

УДК 597-19(262.54+262.5) : [597-11+597-1.05+597-115]

ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ИХТИОФАУНЫ АЗОВО-ЧЕРНОМОРСКОГО БАССЕЙНА

© 2008 г. Г.Г. Корниенко, Н.Е. Бойко, С.Г. Сергеева, В.А. Дехта,
Т.В. Ложичевская, Л.В. Колесникова

Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства, Ростов-на-Дону 344002

Поступила в редакцию 24.09.2008 г.

Окончательный вариант получен 22.10.2008 г.

В статье приведены основные результаты исследований гидробионтов Азово-Черноморского бассейна отдела генетико-биохимического мониторинга АЗНИИРХ. Рассмотрены такие актуальные направления работ, как мониторинг физиологического состояния популяций основных промысловых объектов бассейна, морфо-функциональные исследования гистологической структуры тканей и органов рыб, изучение влияния загрязнения на организм рыб и их репродуктивное качество с использованием биомаркерных показателей, изучение механизмов формирования адаптивных способностей молоди осетровых рыб, исследования популяционно-генетических закономерностей аборигенных и интродуцированных видов рыб.

Исследования физиологического состояния и генетической структуры популяций основных промысловых объектов Азовского, а затем и Черного морей начались в Азовском НИИ рыбного хозяйства в 1963 г., когда Людмила Васильевна Баденко сформировала специализированную лабораторию. В настоящее время они проводятся в основном сотрудниками отдела генетико-биохимического мониторинга, созданного в 1986 г. на базе двух лабораторий: «Физиология рыб» (руководитель к.б.н. Л.В. Баденко) и «Генетика и селекция рыб» (руководитель к.б.н. А.С. Чихачев). С 1991 г. отделом руководит д.б.н., профессор Галина Гавриловна Корниенко. В состав отдела входит сектор биохимии гидробионтов.

Ежегодно сотрудники подразделения выпускают большое количество печатных работ, участвуют в международных и российских конференциях. Материалы исследований вошли в монографические тематические издания (Житенева и др., 1989; 1997; 2001; 2003; Корниенко и др., 1998; Гребневик *Mnemiosis*..., 2000; Среда..., 2001). За последние 10 лет в отделе были защищены диссертация на соискание ученой степени доктора наук – Н.Е. Бойко, три диссертации на соискание ученой степени кандидата наук – В.А. Дехта, С.Г. Сергеева и М.А. Махоткин.

В лаборатории физиологии рыб развивались направления, преимущественно связанные с необходимостью совершенствования биотехники заводского воспроизводства осетровых. В этот период исследовалась физиолого-биохимическая изменчивость осетровых рыб в условиях зарегулированного стока рек с целью оценки их пригодности для промышленного воспроизводства. Выявлялись резервы повышения эффективности использования производителей путем стимуляции созревания рыб различными гормональными препаратами. Изучалось влияние физиологического состояния самок белуги, осетра, севрюги на качество получаемой икры и жизнестойкость личинок и мальков. Были разработаны методы и определены критерии оценки жизнестойкости осетровой молоди, выращиваемой в разных условиях на рыбноводных заводах. Все разработки были

внедрены в производственную практику на рыбноводных предприятиях Дона и Кубани и отмечены медалью ВДНХ (Баденко и др., 1984; Сборник..., 1986).

Исследования лаборатории физиологии постепенно расширялись и охватывали все больший круг вопросов. Одно из направлений исследований касалось изучения новых видов, используемых в прудовой аквакультуре, в частности большеротого буффало, кутума, пиленгаса при формировании маточных стад в различных экологических условиях. Разработаны и использовались в прудовом рыбноводстве диагностические тесты для отбора наиболее продуктивных производителей белого и пестрого толстолобиков, карпа (Дорошева и др., 1991). Даны физиологически обоснованные рекомендации по совершенствованию биотехники разведения рыбы и шемаи.

Другое направление исследований включало изучение эколого-физиологических аспектов, связанных с динамикой численности важнейших азовских промысловых рыб: осетровые, судак, лещ, тарань, рыбец. Например, в период зимовки 1976-1977 гг. в Азовском море произошла массовая гибель осетровых рыб. Сотрудники лаборатории вместе с ихтиологами участвовали в комплексных морских зимних экспедициях по выявлению ее причин. Были проведены прямые эксперименты по изучению метаболизма осетра в моделируемых условиях зимовки, в ходе которых установлены биохимические закономерности влияния переохлажденной воды повышенной солености на зимующих рыб (Воловик и др., 1987).

В лаборатории генетики и селекции рыб разрабатывались селекционно-генетические аспекты совершенствования биотехники промышленного разведения гибридов осетровых – ценнейших объектов товарного рыбноводства. Были заложены физиолого-биохимические и генетические основы селекционной работы с межродовыми гибридами осетровых, изучены механизмы наследования признаков при отдаленной гибридизации видов с разным количеством хромосом. Установлено, что при межвидовом и внутривидовом скрещивании белки у осетровых наследуются кодоминантно, у гибридов происходит синтез белков обоих родителей, причем синтез собственных изозимов зародыша начинается со стадии гаструляции. Разработан и прошел производственные испытания метод подбора оптимальных вариантов скрещивания производителей осетровых рыб при формировании маточного стада, заложены основы племенной работы с осетровыми рыбами. В работе использовались новые методы биохимической генетики и физиологического анализа. Результатом исследования стали биологические нормативы, позволившие оптимизировать получение посадочного материала для товарного выращивания гибридов осетровых. Предложена биотехника получения молоди гибридов осетровых с измененной плоидностью (Чихачев, 1987, 1991).

В 80-е годы сотрудники отдела занимаются важнейшей рыбноводной проблемой – научным обеспечением создающихся в Ростовской области селекционно-племенных хозяйств. На Донском зональном рыбопитомнике формируется племенное стадо карпа, дается генетическая характеристика производителей и пород, ведется селекционная работа. Масштабно обследуется фонд производителей карпа и толстолобика на рыбноводных хозяйствах области. На основе изучения биохимического полиморфизма белков и наследования генетических маркеров, а также комплекса физиологических показателей у

растительноядных рыб Бессергеевского рыбопитомника предлагаются селекционные мероприятия по формированию маточного стада элитных производителей.

В 90-е годы в отделе успешно развивается генетико-биохимическое направление рыбохозяйственных исследований. Например, детальные исследования сравнительной динамики пуклеиновых кислот в гонадах и соматических клетках осетровых, а также в процессе раннего онтогенеза подтвердили кариологические представления о дупликации генома и полиплоидном происхождении некоторых видов осетровых. Были обнаружены и подробно описаны полиморфные варианты гемоглобина, трансферринов и альбуминов сыворотки, белков мускулатуры и хрусталика, изозимов лактат- и малакдегидрогеназы у четырех видов осетровых бассейна Азовского моря, изучены некоторые характеристики этих белков. Установлено, что по уровню полиморфизма белков и гетерозиготности осетровые не уступают костистым рыбам и высшим позвоночным. В природных популяциях и модельных экспериментах обнаружена селективная значимость некоторых полиморфных вариантов белков при экстремальных условиях. Путем скрещиваний доказана генетическая природа отмеченного полиморфизма белков, что подтверждается и распределением их аллоформ в природных популяциях, соответствующим закономерностям популяционной генетики. У русского осетра описан тетрасомический тип наследования. Исследования белкового полиморфизма были успешно использованы для мониторинга структуры популяций осетровых рыб, обитающих в бассейне Азовского моря.

На основе выполненных исследований был создан компьютерный банк данных динамики изменения частот аллелей по ряду белковых локусов в 30 последовательных генерациях осетра и севрюги. Анализ рядов последовательных генераций показал, что искусственное воспроизводство азовских осетровых существенно не изменило генетическую структуру их популяций. В этот период были разработаны некоторые теоретические основы системы мониторинга изменений структуры популяции осетровых рыб при комплексном антропогенном воздействии (Макаров и др., 1986). Исследованы проблемы формирования обонятельного импринтинга у молоди осетровых, обнаружена их очень высокая обонятельная чувствительность к химическим веществам. Объяснен механизм возникновения нарушений перестовой миграции у азовских осетровых, связанный с особенностями организации их промышленного воспроизводства на рыбоводных заводах Кубани (Корниенко и др., 1988; Бойко, Чихачев, 1993; Бойко, 1996). Изучены биохимические и морфологические механизмы развития патологии мышечной ткани у каспийских и азовских осетровых.

Важным направлением работ отдела стали исследования в области марикультуры:

- изучены генетико-биохимические параметры дальневосточной кефали-пилентаса при ее акклиматизации в Азово-Черноморский бассейн, черноморских кефалей сингиля и лобана, рекомендованных для пастбищного выращивания;
- проведены исследования генетической структуры поселений средиземноморской мидии в Азовском и Черном морях;
- исследовано влияние искусственных рифов на развитие азовских бычков.

На основе выполненных работ предложен комплекс методов биологического мониторинга объектов марикультуры в Азовском бассейне (Чихачев, 1991).

С 1987 г. в работах отдела широко развивается природоохранное направление, разрабатывается комплекс методов оценки генетической безопасности в водоемах, апробируются различные тест-системы и тест-объекты для контроля мутагенности и генотоксичности среды обитания гидробионтов (Чихачев и др., 1996). Сотрудники отдела участвуют в создании низкотемпературного генетического банка промысловых и редких видов рыб. В ходе работ по сохранению биоразнообразия анализируется таксономический состав фауны гидробионтов бассейна Азовского и Черного морей, выявляются редкие и исчезающие виды. Эти материалы легли в основу национального доклада России по сохранению биоразнообразия в бассейне Черного моря. А.С. Чихачев и В.П. Закутский подготовили гидробиологический и ихтиологический разделы «Красной книги Ростовской области» (Редкие..., 1996). Сотрудники отдела внесли большой вклад в разработку теоретических основ сохранения генофонда осетровых рыб и методов физиолого-биохимического мониторинга популяций промысловых рыб – осетровых, тарани, леща, судака. Была изучена и описана географическая и временная подразделенность популяций этих видов, даны научные рекомендации по их рациональной эксплуатации и воспроизводству.

С 1991 г. исследования отдела сосредоточены на изучении экологических, физиологических, биохимических и популяционно-генетических закономерностей, определяющих формирование ихтиопродуктивности водных экосистем Азово-Черноморского бассейна в современных экологических условиях. Особое внимание уделяется изучению реакций популяций промысловых рыб и водных беспозвоночных на антропогенное загрязнение экотопов их обитания. Полученные материалы позволяют связать данные химико-токсикологического мониторинга бассейна с оптимизацией параметров промысловой эксплуатации имеющихся рыбных запасов.

В процессе проведения гистологических и биохимических исследований воспроизводительной системы разных видов рыб изучены патологические нарушения, свидетельствующие о влиянии антропогенных факторов на разные этапы гаметогенеза, что позволяет обосновать прогноз репродуктивного состояния популяций рыб. На примере осетровых получена полная морфологическая картина особенностей дегенерации половых желез и значительных перестроек в обмене веществ в условиях нарушения миграционного поведения. Установлено, что резорбция трофических веществ икры наблюдается в течение 2-3 месяцев; скопления пигментов, как свидетельство прошедшей резорбции и неучастия рыб в воспроизводстве и нересте, сохраняются в яичнике более двух лет.

У самцов осетровых разрыхление, обильная гиперемия генеративной ткани, лизис половых клеток наблюдаются в течение 2-3 месяцев. По прошествии большого срока резорбированные семечники практически не отличаются от нормальных во II стадии зрелости. Это затрудняет диагностику прошедшей дегенерации и неучастия в нерестовой кампании самцов по пробам, собранным в море в другие сезоны года. Знание этапов резорбции яичников и семенников позволяет определить количество рыб, обитающих в море, пропустивших нерест в текущем, а для самок – и в предыдущем году. Глубина изменений гонад свидетельствует о том, что адаптивно обусловленный процесс резорбции, при отсутствии условий для нереста, не безвреден для физиологического состояния рыб и их повторного созревания.

Ежегодный мониторинг функционального состояния репродуктивной системы позволил выявить различные типы нарушений процессов развития гонад разных видов рыб как следствие неблагоприятного воздействия окружающей среды. Так, у осетровых отмечены:

- задержка в развитии гонад на I-II стадии зрелости в возрасте 9-13 лет у 7% самок осетра;
- развитие кист и выростов на генеративной ткани у 1-3% взрослых самок;
- необратимое жировое перерождение яичников в 16-20 лет;
- гермафродитизм у 4% половозрелой популяции осетра;
- асинхронность развития ооцитов на ястыке.

Большинство патологий состояния гонад, выявленных у осетровых в море, – прямое доказательство генотоксичного влияния среды обитания на развитие аномалий (Корниенко и др., 1998).

У самцов осетровых морфологические и функциональные изменения характеризуются гиперемией, кистообразным и жировым перерождением гонад.

В 1992-1996 гг. (период значительного антропогенного пресса) в море после окончания нерестового периода наблюдали значительное (в среднем 30% от нерестовой популяции) число осетров, резорбирующих половые клетки (Корниенко и др., 1998). В середине 90-х годов наблюдались патологии развития репродуктивной системы у судака. У 10 % самок яичники содержали толстые пучки соединительнотканых волокон, заполненных резорбирующими ооцитами. Рыбы с такими гонадами не отнерестились весной или выметали небольшую часть икры. Новая генерация ооцитов для данного времени года отставала в развитии, достигнув лишь фазы однослойного фолликула. Эти рыбы следующий нерест пропускали. Самки с описанными выше нарушениями встречались в весенний период в Таганрогском заливе. У самцов судака показано наличие начальных стадий патологии, связанной с соединительно-ткаными изменениями (локальное зарастание части ампул, деструкция коллагена стенок кровеносных сосудов). Эта патология непосредственно влияет на наблюдающееся в последнее время снижение массы зрелых гонад и плодовитости самцов, отмечаемые рыбоведами.

Таким образом, гистологические исследования гонад подтверждали неучастие в завершении нерестовой миграции и процессе воспроизводства 20-40% производителей осетра, 10% производителей судака, что значительно снижало пополнение популяций молодь и возможный объем промысловых уловов. Использование гистологических и биохимических методов исследования других органов и тканей позволяют наблюдать картину морфо-функциональных нарушений у части популяций разного вида рыб Азово-Черноморского бассейна, свидетельствующих о неблагоприятной экологической обстановке в разные периоды жизни. Это вселяет научно обоснованную тревогу за сохранность некоторых видов гидробионтов.

Многолетние морфо-функциональные исследования гистологической структуры тканей, органов, систем органов осетровых, судака, леща, тарани, пилепгаса показали, что многие из них имели значительные патологические изменения в репродуктивном комплексе, структуре жабр, почек, печени, крови – гиперплазию многослойного и дыхательного эпителия

в сочетании с деформацией ламелл и филаментов жабр, локальный гломерулонефрит туловищных почек, мышцы с признаками дистрофических изменений (судак), жировую и гидропическую дистрофию печени, отсутствие границ между красной и белой пульпой в селезенке, дегенерацию отдельных половых клеток, патологию клеток крови.

Патоморфологические нарушения приводят к изменениям доли репродуктивно полноценных рыб и темпа созревания, снижению плодовитости, нарушению обмена веществ. Знание морфологических нарушений позволяет прогнозировать репродуктивный потенциал популяций рыб.

В отделе были разработаны методы экотоксикологической оценки качества среды обитания гидробионтов. Биохимический мониторинг основных промысловых рыб позволил оценить негативное влияние антропогенного загрязнения водной экосистемы на их биопродуктивные качества. Так, условия обитания и нагула осетровых рыб в Азовском море в 1997-2003 гг., в отличие от 1990-1996 гг., были благоприятнее для репродукции рыб. Например, у осетровых в течение всех сезонов 2001 г. значения активности детоксикационных систем (микросомальные монооксигеназы печени) составляли по содержанию цитохрома P-450 не более 5 нМ/мг белка микросом, в то время как в предшествующий период его количество при созревании возрастало у самок в 2,5-3, а у самцов – в 3,5-5 раз, что подтверждается данными химико-аналитического определения поллютантов в тканях рыб (Дудкин, 2001).

Из всех видов рыб, исследованных по биохимическим показателям (осетровые, судак, камбала-калкан, чехонь, лещ, тарань, рыбец, шемая, сингиль, карп, белый и пестрый толстолобики), шиповник демонстрирует наибольшую устойчивость и высокую стабильность этих показателей в условиях обитания в Азовском море. Одновременно у шиповника отмечается стабильность репродуктивной функции. В основе этой стабильности лежат биохимические особенности, в частности высокая обеспеченность организма биологическими антиоксидантами при «спокойном» состоянии детоксикационных систем печени (Дудкин, 2001).

Используемая система методов позволяет выявлять разноуровневые эффекты действия загрязняющих веществ не только в местах локального обитания, но и вести долговременный мониторинг в целом по бассейну. Это дает возможность наблюдать тенденции изменения продуктивности водоемов при меняющихся уровнях загрязнения и, при необходимости, вносить соответствующие поправки в режим промыслового изъятия. Учет этих тенденций необходим и для создания долгосрочных программ развития рыбной отрасли на бассейне. Необходимо подчеркнуть, что все исследования выполняются в естественных популяциях рыб и выводы не являются результатом аппроксимации аквариальных токсикологических опытов на естественные водоемы.

Для изучения экотоксикологической обстановки Нижнего Дона, Таганрогского залива, некоторых прибрежных районов Азовского и Черного морей использованы методы оценки генотоксичности среды обитания, основанные на анализе воды, грунтов и тканей малоподвижных морских и пресноводных гидробионтов (Корниенко и др., 2001).

Применение методов комплексного морфометрического анализа показало его высокую эффективность для изучения структуры популяций ценных промысловых рыб. В

частности, с их помощью были определены результаты интродукции каспийской севрюги в Азовское море, были выявлены различия между ранней и поздней перестовыми формами леща. Этими методами, а также исследованиями белкового полиморфизма показана подразделяемость и клинальная изменчивость четырех групп азовской тарани. Выявлены элементы формирования популяционно-генетической структуры у шленгаса в Азовском море, возникающей в результате адаптации вида в новом ареале обитания, и проанализирована его миграция в Черное море. Полученные результаты по изучению популяционной генетики азовских рыб учитываются при планировании их промысла и промышленного выращивания.

Важное направление работ отдела связано с изучением механизмов формирования адаптивных способностей молоди осетровых, к которым относится и закладка особенностей миграционного поведения зрелых рыб. Показаны роль тиреоидных гормонов и кортизола в процессах, определяющих выживаемость молоди осетровых рыб при их выращивании, явление обонятельного импринтинга и формирование хоминга этих рыб (Бойко, 2002). Охарактеризовано влияние нарушений эндокринной системы и обмена половых стероидных гормонов на особенности миграционного поведения осетровых рыб и судака (Сергеева, 2001; Ложичевская и др., 2001).

Появление в Черном и Азовском морях нового желтелого вселенца гребневика *Mnemiopsis leidyi* отрицательно сказалось на продуктивности рыбных сообществ бассейна. В последующем в Черное море был занесен и другой гребневик *Beroe ovata* – специализированный хищник мнемипсиса и плевробрахии. В отделе были развернуты исследования по изучению метаболических особенностей гребневиков (дыхание, экскреция азота, солевая толерантность), их физиологических функций, связанных с процессами роста, питания, размножения, адаптивных реакций на изменение кислородного и температурного режимов, солености, условий голодания. Выполненные работы позволили понять трансформирующее влияние ежегодного развития популяции мнемипсиса в Азовском море на продукционно-деструкционные процессы и рыбные сообщества. Исследование физиологических и метаболических свойств берое показало его высокую эффективность для подавления локальных популяций мнемипсиса в водных экотопах с соленостью не ниже 9‰. В диапазоне солености 4,5-9‰, характерном для ряда прибрежных водоемов Азовского моря и благоприятном для развития популяций мнемипсиса, берое не может оказывать такого сдерживающего воздействия (Дудкин, Ложичевская, Мирзоян, 2001; Дудкин, Корниенко, Мирзоян, 2001).

В последние годы основные работы отдела связаны с мониторингом состояния популяций основных промысловых рыб, позволяющим определить трофическую обеспеченность популяций промысловых рыб, связанную с темпом роста, периодичностью и темпом созревания, влияние токсических факторов в биотопе обитания на популяции видов по метаболическим изменениям в органах жизнеобеспечения и репродукции, патоморфологии клеток крови. Результаты анализа трофической составляющей условий обитания и нагула популяций основных промысловых видов рыб на современном уровне их численности показывают, что в целом они адекватно обеспечены пищевыми ресурсами.

С 1998 г. была отмечена тенденция снижения негативного влияния антропогенного загрязнения на промысловые объекты по сравнению с 1980-1997 гг. Однако результаты исследований среды и биоты Нижнего Дона, Азовского и Черного морей показали, что

впервые за последние годы наместилось увеличение содержания большинства контролируемых токсикантов практически во всех элементах экосистемы Азово-Черноморского бассейна. Увеличение концентраций поллютантов может быть сигналом начала разрушения системы биологического самоочищения, сложившейся в последние годы. В исследуемых водосмах продолжают оставаться районы повышенной экологической опасности, содержание токсикантов в которых превышает предельно допустимые концентрации (ПДК) и средне-характерные концентрации (СХК) в десятки раз, причем загрязнение носит в основном комплексный характер. Несмотря на относительно невысокий средний уровень загрязнения среды обитания, снижения уровня накопления токсикантов в органах и тканях промысловых рыб не наблюдается, а у некоторых видов отмечено существенное увеличение их содержания. В связи с этим возросла значимость работ, проводимых в отделе, по изучению влияния загрязнения на организм рыб. Для возможно более раннего выявления нарушений в репродуктивной системе, определения вероятных причин увеличения или снижения численности видов проводится изучение роли антиоксидантов токоферола и ретинола (определяемых нами как репродуктивные биомаркеры) в процессах репродукции различных видов рыб, исследуются их возрастные, половые и сезонные особенности. Изучается связь между положением вида в трофической цепи и аккумуляцией прорепродукторов в тканях. Оценивается репродуктивный потенциал по содержанию этих важных репродуктивных биомаркеров в различных тканях исследуемых видов, ведется мониторинг изменений репродуктивного потенциала в связи с возрастающей антропогенной нагрузкой на экосистемы Азовского и Черного морей. Объектами исследования на протяжении длительного времени являются осетровые (осетр и севрюга) (в 2007-2008 гг. работы с осетровыми не проводились из-за резкого снижения численности этих ценных промысловых объектов), кефали (в основном, пилегас, а также лобан и сингиль), судак, тарань, камбала калкан, хамса, тюлька, в последние годы к списку исследуемых объектов добавились бычки 4 видов (в основном, кругляк), черноморско-азовская проходная сельдь, а также рыбец, чехонь, шемая, щука, карась и ряд черноморских видов: ставрида, барабуля, смарида, морской карась и др.

В качестве биомаркеров экотоксикологических условий обитания на рыбах в отделе используются методы оценки активности ферментов I и II фаз детоксикации ксенобиотиков. Показано, что у неполовозрелого осетра содержание цитохрома P-450 (CYP) в печени с нормальным состоянием гонад в течение сезона изменяется в пределах 2-4 нМоль/мг белка в печени с нормальным состоянием гонад в течение сезона изменяется в пределах 2-4 нМоль/мг белка с небольшим подъемом в летний период интенсивного нагула и наиболее высокой метаболической активностью, связанной с температурными условиями обитания. У всех особей с явными аномалиями состояния гонад содержание CYP в печени увеличено в 3-4 раза. Эти данные показывают, что в основе нарушений генеративных органов лежит токсическое воздействие ксенобиотиков, а индукция биомаркера - CYP в печени и развитие аномалий гонад связано общностью механизмов развития экологического заболевания (экотоксикоза). Исследования по характеристике состояния систем детоксикации у пилегаса в последние годы показали, что активность компонентов I фазы детоксикации была ниже по сравнению со среднепогодными значениями за период 1995-2005 гг., однако выше, чем у других азовских рыб. Содержание CYP составило $1,71 \pm 0,34$ нМоль/мг белка микросом печени, что в 6 раз выше, чем у осетра сопоставимой возрастной группы. Таким

образом, пиленгас входит в «группу риска» видов, испытывающих эффект индукции под воздействием экотоксикантов.

По результатам оценки физиологического состояния рыб с использованием биомаркерных показателей установлено, что уровень воздействия антропогенного загрязнения на биопродуктивные параметры осетровых рыб низкий, популяции хищных рыб (судак) стресс от антропогенного загрязнения испытывают в большей мере.

В целом использованный комплекс биомаркеров, отражающих влияние загрязнения среды обитания на репродуктивные качества рыб, характеризует акваторию Азовского моря в современный период как умеренно загрязненную. Видовая устойчивость рыб к загрязнению среды обитания наиболее высока у карася и пиленгаса, ниже и сопоставима у осетров, бычков, тарани, леща и еще ниже у хищных рыб (судака, калкана, щуки).

Особое внимание уделяется изучению пиленгаса, ставшего на фоне резкого снижения численности таких важных промысловых объектов, как осетровые рыбы, судак, лещ, одним из основных объектов лова в Азовском и Черном морях. Его успешная акклиматизация привела к патуризации вида в условиях Азово-Черноморского бассейна. С 1999 г. регулярно собирается массовый материал. Более высокая температура воды в относительно мелководном, хорошо прогреваемом Азовском море и богатая кормовая база с широким спектром питания обеспечили высокий темп роста и уровень накопления резервных веществ в тканях пиленгаса по сравнению с рыбами, завезенными в Северное Приазовье из пативного ареала в 80-х годах. В конце осеннего пагула концентрации белка и липидов в сыворотке крови, а также уровни жировых запасов в печени и мышцах азовского пиленгаса в 1,5-2 раза превышают показатели дальневосточного пиленгаса. Высокий темп роста и накопления энергопластических веществ у этого объекта в Азовском море сопровождаются его ускоренным (на 1-2 года) созреванием, уменьшением диапазона асинхронности диаметров зрелых ооцитов и, в основном, однопорционным икротетанием.

На основании проведенных исследований установлена размерно-возрастная, сезонная, годовая динамика физиологических параметров, половая специфика обмена веществ и закономерности созревания особей в популяции, сформировавшейся в Азово-Черноморском бассейне. Уровни энергопластических веществ в тканях пиленгаса в конце пагула по годам варьируют незначительно. В последние годы отмечена тенденция снижения накопления жира в теле рыб. В весенний период происходит активизация метаболических процессов и интенсивное созревание пиленгаса. Перест рыб в мелководных, быстро прогреваемых водоемах (например, Бейсугский лиман) происходит во второй половине мая, в Азовском море позже – в начале июня. Часть производителей ежегодно мигрирует из Азовского моря в Черное море через Керченский пролив. Сравнительный анализ функционального состояния производителей пиленгаса, проведенный в начале июня в Азовском море и в Керченском проливе выявил повышенные на 30-40% уровни биохимических компонентов сыворотки крови рыб из Керченского пролива. По-видимому, производители пиленгаса, отловленные в проливе, совершают более длительные и дальние нерестовые миграции в Черное море, чем особи, нерестящиеся в Азовском море, что требует повышенного расхода резервных веществ.

С 1996 г. в структуре печени пиленгаса отмечаются морфологические изменения, не наблюдаемые ранее. В последние четыре года процент рыб с морфопатологией стабилизировался. У 30-60% особей структура печени без изменений или с изменениями

адаптационного характера. У остальных рыб обнаружены признаки предпатологии или патологии, проявляющейся в расстройстве микроциркуляции, вакуолизации цитоплазмы, смещении ядер к периферии гепатоцитов и другие. Максимальное количество рыб с патологией печени, отмечено в Темрюкском заливе, который характеризуется значительной степенью комплексного загрязнения.

Ежегодно у 10-20% самок в Азовском и Черном морях встречается частичная резорбция зрелых ооцитов, что, по-видимому, является приспособительной реакцией, обеспечивающей нормальное развитие остальной икры и успешный перест рыб. У единичных самок с низким уровнем резервных веществ отмечается тотальная резорбция зрелых, иногда незрелых ооцитов, приводящая к пропуску нереста.

Направление исследований популяционно-генетической структуры пиленгаса обусловлено, прежде всего, его промысловой значимостью в Азово-Черноморском районе, а также рядом специфических проблем, возникших в результате успешной интродукции этого вида. В частности, важной задачей, с точки зрения оптимизации промысла, является определение статуса пиленгаса в отношении его популяционной принадлежности в Азовском и Черном морях. Что представляют собой эти скопления рыб – отдельные популяции, одну, по подразделенную, какие миграционные отношения существуют между ними, как все это влияет на воспроизводство пиленгаса в этих акваториях? Основа ответов на эти вопросы находится в понимании взаимодействия структурных компонентов популяции пиленгаса. В качестве методологического подхода для решения этих вопросов был избран системный фенотипический анализ по морфологическим признакам и популяционно-генетический анализ по белковым локусам. С целью определения принадлежности пиленгаса к популяциям Азовского и Черного моря была создана модель классификации выборок по многомерному комплексу морфологических признаков на основе дискриминантного анализа. Изучение выборок рыб из пяти районов (две выборки из Черного моря, две выборки из района Керченского пролива, одна выборка из Азовского моря) ведется по 22 морфометрическим индексам.

С генетической точки зрения интродукция пиленгаса представляет собой адаптацию к новым условиям окружающей среды. Совместно с институтом общей генетики (ИОГен РАН) исследовали уровень генетической дифференциации популяции пиленгаса в Азовском море в зависимости от экологических условий. Всего проанализировано 15 ферментных систем, контролируемых как минимум 20 генетическими локусами. Изучаемые азовские выборки значимо гетерогенны (различаются между собой) как по отдельным локусам, так и по всей совокупности локусов. Наблюдаемые различия частот аллелей и гетерозиготности между исследуемыми выборками могут быть следствием генетической адаптации пиленгаса в условиях Азовского моря. Соленость может быть вполне вероятным, прямым или косвенным, фактором отбора. Указанием на такую возможность служит то, что наибольшие генетические дистанции в группе азовских выборок отмечены в паре оз. Ханское – мыс Тузла, где значения солености различаются на 9-13‰. Меньшие генетические дистанции отмечены в двух других парах, для которых разница в солености значительно ниже, 5-7‰. Аналогичную зависимость наблюдали при исследовании иного набора локусов, контролирующих некоторые сывороточные и мышечные белки, в выборках из тех же экологических групп (Махоткин, Дехта, 2002).

В последние годы произошло резкое сокращение численности азовского судака, бывшего основным объектом промышленного лова в Азовском бассейне. Положение таково, что может возникнуть необходимость запрета промысла судака на всей акватории Азовского моря (Подойницын, 2005). Значительная разреженность стада, уменьшение численности старшевозрастных групп определили некоторое улучшение физиологического состояния популяции судака. Высокая трофическая обеспеченность обусловила хороший темп роста, созревание и подготовленность к зимовке и нерестовым миграциям. Во все периоды жизненного цикла самки и самцы судака характеризовались достаточно высоким уровнем оснащенности резервными веществами. Отмечаемое нами в последние годы повышенное содержание жира в мышцах и липопротеидов в сыворотке крови подтверждает значительное улучшение кормовых условий в водоеме. Исследования активности систем детоксикации ксенобиотиков у судака показали, что воздействие токсикации среды обитания на биологические характеристики судака в настоящее время достаточно слабое, в последние годы отмечены минимальные показатели за весь период аналогичных наблюдений с 1990 г. Однако, абсолютное содержание инактивированной формы CYP – питохрома P-420 и его количественное соотношение с CYP остается еще преобладающим, что может указывать на негативное воздействие тяжелых металлов в составе спектра загрязняющих веществ на метаболические параметры судака.

Также низкими остаются и величины аккумуляции токоферола и ретинола в печени особей нерестового фонда, что указывает на высокие траты этих липидных антиоксидантов в свободнорадикальных реакциях, сопровождающих процессы детоксикации ксенобиотиков. Вследствие этого и аккумуляция токоферола в икре судака снижена и не достигает оптимальных соотношений. Диапазон значений аккумулярованного в половых клетках (икринках) количества токоферола свидетельствует о возможности нестабильности в эмбриональный и личиночный периоды развития у судака и возможности высокой гибели в его раннем онтогенезе. По-видимому, современное состояние экотоксикологических условий в Азовском море еще не достигло значений, благоприятных для репродуктивной биологии в экологической нише хищных рыб, основным представителем которых в море является судак.

Из морфопатологических изменений крови у судака отмечены: гипохромазия эритроцитов, вакуолизация клеток и микроцитоз. Преобладают овальные тромбоциты. Это указывает на адаптационные процессы по восстановлению уровня гемоглобина в эритроцитах. Интенсивность эритропоэза в пределах нормы и представлена в основном базофильными клетками. В клетках белой крови патологии не обнаружено. Лейкоцитарная формула в норме. По гистологическим показателям печень 10% рыб с признаками патологии, 45% имеют гепатоциты с мелкими жировыми вакуолями, это адаптационные перестройки. У 35% печень с утолщением стенок сосудов и вакуольной дистрофией гепатоцитов, что определяется как предпатология.

В последнее десятилетие резкое сокращение объемов искусственного воспроизводства осетровых, наряду с усиленным их выловом вызвало почти полное исчезновение этих ценных видов. Нарастание объемов выпуска молоди, а также формирование культивируемых популяций осетровых рыб невозможно без совершенствования биотехнологических норм, позволяющих сократить потери при

выращивания. Важный раздел работ отдела связан с изучением приспособительных реакций личинок осетровых рыб, лежащих в основе их жизнестойкости (изменение показателей роста, показателей крови, поведения) на основе комплексного физиолого-биохимического анализа результатов гормонального и сенсорного воздействий. Данная работа защищена авторским свидетельством (Способ подрашивания..., 2005).

Таким образом, основными факторами снижения рыбопродуктивности Азовского моря остаются чрезмерное браконьерское изъятие и подрыв фонда производителей, низкое воспроизводство и незначительное пополнение моря молодь рыб, загрязнения водной среды. Выполненные в последние годы исследования по оценке физиологического состояния азовских промысловых рыб Азово-Черноморского бассейна, показали, что в современных условиях наблюдается сбалансированность процессов трат веществ на рост, миграционную активность и размножение рыб и процессов поступления и накопления запасных форм. Однако у изученных видов отмечаются единичные особи с различной степенью выраженности разноразмерных изменений в состоянии органов, их структуры, клеточного и биохимического состава, что является отклонением от нормы и указывает на наличие негативного воздействия со стороны факторов среды обитания. Наличие таких особей в популяциях в современный период позволяет говорить об относительно слабой степени воздействия. Наиболее чувствительным среди изученных видов является судак, у которого выявляется наиболее высокий уровень отклонений от нормы, а наиболее толерантным – пилетас, по некоторым показателям – сельдь, эти виды демонстрируют достаточно высокую стабильность гомеостаза в функциональных значениях нормы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Баденко Л.В., Дорошева Н.Г., Корниенко Г.Г., Чихачева В.П. Эколого-физиологические основы повышения эффективности заводского разведения азовских осетровых // Воспроизводство рыбных запасов Каспийского и Азовского морей. М., 1984. С. 88-101.

Бойко Н.Е. Обязательный импринтинг и влияние антропогенных факторов на поведение молоди осетра. Сб. научн. тр.: Основ. пробл. рыбного хоз-ва и охраны рыбохоз. водоемов Азовского бассейна. АЗНИИРХ. Ростов-на-Дону: Полиграф, 1996. С. 278-290.

Бойко Н.Е., Чихачев А.С. Обязательный импринтинг молоди осетровых // Журнал эволюционной физиологии и биохимии. 1993. Т. 29, С. 516-521.

Воловик С.П., Макаров Э.В., Баландина Л.Г. Генеральная схема управляемого осетрового хозяйства на Азовском бассейне и обоснование мероприятий, обеспечивающих реализацию биопродуктивного потенциала моря. Ростов-на-Дону: АЗНИИРХ, 1987. 68 с.

Гребневик *Mnemiopsis leidyi* (A. Agassiz) в Азовском и Черном морях: биология и последствия вселения / Под науч. ред. д.б.н., проф. С.П. Воловика, Ростов-на-Дону: БКИ, 2000. 500 с.

Дорошева Н.Г., Корниенко Г.Г., Ружинская Л.П., Рудницкая О.А., Ковальчук Л.И. Влияние функционального состояния на результаты искусственного воспроизводства азовского осетра в современный период // Тр. ВНИРО: Биол. основы индустриального осетроводства. М., 1991. С. 182-212.

Дудкин С.И. Экологическая физиология и биохимия Азово-Черноморских гидробионтов и проблемы рыбного хозяйства Краснодарского края. Сб. тр.: Экологические проблемы Кубани. Краснодар: КГАУ, 2001. №12. С. 189-194.

Дудкин С.И., Ложичевская Т.В., Мирзоян З.А. Метаболизм гребневика *Mnemiopsis leidyi* в азовском ареале и некоторые экологические последствия его вселения. Тез. докл. VIII съезда Гидробиол. общества РАН. Калининград, 2001. С. 75-76.

Дудкин С.И., Корниенко Г.Г., Мирзоян З.А. Исследование гребневика *Beroe ovata* в условиях повышенной солености в связи с прогнозом развития его популяции в азовском ареале. Тез. докл. VIII съезда Гидробиол. общества РАН. Калининград, 2001. С. 76-77.

Житенева Л.Д., Макаров Э.В., Рудницкая О.А. Тромбоциты рыб и других позвоночных. Ростов-на-Дону: Изд. СКНЦ ВШ, 2003. 72 с.

Житенева Л.Д., Макаров Э.В., Рудницкая О.А. Эволюция крови. Ростов-на-Дону: Деловой мир, 2001. 114 с.

Житенева Л.Д., Полтавцева Т.Г., Рудницкая О.А. Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб. Ростов-на-Дону, 1989. 12 с.

Житенева Л.Д., Рудницкая О.А., Калюжная Т.И. Эколого-гематологические характеристики некоторых видов рыб / Справочник. Ростов-на-Дону: Молот, 1997. 152 с.

Корниенко Г.Г., Ложичевская Т.В., Реков Ю.И. Половое созревание азовского осетра // Рыбное хозяйство. 1988. №3. С. 93-95.

Корниенко Г.Г., Дехта В.А., Кузина В.Ф., Шишкина И.В. Эколого-генетический мониторинг загрязнения акватории Азово-Донского бассейна // Геоэкономические исследования и охрана недр / Инф. сб. М.: ЗАО «Геоинформмарк», 2001. Вып. 4. С. 3-9.

Корниенко Г.Г., Дудкин С.И., Ложичевская Т.В. Оценка функционального состояния азовского осетра в современных условиях. Мат. I (IX) Междунар. совещ. по эволюц. физиологии. СПб., 1996. С. 108.

Корниенко Г.Г., Кожин А.А., Воловик С.П., Макаров Э.В. Экологические аспекты биологии репродукции. Ростов-на-Дону: Эверест, 1998. 238 с.

Ложичевская Т.В., Рудницкая О.А., Дорошева Н.Г., Ружинская Л.П. Оценка функционального состояния осетровых рыб в изменяющихся экологических условиях Азово-Кубанского побережья. Сб. тр.: Экологические проблемы Кубани. Краснодар: КГАУ, 2001. №12. С. 205-209.

Макаров Э.В., Реков Ю.И., Цветненко Ю.Б., Чихачев А.С. Участие производителей заводского происхождения в формировании нерестовой популяции русского осетра // Рыбное хозяйство. 1986. №9. С. 34-36.

Махоткин М.А., Дехта В.А. Адаптивная радиация азовского пилетгаса (*Mugil soiuu* Bas.): анализ биохимического полиморфизма. Сб. научн. тр. 2000-2001 гг.: Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азово-Черноморского бассейна. 2002. С. 341-348.

Подойницын Д.А. Состояние популяции полупроходного судака (*Sander lucioperca* L.) в Азовском море в современный период. Сб. научн. тр. 2004-2005 гг.: Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азово-Черноморского бассейна. 2005. С. 199-207.

Редкие и исчезающие животные Ростовской области. Ростов-на-Дону: РГУ, 1996. 444 с.

Сборник инструкций и нормативно-методических указаний по промышленному разведению осетровых рыб в Каспийском и Азовском бассейнах. М.: ВНИРО, 1986. 272 с.

Сергеева С.Г. Эколого-биохимические параметры состояния производителей судака в Азово-Кубанском районе. Сб. тр.: Экологические проблемы Кубани. Краснодар: КГАУ, 2001. №12. С. 209-214.

Среда, биота и моделирование экологических процессов в Азовском море / Коллектив авторов. Аналиты: Изд. КНИЦ РАН, 2001. 413 с.

Чихачев А.С. Использование генетических методов для решения рыбохозяйственных проблем Азовского бассейна. Тр. ВШРО: Современное состояние и перспективы использования и охраны рыбного хозяйства в бассейне Азовского моря. Ч. 2. Аквакультура, 1987. С. 117-119.

Чихачев А.С. Основы физиолого-биохимического и генетического мониторинга объектов марикультуры // Рыбное хозяйство. 1991, №12, С. 57-59.

Чихачев А.С., Кузина В.Ф., Шишкина И.В., Ковальчук Л.И. Мутагенное действие поллютантов на генетический аппарат осетровых. Сб. научн. тр. АзНИИРХ: Основн. пробл. рыбн. хоз-ва и охраны рыбохоз. водоемов Азовского бассейна. Ростов-на-Дону: Полиграф, 1996. С. 272-278.

А 01 К 61/00 RU 2260943 С2. Способ подращивания личинок осетровых рыб / Бойко П.Е., Корниенко Г.Г., Рудницкая О.А. (ФГУП АзНИИРХ). № 2260943; Заявл. 18.08.2003 // Изобретения (Заявки и патенты). 2005. №27. С. 45.

GENERAL TRENDS OF PHYSIOLOGICAL-BIOCHEMICAL AND GENETIC STUDIES OF THE AZOV AND BLACK SEA ICHTHYOFAUNA

© 2008 y. G.G. Kornienko, N.E. Boiko, S.G. Sergeeva, V.A. Dekhta,
T.V. Lozhichevskaya, L.V. Kolesnikova

Research Institute of the Azov Sea Fishery Problems, Rostov-on-Don

The main results of studies conducted by AzNIIRKH's Department of Genetic and Biochemical Monitoring of hydrobionts in the Azov and Black Sea Basin are presented. The following present-day trends have been considered: monitoring of physiological state of most important commercial fish and non-fish species in the basin; morphofunctional studies of fish tissue and organs histology; study of pollution effect on fish organisms and their reproductive abilities with the help of biomarker indices; mechanisms of formation of adaptive abilities of young sturgeons; population-genetic regularities of native and introduct.