

Пловдивски Университет „Паисий Хилендарски“  
Биологически Факултет, Катедра „Екология и ООС“

**Весела Славчева Янчева**

**„Влияние на тежки метали върху  
представители от ихтиоценозата на язовир  
Тополница“**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**на дисертация**

*за придобиване на образователна и научна степен*

**„доктор“**

*направление 4.3. Биологически науки,*

*докторска програма „Екология и опазване на*

*екосистемите“*

**Научни ръководители:**

Проф. д-р Илиана Велчева

Доц. д-р Еленка Георгиева

**Рецензенти:**

Проф. д-р Лиляна Юркова

Доц. д-р Диян Георгиев

Пловдив, 2014 г.

Дисертационният труд съдържа 202 страници, 29 таблици и 55 фигури. Цитирани са 642 литературни източника, от които 26 на кирилица.

Изследванията от дисертационния труд са проведени в лабораторията по Екология, Катедра „Екология и ООС“, лабораторията по Хистология и Ембриология, Катедра „Биология на развитието“ и лабораторията по Биохимия на Катедра „Биохимия и Микробиология“ на ПУ „Паисий Хилендарски“; Регионална лаборатория – Пловдив към ИАОС.

Дисертационният труд е обсъден и насрочен за защита на разширено заседание на Катедра „Екология и ООС“, ПУ „Паисий Хилендарски“ (Протокол 143 от 07.03.2014 г.).

Защитата на дисертационния труд ще се състои на 29.05.2014 г. от 11.00 часа в 15 аудитория на Биологическия факултет на ПУ „Паисий Хилендарски“, гр. Пловдив, ул. „Тодор Самодумов“ 2 на открито заседание на научното жури.

Материалите по защитата са на разположение на интересуващите се в Централна библиотека на ПУ „Паисий Хилендарски“.

С благодарност към колегите, които ме подкрепиха при реализирането на този труд.

## **1. УВОД**

В екологичните изследвания се обръща специално внимание на проблемите, свързани със замърсяването на природната среда с тежки метали. Те представляват опасност за всички живи организми, тъй като се характеризират с токсичност, устойчивост, тенденция да акумулират в природната среда и способност да увеличават концентрациите си, преминавайки през различните трофични нива. Потенциален източник на замърсяване на водните екосистеми с тежки метали са: интензивният рудодобив и добивна металургия, битовите и индустриални отпадни води и неприродосъобразните земеделски практики.

Близостта на водни басейни до антропогенни източници на замърсяване, оказващи влияние върху състоянието на природата, обуславя и нуждата от проучване на съществуващите там екосистеми. За да се даде цялостна оценка за състоянието на такива екосистеми е необходимо провеждане на научни изследвания, включващи всички компоненти (води, седименти и биота), както и да се проследят измененията в резултат на действието на токсикантите на клетъчно, тъканно и организмово ниво през различните сезони. Чрез подобен род изследвания ще се решат и задачи от екологичния мониторинг, целящ получаване на комплексна и системна информация за оценка на антропогенното въздействие върху водните екосистеми. Това до голяма степен ще подпомогне изготвянето на регионални и национални стратегии, свързани от една страна, с изясняване степента на въздействие на тежките метали върху тях, а от друга, с правилното им управление и бъдещите сравнителни екологични проучвания с оглед на максимално ограничаване и предотвратяване на негативните последствия върху екосистемите.

## 2. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

Литературният обзор на базата на 642 източника е свързан с проучване на влиянието на замърсени с тежки метали пресноводни екосистеми, и се съсредоточва върху следните проблеми:

- Замърсяване с тежки метали на повърхностни води;
- Замърсяване с тежки метали на седименти;
- Биоакумулация и биомагнификация на тежки метали в различни органи на риби;
- Биомаркери (хистологични и биохимични) за установяване на влиянието на тежки метали върху риби

## 3. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

С разработването на настоящата работа си поставихме за основна цел да се проучи състоянието на язовир “Тополница,, по отношение на замърсяване с тежки метали и да се проследи въздействието им върху някои представители на ихтиоценозата. За постигането на тази цел бяха поставени следните научно-изследователски задачи:

1. Установяване количества на тежките метали арсен (As), кадмий (Cd), мед (Cu), никел (Ni), олово (Pb), цинк (Zn) в повърхностни води и седименти от язовир “Тополница,,.

2. Установяване количества на изследваните тежки метали в органите – хриле, черен дроб, бъбреци, слезка и мускули от три вида сладководни риби, заемащи различни трофични нива – шаран (*Cyprinus carpio*, L.), червеноперка (*Scardinius erythrophthalmus*, L.) и костур (*Perca fluviatilis*, L.) от язовир “Тополница,,.

3. Установяване степента на разпределение, депониране и трансфер на изследваните тежки метали в проучваните видове риби.

4. Представяне здравния статус на изследваните видове риби чрез фактора на кондиция.

5. Проучване влиянието на изследваните тежки метали върху морфологичната структура на хриле и черен дроб от трите вида риби.

6. Проучване влиянието на изследваните тежки метали върху функцията на черен дроб от трите вида риби чрез измерване на активността на ензими глутатион пероксидаза, лактат дехидрогеназа, аланин и аспартат аминотрансфераза.

7. Статистическа обработка и анализ на получените резултати.

#### **4. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ**

Язовир “Тополница,, (42° 25' 90" N 23° 59' 38" E) е разположен на около 600 m н.в. на границата на Ихтиманска (от запад) и Същинска (от изток) Средна гора. Той е построен през 1961 г. Язовир “Тополница,, е с обем от 140 милиона m<sup>3</sup>, водосборна площ от 1371 km<sup>2</sup> и средногодишен отток в размер на 223 милиона m<sup>3</sup>. Водите на язовир “Тополница,, се използват за добив на електроенергия посредством построената на стената ВЕЦ, напояване, отглеждане на риби и спортен риболов.

Контролен язовир “Криви Дол,, (42° 22' 25.5" N 24° 07' 09.9" E) е микроязовир, който се намира между селата Лесичово и Боримечково и отстои приблизително около 20–25 km от язовир “Тополница,,. Водите на язовира се използват за напояване и спортен риболов, няма притоци на река Тополница и не е подложен на антропогенно замърсяване.

##### **4.1. Води**

Пробите от повърхностни води за анализ за съдържанието на тежки метали бяха взети в близост до стената на язовира през три сезона (n=3 през всеки месец) на 2012 г. – пролет (м. март, април, май), лято (м. юни, юли, август) и есен (м. септември, октомври, ноември) съгласно ISO 5667-4:2002.

На място бяха отчетени показателите: рН (БДС ISO 10523:2008), температура (БДС 17.1.4.01:1977), електропроводимост,  $\mu\text{S cm}^{-1}$  (БДС EN 27888:2002), разтворен кислород,  $\text{mg L}^{-1}$  (БДС EN 25814:2002), наситеност на

кислород, % (БДС EN 25814:2002), с инструментите рН-метър (Microprocessor pH meter WTW pH 196) и оксиметър (Microprocessor Oximeter WTW OXI 196). Общата твърдост на водите ( $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{mg L}^{-1}$ ) беше установена съгласно БДС ISO 6059:2002.

Анализите за съдържанието на тежки метали бяха извършени по метода на маспектрометрията с индуктивно свързана плазма (ISO 17294-2:2005) с апарат ICP-MS (Agilent 7500, Japan) в акредитираната Регионална лаборатория към ИАОС в гр. Пловдив.

Пробите от повърхностни води за анализ за съдържанието на тежки метали от контролен язовир “Криви Дол,, бяха взети в близост до брега през пролетта (м. април), лятото (м. юли) и есента (м. октомври) на 2012 г. и анализирани по посочения начин.

#### ***4.2. Седименти***

Пробите седименти за анализ за съдържанието на тежки метали бяха взети съгласно стандартна методика (EPA, 2001; ISO 5667-15:2009) в близост до стената на язовира ( $n = 5$ ) през есента – м. октомври на 2012 г.,

Пробоподготовката на седиментите беше извършена в лабораторията по “Екология и ООС,, в Биологическия факултет на ПУ “Паисий Хилендарски,, чрез пресяване през серия от сита. Пробите седименти бяха изсушени до въздушно-сухо тегло.

Анализът за съдържанието на тежки метали беше извършен в акредитираната Регионална лаборатория към ИАОС в гр. Пловдив. Там седиментите бяха третираны по метода на разлагането с микровълнова система (Milestone ETHOS PLUS, Italy) и анализирани за съдържание на тежки метали по метода на маспектрометрията с индуктивно свързана плазма (ISO 17294-2:2005) с апарат ICP-MS (Agilent 7500, Japan).

Пробите от седименти за анализ за съдържанието на тежки метали от контролен язовир “Криви Дол,, бяха взети в близост до брега на язовира през есента (м. октомври) на 2012 г. и анализирани по посочения начин.

### 4.3. Риби

В настоящото изследвани използвахме следните видове риби: шаран (*Cyprinus carpio*, L.), червеноперка (*Scardinius erythrophthalmus*, L.) и костур (*Perca fluviatilis*, L.). Трите вида риби бяха уловени ежемесечно с помощта на рибарска лодка и мрежи в близост до стената на язовира, съответно през трите изследвани сезона – пролет (м. март, април, май), лято (м. юни, юли, август) и есен (м. септември, октомври, ноември). През всеки месец бяха уловени съответно по 5 индивида от вид (по 45 индивида от трите изследвани вида за всеки изследван сезон, общо 135 индивида в хода на цялото проучване). Дисекцията на уловените риби беше извършена на терен по методика за събиране на органи от риби за анализ за биоакмулирани токсиканти, описана в EMERGE протокола на Rosseland *et al.* (2003).

При дисекцията на рибите бяха съблюдавани международните препоръки на Европейския парламент и комисия относно използването на животни за научни цели (Directive 2010/63/EU).

Пробоподготовката и химичният анализ за съдържанието на тежки метали в пробите от органи на рибите бяха извършени в акредитираната Регионална лаборатория към ИАОС в гр. Пловдив. Там те бяха третираны по метода на микровълновото разлагане в затворени съдове под налягане (Kingston & Jassie, 1988) и анализирани за съдържание на тежки метали по метода на маспектрометрията с индуктивно свързана плазма (ISO 17294-2:2005) с апарат ICP-MS (Agilent 7500, Japan).

От контролен язовир “Криви Дол”, бяха уловени еднократно риби от същите видове (по 5 индивида от вид) за всеки сезон – пролет (м. април), лято (м. юли) и есен (м. октомври) на 2012 г. (общо 45 риби за трите изследвани сезона). Пробоподготовката и анализа за съдържанието на тежки метали в тях бяха извършени по посочения начин.

#### **4.4. Хистологични анализи**

Събраните и консервирани в 10% неутрален формалин проби от хриле и черен дроб бяха обработени по стандартна методика за хистологични анализи (Bancroft & Stevens, 1996) в лабораторията по “Хистология и Ембриология,, в Биологическия факултет на ПУ “Паисий Хилендарски,,. С помощта на ротационен микротом бяха изработени парафинови срези с дебелина 5-7  $\mu\text{m}$ , оцветени с Хематоксилин и Еозин (H&E) и включени в канадски балсам. От всеки орган бяха подготвени трайни препарати, които бяха наблюдавани за установяване на хистологичните промени с помощта на светлинен микроскоп (Nikon SE, Japan) и документирани с дигитална камера (DCE-2, AMCAP software version 1.0.2.).

Хистологичните промени в проучваните органи бяха оценени, използвайки полу-количествената скала за оценка на Peevba *et al.* (2006), която ние модифицирахме.

Наблюдаваните хистоструктурни нарушения бяха представени като средна стойност в проценти на базата на всички изследвани срези (по 10 броя) на проучените индивиди от даден вид през всеки изследван сезон – пролет, лято и есен. Всяка стойност представлява специфична хистологична характеристика и беше категоризирана както следва: *липсват хистологични изменения* – (-); *леки хистологични изменения* – 10-20% - (+/-); *средни хистологични изменения* – 30-50% - (+); *тежки хистологични изменения* – 60-80% - (++) ; и *много тежки хистологични изменения* – над 80% - (+++) в *хрилната и чернодробна структура на рибите.*

#### **4.5. Биохимични анализи**

Активността на изследваните ензими беше измерена със спектрофотометър (модел DU 800, Beckman Coulter UV/Visible Spectrophotometer, USA) при 25°C в лабораторията по “Биохимия и микробиология,, на ПУ “Паисий Хилендарски,,.

Активността на ALAT и ASAT беше представена в  $\text{U L}^{-1}$ , а специфичната ензимна активност на GPx и LDH – в  $\text{U mg}^{-1} \text{protein}$ .



#### *Глутатион пероксидаза*

Измерването на активността на ензим GPx в черен дроб от изследваните видове риби беше проведено съгласно метода на Wendel (1980) и Flohé & Gunzler (1984) при дължина на вълната 340 nm.

#### *Лактат дехидрогеназа*

Измерването на активността на ензим LDH в черен дроб от изследваните видове риби беше проведено съгласно метода на Demetriou *et al.* (1974) и Vassault (1983) при дължина на вълната 340 nm.

#### *Аланин аминотрансфераза и аспартат аминотрансфераза*

Измерването на активността на ензими ALAT и ASAT в черен дроб от изследваните видове риби беше проведено съгласно оригиналния метод, разработен паралелно от Henley & Pollard (1955) и Wroblewski & Ladue (1956), който е модифицирания и подобрен от Reitman & Frankel (1957). Анализът беше извършен при дължина на вълната 340 nm.

#### *Определяне на белтък*

Количеството на белтък в черен дроб на изследваните видове риби беше определено съгласно метода на Bradford (1976). Анализът беше извършен при дължина на вълната 595 nm, а съдържанието на белтък беше измерено в mg mL<sup>-1</sup> protein.

#### **4.6. Статистическа обработка на данните**

Статистическата обработка на получените данни беше извършена чрез програма STATISTICA (version 7.0 за Windows, StatSoft Inc., New York, NY, USA, 2004). Приложен беше Student's t-test, Pearson Product-moment correlation анализ и Principal component and classification анализ, който е метод на главните компоненти.

Изчислени бяха и:

- **Фактор на биоаккумуляция**, предложен от Никаноров (1985);
- **Фактор на биомagniфикация**, предложен от Amirad *et al.* (1980);
- **Фактор на кондиция**, предложен от Fulton (1902).

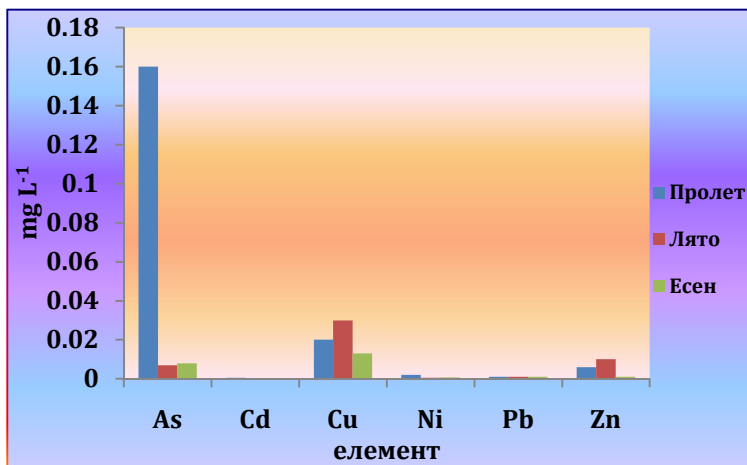
## 5. Резултати и дискусия

### 5.1. Води

Анализът на резултатите за физико-химичните параметри на проучваните от нас язовири показва, че те са в добро химично състояние и животът на рибите в тях не би трябвало да се ограничава от изследваните показатели.

Резултатите от анализите за съдържанието на тежки метали във води от язовир “Тополница,, от настоящото изследване са посочени на **Фигура 1**.

Нивата на изследваните метали арсен, кадмий, мед, никел и цинк варираха в периода, в който беше проведено настоящото проучване. Само съдържанието на олово през целия период на изследването беше под границата на определяемост на приложния метод, както и тези на изследваните метали в повърхностни води от контролен язовир “Криви Дол,,.



Фигура 1. Средно съдържание на изследваните тежки метали в повърхностни води от язовир “Тополница,, за периода на изследване,  $\text{mg L}^{-1}$ .

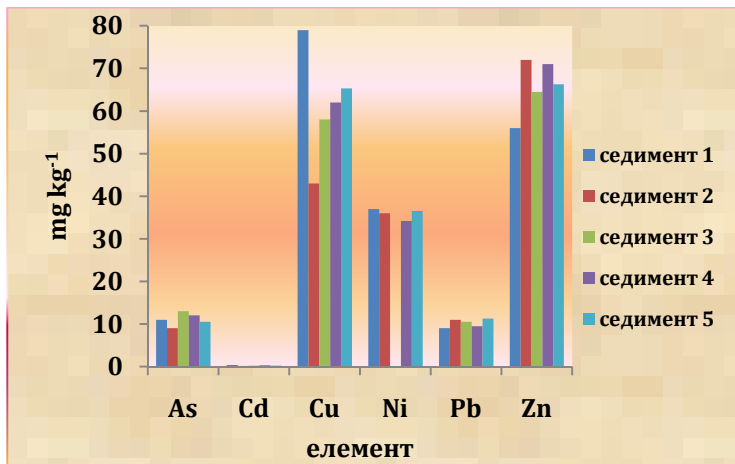
Резултатите показаха, че през пролетта във водите на язовир “Тополница,, постоянно присъстваха токсичният металоид арсен и металите кадмий, мед и цинк, а нивата на никел бяха под границата на определяемост на приложението метод през месец май. През лятото установихме, че арсен и мед присъстват постоянно във водите на язовир “Тополница,, нивата на кадмий и цинк съответно бяха под границите на определяемост на приложението метод за месец август, а тези на никел за месец юни и август. През есента единствено мед беше установена във водите на язовир “Тополница,, за всички месеци, а съдържанието на кадмий и цинк не беше отчетено за този сезон. Най-високи нива за всички проучвани метали определихме през пролетта, а най-ниски – през есента. Въпреки това статистическият анализ на данните не установи достоверни разлики между трите сезона ( $p > 0,05$ ).

Проведеният от нас t-test показва, че според съдържанието си във водите на язовир “Тополница,, тежките метали се различават достоверно и могат да бъдат подредени в следния низходящ ред:  $\text{Cu} > \text{As} > \text{Zn} > \text{Ni} > \text{Cd} > \text{Pb}$  ( $p < 0,05$ ).

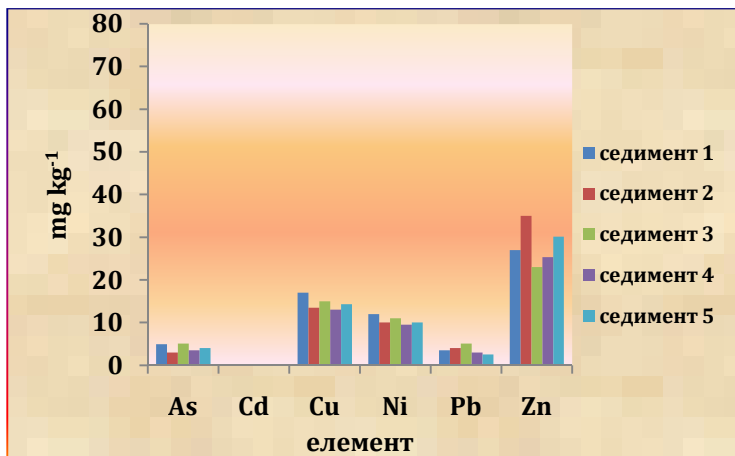
Съгласно максимално допустимите за вътрешни повърхностни води нива на метали – Наредба за стандарти за качество на околната среда за приоритетни вещества и някои други замърсители (2010) и Наредба № Н-4 за характеризирани на повърхностните води (2012), базирано на Directive 2013/39/EU,, средните за арсен и кадмий през пролетта, за цинк през месеците април, юни и юли, както и тези за медта за целия период на проучване надвишават разрешените стойности, като нивата на арсен и кадмий са съответно 6,4 пъти и 1,1 път над МДК през пролетта, на цинк през м. юли 2,7 пъти, а на мед – 20 пъти през пролетта, 30 пъти през лятото и 13 пъти през есента.

## 5.2. Седименти

Резултатите от анализа за съдържанието на тежки метали в седиментите от язовир “Тополница,, са посочени на **Фигура 2**, а резултатите от контролен язовир “Криви Дол,, – на **Фигура 3**.



**Фигура 2.** Съдържание на изследваните тежки метали в седименти от язовир “Тополница,, ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).



Фигура 3. Съдържание на изследваните тежки метали в седименти от контролен язовир “Криви Дол,, ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).

Статистическият анализ на резултатите за тежки метали в седиментите установи достоверно по-високи стойности на съдържанието им в язовир “Тополница,, в сравнение с тези от контролен язовир “Криви Дол,, ( $p < 0,05$ ).

Според проведеня от нас t-test по отношение на съдържанието си в седиментите от язовир “Тополница,, изследваните метали се различават достоверно и могат да се подредят в следния низходящ ред: **Zn > Cu > Ni > As > Pb > Cd** ( $p < 0,05$ ).

Ние определихме, че нивата на изследваните метали в седиментите достоверно превишава установените във водите ( $p < 0,05$ ). Съотношението между нивата на металите в двата компонента на проучвания язовир – вода и седимент, на база на средните стойности за целия период на проучване показва, че в седиментите нивото на арсен е 9 пъти повече, на кадмий – 0,25 пъти, на мед – 47 пъти, на никел – 23 пъти, на олово – 11 пъти и на цинк съответно – 57 пъти.

### 5.3. Риби

Съдържанието на тежки метали в органите на рибите от язовир “Тополница,, са посочени в Таблицы 1, 2 и 3. Резултатите са представени в  $\text{mg kg}^{-1}$  живо тегло.

Количествата на тежки метали в органите на рибите от контролен язовир “Криви Дол,, в хода на цялото проучване бяха под границите на определяемост на приложения метод.

Таблица 1. Средно съдържание на тежки метали в органите на шаран, червеноперка и костур през сезон пролет от язовир “Тополница,, ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).

Вид	Орган	As	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
Шаран (n=15)	Хриле	0,06±0,01	0,7±0,03	0,85±0,05	0,34±0,05	0,38±0,01	126,19±10,5
	Черен дроб	0,91±0,01	0,87±0,04	1,6±3,1	1,7±0,3	2,36±0,5	109±8,3
	Бъбреци	1,21±0,05	0,16±0,005	1,64±0,7	1,1±0,5	1,11±0,2	134±12,5
	Слезка	1,1±0,3	0,1±0,003	2±0,3	1,5±0,5	1,7±0,2	397±11,5
	Мускул	0,07±0,01	0,001±0,0005	0,47±0,05	0,4±0,002	0,32±0,005	8,08±1,5
Червеноперка (n=15)	Хриле	0,15±0,03	0,08±0,01	1,28±0,3	0,15±0,005	1,1±0,3	40±15,3
	Черен дроб	1,28±0,5	1,32±0,5	8±1,2	1,36±0,4	1,26±0,5	170±13,2
	Бъбреци	1,14±0,5	2,1±0,5	4,14±0,7	1,14±0,3	2,29±0,5	290±25
	Слезка	1,19±0,5	0,5±0,003	1,49±0,5	1,49±0,5	1,98±0,3	198±11
	Мускул	0,1±0,003	0,01±0,005	0,28±0,02	0,04±0,002	0,06±0,01	7±1,5
Костур (n=15)	Хриле	0,14±0,3	0,09±0,01	1,66±0,4	0,12±0,05	2±0,2	213±16,1
	Черен дроб	0,29±0,001	3,67±1,3	19±3,5	0,14±0,05	2,7±0,8	318±25,5
	Бъбреци	1,2±0,1	4,1±0,7	3,3±1,1	1,2±0,8	1,4±0,5	148±10,5
	Слезка	1,5±0,3	0,5±0,001	1,2±0,7	1,5±0,2	2,7±0,3	202,5±22
	Мускул	0,06±0,002	0,01±0,003	0,2±0,005	0,04±0,003	0,4±0,05	5,53±1,3

\*в червено са отбелязани статистически достоверните разлики в нивата на металите в съответния орган между различните видове риби.

**Таблица 2.** Средно съдържание на тежките метали в органите на шаран, червеноперка и костур през сезон лято от язовир “Тополница,, (mg kg<sup>-1</sup>).

Вид	Орган	As	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
Шаран (n=15)	Хриле	0,09±0,01	0,7±0,01	2,85±1,2	0,26±0,05	0,27±0,05	152±11
	Черен дроб	1,28±0,5	8,8±1,3	5,3±10,1	5,3±1	3,6±0,5	174±15,8
	Бъбреци	1,64±0,5	2±0,5	3,08±0,5	3,29±0,8	3,5±0,1	313±23,5
	Слезка	1,9±0,5	0,19±0,02	2±0,5	3,85±1	3,92±0,3	654±35
	Мускул	0,06±0,001	0,03±0,001	0,28±0,01	0,19±0,3	0,3±0,05	82±1,5
Червеноперка (n=15)	Хриле	0,14±0,003	0,29±0,003	1,75±0,3	0,16±0,05	1,19±0,7	30±15,5
	Черен дроб	1,9±0,5	1,57±0,5	1,6,8±5,1	1,52±0,3	1,3±0,5	55,9±5,5
	Бъбреци	2,13±0,8	3,54±1,3	6,18±3,5	1,42±0,5	2,1±0,8	283,5±15,3
	Слезка	1,43±0,3	0,83±0,5	4,71±1,2	1,52±0,2	2,13±0,5	46,2±8,5
	Мускул	0,12±0,005	0,02±0,002	0,3±0,01	0,14±0,01	0,03±0,01	8±1,2
Костур (n=15)	Хриле	0,12±0,05	0,3±0,01	1,45±0,5	0,13±0,01	0,4±0,03	123±13,7
	Черен дроб	1,5±0,2	5,3±1,3	67±8,3	3,5±0,4	2,5±0,5	151±15,2
	Бъбреци	2,04±0,4	2,7±1	1,7±0,3	4,3±1	5,3±1	355±36,4
	Слезка	1,5±0,4	0,4±0,1	2,4±0,5	2,8±0,6	3,5±0,5	674±41,8
	Мускул	0,2±0,001	0,05±0,003	1,8±0,1	0,15±0,03	0,08±0,003	10,5±2,3

\*в червено са отбелязани статистически достоверните разлики в нивата на металите в съответния орган между различните видове риби.

**Таблица 3.** Средно съдържание на тежките метали в органите на шаран, червеноперка и костур през сезон **есен** от язовир “Тополница,,(mg kg<sup>-1</sup>).

Вид	Орган	As	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
Шаран (n=15)	Хрялце	0,07±0,001	0,2±0,02	1,9±0,3	0,36±0,1	0,46±0,01	124±12,5
	Черен дроб	0,9±0,003	1,3±0,5	19±1,2	2,55±0,1	2,55±0,6	154±13,3
	Бъбреци	1±0,1	0,83±0,3	1,28±0,5	1,9±0,005	2±0,6	287±21
	Слезка	1,3±0,3	0,15±0,007	1,5±0,3	2,22±0,5	1,9±0,3	385±30,2
	Мускул	0,07±0,001	0,04±0,01	0,26±0,01	0,15±0,04	0,15±0,01	7,8±2
Червеноперка (n=15)	Хрялце	0,15±0,03	0,12±0,003	1,8±0,5	0,19±0,002	0,84±0,5	30±15,5
	Черен дроб	1,28±0,5	1,08±0,5	15,8±3,1	1,8±0,5	1,6±0,5	263±15,4
	Бъбреци	1,14±0,3	3,12±1	3,12±1	1,21±0,5	2,43±1	243±20,1
	Слезка	1,19±0,5	0,14±0,05	2,36±0,5	1,36±0,5	2,72±0,7	272±17,2
	Мускул	0,1±0,03	0,01±0,003	0,2±0,03	0,15±0,02	0,02±0,004	5,6±1,3
Костур (n=15)	Хрялце	0,14±0,05	0,1±0,05	1,89±0,6	0,9±0,05	1,01±0,3	230±19
	Черен дроб	0,82±0,1	6,1±1	20±3,5	1,7±0,06	1,2±0,5	420±35,3
	Бъбреци	1±0,06	3,1±0,4	3±1,1	1±0,3	2±0,2	221±23
	Слезка	1,3±0,01	0,12±0,02	1,5±0,5	1,21±0,5	2,43±0,3	224±20,1
	Мускул	0,08±0,001	0,01±0,005	0,3±0,02	0,04±0,001	0,9±0,1	9,4±3,5

\*в червено са отбелязани статистически достоверните разлики в нивата на металите в съответния орган между различните видове риби.

През трите изследвани сезона шаранът, червеноперката и костурът от язовир “Тополница,, показаха сходна тенденция в разпределението и депонирането на тежки метали в проучваните органи. На база на статистическата обработка на данните ние установихме значими разлики между количеството на тежките метали в изследваните органи при трите вида риби,



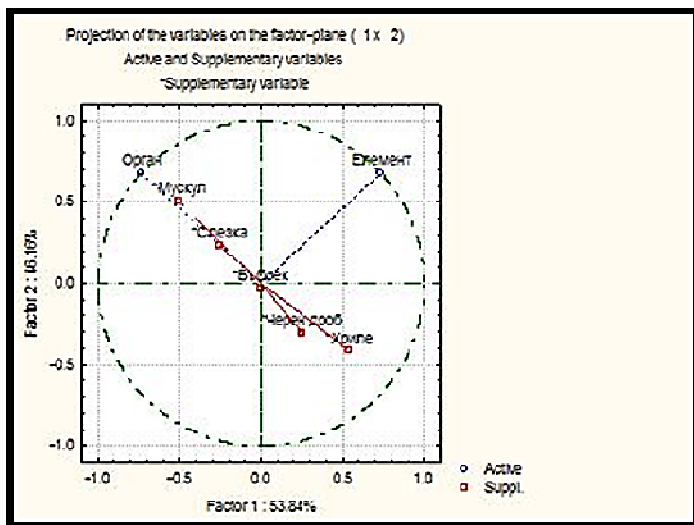
като при тях органите с най-висока биоакumulативна способност са паренхимните – черен дроб, бъбреци и слезка, следвани от хриле, и накрая – мускули ( $p < 0,05$ ).

Изследваните метали могат да се подредят в следния низходящ ред: **Zn > Cu > Pb, Ni > As > Cd** ( $p < 0,05$ ) по отношение на количествата си в проучваните органи.

С оглед на оценка на риска от интоксикация в резултат на консумация на замърсено с тежки метали месо на риби са приети някои национални и международни норми и препоръки. Ние сравнихме нашите резултати за съдържанието на тежки метали в мускули на шаран, червеноперка и костур от язовир “Тополница”, с тези, установени в България (Наредба № 31, 2004), ЕС (2006) и FAO/WHO (2011). Определихме, че в хода на цялото проучване във всички анализирани проби съдържанието на никел и цинк е по-ниско, а това на на арсен, кадмий, мед и олово в мускули на костур и шаран съвпадат или превишават приетите норми.

Ние разгледахме като качествени параметри факторите: “химичен характер на елемента”, “вид орган”, “вид риба”, “сезон”, “седимент”, и “вода”, които считаме, че оказват влияние върху постъпването и разпределението на тежките метали в рибите, като за целта приложихме статистически метод на главните компоненти (PCA).

Резултатите показваха, че водещо значение за процесите на постъпване и натрупване в организма на рибите има факторът “химичен характер на елемента”, (Фиг. 4). Под това понятие ние визираме неговите токсични свойства спрямо организма на рибите и способността му да се свързва с лиганди при определени условия на средата (t, pH и др.) (53,84%).

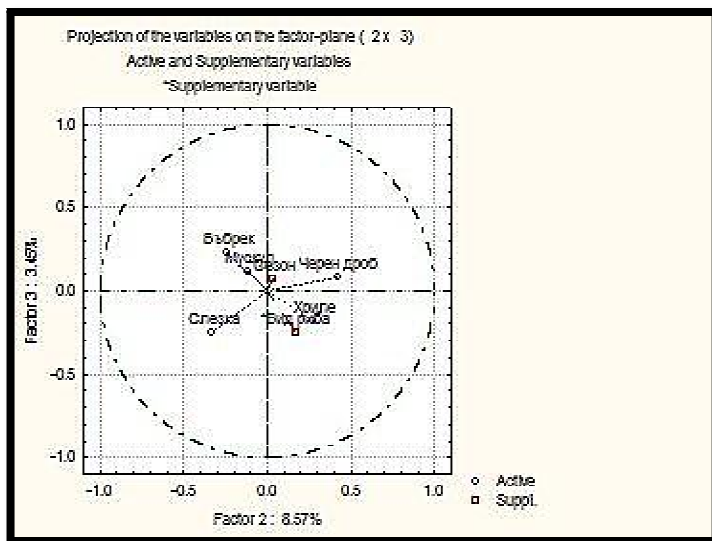


**Фигура 4.** PCA анализ, F1 – “химичен характер на елемента,, и F2 – “вид орган,,.

Проведеният PCA анализ показва, че качественият фактор “орган,, определя 46,16% от съдържанието на тежките метали в рибите (**Фиг. 4**).

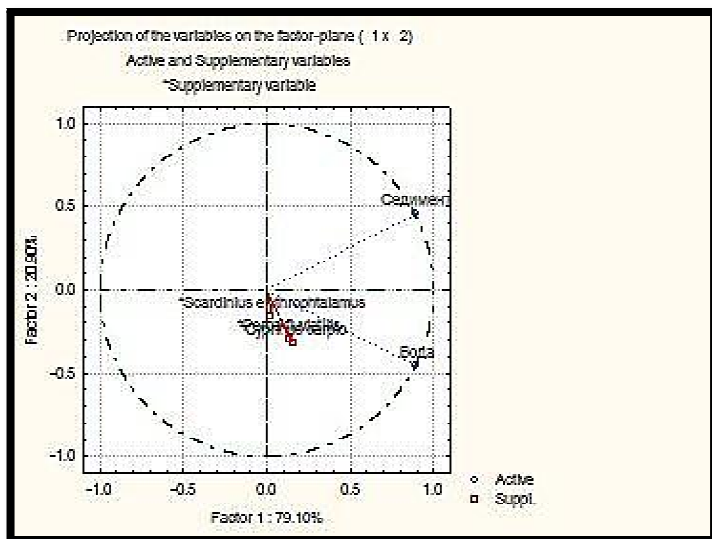
Влиянието на качествения фактор “сезон,, е 8,57% (**Фиг. 5**), което е третото по сила въздействие след факторите “вид метал,, и “вид орган,,.

Значението на разглеждания от нас като качествен фактор “вид риба,, за проучваните процеси е едва 3,15% (**Фиг. 5**).



**Фигура 5.** PCA анализ, F2 – “сезон,, и F3 – “вид риба,,

До каква степен съдържанието на металите във водите и седиментите влияе върху съдържанието на металите в органите изследвахме отново чрез прилагане на PCA анализ. Установихме, че съдържанието на металите в седиментите от язовир “Тополница,, имат по-голямо влияние (79,10%) в сравнение с тези във водите (20,90%) за биоаккумуляцията в рибите (Фиг. 6).



Фигура 6. PCA анализ, F1 – “седимент,, и F2 – “вода,,.

Изчислените стойности на фактора на биоаккумуляция (ФБА) показват, че е налице биоаккумуляция за всички проучвани тежки метали (Табл. 4, 5 и 6). Според De Forest *et al.* (2007) стойностите на ФБА бяха най-ниски за арсен (от 0,4 до 304), следвани от тези за мед (от 9,3 до 2233), олово (от 12 до 11200), никел (от 20 до 11000) и кадмий (от 2 до 203333), а най-високи бяха тези за цинк (от 820 до 880000).

Нашите резултати за ФБА посочват, че според класификацията, предложена от Никаноров (1985), ние можем да определим трите изследвани вида риби от язовир “Тополница,, като макроконцентратори на тежки метали, за които е характерна стойност на ФБА по-висока от 2.

**Таблица 4.** ФБА на база средно съдържание на тежки метали  
в изследваните видове риби през сезон **пролет** от язовир  
“Тополница,,.

Шаран	Орган	As	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
(n=15)	Хриле	0,4	1400	44,5	170	760	21031
	Черен дроб	5,7	1740	800	850	4720	18166
	Бъбреци	7,6	320	82	550	2220	22333
	Слезка	6,9	200	100	750	3400	66166
	Мускул	0,4	2	23,5	200	640	1338
Червеноперка	Орган	As	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
(n=15)	Хриле	0,9	160	64	75	2200	6666
	Черен дроб	8	2640	400	680	2520	28333
	Бъбреци	7,1	4200	207	745	4580	48333
	Слезка	7,4	1000	74,5	745	3960	33000
	Мускул	0,6	20	14	20	12	1166
Костур	Орган	As	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
(n=15)	Хриле	0,9	180	83	60	4000	6666
	Черен дроб	1,8	7340	950	70	5400	53000
	Бъбреци	7,5	8200	265	600	2800	24666
	Слезка	9,4	1000	60	750	5400	37750
	Мускул	0,4	20	10	20	800	922

\*в червено са отбелязани стойностите на ФБА  $\geq 1000$ .

**Таблица 5.** ФБА на база средно съдържание на тежки метали  
в изследваните видове риби през сезон **лято** от язовир  
“Тополница,,.

<b>Фактор на биоаккумуляция</b>							
<b>Шаран</b>	<b>Орган</b>	<b>As</b>	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>	<b>Ni</b>	<b>Pb</b>	<b>Zn</b>
<b>(n=15)</b>	<b>Хряле</b>	8,8	6667	146	314	900	248000
	<b>Черен дроб</b>	113	43333	1462	3643	5100	268000
	<b>Бъбреци</b>	125	27666	99	2714	4000	574000
	<b>Слезка</b>	163	5000	115	3171	3800	770000
	<b>Мускул</b>	9	1333	20	214	300	15600
<b>Червеноперка</b>	<b>Орган</b>	<b>As</b>	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>	<b>Ni</b>	<b>Pb</b>	<b>Zn</b>
<b>(n=15)</b>	<b>Хряле</b>	19	4000	139	271	1680	100000
	<b>Черен дроб</b>	160	36000	1215	2571	3200	526000
	<b>Бъбреци</b>	143	104000	240	1729	4860	486000
	<b>Слезка</b>	149	4667	182	1943	5440	544000
	<b>Мускул</b>	13	333	15	213	40	11200
<b>Костур</b>	<b>Орган</b>	<b>As</b>	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>	<b>Ni</b>	<b>Pb</b>	<b>Zn</b>
<b>(n=4)</b>	<b>Хряле</b>	18	3333	145	1286	2020	460000
	<b>Черен дроб</b>	103	203333	1539	2429	2400	840000
	<b>Бъбреци</b>	125	103333	231	1429	4000	442000
	<b>Слезка</b>	163	4000	115	1729	4860	448000
	<b>Мускул</b>	10	333	23	57	1800	18800

\*в червено са отбелязани стойностите на ФБА  $\geq 1000$ .

**Таблица 6.** ФБА на база средно съдържание на тежки метали  
в изследваните видове риби през сезон **есен** от язовир  
“Тополница,,.

Фактор на биоакмулация							
Шаран	Орган	As	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
(n=15)	Хрялце	13	3500	95	520	540	13200
	Черен дроб	183	44000	1766	11000	11200	17400
	Бъбреци	234	10000	103	6600	7000	31300
	Слезка	271	950	67	7700	7840	65400
	Мускул	36	130	93	400	600	820
Червеноперка	Орган	As	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
(n=15)	Хрялце	20	1450	58	320	2380	5000
	Черен дроб	272	7850	560	3040	2600	5530
	Бъбреци	304	27700	206	2840	4200	28350
	Слезка	204	4150	157	3040	4250	4820
	Мускул	17	100	10	280	60	800
Костур	Орган	As	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
(n=15)	Хрялце	17	1500	48	260	800	12300
	Черен дроб	214	26300	2253	7000	5000	13100
	Бъбреци	291	13300	57	8500	10800	33500
	Слезка	214	2000	80	5500	7000	67400
	Мускул	29	250	60	300	160	1050

\*в червено са отбелязани стойностите на ФБА  $\geq 1000$ .

Средните стойностите на фактора на биомагнификация (ФБМ), който отразява движението на тежките метали по трофичната верига са представени в **Таблица 7**. Изчисляването на ФБМ за средното съдържание на металите арсен, кадмий, мед, никел, олово и цинк в изследваните видове риби е направено, като видът костур е отнесен на по-високо трофично ниво от другите два изследвани вида риби – шаран и червеноперка.

**Таблица 7.** Фактор на биомагнизация за изследваните метали от  
язовир “Тополница,„

<b>Фактор на биомагнизация</b>						
<b>Пролет</b>	<b>As</b>	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>	<b>Ni</b>	<b>Pb</b>	<b>Zn</b>
Костур/ Шаран	0,95	4,57	1,3	0,6	1,57	1,15
Костур/Червеноперка	0,83	2,09	1,8	0,72	1,38	1,26
<b>Лято</b>	<b>As</b>	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>	<b>Ni</b>	<b>Pb</b>	<b>Zn</b>
Костур/ Шаран	1,08	0,75	1,21	0,83	0,9	1,01
Костур/Червеноперка	0,94	1,06	2,5	2,29	1,75	2,96
<b>Есен</b>	<b>As</b>	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>	<b>Ni</b>	<b>Pb</b>	<b>Zn</b>
Костур/ Шаран	1	3,74	1,15	0,68	1,07	1,18
Костур/Червеноперка	0,87	2,11	1,15	1,03	1	1,33

*\*в червено са отбелязани стойностите на ФБМ  $\geq 1$ .*

Според Kalfakakour & Akrida-Demertzi (2000) ФБМ със стойност над 1 доказва биологично натрупване. От получените резултати става ясно, че през трите сезона стойностите на ФБМ за изследваните метали са равни или по-високи от 1, както между костур и шаран, така и между костур и червеноперка.

На база на изчисления фактор на кондиция (ФК), който предствлява отношението между теглото и дължината на рибите и служи като индикатор за здравето състояние на изследваните видове риби на база външни белези (**Табл. 8**), установихме че всички изследвани екземпляри могат да бъдат оценени по неговите стойности като годни и намиращи се в добро състояние без външни патологични промени.



**Таблица 8.** ФК за трите изследвани вида риби от язовир “Тополница,,  
и контролен язовир “Криви Дол,, за периода на изследване.

<b>Язовир “Тополница,,</b>		
<b>Пролет</b>		
Шаран	Червеноперка	Костур
<b>2,73</b>	1,14	1,73
<b>Лято</b>		
Шаран	Червеноперка	Костур
2,43	<b>1,78</b>	1,55
<b>Есен</b>		
Шаран	Червеноперка	Костур
2,97	1,61	1,83
<b>Язовир “Криви Дол,,</b>		
<b>Пролет</b>		
Шаран	Червеноперка	Костур
2,31	<b>1,25</b>	<b>1,85</b>
<b>Лято</b>		
Шаран	Червеноперка	Костур
<b>2,58</b>	1,27	<b>2,64</b>
<b>Есен</b>		
Шаран	Червеноперка	Костур
<b>3,28</b>	<b>2,06</b>	<b>2,15</b>

*\*в червено са обозначени по-високите стойности на ФК за  
индивидите от съответния язовир.*

#### **5.4. Промени в хистоструктурата на хриле и черен дроб**

##### **Хистологични промени в хриле**

Установихме, че хрилете на рибите от контролен язовир “Криви Дол,, се характеризираха с нормална организация на клетъчните компоненти, първичните и вторичните ламели, както и кръвоносните съдове. По отношение на полу-количествената скала, която използвахме за оценка на хистологичните изменения, хрилете на шаран,

червеноперка и костур от контролния язовир в хода на цялото проучване бяха определени като нормални.

Резултатите от наблюдаваните хистологични срези на трите вида риби от язовир “Тополница,, показаха, че при изследваните индивиди се откриват сходни хистологични изменения през трите сезона. Ние ги класифицирахме в три основни групи – **1) пролиферативни изменения** – ламеларен лифтинг, едем, пролиферация на хрилния епител, включваща различните типове клетки (покривни плоски, невроепителни, мукозни, хлоридни, пиларни) и фузия; **2) дегенеративни изменения** в покривния епител на хрилните ламели и **3) изменения в кръвоносните съдове** – вазодилатация в основния кръвоносен съд и вторичните ламели, и аневризми. Получените резултати показаха различия в степента на изява на всяко хистологично изменение в изследваните видове риби през трите сезона (**Табл. 9, 10, 11 и Фиг. 7**).

**Таблица 9.** Хистологични изменения в хриле на шаран, червеноперка и костур от язовир “Тополница,, през сезон **пролет**.

<b>Пролет</b>			
<b>Хистологично изменение</b>	<b>Шаран</b>	<b>Червеноперка</b>	<b>Костур</b>
Ламеларен лифтинг	+++	+/-	+/-
Едем	++	+/-	+/-
Пролиферация на хрилния епител	+	+/-	+/-
Фузия	+	+/-	-
Дегенерация на покривния епител на ламелите	+/-	-	+
Вазодилатация в основния венозен синус	+/-	+/-	-
Вазодилатация във вторичните ламели	+/-	+	+/-
Аневризми	-	-	-

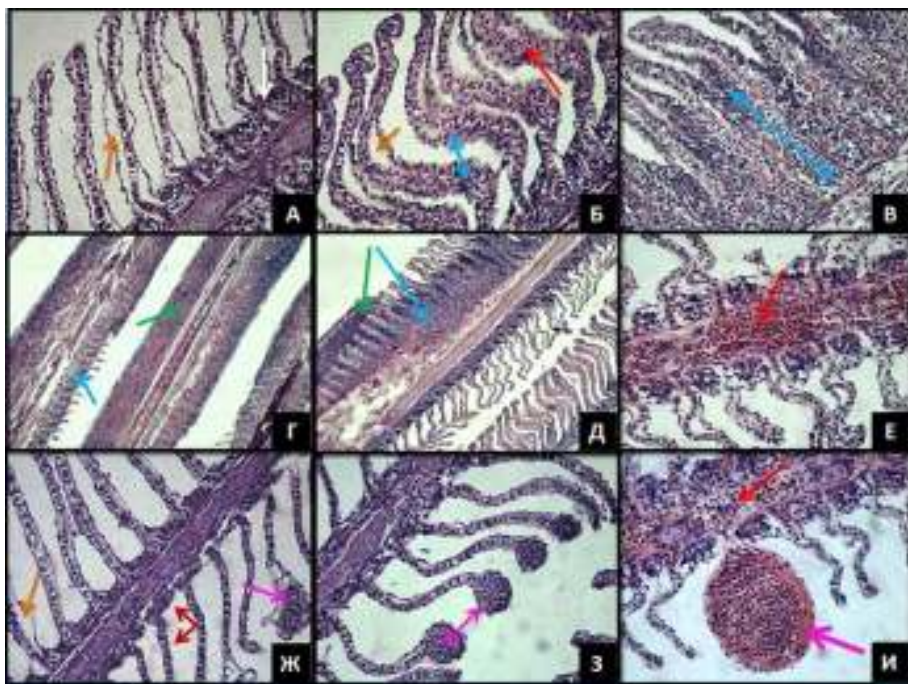
(-) – липсват хистологични изменения; (+/-) – леки хистологични изменения, 10-20%; (+) – средни хистологични изменения – 30-50%; (++) – тежки хистологични изменения, 60-80%; (+++) – много тежки хистологични изменения, над 80% в хрилната структура.

**Таблица 10.** Хистологични изменения в хриле на шаран, червеноперка и костур от язовир “Тополница,, през сезон **лято**.

<b>Лято</b>			
<b>Хистологично изменение</b>	<b>Шаран</b>	<b>Червеноперка</b>	<b>Костур</b>
Ламеларен лифтинг	+++	+	+/-
Едем	++	+	+/-
Пролиферация на хрилния епител	++	+	+/-
Фузия	++	+	-
Дегенерация на покривния епител на ламелите	+/-	+/-	-
Вазодилатация в основния венозен синус	+	+/-	-
Вазодилатация във вторичните ламели	+	+	+/-
Аневризми	+	+	+/-

**Таблица 11.** Хистологични изменения в хриле на шаран, червеноперка и костур от язовир “Тополница,, през сезон **есен**.

<b>Есен</b>			
<b>Хистологично изменение</b>	<b>Шаран</b>	<b>Червеноперка</b>	<b>Костур</b>
Ламеларен лифтинг	++	+/-	+/-
Едем	+	+/-	+/-
Пролиферация на хрилния епител	+	+/-	+/-
Фузия	++	+/-	-
Дегенерация на покривния епител на ламелите	-	-	-
Вазодилатация в основния венозен синус	-	-	-
Вазодилатация във вторичните ламели	+	+/-	+/-
Аневризми	-	+/-	-



**Фигура 7.** Промени в хистоструктурата на хриле на шаран през сезон лято. Оцв. ХЕ.

А. Участък от хрилна повърхност със силно изразен ламеларен лифтинг; едем, X 400. Б. Хрилна повърхност с ламеларен лифтинг; вазодилатация по дължината на вторични ламели; пролиферация в покривния епител на вторични ламели, X 400. В. Участък от хрилна повърхност с добре изразена пролиферация на покривния хрилен епител (непълна фузия), X 400. Г. Първична ламела със силно нарушена структура, поради наличие на фузия, X 200. Д. Участък от хрилна повърхност с частична и пълна фузия (прекомерно изразена) на хрилни епител, X 400. Е. Вазодилатация в основния венозен синус по дължината на първична ламела, X 400. Ж. Участък с дегенеративни промени в областта на първичната и вторични ламели; ламеларен лифтинг; аневризъм, X 400. З. Участък от хрилна повърхност с аневризми, засягащи крайните участъци на вторичните ламели, X 400. И. Участък с променена структура на вторична ламела; силно изразен аневризъм; вазодилатация в основния венозен синус, X 400.

(оранжева стрелка – ламеларен лифтинг, бяла стрелка – едем, синя стрелка – пролиферация на хрилни епител, червена стрелка – вазодилатация, зелена стрелка – фузия, розова стрелка – аневризъм)

От получените резултати за промени в хистоструктурата на хрилете на трите изследвани вида риби можем да кажем, че шаранът е по-чувствителен и податлив на въздействие на хронично замърсената с тежки метали водна среда на язовир “Тополница,, в сравнение с червеноперка и костур. По отношение на устойчивостта към промени в хрилете ние установихме, че тя беше по-висока при хищния вид костур. Следователно, можем да подредим рибите по степента на тяхната чувствителност в следния низходящ ред: **шаран > червеноперка > костур.**

### *Хистологични промени в черен дроб*

От проведените хистологични анализи върху черен дроб на шаран, червеноперка и костур от язовир “Тополница,, ние установихме хистологични промени в чернодробната структура, а при същите видове от контролния язовир черният дроб се характеризираше с нормална морфология. При рибите черният дроб представлява тубуларна жлеза, чиито хепатоцити образуват тубули, преплетени с капиляри (синусоиди). Венозната кръв навлиза в черния дроб чрез каудалната вена от тънкото черво и чрез чернодробната портална вена и нейните разклонения достига до синусоидите. При рибите от контролния язовир чернодробният паренхим се състоеше основно от хепатоцити с многоъгълна форма, които се характеризираха със централно разположено ядро и хомогенна цитоплазма.

Резултатите от наблюдаваните хистологични срези на трите вида риби от язовир “Тополница,, показаха, че при изследваните индивиди се откриват сходни хистологични изменения през трите сезона. Ние ги класифицирахме в следните основни групи – **1) дегенеративни изменения** – зърнеста (гранулирана) дегенерация, вакуолна дегенерация, хидропична дегенерация и мастна дегенерация **2) некротични изменения** (некробиоза) – кариопикноза, кариорексис и кариолизис; и некроза и **3) изменения в кръвоносните съдове** – хиперемия в синусоидите и по-големите кръвоносни съдове.

Получените резултати, подобно на тези за хрилете, показаха различия в степента на изява на всяко хистологично

изменение в изследваните видове риби през трите сезона (Табл. 12, 13, 14 и Фиг. 8).

**Таблица 12.** Хистологични изменения в черен дроб на шаран, червеноперка и костур от язовир “Тополница”, през сезон **пролет**.

<b>Пролет</b>			
<b>Хистологично изменение</b>	<b>Шаран</b>	<b>Червеноперка</b>	<b>Костур</b>
Зърнеста (гранулирана) дегенерация	+/-	+/-	+
Вакуолна дегенерация	+/-	+	+/-
Хидропична дегенерация	+/-	+/-	+/-
Масна дегенерация	-	+/-	+/-
Некробиоза			
- кариопикноза	+/-	+/-	+/-
- кариорексис	+/-	+/-	+/-
- кариолизис	+	+/-	+/-
Некроза	+/-	-	-
Хиперемия	+/-	-	+/-

**Таблица 13.** Хистологични изменения в черен дроб на шаран, червеноперка и костур от язовир “Тополница”, през сезон **лято**.

<b>Лято</b>			
<b>Хистологично изменение</b>	<b>Шаран</b>	<b>Червеноперка</b>	<b>Костур</b>
Зърнеста (гранулирана) дегенерация	++	+	+
Вакуолна дегенерация	+/-	+/-	+/-
Хидропична дегенерация	+/-	+/-	+/-
Масна дегенерация	-	-	+/-
Некротични изменения			
- кариопикноза	+/-	+/-	+/-
- кариорексис	+/-	+/-	+/-
- кариолизис	+/-	-	+/-
Некроза	+/-	-	+/-
Хиперемия	+/-	+/-	+

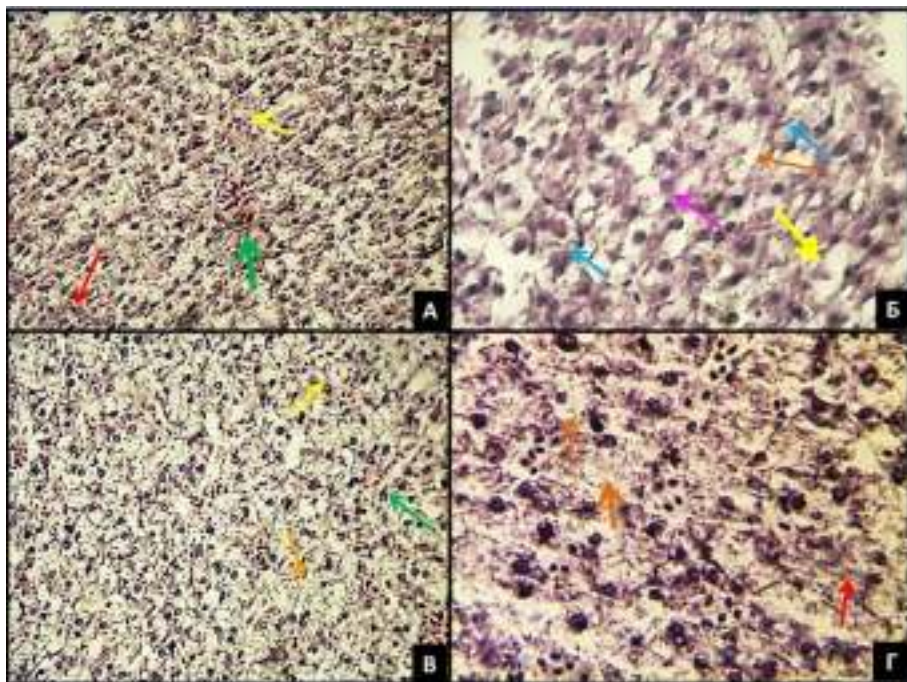
**Таблица 14.** Хистологични изменения в черен дроб на шаран,  
червеноперка и костур от язовир “Тополница, през сезон есен.

<b>Есен</b>			
<b>Хистологично изменение</b>	<b>Шаран</b>	<b>Червеноперка</b>	<b>Костур</b>
Зърнеста (гранулирана) дегенерация	+	+	+
Вакуолна дегенерация	+/-	+/-	+/-
Хидропична дегенерация	+/-	-	+/-
Масна дегенерация	-	-	+/-
Некротични изменения			
- кариопикноза	+/-	-	+/-
- кариорексис	-	-	+/-
- кариолизис	+	+/-	+/-
Некроза	-	-	+/-
Хиперемия	+/-	-	+/-

(-) – липсват хистологични изменения; (+/-) – леки хистологични  
изменения, 10-20%; (+) – средни хистологични изменения – 30-50%; (++) –  
тежки хистологични изменения, 60-80%; (+++) – много тежки  
хистологични изменения, над 80% в чернодробната структура.

Що се отнася до установените през трите сезона  
дегенеративно-некротични нарушения в черния дроб на рибите,  
не можем да изведем обща тенденция за приоритетната им  
сезонна проява. Въпреки това обаче наблюдавахме, че  
зърнестата и вакуолна дегенерация показаха леко завишаване в  
степената си на изява през летния сезон.

Имайки в предвид резултатите, касаещи отделните  
видове риби, не можем да изведем и строга тенденция относно  
степената на чернодробните хистологични нарушения. В малко  
по-висока степен тези изменения се наблюдаваха при костур.



**Фигура 8.** Промени в хистоструктурата на черен дроб на **коствур** през сезон **лято**. Оцв. ХЕ.

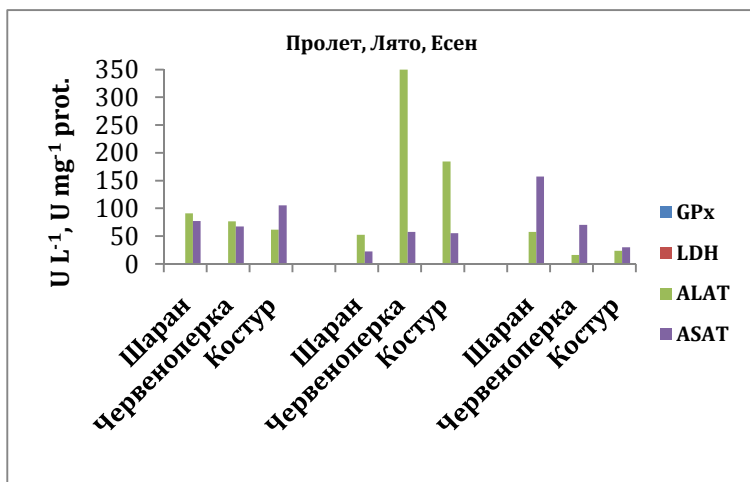
А. Хепатоцити със зърнеста дегенерация; некробиоза и хиперемия в малка чернодробна вена, X 400; Б. Хепатоцити с хидропична дегенерация и пикнотични ядра; некробиоза; мастна и вакуолна дегенерация, X 600; В. Малък некротичен участък в чернодробен паренхим; хиперемия; вакуолна дегенерация, X 400; Г. Хепатоцити със зърнеста дегенерация и хидропична дегенерация, X 600.

(червена стрелка – зърнеста дегенерация, синя стрелка – вакуолна дегенерация, оранжева стрелка – хидропична дегенерация, розова стрелка – мастна дегенерация, жълта стрелка – некробиоза, зелена стрелка – хиперемия)

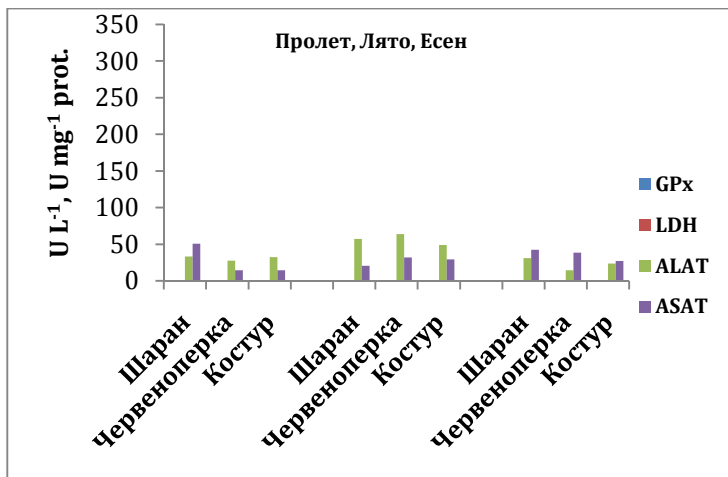


### 5.5. Ензимна активност

Резултатите от проведените биохимични анализи на проучваните чернодробни ензими глутатион пероксидаза (GPx), лактат дехидрогеназа (LDH), аланин (ALAT) и аспартат (ASAT) аминотрансфераза в шаран, червеноперка и костур през трите сезона от язовир “Тополница,, са представени на **Фигура 9**. Резултатите от проведените биохимични анализи за чернодробните ензими на рибите от контролен язовир “Криви Дол,, са представени на **Фигура 10**.



**Фигура 9.** Активност на ензими глутатион пероксидаза (GPx, U mg<sup>-1</sup> prot.), лактат дехидрогеназа (LDH, U mg<sup>-1</sup> prot.), аланин (ALAT, U L<sup>-1</sup>) и аспартат (ASAT, U L<sup>-1</sup>) аминотрансфераза в черен дроб на риби от язовир “Тополница,, за периода на изследване.



**Фигура 10.** Активност на ензими глутатион пероксидаза (GPx, U mg<sup>-1</sup> prot.), лактат дехидрогеназа (LDH, U mg<sup>-1</sup> prot.), аланин (ALAT, U L<sup>-1</sup>) и аспартат (ASAT, U L<sup>-1</sup>) аминотрансфераза в черен дроб на риби от контролен язовир “Криви Дол,, за периода на изследване.

Статистическият анализ на резултатите показва достоверни различия между стойностите на активността на ензимите в черния дроб на рибите от двата язовира.

В хода на проучването определихме обща тенденция за понижаване на стойностите на GPx и LDH и повишаване на ALAT и ASAT в черния дроб на рибите от язовир “Тополница,,.

По-високата активност на ензими ALAT и ASAT в черния дроб на рибите от язовир “Тополница,, през лятото свидетелства и за по-силно изразените промени, които бяха установени на тъканно ниво.

## 6. Изводи

1. Във водите на язовир “Тополница,, за целия период на проучване присъстват металите арсен и мед, като количествата им надвишават действащите в страната законови норми от 6 до 30 пъти. По-високи нива за всички проучвани метали са установени през сезоните лято и пролет в сравнение с есента.

2. В седиментите съдържанието на изследваните тежки метали е достоверно по-високо в сравнение с това във водите.

3. За шаран (*Cyprinus carpio*, L.), червеноперка (*Scardinius eruthrophthalmus*, L.) и костур (*Perca fluviatilis*, L.) е доказана сходна тенденция в разпределението и органа-специфичност в депонирането на тежките метали, като паренхимните органи (черен дроб, бъбреци, слезка) показаха по-висока способност за биоакмулация в сравнение с хриле и мускули.

4. В мускулите на трите вида риби съдържанието на никел и цинк е по-ниско от приетите норми съгласно националното (Наредба № 31, 2004) и европейско (ЕС, 2006) законодателство, докато стойностите на арсен, кадмий, мед и олово в шаран (*Cyprinus carpio*, L.) и костур (*Perca fluviatilis*, L.) съвпадат или леко ги надвишават.

5. Съдържанието на тежките метали в организма на рибите според проведения РСА анализ се определя в по-голяма степен от химичния характер на металите и спецификата на органа в сравнение със сезона и видовата им принадлежност.

6. Според ФБА трите изследвани вида риби се определят като макроконцентратори за проучваните метали. ФБА за металите кадмий, никел, олово и цинк през трите изследвани сезона е висок, този за мед – предимно среден и висок, а за арсен е нисък и среден.

7. В хищния вид костур (*Perca fluviatilis*, L.) са установени по-високи нива на тежки метали в сравнение с шаран (*Cyprinus carpio*, L.) и червеноперка (*Scardinius eruthrophthalmus*, L.), което предполага процес на биомагнизация на всички метали по хранителната верига.

8. В хрилете на изследваните риби установихме сходни пролиферативни и дегенеративни изменения в покривния епител на хрилните ламели, и изменения в кръвоносните съдове, които имат предимно компенсаторно-адаптивен характер, с по-силна изява през лятото. Най-висока степен на изява за посочените хистологичните промени установихме при шаран (*Cyprinus carpio*, L.).

9. В черния дроб на рибите установихме хистологични изменения с дегенеративно-некротичен характер без съществена разлика в степента на изява между трите изследвани видове риби за периода на цялото проучване.

10. Проведените биохимични анализи показаха промяна в активността на изследваните чернодробни еозини, като стойностите на GPx и LDH се понижаваха, а тези на аминотрансферазите ALAT и ASAT се повишаваха, което може да се свързва с промени във функцията на този орган. В подкрепа на това са и установените изменения в хистоструктурата на черния дроб на трите вида риби.

11. Приложения от нас ФК оценява изследваните риби от язовир “Тополница,, като видимо здрави, което обаче е в противоречие с установените от нас стойности за биоаккумуляция и промени на органно и биохимично ниво.

## **Приноси**

### ***с оригинален научен характер:***

1. Проведено е първото комплексно еколого-токсикологично изследване на тежки метали за язовир “Тополница,, включващо компонентите води, седимент и риби от различни трофични нива.

2. Паралелно са проведени морфо-функционални изследвания за влиянието на тежките метали върху три вида риби – шаран (*Cyprinus carpio*, L.), червеноперка (*Scardinius erythrophthalmus*, L.) и костур (*Perca fluviatilis*, L.), включващи проучване процеса на биоаккумуляция, хистологични и биохимични изследвания.

3. Проведено е морфологично изследване върху таргетните органи – хриле и черен дроб на рибите, в което за пръв път се определя и степента на изява на всяко едно установено изменение в зависимост от сезона на проучване и вида риба.

4. Доказва се, че слезката е орган за акумулация на тежки метали наравно с черния дроб и бъбреците, и се препоръчва използването ѝ в еколого-токсикологичните изследвания.

5. Доказано е сходно разпределение и депониране на тежките метали в организма на рибите, независимо от трофичното им ниво.

6. Като качествени фактори, определящи нивата на тежките метали в органите на рибите са разгледани “химичен характер на елемента,, “вид риба,, “вид орган,, “сезон,, “вода,, и “седимент,,. За пръв път се подчертава, че химичният характер на елементите, свързан с токсичните им свойства и различните по структура и функция органи имат по-голямо влияние за биоаккумуляцията на тежките метали в сравнение с другите качествени фактори.

7. Като биомаркери за оценка на влиянието на тежки метали върху сладководни риби са приложени:

- *хистологичните изменения в хриле и черен дроб;*
- *промяната в ензимната активност на LDH, GPx и аминотрансферазите ALAT и ASAT в черен дроб, които свидетелстват и за установените промени на тъканно ниво*

***с потвърдителен и научно-приложен характер:***

1. В седиментите тежките метали се натрупват в многократно по-високи нива отколкото във водите.

2. Рибите могат да се използват като добри биоиндикатори за замърсяване с тежки метали на водни екосистеми и се определят като макроконцентратори за тези замърсители.

3. Паренхимните органи на рибите имат по-висок афинитет за натрупването на тежки метали в сравнение с хрилете и мускулите.

4. Сезонът има влияние върху биоаккумуляцията на тежки метали в рибите, като тя е по-висока през лятото поради по-силното влияние на биотичните и абиотичните фактори върху този процес.

5. Доказва се процес на биомагнизация на тежки метали в костур, дължащ се на сумиране ефектите на постъпване на токсикантите от водата и този от храната.

6. Хистологичните изменения в черен дроб и хриле се разглеждат като защитни и адаптивни механизми за преживяването на рибите в хронично замърсена с тежки метали среда или могат да имат напълно дегенеративен характер.

7. Активността на изследваните чернодробни ензими в рибите се променя (активира или инхибира) в зависимост от нивата на металите в организма и под действието на замърсените с тежки метали води.

8. Посочени са преимуществата на хидробиологичния мониторинг при осъществяването на системни наблюдения с цел оценка на състоянието на пресноводни екосистеми, подложени на антропогенен натиск в сравнение само с химичните анализи на води.

9. Предложена е модификация на скалата на Peebua *et al.* (2006) за оценка на степента на хистологичните изменения.

## **Препоръки**

### ***към държавни институции и фирми:***

1. Комплексно проучване на води, седименти и биота, подобно на това от язовир “Тополница,, може да предостави достатъчно надеждни данни за оценка състоянието на пресноводни екосистеми, подложени на хронично замърсяване с тежки метали.

2. Екологична оценка, базирана само на аналитични методи за съдържанието на тежки метали във водите не е достатъчна за характеризиране състоянието на екосистемата, поради което препоръчваме да се взимат под внимание и отчитат нивата им в седиментите, както и да се проследяват процесите на биоаккумуляция и биомагнизация по трофичните нива.

3. Поради важната роля на седиментите в процесите на задържане и постъпване на тежките метали във водните екосистеми е наложително да бъде изготвена адекватна нормативна база за оценка на техните критични прагови нива.

4. На база на това, че слезката се доказва като целеви орган за биоаккумуляцията на тежки метали, равностоен на черния дроб и бъбреците, бихме могли да препоръчаме нейното по-широко приложение в еколого-токсикологичните изследвания.

5. Имайки предвид факта, че са установени завишени нива на тежки метали в мускули на изследваните риби съгласно българското (Наредба № 31, 2004) и и европейско ЕС (2006) законодателство, доказаните процеси на биоаккумуляция и дългогодишно замърсяване на водите, не препоръчваме консумацията на рибно месо от язовир “Тополница,, тъй като считаме, че има известен риск за здравето на човек.

6. В качеството си на надеждни биомаркери за оценка на влиянието на тежки метали върху сладководни риби препоръчваме:

- *хистологичните изменения в хриле и черен дроб*
- *промяната в ензимната активност на аминотрансферазите ALAT и ASAT в черен дроб, като тя свидетелства и за установените промени на тъканно ниво*
- *LDH трябва да се изследва в контролирани условия, тъй като неговата активност е много вариабилна и зависи от много абиотични и биотични фактори*
- *GPx трябва да се изследва по класически методи предимно в кръв на риби*

6. Не препоръчваме използването на ФК (оценяващ здравния статус на рибите) като подходящ индикатор за оценка влиянието на тежки метали върху състоянието на организма на рибите.

7. Тъй като язовир “Тополница,, се използва, както за спортен риболов и напояване, така понякога и за промишленото отглеждане на риби, е необходим постоянен екологичен мониторинг на състоянието на пресноводната екосистема там.

## Публикации

### *във връзка с темата на дисертационния труд:*

1. **Янчева В.**, Петрова С., Велчева И., Георгиева Е. 2011. Екологично състояние на поречието на река Тополница и язовир “Тополница,,.

Юбилеен сборник, посветен на 50-годишнината от основаването на Пловдивски Университет “Паисий Хилендарски,,., 273-285.

2. Georgieva E., Velcheva I., **Yancheva V.**, Stoyanova S. 2014. Trace metal effects on gill epithelium of Common carp (*Cyprinus carpio* L., Cyprinidae). 2014.

Acta Zoologica Bulgarica, Vol. 66. **In press.**



## **Участия**

***в научни конференции с материали по темата на дисертационния труд:***

1. Научен семинар “Биологически науки за по-добро бъдеще,, (50 години ПУ “Паисий Хилендарски,,), 28-29 Октомври 2011. Доклад и абстракт.

2. Четвъртата Научна Студентска Конференция – “Екологията – начин на мислене 4,, 12 Май 2012. Доклад и абстракт.

3. 12-th International Congress of Zoogeography and Ecology of Greece and Adjacent Regions, Атина, Гърция, 18-22 Юни 2012. Доклад и абстракт.

4. Зимна ежегодна конференцията по “Pharmacology and Toxicology,, Veitostølen, Норвегия, 23-26 Януари 2013. Постер.