выявили значительное накопление свободного аммиака и снижение глутамина, но на 30 суток опыта у рыб из всех концентраций токсиканта за исключением максимальной обнаружена нормализация нарушенных тестов. Одновременно отмечено возрастание количества исследованных аминокислот у рыб в начале эксперимента, но уже на 15 суток содержание глутаминовой кислоты приближается к контрольным значениям, а гамма-аминомасляной – достоверно понижено (на 23% при концентрации 5,0 мг/л). Интоксикация иодом приводит к снижению количества лабильных амидных групп в белках головного мозга воблы и возрастанию прочносвязанных, причем общая амидированность несколько увеличивается.

Нарушения обменных процессов в нервной ткани осетра при воздействии иода в аналогичных концентрациях не столь значи-

тельными: несколько повышено содержание аммиака, проявляется тенденция к возрастанию количества глутаминовой кислоты, уровень ГАМК у рыб в начальные сроки экспозиции повышен, в конце – снижен по сравнению с контрольными. Количество глутамина в ходе всего эксперимента держится на уровне контроля. Общая амидированность белков головного мозга осетра, в отличие от воблы, снижена.

Таким образом, из исследованных концентраций иода лишь максимальная 5,0 мг/л вызывает необратимые нарушения азотистого обмена мозга исследованных рыб, при меньших концентрациях наблюдаемые в ходе эксперимента у рыб отклонения на 30 сутки нормализуются ($p > 0,05$).

При хроническом воздействии брома (60 суток) на рыб достоверное различие в выживаемости с контролем отмечалось лишь при концентрациях более 50 мг/л, а 50% гибель особей воблы, бычка-кругляка и осетра наблюдалась в растворах 140, 158, 110 мг/л, 100% – в 220, 230, 300 мг/л соответственно.

Анализ воздействия брома в диапазоне концентраций от 7,0 до 30,0 мг/л на биохимические показатели осетра и воблы выявил картину нарушений азотистого обмена, в основном сходную с иодной интоксикацией рыб. Следует отметить большую резистентность осетра к действию брома, так как нарушения у него отмечаются при концентрации токсиканта 30,0 мг/л, в то время как у воблы уже в 15 мг/л.

Влияние линурона на рыб. Пороговая величина данного препарата по критерию выживаемости для осетра и воблы при кратковременном контакте превышает 10,0 мг/л, а при хроническом воздействии – 1,0 мг/л, но нарушение обменных процессов обнаруживается у них и при меньших уровнях содержания токсиканта в среде. Так, воздействие линурона в концентрации 0,5 мг/л на осетра

привело к возрастанию уровня аммиака в его головном мозге (на 15 сутки опыта – на 55%) и глутаминовой кислоты за счет распада глутамина, содержание которого снижается. Уровень ГАМК в ходе всего эксперимента сопоставим с контролем, амидированность белков мозга на 15–30 сутки опыта несколько увеличивается. Минимальная из исследованных концентраций линурона 0,05 мг/л не вызывает достоверных изменений изученных показателей азотистого обмена мозга осетра.

Состояние азотистого обмена головного мозга воблы при воздействии линурона в диапазоне концентраций от 0,1 до 1,0 мг/л свидетельствует о том, что как и в опытах с осетром, данный токсикант оказывает достоверное воздействие начиная с 0,5 мг/л. Наиболее значительные отклонения выявлены у рыб из растворов гербицида максимальной концентрации: на 20 сутки опыта в их головном мозге обнаружено повышенное содержание аммиака и глутаминовой кислоты – на 36 и 43% соответственно, и несколько сниженное – глутамина. Изменяется и соотношение лабильных и прочносвязанных амидных групп белков – количество первых снижается, вторых – возрастает почти в 2 раза, за счет чего увеличивается и общая амидированность белков мозга.

Влияние нефти и нафтената натрия на рыб. При оценке биологических последствий нефтяного загрязнения морей особое внимание уделяют растворенным компонентам нефти, составляющим не более 0,01% от количества введенной в морскую среду сырой нефти, но обладающим максимальной токсичностью (Назманиди, Ковалева, 1972). Осетр оказался резистентнее к нефтяному токсикозу: он выдерживал в течение 10 суток и более контакт с растворенными фракциями нефти при концентрации 30 мг/л, в то время, как для воблы токсичны и 10 мг/л.

Результаты экспериментов по влиянию вытяжки нефти (0,01–

0,1 мг/л) на азотистый обмен головного мозга воблы свидетельствует о нарушении его при воздействии всех концентраций за исключением минимальной, которая была установлена в качестве безвредной и для гидробионтов Черного моря (Котов, 1976, Мазманди, 1977). При концентрации 0,1 мг/л нефти на 10 суток опыта у рыб отмечено возрастание содержания аммиака на 60%, аминокислот — на 60–75%, снижение глутамина на 25% по сравнению с контролем. Возрастает амидированность белков мозга за счет увеличения количества прочносвязанных амидных групп.

Так как результаты оценки токсичности вытяжки нефти для осетра по параметру выживаемости выявили его высокую токсикорезистентность, испытание реакции обменных процессов у этого вида рыб проводили при значительно более высоких концентрациях растворенной нефти (1–30 мг/л). Прослеживается четкая зависимость ^{от} степени токсического эффекта величины токсического воздействия. Наибольшие отклонения обнаружены у рыб из раствора 30 мг/л: возрастание содержания аммиака на 70% и снижение глутамина, глутаминовой кислоты, лабильных и прочносвязанных амидных групп на 50, 43, 50, 43% соответственно.

Исходя из того, что при аварийных ситуациях сырая нефть, попавшая в водную среду, может выступать в качестве главного токсического агента, нами были проведены некоторые сравнительные исследования. Результаты их свидетельствуют о том, что динамика содержания азотистых метаболитов в головном мозге осетра при воздействии сырой нефти (10–40 мл/л) в целом аналогична таковой при воздействии растворенных нефтепродуктов. Максимальные нарушения азотистого обмена обнаружены у подопытных рыб при воздействии 40 мл/л нефти: количество аммиака и ГАМК у них увеличено на 67 и 27%, а глутамина, глутаминовой кислоты, лабильных и прочносвязанных амидных групп белков снижено на 30,

30, 34 и 21% соответственно.

Как и другие интоксикации, отравление рыб нефтью приводит к распаду глутамина с освобождением аммиака, но накопление глутаминовой кислоты при этом отмечается лишь в головном мозге воблы, у осетра она очевидно подвергается окислительному декарбоксимированию с образованием ГАМК. По нашим данным, в продукции аммиака при нефтяном токсикозе принимает участие не только глутамин, но и амидные группы белков мозга. Нефть у обоих видов рыб вызывает накопление гамма-аминомасляной кислоты, что должно привести к преобладанию процессов торможения в нервной ткани.

При воздействии нафтената натрия (0,5–5,0 мг/л) на осетра в 30-суточном эксперименте достоверные изменения в азотистом обмене обнаружены у рыб при концентрации токсиканта 5,0 мг/л, более низкие не влияют на изученные показатели.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Устойчивость разных по уровню организации видов рыб к токсикантам. Для выявления особенностей реакции рыб на действие одного токсиканта, нами проведено сопоставление результатов опытов по действию ртути в концентрации 0,01 мг/л на азотистый обмен головного мозга осетра, воблы, бычка-кругляка. Данный токсикант у всех исследованных рыб вызывает усиление аммиакообразования (рис.1), снижение количества глутамина и ГАМК, что свидетельствует о преобладании процессов возбуждения в нервной ткани рыб. Это подтверждается и нашими наблюдениями за подопытными рыбами, которые при ртутной интоксикации очень возбуждены.

Динамика остальных показателей азотистого обмена неоднозначна у разных видов рыб. Так, содержание глутаминовой кислоты (рис.1) и лабильных амидных групп в головном мозге хрящевых гаганоидов при действии ртути снижается, а у костистых — увеличива-

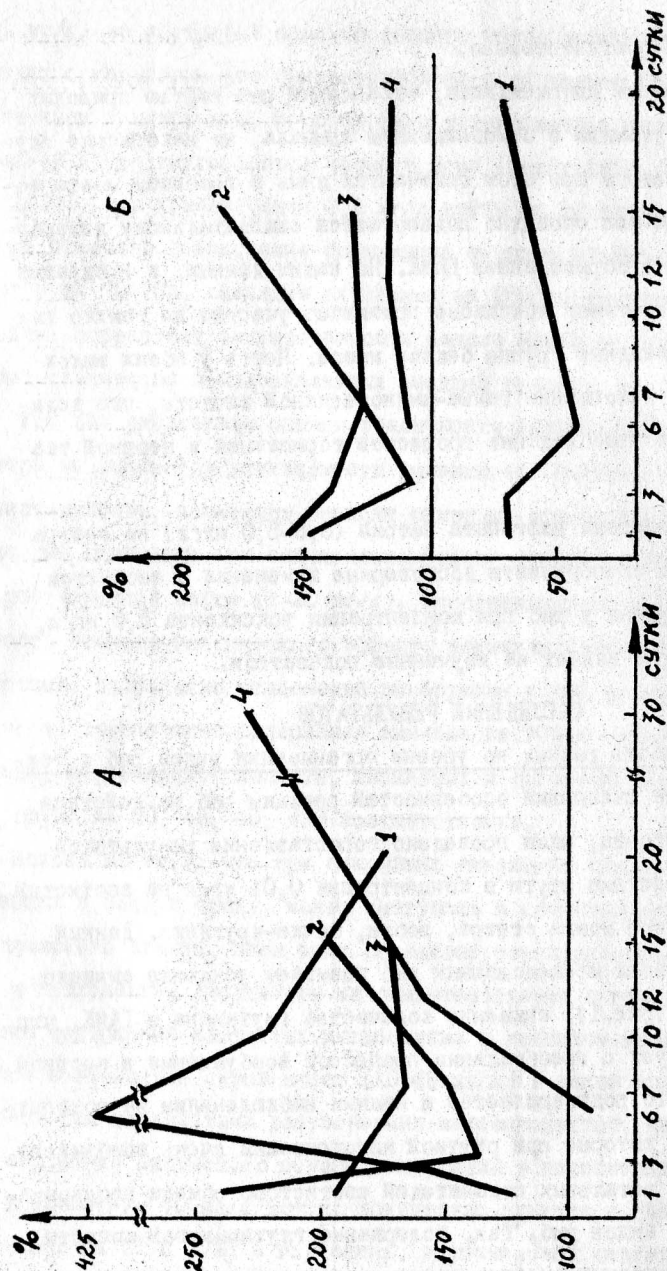


Рис.1. Динамика содержания аминокислот (А) и глутаминовой кислоты (Б) /в % к контролю/ в головном мозге рыб (1-осетр, 2-вобла 3+, 3-вобла молод., 4-бычок-кругляк) при действии ртути 0,01 мг/л.

ется. Общая амидированность белков нервной ткани осетра держится на уровне контроля в ходе эксперимента, у воблы возрастает.

Аналогичным образом проведено сопоставление результатов, полученных при воздействии линурона в концентрации 0,5 мг/л на азотистый обмен головного мозга разных видов рыб, а также иода (5,0 мг/л), брома (30,0 мг/л), которое показало, что при интоксикациях могут проявляться видовые особенности рыб, обусловленные разным уровнем организации. Так в мозге костистых рыб (вобла, бычок-кругляк) отмечено накопление глутаминовой кислоты при любых воздействиях независимо от природы токсического агента. У хрящевых ганойдов (осетр) количество ее либо снижается (при действии ртути, стронция, нефти), либо не изменяется (другие интоксикации). Изменение амидированности белков мозга также зависит скорее от филогенетических особенностей рыб: у воблы она возрастает при действии различных токсикантов в отличие от осетра, у которого либо снижается (иод, нефть), либо держится на уровне контроля (ртуть, линурон).

Влияние на рыб токсикантов разной химической природы. Показано, что динамика некоторых показателей азотистого обмена головного мозга одного вида рыб зависит от природы токсиканта, причем наиболее четко эта зависимость проявляется в отношении ГАМК. Ртуть и стронций снижают ее количество в мозге как осетра, так и воблы во все периоды исследования, а при действии галогенов отмечается чередование периодов повышения и снижения ее в ходе экспериментов. Токсиканты же органической природы (нефть, линурон) приводят к накоплению гамма-аминомасляной кислоты в нервной ткани рыб. Так как данная аминокислота является нейромедиатором торможения, можно сделать заключение о преобладании процессов возбуждения в ЦНС рыб при действии ядов неорганической, и торможения - ядов органической природы. Харак-

тер интоксикации оказывает влияние и на степень амидированности белков головного мозга рыб.

Другие показатели азотистого обмена головного мозга изменяются однозначно при действии на рыб различных токсикантов: содержание аммиака во всех случаях возрастает, глутамина — снижается, количество же глутаминовой кислоты в головном мозге во всем при всех интоксикациях возрастает, осетра — снижается.

В целом, сопоставление полученных данных для выяснения роли химической природы токсиканта при действии на один вид рыб позволяет сделать заключение, что изменение некоторых показателей азотистого обмена головного мозга как осетра, так и воблы, зависит от природы токсического агента.

Специфические и неспецифические изменения у рыб. Выполненные нами обширные исследования по влиянию различных токсических веществ на некоторые виды рыб Каспия позволили установить, что изменения одних показателей азотистого обмена однозначны и не зависят от вида рыб и характера интоксикации, других же — имеют равную направленность. Усиление аммиакообразования в головном мозге теплокровных животных при разнообразных воздействиях позволило Н.В.Козлову (1971) признать накопление свободного аммиака в их нервной ткани "неспецифическим патофизиологическим процессом, имеющим место при самых различных патологических состояниях". Наши данные об усилении аммиакообразования в головном мозге рыб при интоксикации ртутью, стронцием, нефтью, линуроном, иодом, бромом, нафтенатом натрия позволяют проецировать этот вывод и на рыб. Очевидно, неспецифическим процессом следует считать и распад глутамина, снижение содержания которого также не зависело от вида рыб и характера интоксикации.

Изменения остальных показателей азотистого обмена головного мозга рыб можно считать специфическими. Как уже отмечалось

выше, динамика содержания ГАМК зависит в основном от химической природы токсиканта, глутаминовой кислоты и амидированности белков мозга — от уровня организации рыб, хотя в пределах одного вида имеется зависимость и от характера интоксикации.

Адаптация рыб при интоксикациях. Живой организм — лабильная система, которая и в норме способна изменяться в определенных пределах, приспосабливаясь к биотическим и абиотическим факторам среды обитания. В наших экспериментах даже минимальные концентрации исследованных токсикантов приводят к некоторым изменениям азотистого обмена головного мозга рыб, но в ходе экспозиции измененные показатели полностью нормализуются или приближаются к контрольным значениям. В этом случае мы считаем, что организм адаптируется к небольшим количествам токсических веществ, сохраняется его физиолого-биохимическая норма, лежащая в основе биологической.

Максимальные же концентрации токсикантов вызывают у рыб изменения, которые и к концу экспериментов не нормализуются или еще более отдаляются от контрольных значений. Эти изменения свидетельствуют о глубоких необратимых нарушениях обмена веществ и могут привести в дальнейшем к гибели рыб.

Анализ экспериментальных данных свидетельствует о том, что содержание ГАМК в мозге рыб при различных интоксикациях чаще других показателей к концу эксперимента нормализуется. Этот факт является подтверждением наличия в мозге мощных гомеостатических механизмов, стремящихся вернуть измененный уровень ГАМК к норме.

На основании литературных сведений (Лукьяненко, 1967, 1983) и собственных данных можно заключить, что адаптация рыб к ядам органического ряда более вероятна, чем неорганического.

Показатели азотистого обмена – индикаторы интоксикации. Азотистый обмен головного мозга животных очень лабилен, но чувствительность отдельных показателей его неоднозначна. Такие показатели, как аммиак, глутаминовая кислота, ГАМК, амидные группы белков мозга изменяются при минимальных токсических воздействиях, когда внешние симптомы отравления не заметны, и могут служить в качестве биохимических индикаторов интоксикации.

Достоверные нарушения азотистого обмена головного мозга рыб выявлены в концентрациях токсикантов, во много раз меньших, чем безвредные концентрации, установленные в хронических экспериментах по выживаемости (табл.1).

Таблица 1
Чувствительность показателей азотистого обмена
при интоксикациях

Токсикант	Вид рыб	Безвредная концентрация по параметру выживаемости (ЛК ₀), мг/л	Минимальная концентрация, вызывающая токсический эффект, мг/л
Нефть (вытяжка)	осетр	30,0	1,0
	вобла	10,0	0,05
Ртуть	осетр	0,01	0,005
	вобла	0,02	0,005
	бычок-кругляк	0,02	0,001
Иод	вобла	6,0	1,0
Бром	осетр	63,0	30,0
	вобла	70,0	15,0
Линурон	осетр	1,0	0,5
	вобла	1,0	0,5
Стронций	осетр	90,0	50,0
	вобла	85,0	25,0

В опытах с линуроном обнаружено наименьшее расхождение между безвредной концентрацией по параметру выживаемости и минимальной концентрацией, оказывающей токсический эффект – первая величина больше второй в 2 раза. Для стронция это различие составляет 2-3 раза, для ртути и галогенов – 4-6 раз. В случае же нефтяного токсикоза рыбы выживают в растворах нефти на 1-2 порядка превышающих концентрации, вызывающие достоверные изменения показателей азотистого обмена.

Высокая чувствительность изученных тестов позволила использовать их при разработке предельно-допустимых концентраций токсических веществ в морской среде.

ВЫВОДЫ

1. Установлены существенные различия между хрящевыми ганоидами (русский осетр) и костистыми рыбами (вобла, бычок-кругляк), отличающимися друг от друга уровнем организации и экологией, по основным показателям азотистого обмена головного мозга (содержание аммиака, глутамина, свободных аминокислот, лабильных и прочносвязанных амидных групп белков) в норме. Количество глутамина в головном мозге хрящевых ганоидов значительно ниже, а аминокислот и амидных групп белков выше, чем у костистых рыб. У всех видов рыб отмечены индивидуальные колебания основных показателей азотистого обмена головного мозга.

11. Обнаружена высокая лабильность важнейших показателей азотистого обмена головного мозга рыб под влиянием ядов органического (растворенная и сырая нефть, нафтенат натрия, линурон) и неорганического (ртуть, стронций, иод, бром) ряда.

111. Выявлены особенности реакции различных по уровню организации рыб (хрящевые ганоиды и костистые) на один и тот же токсикант, проявляющиеся в противоположных по направленности изменениях некоторых показателей азотистого обмена, в частности

сти, количества глутаминовой кислоты и амидированности бабков мозга.

1У. Все исследованные токсиканты оказывают существенное влияние на различные показатели азотистого обмена головного мозга рыб, причем характер и выраженность наступающих изменений определяется природой, концентрацией и продолжительностью действия токсиканта.

У. Токсиканты органической природы вызывают накопление гамма-аминомасляной кислоты в мозге, а неорганической – либо снижение (ртуть, стронций), либо чередование возрастания и снижения (иод, бром) у одного и того же вида рыб. Выявленные особенности динамики ГАМК под влиянием различных токсикантов хорошо согласуются с физиологическим состоянием рыб. Снижение содержания ГАМК в головном мозге рыб, отравленных ртутью и стронцием, сопровождается возбуждением и повышенной двигательной активностью, возрастание же ее количества у рыб из растворов линурона и нефти – общим угнетением и понижением двигательной активности.

У1. Изменения количества аммиака и глутамина в мозге отравленных рыб носят неспецифический характер, поскольку повышение концентрации первого из показателей азотистого обмена и снижение второго отмечается в мозговой ткани рыб независимо от природы токсиканта. Остальные показатели азотистого обмена головного мозга могут служить специфическими индикаторами отравления тем или иным токсикантом.

У11. Высокие концентрации исследованных токсикантов даже при краткосрочном воздействии вызывают необратимые нарушения азотистого обмена головного мозга рыб. Минимальные концентрации токсикантов (за исключением ртути) не оказывают влияния на изученные биохимические показатели, к ним организм приспосабливается. Адаптация к ядам органического ряда более вероятна, чем

неорганического.

У111. Важнейшие показатели азотистого обмена головного мозга рыб являются чувствительными биохимическими тестами отравления их различными токсикантами. Достоверные изменения этих показателей наступают при воздействии на рыб токсикантов в концентрациях, во много раз меньших, чем безвредные концентрации, установленные методом рыбной пробы, что позволило использовать их при разработке предельно-допустимых концентраций токсических веществ в морской среде.

Результаты проведенных нами исследований в совокупности с материалами лаборатории, полученными в опытах на других гидробионтах, легли в основу разработанных и утвержденных на Техсоветах "Главрыбвода" предельно-допустимых концентраций семи токсических веществ для морских вод: растворенная нефть – 0,01 мг/л, ртуть – 0,001 мг/л, линурон – 0,001 мг/л, иод – 0,2 мг/л, бром – 12,0 мг/л, стронций – 10,0 мг/л, нафтенат натрия – 0,15 мг/л.

По материалам диссертации опубликованы следующие работы:

1. Ахмедова Т.П. Влияние тяжелых металлов на азотистый обмен головного мозга рыб Каспия. Тез. докл. 3 Всесоюзной конференции "Экологическая физиология рыб", "Наукова думка", Киев, ч.1, 1976, с.41-43.
2. Дохолян В.К., Шлейфер Г.С., Ахмедова Т.П. Влияние загрязнения водной среды на физиолого-биохимические показатели рыб. Там же, с.69-70.
3. Ахмедова Т.П. Влияние ртути на систему аммиак-глутаминовая кислота-глутамин мозга рыб. Тез. докл. научно-практ. конференции молодых ученых Дагестана, Махачкала, 1977, с.120.
4. Дохолян В.К., Ахмедова Т.П. и др. Влияние тяжелых и переходных металлов на гидробионты Каспия. Тез. докл. Всесоюзного совещания "Проблемы охраны морской среды", Калининград, 1977,

с.97-100.

5. Дохолян В.К., Ахмедова Т.П. Влияние двухлористой ртути на некоторые биохимические показатели головного мозга, крови и печени вобли *Rutilus rutilus caspicus* Jak. "Вопросы ихтиологии" №1, 1978, с.177-180.

6. Ахмедова Т.П., Дохолян В.К. Влияние факторов среды на состояние азотистого обмена головного мозга рыб. Тез.докл.4 Всесоюзной конференции "Экологическая физиология и биохимия рыб", Астрахань, т.1, 1979, с.65-66.

7. Дохолян В.К., Шлейфер Г.С., Ахмедова Т.П., Магомедов А.К. Влияние растворенных нефтепродуктов на жизнедеятельность некоторых видов рыб Каспийского моря. "Вопросы ихтиологии" №4, 1980, с.733-738.

8. Дохолян В.К., Ахмедова Т.П., Ахмадов А.М., Шлейфер Г.С. Накопление ртути и влияние ее на рыб. "Вопросы ихтиологии" №3, 1981, с.537-546.

9. Ахмедова Т.П. Содержание свободных аминокислот в головном мозге рыб в условиях загрязнения среды обитания. Тез.докл.научно-практ.конф.молодых ученых Дагестана, Махачкала, 1981, с.11.

10. Ахмедова Т.П., Дохолян В.К. Азотистый обмен головного мозга рыб при действии галогенов. Тез.докл.5 Всесоюзной конференции "Экологическая физиология и биохимия рыб", "Наукова думка", Киев, ч.1, 1982, с.13-15.

11. Магомедов А.К., Ахмедова Т.П. Реакция рыб на присутствие в среде нефтяных кислот. Там же, с.102-103.

12. Дохолян В.К., Ахмедова Т.П. и др. Допустимые уровни содержания линурона в морских рыбохозяйственных водоемах. Информ. лист.Даг.ЦНТИП, 1983.

13. Дохолян В.К., Ахмедова Т.П. и др. Допустимые уровни содержания иода в рыбохозяйственных водоемах. То же, 1983.

14. Дохолян В.К., Ахмедова Т.П. и др. Разработка норматива допустимого содержания брома в морских водоемах. То же, 1983.

15. Дохолян В.К., Ахмедова Т.П. и др. Разработка предельно-допустимых уровней содержания (ПДК) нефтяных кислот в рыбохозяйственных водоемах. То же, 1983.

16. Ахмедова Т.П., Дохолян В.К. и др. Допустимые уровни содержания стронция в рыбохозяйственных водоемах. То же, 1984.

17. Дохолян В.К., Ахмедова Т.П. и др. Охрана экосистемы Каспия от поступления пластовых вод, образующихся при нефтегазодобыче. Тез.докл.8 научно-практ.конференции по охране природы, Махачкала, 1985, с.84-86.

Д. 55504

Объем - 1,5 п.л.

Подписано к печати 4/II-87г.

Формат 60x84 1/16

Заказ № 49

Тираж 100 экз.

Ротапринт ВНИРО

107140, Москва, Верхняя Красносельская, 17