

УДК 597.5.591.5.6

**СОСТОЯНИЕ ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ РЫБ
ИЗ ОЗЕР КОЖАНОВСКОЕ (РОССИЯ) И СВЯТОЕ (БЕЛОРУССИЯ),
ЗАГРЯЗНЕННЫХ РАДИОНУКЛИДАМИ В РЕЗУЛЬТАТЕ АВАРИИ
НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС***Н.В. Белова, Н.Г. Емельянова, А.П. Макеева (МГУ), И.Н. Рябов (ИПЭЭ РАН)*

Начатые по инициативе Г.С. Карзинкина исследования в области радиэкологии рыб были связаны с решением ряда проблем их физиологии. Впоследствии они были продолжены и расширены его учениками. Определенное внимание проблемам влияния радиоактивного загрязнения водоемов на репродуктивную и другие системы органов рыб уделяла И.А. Шеханова.

В связи с аварией на Чернобыльской АЭС (ЧАЭС) аналогичные работы стали проводиться и сотрудниками кафедры ихтиологии МГУ. Выброс радиоактивного материала в результате этой аварии привел к загрязнению многих водных экосистем, в частности, на территориях России и Белоруссии. Исследованию состояния репродуктивной системы рыб, населяющих два сильно загрязненных радионуклидами озера — Кожановское (Россия) и Святое (Белоруссия), оценке влияния высоких концентраций радиоцезия в их теле на воспроизводительную систему и посвящена настоящая статья.

Материал и методика. Оз. Кожановское (Брянская область, площадь 6 км², 210 км от ЧАЭС, загрязнение окружающей территории радионуклидами составило 20–39 Ки/км²) и оз. Святое (Могилевская обл., площадь 0,25 км², 225 км от ЧАЭС, зона отселения, загрязнение более 40 Ки/км²) — небольшие бессточные водоемы, расположенные в болотистой местности. Содержание в воде ионов калия, биологическим аналогом которого является цезий, низкое — 2,6 мг/л и 1,0 мг/л соответственно. Исследования, начатые на озерах Кожановское в 1992 г., Святое в 1997 г, выявили очень высокое содержание ¹³⁷Cs в мышцах рыб, превосходящее в несколько раз такое у рыб из водоема-охладителя ЧАЭС в соответствующие периоды [Кудельский и др., 1998; Ryabov et al., 1996, 1998].

Сбор материала для гистологического анализа гонад рыб из озера Кожановское проводили в апреле, июле 1993 г.; в октябре 1997 г.; в мае, сентябре 1998 г.; в мае 1999 г. Весной 1998 г. паводковые и дождевые воды разрушили дамбу между озером Кожановское и соседним водоемом, где содержание радионуклидов в воде, донных отложениях и гидробионтах было существенно ниже. Это привело к некоторому снижению их концентрации и в воде озера, и в обитающих в нем гидробионтах (табл. 1).

Сбор материала из озера Святое проведен осенью 1997 г.; в мае, сентябре 1998 г.; в мае 1999 г. На этом озере в 1998 г. был осуществлен эксперимент по выяснению влияния увеличения содержания ионов калия в воде на концентрацию радиоцезия в теле рыб, для этого зимой в водоем внесли калийные соли из расчета повышения концентрации K⁺ до 5 мг/л [Смит и др., 2000]. В результате опыта содержание ¹³⁷Cs в теле рыб этого водоема осенью 1998, весной 1999 гг. снизилось в 1,5–2,0 раза (табл. 2).

Общие биологические показатели рыб из озера Кожановское

Дата	Длина, мм		Масса, г			Пол (число рыб)	Возраст, лет	Концентрация ¹³⁷ Cs, Бк/кг сырой массы
	L	l	общая	без внутренностей	гонад			
<i>Серебряный карась</i>								
10.04.93	<u>174,5</u> 174-175	<u>139,5</u> 138-141	<u>90,0</u> 88-92	<u>75,5</u> 73-78	-	Самки (6)	4.-5.	12100
1.07.93	<u>310,2</u> 180-387	<u>252,1</u> 147-317	<u>622,8</u> 94-1080	<u>534,1</u> 78-925	-	"- (16)	4.-9.	<u>10760</u> 6500-15600
3.10.97	<u>307,3</u> 293-319	<u>255,0</u> 243-263	<u>667,5</u> 517-822	<u>539,8</u> 429-648	<u>38,6</u> 26-57	"- (4*)	5+-6+	<u>7735</u> 6850-9760
17.05.98	<u>305,3</u> 257-348	<u>252,3</u> 208-288	<u>571,0</u> 307-820	<u>478,7</u> 242-682	<u>50,3</u> 28-78	"- (3)	5.-7.	<u>15148</u> 15165-15130
17.09.98	<u>314,0</u> 290-360	<u>263,2</u> 243-302	<u>730,8</u> 564-1945	<u>590,0</u> 457-826	<u>39,6</u> 25-75	"- (5)	4+-7+	<u>6530</u> 5640-7380
13.05.99	<u>283,3</u> 239-333	<u>232,3</u> 195-267	<u>413,5</u> 275-686	<u>348,8</u> 215-561	<u>56,7</u> 36-84	"- (12)	4.-8.	<u>1635</u> 610-8900
<i>Золотой карась</i>								
3.10.97	208	173	230	199	5	Самка (1)	3+	10110
17.05.98	197	163	182	160	8	Самец (1)	4.	11370
<i>Плотва</i>								
10.04.93	252	205	197	148	35	Самка (1)	4.	11150
<i>Лещ</i>								
3.10.97	416	335	796	734	14	Самец (1)	6+	4785
13.05.99	440	360	1010	918	6	"- (1)	8.	5765
<i>Щука</i>								
1.07.93	535	475	1250	1133	-	Самка (1)	4+	32910
	600	530	1425	1327	-	Самец (1)	4+	44390
3.10.97	<u>444,5</u> 359-530	<u>389,5</u> 315-464	<u>601,5</u> 290-913	<u>539,5</u> 253-826	<u>17,0</u> 8-26	Самка (2)	2+-3+	<u>160120</u> 15019-17230
17.09.98	<u>631,7</u> 535-775	<u>562,7</u> 473-694	<u>1915,3</u> 981-3631	<u>1699,0</u> 899-3154	<u>50,0</u> 16-111	"- (3)	3+, 6+	<u>20840</u> 19200-21920
	617	538	1452	1309	56	Самец III-IV(1)	4+	35370

* В табл. 1 и 2 — особи с асимметричными гонадами.

Примечание. В табл. 1 и 2 над чертой приведены средние значения показателей, под чертой — их колебания.

Объектами исследования служили: серебряный *Carassius auratus gibelio* и золотой *C. carassius* караси, лещ *Abramis brama*, плотва *Rutilus rutilus*, линь *Tinca tinca*, щука *Esox lucius*, окунь *Perca fluviatilis*. Были определены биологические показатели рыб, исследованы гистологически гонады, а также установлена концентрация ¹³⁷Cs в их теле (см. табл. 1 и 2).

Для световой микроскопии фрагменты гонад фиксировали в жидкости Буэна. Приготовление гистологических препаратов осуществляли общепринятыми методами, срезы окрашивали железным гематоксилином по Гейденгайну и по Маллори [Роскин, Левинсон, 1957]. Фотографирование препаратов проводили на микроскопе KARL ZEISS с фотонасадкой. Для электронной микроскопии фрагменты гонад фиксировали в 2,5%-ном растворе глутарового альдегида на фосфатном буфере при pH 7,3 с постфиксацией в 1%-ном растворе четырехокси- осмия. Дальнейшую обработку осуществляли общепринятыми методами [Уикли, 1975]. Просмотр и фотографирование препаратов проводили на электронном микроскопе Jem-100 В фирмы «Jeol». Содержание ¹³⁷Cs в пробах рыб определено Л.А. Пельгуновой (ИПЭЭ РАН) по γ -излучению на сцинтилляционном счетчике RFT 20026, работающем в режиме анализатора. Концентрация этого радионуклида рассчитана на 1 кг сырой массы (с.м.) пробы. Определение возраста рыб по чешуе проведено сотрудником этого же института Н.И. Поляковой.

Общие биологические показатели рыб из оз. Святое

Таблица 2

Дата	Длина, мм		Масса, г			Пол (число рыб)	Возраст, лет	Концентрация ¹³⁷ Cs, Бк/кг сы- рой массы
	L	l	общая	без внутренностей	гонад			
<i>Серебряный карась</i>								
1.10.97	<u>270.5</u> 213-328	<u>223.0</u> 173-273	<u>484.5</u> 186-783	<u>393.0</u> 159-627	<u>27.5</u> 2-53	Самки (2)	3+, 5+	<u>18740</u> 18080-19400
19.05.98	<u>251.0</u> 220-282	<u>207.0</u> 181-233	<u>331.5</u> 211-452	<u>265.5</u> 169-362	<u>37.0</u> 19-55	— (2)	4., 6.	<u>24535</u> 20360-28705
15.09.98	<u>207.0</u> 193-223	<u>170.7</u> 159-178	<u>198.3</u> 170-225	<u>164.5</u> 138-188	<u>4.5</u> 3-6	— (6)	2+-3+	<u>10750</u> 9920-11980
12.05.99	<u>199.6</u> 159-233	<u>165.6</u> 133-197	<u>175.2</u> 83-262	<u>143.6</u> 71-218	<u>16.7</u> 3-22	— (5)	3.-5.	<u>8735</u> 8345-9120
<i>Плотва</i>								
30.09.97	<u>146.0</u> 142-149	<u>115.0</u> 112-118	<u>25.5</u> 22-29	<u>23.0</u> 20-26	-	Самцы (2)	3+, 3+	16280
	<u>148.7</u> 139-160	<u>118.0</u> 111-126	<u>26.0</u> 23-30	<u>23.0</u> 20-27	<u>1.0</u> 1-1	Самки (3)	3+	<u>16460</u> 16280-16640
14.05.98	252	203	169	150	-	Самка (1)	7.	17199
15.09.98	<u>166.5</u> 161-172	<u>132.5</u> 128-137	<u>39.5</u> 35-44	<u>34.53</u> 0-39	<u>2.0</u> 2-2	Самки (2)	3+-4+, 4+	11350
	164	134	35	32	-	Самец (1)	4+	11350
11.05.99	<u>199.6</u> 167-270	<u>159.7</u> 133-220	<u>72.7</u> 37-157	<u>64.1</u> 33-140	<u>3.4</u> <1-8	Самки (7*)	4.-7.	<u>6650</u> 4190-8075
<i>Линь</i>								
16.05.98	<u>226.5</u> 222-231	<u>189.5</u> 187-192	<u>156.5</u> 144-169	<u>142.0</u> 131-153	-	Самцы (2)	-	<u>11175</u> 8715-13630
15.09.98	<u>265.5</u> 242-289	<u>223.5</u> 204-243	<u>260.0</u> 184-336	<u>240.0</u> 170-310	<u>0.5</u> <1-1	Самцы (2)	-	<u>5460</u> 4320-6600
11.05.99	<u>290.8</u> 214-348	<u>247.3</u> 178-297	<u>407.5</u> 122-664	<u>346.0</u> 108-561	<u>18.3</u> 1-38	Самки (4)	7.-8.	<u>5550</u> 4795-6030
	<u>302.0</u> 288-318	<u>255.3</u> 243-269	<u>394.7</u> 307-498	<u>356.0</u> 274-449	<u>0.5</u> <1-1	Самцы (3)	7.	<u>4955</u> 4190-4690
<i>Щука</i>								
30.09.97	850	755	3995	3602	91	Самка (1*)	7+	48730
10.05.99	553	491	1053	972	5	Самка (1)	6.	24075
<i>Окунь</i>								
1.10.97	174 90	148 76	55 7	50 6	- 1	Самка (1) Самец (1)	- -	27720 27720
19.05.98	<u>341.0</u> 334-348	<u>298.5</u> 290-307	<u>556.0</u> 498-614	<u>484.0</u> 428-540	<u>5.0</u> 5-5	Самки (2)	7., 10.	<u>90375</u> 74250-106500
15.09.98	<u>271.5</u> 251-292	<u>240.0</u> 218-252	<u>247.0</u> 191-303	<u>210.0</u> 165-255	<u>14.0</u> 10-18	Самки (2)	-	<u>58040</u> 51650-64470
	<u>143.0</u> 133-153	<u>124.0</u> 116-132	<u>34.5</u> 27-42	<u>28.5</u> 22-35	<u>4.5</u> 4-5	Самцы (2)	3+	7560
11.05.99	<u>308.9</u> 243-358	<u>269.3</u> 213-310	<u>395.1</u> 168-681	<u>348.3</u> 158-598	<u>3.4</u> 1-6	Самки (8)	-	<u>52475</u> 37860-71380
	210	<u>193.5</u> 180-207	<u>128.5</u> 97-160	<u>111.5</u> 90-133	<u>0.8</u> <1-1	Самцы (2)	-	<u>32560</u> 30930-34190

Результаты гистологического анализа гонад рыб приведены по срокам сбора материала в сопоставлении с содержанием в мышцах ¹³⁷Cs.

Состояние гонад рыб озера Кожановское. Серебряный карась. В озере Кожановское серебряный карась исходно представлен однополой популяцией — самками. Все исследованные особи были половозрелыми, в возрасте 4–9 лет, преобладали 5–7-летние рыбы. Карась принадлежит к порционнерестящимся рыбам, обычно у него формируется 2–3 генерации половых клеток. Нерест происходит в мае – июле. В 1993 г. в мышцах серебряного карася отмечено очень высокое содержание радиоцезия (см. табл. 1). Гонады всех 6-ти самок в

конце апреля находились на III стадии зрелости. Четких нарушений морфологии ооцитов не обнаружено только у одной самки, у остальных 5-ти они наблюдались у небольшого числа клеток. Нарушения выражались в образовании довольно больших полостей в толще цитоплазмы, обычно около ядра; появлении в цитоплазме мелких округлых структур (телец), окрашенных немного темнее цитоплазмы. Встречались также единичные ооциты с вакуолями, заполненными плотным содержимым и расположенными по всей толще цитоплазмы.

В июле 1993 г., судя по состоянию половых желез при визуальном их осмотре у 16-ти самок, 6 особей принимали участие в нересте. Гонады их находились на VI–III стадии зрелости, но на гистологических срезах остатков пустых фолликулов не обнаружено вследствие их быстрой резорбции летом. У этих особей отмечены аномалии морфологии небольшого числа ооцитов разных фаз вакуолизации: разрушение части вакуолей, потеря ими округлой формы или их слияние, наличие мелких округлых телец. Аномальные превителлогенные ооциты единичны.

Остальные самки имели гонады IV стадии зрелости. В ооцитах старшей генерации отмечены изменения, характерные для перезревающих невыметанных клеток — перемещение кортикальных альвеол в толщу цитоплазмы и размещение их между гранулами желтка, слияние последних, утолщение и изменение структуры лучистой оболочки, у части ооцитов происходило разрушение ядра, увеличения размеров фолликулярных клеток не отмечено. У 4-х особей доля таких ооцитов достигала 90%.

Весной (в мае 1998–1999 гг., n=15) у большинства самок гонады находились на IV стадии зрелости. Две особи, судя по наличию в гонадах пустых фолликулов, выметали первую порцию икры. Осенью (1997–1998 гг.) гонады рыб были на III (n=2) и III–IV (n=7) стадиях зрелости.

Все исследованные самки серебряного карася, несмотря на радиационно неблагоприятные условия обитания, сохранили способность к воспроизводству. Аномалий тела и внутренних органов у них не отмечено, лишь у 1-й особи обнаружены асимметричные яичники III–IV стадии зрелости (1997 г.), масса которых составила 41 и 0,5 г.

За все годы исследований нарушения морфологии половых клеток отмечены у большинства самок. У 11-ти особей, имевших гонады IV стадии зрелости, наблюдали нарушения морфологии заполненных желтком ооцитов. Аномалии значительного числа превителлогенных ооцитов, выражавшиеся в деструктивных изменениях цитоплазмы и появлении в ядрах крупных (гигантских) ядершек обнаружены у 1-й особи. Почти у всех самок в цитоплазме единичных (1993 г.) или большинства (1997–1999 гг.) ооцитов фаз вакуолизации отмечены мелкие округлые темноокрашенные тельца, происхождение которых осталось неясным (рис. 1, А). В целом, число аномальных клеток у самок невелико, за исключением 13-ти особей, у которых деструкционными процессами затронуто значительное число ооцитов.

Таким образом, из 46-ти исследованных самок почти у всех обнаружены те или иные изменения в состоянии ооцитов. Отметим, что существенные аномалии большого числа половых клеток в выборке рыб 1993 г. практически отсутствовали, в последующие годы число особей с заметной долей поврежденных ооцитов возросло, особенно в 1999 г., хотя содержание радиоцезия в теле рыб вследствие временного очищения водоема было существенно ниже, чем в предыдущие годы.

Золотой карась. Самка золотого карася (осенью 1997 г.) имела гонады на III–IV стадии зрелости. Нарушения морфологии отмечены почти во всех половых клетках разных фаз развития. В ооцитах начала вакуолизации обнаружены, как и в ооцитах серебряного карася, темноокрашенные округлые тельца. Самые крупные желтковые ооциты подвергались деструкции, нормального процесса их резорбции не наблюдалось вследствие дисфункции фолликулярных клеток, которая была подтверждена изучением их ультраструктуры. В цитоплазме этих клеток обнаружены аномалии — вакуолеподобные структуры (см. рис. 1, Б). Образование их, по-видимому, связано с разрушением митохондрий. Во многих превителлогенных ооцитах наблюдались деструктивные изменения цитоплазмы. В фолликулярных клетках этих ооцитов также отмечены на-

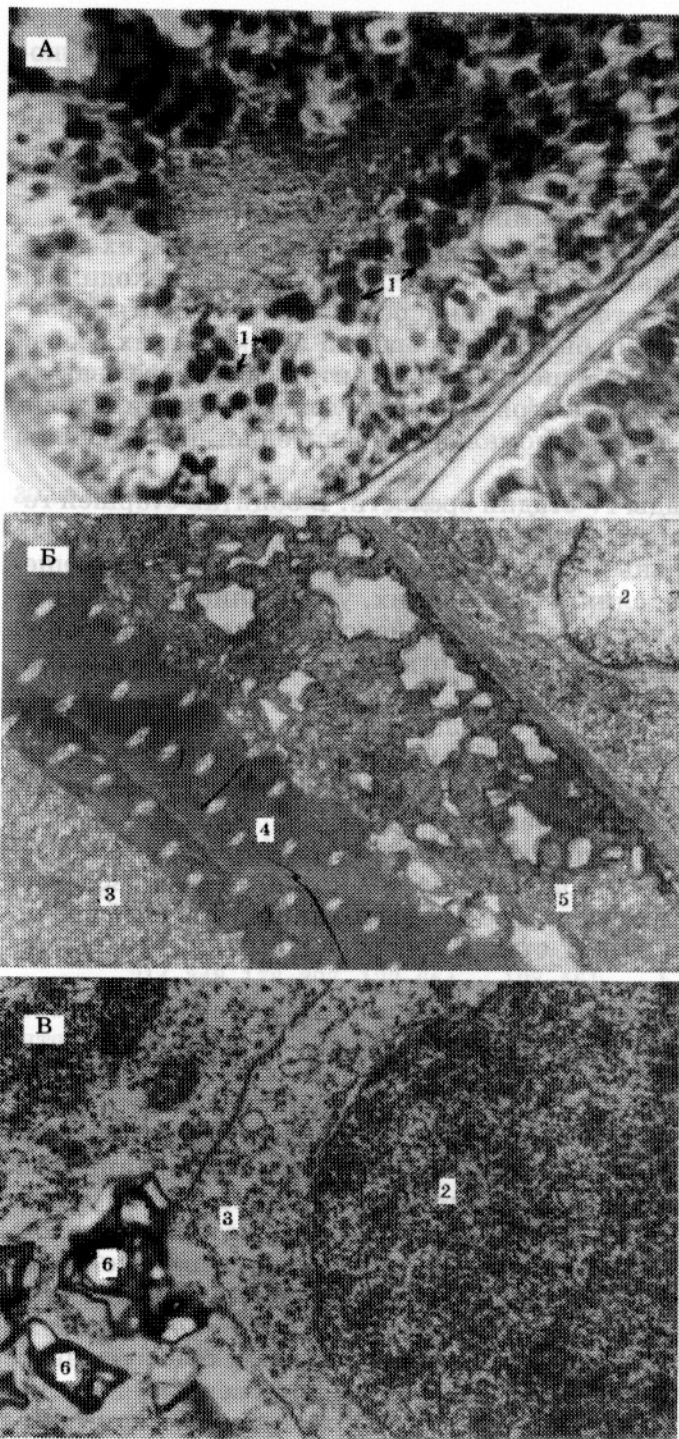


Рис. 1. Половые клетки с нарушениями морфологии у серебряного (А) и золотого (Б, В) карасей озера Кожановское: 1 — темноокрашенные округлые тельца; 2 — ядро; 3 — цитоплазма; 4 — лучистая оболочка; 5 — фолликулярные клетки, в которых видны вакуолеподобные структуры; 6 — миелиновое тельце. А — ув. об.40х, ок.7. Б, В — ув.10000

ток у этого самца можно характеризовать как глубоко аномальное. Содержание радиоцезия в его мышцах составляло около 6 кБк/кг с.м., до очищения озера оно было, вероятно, выше.

Плотва. Исследованы гонады IV стадии зрелости одной самки плотвы (апрель 1993 г.). Нарушения морфологии отмечены лишь в единичных желтковых ооцитах.

рушения — осветление цитоплазматического матрикса, появление крупных вакуолей и миелиновых телец. Наличие большого числа нарушений ооцитов у этой самки связано со значительным радиационным воздействием — содержание в мышцах радиоцезия составляло 10 кБк/кг с.м.

У самца (в мае 1998 г.) заметных нарушений половых клеток в гонадах IV стадии зрелости на уровне светового микроскопа не обнаружено. В ультраструктуре же некоторых сперматоцитов отмечен ряд аномалий: бреши в ядерных мембранах и плазмалемме, появление в цитоплазме миелиновых телец — продуктов деструкции клеточных органелл (см. рис. 1,В). В морфологии спермиев нарушений не отмечено. Концентрация радиоцезия в теле этой особи была высокой (11,4 кБк/кг с.м.).

Лещ. Исследованы 2 самца (в октябре 1997 г., мае 1999 г.). Первый имел возраст 6+, гонады на II стадии зрелости, аномалий половых клеток на уровне светового микроскопа не обнаружено.

Второй самец 8-годовалого возраста был того же поколения, что и первый. Один из участков его семенника представлен лишь спавшимися канальцами, в которых отсутствовали половые клетки (частичная стерильность) (рис. 2). В другой части гонады сохранились цисты с половыми клетками, но все они находились в состоянии деструкции. Исследованный на электронном микроскопе участок семенника содержал клетки стромы, многочисленные коллагеновые волокна и разрушающиеся сперматогонии. Состояние гонад и половых клеток

Щука. Исследованная в июле 1993 г. самка принимала участие в нересте. Аномалий ооцитов цитоплазматического роста не отмечено.

Отловленные осенью 1997–1998 гг. самки (5 экз.) имели гонады III и III–IV стадий зрелости. У всех особей выявлены различные аномалии в строении клеток. У 2-х самок основная масса половых клеток развивалась нормально. Концентрация ^{137}Cs в мышцах этих рыб была минимальной среди изученных щук (в среднем 16,1 кБк/кг с.м.). У остальных особей нарушения морфологии наблюдались в большинстве ооцитов периодов пре- и вителлогенеза. В вителлогенных ооцитах это обусловлено или началом резорбции, в связи с чем произошло увеличение фолликулярных клеток большинства ооцитов, или с деструктивными изменениями. В результате последних на срезах гонад встречались клеточный детрит с остатками яйцевых оболочек, желтка и полости, возникшие, вероятно, после гибели ооцитов.

Нарушения превителлогенных ооцитов выражались в появлении укрупненных ядрышек, фрагментации и отшнуровывании цитоплазмы, в далеко зашедших случаях наблюдалось полное слияние содержимого клеток.

Гонады одного самца (июль 1993 г.) находились на II, другого (сентябрь 1998 г.) на III–IV стадии зрелости. У 2-го самца имелись отдельные цисты, в которых клетки подвергались деструкции, и полости между половыми клетками и цистами, образовавшиеся на месте гибели части этих клеток. Эта особь имела высокую — 35,4 кБк/кг с.м.-концентрацию радиоцезия в мышцах.

Таким образом, в 1993 г. у 2-х особей щуки существенных нарушений морфологии половых клеток и желез не отмечено (табл. 3), а из 6-ти рыб в 1997–1998 гг. аномалии значительного числа половых клеток наблюдались у 4–3-х самок и 1-го самца.



Рис. 2. Микроструктура семенника леща из озера Кожановское. Видны каналы без половых клеток или с поврежденными клетками. Ув. об.40х, ок.7х

Таблица 3

Число (%) нарушений морфологии половых клеток и желез у рыб озера Кожановское и Святое в разные годы исследований

Рыбы	Состояние гонад			n
	норма	частичные аномалии	глубокие аномалии	
<i>1993 г. озеро Кожановское</i>				
Щука	2 (100)	0 (0)	0 (0)	2
Серебряный карась	20 (90,9)	2 (9,1)	0 (0)	22
<i>Суммарно 1997–1999 гг. озеро Кожановское</i>				
Щука	2 (33,3)	2 (33,3)	2 (33,3)	6
Серебряный и Золотой караси, лещ	15 (53,6)	12 (42,8)	1 (3,6)	28
<i>Суммарно 1997–1999 гг. озеро Святое</i>				
Щука	0 (0)	0 (0)	2 (100)	2
Серебряный карась, плотва, линь	20 (47,6)	10 (23,8)	12 (28,6)	42
Окунь	15 (83,3)	1 (5,6)	2 (11,1)	18

Примечание. Авторы отдают отчет в том, что в ряде случаев, когда число рыб мало, определение процента особей с нормальным или аномальным состоянием гонад не совсем корректно, но мы сочли необходимым это сделать для сравнительного анализа данных.

Состояние гонад рыб озера Святое. Серебряный карась. В озере Святое этот вид также представлен только самками, в гонадах которых формируется 2–3 генерации ооцитов. Осенью (1997–1998 гг.) исследовано 8 особей, гонады 6-ти рыб находились на III стадии зрелости. В большинстве ооцитов разных фаз вакуолизации наблюдались многочисленные темноокрашенные тельца; между ооцитами находился клеточный детрит, а иногда и сжатые яйцевые оболочки. В ультраструктуре некоторых ооцитов обнаружены нарушения: в ядрах отмечены ламеллярные тельца (рис. 3,А), как правило, редко встречающиеся в них; часть митохондрий преобразовалась в вакуолеподобные структуры. Нарушения обнаружены и в фолликулярных клетках: митохондрии с разрушающимися кристами, многочисленные полости и вакуолеподобные структуры, возникшие, вероятно, в результате разбухания и деструкции митохондрий и каких-то других мембранных оргanelл. У всех самок имелись anomalies морфологии небольшого числа превителлогенных ооцитов.

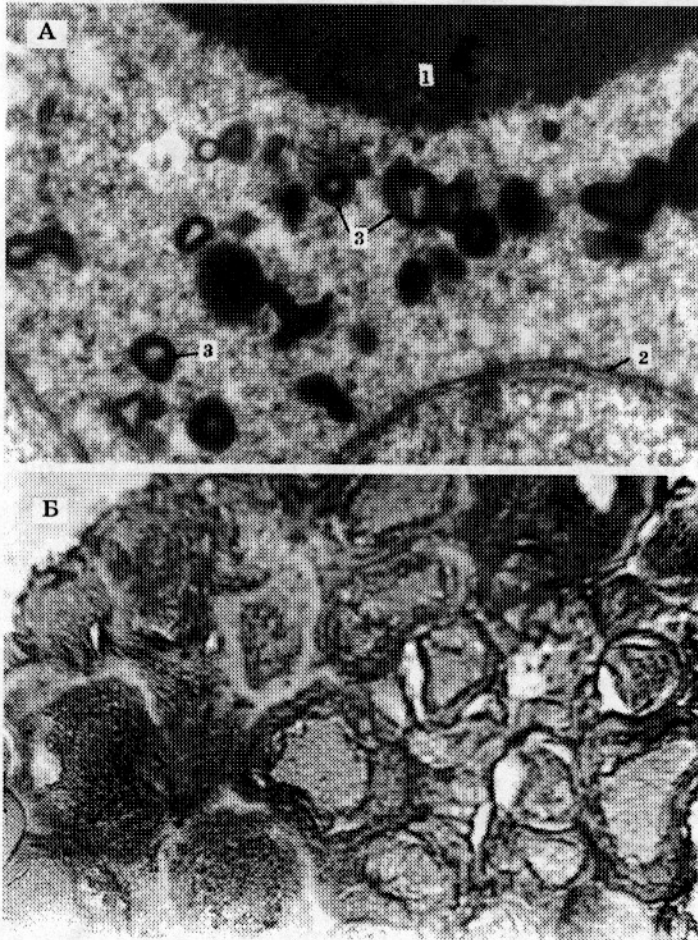


Рис. 3. Микроструктура поврежденных половых клеток у серебряного карася озера Святое: А — ультраструктура фрагмента ядра ооцита с миелиновыми тельцами (ув.20000); Б — тотальная деструкция превителлогенных ооцитов (ув.об.40х, ок.7х): 1 — ядрышко; 2 — ядерная мембрана; 3 — ламеллярные тельца

У 2-х других самок гонады находились на II и III–IV стадиях зрелости. У первой особи почти все превителлогенные ооциты имели нарушения (см. рис. 3,Б), выражавшиеся в деструкции ядра и цитоплазмы, а в некоторых участках гонад появились даже полости от исчезнувших ооцитов. У 2-й самки anomalies отмечены лишь в единичных клетках.

В мае (1998–1999 гг.) исследовали гонады 6-ти самок (III и III–IV стадии зрелости). У всех особей отмечено незначительное число ооцитов разных фаз развития, подвергшихся резорбции и содержащих темноокрашенные тельца. Содержание ^{137}Cs в мышцах рыб было высоким (см. табл. 2).

В заключение отметим, что из 15-ти самок серебряного карася озера Святое глубокие anomalies гонад отмечены лишь у 1-й особи (II стадия зрелости) и у 6-ти — anomalies значительного числа половых клеток.

Плотва. Осенью (1997–1998 гг.) изучены 5 самок, имевших гонады разных стадий зрелости: III–IV ($n=3$), VI–II ($n=1$) и IV ($n=1$). У трех особей (2 экз. III–IV и VI–II стадиях зрелости) отмечено значительное число аномальных превителлогенных ооцитов. В яичниках отнерестившейся самки обнаружены также участки с большим количеством соединительнотканых волокон и клеточным детритом. Нарушения морфологии ооцитов периода вителлогенеза (около 1/3 клеток) отмечены у 2-х рыб с гонадами на III–IV стадии зрелости, а у не нерестившейся особи (IV стадии зрелости) в процессе деструкции находились все желтковые ооциты.

В мае (1998–1999 гг.) проанализировано 8 самок, 4 из них уже принимали участие в нересте. Отмечены нарушения морфологии значительного числа ооцитов цитоплазматического роста у 1-й из отнерестившихся особей (она имела также асимметричные гонады). Аномалии в ультраструктуре таких клеток выражались в расширении периооцитного пространства и наличии в нем миелиновых телец. В небольшом числе поврежденных превителлогенных ооцитов одной из самок, имевшей гонады IV стадии зрелости ($n = 3$), отмечено появление укрупненных ядрышек, округлых полостей в цитоплазме, создающих впечатлительные пены, и плотных округлых телец (как в ооцитах карасей).

Одна из наиболее крупных рыб (возраст около 10 лет) характеризовалась полной деструкцией всех половых клеток (рис. 4). Вокруг ооцитов в несколько слоев расположены соединительнотканые волокна — происходило замещение половых клеток соединительной тканью. Учитывая, что единичные ооциты цитоплазматического роста также аномальны, можно полагать, что это приведет к стерильности гонад. Несмотря на то, что у этой самки отмечены наиболее глубокие нарушения морфологии гонад, концентрация ^{137}Cs у нее почти в 2 раза ниже, чем у других особей в этой выборке (в среднем 7,3 кБк/кг с.м.). Возможно, она была сильно облучена в раннем возрасте, в результате чего произошли глубокие нарушения в состоянии гонад.

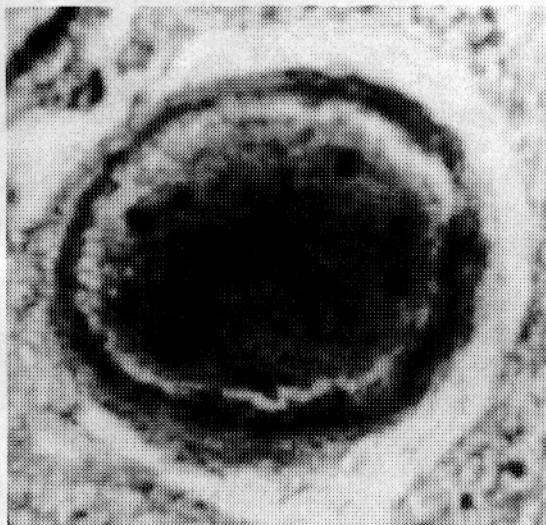


Рис. 4. Деструктивные изменения ооцита плотвы из озера Святое (ув. об.40х. ок.7х)

Осенью (1997–1998 гг.) изучены гонады 3-х самцов, находившиеся на II–III и II стадиях зрелости.

Все самцы половозрелые, так как хорошо выражены просветы канальцев, а у одного в них отмечены и единичные спермии. У 2-х самцов по периферии или в центре семенника обнаружены цисты с разрушающимися половыми клетками, ядра которых четко не видны.

Таким образом, из 16-ти особей плотвы озера Святое у 7-ми отмечены весьма значительные нарушения морфологии половых клеток и желез.

Линь. В мае 1999 г. исследовали гонады 4-х самок линя (III и III–IV стадий зрелости). У одной из них почти все ооциты были повреждены: они имели извилистые контуры и деструктивные изменения цитоплазмы. Электронномикроскопические исследования показали, что в периферической цитоплазме ооцитов фазы вакуолизации присутствовали электронопрозрачные вакуолеподобные структуры неправильной формы, по-видимому, образовавшиеся в результате деструкции митохондрий (рис. 5,А). Подобные структуры находились и в фолликулярных клетках. Эта особь испытала значительное радиационное воздействие, концентрация ^{137}Cs у нее была наибольшей среди самок (6,0 кБк/кг с.м.).

У самцов линя весной (1998–1999 гг.) гонады находились на III ($n = 4$) и II ($n = 1$) стадиях зрелости. У первых 4-х особей в ампулах семенника обнаружены единичные ооциты периода цитоплазматического роста (см. рис. 5,Б), у последней — часть гонады оказалась почти стерильной. Она представлена разросшимися соединительноткаными стенками канальцев, в которых изредка встречались сперматогонии. В прилегающих к стерильной части гонады цистах отмечены деструкция сперматогониев, а также участок, содержащий аномальные ооциты цитоплазматического роста. Электронномикроскопически исследован фрагмент семенника III стадии зрелости. Почти все половые клетки находились в состоянии деструкции, выразившейся в разрывах мембран ядра и плазмалеммы, наличии ламеллярных телец. Многочисленные скопления этих телец образуются на месте разрушившихся половых клеток. Лишь крупные первичные гонии не имели четко выраженных нарушений. Концентрация ^{137}Cs в мышцах этих самцов колебалась от 4,8 до 11,2 кБк/кг с.м.

Осенью 1998 г. гонады 2-х самцов находились на II стадии зрелости и имели значительные нарушения — среди сперматогониев также обнаружены единичные превителлогенные ооциты и происходила деструкция значительного числа мужских половых клеток.

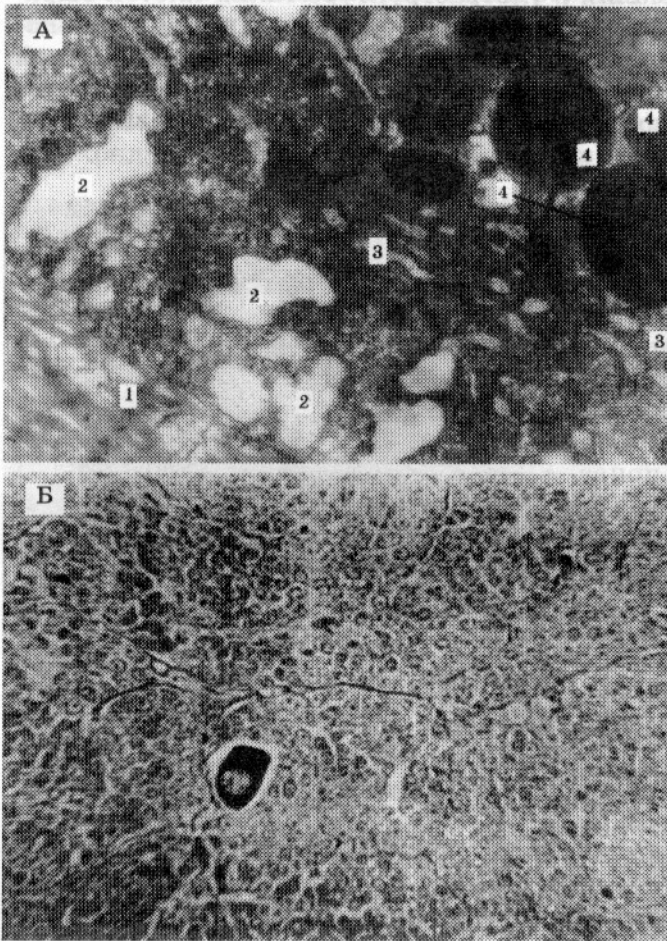


Рис. 5. Аномальные половые клетки линя из озера Святое: А — ультраструктура фрагмента вителлогенного ооцита (ув. 15000); Б — ооцит в сперматогенной ткани (ув. ок. 40х, об. 7х): 1 — оболочка ооцита; 2 — вакуолеподобная структура в цитоплазме; 3 — эндоплазматическая сеть; 4 — гранулы желтка

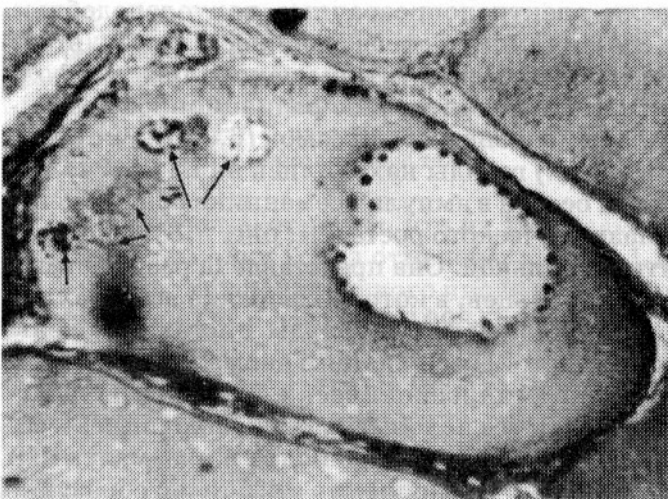


Рис. 6. Микроспоридии (отмечены стрелками) в превителлогенном ооците щуки из озера Святое (ув. об. 40х, ок. 7х)

Таким образом, у всех самцов линя (7 экз.) отмечены глубокие аномалии в состоянии гонад — появление среди сперматогенной ткани половых клеток другого пола, частичная стерильность и деструкция значительного числа половых клеток.

Щука. Исследовано 2 самки щуки. У одной (сентябрь 1997 г.) гонады асимметричны и имели сильно выраженные сужения — «перехваты». Эта особь принимала участие в нересте, но в гонадах ее сохранилось много желтковых ооцитов, которые имели нарушения морфологии. Фолликулярные клетки несколько увеличены, но резорбция с их участием не происходила. Содержимое некоторых желтковых ооцитов излилось в полость железы, а среди клеточного детрита располагались сильно утолщенные лучистые оболочки, они же обнаружены в местах сужений гонад. Основную часть половых клеток в этих участках составляли превителлогенные ооциты, многие из них были аномальны — имели грубозернистую цитоплазму, разрушенные ядерные мембраны, гигантские ядрышки. Содержание ^{137}Cs в мышцах щуки было очень высоким — 48,7 кБк/кг с.м.

У 2-й самки (май 1999 г.) все желтковые ооциты находились в глубокой деструкции. Большинство превителлогенных ооцитов также подверглось разрушениям. В цитоплазме некоторых клеток обнаружены одноклеточные паразиты — микроспоридии (рис. 6). Особенность гонад этой особи состояла в обилии кровеносных сосудов.

Таким образом, половые железы обеих самок щуки имели глубокие аномалии

как внешней морфологии, так и строения половых клеток всех периодов развития.

Окунь. Из 3-х самок (осень 1997–1998 гг.) одна не принимала участия в нересте текущего года. В вителлогенных ооцитах произошло слияние желтка в единую массу, кортикальные альвеолы неравномерно располагались в цитоплазме, имелись и другие нарушения. Многие превителлогенные ооциты также имели деструктивные изменения, вследствие чего часть клеток погибла, и на их месте образовались полости. У остальных самок (III–IV стадия зрелости гонад) четко выраженных аномалий половых клеток не отмечено.

В мае (1998–1999 гг.) проанализировано 10 самок, 9 из них имели гонады на VI–II и VI–III стадиях зрелости, т.е. принимали участие в нересте. Аномалий ооцитов фазы начала вакуолизации не обнаружено. Небольшая часть превителлогенных клеток имела признаки деструкции — плотные зернистые скопления в цитоплазме. На ультратонком уровне в цитоплазме этих ооцитов отмечены миелиновые тельца. Последние были обнаружены и в фолликулярных клетках.

Одна же особь из 10-ти оказалась практически стерильной (содержание ^{137}Cs 106,6 кБк/кг с.м. — самое высокое среди всех изученных рыб). Основная часть гонад представлена соединительной тканью, и лишь в передней части одной из них сохранились две небольшие яйценозные пластинки с превителлогенными ооцитами. Некоторые из них аномальны — имели «пенистую» цитоплазму.

Осенью (1997–1998 гг.) гонады 3-х самцов находились на IV стадии зрелости, в отдельных цистах отмечена деструкция половых клеток. У проанализированных весной 1999 г. 2-х самцов, принимавших участие в нересте, в семенных канальцах сохранилось небольшое число спермиев. На уровне светового микроскопа нарушений морфологии половых клеток не отмечено.

Таким образом, среди 18-ти исследованных особей окуня лишь у двух обнаружены глубокие нарушения гонад, хотя содержание ^{137}Cs в теле у рыб этого вида самое высокое.

Обсуждение. Анализ литературы по воздействию ионизирующей радиации на рыб показывает, что влияние этого фактора весьма разнообразно. Оно может привести к летальному исходу для особей, нарушениям их внешнего строения и морфологии внутренних органов, строения и функций воспроизводительной и эндокринной систем. Известны случаи развития у рыб асимметричных гонад, имеющих иногда неправильную или даже необычную форму, появления стерильных и гермафродитных особей, снижения плодовитости, нарушения морфологии половых клеток [Головинская, Ромашов, 1958; Черфас, 1962; Шеханова, 1983; Чмилевский, Мельникова, 1988; Белова и др., 1993, 1998а, 1998б; Макеева и др., 1994, 1996; Веригин и др., 1996; Петриков и др., 1997; Рябов, 1997, 1998; Петухов, Кохненко, 1998]. Такое многообразие влияния радиационного фактора на воспроизводительную систему обусловлено различиями в ее морфофункциональном состоянии в момент воздействия. Известно, что наиболее чувствительны к действию экстремальных факторов половые клетки в состоянии повышенной физиологической активности, а именно — размножающиеся и вступающие в профазу мейоза гонии и ооциты раннего превителлогенеза [Чмилевский, 2000].

Проводя в течение ряда лет исследования воспроизводительной системы дальневосточных акклиматизантов — белого и пестрого толстолобиков — в садковом хозяйстве на водоеме-охладителе ЧАЭС в послеварийный период, мы отмечали у этих видов все указанные выше нарушения воспроизводительной системы вплоть до появления стерильных и гермафродитных особей. Облученные рыбы с сохранившимися неповрежденными половыми клетками вследствие высокой репаративной способности гонад достигли половой зрелости и после гормональных воздействий продуцировали половые продукты [Веригин и др., 1996]. Высокая радиорезистентность отмечена также у серебряного карася из водоема в зоне ЧАЭС [Городилов и др., 1990].

Озера Кожановское и Святое подверглись сильному радиационному воздействию в год аварии и первый период после нее, но его уровень и степень летальности среди гидробионтов остались неизвестными. Наши исследования были начаты в озере Кожановское через 7 и в озере Святое через 11 лет после аварии.

В связи с этим в нашем распоряжении в основном были потомки облученных в 1986 г. рыб. Исключение составляли 7–9-летние особи серебряного карася в 1993 г. из первого озера. Среди исследованных рыб отсутствовали особи с аномалиями тела и плавников, не исключено, что вследствие их гибели. Нарушения внешней морфологии гонад у рыб этих озер встречаются редко. Глубоких аномалий гонад, приведших к появлению полностью стерильных особей, пока не обнаружено. Частичная же стерильность половых желез встречается довольно часто, особенно у рыб из озера Святое. Сопоставление количества аномалий половых клеток у хищника-щуки и мирных рыб выявило некоторую тенденцию к увеличению их числа у первой, что, очевидно, связано с более высокой дозой их внутреннего облучения (высокая концентрация ^{137}Cs в мышцах) за счет питания рыбой (см. табл. 3). Обращает на себя внимание тот факт, что у окуня, крупные особи которого являются хищниками, а содержание радиоцезия в их теле наибольшее, число аномалий половых желез невелико по сравнению с их числом у хищника щуки. Вероятно, это объясняется высокой радиорезистентностью этого вида. Среди мирных рыб максимальное число нарушений гонад отмечено у линя, по-видимому, в результате большего внешнего облучения рыб от радионуклидов донных отложений, вблизи которых этот вид проводит значительную часть жизни.

При сравнении этого же показателя у рыб разных озер прослеживается положительная зависимость частоты аномалий гонад от степени загрязнения водоема радионуклидами: выше загрязнение — больше нарушений морфологии половых клеток и желез (см. табл. 3).

В ы в о д ы . Подводя итоги исследованиям репродуктивной системы рыб, обитавших в загрязненных радионуклидами озерах, отметим следующие характерные нарушения.

1. Значительная асимметрия и неправильная форма гонад, что было обнаружено у 3-х рыб — серебряного карася озера Кожановское, щуки и плотвы озера Святое.

2. Стерилизация гонад вследствие деструкции и элиминации половых клеток при разрастании и замещении их соединительноткаными элементами как у самок, так и у самцов: лещ озера Кожановское, плотва, линь, окунь озера Святое.

3. Появление в семенниках ооцитов, отмеченное у всех исследованных самцов линей озера Святое.

4. Тотальная или частичная деструкция ооцитов периода вителлогенеза. Нарушения морфологии желтковых ооцитов могут быть вызваны разными причинами. Одной из них является тотальная резорбция невыметанных ооцитов, являющаяся нормальным адаптивным процессом при отсутствии условий для нереста. У серебряного карася, в частности, это может происходить из-за сокращения числа самцов других карповых рыб (возможно, вследствие радиационного фактора), необходимых для гиногенетического размножения самок этого вида. Другой причиной деструкции вителлогенных ооцитов является нарушение функции фолликулярных клеток под воздействием облучения. Это подтверждено электронномикроскопическими исследованиями этих клеток, выявившими существенные изменения их ультраструктуры. Вместо атретических тел, образующихся в результате нормальной резорбции вителлогенных ооцитов, при деструкции клеток с хорошо сформированными яйцевыми оболочками на гистологических срезах гонад обнаруживается клеточный детрит с остатками этих оболочек.

Вероятно, с облучением рыб связано появление мелких темноокрашенных телец в цитоплазме ооцитов периода вителлогенеза у самок карасей и плотвы. В публикациях по оогенезу этих видов рыб в условиях нормального радиационного фона аналогичные образования не отмечены [Статова, 1965, 1968, 1970, 1975; Кошелев, 1984].

5. Деструкция значительного числа превителлогенных ооцитов. Это выразилось в отмишивании цитоплазмы, появлении в ней грубозернистых, хаотично расположенных участков, иногда полостей, исчезновении оболочки ядра, слиянии и укрупнении ядрышек. На ультратонком уровне наблюдались дезин-

теграция мембран различных органелл, митохондриальных крист, образование миелиновых телец в периооцитном пространстве, а также цитоплазме половых и фолликулярных клеток, появление в них вакуолеподобных структур.

Нарушения морфологии половых клеток у самцов на уровне светового микроскопа также наблюдались, однако при этом обнаруживались лишь глубоко зашедшие изменения, тогда как их начальные фазы выявлялись только с помощью электронномикроскопических исследований. Этим объясняется тот факт, что нарушения гонад у самок разных видов рыб в связи с большими размерами их половых клеток заметнее, чем у самцов, хотя радиопоражаемость семенников обычно больше, чем яичников [Шеханова, 1983; Белова и др., 1993, 1998а; Макеева и др., 1994; Веригин и др., 1996; Solberg, 1938].

Обобщая результаты гистологических исследований гонад рыб, отметим, что доля нарушений половых клеток и желез в течение периода исследований с 1993 по 1999 г. в озере Кожановское возрастала. В 1993 г. значительных нарушений половых желез и клеток у рыб практически не отмечено, хотя содержание радионуклидов в их теле было весьма высоким, особенно у щуки и карасей старших возрастов. Увеличение числа нарушений морфологии гонад и половых клеток произошло у потомства (вероятно 2-го и 3-го поколений) от производителей, облученных в первый период после радиационной аварии. В озере Святое разнообразие и число аномалий гонад и половых клеток у всех видов рыб было существенно выше, чем в озере Кожановское, вероятно, не только вследствие большего содержания радионуклидов в рыбах (даже в 1997 г.), но и оттого, что в этом водоеме проанализированы особи 2-го, 3-го или даже 4-го поколений интенсивно облученных производителей.

ЛИТЕРАТУРА

Белова Н.В., Веригин Б.В., Емельянова Н.Г. и др. 1993. Радиобиологический анализ белого толстолобика *Hypophthalmichthys molitrix* в водоеме-охладителе Чернобыльской АЭС в послеварийный период. 1. Состояние воспроизводительной системы рыб, перенесших аварию // Вопросы ихтиологии. Т.33. Вып.6. С.814–828.

Белова Н.В., Емельянова Н.Г., Макеева А.П. и др. 1998а. Состояние воспроизводительной системы самцов белого (Hypophthalmichthys molitrix) и пестрого (Aristichthys nobilis) толстолобиков в водоеме-охладителе Чернобыльской АЭС в послеварийный период // Проблемы репродуктивной биологии в трудах профессора С.И. Кулаева и его последователей. М.: МГУ. С.298–304. 1998б. Уникальный случай появления карликовых особей белого толстолобика *Hypophthalmichthys molitrix* в водоеме-охладителе Чернобыльской АЭС // Вопросы ихтиологии. Т.38. №6. С.839–843.

Веригин Б.В., Белова Н.В., Емельянова Н.Г. и др. 1996. Радиобиологический анализ белого толстолобика *Hypophthalmichthys molitrix* в водоеме-охладителе Чернобыльской АЭС в послеварийный период. 3. Результаты искусственного воспроизводства облученных рыб // Вопросы ихтиологии. Т.36. №2. С.248–259.

Головинская К.А., Ромащов Д.Д. 1958. Действие ионизирующей радиации на развитие и размножение рыб // Вопросы ихтиологии. Вып.11. С.16–38.

Городилов Ю.Н., Лукина Н.А., Чмилевский Д.А. и др. 1990. Гистолого-эмбриологические наблюдения популяции серебряного караса в пруду в Янове (зона Чернобыльской АЭС) // Биологические и радиоэкологические аспекты последствий аварии на Чернобыльской атомной станции. М.: АН СССР. С.113.

Кошелев Б.В. 1984. Экология размножения рыб. М.: Наука. 309 с.

Кудельский А.В., Смит Дж.Т., Хаддеринг Р.Х., Рябов И.Н., Белова Н.В. и др., 1998. Последствия чернобыльской катастрофы: накопление ¹³⁷Cs рыбами, населяющими озера, расположенные на загрязненных территориях Беларуси // Фундаментальные и прикладные аспекты радиобиологии: биологические эффекты малых доз и радиоактивное загрязнение среды. Минск. С.138.

Макеева А.П., Белова Н.В., Емельянова Н.Г. и др. 1996. Материалы по состоянию воспроизводительной системы пестрого толстолобика *Aristichthys nobilis* в водоеме-охладителе Чернобыльской АЭС в послеварийный период // Вопросы ихтиологии. Т.36. Вып.2. С.239–247.

Макеева А.П., Емельянова Н.Г., Белова Н.В., Рябов И.Н. 1994. Радиобиологический анализ белого толстолобика *Hypophthalmichthys molitrix* в водоеме-охладителе Чернобыльской АЭС в послеварийный период. 2. Развитие воспроизводительной системы у потомства первого поколения // Вопросы ихтиологии. Т.34. №5. С.681–696.

Петриков А.М., Петухов В.Б., Кохненко О.С., Воронович А.И. 1997. Дегенеративные изменения в ооцитах окуня при хроническом воздействии ионизирующей радиации // Весці АН Беларусі. Сер. біял. н. №2. С.111–115.

Петухов В.Б., Кохненко О.С. 1998. Гаметогенез леща и плотвы при радиоактивном загрязнении водоемов Беларуси // Весці АН Беларусі. Сер. біял. н. №3. С.115–120.

- Роскин Г.И., Левинсон Л.Б.* 1957. Микроскопическая техника. М.: Сов. Наука. 478 с.
- Рябов И.Н.* 1997. Радиоэкологические аспекты аварии на Чернобыльской АЭС для рыб // Радиобиология и радиоэкология. Т.37. Вып.4. С.657-663. 1998. Особенности экологии рыб в водоемах, загрязненных радионуклидами в результате аварии на ЧАЭС. Автореф. дис. на соиск. уч. ст. д-ра биол. наук. М.: ИПЭЭ РАН. 50 с.
- Смит Дж.Т., Кудельский А.В., Рябов И.Н., Хаддеринг Р.Х., Овсянникова С.В., Белова Н.В., Петрович А.А.* 2000. Опыт искусственного воздействия на непроточный водоем внесения калия в качестве контрмеры накопления ^{137}Cs в рыбе (исследование и моделирование) // Радиоактивность при ядерных взрывах и авариях. М. С.216.
- Статова М.П.* 1965. Созревание самок серебряного карася в прудах Молдавии // Биологические ресурсы водоемов Молдавии. Вып. III. Кишинев: Картя Молдовеняскэ. С.78-88. 1968. Биология серебряного карася *Carassius auratus gibelio* (Bloch) водоемов Молдавии // Автореф. дис. на соиск. уч. ст. канд. биол. наук. Кишинев: АН Молд.ССР, 23 с. 1970. Анализ годовичного цикла яичников серебряного карася // Биологические ресурсы водоемов Молдавии. Кишинев: Картя Молдовеняскэ. Вып. 5. С.106-120. 1975. Некоторые особенности овогенеза серебряного карася в Кучурганском лимане-охладителе Молдавской ГРЭС // Биологические ресурсы водоемов Молдавии. Кишинев: Штиинца. С.104-117.
- Уикли В.* 1975. Электронная микроскопия для начинающих / пер. с англ. М.: Мир. 324 с.
- Черфас Н.Б.* 1962. Радиационное поражение гонад карпа // Вопросы ихтиологии. Т.2. Вып.1. С.104-115.
- Чмилевский Д.А.* 2000. Оогенез рыб в норме и при экстремальных воздействиях. Автореф. дисс. на соиск. уч. ст. д-ра биол. наук. С-Пб.: С-Пб. ГУ. 32 с.
- Чмилевский Д.А., Мельникова Н.В.* 1988. Влияние рентгеновских лучей на оогенез тилапии (*Oreochromis mossambicus* Peters). IV. Облучение рыб в возрасте 30 и 60 сут // Онтогенез. №2. С.156-164.
- Шеханова И.А.* 1983. Радиоэкология рыб. М.: Легкая и пищевая промышленность. 208 с.
- Ryabov I., Belova N., Pelgunova L. et al.* 1996. Radioecological phenomena of the Kojanovskoe Lake // The radioecological consequences of the Chernobyl accident. Belarus. Minsk. EUR16544EN. P.213-216.
- Ryabov I., Belova N., Polyakova N.* 1998. Evolution of radiocaesium contamination in fishes after the Chernobyl accident // Ital. J. Zool. V.65. Suppl. 455-460.
- Solberg A.N.* 1938. The susceptibility of *Fundulus heteroclitus* embryos to x-radiation // J. Exp. Zool. V.78. N.4. P.417-440.

Труды ВНИРО. Том 141

Экологическая физиология и биохимия рыб в аспекте продуктивности водоемов

Заведующая редакцией *Г.П. Короткова*
Художественный редактор *Е.Э. Дятлова*
Редактор *Е.П. Яковлева*
Компьютерная верстка *Л.И. Филатовой*

Подписано в печать 17.12.2002 г. Формат 60 × 84¹/₈.
Печ. л. 34,0. Тираж 300 экз. Заказ № 128

Издательство ВНИРО
107140, Москва, ул. Верхняя Красносельская, 17

Тел.: (095) 264-65-33
Факс: (095) 264-91-87