

На правах рукописи

**Шевлякова Наталья Владимировна**

**ВЛИЯНИЕ ПЕРФТОРОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА  
ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ОСЕТРОВЫХ РЫБ  
В АКВАКУЛЬТУРЕ**

03.00.16 - Экология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

**Москва - 2004**

Работа выполнена в научно-производственном центре по осетроводству ФГУП «БИОС» г. Астрахань.

**Научный руководитель:** доктор медицинских наук, профессор  
Чижов Алексей Ярославович

**Научный консультант:** доктор медицинских наук, профессор  
Маевский Евгений Ильич

**Официальные оппоненты:** доктор биологических наук, профессор  
Дмитриева Тамара Михайловна  
кандидат биологических наук  
Соколова Софья Александровна

**Ведущая организация:** Астраханский государственный  
университет г. Астрахань

Защита состоится « 27 » мая 2004 г. в 13 часов на заседании диссертационного совета Д. 212.203.17 в Российском университете дружбы народов (РУДН) по адресу: 113093, г. Москва, Подольское шоссе, 8 / 5.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке РУДН

Автореферат разослан «27» апреля 2004 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор биологических наук,  
профессор



Н.А. Черных

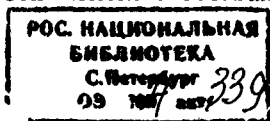
## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность.** В связи с катастрофическим снижением численности осетровых рыб в последние годы остро встает вопрос о развитии такой сферы аквакультуры как осетроводство. При разведении и выращивании осетровых возникает множество проблем, среди которых актуальными являются следующие:

- 1) сохранение жизнеспособного потомства – эмбрионов, личинок и молоди при транспортировке;
- 2) сохранение жизни производителей после операционного извлечения половых продуктов.

Наибольшее распространение при перевозке эмбрионов, личинок и молоди рыб получили герметично закрываемые полиэтиленовые пакеты благодаря компактности, малому весу, простоте герметизации и низкой стоимости. Плотность посадки перевозимых объектов в них значительно выше, чем в открытых емкостях. Недостатком такого способа транспортировки является торможение развития гидробионтов и их гибель из-за нарушения газообмена, в частности вследствие накопления углекислого газа и токсичных продуктов метаболизма при длительной транспортировке. Для улучшения газового состава внутри емкости накачивают до половины объема газообразный кислород, однако эта процедура лишь в малой мере предотвращает гибель гидробионтов при длительной транспортировке и высокой плотности посадки.

Для повышения выживаемости рыб в 1997 г. А.К. Богерук с соавторами предложили использовать емкости с протоком ПФОС (0,8-10 об.% в час), которые являются химическими инертными переносчиками газов - кислорода и  $CO_2$ . Но это устройством оказалось неприемлемым для практического использования из-за сложности и дороговизны. Необходимо было проверить, способны ли ПФОС в закрытой емкости обеспечивать сохранение оплодотворенной икры и рыбы, а также исследовать возможность ПФОС влиять на их развитие. Биологические эффекты ПФОС у осетровых могут зависеть от физико-химических свойств этих соединений, а именно от способности растворяться в воде. Однако до сих пор эти аспекты оставались не



изученными.

Другой проблемой, как указывалось, при разведении осетровых рыб является отход производителей после операции прижизненного получения икры. Одна из основных причин гибели производителей заключается в послеоперационной кровопотере, которая сопровождается развитием гипоксии и ишемии, с последующим нарушением функционирования органов, в частности печени. В связи с этим возникла идея использовать в качестве противогипоксического–противоишемического средства газопереносающий кровезаменитель – перфторан для реабилитации оперированных самок.

С учетом вышеизложенного *целью* исследований являлось изучение влияния ПФОС на эколого-физиологическое состояние осетровых рыб для повышения их устойчивости к оперативному вмешательству и к экстремальным условиям транспортировки.

Основные задачи работы:

1. Исследовать выживаемость эмбрионов, личинок и молоди осетровых в герметических емкостях в присутствии различных количеств ПФОС;
2. Изучить тератогенность и влияние ПФОС на развитие осетровых рыб на ранних стадиях онтогенеза в герметических емкостях;
3. Определить влияние ПФОС на концентрации продуктов жизнедеятельности при транспортировке осетровых рыб в герметической емкости;
4. Исследовать эколого-физиологическое состояние самок осетровых рыб после операции прижизненного получения овулировавшей икры;
5. Изучить влияние перфторана на эколого-физиологическое состояние прооперированных самок осетровых.

**Научная новизна и практическая ценность работы.** Впервые изучено влияние ПФОС в различных количествах на выживаемость и морфологическое развитие осетровых и их гибридов на ранних этапах онтогенеза, а также на химические показатели водной среды при моделировании транспортировки в герметической емкости. Впервые установлено воздействие операции прижизненного получения половых

продуктов на физиологическое состояние производителей осетровых рыб. Получены новые данные по гематологическим и биохимическим показателям сыворотки крови самок осетровых рыб при введении перфторана после операции прижизненного получения половых продуктов.

**Предмет защиты.** Научное обоснование целесообразности использования ПФОС в товарном осетроводстве.

**Апробация результатов исследования.** Материалы работы обсуждались на II Международной научно-практической конференции «Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития» (Астрахань, 2001), Всероссийской конференции «Ранние этапы развития гидробионтов как основа формирования биопродуктивности и запасов промысловых видов в мировом океане» (Москва, 2001), научно-практической конференции «Проблемы и перспективы развития аквакультуры в России» (Краснодар, 2001), Всероссийской конференции молодых ученых «Рыбохозяйственная наука на пути в XXI век» (Владивосток, 2001), XII конференции молодых ученых «Биология внутренних вод: проблемы экологии и биоразнообразия» (Борок, 2002), XI Международном симпозиуме «Эколого-физиологические проблемы адаптации» (Москва, 2003). По материалам диссертации опубликовано 16 работ, имеется решение о выдаче патента на изобретение.

**Структура работы.** Диссертация состоит из введения, обзора литературных данных, описания материала и методов исследования, собственных данных, заключения, выводов и списка литературы, включающего 250 наименований, в том числе 70 зарубежных авторов. Работа изложена на 121 странице и содержит 8 таблиц и 16 рисунков.

## **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Для моделирования транспортировки рыб помещали в герметично закрывающиеся емкости, содержащие в равных объемах воздух и воду. В

опытных группах часть воздуха заменяли ПФОС (ПФД, ПФЩГ, ПФПМТБЦГ или ПФТБА). После насыщения жидкой фазы кислородом в емкости помещали эмбрионы и личинки осетровых на разных стадиях развития. Условия перевозки имитировали встряхиванием с частотой 0,2 Гц в вертикальном направлении с амплитудой размаха 7-8 см.

Объектами исследований были развивающаяся икра, личинки и молодь русского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii*, Brandt), севрюги (*Acipenser stellatus*, Pallas), стерляди (*Acipenser ruthenus*, Linne), а также гибридов - бестера (гибрида белуги (*H.huso*) х стерлядь (*A.ruthenus*)) и белуги х бестер (табл.1). Эмбриогенез оценивали прижизненно по методу эколого-морфологических исследований осетровых рыб (Детлаф и др., 1981). Морфометрический анализ выполняли под биноклем МБС-10 при помощи окуляр-микрометра по 17 показателям (Ланге, Дмитриева, 1981). Физико-химические параметры водной среды контролировали унифицированными методами.

Экспериментальная группа производителей состояла из 85 зрелых самок русского осетра (*Acipenser gueldenstaedti*, Brandt), заготовленных осенью (табл.1). Прижизненное получение овулированной икры у производителей осуществляли методом подрезания яйцеводов (Подушка, 1996). Кровь для анализа брали прижизненно из хвостовой вены рыб за 2-3 суток до операции и через двое суток после операции.

Перфторан (ОАО НПФ «Перфторан») вводили в хвостовую вену самкам опытной группы по окончании операции в дозе 1,5 мл/кг.

Для сравнения исследовали влияние другого кровезаменителя - полиглюкина (АО «Биохимик»), который вводили из расчета 5 мл/кг массы тела. Гематологические и биохимические показатели крови определяли унифицированными методами. Полученные данные обрабатывали общепринятыми методами статистического анализа (Лакин, 1980) с использованием программы Microsoft Excel. Достоверность отличий сравниваемых признаков оценивали с помощью t-критерия Стьюдента и непараметрическими методами при допустимой вероятности ошибки -  $p < 0,05$ .

Таблица 1. Содержание и объем исследования.

Объект исследования	Вид рыбы или гибридная форма	Кол-во особей, шт	Воздействие	Содержание исследования
Эмбрионы	Русский осетр	8000	ПФД	Оценка выживаемости, стадии и типичности развития.
	Стерлядь	20000		
	Севрюга	20000		
	Белуга х бестер	5600		
Предличинки	Русский осетр	1600	ПФПЦГ, ПФПМТБЦГ, ПФД, ПФТБА	Изучение морфометрических показателей.
	Стерлядь	660		
	Севрюга	384		
Личинки	Русский осетр	480	ПФД	Контроль физико-химических параметров водной среды (кислород, диоксид углерода, ионы аммония, аммиак, нитраты, нитриты, рН)
Молодь	Бестер	80		
	Русский осетр	120		
<b>ИТОГО:</b>		<b>65924</b>		
Зрелые самки	Русский осетр	53	операция	Определение стадии зрелости, длины и массы, продуктивности. Изучение гематологических (гемоглобин, кол-во эритроцитов, лейкоцитарная формула, СОЭ) и биохимических (общий белок, альбумин, липиды, холестерин, триглицериды, бета-липопротеиды, АсАТ, АлАТ)
		13	перфторан	
		19	полиглюкин	
<b>ИТОГО:</b>		<b>85</b>		

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### 1. Влияние ПФОС на выживаемость объектов транспортировки.

В первой серии экспериментов оценивали влияние ПФД на выживаемость личинок и молоди осетровых рыб. При этом в опытной группе доля перфторуглерода в жидкой фазе составляла 10 объемных % (об.%).

В первом эксперименте однодневные личинки русского осетра помещали в герметичные емкости при плотности 200 шт./250 мл. В контроле продолжительность жизни личинок составила 27 часов, тогда как в присутствии ПФД – только 49 часов (рис.1). Т.е., присутствие ПФД в замкнутом пространстве значимо способствовало повышению выживаемости личинок.

В следующем эксперименте оценивали выживаемость молоди русского осетра средней массой 1,2 г при плотности посадки 15шт./л. В контроле продолжительность жизни молоди не превышала 44 часа. В опыте с ПФД время выживания рыб увеличилось до 84 часов (рис.1).

Молодь бестера массой тела 10 г (при плотности 2 шт./л) прожила в контрольной группе – 6 часов, тогда как в емкости с ПФД - 11 часов.

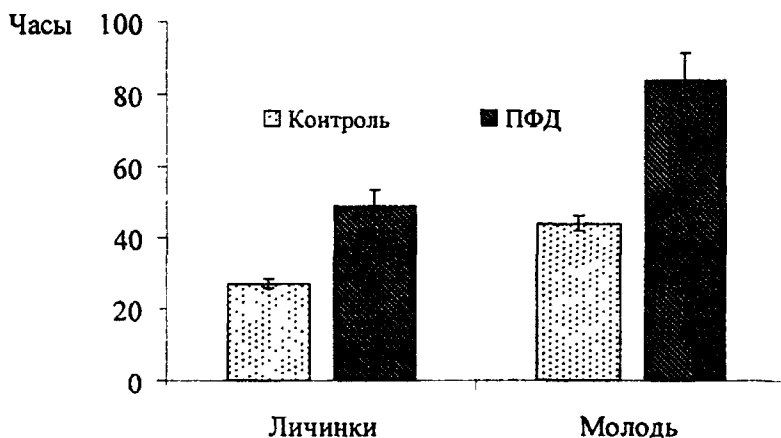


Рисунок 1. Влияние ПФД на продолжительность жизни русского осетра



Таким образом, продолжительность жизни личинок, а также молоди русского осетра и бестера существенно возрастала в присутствии 10 об.% ПФД. В ряде случаев превышение по сравнению с контролем было двукратным.

## 2. Влияние ПФОС на развитие объектов перевозки.

Из опыта исследования перфторана известно, что контакт перфторуглеродов с эмбриональным материалом может приводить к тератогенному и эмбриотоксическому эффекту. Поэтому далее исследовали влияние ПФД на развитие зародышей.

Эмбрионы русского осетра на 21-й стадии развития помещали в закрытую емкость при плотности 1000 шт./100мл и выдерживали в ней в течение 2 суток. В опытной группе доля перфторуглерода в жидкой фазе составляла 10 об.%.

В контрольных емкостях после их вскрытия 98% зародышей находились на 25-й стадии развития, остальные 2% - на 26-й стадии (рис.2).

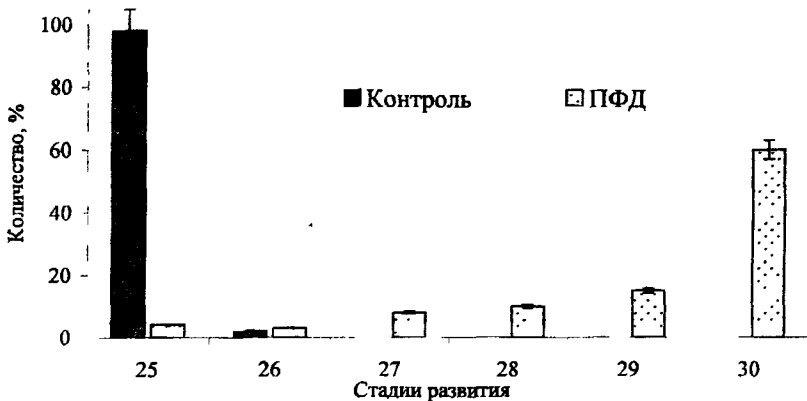


Рисунок 2. Влияние ПФД на скорость развития эмбрионов русского осетра (по стадиям)

При этом у 20 % эмбрионов были обнаружены нарушения развития в виде загиба хвоста. В опытной группе (в присутствии ПФД) 60% достигли 30-й стадии развития, 15% - 29-й стадии, 10% - 28-й стадии, 3% - 26-й стадии, 8% - 27-й стадии и 4% - 25-й стадии эмбрионального развития. Наблюдаемая разница в развитии зародышей является, по-видимому, следствием более благоприятных условий в опыте. Для более детального выявления возможного эффекта ПФД на развитие был выполнен морфометрический анализ эмбрионов стерляди и севрюги. В опыте использовали возрастающие количества ПФД - от 10 до 40 об.% в жидкой фазе. Плотность эмбрионов составляла 1000 шт./100мл. Зародыши стерляди были помещены в емкости на 32-й стадии развития. Через сутки в контрольных емкостях эмбрионы оставались неподвижными, конец хвоста немного заходил за голову, что соответствует 33-й стадии. В присутствии ПФД эмбрионы достигли через сутки 34-й стадии, т.е. зародыши активно двигались в оболочках и конец хвоста достигал начала продолговатого мозга.

В дальнейшем проводили инкубацию стерляди из опытных и контрольных групп в чашках Петри до массового выклева личинок в опытных емкостях, наступившего через двое суток. Эффект улучшения развития и уменьшения количества мертвых эмбрионов отмечен при добавлении всего 10 об.% ПФД. При увеличении доли ПФД в жидкой фазе до 20 об.% отмечен максимальный эффект (рис.3).

Морфологическую оценку предличинок, проводили по 17 показателям (Ланге, Дмитриева, 1982). Развитие предличинок в опытных группах было типичным. Выявлена тенденция к увеличению отдельных показателей по сравнению с контролем. Так, при сравнении группы с 40 об.% перфторуглерода и без него обнаружено увеличение общей длины тела на 9,5%, длины тела на 9,7%, длины туловища на 12,4% и высоты головы на 37,6%.

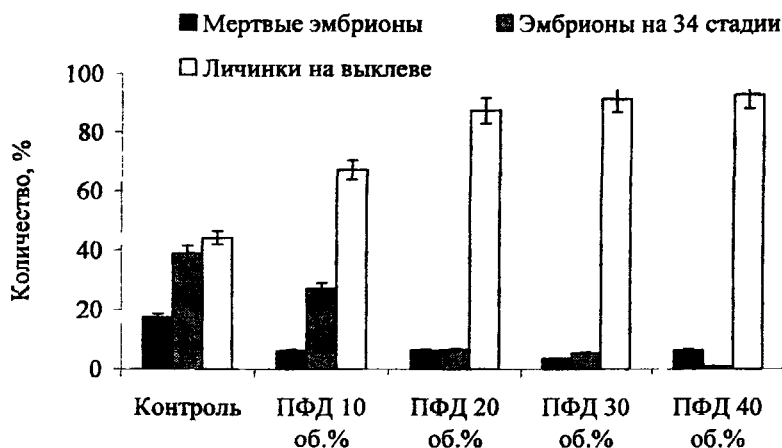


Рисунок 3. Влияние ПФД на эмбриональное развитие стерляди

Отмечено достоверное увеличение наибольшей высоты тела (на 11,4%) и длины головы (на 21%) в тех группах, где содержание ПФД в воде было максимальным (табл.2). Существенно, что контакт эмбрионов с перфторуглеродом ускорил последующее развитие предличинок. Далее был выполнен эксперимент на эмбрионах севрюги. После содержания зародышей, изначально находившихся на 32-й стадии развития, в течение 2-х суток в герметичной емкости в контроле и опытной группе с содержанием ПФД 10 об.% в жидкой фазе все эмбрионы погибли. При увеличении количества ПФД до 20 об.% наблюдался выклев единичных личинок (5%), остальные 65 % находились на 34-й стадии развития и 30 % - на 33-й. В группе с количеством ПФД 30 об.% выклюнувшихся личинок было 15 %, на 34-й стадии – 70 % и на 33-й стадии – 15 % от общего количества заложенной икры. При увеличении количества ПФД до 40 об.% - отмечен массовый выклев (70%), остальные 30 % находились на 34-й стадии. При морфометрическом анализе выявлены тенденции, наблюдавшиеся в предыдущем эксперименте со стерлядью.

Таблица 2. Морфометрические показатели предличинок стерляди,  $M \pm m$  (мм)

Показатели	Контроль	Опытные группы при содержании перфтордекалина в жидкой фазе, об%			
		10	20	30	40
Общая длина тела (L)	9,03±0,21	8,8±0,35	9,38±0,21	8,95±0,20	9,98±0,45
Длина тела (l)	8,83±0,21	8,63±0,34	9,1±0,24	8,73±0,19	9,78±0,45
Длина туловища (ad)	6,0±0,06	5,8±0,21	6,18±0,12	5,8±0,21	6,85±0,21
Наибольшая высота тела (H)	2,33±0,09	2,38±0,05	2,48±0,07	2,43±0,05	2,63±0,09 *
Высота головы (Hceph)	0,83±0,26	1,0±0,04	1,23±0,09	0,95±0,03	1,33±0,03
Длина головы (lceph)	0,83±0,07	0,85±0,09	0,93±0,03	0,88±0,03	1,05±0,05 *

Примечание: \* - достоверное различие с контролем ( $p < 0,05$ )

*Таким образом, добавление ПФД в герметичную емкость при моделировании перевозки эмбрионов русского осетра, стерляди и севрюги способствовало уменьшению гибели и торможения развития зародышей по сравнению с группой контроля. Контакт эмбрионов с ПФД не приводил к развитию уродств и аномалий.*

### 3. Влияние ПФОС на концентрации продуктов метаболизма.

Каковы причины обнаруженных эффектов перфторуглеродов? Считается, и эти представления являются общепризнанными, что перфторуглероды улучшают газообмен. Чтобы убедиться в этом на практике был проведен эксперимент с эмбрионами гибрида белуга х бестер. Цель его состояла в изучении влияния ПФД на химические показатели водной среды при моделировании транспортировки.

Зародыши гибрида находились на 15 стадии развития, плотность их составляла 700 шт./100 мл. Перфторуглерод занимал 40 об.% от жидкой фазы. Спустя 29 часов от начала эксперимента было обнаружено, что в контрольных емкостях 19 % икры было мертвой, у 70 % стадия развития

оценивалась как 16-я, у 11 % - как 17-я. В опытных емкостях 15 % эмбрионов было мертвых, 40 % - на 16-й стадии, 45 % - на 17-й стадии развития. Через двое суток выдерживания в герметических емкостях эмбрионы контрольной группы погибли. В опытной группе 10 % икры было мертвой, 13 % находилось на 16-й стадии и 77 % - на 20-й стадии эмбрионального развития (рис.4).

Содержание *кислорода* в экспериментальных емкостях постепенно снизилось за время инкубации более чем в два раза, изменившись до 17,2 мг/л в опыте и 19,7 мг/л в контроле, однако оставалось достаточно высоким. Для нормальной жизнедеятельности осетровых концентрация кислорода должна быть более 6 мг/л (Привезенцев, 1973).

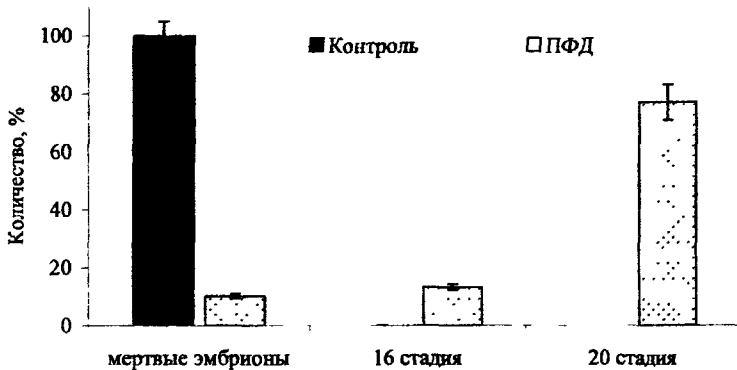


Рисунок 4. Развитие эмбрионов гибрида белуга х бестер спустя 2 суток после начала эксперимента

Концентрация *диоксида углерода* за время эксперимента значительно увеличилась пропорционально длительности инкубации, как в опыте, так и в контроле, достигнув уровня 14,9 мг/л и 17,6 мг/л соответственно. Превышение ПДК (10 мг/л) отмечено уже через 29 часов инкубации.

Таким образом, существенных отличий в газовом режиме между контрольными и опытными емкостями не наблюдалось. Очевидно, что улучшения газообмена в емкостях, содержащих перфторуглерод, не произошло. Это подтверждает и теоретический расчет. При постановке экспериментов мы заменяли воздушную фазу на ПФД. Однако, газовая

емкость перфторуглерода по сравнению с газовой емкостью воздуха в несколько раз меньше. Так, при  $pO_2=760$  мм рт.ст., содержание кислорода в ПФД - 42 об.%, а в воздухе - 100 об.%. Следовательно, если воздушную фазу заменить ПФД, то содержание кислорода уменьшится в 2,5 раза. Остается проверить возможность улучшения гидрохимического режима в результате сорбции перфторуглеродом продуктов метаболизма.

Содержание *ионов аммония* за время инкубации несколько повысилось в опыте и контроле пропорционально длительности эксперимента (до 1,91 мг/л и 2,27 мг/л соответственно). Превышение уровня ПДК (0,5 мг/л) было отмечено через 18 часов после его начала. Содержание *нитритов* увеличилось до 0,14 мг/л в опытных емкостях и до 0,11 мг/л в контрольных. Их уровень оказался выше допустимых величин (0,08 мг/л) уже через 29 часов инкубации в обеих группах. Количество *нитратов* в опыте и контроле оставалось в пределах ПДК (1,0 мг/л) и варьировало до 0,35 и 0,32 мг/л соответственно. Отмечено также уменьшение *pH* среды до 7,3 в опытных и 7,2 в контрольных емкостях. Данные изменения значений находятся в пределах, допустимых для осетровых рыб (7-8), и отражают закономерный сдвиг в кислую сторону.

*Таким образом, при моделировании транспортировки эмбрионов осетровых рыб в герметичной емкости наблюдали возрастание концентрации диоксида углерода со сдвигом pH в кислую сторону, а также некоторое накопление ионов аммония и нитритов. Присутствие ПФД не привело к улучшению газового режима и не повлияло на накопление азотсодержащих продуктов метаболизма.*

#### **4. Зависимость выживаемости объектов перевозки от вида ПФОС.**

Благодаря работам отечественных ученых (Терешина, Доронина, 1999; Образцов и др., 1993) доказано, что ПФОС помимо газотранспортных свойств обладают высокой биологической активностью. В частности, липофильные ПФОС, растворяясь в мембранах клеток и взаимодействуя с гидрофобными участками полиферментных комплексов, модифицируют их функциональную активность. Это проявляется в изменении мембран эритроцитов, активности первого комплекса дыхательной цепи митохондрий, индукции

цитохрома Р-450 по фенobarбитальному типу и торможению продукции активных форм кислорода активированными лейкоцитами. Кроме того, ПФОС и их эмульсии обладают выраженными сорбционными свойствами.

Можно предположить, что решающим фактором при добавлении ПФОС в герметично закрывающийся пакет при транспортировке является взаимодействие перфторуглеродов с мембранами объектов перевозки. Для проверки возможного мембранотропного действия ПФОС были выполнены исследования с тремя липофильными соединениями, имеющими существенные различия в химической структуре, - ПФПЦГ, ПФПМТБЦГ, ПФД и нелипофильным - ПФТБА. Следует отметить, что наряду с относительно высокой липофильностью, взятые перфторуглероды обладают большей по сравнению с перфторированным третичным амином - ПФТБА способностью растворяться (диффундировать) в водной среде. Это происходит, очевидно, вследствие более высокого давления паров. Так, ПФТБА в отличие от ПФД имеет в 6 раз меньшую величину давления пара, в 2 раза более высокую критическую температуру растворения в гексане и в 15 раз хуже растворяется в воде. При этом по кислороду и углекислому газу емкость ПФТБА составляет 96% от газовой емкости ПФД.

Опыт проводили на 20-дневных личинках русского осетра (масса тела - 260 мг) при добавлении в воду 10 и 15 об.% ПФОС (рис.5). Продолжительность жизни личинок в группах с добавлением 10 и 15 об.% ПФПЦГ составила 26 и 28 часов соответственно, выживаемость личинок контрольной группы - 15 часов. В эксперименте с использованием 10 и 15 об.% ПФПМТБЦГ личинки оставались живыми в течение 20,5 и 30 часов соответственно, а в контроле - 14,5 часов. Аналогичная картина повышения выживаемости рыб при увеличении доли перфторуглерода в воде наблюдалась также в эксперименте с ПФД. Так, продолжительность жизни личинок русского осетра в опытных группах составила 22 и 30,5 часов соответственно, в контрольной - 14,5 часов. Обратная тенденция появилась при использовании ПФТБА: в опытных емкостях с меньшим количеством перфторуглерода личинки прожили 14 часов, с большим - 13,5 часов, а в контроле - 15,5 часов.

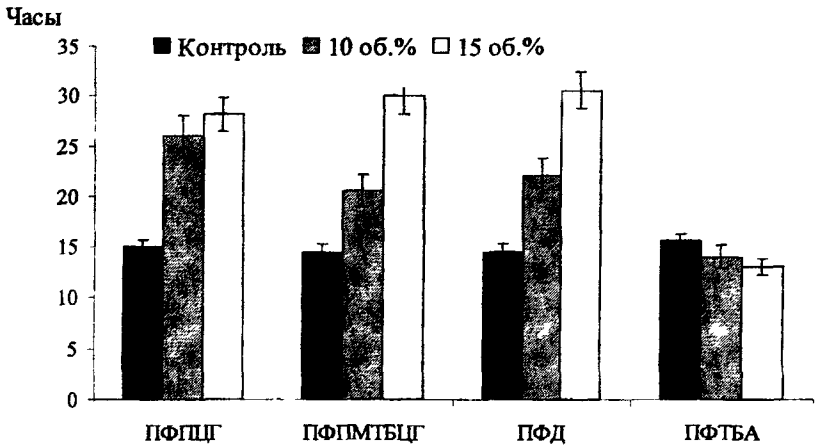


Рисунок 5. Продолжительность жизни личинок русского осетра при использовании различных ПФОС (в часах)

*Следовательно, можно сделать вывод, что главной причиной обнаруженного протективного эффекта является взаимодействие ПФОС с биологическими структурами, а не газовая емкость ПФОС. Реализация этого взаимодействия обусловлена прямым контактом ПФОС с гидробионтами и, по-видимому, способностью перфторуглеродов диффундировать в воду, что важно для личинок и молоди, дышащих через жабры.*

## 5. Реабилитация самок русского осетра после операции прижизненного получения икры.

Влияние операции прижизненного получения икры на физиологическое состояние самок русского осетра оценивалось по анализу крови: 28 особей за 2-3 суток до операции и 25 особей спустя двое суток после операции. Установлено снижение гемоглобина с 77 г/л до 66 г/л (рис.6). У 28% рыб величина этого показателя была менее 60 г/л, что отражает развитие в послеоперационном периоде анемического синдрома, обусловленного кровопотерей. Значение СОЭ в среднем составляло 9 мм/час, что на 29% выше данного показателя до операции. Повышение СОЭ в послеоперационном периоде можно объяснить



развитием воспалительного процесса, анемией, интоксикацией продуктами резорбции икры. Также обнаружено снижение содержания общих липидов, холестерина и белка в сыворотке крови оперированных рыб.

Влияние перфторана изучали на 19 производителях русского осетра (опытная группа – 9 самок, контрольная – 10 самок). Введение эмульсии сопровождалось увеличением концентрации гемоглобина на 25%, уменьшением СОЭ на 16%, и падением активности печеночных аминотрансфераз - АлАТ (на 18,5%) и АсАТ (на 31,5%) (рис.7). Обнаружена тенденция к уменьшению количества нейтрофилов и лимфоцитов. При этом одновременно наблюдались такие же сорбционные эффекты, какие были отмечены Е.В.Тересиной (2003) у теплокровных животных: уменьшение содержания в сыворотке крови общих липидов, холестерина, бета-липопротеидов, а также общего белка и альбумина.

Представляло интерес воздействие на послеоперационных самок другого кровезаменителя – полиглюкина. Группа сравнения состояла из 6 опытных и 7 контрольных рыб. Введение полиглюкина русскому осетру в дозе 5 мл/кг массы тела не привело к положительному эффекту.

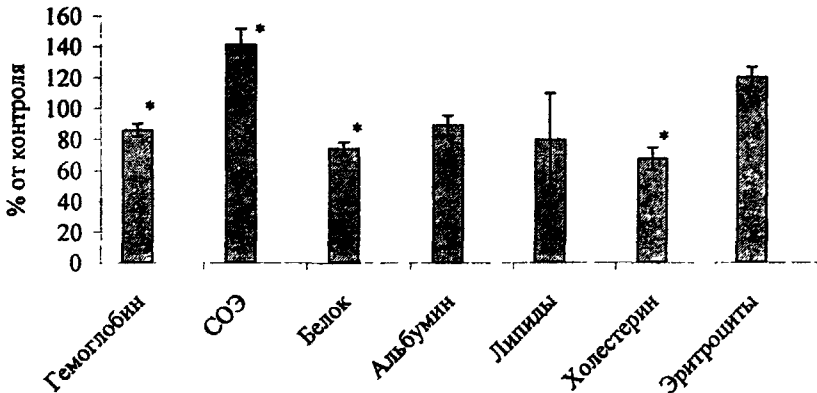


Рисунок 6. Влияние оперативного получения икры на физиологические показатели самок русского осетра

Примечание: \* - достоверное различие с контролем ( $p < 0,05$ )

При анализе показателей достоверных различий между особями «полиглюкиновой» - опытной и контрольной групп выявлено не было, за исключением содержания гемоглобина. Его содержание у самок после

инфузии полиглюкина оказалось достоверно меньше, чем у контрольных ( $p < 0,05$ ) на 25,6%. Возможно это связано с гемодилуцией. Остальные биохимические показатели обеих групп существенно не отличались.

Таким образом, из апробированных кровезаменителей только введение перфторана самкам русского осетра приводит к улучшению их физиологического состояния, что подтверждает достоверное изменение гематологических и биохимических показателей.

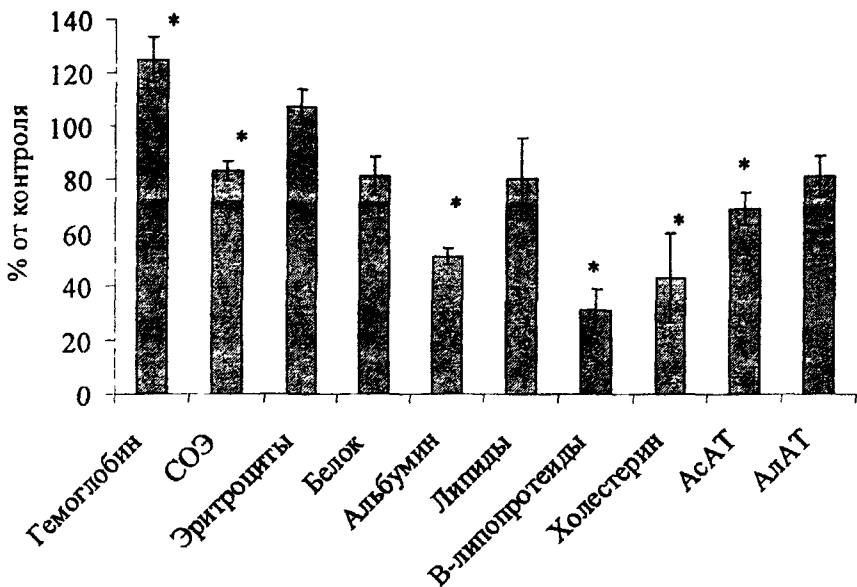


Рисунок 7. Влияние перфторана на физиологические показатели самок русского осетра

Примечание: \* - достоверное различие с контролем ( $p < 0,05$ )

## ВЫВОДЫ

1. Показано, что в присутствии ПФОС в замкнутой емкости выживаемость эмбрионов, личинок и молоди осетровых рыб возрастает почти в 2 раза.

2. Перфторуглероды не повреждают процесс эмбриогенеза. Морфометрический анализ свидетельствует о некотором ускорении роста эмбрионов и личинок по сравнению с группой контроля, т.е. ПФД уменьшает торможение развития эмбрионов при моделировании транспортировки осетровых рыб в герметичных емкостях.

3. Показано, что изменение газообмена и сорбция токсических продуктов метаболизма не являются определяющими факторами в развитии положительного эффекта ПФД. Эффект ПФОС зависит от их количества в водной фазе и их типа. Нелипофильный и слабо диффундирующий через воду ПФТБА не оказывает существенного влияния на выживаемость и развитие эмбрионов, личинок и молоди осетровых рыб, что дает основание связывать позитивное влияние с мембранотропными эффектами перфторуглеродов и их способностью диффундировать через водную среду.

4. Обнаружено ухудшение физиологического состояния самок русского осетра после операции прижизненного получения овулировавшей икры, которое проявляется в снижении концентрации гемоглобина на 14%, повышении СОЭ на 41%, уменьшении общего белка крови и холестерина на 26% и 32% соответственно.

5. Внутривенное введение перфторана прооперированным самкам русского осетра приводит к улучшению их физиологического состояния, что подтверждается повышением концентрации гемоглобина на 25%, снижении СОЭ на 16% и уменьшением активности аминотрансфераз в сыворотке крови (АсАТ – на 31% и АлАТ – на 19%).

6. При внутривенном введении полиглюкина физиологическое состояние оперированных самок существенно не изменилось, за исключением снижения концентрации гемоглобина на 26%.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При транспортировке эмбрионов, личинок и молоди осетровых рыб в герметично закрытых емкостях с водой (полиэтиленовые пакеты) рекомендовано внесение насыщенных кислородом липофильных, имеющих наибольшую способность диффундировать в воду, ПФОС. Добавление 10 об.% и более ПФОС значительно увеличивает выживание и уменьшает торможение развития при перевозке осетровых на ранних этапах онтогенеза.

2. Реабилитация самок русского осетра после операции получения овулировавшей икры должна включать в себя мероприятия, направленные на улучшение их физиологического состояния, максимальное устранение стрессовых факторов, и повышение резистентности рыб к искусственным условиям содержания, что позволит оптимизировать их дальнейшее «одомашнивание». В качестве противошокового и антигипоксического средства рекомендовано введение в хвостовую вену кровезаменителя с газотранспортной функцией – перфторана, в дозе 1,5 мл/кг массы тела. Использование перфторана в послеоперационном периоде приводит к снижению СОЭ и активности аминотрансфераз в сыворотке крови, что указывает на уменьшение повреждения тканей.

### Список опубликованных работ:

1. Лозовская М.В., Лозовский А.Р., Никульшина Г.Н., Шевлякова Н.В., Федосеева Е.А. Влияние биологически активных веществ на выживание и физиологические показатели осетровых рыб на ранних этапах онтогенеза // Ранние этапы развития гидробионтов как основа формирования биопродуктивности и запасов промысловых видов в мировом океане: Материалы Всероссийской конф. – Вопросы рыболовства. – М., 2001. - С. 152-155.

2. Лозовский А.Р., Лозовская М.В., Шевлякова Н.В., Федосеева Е.А. Определение критериев корректирующего отбора осетровых рыб в маточное стадо // Проблемы и перспективы развития аквакультуры в России: Материалы докл. науч.- практ. конф. – Краснодар, 2001. – С. 72-73.

3. Лялькина Е.В., Вихляева И.А., Федосеева Е.А., Шевлякова Н.В., Лозовский А.Р. Физиологическое состояние самок русского осетра *Acipenser gueldenstaedti* Brandt при внесезонном получении половых продуктов // Рыбохозяйственная наука на пути в XXI век: Тез. докл. Всерос. конф. молодых. – Владивосток, 2001. – С. 36-37.

4. Федосеева Е.А., Лозовский А.Р., Шевлякова Н.В. Сезонная динамика содержания белков сыворотки крови у разновозрастных осетровых РМС // Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития: Материалы докл. II Междунар. науч.-практ. конф. – Астрахань, 2001. – С. 39-41.

5. Шевлякова Н.В. Использование перфтордекалина для повышения выживаемости рыб в процессе транспортировки // Рыбохозяйственная наука на пути в XXI век: Тез. докл. Всерос. конф. молодых ученых. – Владивосток, 2001. – С. 154-155.

6. Шевлякова Н.В., Лозовский А.Р., Тяпугин В.В. Влияние перфтордекалина на эмбриогенез и выживаемость молоди рыб в условиях дефицита кислорода // Аквакультура осетровых рыб. Достижения и перспективы развития: Материалы докл. II Междунар. науч.-практ. конф. – Астрахань, 2001. – С. 124.

7. Шевлякова Н.В., Лозовский А.Р., Дегтярева С.С. Темпы роста и физиологическое состояние ремонтно-маточных стад белуги // Биология внутренних вод: проблемы экологии и биоразнообразия: Тез. докл. XII конф. Молодых ученых. – Борок, 2002. – С. 158.

8. Шевлякова Н.В., Лозовский А.Р. Влияние перфтордекалина на эмбриогенез и выживаемость молоди осетровых рыб при моделировании гипоксии // Перфторуглеродные соединения в медицине и биологии: Сб. материалов XII Междунар. конф. – Пушкино, 2002. – С. 154-155.

9. Шевлякова Н.В., Лозовский А.Р. Влияние перфтордекалина на выживаемость и развитие эмбрионов осетровых рыб при транспортировке // Современное состояние рыбоводства на Урале и перспективы его развития: Материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Екатеринбург, 2003. – С. 59-63.

10. Шевлякова Н.В., Лозовский А.Р. Влияние перфтордекалина на гидрохимические показатели при моделировании транспортировки

эмбрионов осетровых рыб // Животные в антропогенном ландшафте: Материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Астрахань, 2003. – С. 115-117.

11. Шевлякова Н.В., Лозовский А.Р. Влияние перфторана на физиологическое состояние самок русского осетра после прижизненного получения овулировавшей икры // Эколого-физиологические проблемы адаптаций: Материалы XI Междунар. симпозиума. – М., 2003. – С. 628-630.

12. Шевлякова Н.В., Лозовский А.Р. Физиологические показатели русского осетра, прооперированного для получения икры после введения перфторана // Перфторуглеродные соединения в медицине и биологии: Сб. материалов XIV Междунар. конф. – Пущино, 2004. – С. 167-171.

13. Шевлякова Н.В., Лозовский А.Р. Влияние перфторорганических соединений на адаптации осетровых рыб при транспортировке и после получения половых продуктов //Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития: Материалы докладов III Междунар. науч.-практ. конф. – Астрахань, 2004. – С. 217-220.

14. Шевлякова Н.В., Чижов А.Я., Маевский Е.И., Лозовский А.Р., Асланиди К.Б. Химически инертные перфторуглероды повышают выживаемость и ускоряют развитие гидробионтов // Перфторуглеродные соединения в медицине и биологии: Сб. материалов XIV Междунар. конф. – Пущино, 2004. – С. 222-227.

15. Шевлякова Н.В., Чижов А.Я., Лозовский А.Р., Маевский Е.И. Использование перфторана для реабилитации самок осетровых рыб после операции прижизненного получения икры // Перфторуглеродные соединения в медицине и биологии: Сб. материалов XIV Междунар. конф. – Пущино, 2004. – С. 234-236.

16. Шевлякова Н.В., Судакова Н.В. Применение кетамина для наркоза осетровых // Рыбоводство и рыболовство. – 1997, №1. – С. 25.

17. Васильева Л.М., Шевлякова Н.В., Шеходанов К.Л., В.Т.Ермилов. Способ транспортировки живой рыбы. Заявка № 2002100291/13(000044) от 3 января 2002 г.

### Список сокращений

ПФОС – полностью фторированные органические соединения

ПФД – перфтордекалин

ПФТБА – перфтортрибутиламин

ПФПЦГ – перфторпропилциклогексаном

ПФПМТБЦГ – перфтор-пара-метилтретбутилциклогексаном

АлАТ – аланиновая аминотрансфераза

АсАТ – аспарагиновая аминотрансфераза

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

#### **Шевлякова Наталья Владимировна (Россия)**

#### **Влияние перфторорганических соединений на эколого-физиологическое состояние осетровых рыб в аквакультуре**

Исследовано влияние полностью фторированных органических соединений на эколого-физиологическое состояние осетровых рыб при транспортировке и после оперативного изъятия овулировавшей икры у производителей. Установлено, что добавление в герметическую емкость липофильных ПФОС повышает выживаемость и уменьшает торможение развития рыб. Впервые показано положительное влияние перфторана при введении его в кровяное русло самкам русского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii*) после прижизненного получения половых продуктов.

#### **Shevlyakova Natalia Vladimirovna (Russia)**

#### **Influence of compound of perfluorocarbon on a ecological-physiological status of sturgeon fishes in aquaculture**

Influence of CPFC on a ecological-physiological status of sturgeon fishes is investigated at transportation and after operative withdrawal of ovulatory eggs from female. It is established, that addition in hermetic capacity of lipophilic CPFC raises survival rate and reduces braking development of fishes. Positive influence of perfforan for the first time is shown at his introduction in a blood of female of the Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) after lifetime withdrawal of ovulatory eggs.

№ - 8473

РНБ Русский фонд

2005-4

5069

Издательство КаспНИРХ  
414056, г. Астрахань, ул. Савушкина, 1  
Подписано в печать 27.04.2004 г.  
Тираж 100. Заказ 073.