

На правах рукописи



Коцур Дмитрий Александрович

**Экспериментальное моделирование экологических рисков нарушений онтогенеза
потомства *Danio rerio* (Hamilton, 1822) в результате воздействия
полихлорированных бифенилов на рыб-производителей в преднерестовый период**

Специальность 1.5.15 – Экология (биологические науки)

Автореферат

диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Красноярск - 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Федеральном исследовательском центре комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лавёрова Уральского отделения Российской академии наук

- Научный руководитель:** доктор биологических наук
Новоселов Александр Павлович
- Официальные оппоненты:** **Цыганков Василий Юрьевич**, доктор биологических наук, доцент, ФГБУН Тихоокеанский институт географии ДВО РАН, ведущий научный сотрудник лаборатории геохимии
- Чуйко Григорий Михайлович**, доктор биологических наук, ФГБУН Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, заведующий лабораторией физиологии и токсикологии водных животных
- Ведущая организация:** ФГБУН Федеральный исследовательский центр «Карельский научный центр Российской академии наук»

Защита диссертации состоится «21» апреля 2026 г. в 14:00 часов на заседании диссертационного совета 99.0.036.02 на базе ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр СО РАН»», по адресу: 660041, г. Красноярск, пр. Свободный, д. 79, ауд. Р 8-06.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет» и на сайте организации <https://sfu.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
канд. биол. наук



Л.А. Глущенко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Полихлорированные бифенилы (ПХБ) представляют собой группу синтетических веществ высокого риска в целом как для здоровья человека, так и для окружающей среды. ПХБ образуют группу из 209 конгенов, характеризующихся определенными химическими свойствами. Они широко использовались в промышленной и коммерческой деятельности (например, в производстве электрического оборудования), были произведены в промышленных масштабах за несколько десятков лет прошлого века по всему миру (Furukawa, Fujihara, 2008). В настоящее время ПХБ запрещены в производстве и использовании в связи с высокой токсичностью, в том числе и мутагенным действием, сильно сказывающемся на здоровье последующих поколений организмов (Matturro et al., 2016; UNEP, 2018). Однако, они продолжают попадать в окружающую среду в результате разливов, утечек, неправильного хранения и утилизации оборудования, что представляет собой серьезный ущерб для естественных экосистем и здоровья человека (Nogales et al., 2001; Di Lenola et al., 2018). Таким образом, большинство природных экосистем и живых организмов подвергались воздействию ПХБ в течение нескольких десятилетий (Tehrani, Van, 2014).

Поэтому в связи с накоплением ПХБ в среде в результате их массового производства, их устойчивости и высокой токсичности появилась необходимость в экспериментальном моделировании воздействия ПХБ на онтогенез последующих поколений живых организмов при контаминации их производителей. Поскольку ПХБ также могут оказывать влияние на репродуктивную систему организмов (Bonde et al., 2008), то целесообразно исследовать воздействие ПХБ на онтогенез последующих поколений путем контаминации организмов производителей отдельно по полу.

Целью настоящего исследования является экспериментальное изучение воздействия ПХБ на онтогенез последующих поколений рыб *Danio rerio*, в частности выявления различий тератогенности и смертности в эмбриональный период, а также изменения половой структуры в популяциях каждой экспериментальной группы после контролируемого воздействия на организм родительских особей.

Для достижения цели исследования были поставлены **следующие задачи:**

1) Определить степень и качество воспроизводства последующих поколений (F1, F2) после воздействия двух соединений ПХБ на родительских особей рыб маточного стада (F0) в преднерестовой период;

2) Оценить половую структуру популяций в экспериментальных группах рыб (F1 и F2) после воздействия соединений ПХБ на маточное стадо рыб (F0) в преднерестовой период;

3) Оценить морфологическое развитие и потенциальные тератогенные эффекты в группах последующих поколений экспериментальных рыб (F1 и F2) после воздействия соединений ПХБ на маточное стадо рыб (F0) в преднерестовой период;

4) Оценить дозоэффективную зависимость между вводимыми дозами и накоплением ПХБ в организмах родительских рыб (F0).

Научная новизна. В работе рассматриваются актуальные вопросы эпигенетического наследования экологических рисков, связанных с воздействием

токсикантов на примере ПХБ на организм родительских особей и передаваемых в последующие поколения. В рамках экспериментов впервые показано различие при контролируемом воздействии ПХБ на особей отдельно по полу для того, чтобы определить различия в эффектах в последующих поколениях после воздействия того или иного конгенера ПХБ на особей разных полов. Новизна была подтверждена патентом на промышленный образец RU 138706 «Экспериментальная оценка феномена наследования рисков гендерного дисбаланса и жизнеспособности».

Теоретическая и практическая значимость. Поскольку вид *Danio rerio* является модельным организмом, полученные результаты могут быть применимы для оценки, прогнозирования и мониторинга экологических рисков деградации популяций других видов рыб и снижения их биотического потенциала, что определяет значение исследования в теоретической биологии.

Практическое значение заключается в следующем. Полученные результаты возможно экстраполировать на промысловые виды рыб в виду их схожего строения с данными модельными рыбами. Это может помочь в разработке мер по управлению экологическими рисками в рыбоводстве и промысле. Далее результаты могут стать основой для изучения трансгенерационного эпигенетического наследования в результате воздействия токсических веществ, что необходимо для построения прогностических моделей наследуемых экологических рисков.

Соответствие паспорту научной специальности. Результаты проведенного исследования соответствуют шифру специальности 1.5.15 – Экология (биологические науки), п. 10 «Антропогенное воздействие на популяции, сообщества и экосистемы. Биологические эффекты загрязнения среды токсичными веществами (экотоксикология). Разработка биологических методов и критериев оценки состояния среды, биоиндикация, биотестирование, биомониторинг. Разработка экологически обоснованных норм воздействия хозяйственной деятельности человека на живую природу».

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Потребление двух соединений ПХБ с пищей родительскими особями рыб *Danio rerio* (F0) негативно влияло на их потомство в двух поколениях, снижая выживаемость и смещая соотношения полов в пользу преобладания самок;

2. Потребление соединения ПХБ 118 с пищей родительскими особями рыб *Danio rerio* (F0) вызвало нарушения онтогенеза потомства в двух поколениях рыб, в частности снижение длины и массы тела. В то время, как потребление соединения ПХБ 52 с пищей родительскими особями рыб нарушения онтогенеза потомства в двух поколениях оказались менее выражены, и скорее связаны с изменением в соотношении полов;

3. Содержание ПХБ 52 в самках родительских рыб (F0) по общей массе существенно выше, чем у самцов.

Степень достоверности результатов. Организация схемы экспериментов была основана на практическом руководстве М.В. Козлова «Планирование экологических исследований: теория и практические рекомендации», с помощью которого определяли объект и предмет исследования, условия для объектов исследования. Методы содержания и разведения рыб были подобраны из научной литературы (Harper,

Lawrence, 2011) и рекомендаций Канадского совета по уходу за животными (ССАС, 2020). Все полученные данные подвергались статистическому анализу с помощью программы IBM SPSS Statistics v. 20.0 (Корпорация IBM, Армонк, штат Нью-Йорк, США). Некоторые результаты исследований были отражены в научных публикациях.

Апробация результатов. Результаты выполненных экспериментов, а также работ, опубликованных в научных изданиях, прошли общественную апробацию в виде обсуждения докладов на международных конференциях «Биомониторинг в Арктике» (г. Архангельск, 2020 г. и 2022 г.), всероссийской конференции «II Пахтусовские чтения: арктические горизонты» (г. Архангельск, 2021 г.), «Сбережение здоровья человека в Арктике» (г. Архангельск, 2022 г.), «Наука будущего – наука молодых» (г. Орел, 2023 г.), «Проблемы сохранения здоровья и обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Арктике» (г. Санкт-Петербург, 2023 г.) и на международной молодежной конференции «Арктические исследования: от экстенсивного освоения к комплексному развитию» (г. Архангельск, 2024 г.).

Данная диссертационная работа выполнена при **финансовой поддержке** гранта правительства Российской Федерации № 14.Y26.31.0009 (договор от 14.03.2017 в соответствии с постановлением правительства № 220 от 09.04.2010), гранта Министерства образования и науки Архангельской области «Молодые ученые Поморья» (проект № 08-2021а) и гранта РНФ (договор № 22-15-20076 от 22.03.2022).

Личный вклад соискателя. Автор принимал участие в разработке дизайна экспериментов, постановке цели и задач, самостоятельно выполнял расчеты вводимых доз конгенов ПХБ экспозиционного корма. Соискатель ежедневно занимался комплексным обслуживанием аквариального вивария на протяжении всех стадий исследований. Соискателем выполнена начальная подготовка проб для исследования содержания ПХБ в половозрелых рыбах. Исследователь собирал исследуемые данные, выполнял их интерпретацию и статистическую обработку, участвовал в подготовке научных работ. Экспериментальные работы были выполнены на базе САФУ им. М.В. Ломоносова в лаборатории арктического биомониторинга.

Публикации. По теме диссертационной работы опубликовано 5 научных работ. Две из них размещены в журнале «Биология внутренних вод», индексируемом в наукометрической системе базы данных Web of Science, одна в журнале «Экология человека», индексируемом в международной базе данных Scopus, одна статья в сборнике материалов международной конференции, один патент на промышленный образец, который представляет собой общую схему выполненных экспериментов. Все перечисленные научные журналы входят в «Белый список» научных журналов.

Структура работы. Диссертационная работа включает в себя список сокращений и условных обозначений, введение, 6 глав, выводы, заключение, список литературы.

Благодарности. Автор работы искренне благодарен своему научному руководителю д.б.н. А.П. Новоселову за помощь при подготовке научных публикаций и диссертационной работы на всех ее этапах, а также во всесторонней поддержке. Автор глубоко признателен д.м.н., заслуженному деятелю науки В.П. Чашину за помощь в разработке дизайна эксперимента и разработке заявки патента на промышленный

образец. Автор также выражает глубокую благодарность коллегам из лаборатории арктического биомониторинга САФУ им. М.В. Ломоносова к.т.н. А.С. Аксену и к.ю.н. Т.Ю. Сорокиной за предоставленную возможность и поддержку в проведении экспериментов и подготовке научных публикаций, а также других коллег лаборатории в помощи обслуживания аквариального вивария. Автор отдельно искренне благодарит к.б.н. Ю.И. Варакину и к.х.н. Д.Е. Лахманова за помощь в подготовке образцов для количественного измерения содержания ПХБ на современном химико-аналитическом оборудовании в ЦКП НО «Арктика» при САФУ им. М.В. Ломоносова, а также в получении и обработке результатов этих измерений. Автор также отдельно благодарит А.А. Песьякову и О.Ю. Низовцева за наставление и обучение базовым навыкам содержания модельных аквариумных рыб, в том числе и их разведении и выращивании. В завершение, автор благодарит заведующую сектором аспирантуры С.Е. Тельтевскую, ведущего специалиста сектора аспирантуры С.А. Цапину и ученого секретаря ФГБУН ФИЦКИА УрО РАН Л.А. Чижову за помощь в организационных вопросах при выдвижении диссертации на защиту.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1 Литературный обзор, изученность проблемы

В обзоре литературы проанализированы результаты исследований, в которых проводили изучение влияния конгенов ПХБ на развитие и размножение рыб *Danio rerio*, на этапе прямого воздействия растворов ПХБ на икру в ближайшие часы после оплодотворения, так и на этапе их воздействия уже в половозрелом возрасте. Изучали общий механизм токсичности, а также селективную токсичность на некоторые системы органов, в частности сердца, печени, нервной, иммунной, выделительной, пищеварительной и репродуктивной систем. Наиболее часто тестируемые соединения в обзоре являются ПХБ 126 (3,3',4,4',5-пентахлорбифенил) и Арохлор 1254. Эти соединения вызывали отклонения в онтогенезе, такие как отек перикарда, дефекты в развитии позвоночника (искривление), замедление надувания плавательного пузыря или полное его отсутствие, набухание и отек желточного мешка, черепно-лицевые деформации, деформации поджелудочной железы, отек головного мозга, изменения в экспрессии генов, отвечающих за регуляцию онтогенеза, и прочие нарушения эмбрионального онтогенеза. В некоторых исследованиях проверяли смертность и онтогенез эмбрионов после воздействия ПХБ на родительские особи. Также исследованы воздействия некоторых соединений ПХБ на некоторые органы рыб, в частности гонады, печень, почки, черепно-лицевую часть тела, кишечник с помощью гистологии, иммуногистохимии и измерением экспрессии генов.

Глава 2 Материалы и методы исследования

Предмет исследования – выживаемость потомства F1 и F2 рыб *Danio rerio*, их онтогенез и соотношение полов в подопытных группах, токсические свойства изучаемых ПХБ 52 (2,2',5,5'-тетрахлорбифенил) и ПХБ 118 (2,3',4,4',5-пентахлорбифенил).

Объект исследования – рыбы *Danio rerio* (зебрафиш) в качестве модельного организма. *Danio rerio* – это тропическая пресноводная рыба, которая по каталогу Эшмейера относится к семейству Danionidae отряда Карпообразных (Cypriniformes). Взрослых особей и эмбрионы *Danio rerio* (рисунок 2.1) используют при тестировании лекарственных препаратов, а также для изучения канцерогенной активности токсических химических соединений. Данный вид рыб является популярным модельным организмом для экотоксикологических исследований, оценки рисков для окружающей среды и классификации загрязнителей.

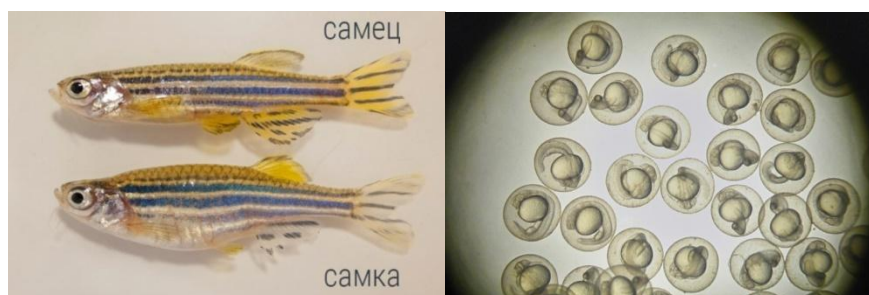


Рисунок 2.1 – Взрослые особи самца и самки *Danio rerio* и их эмбрионы под микроскопом (URL: <https://blog.tetra.net/ru/ru/danio-razmnozhenie-v-domashnih-usloviyah>)

Для выполнения исследования разработана методология и организационная схема эксперимента. Подобрано оборудование и его расположение в помещении, выбраны условия обитания для *Danio rerio*. Проведенные эксперименты (в двух модельных линиях для ПХБ 52 и ПХБ 118) состояли из нескольких этапов (рисунок 2.2).

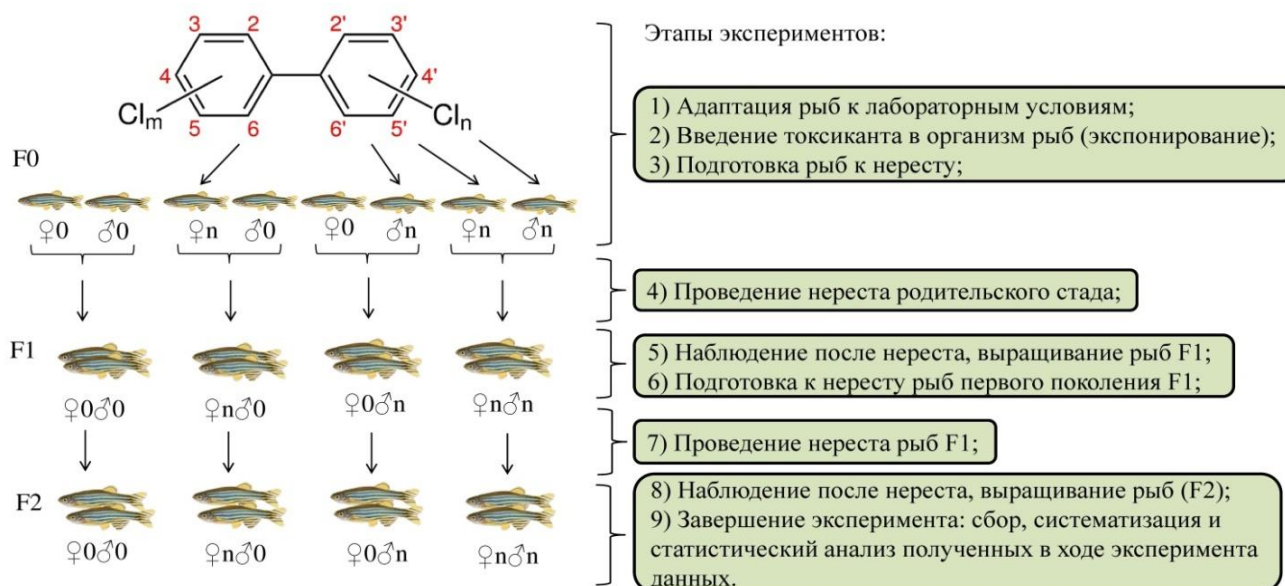


Рисунок 2.2 – Схема экспериментов

Обозначенные этапы экспериментов выполнялись последовательно один за другим. На каждый из двух экспериментов рыб приобретали в количестве 300 штук (150 самок, 150 самцов) в возрасте 2,5 месяцев. Рыб содержали в лаборатории, в стеклянных аквариумах на 20 л при следующих условиях: световой режим 12:12 (8:00-20:00 ч), $25 \pm 0,5$ °C, pH $7,5 \pm 0,5$, gH 3-12, кислород - 7,8 мг/л, аммиак $< 0,2$ мкг/г, нитриты $< 2,0$ мкг/г, нитраты < 50 мкг/г), с частичной заменой воды 2 раза в неделю.

Рыб рассаживали по 10 шт. на каждый аквариум, в которых были или самки, или самцы, а рядом с аквариумами самок и самцов располагались аквариумы, в которых пересаживали рыб-родителей для воспроизводства следующего поколения рыб. Все аквариумы были промаркированы и сгруппированы в соответствии с принадлежностью к экспериментальной группе. Обозначение потомства в аквариумах определяли обозначениями аквариумов родителей, участвовавших в нересте (рисунок 2.2). Таким образом, было образовано 10 групп родителей для воспроизводства следующего поколения. В таблице 2.1 приведены обозначения групп потомства с их описанием и расчетными вводимыми дозами ПХБ в рыб-родителей.

Таблица 2.1 – Обозначение экспериментальных групп потомства и суммарные вводимые дозы ПХБ в подопытных родительских особях рыб *Danio rerio*

Обозначение группы	Описание групп	Вводимые дозы ПХБ 52, мкг/особь		Вводимые дозы ПХБ 118, мкг/особь	
		Самки	Самцы	Самки	Самцы
♀0♂0	Контрольная группа	0	0	0	0
♀0♂1	Группы потомства (♀0♂n), у которых были обработаны только самцы-родители	0	25	0	5
♀0♂2		0	45	0	20
♀0♂3		0	90	0	80
♀1♂0	Группы потомства (♀n♂0), у которых были обработаны только самки-родители	25	0	5	0
♀2♂0		45	0	20	0
♀3♂0		90	0	80	0
♀1♂1	Группы потомства (♀n♂n), у которых были обработаны оба пола родителей	25	25	5	5
♀2♂2		45	45	20	20
♀3♂3		90	90	80	80

Для введения токсиканта в рыбу был выбран метод экспонирования пероральным способом путем кормления рыб сухим кормом (Tetra min, гранулы), обработанным ПХБ. Предварительно сухой корм обрабатывали разными концентрациями (высокой, средней и низкой) конгенера ПХБ в смеси с органическим растворителем и с очищенным рыбьим жиром печени трески (в качестве разбавления растворителя и конгенера ПХБ). Корм для контрольной группы обрабатывался только очищенным рыбьим жиром и растворителем в таком же соотношении, как и для экспонированных групп. В качестве растворителя для ПХБ 52 использовали ацетон ОСЧ (Химмед, Россия), а для ПХБ 118 использовали 99% n-гексан (Macron Fine Chemicals, США). Чтобы рыбы не страдали от ожирения в результате набора массы за период экспонирования, было принято решение проводить его 3 раза в неделю на протяжении 3 недель.

Далее, после завершения экспонирования, рыб подготавливали к нересту, подготовка длилась 2-2,5 недели. В нерестовые аквариумы погружали по 3 самки и 3 самца в отсадники. После нереста рыб сохраняли в качестве образцов для измерения содержания ПХБ 52. Раннюю молодь на старте кормили заранее разведенными инфузориями, а затем по мере роста кормили их науплиями артемии (*Artemia salina*).

Рыб-родителей подвергали эвтаназии путем быстрой заморозки при температуре -20 °С. Рыб-родителей, сохранили для анализа накопленной в них концентрации ПХБ 52, остальных рыб утилизировали. Подросшую молодь рыб содержали в аквариумах на 120 л до момента достижения возраста 120 суток после оплодотворения. В этот момент отбирали по 10 самцов и 10 самок (если в популяции их хватало в наличии) на каждый из 10 аквариумов, а остальных рыб подвергли эвтаназии для последующего их обследования на определение половой принадлежности и морфологические показатели. Рыб, которых не подвергали эвтаназии, аккуратно измеряли, взвешивали и возвращали в аквариумы.

Далее в 20 л аквариумы поместили оставшихся рыб отдельно по полу и подготовили рыб F1 к нересту нового поколения, проведя те же действия, что и с рыбами F0. После успешного воспроизведения поколения рыб F2 родительских рыб F1 подвергли эвтаназии и сохранили для анализа накопленной в них концентрации ПХБ 52. В то же время, по достижению возраста рыб F2 120 суток после оплодотворения эвтаназии подвергали всех и сохраняли в морозильной камере при температуре -20 °С до момента их обследования. В процессе выращивания рыб F1 и F2 наблюдения за рыбами велись по трем параметрам: выживаемость на ранней стадии жизни (до 30 суток с момента оплодотворения), морфология (масса и длина тела) и соотношение полов.

Оценка выживаемости проводилась путем подсчета погибших и больных мальков, вплоть до 30 суток после оплодотворения. На каждую группу получили кривые выживаемости. Далее определили средние значения по каждой выборке кривой. Выборки проверяли на нормальность распределения, используя в том числе критерий Шапиро-Уилка. Различия выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна-Уитни попарно, сравнивали контрольную группу с группами воздействия по отдельности на доверительном интервале 95%.

По достижению возраста 120 суток после оплодотворения у рыб после эвтаназии измеряли длины TL (общая длина), FL (длина по Смиту), SL (стандартная длина), массу и определяли пол. Вместе с длинами сравнивали массы самок и самцов контрольной группы с массами самок и самцов групп воздействия. Подобно результатам выживаемости, выборки также проверяли на нормальность и оценивали по непараметрическому критерию Манна-Уитни.

Пол рыб определяли визуально по двум характеристикам: по окраске и по форме тела. Наглядный пример наличия полового диморфизма у рыб представлен на рисунке 2.1. Количество самок, самцов и рыб с неопределенным полом представили в процентном соотношении от общего числа выживших до момента эвтаназии рыб. Различие долей самок и самцов в каждой подопытной группе определяли с помощью биномиального критерия, который применяли с определяемой долей 0,5 для

двухсторонней значимости. Для статистической обработки всех результатов использовали доверительный интервал 95%.

Сохраненные в морозильной камере образцы рыб для количественного анализа содержания ПХБ 52 лиофильно высушили с помощью лиофильной сушилки Labconco FreeZone 2.5L (США) при температуре $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$. Далее вычислили влажность образцов. Эти образцы затем гомогенизировали до получения однородной массы в керамической ступке с помощью пестика и помещали в пробирки объемом 15 мл. Затем гомогенизированную массу подвергали экстракции, осаждению серной кислотой и очистке в стеклянных хроматографических колонках. Полученный элюат концентрировали до необходимого объема для последующего химического анализа. Содержание ПХБ 52 в сухой массе рыб определяли методом газовой хромато-масс-спектрометрии на приборе Agilent 7890А, оснащенный тройной квадрупольной системой MS/MS Agilent серии 7000 (США). Измерение содержания ПХБ проводили в Центре коллективного пользования научным оборудованием «Арктика» Северного (Арктического) федерального университета им. М.В. Ломоносова, с применением внутреннего стандарта РСВ#101₁₃C¹² и последующими расчетами результатов по методике, подробно описанной в исследовании в работе (Lakhmanov et al., 2020).

После определения концентрации ПХБ 52 были рассчитаны средние накопленные дозы на одну особь (С, нг/особь) в каждой группе по следующей формуле (2.1):

$$C = \frac{\sum m}{n} \cdot C1, \quad (2.1)$$

где $C1$ – содержание ПХБ 52, нг/г;

m – масса рыб, г;

n – количество рыб на одну группу одного пола.

Глава 3 Токсический эффект ПХБ на воспроизводство рыб

На рисунке 3.1 представлены результаты выживаемости потомства поколений F1 и F2 в период до 30 суток после оплодотворения.

В подопытных группах обработки ПХБ 52 выявлено существенное снижение выживаемости относительно контрольной группы. Наиболее существенно этот эффект наблюдался у групп ♀0♂n (рисунок 3.1, а), по сравнению с группами ♀n♂0 (рисунок 3.1, б). В группах ♀n♂n также наблюдалось снижение выживаемости. Однако, во всех трех случаях обработки ПХБ наблюдалось нарушение зависимости от дозы.

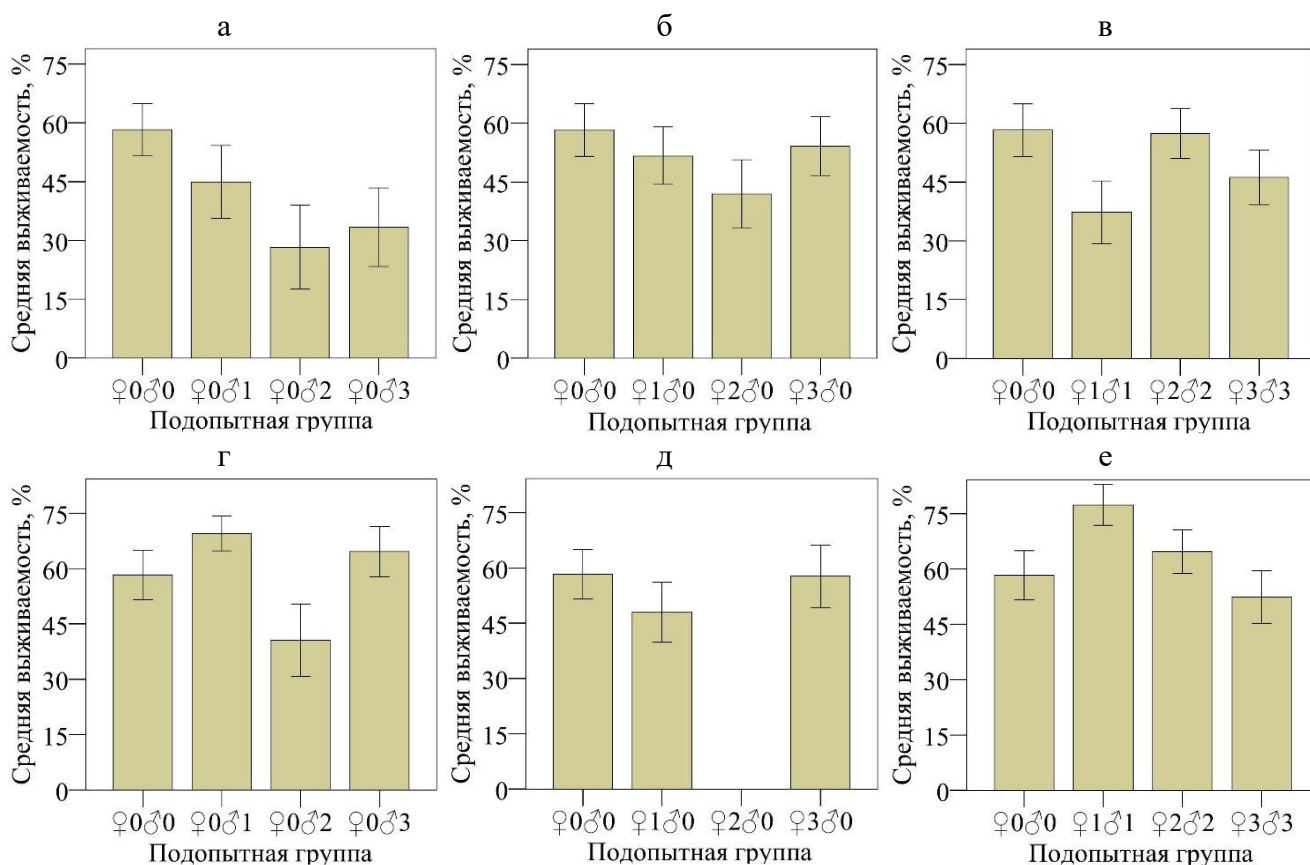


Рисунок 3.1 – Выживаемость мальков F1 (а-в) и F2 (г-е) в течение 30 суток после оплодотворения после воздействия ПХБ 52 на родителей F0 (ср. знач. \pm std. откл.)

Группа ♀2♂0 поколения F1 (рисунок 3.1, д) совсем не воспроизвела потомства, хотя нерест пытались повторить неоднократно. Скорее это было связано с тем, что в группе ♀2♂0 F1 было большое количество самок, превышающее самцов в 14 раз (см. рисунок 4.1). То есть для самок был явно недостаточный контакт с самцами по причине их малочисленности. Таким образом, это могло спровоцировать образование кисты из слипшейся икры. Самки этой группы выглядели очень полными, брюшки были туго наполнены зрелой, но не выметанной икрой. В результатах выживаемости поколения F2 прослеживается явное его улучшение по сравнению с поколением F1, в некоторых группах выживаемость была даже выше, чем в контроле. Это вполне ожидаемо, так как воздействие конгенера ПХБ 52 на поколение F1 оказано не было.

На рисунке 3.2 представлены графики выживаемости потомства поколений F1 и F2 после воздействия конгенера ПХБ 118 на особей-родителей F0.

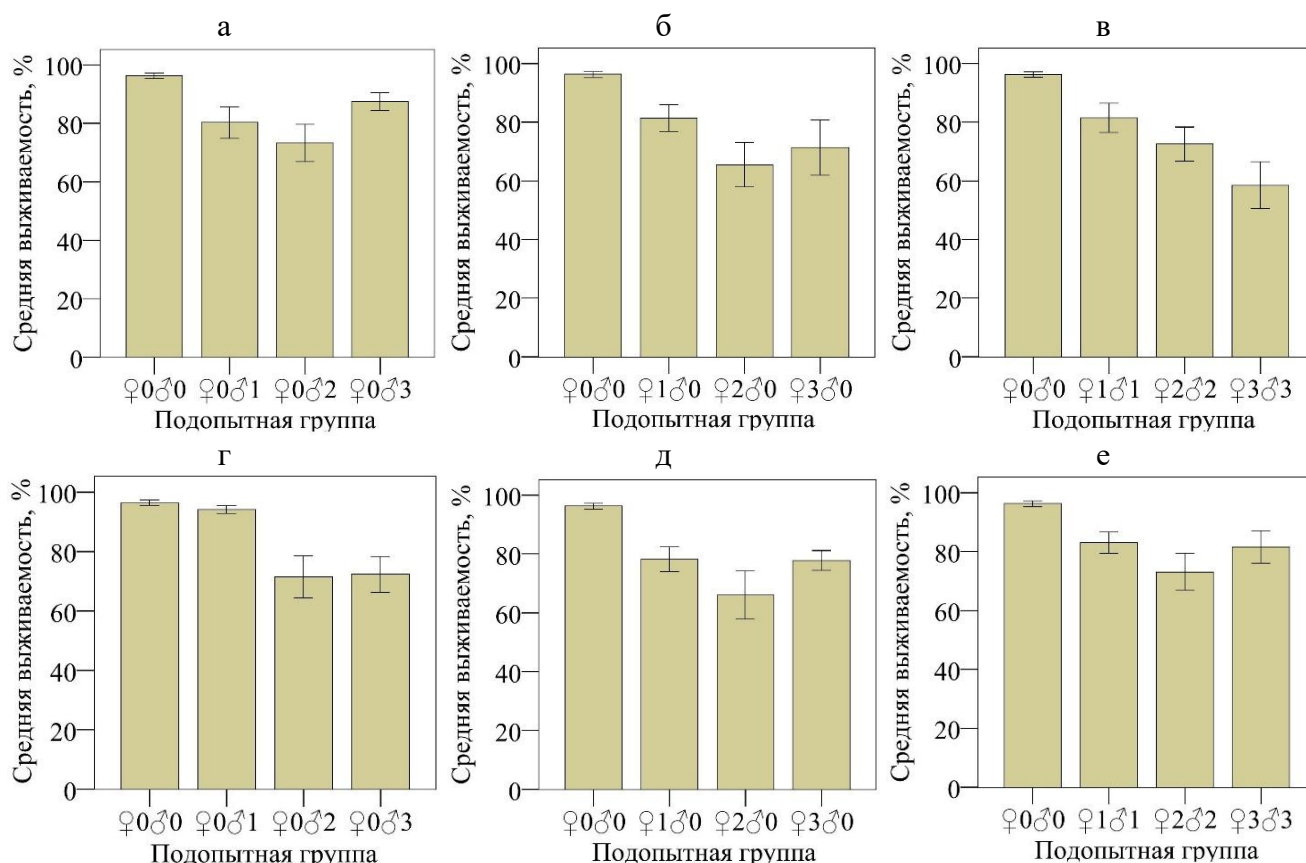


Рисунок 3.2 – Выживаемость мальков F1 (а-в) и F2 (г-е) в течение 30 суток после оплодотворения после воздействия ПХБ 118 на родителей F0 (ср. знач. \pm std. откл.)

В подопытных группах также выявлено существенное снижение выживаемости. Прослеживается нарушение зависимости от дозы в группах ♀0♂*n* (рисунок 3.1, а) и ♀*n*♂0 (рисунок 3.1, б). В группах ♀*n*♂*n* (рисунок 3.1, в) наблюдалась выраженная зависимость от дозы. Кроме того, относительно групп ♀0♂*n* и ♀*n*♂0, в группах ♀*n*♂*n* явно прослеживается аддитивный эффект. В группах ♀0♂*n* и ♀*n*♂0 нарушение зависимости от дозы несет в себе тот же характер, что и в случае с обработкой ПХБ 52. Результаты эксперимента с ПХБ 118 также показали значительное повышение выживаемости подопытных групп F2 по сравнению с группами F1.

В обоих экспериментах после нереста наблюдалось в целом нормальное развитие потомства как в поколении F1, так и в поколении F2 на всех стадиях. Существенной разницы во времени выклева предличинок замечено не было. Аномалии в развитии происходили лишь в немногочисленных случаях, независимо от экспозиционной дозы. Чаще всего мальки с такими аномалиями погибали. Также не обнаружилось нарушений в поведении предличинок (тревожное поведение при плавании), живой корм также полностью ими поедался.

Снижение выживаемости личинок поколения F2 относительно контроля предполагается за счет небольших остаточных концентраций ПХБ в икре (F1), вымеченной от особей-родителей F0. Также снижение выживаемости могло быть спровоцировано за счет вызванных воздействием ПХБ на особей-родителей F0 изменений экспрессии генов, как у родительских особей, так и у потомства, которые

вероятно влияли на онтогенез. Так, например, в одном из исследований (Nourizadeh-Lillabadi et al., 2009) изучали воздействие смеси СОЗ, содержащей ПХБ и экстрагированной из печени налима (*Lota lota*), на изменения экспрессии генов в молоках у самцов. Некоторые из этих генов участвуют в функционировании репродуктивной системы. То есть ученые предположили, что эти гены могут являться мишенями для экотоксикантов, вызывающих эндокринные нарушения.

Глава 4 Эффект ПХБ по соотношению полов и половому диморфизму рыб

Результаты соотношения полов в каждой группе потомства F1 и F2 после воздействия ПХБ 52 на родительские особи отображены на рисунках 4.1 и 4.2. В результатах эксперимента с ПХБ 52 у поколения F1 отмечалось изменения в соотношении полов с нарушением зависимости от дозы. Однако, замечено, что в целом наиболее сильные изменения в соотношении полов прослеживались в группах ♀n♂0 (средняя доля самок 86,2%) по сравнению с соотношением полов в группах ♀0♂n (средняя доля самок 65,0%).

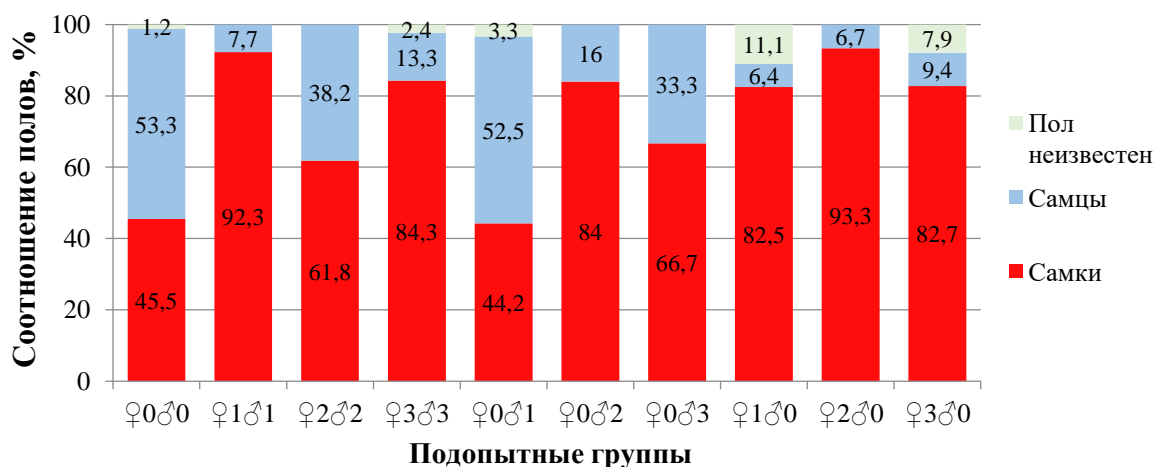


Рисунок 4.1 – Соотношение полов в подопытных группах F1 после воздействия ПХБ 52

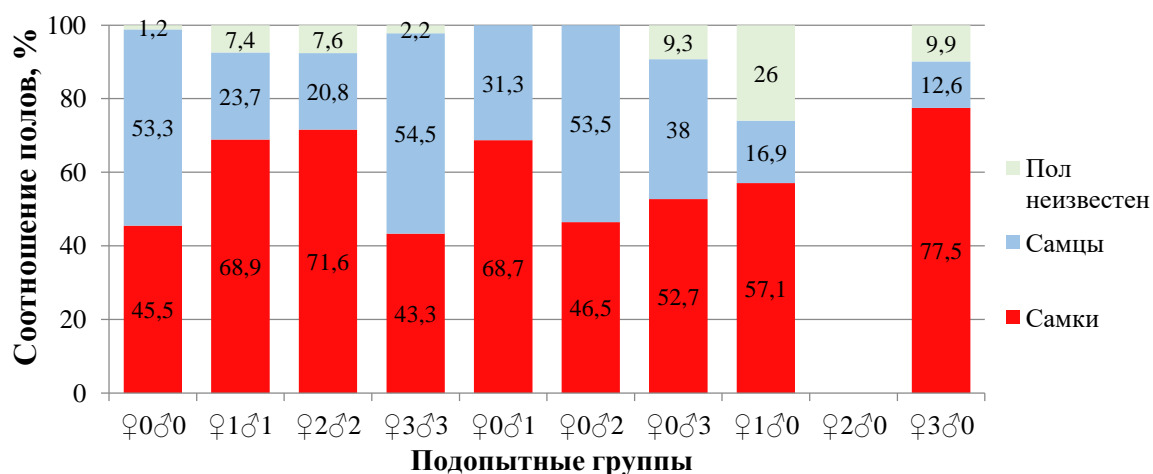


Рисунок 4.2 - Соотношение полов в подопытных группах F2 после воздействия ПХБ 52

Во всех группах ПХБ 52 в поколении F2 также не наблюдалось зависимости от дозы. В группах ♀3♂3 и ♀0♂2 явно прослеживалось соотношение полов, которое практически идентично соотношению полов в контрольной группе. Все же в целом, в группах ♀n♂0 прослеживалось наибольшее изменение в соотношении полов в пользу самок (средняя их доля составляла 67,3%), чем в группах ♀0♂n (средняя доля самок 56%).

В результатах эксперимента с ПХБ 118 в поколении F1 (рисунок 4.3) также отмечалось изменение в соотношении полов в пользу самок с нарушением зависимости от дозы, кроме групп ♀n♂n. В группах ♀n♂n явно прослеживалось изменение в соотношении полов в зависимости от дозы (средняя доля самок 71,1%). Различия в соотношении полов между группами потомства ♀0♂n и ♀n♂0 установить определенно не удалось, так как сниженное изменение в соотношении полов в пользу самок компенсируется долей рыб с неопределенным полом.

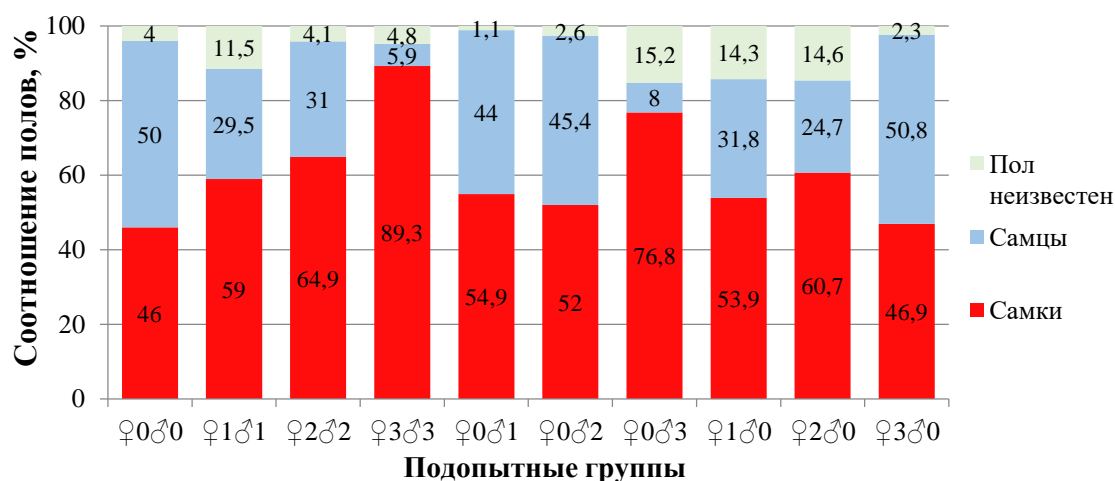


Рисунок 4.3 – Соотношение полов в подопытных группах F1 после воздействия ПХБ 118

Во всех группах ПХБ 118 поколения F2 (рисунок 4.4) четкой зависимости соотношения полов от экспозиционной дозы не выявлено. Средняя доля рыб с неопределенным полом в группах ♀0♂n оказалась самой высокой (21,1%), по сравнению с группами ♀n♂n (9%) и ♀n♂0 (11,4%). Кроме того, средняя доля самок в группах ♀0♂n составила 57,8%, что значительно ниже, чем в группах ♀n♂0 (62,9%).

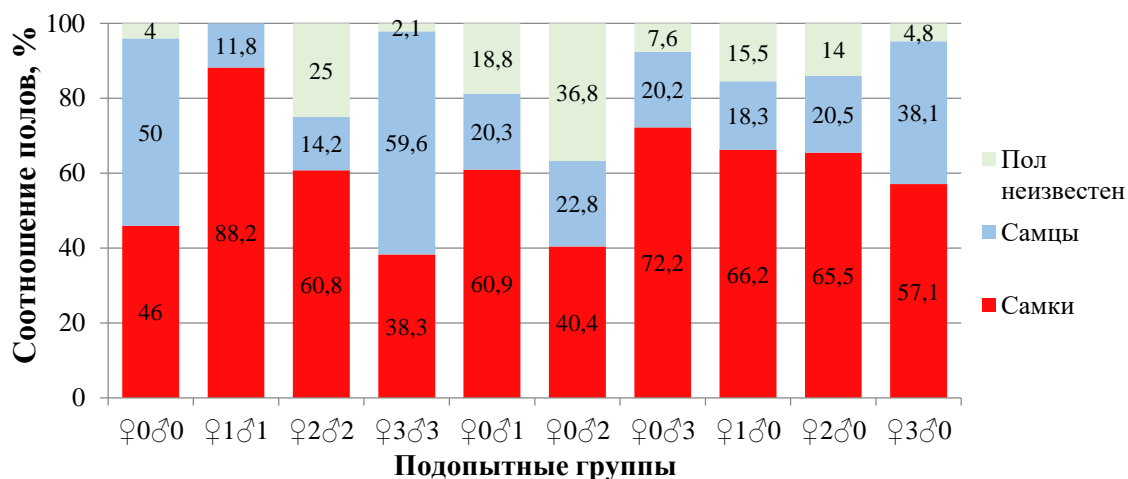


Рисунок 4.4 - Соотношение полов в подопытных группах F2 после воздействия ПХБ 118

В обоих экспериментах соотношение полов в обоих поколениях в целом изменялось в пользу самок. Эффекты изменения в соотношении полов оказались наиболее ярко выражены в поколении F1, в поколении F2 эти эффекты проявлялись в меньшей степени. Эффекты изменения в соотношении полов в поколении F2 можно объяснить наличием трансгенерационного эпигенетического наследования, вызванного в ответ на воздействие конгенерами ПХБ. Исходя из обсуждения различий эндокринного влияния ПХБ 52 и ПХБ 118, подтвержденные исследованиями (Plísková et al., 2005; Zhang et al., 2014).

Глава 5 Токсический эффект ПХБ на общее развитие и морфологию половозрелых рыб

После преднерестового воздействия ПХБ 52 на особей-родителей рыб F0 получены следующие результаты состояния морфологии рыб F1 (рисунок 5.1, 5.2).

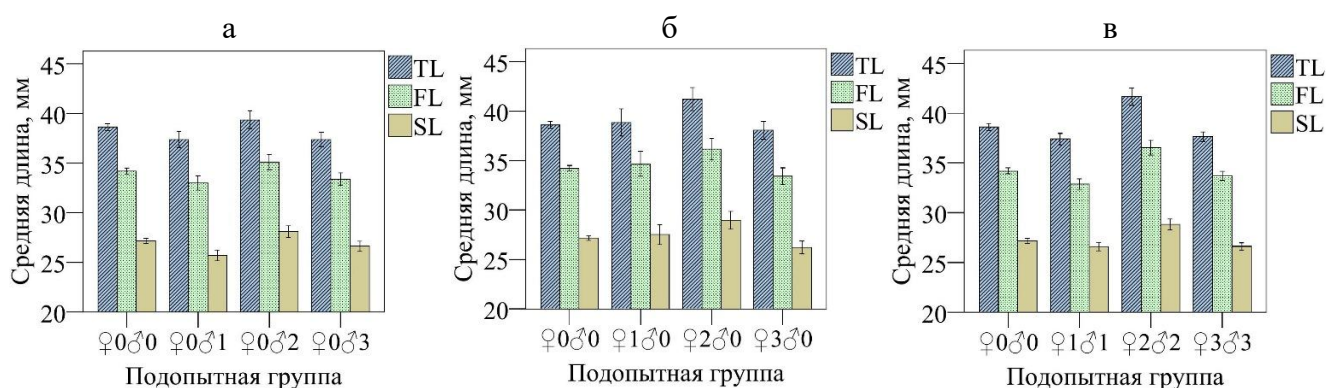


Рисунок 5.1 – Средняя длина тел рыб F1 после преднерестового воздействия ПХБ 52 на их родителей F0 (ср. знач. ± std. откл.)

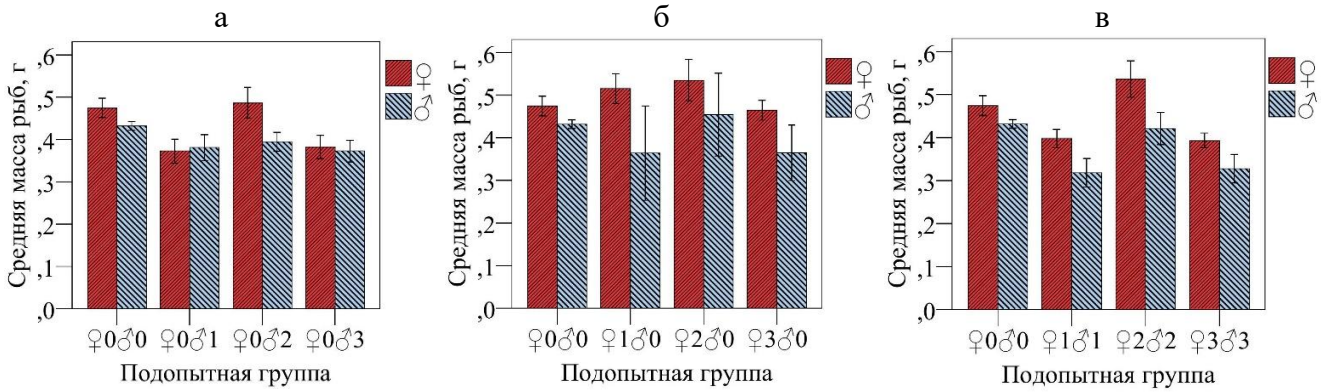


Рисунок 5.2 – Средняя масса рыб F1 после преднерестового воздействия ПХБ 52 на их родителей F0 (ср. знач. \pm std. откл.)

Отмечается общая тенденция снижения массы тела самцов F1 в большинстве групп, кроме группы $\text{♀}2\text{♂}0$ и $\text{♀}2\text{♂}2$, после преднерестового воздействия ПХБ 52 на организм родителей F0 (Рисунок 5.2). В то же время, увеличение массы тела самок отмечалось только в некоторых группах. Вполне возможно, что это увеличение в некоторых группах скорее связано с застойным созреванием икры, которую самки не смогли выметать из-за небольшого количества самцов. Особенно, это заметно в группах $\text{♀}n\text{♂}0$, где было очень низкое количество самцов.

После нереста поколения F2 особями-родителями поколения F1, выверены следующие результаты измерений показателей морфологии у рыб F2 (рисунки 5.3 и 5.4).

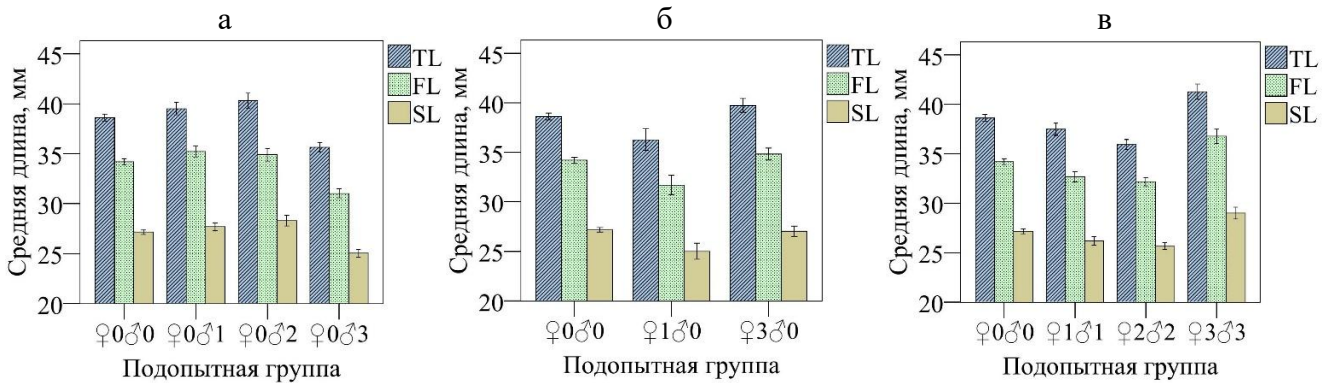


Рисунок 5.3 – Средняя длина тел рыб F2 после преднерестового воздействия ПХБ 52 на их родителей F0 (ср. знач. \pm std. откл.)

Исходя из полученных результатов, определить влияние на онтогенез рыб последующего поколения F2 после преднерестового воздействия ПХБ 52 на рыб-родителей F0 в целом затруднительно. Какие-либо изменения средних масс тела рыб явно коррелировали с изменениями средних длин тела, поскольку эти выборки между собой зависимы. Возможно, это связано с тем, что влияние ПХБ 52 при условии отсутствия воздействия на последующие поколения постепенно ослабевает.

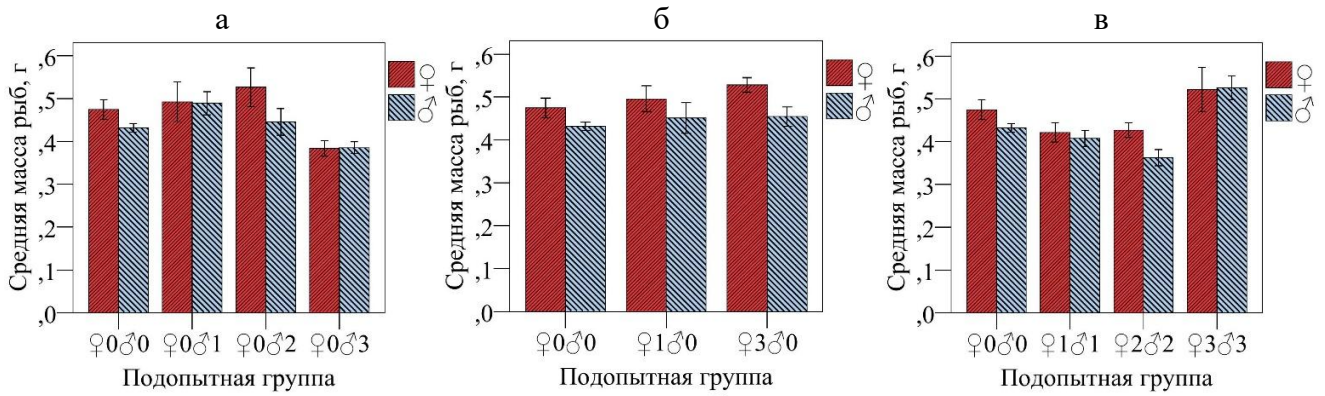


Рисунок 5.4 – Средняя масса рыб F2 после преднерестового воздействия ПХБ 52 на их родителей F0 (ср. знач. \pm std. откл.)

После преднерестового воздействия ПХБ 118 на особей-родителей рыб F0 получены следующие результаты состояния морфологии рыб F1 (рисунки 5.5, 5.6).

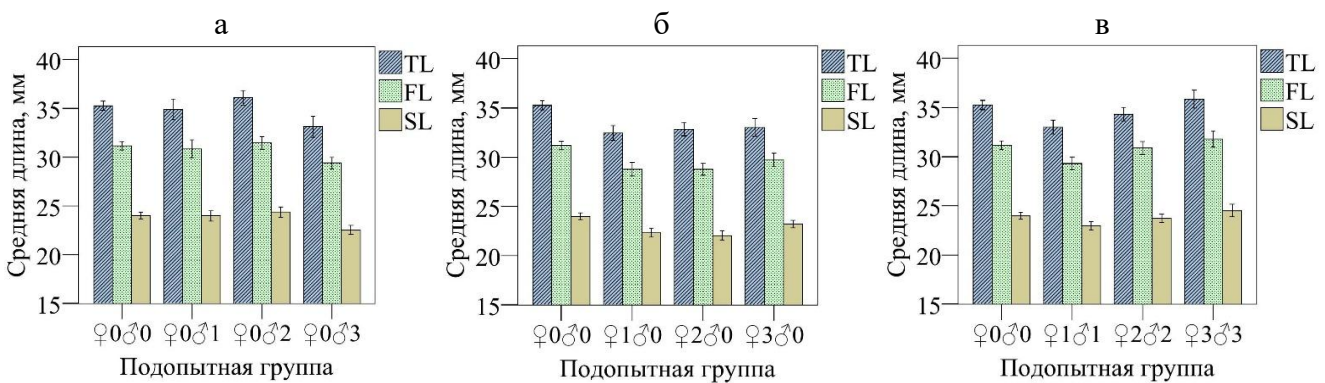


Рисунок 5.5 – Средняя длина тел рыб F1 после преднерестового воздействия ПХБ 118 на их родителей F0 (ср. знач. \pm std. откл.)

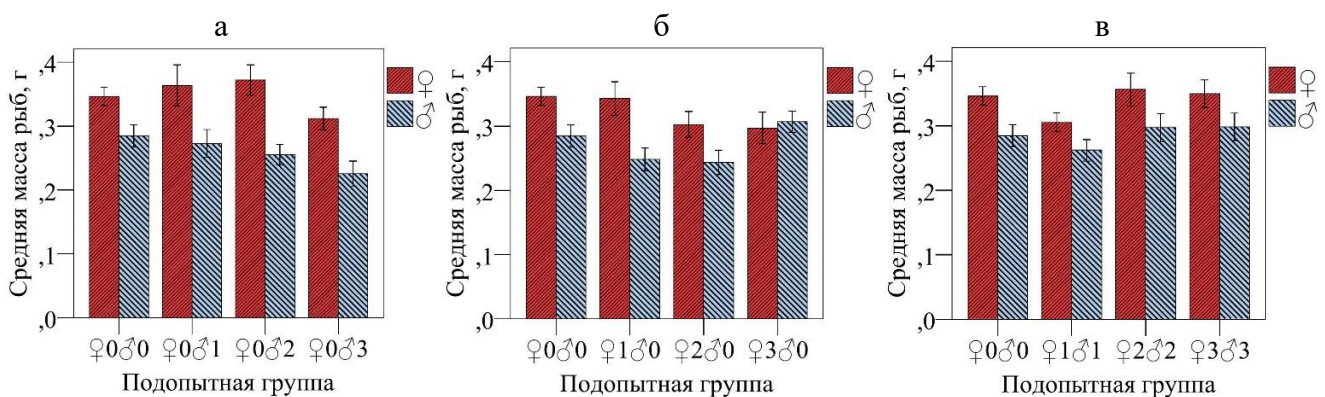


Рисунок 5.6 – Средняя масса рыб F1 после преднерестового воздействия ПХБ 118 на их родителей F0 (ср. знач. \pm std. откл.)

Отмечена тенденция уменьшения длины тела рыб в группах ♀n♂0 и некоторых групп ♀0♂n и ♀n♂n. Также зафиксировано снижение средней массы тела у самцов в группах ♀0♂n, некоторых группах ♀n♂0 и отдельно в группе ♀1♂1.

На рисунках 5.7 и 5.8 были получены следующие результаты измерений показателей морфологии у рыб F2. В результатах отмечаются в целом наиболее сильная тенденция снижения длин тела рыб и их масс относительно контрольной группы.

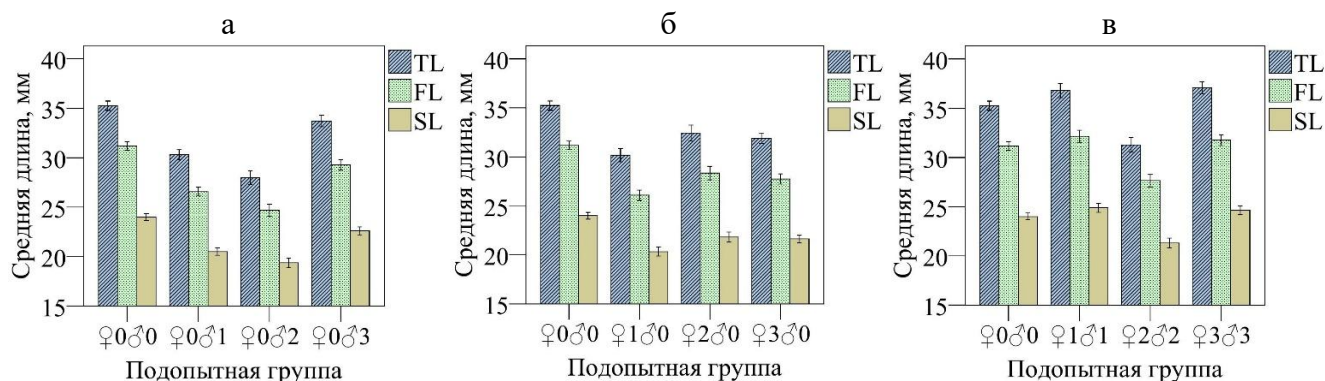


Рисунок 5.7 – Средняя длина тел рыб F2 после преднерестового воздействия ПХБ 118 на их родителей F0 (ср. знач. \pm std. откл.)

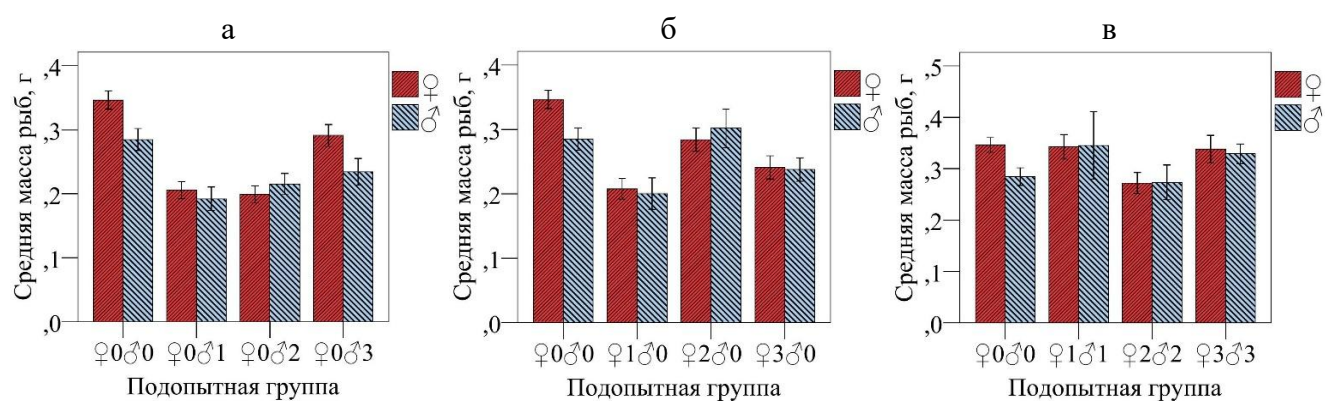


Рисунок 5.8 – Средняя масса рыб F2 после преднерестового воздействия ПХБ 118 на их родителей F0 (ср. знач. \pm std. откл.)

Исходя из полученных результатов, можно предположить, что преднерестовое воздействие ПХБ 118 на особей-родителей рыб *Danio rerio*, оказывает влияние на онтогенез последующих поколений. В частности, это проявляется в задержке развития как поколения F1, и особенно F2, несмотря на отсутствие воздействия конгенера ПХБ на поколение F1. Кроме того, отмечено выравнивание средних масс самок и самцов как в поколении F1, так и в поколении F2. Определение пола в подопытных группах было затруднено по сравнению с контрольной группой из-за явного ослабления полового диморфизма. В этих группах самки и самцы отличались между собой гораздо меньше, чем в контрольной группе.

Возможной причиной задержкой онтогенеза у последующих поколений рыб после преднерестового воздействия ПХБ 118 могли быть близкие к диоксину токсикологические свойства. Имеются сведения опубликованных данных о воздействии ПХБ 126 на развитие рыб *Danio rerio* на эмбриональной стадии, которое приводило к различным морфологическим дефектам, в том числе и задержке развития в целом (Sisman et al., 2007; Na et al., 2009; Li et al., 2014; Di Paolo et al., 2015; Wincent et al., 2015; Teixido et al., 2019). ПХБ 126, как и ПХБ 118 относится к диоксиноподобным конгенерам ПХБ (IARC, 2016).

Глава 6 Содержание ПХБ 52 в родительских особях F0 и половозрелом потомстве F1

Полученные результаты количественного анализа содержания ПХБ 52 у родительских особей F0 отражены в таблице 6.1. Результаты представлены в виде концентраций в образцах на сырую массу, а также пересчитаны в среднюю накопленную дозу ПХБ 52 на сырую массу одной особи.

В целом, содержание и накопление ПХБ 52 вполне зависят от расчетной дозы введения контаминанта внутрь рыб (по р-Спирмену: связь расчетных доз с содержанием ПХБ $r = 0,84$, при $p = 0,00$, а связь расчетных доз с накопленными дозами $r = 0,75$, при $p = 0,00$). Если сравнить результаты содержания ПХБ 52 между самками групп ♀n♂0 с самцами групп ♀0♂n и самками с самцами групп ♀n♂n по идентичным дозам, то у самок концентрации ПХБ 52 оказались выше, чем у самцов в 2-3 раза. А средние накопленные дозы ПХБ 52 у самок выше, чем у самцов в 3,3-5,2 раза.

Таблица 6.1 - Содержание ПХБ 52 в организме у родительских особей *Danio rerio* (F0)

Тип экспозиции особей	Группа	Расчетная доза, мкг/особь	Содержание ПХБ 52 в образцах рыб на сырую массу, нг/г	Средняя накопленная доза ПХБ 52 в образцах рыб на сырую массу, нг/особь (ср.знач. ± std.откл.)
Контроль	♀0	0	<0,1	<0,11 ± 0,01
	♂0	0	<0,1	<0,08 ± 0,00
♀0♂n	♀0	0	0,13	0,08 ± 0,00
	♂1	25	37,03	16,44 ± 0,17
	♀0	0	<0,1	0,09 ± 0,00
	♂2	45	70,23	32,50 ± 2,92
	♀0	0	4,41	3,00 ± 0,11
	♂3	90	193,52	87,50 ± 4,60
♀n♂0	♀1	25	76,36	54,59 ± 5,11
	♂0	0	<0,1	<0,04 ± 0,00
	♀2	45	149,79	106,70 ± 9,38
	♂0	0	1,27	0,63 ± 0,03
	♀3	90	506,03	391,75 ± 24,62
	♂0	0	2,6	1,09 ± 0,12
♀n♂n	♀1	25	109,30	106,51 ± 7,35
	♂1	25	58,67	26,18 ± 1,05
	♀2	45	231,10	141,33 ± 10,05
	♂2	45	107,08	40,76 ± 5,66
	♀3	90	457,87	381,38 ± 30,43
	♂3	90	150,22	73,75 ± 5,31

Такая разница в накоплении скорее могла быть вызвана способностью ПХБ к биоаккумуляции в липидах организмов, а также более высокого содержания и темпов накопления липидов у самок *Danio rerio*, в отличие от самцов (Sun et al., 2020). Интересно, что, несмотря на кратное увеличенное накопление по сравнению с самцами F0, все же выживаемость в поколениях F1 была выше у групп ♀n♂0, которые были воспроизведены экспонированными самками и «чистыми» самцами. Это показывает,

что в плане выживаемости потомства самцы гораздо более уязвимы к воздействию ПХБ 52, чем самки, несмотря на более низкое накопление ПХБ 52.

Концентрации ПХБ 52 в половозрелом поколении F1 были ниже пределов количественного обнаружения. Это было ожидаемо, поскольку это поколение не подвергалось обработке, а полученные остаточные концентрации от родительских особей F0 могли быть уменьшены за счет растущей массы у потомства относительно накопленной дозы.

Выводы

По результатам экспериментов следует отметить следующие выводы:

1) Преднерестовым воздействием и ПХБ 52, и ПХБ 118 на рыб родительского поколения F0 была снижена выживаемость последующих поколений рыб F1 и F2, при этом наиболее выраженный эффект отмечался в поколении F1. Выживаемость потомства F1 различалась в зависимости от преднерестового воздействия ПХБ на один из полов особей-родителей и от конгенера ПХБ;

2) С преднерестовым воздействием и ПХБ 52, и ПХБ 118 на рыб поколения F0 было связано изменение в соотношении полов с преобладанием долей самок в некоторых экспозиционных группах. Эти изменения были более выражены для конгенера ПХБ 52, чем для ПХБ 118. Также эти эффекты изменения в соотношении полов различались в зависимости от преднерестового воздействия ПХБ на один из полов особей-родителей и от соединения ПХБ;

3) Преднерестовым воздействием и ПХБ 52, и ПХБ 118 на рыб поколения F0 были вызваны некоторые морфологические изменения. Установить влияние ПХБ 52 на онтогенез рыб поколения F2 оказалось затруднительно ввиду не значимых статистических различий. После воздействия ПХБ 118 была снижена средняя масса и длина тела у особей некоторых групп F1, и особенно в некоторых группах F2, хоть и родительские особи F1 не подвергались воздействию ПХБ 118;

4) Преднерестовое воздействие ПХБ 52 вызвало накопление контаминанта в организмах рыб, значительно превышающее количественный предел обнаружения. Эти накопления полностью определялись вводимой дозой контаминанта, но зависели также и от пола рыб. По сравнению с самцами у самок содержание ПХБ 52 было кратно выше. Несмотря на такую разницу в накоплении ПХБ 52, потомство F1 в группе ♀n♂0 выживало значительно лучше, чем в группе ♀0♂n. Это показывает, что в плане выживаемости потомства самцы гораздо более уязвимы к воздействию ПХБ 52, чем самки.

Заключение

Проведенное исследование может внести определенный вклад в изучение экотоксикологии. В частности, в изучение экологических рисков, связанных с трансгенерационным эпигенетическим наследованием в последствие экспозиции ПХБ в организмы модельных рыб. Выявленный феномен наследования экологических рисков может учитываться как при разработке дополнительных мер по предупреждению

репродуктивных рисков, связанных с воздействием эндокринных дизрапторов, так и с целью сохранения биотического потенциала в экологически неблагоприятных местах обитания живых организмов. Кроме того, в настоящей работе проведено изучение токсических эффектов конкретных конгенов ПХБ, о которых было неизвестно ранее.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования

Web of Science

1) **Коцур Д.А.**, Новоселов А.П., Сорокина Т.Ю., Аксенов А.С., Чашин В.П. Токсические эффекты в последующих поколениях от полдозависимого воздействия 2,3',4,4',5-пентахлорбифенила (ПХБ 118) на *Danio rerio* (Hamilton, 1822) // Биология внутренних вод. – 2024. – Т. 17, №4. – С. 661-669. DOI: 10.31857/S0320965224040142.

2) **Коцур Д.А.**, Варакина Ю.И., Сорокина Т.Ю., Аксенов А.С., Новоселов А.П., Чашин В.П. Снижение жизнеспособности и изменение соотношения полов у потомства *Danio rerio* (Hamilton, 1822) в результате воздействия 2,2',5,5'-тетрахлорбифенила (ПХБ 52) на производителей в преднерестовый период // Биология внутренних вод. – 2024. – Т. 17, № 6. – С. 1027-1036. DOI: 10.31857/S0320965224060153.

Scopus

1) **Коцур Д.А.** Сорокина Т.Ю., Аксенов А.С., Чашин В.П. *Danio rerio* как модель изучения репродуктивных рисков, связанных с воздействием полихлорированных бифенилов на людей (систематический обзор) // Экология человека. – 2023. – Т. 30, № 4. – С. 245-258. DOI: 10.17816/humeco321190.

Материалы конференций

1) **Коцур Д.А.** Использование модельных организмов для изучения воздействия полихлорированных бифенилов, распространенных в экосистемах Арктики // Биомониторинг в Арктике: сборник материалов III Международной конференции. – Архангельск, 2022. – С. 68-71. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=49888413>.

Объекты интеллектуальной собственности

1) Патент на промышленный образец № 138706 S РФ, МКПО 19-17. Схема экспериментальной оценки наследования рисков гендерного дисбаланса и пониженной жизнеспособности в последующих поколениях, вызванных воздействием химических веществ отдельно на мужской и женский организмы у родительских особей / **Коцур Д.А.**, Чашин В.П., Сорокина Т.Ю., Аксенов А.С., Песьякова А.А., Быстрицкая Е.А.; заявитель и патентообладатель ФГАОУ ВО «САФУ им. М.В. Ломоносова» - № 2023501383; заявл. 23.03.2023; пат. опубл. 10.10.2023. Бюл. № 10.