

УДК: 628.394.17(262.54)

UDC: 628.394.17(262.54)

ИССЛЕДОВАНИЕ НАКОПЛЕНИЯ ПЕСТИЦИДОВ В ПЕЧЕНИ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ПРОМЫСЛОВЫХ РЫБ АЗОВСКОГО МОРЯ В 2009–2011 ГГ.

PESTICIDE POLLUTION OF THE COASTAL WATERS OF THE TAGANROG AND YASENSKI BAYS OF THE AZOV SEA IN 2009–2011

Бугаев Леонид Анатольевич
к.б.н., доцент

Bugaev Leonid Anatoljevich
Cand.Biol.Sci., associate professor

Войкина Анна Владимировна
аспирант

Voikina Anna Vladimirovna
postgraduate student

Валиуллин Василь Акрамович
к.х.н.

Valiullin Vasil Akramovich
Cand.Chem.Sci.

Смыр Татьяна Михайловна

Smyr Tatiana Mikhailovna

Карпушина Юлия Эдуардовна
Федеральное государственное унитарное предприятие «Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства» (ФГУП «АзНИИРХ»), Ростов-на-Дону, Россия

Karpushina Yulia Eduardovna
Federal State Unitary Enterprise Azov Fisheries Research Institute (FGUP «AzNIRKH»), Rostov-on-Don, Russia

Проведено исследование по оценке уровня накопления ряда современных пестицидов в печени промысловых рыб Азовского моря (бычок кругляк, пиленгас, судак, тарань) в период 2009–2011 гг. Выявлено, что исследуемые пестициды накапливаются в организме рыб, при этом, в весенний сезон уровень накопления поллютантов был выше, чем в осенний. На основе оценки гематологических показателей рыб показано отсутствие выраженных физиологических эффектов на фоне попадания пестицидов внутрь организма в выявленных концентрациях

Residual amounts of pesticides in the coastal water of the Azov Sea were studied in the spring seasons of 2009–2011. The concentrations of the pollutants were determined and the degree of their danger for hydrobionts was assessed. The concentrations of pesticides diluted in the water of the Taganrog Bay and the eastern Azov Sea are shown to be lower than the maximum admissible concentrations set for fishery ponds

Ключевые слова: ПЕСТИЦИДЫ, ПДК, ВЭЖХ, ДЕЙСТВУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА, ПЕСТИЦИДНОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ, АЗОВСКОЕ МОРЕ, БЫЧОК КРУГЛЯК, ПИЛЕНГАС, ТАРАНЬ, СУДАК, ГЕМАТОЛОГИЯ

Keywords: PESTICIDES, MAC, HPLC, ACTIVE INGREDIENTS, PESTICIDE POLLUTION, TAGANROG BAY, YASENSKI BAY

Введение. Интенсивное возделывание сельскохозяйственных культур в Ростовской области и Краснодарском крае невозможно без применения средств защиты растений. По данным исследований сотрудников Федерального научного центра гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана, в Ростовской области в последние годы пестицидная нагрузка на поля составляла около 2 кг/га по действующим веществам [1]. В настоящее время в перечень разрешенных для применения включено более 24 тыс. композиций пестицидов на основе 600 действующих веществ.

Химические вещества, используемые в сельском хозяйстве, в растворенном и твердом виде вносятся в акваторию Азовского моря, где происходит их седиментация в донных отложениях или разбавление в водной массе. Загрязнение моря пестицидами и продуктами их разложения весьма опасно для его нормального биологического функционирования. При рациональном применении химикатов в сельском хозяйстве в водоемы попадает минимальное количество препаратов [2]. Несмотря на сравнительно низкие концентрации в воде и донных отложениях, пестициды могут довольно интенсивно накапливаться в жизненно важных органах и тканях практически всех гидробионтов моря, особенно у рыб, как высшего трофического звена в водных экосистемах. В организм рыб пестициды поступают в основном осмотически через жабры и частично кожу, распределяются по всем органам и тканям, концентрируясь в наибольших количествах во внутренних органах (печени, почках, стенке кишечника, селезенке).

Целью данного исследования являлось выявление уровня накопления пестицидов в печени производителей бычка кругляка, тарани, судака и пиленгаса. Все исследуемые объекты занимают различные экологические ниши в экосистеме Азовского моря, следовательно, степень накопления поллютантов, в том числе и пестицидов, в организмах исследуемых видов рыб зависит от ряда факторов: ареала обитания, миграционной активности, спектров питания и др.

Материалы и методы исследования. Исследования проводились в 2009–2011 гг. в весенний и осенний сезоны в Азовском море и Таганрогском заливе. В полевых условиях производилось первичное обследование рыб, которое заключалось в регистрировании основных изменения внешних покровов и состояния естественных отверстий. При осмотре внутренних органов особое внимание уделялось исследованию печени: устанавливалась её форма и величина, цвет, консистенция,

гиперемия или анемия, кровоизлияния. Сбор морфологических данных включал в себя определение длины тела рыб, массы тушки без внутренних органов, массы печени и расчета индекса печени.

Для химико-токсикологических исследований производился анализ содержания пестицидов в печени рыб. Акцентирование на этом органе связано с тем, что печень в организме играет большую роль по детоксикации вредных веществ, а высокое содержание жира обеспечивает условие для накопления в органе липофильных веществ, к которым относятся и пестициды нового поколения. У выловленных производителей перечисленных выше видов рыб отбирались пробы тканей печени. Печень замораживалась и хранилась при температуре —18 °С для последующего лабораторного анализа.

Экстракция веществ проводилась согласно принятым методикам, описанным в методических указаниях и справочниках по аналитической экотоксикологии [3; 4]. Химический анализ предусматривал количественное определение содержания пестицидов в печени рыб методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Условия хроматографирования были следующие: колонка 4.6×150 мм Reprosil-PUR ODS-3,5 мкм (Элсико, Россия); рабочая длина волны — 230 нм; термостатирование — + 40° С; подвижная фаза: ацетонитрил — 0.005 М ортофосфорная кислота в соотношении 3:2 (по объему) в изократическом режиме; скорость потока 0.6 мл/мин; объем вводимого в хроматограф экстракта пробы — 10 мкл.

Результаты и обсуждение. В ходе токсикологических исследований было обследовано по 30–60 половозрелых особей каждого вида рыб в каждый из сезонов наблюдения.

Патолого-анатомический анализ рыб, как в весенний, так и осенний периоды, показал отсутствие признаков, характерных для острой или хронической интоксикации. К постоянным признакам при большинстве

токсикозов рыб относят различные формы нарушения кровообращения в жаберном аппарате: застой крови, кровоизлияния, токсический отек, увеличение объема и дряблости жабр. Изменений в жаберном аппарате не было обнаружено ни у одной особи. Визуально состояние печени у представителей всех исследуемых видов рыб было удовлетворительным или носило следы травматических нарушений, не связанных с возможной интоксикацией.

Сравнительный анализ морфологических параметров рыб, принадлежащих к разным экологическим группам в период 2009–2011 гг. приведен в таблице 1. Такие показатели, как длина и масса отражали не сезонные особенности популяций рыб, а признаки фактически выловленной для анализа рыбы. Среди морфологических показателей важное внимание уделяется индексу печени, который, как считается, отражает общее состояние особи в аспектах жиронакопления и токсического поражения и, в общем, безотносителен к размерным и массовым характеристикам особи. Из полученных данных видно, что у бычка кругляка и пиленгаса в осенний сезон средние значения индекса печени были достоверно выше, чем в весенний. Это можно объяснить подготовкой к наиболее напряженным и сложным условиям существования в зимний период — синдром зимнего стресса [5]. При этом дисперсии показателей между выборками из разных сезонов не различались. У судака и тарани, напротив, осенние среднегрупповые значения индексов были достоверно ниже весенних.

Корреляционный анализ, направленный на выявление зависимости значений индекса печени от длины тела и массы тушки показал отсутствие линейной связи между показателями. При этом масса печени положительно коррелировала с массой тушки у всех видов рыб ($r = 0,79$), что, можно расценить как один из признаков нормального состояния печени.

Таблица 1 - Морфологические показатели производителей исследуемых видов рыб

Сезон	Длина, см	Масса тушки, г	Масса печени, г	Индекс печени, %
Бычок кругляк				
Весна	15,7±0,3	80,0±4,1	3,2±0,33	3,8±0,20
	13,0–20,4	47,3–146,9	1,2–10,7	2,0–7,3
Осень	14,7±0,2	71,0±3,4	4,6±0,38	5,9±0,31
	11,0–19,5	27,5–143,6	0,7–13,3	1,6–12,0
Пиленгас				
Весна	45,9±0,6	1173±43,5	26,7±1,60	2,2±0,10
	30,1–57,5	310–2460	3,8–63,3	0,3–4,4
Осень	38,4±1,6	806±77,6	22,1±2,19	2,8±0,16
	22,5–50,0	280–1500	5,3–47,5	1,2–4,5
Судак				
Весна	37,9±1,6	676±79,6	13,8±1,76	2,1±0,11
	23,3–57,5	163–2150	3,5–33,5	1,3–3,0
Осень	36,2±1,6	618±71,0	10,4±1,26	1,7±0,08
	25,0–45,0	203–1080	2,7–21,5	1,2–2,8
Тарань				
Весна	17,4±0,19	95±3,5	1,5±0,09	1,5±0,06
	15–22	58,5–209,1	0,4–3,4	0,5–3,3
Осень	19,1±0,49	131,0±8,30	1,7±0,13	1,3±0,09
	15–22	69,4–193,1	0,8–3,1	0,7–2,3

Примечание: числитель — среднее значение, знаменатель — диапазон концентраций min—max.

Степень накопления пестицидов в тканях печени рыб зависит от ряда факторов: концентрации пестицидов в воде и его способности кумулироваться в жиросодержащих тканях, скорости обменных процессов в организме рыб, особенностей гидрологического и гидрохимического режима водоёма, сезона года и др.

В период с 2009 по 2011 гг. в печени у производителей бычка кругляка в весенний сезон были обнаружены пестициды 12 наименований; в осенний также 12 (рис. 1). Видно, что абсолютные значения выявленных

концентраций пестицидов в осенний сезон преобладают по большинству наименований над весенним. Тем не менее, анализируя частоту обнаружения тех или иных пестицидов (табл. 2), следует отметить, что в осенний сезон только имазалил обнаруживался у 55% обследованных рыб, остальные вещества встречались менее, чем в 30% случаев. Весной высокая (более 30% случаев) частота обнаружения была отмечена для ипродиона, метрибузина, пенцикурона, фамоксадона, флумиоксазина. Из всех обнаруженных веществ, наибольшей токсичностью для рыб обладает пестицид имазалил. Таким образом, можно отметить, что весной уровень пестицидного накопления в печени рыб был выше, чем осенью.

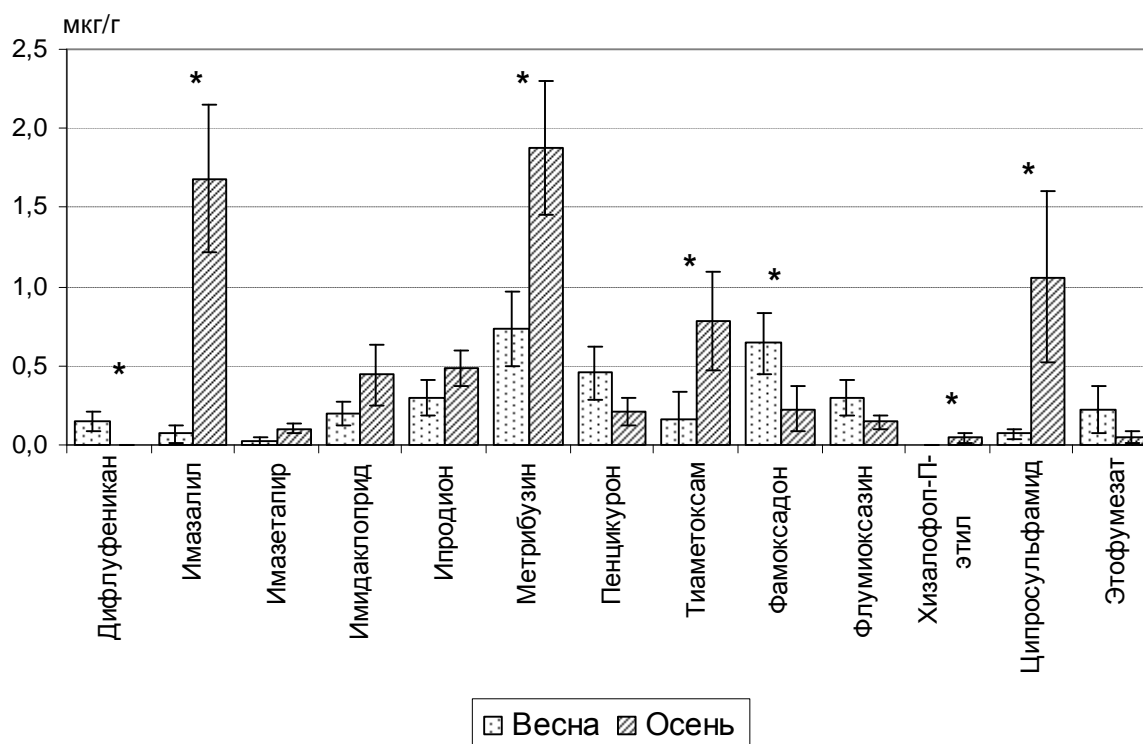


Рис. 1 - Средние значения накопления пестицидов в печени бычка кругляка (мкг/г сырой массы)

Примечание: * — достоверные различия между сезонами ($p < 0,05$)

Таблица 2 - Частота обнаружения пестицидов в печени исследуемых видов рыб в весенний и осенний сезоны 2009–2011 гг.

Сезон наблюдения	Дифлуфеникан	Имазалил	Имазетапир	Имидаклоприд	Ипродион	Метрибузин	Пенцикурон	Тиаметоксам	Фамоксадон	Флумиоксазин	Хизалофоп-П-этил	Ципросульфамид	Этофумезат
Бычок кругляк													
Весна	12%	6%	9%	27%	33%	52%	33%	3%	48%	36%	0%	6%	9%
Осень	0%	55%	21%	28%	26%	29%	10%	7%	5%	19%	5%	28%	3%
Пиленгас													
Весна	7%	11%	29%	11%	13%	55%	16%	3%	11%	29%	14%	36%	34%
Осень	0%	46%	29%	46%	8%	42%	4%	0%	17%	8%	21%	58%	25%
Судак													
Весна	11%	18%	46%	4%	14%	43%	11%	7%	21%	32%	4%	18%	29%
Осень	7%	0%	53%	33%	7%	7%	0%	0%	33%	20%	20%	40%	27%
Гарань													
Весна	22%	22%	24%	26%	26%	39%	52%	2%	43%	43%	2%	26%	20%
Осень	9%	9%	0%	0%	18%	18%	9%	18%	82%	73%	18%	36%	9%

У производителей пиленгаса за период исследования в тканях печени были обнаружены все изучаемые пестициды (рис 2). Уровень накопления пестицидов в печени у рыб в количественном выражении в весенний сезон был выше, чем в осенний по 11 наименованиям (исключение составляли фамоксадон и ципросульфамид) (рис. 2). При этом средние значения обнаруженных концентраций весной были статистически достоверно выше по 8 веществам. Напротив, частота обнаружения отдельных пестицидов была выше осенью (табл. 2). В весенний сезон метрибузин, ципросульфамид и этофумезат встречались массово в обследованной выборке рыб. Осенью высокая частота встречаемости была отмечена для имазазила, имидаклоприда, метрибузина и ципросульаамида. Токсичный имазазил в тканях рыб весной был выявлен единично, а в то время, как в осенний сезон почти в половине случаев. Таким образом, выявляется

неоднозначная картина: с одной стороны, среднегрупповой уровень накопления веществ весной был выше, но доля рыб с обнаруженной интоксикацией по некоторым пестицидам была незначительная.

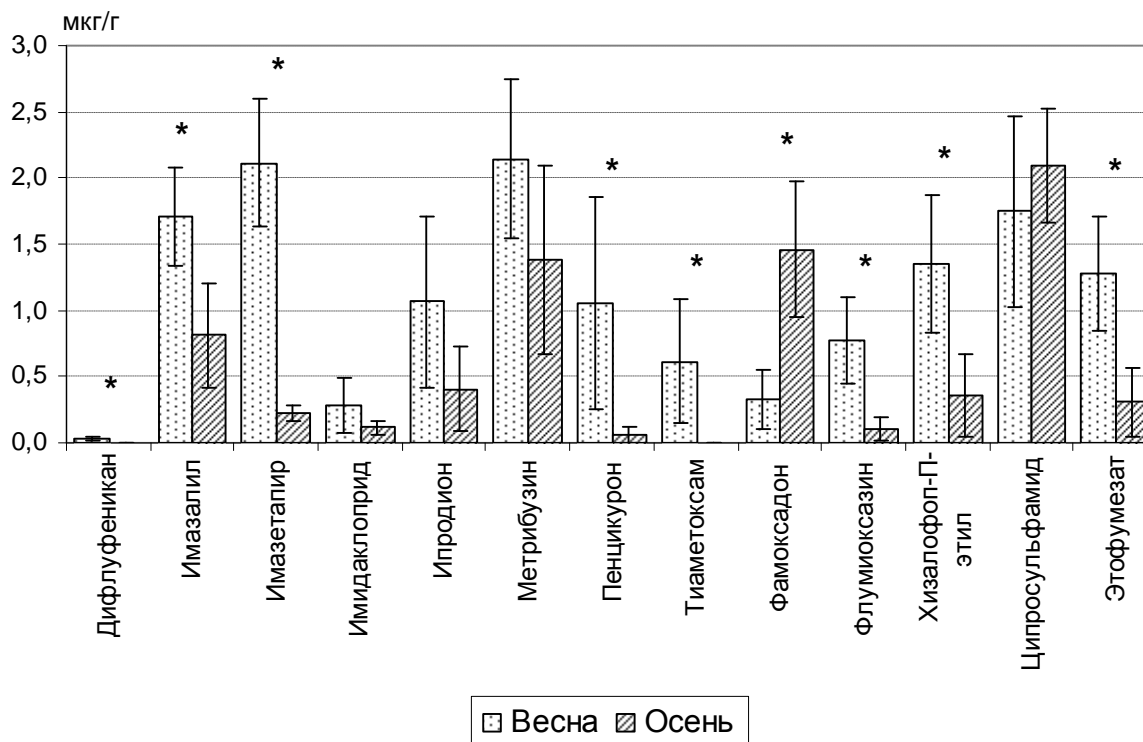


Рис. 2 - Средние значения накопления пестицидов в печени пиленгаса (мкг/г сырой массы)

Примечание: * — достоверные различия между сезонами ($p < 0,05$)

В печени производителей судака в весенний сезон также были обнаружены все исследуемые пестициды. Имазетапир, метрибузин и флумиоксазин обнаруживались в выборке более чем в 30% случаев (табл. 2). Осенью 6 из 13 анализируемых веществ или встречались в печени рыб единично, или вообще отсутствовали. По абсолютным показателям среднегрупповые значения, полученные весной по большинству наименований, были статистически более высокими, чем осенью (рис. 3). Исключение составлял только имидаклоприд, который весной встречался единично. Токсичный имазалил у судака отмечался единично и не определял картины пестицидной интоксикации рыб.

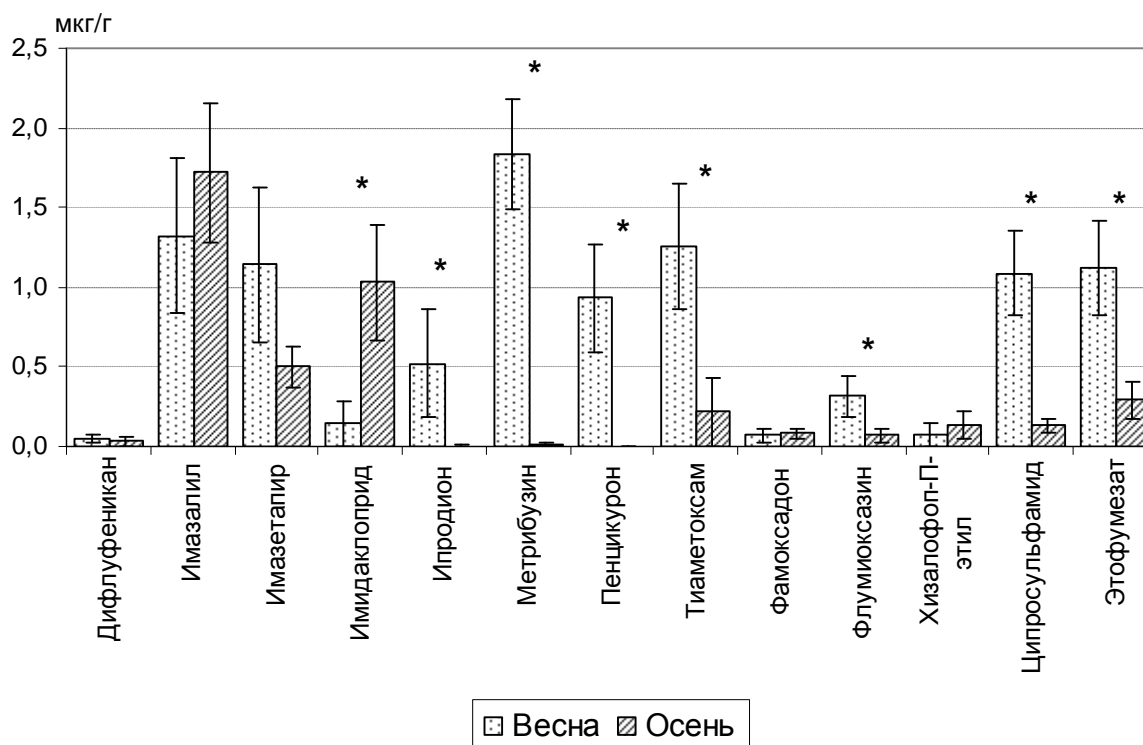


Рис. 3 - Средние значения накопления пестицидов в печени судака (мкг/г сырой массы)

Примечание: * — достоверные различия между сезонами ($p < 0,05$)

У производителей тарани из перечня исследуемых пестицидов в весенний сезон тиаметоксам и хизалофоп-П-этил были отмечены единично, а метрибузин, пенциурон, фамоксадон и флумиоксазин выявлены у более, чем 30% обследованных рыб (табл. 2). В осенний сезон только фамоксадон, флумиоксазин и ципросульфамид имели высокую частоту встречаемости в выборке рыб, остальные вещества обнаруживались единично или отсутствовали. При анализе накопления поллютантов следует отметить, что по тем веществам, которые относительно часто встречались в печени рыб, бóльшие среднегрупповые значения зафиксированы в весенний сезон. Исключение составлял только фамоксадон (рис. 4).

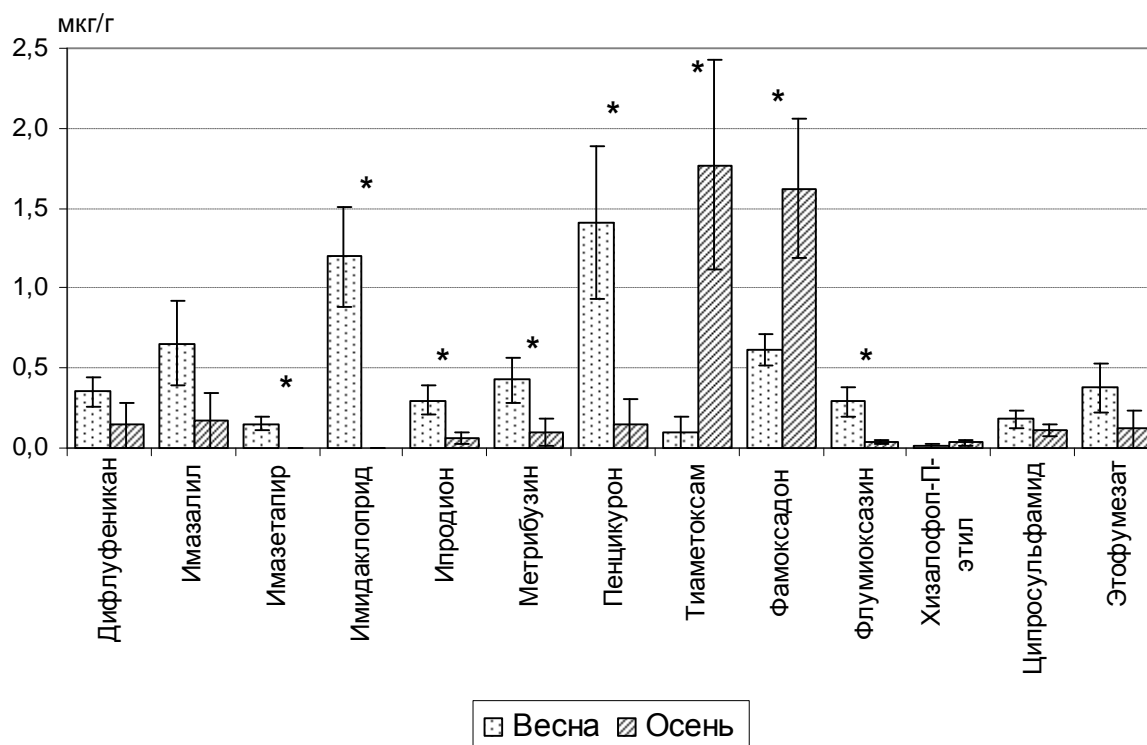


Рис. 4 - Средние значения накопления пестицидов в печени тарани (мкг/г сырой массы)

Примечание: * — достоверные различия между сезонами ($p < 0,05$)

Обобщая полученные данные можно отметить, что наибольший уровень накопления токсических поллютантов в печени рыб всех исследованных видов был отмечен в весенний сезон. Данные факты согласуются с результатами эколого-токсикологических исследований среды обитания гидробионтов: максимальное загрязнение воды и донных отложений любыми группами поллютантов (нефтяные углеводороды, хлорорганические вещества, соли тяжелых металлов и т.д.) выявляется в первой половине весны. Это объясняется сезонными особенностями циркулирования и поступления персистентных веществ в экосистему водоема вместе с талыми поверхностными и грунтовыми водами.

Анализ показал, что в обследованной выборке всех видов рыб наиболее часто встречались метрибузин, флумиоксазин, фамоксадон и ципросульфамид. Общий уровень интоксикации у судака и пиленгаса был ниже, чем у тарани и бычка кругляка. Это можно объяснить тем, что судак

и пиленгас обладают высокой миграционной активностью и способностью избегания участков повышенного загрязнения. Основная часть поколений тарани распределяется в Таганрогском и Ясенском заливах, которые испытывает существенный прессинг антропогенного происхождения. Для бычка кругляка характерен оседлый образ жизни и, соответственно, уязвимость в случае возникновения неблагоприятных ситуаций, связанных с загрязнением, гипоксией, гипертермией и пр. в местах его обитания.

В связи с обнаружением в тканях рыб токсических веществ, закономерен вопрос о влиянии накопления пестицидов на физиологическое состояние рыб. При оценке экологического состояния водоемов, физиологические показатели (данные гематологических исследований, индекс печени и др.), имеют очевидные преимущества, так как непосредственно отражают «ответы» биоты на загрязнение.

Информативную картину для понимания изменчивости морфофизиологических параметров дают гематологические показатели. Известно, что гематологические исследования позволяют установить качественные и количественные изменения форменных элементов крови. Форменные элементы крови при интоксикации подвергаются дистрофии и некробиозу, в эритроцитах регистрируют анизоцитоз, пойкилоцитоз, шистоцитоз, полихромазию и другие патологические изменения.

Оценка состояния производителей бычка кругляка, тарани, судака и пиленгаса по показателям крови свидетельствует о том, что состояние рыб в целом было нормальным (табл. 3). Осенью преобладали нарушения, связанные с водно-солевым обменом и гипоксией, что сопровождалось гипохромазией и набуханием эритроцитов. Причиной подобных отклонений от нормы может выступать аномально жаркие летние сезоны в наблюдаемый период и лето 2010 г. в частности. Нарушений, связанных с токсическим стрессом обнаружено не было.

Таблица 3 - Гематологические показатели бычка кругляка, пиленгаса, судака и тарани

Сезон	ИЭ, %	Лимфоциты, %	Моноциты, %	Нейтрофилы, %	ПЯ, %	Морфологические нарушения эритроцитов, частота встречаемости
Бычок кругляк						
Весна	$2,9 \pm 0,17$	$97,3 \pm 0,20$	$1,1 \pm 0,08$	$0,8 \pm 0,13$	$0,8 \pm 0,10$	гипохромазия (31,4%), пойкилоцитоз (31,4%), смещение ядер эритроцитов (5,7%), набухание эритроцитов (11,4%), шистоцитоз (2,9%)
	1,5–6,4	94–99	0,5–2,0	0,0–3,0	0,0–2,0	
Осень	$2,9 \pm 0,15$	$97,7 \pm 0,13$	$1,0 \pm 0,07$	$0,5 \pm 0,09$	$0,9 \pm 0,08$	гипохромазия (87,5%), пойкилоцитоз (18,8%), анизоцитоз (8,3%), смещение ядер эритроцитов (14,6%), набухание эритроцитов (10,4%), тени ядер эритроцитов (10,4%)
	1,0–5,8	95–100	0,0–2,0	0,0–2,5	0,0–2,0	
Пиленгас						
Весна	$2,8 \pm 0,11$	$97,7 \pm 0,12$	$1,1 \pm 0,07$	$0,6 \pm 0,08$	$0,8 \pm 0,09$	гипохромазия (63,5%), пойкилоцитоз (23,1%), анизоцитоз (1,9%), вакуолизация (3,8%), смещение ядер эритроцитов (5,8%), набухание эритроцитов (13,5%), тени ядер эритроцитов (3,8%)
	1,5–4,2	95–99	0,0–3,5	0,0–2,0	0,0–3,5	
Осень	$2,1 \pm 0,16$	$98,0 \pm 0,14$	$0,9 \pm 0,09$	$0,1 \pm 0,05$	$0,9 \pm 0,12$	гипохромазия (41,7%), пойкилоцитоз (8,3%), смещение ядер эритроцитов (25,0%), набухание эритроцитов (66,7%), тени ядер эритроцитов (20,8%)
	1,0–3,6	97–99	0,0–1,5	0,0–0,5	0,0–2,0	
Судак						
Весна	$3,3 \pm 0,36$	$98,1 \pm 0,21$	$0,9 \pm 0,09$	$0,5 \pm 0,16$	$0,5 \pm 0,14$	гипохромазия (86,7%), набухание эритроцитов (6,7%), тени ядер эритроцитов (6,7%)
	1,5–6,4	96–99	0,5–1,5	0,0–1,5	0,0–1,5	
Осень	$2,8 \pm 0,42$	$97,7 \pm 0,18$	$1,1 \pm 0,09$	$0,4 \pm 0,12$	$0,7 \pm 0,17$	гипохромазия (81,3%), пойкилоцитоз (25,0%), вакуолизация (6,3%), коагуляция цитоплазмы эритроцитов (6,3%), смещение ядер эритроцитов (6,3%), набухание эритроцитов (56,3%)
	1,0–8,1	96–99	0,5–2,0	0,0–1,5	0,0–1,5	

Таблица 3 (Продолжение)

Тарань						
Весна	$2,5 \pm 0,14$ 0,0–5,3	$97,6 \pm 0,15$ 94–100	$0,9 \pm 0,08$ 0,0–3,0	$0,5 \pm 0,07$ 0,0–2,0	$0,9 \pm 0,07$ 0,0–2,0	гипохромазия (20,4%), пойкилоцитоз (18,4%), коагуляция цитоплазмы эритроцитов (2,0%), смещение ядер эритроцитов (10,2%), набухание эритроцитов (8,2%)
Осень	$2,8 \pm 0,41$ 1,0–5,8	$98,0 \pm 0,22$ 96,5–99,0	$0,8 \pm 0,14$ 0,0–1,5	$0,5 \pm 0,17$ 0,0–1,5	$0,7 \pm 0,14$ 0,0–1,5	гипохромазия (54,5%), набухание эритроцитов (27,3%)

Примечание: ИЭ — интенсивность эритропоэза; ПЯ — полиморфно-ядерные клетки; числитель — среднее значение, знаменатель — диапазон концентраций min—max;

Заключение. Анализ токсикологического состояния бычка кругляка, тарани, судака и пиленгаса позволяет сделать заключение о том, что современный уровень пестицидного загрязнения акватории Азовского моря не оказывает выраженного негативного влияния на физиологическое состояние исследуемых видов рыб. Тем не менее, несмотря на небольшую историю применения этих пестицидов в сельском хозяйстве, обнаружение их в тканях рыб является сигналом для актуализации мониторинговых наблюдений с целью предотвращения отрицательных влияний на количественные и качественные параметры экосистемы Азовского моря.

Список литературы

1. Ракитский В.Н., Сеницкая Т.А. Ассортиментный индекс пестицидной нагрузки территорий в системе социально-гигиенического мониторинга // Гигиена и санитария, 2004, № 5. С. 38–40.
2. Санитарная охрана внешней среды / Под ред. В.А. Руденко. Л., 1974. 191 с.
3. Другов Ю.С., Родин А.А. Пробоподготовка в экологическом анализе. С-Пб: «Анатолия», 2002. 755 с.
4. Другов Ю.С., Родин А.А. Экологическая аналитическая химия. С-Пб: «Анатолия», 2002. 464 с.
5. Lemly A.D. Metabolic stress during winter increases the toxicity of selenium to fish. *Aquat. Toxicol.* 1993, vol. 27. Pp. 133–158.