

УДК 628.394.6 (262.54)

ОЦЕНКА СИНЕРГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПЕСТИЦИДОВ СОВРЕМЕННЫХ ХИМИЧЕСКИХ КЛАССОВ, ОБНАРУЖИВАЕМЫХ В ВОДОЕМАХ АЗОВСКОГО БАССЕЙНА, НА ПРОМЫСЛОВЫХ РЫБ И ИХ КОРМОВУЮ БАЗУ

© 2013 г. И. Л. Левина, О. А. Зинчук, Н. И. Щербакова, Е. А. Федорова, Л. Я. Кузнецова, Н. А. Гумненкова, Т. Н. Карпушова, Л. М. Бессчетнова

*Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства,
Ростов-на-Дону, 344002
E-mail: ir_lev@rambler.ru*

Поступила в редакцию 10.07.2013 г.

Исследовано синергическое действие пестицидов (имазалила, ипродиона, тебуконазола, этофумесата), обнаруживаемых в водоемах Азовского бассейна, на представителей фито- и зоопланктона, зообентоса, осетровых, бычковых, карповых рыб. Показано, что пестициды в исследованной комбинации оказывали негативное действие на ряд звеньев трофической цепи в концентрациях, ниже нормативов предельно допустимых концентраций для воды рыбохозяйственных водоемов.

Ключевые слова: пестициды, гидробионты, токсичность, плодовитость, онтогенез, тератогенность, биохимические процессы.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема антропогенного загрязнения водных объектов остается главной в общей проблеме загрязнения окружающей среды России. Природные воды содержат комплекс загрязняющих веществ, суммарное действие которых на экосистему непредсказуемо. Одна из причин ухудшения качества природных вод – загрязнение пестицидами. В Российской Федерации все чаще находят применение высокоактивные пестициды новых поколений с низкими нормами расхода и нестандартными механизмами действия, которые должны наносить минимальный ущерб окружающей среде (Грапов и др., 2003). Тем не менее экспериментальные данные свидетельствуют, что новые химические классы пестицидов являются высокотоксичными для тех или иных групп гидробионтов (Федорова и др., 2011).

Ежегодные мониторинговые исследования водоемов Азовского бассейна показали, что в воде, донных отложениях и тканях промысловых рыб обнаруживаются пестициды современных химических классов, используемые в сельскохозяйственном производстве Ростовской области и Краснодарского края, хотя их содержание не превышает установленных нормативов предельно допустимых концентраций (ПДК) для воды рыбохозяйственных водоемов (Бутасев, Войкина, 2011).

Химическое загрязнение среды обитания гидробионтов сложными смесями пестицидов разной токсичности и низких концентраций обуславливает возможность проявления их синергического действия, т.е. усиления при комбинированном воздействии поражающего эффекта на водные организмы, включая промысловые виды рыб и их кормовую базу.

Цель исследований – экспериментальная оценка синергического действия пестицидов, обнаруженных ранее в воде и тканях промысловых рыб бассейна Азовского моря, на гидробионтов разных трофических уровней.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В работе использованы технические продукты (содержание действующего вещества в каждом не менее 95%) – имазалил, ипродион, тебуконазол, этофумесат («Байер КронСайпс АГ», Германия). Из четырех пестицидов готовили растворы двух смесей, которые вносили в емкости с водой, где содержались гидробионты.

Объектами исследования являлись представители разных систематических групп водных организмов: микроводоросли – культура зеленой протококковой водоросли *Scenedesmus guadrigauda*; высшая водная растительность – элодея *Elodea canadensis*; ветвистоусые ракообразные – дафнии *Daphnia magna*; брюхоногие моллюски – катушка роговая *Planorbharius corneus*; осетровые рыбы в период раннего онтогенеза – эмбрионы и предличинки стерляди *Acipenser ruthenus*; бычковые в период раннего онтогенеза – эмбрионы и мальки бычка-кругляка *Neogobius melanostomus*; карповые рыбы – сеголетки карпа *Cyprinus carpio*.

Содержание гидробионтов во время опытов осуществлялось согласно методикам и требованиям (Методические рекомендации ..., 1998). Все исследования проводили на фоне контроля, который ставили в аналогичных опыту условиях, но без внесения пестицидов.

Использовали культуру спенедесмуса, находящуюся в начальной фазе логарифмического роста. Определяли общую численность клеток водорослей. Опыты ставили в трех повторностях с экспозицией 21 сут.

Растения элодеи отбирали для культивирования из естественной популяции условно чистых водоемов. Использовали верхушки зеленых неповрежденных побегов длиной 5 см. Эксперимент ставили в трех повторностях по 5 экз. ($n = 15$) с экспозицией 30 сут. Учитывали состояние растений, выживаемость и прирост основного побега, число и длину боковых отростков и корней, суммарный прирост растений.

Опыты на дафниях и катушке роговой ставили в трех параллелях, суммарная величина выборки по каждой смеси и контролю $n = 30$ экз.

Использовали дафний начиная с третьего поколения, полученного в лаборатории. Экспозиция опыта – 15 сут. Основными показателями были выживаемость, общая плодовитость, интенсивность созревания.

Катушку роговую выращивали в лабораторных условиях. Исследования действия смесей пестицидов на моллюсков велись в течение 30 сут. по показателям выживаемости и плодовитости.

Исследования на икре бычка-кругляка проводили после ее сбора из природного морского водоема (Азовское море) в период массового нереста. Мальков получали в лабораторных условиях.

Использовали искусственно оплодотворенную икру стерляди на стадиях 4 бластомеров. Влияние пестицидов на раннее постэмбриональное развитие осетровых изучали на предличинках стерляди (от выклева до их перехода на активное питание), полученных в производственных условиях.

Воздействие смесей пестицидов на эмбрионов исследовали на протяжении инкубационного периода: бычка – со стадии ранней гаструлы в течение 11 сут., стерляди – в течение 5 сут. Выборка $n = 60$ экз. на каждый вариант постановки. Действие смесей пестицидов на развивающихся эмбрионов оценивали по следу-

ющим показателям: выживаемость, длительность инкубационного периода, скорость прохождения стадий развития, патоморфологические признаки выклюнувшихся рыб.

Предличинки стерляди и мальков бычка (выборки $n = 10$ экз.) затравливали в возрасте 2–3 ч после выклева и выдерживали в растворах пестицидов до полного рассасывания желточного мешка в течение 6–7 сут. В конце опытов определяли темп линейного и весового роста рыб, вели наблюдения за их выживаемостью, проводили тератологический анализ: фиксировали патологии развития, рассчитывали процент уродливых особей (Калипина, 1976; Деслаф и др., 1981).

Эксперименты на карпе были организованы в виде 16-суточных опытов с отбором проб на 4-е, 8-е и 16-е сут. Количество опытных рыб на «точку» в биохимических исследованиях – 10–12, контрольных – 20–27. В 5%-ных гомогенатах жабр определяли следующие показатели: содержание вторичного молекулярного продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида (Стальная, Гаришвили, 1977); активность ферментов антиоксидантной защиты – каталазы (КФ 1.11.1.6) (Королюк и др., 1988) и супероксиддисмутазы (КФ 1.15.1.1) (Misra, Fridovich, 1972) – определяли модифицированным методом. О процессах I фазы детоксикации судили по активности ферментов ацетилэстеразы (КФ 3.1.1.6), определяемой методом Покровского в собственной модификации (Покровский, Арчаков, 1968), и карбоксилэстеразы (КФ 3.1.1.1) (Временные методические указания ..., 1987). Состояние глутатионовой системы регистрировали по содержанию восстановленного глутатиона (Ellman, 1959) и активности фермента глутатион-S-трансферазы (КФ 2.5.1.18) (Habig et al., 1974). Количество белка определяли с помощью метода Лоури (Lowry et al., 1951).

Результаты всех экспериментов подвергали статистической обработке (Кокунин, 1975). Различия между двумя выборками считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из пестицидов делали две экспериментальные смеси. Смесь 1 – количество пестицидов соответствовало содержанию их в воде природных водоемов и было ниже ПДК, смесь 2 – количество пестицидов увеличено в 10 раз, при этом использованные концентрации не превышали ПДК для воды рыбохозяйственных водоемов, кроме концентрации имазалила, которая оказалась в 8 раз выше установленной ПДК (табл. 1).

Предварительно теоретически рассчитывали возможный аддитивный токсический эффект смесей по формуле Аверьянова (Кустов и др., 1975):

$$C_{\text{общ.}} = \sum \frac{C_i}{\text{ПДК}_i}$$

где $C_{\text{общ.}}$ – суммарная относительная токсичность образца, C_i – концентрация пестицида, ПДК_i – значение ПДК для данного вещества. Среда считается не токсичной, если $C_{\text{общ.}}$ будет < 1 .

Расчеты показали, что смесь 1 ($C_{\text{общ.}} = 0,0008/0,001 + 0,0002/0,125 + 0,0021/0,1 + 0,0005/0,007 = 0,8926$ (мг/л) < 1) не должна проявлять аддитивный эффект, а смесь 2 ($C_{\text{общ.}} = 0,008/0,001 + 0,002/0,125 + 0,021/0,1 + 0,005/0,007 = 8,926$ (мг/л) > 1)

Таблица 1. Пестициды, использованные в работе, их основные характеристики и концентрации, мг/л
 Table 1. Applied pesticides, their characteristics and concentrations, mg/l

Пестицид	Химический класс	ПДК, мг/л	Содержание в воде водоемов, мг/л	Концентрация, мг/л	
				смесь 1	смесь 2
Имагалант	Имидазолы	0,001	0,0008	0,0008	0,008
Ипроднов	Карбоксамиды	0,125	0,0002	0,0002	0,002
Тebuконазол	Триазолы	0,100	0,0021	0,0021	0,021
Этофумесат*	Бензофураны	0,007	0,0005	0,0005	0,005

Примечание: *пестициды относятся к группе гербицидов, все остальные – к группе фунгицидов.
 Note: * to the group of fungicides the pesticides belong to the group of fungicides.

теоретически может обладать аддитивным действием на гидробионтов. В то же время синергизм может представлять наибольшую опасность для водных организмов и проявляться в потенцировании (эффект больше, чем суммация) комбинированного действия пестицидов. Приведенные предположения и теоретические расчеты были проверены экспериментальным способом при изучении интенсивности токсического воздействия обеих смесей на разные звенья трофической цепи водоемов.

Фитопланктон – первичное звено в трофической цепи водоемов, быстро реагирующее на любые внешние воздействия, которое определяет состояние и продуктивность водных экосистем.

Визуальные наблюдения за состоянием культуры микроводорослей показали, что в течение всей экспозиции эксперимента в сосудах со смесью 2 суспензия микроводорослей по плотности была значительно меньше контроля, культура представлена одно- и двухклеточными формами.

Исходная численность сценедесмуса была 65 тыс. кл/мл. В присутствии смеси 1 отмечалась тенденция к росту числа клеток сценедесмуса на уровне контрольных значений. В эксперименте со смесью 2 наблюдалось угнетение развития культуры микроводорослей с возрастанием времени экспозиции. На 14-е сут. численность клеток снижалась на 18%, на 21-е сут. расхождение с контролем составляло 40% (табл. 2).

Таблица 2. Динамика общей численности сценедесмуса в эксперименте со смесями пестицидов, млн кл/мл

Table 2. Dynamics of the total abundance of scenedesmus in the experiment with pesticide mixtures, mln cells/ml

Раствор	Общая численность клеток сценедесмуса при экспозиции, сут.				
	3	7	10	14	21
Смесь 1	9,33±0,68	15,10±3,70	28,70±4,10	46,70±6,61	126,0±12,9
Смесь 2	7,33±0,74	12,3±3,22	23,90±2,68	40,30±2,35*	89,7±10,0*
Контроль	8,67±1,36	14,60±3,06	30,31±2,76	49,16±2,74	149,3±11,9

Примечание здесь и в табл. 3–5, 7: *различия по сравнению с контролем достоверны при $p<0,05$.
 Note here and in Tables 3–5, 7 an asterisk indicates that differences vs. the control are reliable ($p<0,05$).

Следовательно, синергическое действие пестицидов на культуру микроводорослей наблюдалось только при действии смеси 2 и проявлялось в ингибировании развития культуры микроводорослей.

Высшие пресноводные растения создают органическое вещество и выделяют кислород, служат субстратом для размножения водных животных, играют важную роль в самоочищении водоемов.

Темпы роста основного стебля и боковых побегов представителя высшей водной растительности элодеи не отличались от нормы в растворах со смесью 1 на протяжении всей экспозиции. В растворах смеси 2 к концу опыта отмечалось достоверное снижение темпа роста растений на 14%, боковых побегов – на 28%. В обеих смесях процесс корнеобразования у макрофитов происходил на уровне контроля. Суммарный прирост элодеи, определяемый приростом основного и боковых побегов, в смеси 1 соответствовал контрольным значениям. В растворах со смесью 2 отмечено снижение суммарного прироста элодеи на 19% к 30-м сут. опыта (табл. 3). В обеих смесях гибель растений не отмечалась.

Таким образом, синергическое действие пестицидов на элодею проявлялось к 30-м сут. эксперимента только при действии смеси 2.

Таблица 3. Рост основных органов и суммарный прирост элодеи при действии смеси пестицидов, см
Table 3. Growth of stems and sprouts and the total increase of elodea when the mixture of pesticides has been used, cm

Раствор	Экспозиция опыта, сут.			
	10	15	20	30
Прирост основного побега в пересчете на одно растение				
Смесь 1	1,14 ± 0,068	1,78 ± 0,066	2,55 ± 0,101	3,49 ± 0,088
Смесь 2	1,07 ± 0,046	1,64 ± 0,062	2,50 ± 0,076	3,11 ± 0,085*
Контроль	1,17 ± 0,061	1,73 ± 0,086	2,74 ± 0,098	3,62 ± 0,070
Прирост боковых побегов в пересчете на одно растение				
Смесь 1	0,58 ± 0,107	0,98 ± 0,132	1,27 ± 0,129	1,71 ± 0,148
Смесь 2	0,55 ± 0,065	0,86 ± 0,075	1,10 ± 0,115	1,26 ± 0,143*
Контроль	0,62 ± 0,080	0,95 ± 0,118	1,36 ± 0,186	1,77 ± 0,177
Число корней, шт/общая длина корней, см				
Смесь 1	0	6 / 9,8	8 / 24,2	10 / 27,9
Смесь 2	0	6 / 9,5	7 / 22,8	10 / 26,5
Контроль	0	6 / 10,5	8 / 23,4	11 / 27,5
Суммарный прирост				
Смесь 1	1,72 ± 0,15	2,76 ± 0,18	3,82 ± 0,21	5,20 ± 0,23
Смесь 2	1,62 ± 0,16	2,50 ± 0,16	3,60 ± 0,19	4,37 ± 0,20*
Контроль	1,79 ± 0,17	2,68 ± 0,17	4,10 ± 0,18	5,39 ± 0,20

Зоопланктон – пищевой объект для многих рыб, один из важнейших компонентов водных экосистем, являющийся индикатором их состояния, что определяется его функцией – фильтрацией взвеси и ее трансформацией.

Исследования показали, что в растворах пестицидов смеси 1 гибели ветвистоусых рачков дафний в течение всего эксперимента не наблюдалось. В смеси 2 погибло 6 рачков из 30, что составило 20%.

Общее количество народившейся жизнеспособной молодежи от одной самки отражает величину реальной плодовитости, которая достоверно не изменялась относительно контроля только при действии смеси 1 в исходном (материнском) и 3-м поколениях дафний. В 1-м и во 2-м поколениях отмечено снижение плодовитости дафний в растворах пестицидов смеси 1 на 38–41%. При действии смеси 2 изменения плодовитости происходили во всех четырех поколениях. Зафиксировано снижение количества выклевывшейся молодежи относительно контроля: на 38% – в исходном, 44% – в первом, 43% – во втором, 29% – в третьем поколениях. При этом скорость полового созревания и количество пометов в смесях соответствовали контрольному варианту (табл. 4).

Таблица 4. Показатели общей плодовитости дафний трех генераций, выращенных в растворах со смесями пестицидов

Table 4. General fecundity of three generations of daphnids raised in solutions with pesticide mixtures

Раствор	Появление половозрелости, сут.	Появление 1-го помета, сут.	Число пометов	Реальная плодовитость одной самки, экз.
Исходное поколение				
Смесь 1	4	6	4	6,44±1,52
Смесь 2	4	6	4	4,21±0,40*
Контроль	4	6	4	6,75±0,96
1-е поколение				
Смесь 1	6	8	3	4,13±0,78*
Смесь 2	6	8	3	3,90±0,69*
Контроль	6	8	3	6,97±1,10
2-е поколение				
Смесь 1	5	7	4	4,36±0,75*
Смесь 2	5	7	4	4,00±0,52*
Контроль	5	7	4	7,01±0,92
3-е поколение				
Смесь 1	6	8	3	4,63±0,53
Смесь 2	6	8	3	4,00±0,39*
Контроль	6	8	3	5,63±0,61

Следовательно, негативное синергическое действие пестицидов на ветвистоусых ракообразных проявлялось при действии обеих смесей. В растворах пестицидов смеси 1 снижалась реальная плодовитость дафний, а в смеси 2 – не только плодовитость, но и выживаемость зоопланктона.

Брюхоногие моллюски играют важную роль в круговороте органического вещества в водных экосистемах и составляют основы питания многих бентосояд-

ных организмов, так как накапливают органические и неорганические ксенобиотики в тканях.

Эксперименты, проведенные на катушке роговой, показали, что в растворах со смесями 1 и 2 гибели особей в течение всего эксперимента не наблюдалось, двигательная и пищевая активность моллюсков, число кладок и количество яиц в них соответствовали контролю. Снижение потенциальной плодовитости, отражающей количество яиц на одного моллюска, зафиксировано в смеси 2. Оно составило 41%. Значительные изменения реальной плодовитости моллюсков произошли в растворах обеих смесей пестицидов – количество вылупившихся особей в смеси 1 было ниже контроля на 79%, а в смеси 2 – на 87% (табл. 5).

Таблица 5. Размножение и плодовитость катушки роговой при действии смесей пестицидов

Table 5. Reproduction and fecundity of the pond snail *Planorbharius corneus* affected by a mixture of pesticides

Раствор	Число кладок на 1 моллюска	Число яиц в кладке	Плодовитость на 1 моллюска, экз.	
			потенциальная	реальная
Смесь 1	3,50±1,49	11,03±1,10	32,95±10,51	3,85±0,87*
Смесь 2	3,30±0,53	10,17±1,75	26,65±5,95*	2,35±0,64*
Контроль	4,40±0,58	11,18±1,15	45,10±5,30	18,00±5,10

Таким образом, отрицательный результат синергического действия пестицидов на потенциальную плодовитость моллюсков проявлялся только при действии смеси 2. Реальная плодовитость особей снижалась в обеих смесях.

Рыбы – конечное звено трофической цепи водных экосистем. Наибольшей чувствительностью к пестицидному воздействию отличаются эмбриональные и личиночные стадии развития рыб.

Икра бычка-кругляка и стерляди. Наблюдения за их выживаемостью показали, что в растворах пестицидов смеси 1 гибель зародышей в течение инкубационного периода не превышала естественную в контроле. В растворах пестицидов смеси 2 наблюдали гибель зародышей стерляди, превышавшую естественную (табл. 6).

Продолжительность этапов эмбриогенеза бычка-кругляка и стерляди в опытных растворах со смесями 1 и 2 не отличалась от контроля вплоть до выклева. Единичный выклев бычка в обеих смесях начался с 12-часовой задержкой, по его продолжительность составила 2 сут. – так же, как и в контроле. Единичный и массовый выклев стерляди проходили синхронно с контролем, длительность инкубационного периода составила 110 ч.

Отклонений от нормы в строении выклюнувшихся мальков бычка, развивающихся в обеих смесях пестицидов, не выявлено. В растворах пестицидов смеси 1 у некоторых выклюнувшихся предличинок стерляди отмечали патоморфологические признаки, а в растворах со смесью 2 в период инкубации у зародышей стерляди наблюдали водянку перикардиальной полости. До выклева эти эмбрионы не дожили.

Таблица 6. Выживаемость зародышей бычка-кругляка и стерляди ($n = 60$) при воздействии смесей пестицидов и течение инкубационного периода**Table 6.** Survival of embryos of round goby and sterlet ($n = 60$) affected by a mixture of pesticides during the incubation period

Зародыш	Длительность инкубационного периода, сут.	Смесь пестицидов	Гибель	
			экз.	%
Бычок-кругляк	11	Смесь 1	2	3,33
		Смесь 2	6	10,00
		Контроль	7	11,67
Стерлядь	5	Смесь 1	10	16,67
		Смесь 2	18	30,00
		Контроль	10	16,67

Мальки бычка-кругляка и предличинки стерляди в растворах смесей пестицидов показали 100%-ную выживаемость, ни в одном из опытных сосудов гибели не зафиксировано. Негативное действие пестицидов на мальков бычка-кругляка было выявлено в смеси 2, что проявлялось в снижении темпов линейного (на 4%) и весового (на 13%) роста организмов относительно контроля. При этом длина и масса опытных мальков бычка в растворах пестицидов смеси 1 находились на уровне контрольных величин (табл. 7).

На предличинок стерляди обе смеси пестицидов оказывали токсическое воздействие, угнетая их весовой рост. Масса опытных предличинок достоверно ниже массы контрольных особей на 7–10%. Линейный рост предличинок стерляди, развивающихся в растворах пестицидов смеси 1 и 2, был на уровне контрольных величин (табл. 7).

Таблица 7. Показатели физиологического развития мальков бычка-кругляка и предличинок стерляди при воздействии смесей пестицидов**Table 7.** Physiological parameters of developing round goby fries and sterlet prelarvae affected by a mixture of pesticides

Объект исследований	Раствор	n	Линейный рост, мм	Масса, мг
Мальки бычка- кругляка	Экспозиция 7 сут. после выклева			
	Смесь 1	10	$9,09 \pm 0,13$	$3,37 \pm 0,19$
	Смесь 2	10	$8,98 \pm 0,16^*$	$3,17 \pm 0,13^*$
	Контроль	20	$9,38 \pm 0,12$	$3,64 \pm 0,16$
Предличинки стерляди	Экспозиция 6 сут. после выклева			
	Смесь 1	10	$12,7 \pm 0,17$	$12,56 \pm 0,42^*$
	Смесь 2	10	$13,16 \pm 0,17$	$12,83 \pm 0,43^*$
	Контроль	20	$12,84 \pm 0,16$	$13,87 \pm 0,29$

Тератологический анализ бычковых и осетровых рыб, подвергшихся действию смесей пестицидов, проводили на ключевых стадиях эмбриогенеза. Установлено, что у зародышей и мальков бычка-кругляка, содержащихся в растворах пестицидов со смесью 1 и 2, патологий развития не отмечалось. У эмбрионов стерляди на стадиях 32–33, развивающихся в растворах смеси 2, наблюдали патологическое скопление жидкости в перикардиальной полости, что привело к их гибели перед выклевом. В растворах пестицидов смеси 1 у 20% выклюнувшихся эмбрионов стерляди наблюдали искривления туловища и хвостового стебля. У предличинкок стерляди патоморфологические признаки не выявлены.

Таким образом, отрицательный результат комбинированного действия пестицидов на бычка-кругляка проявлялся только при действии смеси 2, приводящей к снижению весового и линейного роста мальков. На зародышей и предличинкок стерляди пестициды действовали в обеих смесях, подавляя нормальный рост и развитие организмов. У эмбрионов стерляди при действии пестицидов смеси 1 и 2 установлены аномалии развития, у предличинкок отмечалось снижение темпов весового роста.

Нарушение биохимического статуса организмов рыб всегда предшествует изменению физиологических показателей. При начальном воздействии пестицидов изменения происходят на субклеточном уровне и затрагивают биохимические адаптивные и детоксикационные процессы. Длительный стресс, развивающийся при хроническом действии малых доз пестицидов, может привести к истощению адаптивных ресурсов и нарушению фундаментальных процессов, составляющих основу жизнедеятельности.

Результаты оценки влияния совместного действия пестицидов в смесях 1 и 2 на направленность биохимических процессов перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты и детоксикации у сеголеток карпа представлены в табл. 8.

В качестве показателя интенсивности процессов перекисного окисления липидов в жабрах рыб определяли содержание малонового диальдегида. У рыб, находившихся в растворах со смесями 1 и 2, содержание малонового диальдегида в жаберной ткани на 4-е сут. воздействия соответствовало контрольному варианту. На 8-е сут. содержание малонового диальдегида снижалось на 25 и 36% соответственно, а к 16-м сут. экспозиции увеличивалось до контрольного уровня. Таким образом, усиления процессов перекисного окисления липидов при действии обеих смесей не происходило, что было связано с развитием защитных механизмов, направленных против их активации. Об этом свидетельствует увеличение активности антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы и каталазы в жабрах рыб на 8-е и 16-е сут. экспозиции. При действии смеси 1 активность супероксиддисмутазы увеличивалась на 8-е сут. опыта на 20%, а активность каталазы – на 14% к 16-м сут. При действии смеси 2 отмечалось более существенное увеличение активности супероксиддисмутазы – на 32 (8-е сут.) и 41% (16-е сут.). Активность каталазы за те же сутки воздействия смеси 2 возрастала на 34 и 16% соответственно.

Ацетилэстераза и карбоксилэстераза являются ферментами I фазы детоксикации, осуществляют гидролиз сложноэфирных связей в молекулах ксенобиотиков и их промежуточных метаболитах (Купченко, 2004). Установлено, что совокупное действие пестицидов в смесях 1 и 2 оказывало ингибирующее действие на исследованные показатели. Активность ацетилэстеразы в жабрах рыб снижалась на 4-е

Таблица 8. Динамика биохимических показателей в жабрах карпа при воздействии смесей пестицидов**Table 8.** Dynamics of biochemical parameters in gills of carp affected by a mixture of pesticides

Раствор	Контроль	Длительность экспозиции, сут.		
		4	8	16
Содержание малонового диальдегида, мкмоль/ мг белка				
Смесь 1	103,85±7,25 (27)	93,17±4,92 (12)	77,86±3,38**(12)	99,09±2,13 (12)
Смесь 2		90,51±1,77 (10)	66,01±1,59**(12)	85,01±2,45 (11)
Активность супероксиддисмутазы, усл. ед/ мг белка/мин				
Смесь 1	1,09±0,03 (19)	0,99±0,03 (12)	1,31±0,05* (10)	1,08±0,02 (12)
Смесь 2		1,01±0,03 (12)	1,45±0,04* (12)	1,54±0,06* (11)
Активность каталазы, мкмоль/ мг белка/мин				
Смесь 1	1,12±0,03 (23)	1,14±0,05 (12)	1,15±0,02 (12)	1,28±0,09* (11)
Смесь 2		1,11±0,07 (11)	1,51±0,08* (9)	1,30±0,04* (11)
Активность ацетилэстеразы, нмоль/ мг белка/мин				
Смесь 1	8,02±0,25 (26)	6,16±0,22**(11)	5,32±0,20**(12)	7,52±0,27 (12)
Смесь 2		7,15±0,12**(9)	5,86±0,11**(11)	8,17±0,25 (10)
Активность карбоксилэстеразы, нмоль/ мг белка/мин				
Смесь 1	77,54±1,75 (26)	61,00±1,28**(10)	54,47±3,04**(12)	62,49±1,35**(11)
Смесь 2		66,29±3,58**(9)	66,08±1,69**(11)	65,43±2,97**(9)
Содержание восстановленного глутатиона, нмоль/ мг белка				
Смесь 1	3,59±0,24 (27)	3,93±0,32 (10)	4,44±0,27* (12)	3,22±0,67 (12)
Смесь 2		3,01±0,20 (12)	4,48±0,28* (12)	4,91±0,66* (12)
Активность глутатион-S-трансферазы, мкмоль/ мг белка/мин				
Смесь 1	0,82±0,02 (25)	0,83±0,02 (11)	0,78±0,04 (12)	0,85±0,01 (10)
Смесь 2		0,80±0,03 (12)	0,88±0,01 (12)	0,94±0,03* (12)

Примечание: * достоверное увеличение значений относительно контроля ($p < 0,05$), ** достоверное снижение значений относительно контроля ($p < 0,05$); в скобках – n , экз.

Note: One asterisk indicates a reliable increase in test values vs. the control ones ($p < 0.05$); two asterisks indicate a reliable decrease in test values vs. the control ones ($p < 0.05$), in brackets – n , ind.

и 8-е сут. при действии как смеси 1 (23–34%), так и смеси 2 (11–27%). Ингибирование активности карбоксилэстеразы при комбинированном действии пестицидов в смесях 1 и 2 происходило в течение всего опыта, отклонения от контроля составляли 19–30% (смесь 1) и 15–16% (смесь 2). Происходящие процессы можно объяснить непосредственным участием эстераз в процессах метаболизма пестицидов.

Оценка детоксицирующей функции глутатионовой системы позволяет анализировать состояние основных метаболических этапов II фазы детоксикации. Важным компонентом поддержания окислительного равновесия в клетках является трипептид глутатион, который выполняет антиоксидантную функцию, а также участвует в реакциях конъюгации, осуществляемых глутатион-S-трансферазой, при детоксикации пестицидов (Кулинский, 1999).

Содержание восстановленного глутатиона в жаберной ткани рыб возрастало на 24% при действии смеси 1 на 8-е сут. экспозиции. Действие пестицидов в смеси 2 приводило к последовательному увеличению содержания восстановлен-

ного глутатиона от 25% на 8-е сут. до 37% – к концу эксперимента. Активность глутатион-S-трансферазы в жабрах опытных рыб при действии смеси 1 находилась на уровне контрольных величин. Действие смеси 2 приводило к увеличению активности фермента на 14% к 16-м сут.

Наблюдаемые изменения метаболических процессов можно объяснить следующей последовательностью событий. Состояние повышенной активности ферментов антиоксидантной защиты супероксиддисмутазы и каталазы, а также увеличение содержания восстановленного глутатиона препятствовали интенсификации процессов перекисного окисления липидов и приводили к некоторому снижению содержания малонового диальдегида в жабрах рыб. При этом активность глутатион-S-трансферазы в условиях действия смеси 2 увеличивалась к 16-м сут., что характеризовало интенсификацию 2-й фазы детоксикационных процессов в тканях рыб. В то же время ингибирование активностей ацетилэстеразы и карбоксилэстеразы на протяжении всего опыта в обеих смесях пестицидов свидетельствовало об интенсивно идущих метаболических процессах I фазы детоксикации.

Известно, что формирование метаболических нарушений и уровень эффекта пестицидного воздействия определяются преобладанием либо деструктивных процессов, либо компенсаторных реакций. Анализ результатов проведенных экспериментов показал, что обе смеси пестицидов проявляли синергический эффект, носивший адаптивный характер. Они действовали как стресс-факторы и приводили к стимуляции систем антиоксидантной защиты и детоксикации у карпа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследований по оценке синергического действия пестицидов современных химических классов, обнаруживаемых в водоемах Азовского бассейна, на промысловых рыб и их кормовую базу позволили установить определенные закономерности.

Совокупное действие пестицидов имазалила, ипродиона, тебуконазола, этофумесата в концентрациях ниже ПДК, соответствовавших их содержанию в воде природных водоемов (смесь 1), не оказывало влияния на физиологические показатели жизнедеятельности представителей фитопланктона, высшей водной растительности, эмбриональное и раннее постэмбриональное развитие бычковых рыб. При увеличении концентраций в 10 раз (смесь 2) интенсивность токсического действия пестицидов на эти тест-объекты усиливалась – происходило ингибирование развития культуры микроводорослей, снижались рост макрофитов, ясовой и линейный рост мальков бычка-кругляка.

На ряд звеньев трофической цепи водосмов, а именно на представителей зоопланктона и зообентоса, эмбрионов и предличинок осетровых рыб, сеголеток карпа, пестициды оказывали влияние в обеих смесях. Они вызывали активацию адаптивно-компенсаторных биохимических реакций у карповых рыб, приводили к нарушениям нормального роста и развития эмбрионов и предличинок стерляди, угнетали репродукцию ветвистоусых ракообразных дафний и брюхоногих моллюсков. Можно предположить, что нахождение длительное время в природных водоемах исследованной комбинации пестицидов скажется на воспроизводстве и процессах развития потомства у представителей зоопланктона и зообентоса, некоторых видов промысловых рыб.

Результаты экспериментальных исследований не соответствовали теоретическим расчетам аддитивного действия. Совместный эффект исследованных пестицидов в смеси 1 превышал сумму действия, которая, согласно теоретическим расчетам, была < 1 . Следовательно, характер комбинированного действия пестицидов на некоторые виды гидробионтов был синергический, т.е. «более чем аддитивный», и выражался в потенцировании их токсичности в смесях. Основной вклад в усиление токсического действия смесей вносил имазалил, содержание которого было достаточно высоким относительно величины ПДК в смеси 1 и превышало в 8 раз ПДК для воды рыбохозяйственных водоемов в смеси 2.

В настоящее время присутствие в водосмах Азовского бассейна пестицидов современных химических классов еще достаточно мало и непродолжительно, чтобы оказывать стойкое негативное воздействие на морфофункциональное состояние, рост, развитие, репродукцию промысловых рыб и их кормовую базу. Тем не менее сам факт возможности синергического действия сложных смесей пестицидов на представителей верхнего звена трофической цепи водоемов и их кормовую базу свидетельствует о наличии потенциальной опасности для продуктивности водных экосистем при повышении пестицидного загрязнения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Бугаев Л. А., Войкина А. В. Оценка пестицидного загрязнения прибрежных акваторий Азовского моря в 2011 г. // Матер. конф. «Современные проблемы водной токсикологии». Петрозаводск, 2011. С. 26–29.

Временные методические указания по методу биоиндикации поверхностных вод на основе анализа биоритмов ферментативной активности моллюсков. Л.: Гидрометеиздат, 1987. С. 44–62.

Гратов А. Ф., Козлов В. А. Современные подходы к созданию новых пестицидов // Агрохимия. 2003. № 11. С. 4–13.

Детлаф Т. А., Гинзбург А. С., Шмальгаузен О. И. Развитие осетровых рыб. М.: Наука, 1981. 223 с.

Калинина Э. М. Размножение и развитие азово-черноморских бычков. Киев: Наук. думка, 1976. 119 с.

Кокунин В. А. Статистическая обработка данных при малом числе опытов // Укр. биохим. журн. 1975. Т. 47. № 6. С. 776–790.

Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. 1988. № 1. С. 16–19.

Кулинский В. И. Обезвреживание ксенобиотиков // Соросов. образоват. журн. 1999. № 1. С. 8–12.

Кустов В. В., Тиунов Л. А., Васильев Г. А. Комбинированное действие промышленных ядов. М.: Медицина, 1975. 256 с.

Куценко С. А. Основы токсикологии. СПб.: Фолиант, 2004. 720 с.

Методические рекомендации по установлению эколого-рыбохозяйственных нормативов (ПДК и ОБУВ) загрязняющих веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. М.: ВНИРО, 1998. 147 с.

Покровский А. А., Арчаков А. И. Определение активности ацетилэстеразы по А. А. Покровскому, А. И. Арчакову // Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1968. С. 50–51.

Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. М: Медицина, 1977. С. 66–68.

Федорова Е. А., Левина И. Л., Зинчук О. А. Сравнительная оценка токсичности фунгицидов новых поколений для дафний // Науч. журн. КубГАУ. 2011. № 4 (10). 8 с. (<http://ejkubagro.ru/2011/10/pdf/50.pdf>)

Ellman Q. L. Tissue sulphydryl groups // Arch. Biochemistry. 1959. V. 82. P. 70–77.

Habig W. H., Pabst M. J., Jacoby W. B. Glutathione-S-transferase: the first step in mercapturic acid formation // J. Biochemistry. 1974. V. 249. P. 130–139.

Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. Protein measurement with the Folin phenol reagent // Ibid. 1951. V. 193. P. 265–275.

Misra H. P., Fridovich I. The role of superoxide anion in the autooxidation of epinephrine and simple assay for superoxide dismutase // Ibid. 1972. V. 247. P. 3170–3175.

ASSESSMENT OF SYNERGIC ACTION OF MODERN PESTICIDES FOUND IN THE WATER BODIES OF THE AZOV SEA BASIN ON COMMERCIAL FISH SPECIES AND THEIR FOOD BASE

© 2013 г. I. L. Levina, O. A. Zinchuk, N. I. Shcherbakova, E. A. Fedorova, L. Ya. Kuznetsova, N. A. Gumnenkova, T. N. Karpusheva, L. M. Besschetnova

Azov Fisheries Research Institute, Rostov-on-Don, 344002

Synergic action has been studied of the pesticides (imazalil, iprodione, tebuconazole and ethofumesate) found in the water bodies of the Azov Sea basin on phyto- and zooplankton, zoobenthos, sturgeons, gobies and Cyprinidae. These pesticides in the combination applied are shown to have a negative effect on some links of the trophic chain even if they are used in concentrations smaller than maximum admissible concentrations adopted for fishery waterbodies.

Keywords: pesticides, hydrobionts, toxicity, fecundity, ontogenesis, teratogenicity, biochemical processes.