

УДК 639.303.46:615.831.7

Н. В. БАРУЛИН¹, М. В. ШАЛАК¹, В. Ю. ПЛАВСКИЙ²

ВЛИЯНИЕ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ИНФРАКРАСНОЙ ОБЛАСТИ СПЕКТРА НА ТОКСИКОУСТОЙЧИВОСТЬ МОЛОДИ ОСЕТРОВЫХ РЫБ

¹Белорусская государственная сельскохозяйственная академия,

²Институт физики им. Б. И. Степанова НАН Беларуси

(Поступила в редакцию 06.02.2008)

Введение. Постоянный рост промышленности (особенно предприятий металлургической и химической отрасли) и сельскохозяйственного производства сопровождается контролируемым и аварийным увеличением сбросов в водоемы неочищенных сточных вод. Повышенное содержание в воде опасных химических соединений создает ряд проблем для рыбоводных предприятий. Особенно это касается участков получения и подращивания молоди рыб, так как эмбриональный, личиночный и мальковый периоды развития онтогенеза рыб являются наиболее уязвимыми и напрямую зависят от множества факторов, включая качество воды [1].

Вопросам ихтиотоксикологии и повышения устойчивости рыб к действию неблагоприятных факторов химической природы уделено внимание многих исследователей [1–6]. Проводятся исследования по изучению летальных доз и предельно допустимых концентраций различных токсикантов [4], а также биологических механизмов воздействия [6]. При этом одним из перспективных направлений исследований в области повышения качества подращивания рыбопосадочного материала на специализированных предприятиях является использование различных методов, обладающих стимулирующим действием, в том числе токсикопротекторным [2]. Исследования в этой области ведутся постоянно. Так, например, известен способ повышения токсикоустойчивости молоди осетровых рыб, основанный на предварительной обработке предличинок осетровых рыб фитогормоном эпибрассинолидом в концентрации 10^{-7} мг/л [1]. Заслуживает внимания способ повышения токсикоустойчивости молоди сиговых рыб (тугуна), основанный на воздействии на личинки тугуна физическим фактором: слабыми импульсными магнитными полями [3]. Физическое воздействие на различные этапы развития организма рыб в последнее время находит все большее применение. Одним из перспективных подходов для повышения устойчивости рыб к действию неблагоприятных факторов внешней среды является воздействие на их эмбрионы оптическим (в том числе лазерным) излучением [7].

Цель настоящих исследований – изучение перспектив использования лазерного излучения для повышения токсикоустойчивости молоди осетровых рыб при кратковременном облучении оплодотворенной икры.

Для решения данной задачи нами проведены детальные исследования закономерностей влияния лазерного излучения ближней инфракрасной области спектра с длиной волны 808 нм на эмбрионы осетровых рыб на стадии органогенеза (от смыкания нервных валиков до начала пульсации сердца). Выбор длины волны лазерного излучения обусловлен высокой биологической активностью излучения данной области спектра [8] и ее соответствием так называемому «окну прозрачности биологических тканей», чем обеспечивается максимальная глубина проникновения оптического излучения в ткань.

Материалы и методы исследования. Исследования выполняли на осетровом заводе ЧПУП «Акватория» на базе фермерского хозяйства «Василек» (Дзержинский р-н, Минская обл.) в 2006–2007 гг. Монослой увлажненной оплодотворенной икры возвратного гибрида бестера (*♀Acipenser*

ruthenus × (♀ *Huso huso* × ♂ *A. ruthenus*) на стадии органогенеза (от смыкания нервных валиков до начала пульсации сердца) подвергали излучению с помощью аппарата лазерного терапевтического «Сенс-815», созданного в Институте физики им. Б. И. Степанова Национальной академии наук Беларуси на базе полупроводникового лазера [8]. Технические характеристики аппарата «Сенс-815» обеспечили возможность воздействовать лазерным излучением в непрерывном и модулированном режимах при частоте модуляции 1; 2; 5; 10; 50 Гц, средняя мощность излучения составляла 250 ± 5 мВт. Для определения оптимального времени воздействия, оказывающего максимальный стимулирующий эффект на токсикоустойчивость стандартной молодежи осетровых рыб, облучение икры проводили в течение 30; 60; 90; 180; 300; 600 с при температуре 16 ± 1 °С. Контрольные (интактные) образцы икры находились в тех же условиях (за исключением облучения), что и опытные образцы. После процедуры облучения икру помещали для дальнейшего инкубирования в уменьшенные образцы аппаратов Вейса, где, достигнув завершения эмбрионального развития, происходил выклев предличинок. Опытные и контрольные группы содержали в отдельных аппаратах, в которых обеспечивалось постоянство гидрохимических условий. Выклюнувшихся предличинок переносили в отдельные садки для каждой исследуемой группы. В 50-суточном возрасте (стандартом для рыбопосадочного материала осетровых рыб, выращенных в заводских условиях) над молодью проводили тесты на токсикоустойчивость. Для определения устойчивости к токсикантам использовали пластиковые емкости объемом 5 л с аэрацией и с системой поддержания температуры. В качестве токсиканта использовали сульфат меди в концентрации 0,1 мг/л. Время воздействия токсиканта 7 сут [1]. Величину стимулирующего воздействия лазерного излучения определяли по формуле $\delta = (N_{\text{жив}}/N) \cdot 100\%$, где δ – величина стимулирующего воздействия; $N_{\text{жив}}$ – количество выживших экземпляров молодежи после воздействия токсиканта в течение 7 сут; N – количество экземпляров молодежи в начале воздействия токсиканта. Длительность воздействия токсиканта 7 сут выбрана из расчета, что к указанному временному промежутку наблюдался летальный исход (гибель) всех экземпляров молодежи контрольной группы, на эмбрионы которой на стадии органогенеза не воздействовали лазерным излучением [9].

Регистрацию спектров поглощения синтетического DOPA-меланина (Sigma, США) проводили на спектрофотометре Specord M40 UV VIS (Carl Zeiss, Германия) при физиологических значениях pH в стандартных спектрофотометрических кюветках.

Результаты и их обсуждение. Спектр поглощения водного раствора меланина (придающего черную окраску икры осетровых рыб) при pH 7,3 (рис. 1) показывает, что оптическая плотность раствора монотонно падает по мере увеличения длины волны в диапазоне 300–800 нм и в области ~800 нм экранирующее действие меланина является минимальным. Считается [10], что такой вид спектра поглощения меланина обусловлен присутствием в его растворе ансамбля мономерных и полимерных молекул 5,6-индолхинона разнообразной длины и молекулярной массы, которые могут формировать сложные нанокolloидные структуры, и характеризуются совокупностью индивидуальных (для каждого типа структур) спектров поглощения, т. е. регистрируемый гладкий спектр поглощения пигмента является суммарным спектром составляющих его компонентов.

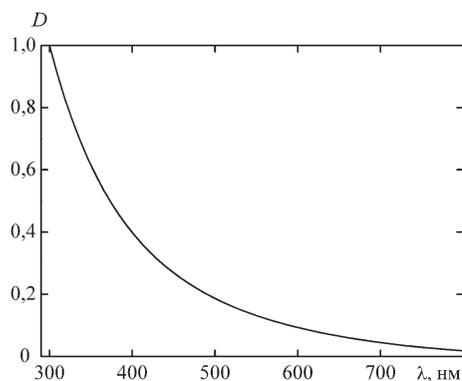


Рис. 1. Спектр поглощения водного раствора меланина

Учитывая слабое экранирующее действие меланина в ближней ИК-области спектра и выраженную биологическую активность лазерного излучения в указанном диапазоне [8], можно ожидать, что лазерное излучение с $\lambda = 808$ нм способно оказывать заметное влияние на эмбриональное развитие осетровых рыб.

Типичные осциллограммы временной развертки для непрерывного и модулированного по интенсивности излучения полупроводникового лазера «Сенс-815» (рис. 2) показывают, что при одинаковой средней мощности лазерного излучения ($W = 250 \pm 5$ мВт) амплитудное значение мощности W_a в случае модуляции излучения (рис. 2, б) примерно

в 2 раза выше такого для непрерывного излучения (рис. 2, а). При этом глубина модуляции излучения составляет более 95%.

Проведенные исследования показали, что воздействие на эмбрионы осетровых рыб на стадии органогенеза поляризованным лазерным излучением инфракрасной области спектра с длиной волны 808 нм плотностью мощности $2,9 \pm 0,2$ мВт/см² способно оказывать стимулирующее действие на токсикоустойчивость стандартной заводской молодежи. В таблице приведены максимальные, в зависимости от частоты модуляции, значения токсикоустойчивости молодежи осетровых рыб, эмбрионы которой на стадии органогенеза не подвергались (контрольная группа) и подвергались (опытная группа) воздействию поляризованного лазерного излучения инфракрасной области спектра.

Из представленных данных следует, что воздействие лазерного излучения на эмбрионы осетровых рыб на стадии органогенеза приводит к значительному увеличению токсикоустойчивости молодежи, что проявляется в увеличении процента выживших особей по сравнению с необлученными эмбрионами. Так, если в контрольной (необлученной) группе процент выживания под действием токсиканта равен нулю, то для группы рыб, эмбрионы которой подвергались воздействию модулированного лазерного облучения с частотой 50 Гц длиной волны 808 нм плотностью мощности $2,9 \pm 0,2$ мВт/см² в течение 60 с, выживаемость в условиях воздействия токсиканта составила $68,9 \pm 6,7\%$.

Исследования показали, что выживаемость молодежи осетровых рыб, эмбрионы которой подвергались воздействию оптического излучения, находится на более высоком уровне, чем у необлученных особей. Отметим, что при воздействии немодулированного излучения с теми же параметрами ($\lambda = 808$ нм, $P = 2,9 \pm 0,2$ мВт/см²) максимальное отличие от контроля составляет $\delta = 11,1 \pm 2,9\%$ и наблюдается при $t = 60$ с.

Параметры низкоинтенсивного поляризованного лазерного излучения инфракрасной области спектра ($\lambda = 0,81 \pm 0,02$ мкм, $P = 2,9 \pm 0,2$ мВт/см²), оказывающего максимальный стимулирующий эффект на токсикоустойчивость 50-дневной осетровой молодежи гибрида бестера

Режим воздействия, частота модуляции	Время облучения, с	Токсикоустойчивость, %
Контроль	0	0
Непрерывный, $F = 0$ Гц	60	$11,1 \pm 2,9^{**}$
Модулированный, $F = 1$ Гц	300	$8,9 \pm 1,1^{***}$
Модулированный, $F = 2$ Гц	300	$10,0 \pm 1,0^{***}$
Модулированный, $F = 5$ Гц	300	$15,6 \pm 1,1^{***}$
Модулированный, $F = 10$ Гц	300	$14,4 \pm 2,9^{***}$
Модулированный, $F = 50$ Гц	30	$23,0 \pm 1,9^{***}$
Модулированный, $F = 50$ Гц	60	$68,9 \pm 6,7^{***}$
Модулированный, $F = 50$ Гц	90	$36,3 \pm 3,8^{***}$
Модулированный, $F = 50$ Гц	180	$14,4 \pm 1,1^{***}$

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

Таким образом, представленные данные свидетельствуют, что воздействие поляризованным лазерным излучением как в непрерывном, так и модулированном режимах на эмбрионы осетровых рыб на стадии органогенеза обеспечивает повышение токсикоустойчивости стандартной молодежи осетровых рыб.

Величина стимулирующего эффекта зависит от времени и режима воздействия лазерным излучением. На рис. 3 приведены зависимости величины стимулирующего эффекта (δ) от времени воздействия на эмбрионы осетровых рыб на стадии органогенеза непрерывного лазерного излуче-

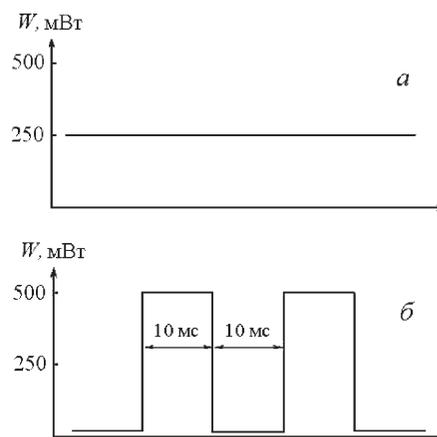


Рис. 2. Осциллограммы временной развертки излучения полупроводникового лазера «Сенс-815», непрерывного (а) и модулированного по интенсивности (б)

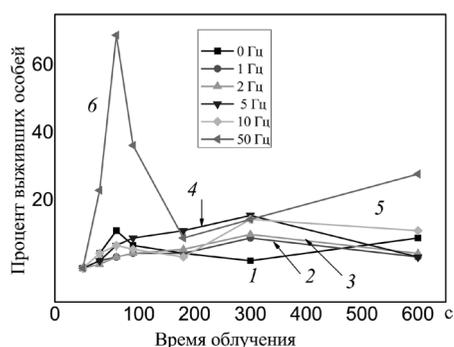


Рис. 3. Зависимость влияния воздействия лазерного облучения инфракрасной области спектра ($\lambda = 808$ нм, $P = 2,9$ мВт/см²) на токсикоустойчивость молоди осетровых рыб от различных частот модуляции и времени экспозиции

ние ($F = 0$ Гц), а также излучения, модулированного с частотой 1; 2; 5; 10; 50 Гц. Кривая 1 на рис. 3 соответствует варианту воздействия на эмбрионы на стадии органогенеза непрерывным ($F = 0$ Гц) инфракрасным лазерным излучением $\lambda = 808$ нм плотностью мощности $2,9 \pm 0,02$ мВт/см². Кривая 2 получена при облучении эмбрионов инфракрасным лазерным излучением $\lambda = 808$ нм плотностью мощности $2,9 \pm 0,2$ мВт/см², модулированным по интенсивности с частотой $F = 1$ Гц; кривая 3 – с частотой модуляции $F = 2$ Гц; кривая 4 – с частотой модуляции $F = 5$ Гц; кривая 5 – с частотой модуляции $F = 10$ Гц; кривая 6 – с частотой модуляции $F = 50$ Гц. Как следует из рис. 3, кривая 6, максимальное повышение токсикоустойчивости наблюдается при воздействии лазерным излучением в модулированном режиме ($F = 50$) в течение 60 с и составляет $68,9 \pm 6,7\%$. Увеличение или уменьшение времени воздействия в модулированном режиме ($F = 50$ Гц) приводит к снижению токсикоустойчивости. Так, при воздействии в течение 30 с токсикоустойчивость составляет $23,0 \pm 1,9\%$, а при 90 с – $36,3 \pm 3,8\%$. Из данных рис. 3, кривая 6, следует, что дальнейшее увеличение времени облучения эмбрионов при $F = 50$ Гц приводит к снижению токсикоустойчивости.

Стимуляция токсикоустойчивости стандартной молоди осетровых рыб наблюдается также и при воздействии непрерывным или модулированным лазерным излучением с частотой модуляции 1, 2, 3, 10 Гц. Однако, как следует из рис. 3, во всех остальных вариантах модулированного воздействия $F = 1$ Гц (кривая 2); 2 Гц (кривая 3); 5 Гц (кривая 4); 10 Гц (кривая 5); а также непрерывного воздействия (кривая 1) стимулирующий эффект значительно ниже, чем в при частоте модуляции 50 Гц.

Заключение. Результаты, полученные в настоящей работе, свидетельствуют о способности поляризованного лазерного излучения ближней инфракрасной области спектра влиять на жизнестойкость стандартной молоди осетровых рыб при кратковременном облучении их эмбрионов на стадии органогенеза. Указанный эффект проявляется в значительном увеличении выживаемости при воздействии на них токсикантом (сульфат меди) в концентрации 0,1 мг/л в течении 7 сут. Так, при оптимальных условиях воздействия ($F = 50$, $\lambda = 808$ нм, $P = 2,9$ мВт/см², $t = 60$ с) токсикоустойчивость на 70% выше, чем в контрольной (интактной) группе. При этом следует отметить достоверное увеличение по сравнению с контрольной группой токсикоустойчивости молоди ($P < 0,001$) при оптимальных условиях облучения ее эмбрионов.

Повышение устойчивости к неблагоприятным воздействиям факторов водной среды при использовании в индустриальном осетроводстве будет способствовать экономическому эффекту.

Литература

- Щеглов, М. В. Токсикопротекторные эффекты эписибрасинолида в эмбриогенезе севрюги и черноморского лосося / М. В. Щеглов, С. В. Егоров, М. А. Егоров // Аквакультура осетровых рыб: достижение и перспективы развития: II междунар. науч.-практ. конф. – Астрахань, 2001. – С. 73–75.
- Повышение резистентности осетровых рыб на ранних этапах онтогенеза при использовании витаминных препаратов / Е. Н. Пономарева [и др.] // Вестник Южного научного центра Российской академии наук. – 2005. – Т. 1. – Вып. 1. – С. 41–44.
- Селюков, А. Г. Протекторное действие слабых импульсных магнитных полей в раннем онтогенезе тугуна *Coregonus tugun (Pallas)* в условиях хронического нефтяного загрязнения / А. Г. Селюков, Г. Н. Беспомесных // Экология. – 2006. – № 5. – С. 365–371.
- Acute exposure of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*, Brandt) yearlings to nitrite: median-lethal concentration (LC50) determination, haematological changes and nitrite accumulation in selected tissues / M. Huertas [et al.] // Aquatic Toxicology. – 2002. – N 57. – P. 257–266.
- Evaluation of the toxicity and efficacy of hydrogen peroxide treatments on eggs of warm- and coolwater fishes / J. J. Rach [et al.] // Aquaculture. – 1998. – N 165. – P. 11–25.

6. TenBrook, P. L. Toxicokinetics and biotransformation of p-nitrophenol in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) / P. L. TenBrook, S. M. Kendall, R. S. Tjeerdema // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2006. – N 64. – P. 362–368.

7. Барулин, Н. В. Влияние лазерного облучения инфракрасной области спектра на устойчивость к дефициту кислорода молоди осетровых рыб / Н. В. Барулин, М. В. Шалак, В. Ю. Плавский // *Вестник БГСХА*. – 2007. – № 3. – С. 89–92.

8. Аппаратура для низкоинтенсивной лазерной терапии: современное состояние и тенденции развития / В. Ю. Плавский [др.] // *Оптический журнал*. – 2007. – Т. 74. – № 4. – С. 27–40.

9. Барулин, Н. В. Эколого-физиологическая экспресс-оценка жизнестойкости молоди осетровых / Н. В. Барулин, М. В. Шалак // *Вестник БГСХА*. – 2007. – № 3. – С. 80–83.

10. Spectroscopic study and simulation from recent structural models for eumelanin. I. Monomer, Dimers. / K. Stark [et al.] // *J. Phys. Chem. B*. – 2003. – Vol. 107. – N 13. – P. 3061–3067.

N. V. BARULIN, M. V. SHALAK, V. Yu. PLAVSKII

INFLUENCE OF INFRA-RED LASER RADIATION ON THE TOXICITY STABILITY OF YOUNG STURGEON FISH

Summary

This article contains the information on the influence of polarized laser radiation of the near infra-red region, the wavelength of which is $\lambda = 808$ nm, on the toxicity stability of young sturgeon fish, when short wavelength radiation influences impregnated eggs at the stage of organogenesis. The size of the stimulating effect strongly depends on the time and the modulation of influencing radiation. So, under the optimum conditions of the influence ($F = 50$ Hz, $\lambda = 808$ nm, $P = 2.9$ mW/cm², $T = 60$ sec) the toxicity stability is approximately by 70% and higher than in the control groups. The question of usage of the specified physical factor in the technology of cultivation of sturgeon fish in the conditions of industrial fish culture is discussed in this article.