

УДК 574.64:594.38

ПИНКИНА Т. В.

РЕАГИРОВАНИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ ПРУДОВИКА ОЗЕРНОГО НА ВОЗДЕЙСТВИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ХЛОРИДА КОБАЛЬТА

Ключевые слова: Лутпаеа, хлорид кобальта, репродукция, синкапсула.

Вторая половина XX и начало XXI века характеризуются беспрецедентным по масштабам давлением производственной деятельности человеческого общества на окружающую среду, и в особенности на гидросферу. По существу, все антропогенные воздействия – затрагивают ли они литосферу, атмосферу, почву (педосферу) или урбанизированную (городскую) среду – так или иначе, выходят на гидросферу через атмосферные осадки, почвенный сток, миграцию подземных вод и другие процессы, связанные с круговоротом воды. Значительная часть пресноводных экосистем под влиянием этих воздействий функционирует в режиме высоких нагрузок химическими, радиоактивными и иными поллютантами, избыточного насыщения биогенными веществами и т. п. В условиях Украины такие ситуации являются обыденными.

Возрастающее антропогенное воздействие вызывает изменения состояния экосистемы, нарушения её внутреннего динамического равновесия, поддерживаемого постоянной функциональной саморегуляцией её компонентов. Оценка изменений, происходящих в водных экосистемах под действием антропогенных факторов необходима для разработки критериев их стойкости и гибкости, устойчивости функционирования, определения критических антропогенных нагрузок. Такая оценка может быть получена при помощи анализа реагирования гидробионтов на разные уровни загрязнения. Индикаторами токсичности водной среды могут быть различные группы животных, которые должны удовлетворять некоторым требованиям [4, 7, 8, 17]:

1. Виды-индикаторы должны кумулировать токсические вещества в количествах, во много раз превышающих их содержание в окружающей среде.

2. Индикаторами могут служить наиболее многочисленные виды животных с тем, чтобы отбор проб из популяции был достаточным для получения статистически достоверных данных и не причинял вред популяции.

3. Представителей вида-индикатора можно относительно легко добывать и достаточно просто содержать в лабораторных условиях.

Исходя из этого, наиболее перспективной индикаторной группой гидробионтов, по мнению многих исследователей [1,3, 6, 14, 15, 16], являются крупные беспозвоночные, среди которых нами выбран наиболее обычный представитель гидрофауны Центрального (Житомирского) Полесья – брюхоногий моллюск прудовик озерный. Среди животных, населяющих водоемы бассейна реки Днепр, эти моллюски являются одной из доминирующих по биомассе группой и играют огромную роль в биогенной миграции микроэлементов в водоемах.

Среди разнообразных загрязняющих веществ поверхностных вод суши одной из наиболее экологически опасных групп являются соединения тяжелых металлов. Некоторые из них обладают канцерогенными и мутагенными свойствами и в то же время могут обуславливать необратимые изменения в водных экосистемах [11]. Токсическое действие тяжелых металлов на животных в первую очередь выражается в нарушениях у них биохимических и физиологических процессов. Выявление этого действия на водных беспозвоночных – актуальная задача водной токсикологии. Одним из путей установления степени токсичности химических веществ и, в частности, солей тяжелых металлов для гидробионтов, является оценка изменений показателей их размножения [12,13]. Важность изучения особенностей репродукции моллюсков в токсической среде состоит в том, что от него зависят темпы воспроизводства численности популяций, их плотности и, в конце концов, сохранение видов. В связи с изложенным выше, целью данной работы явилось изучение влияния хлорида кобальта на особенности размножения пресноводных брюхоногих моллюсков. В научной литературе данные о реагировании репродуктивной системы прудовиков на различные уровни интоксикации этим поллютантом отсутствуют.

Материал и методика исследований.

Исследования выполнены в мае-июле 2002 г. Материалом служили 82 экз. прудовика озёрного *Lymnaea stagnalis* (Linné, 1758), собранного вручную в бассейне Среднего Днепра (р. Тетерев, Житомир). Выборка представлена одноразмерными особями (средняя высота раковины – 33,4–44,1 мм). Каждый экземпляр взвешивали с точностью до 0,5 мг (весы ВЛР–200), определяли высоту раковины штангенциркулем (с точностью до 0,05 мм).

Условия эксперимента: температура воды – 19–23⁰С, рН – 7,2–8,6, содержание кислорода – 8,6–8,9 мг/дм³. Токсикант – хлорид

кобальта (ч.д.а.). Растворы готовили на дехлорированной отстаиванием (1 сут.) водопроводной воде. Продолжительность опыта – 70 сут. Растворы токсиканта заменяли каждые 1–2 сут свежими. Основному опыту предшествовал опыт ориентировочный, предназначенный для выбора концентраций токсиканта, необходимых в основном опыте. При этом использовался рыбохозяйственный подход к оценке качества воды, в котором выделяют летальные (острые и хронические), сублетальные, стимулирующие и недействующие концентрации [10]. В ориентировочном опыте, который по продолжительности соответствовал основному, не снимались показания, но велось наблюдение за общим состоянием моллюсков. Были установлены диапазоны концентраций, при которых или подавлялись основные функции организма моллюсков и они гибли в течение нескольких суток (остролетальные концентрации – $150\text{--}50\text{ мг/дм}^3$) или были угнетены основные функции и в течение первых месяцев воздействия наступала гибель взрослых особей и молоди (хронические летальные концентрации – $40\text{--}10\text{ мг/дм}^3$). В определённом диапазоне концентраций (переносимые концентрации – $5\text{--}0,1\text{ мг/дм}^3$) моллюски жили в течение опыта. У них наблюдалось некоторое стимулирование функций, что было заметно по активизации их кормового и полового поведения. При некоторых концентрациях токсиканта (подпороговые концентрации – $0,0001\text{ мг/дм}^3$ и ниже) поведение моллюсков не отличалось от такого в контроле. В основном опыте использовалось 4 концентрации хлорида кобальта, по одной из каждого диапазона концентраций, а именно – 50; 10; 1 и $0,0001\text{ мг/дм}^3$. Контролем служили животные, помещённые в дехлорированную водопроводную воду.

В лаборатории для получения кладок яиц и осуществления длительных наблюдений за размножением и развитием моллюсков сериями по 5 экз. помещали в стеклянные 3-литровые ёмкости [2]. Прудовикам как корм давали молодые листья одуванчика. С субстрата кладки снимали скальпелем или мягкой щёткой. Изучение и измерение синкапсул и их элементов проводили при помощи микроскопа МБС–1. Длину яйцевых капсул измеряли по внутренней капсульной мембране. Молодь переносили в стеклянные ёмкости на первые-третьи сутки после выхода её из синкапсул. Цифровые результаты эксперимента обработаны методами вариационной статистики по Лакину [9].

Результаты исследований и их обсуждение

Изучение экологии прудовиков и, в частности, процессов, связанных с их размножением, предусматривает исследование многих

сторон их жизнедеятельности, как в природе, так и в лабораторных условиях. Из компонентов, влияющих на особенности репродукции *L. stagnalis*, большое значение имеют соли тяжёлых металлов, среди них и хлорид кобальта. В опыте удалось выявить некоторые общие закономерности реагирования моллюсков на разные концентрации этой соли, которые дали возможность охарактеризовать тенденции изменений в их организме при разных уровнях интоксикации.

В растворах высоких концентраций поллютанта (50 мг/дм³) спаривание не наблюдается. Моллюски интенсивно выделяют слизь, угнетена их пищевая и двигательная активность и через несколько (2-3) суток они гибнут.

У *L. stagnalis* кладки яиц (синкапсулы) представляют слизистые мешочки с заключёнными внутри более или менее многочисленными (13-101) яйцевыми капсулами. В первые полчаса или час, а иногда и дольше, кладки бывают мутноватыми и клейкими, плохо снимаются с субстрата. У прудовиков, находящихся в растворе хлорида кобальта, при концентрации 10 мг/дм³ в первые часы после овипозиции происходит значительное набухание содержимого синкапсулы (при незначительном в контроле), кладки несколько удлиняются и яйцевые капсулы раздвигаются. Количество отложенных синкапсул в 4 раза меньше, чем в контроле (за одинаковый промежуток времени). Длина яйцевых капсул уменьшается в сравнении с контролем (табл. 1).

Таблица 1.

Влияние хлорида кобальта на длину синкапсул и яйцевых капсул *Lymnaea stagnalis*

| Длина синкапсулы, мм | | | | | Длина капсулы, мм | | | | |
|---------------------------|-----------|-------------|----------|-------|-------------------|-----------|-------------|----------|-------|
| n | lim | $M \pm m_M$ | σ | V | n | lim | $M \pm m_M$ | σ | V |
| Контроль | | | | | | | | | |
| 40 | 21,8-42,3 | 32,86±0,92 | 5,81 | 17,68 | 40 | 1,27-1,61 | 1,37±0,01 | 0,09 | 6,25 |
| 0,0001 мг/дм ³ | | | | | | | | | |
| 24 | 19,8-39,2 | 29,75±1,00 | 4,88 | 16,41 | 24 | 1,04-1,71 | 1,28±0,03 | 0,16 | 12,12 |
| 1 мг/дм ³ | | | | | | | | | |
| 16 | 14,6-39,2 | 27,66±1,73 | 6,92 | 25,01 | 16 | 1,19-1,95 | 1,52±0,06 | 0,25 | 16,46 |
| 10 мг/дм ³ | | | | | | | | | |
| 10 | 13,9-38,7 | 29,03±1,05 | 6,14 | 21,15 | 10 | 1,08-1,54 | 1,26±0,05 | 0,15 | 11,54 |

В кладках наблюдаются значительные тератогенные нарушения. У 58% синкапсул отсутствует спирализация (яйцевые капсулы располагаются в один ряд или рыхло). Наблюдается увеличение количества яйцеклеток (2-4 экз., иногда скопления большие и слиты в сплошную массу) в одной яйцевой капсуле, пустые яйцевые капсулы и яйцеклетки за капсулами. Количество капсул в кладке несколько (в 2 раза) меньше, чем в контроле, что влияет на процент вылупляющихся экземпляров и указывает на угнетающее действие

этой концентрации токсиканта на развитие молоди (табл. 2). Почти 42% всех кладок замирают. Линейные размеры вылупившихся прудовиков являются несколько меньшими, чем в контроле (табл. 3).

Таким образом, в хронических летальных концентрациях хлорида кобальта у моллюсков наблюдаются критические изменения в процессах размножения. Сначала половое поведение активизируется, а позже (после 30–35 суток опыта) угнетается. В конце этого опыта (на 45 сут) спаривание вообще отсутствует.

В растворах токсиканта концентрацией 1 мг/дм³ моллюски активны на протяжении всего опыта. Показатели размножения взрослых особей и эмбрионального развития указывают на некоторое уменьшение угнетающего действия этого поллютанта, моллюски активно ищут партнёров, осуществляется копуляция, но количество отложенных кладок все же несколько меньше, чем в контроле. В яйцевых капсулах так же, как и в растворах предыдущей концентрации, наблюдаются значительные тератогенные нарушения (отсутствие или нарушение спирализации внутри синкапсулы, увеличение количества яйцеклеток в яйцевой капсуле, пустые капсулы), что в конце концов влияет на процент вылупления (см. табл.2). Линейные размеры молоди также меньше чем в контроле (см. табл.3).

Таблица 2.

Влияние хлорида кобальта на вылупление молоди у *Lymnaea stagnalis*

| Количество капсул, экз. | | | | | Количество вылупленных, экз. | | | | | % вылупления | | | | |
|---------------------------|--------|-------------|----------|-------|------------------------------|--------|-------------|----------|-------|--------------|-------------|-------------|----------|-------|
| n | lim | $M \pm m_M$ | σ | V | n | lim | $M \pm m_M$ | σ | V | n | lim | $M \pm m_M$ | σ | V |
| Контроль | | | | | | | | | | | | | | |
| 40 | 44-171 | 94,88±4,7 | 29,67 | 31,27 | 40 | 10-106 | 55,95±4,11 | 25,97 | 46,41 | 40 | 21,3-98,9 | 58,9±3,62 | 23,21 | 39,40 |
| 0,0001 мг/дм ³ | | | | | | | | | | | | | | |
| 24 | 17-101 | 73,13±4,40 | 21,54 | 29,46 | 24 | 14-73 | 35,54±3,63 | 17,80 | 50,09 | 24 | 21,54-97,01 | 51,16±4,81 | 23,55 | 46,04 |
| 1 мг/дм ³ | | | | | | | | | | | | | | |
| 16 | 13-95 | 60,50±6,72 | 26,87 | 44,41 | 16 | 8-41 | 21,38±2,81 | 11,23 | 52,54 | 16 | 12,63-61,54 | 38,04±3,32 | 13,30 | 34,95 |
| 10 мг/дм ³ | | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | 13-69 | 45,25±7,52 | 21,26 | 46,98 | 10 | 7-30 | 16,31±2,90 | 10,61 | 49,6 | 10 | 17,2-54,56 | 38,83±2,68 | 10,39 | 26,75 |

За время хронического опыта установлено, что при 1 мг/дм³ хлорида кобальта степень повреждений со временем возрастает.

Результатом является увеличение смертности молоди в конце эксперимента. Временная стимуляция репродуктивной функции моллюсков при таких концентрациях токсиканта на фоне всё более проявляющегося угнетения поведенческих реакций позволяет констатировать, что их следует рассматривать как такие, которые организм переносит, а не адаптивно реагирует на них.

У моллюсков, помещённых в среду, затравленную $0,0001 \text{ мг/дм}^3$ хлорида кобальта все основные функции организма, в том числе и репродуктивная, регистрируются на уровне контроля. Основные показатели размножения (длина синкапсул, яйцевых капсул, процент вылупления молоди, её линейные размеры) мало отличаются от полученных в контроле (табл.1–3). Эту концентрацию можно рассматривать как недействующую. Но важно учитывать тот факт, что соли тяжёлых металлов не разлагаются со временем, а, попадая в организм моллюсков, способны накапливаться в нём, постоянно сохраняя при этом способность к токсическому влиянию. Поэтому нужно принимать во внимание, что даже невысокие концентрации поллютанта, которые первоначально выделяются как недействующие, со временем (по мере накопления вещества) могут перейти в диапазон переносимых.

Таблица 3.

Влияние хлорида кобальта на высоту раковины молоди *Lymnaea stagnalis*

| Высота раковины, мм | | | | |
|--------------------------|-----------|-----------------|----------|------|
| n | lim | $M \pm m_M$ | σ | V |
| Контроль | | | | |
| 40 | 1,35-1,78 | $1,58 \pm 0,02$ | 0,11 | 6,66 |
| $0,0001 \text{ мг/дм}^3$ | | | | |
| 24 | 1,32-1,62 | $1,43 \pm 0,02$ | 0,08 | 5,42 |
| 1 мг/дм^3 | | | | |
| 16 | 1,11-1,58 | $1,34 \pm 0,03$ | 0,12 | 8,72 |
| 10 мг/дм^3 | | | | |
| 10 | 1,21-1,51 | $1,34 \pm 0,03$ | 0,12 | 8,12 |

Заключение

Пресноводные моллюски *L. stagnalis* реагируют на загрязнение водоёмов хлоридом кобальта. Изучение действия этого поллютанта на особенности репродукции и развития моллюсков является перспективным в связи с тем, что плодовитость и количество потомства являются самыми существенными показателями биологического благополучия любого гидробионта [12]. В водной токсикологии эти показатели должны браться за основу критерия токсичности, потому что именно они влияют на будущее

существование особи и вида при данных условиях.

В зависимости от силы токсического воздействия хлорида кобальта на моллюсков (диапазон концентраций от остролетальных до подпороговых у них очень широк) наблюдается различная реакция со стороны репродуктивной системы. При хронических летальных концентрациях элиминация моллюсков происходит из-за нарушения их размножения или развития. Эти концентрации оказываются летальными для популяции. В диапазоне концентраций от переносимых до подпороговых в начале воздействия выявляется стимулирующий эффект их действия по таким показателям как половое поведение. Однако анализ других показателей размножения указывает на угнетающее действие этих концентраций токсиканта, что проявляется, при более детальном исследовании, в ухудшении состояния развившейся молодежи. Изначальную стимуляцию следует рассматривать как нарушение реакции на меняющиеся экологические условия [5]. Исследование этой группы концентраций является важным этапом в изучении действия загрязняющих веществ на гидробионтов. При экстраполяции результатов лабораторных опытов на процессы, происходящие в водоёмах, представляется возможным правильно оценить с экологической точки зрения характер воздействия вещества и ответную реакцию организма, воспринимающего это воздействие.

Список литературы:

1. Алексеев В.А. Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента // Гидробиол. журн. – 1981. – 17, № 3. – С. 92–100.
2. Берёзкина Г.В., Старобогатов Я.И. Экология размножения и кладки яиц пресноводных легочных моллюсков. // Тр. Зоол. ин-та АН СССР – Л.: Наука, 1988. – 307 с.
3. Брень Н.В. Использование беспозвоночных для мониторинга загрязнения водных экосистем тяжелыми металлами // Гидробиол. журн. – 1999. – 35. – № 4. – С. 75–88.
4. Воронова Л.Д., Денисова А.В., Пушкарь И.Г. Система контроля за загрязненностью природной среды пестицидами за рубежом // М.: Наука, 1977. – 63 с.
5. Данильченко О.П., Бузинова Н.С. Реагирование моллюсков *Lymnaea stagnalis* L. на загрязнение. Сообщение I. Выживаемость. Размножение. Эмбриональное развитие. – Науч. докл. высш. шк. Биол. н., 1982, № 6, С.61–69.
6. Жулидов А.В., Емец В.М., Шевцов А.С. Водные беспозвоночные – индикаторы загрязнения водоемов // Докл. АН СССР. – 1980. – 252, № 4. – С.1018–1020.
7. Зайцев Ю.П. Задачи гидробиологии в деле охраны и использования водных ресурсов // Гидробиол. журн. – 1981. – 17, № 1. – С. 129–132.
8. Злобин Н.Н., Степанов А.Н., Фролов В.А., Шипунов Ф.Я. Методика индикационных изменений содержания тяжелых металлов в компонентах

- природних екосистем // Биоиндикация состояния окружающей среды Москвы и Подмосковья. – М.: Наука, 1978. – С. 103–105.
9. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. – М.: Высш. шк., 1990. – 351с.
 10. *Лесников Л.А.* Разработка нормативов допустимого содержания вредных веществ в воде рыбохозяйственных водоёмов. – Сб. науч.тр. ГОСНИОРХ, 1979, вып. 144, С. 3–41.
 11. *Метелев В.В., Канаев А.М., Дзасохова Н.Г.* Водная токсикология. – М.: Колос. – 247 с.
 12. *Строганов Н.С.* Методика определения токсичности водной среды. // Методики биол. исслед. по водн. токсикол. – М.: Наука, 1971. – С. 14–60.
 13. *Строганов Н.С.* Принципы построения главной методики водной токсикологии // Критич. токсикол. и принципы методик по водн. токсикол. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1971. – С. 134–152.
 14. *Туманов А.А., Постнов И.Е.* Водные беспозвоночные как аналитические индикаторы // Гидробиол. журн. – 1983. – 19. - № 5. – С. 3–6.
 15. *Христофорова Н.К.* Биоиндикация и мониторинг загрязнения морских вод тяжёлыми металлами. – Л.: Наука, 1989. – 192 с.
 16. *Шланки Я.* Использование моллюсков для индикации загрязнения пресных вод. – Л.: ЗИН АН СССР, 1976. – С. 95–106.
 17. *Holden H.* Monitoring persistent organic pollutants // Organochlorine Insecticides. – 1975. – P. 1–26.

Пінкіна Т. В.

Реагування репродуктивної системи ставковика озерного на вплив різних концентрацій хлориду кобальта

В умовах зростаючого забруднення навколишнього середовища поміж інших поллютантів на одне з перших місць вийшли йони важких металів. У наш час щорічне надходження багатьох важких металів у гідросферу в декілька разів перевищує таке з природних джерел.

Не викликає сумнівів актуальність дослідження впливу цих поллютантів на гідробіонтів із метою впровадження отриманих результатів у систему екологічного моніторингу. Зручним об'єктом для токсикологічних досліджень може бути вторинноводний легеневий моллюск – ставковик *Lymnaea stagnalis* (Linné, 1758).

Як тест-показник обрано реагування репродуктивної системи *L. stagnalis* на різні концентрації хлориду кобальту. Протягом хронічного досліду (70 діб) за умови достатньої кількості корму і своєчасної зміни розчинів токсикантів (через 1 добу) досліджено вплив хлориду кобальта (гостролетальні концентрації – 150–50 мг/дм³; хронічні летальні – 40–10 мг/дм³; витримувані – 5–0,1 мг/дм³; підпорогові концентрації – 0,0001 мг/дм³ і нижче) на особливості репродукції та розвитку легеневого моллюска ставковика озерного. З'ясовано, що діапазон концентрацій від гостролетальних до підпорогових у цього моллюска досить широкий (150–0,0001 мг/дм³), що вказує на надзвичайну лабільність його організму. На підставі аналізу реакції репродуктивної системи ставковика на різні рівні інтоксикації даним поллютантом зроблено висновок про стимулюючий

вплив хлориду кобальта за більш високих концентрацій (1–0,1 мг/дм³) і пригнічуючу його дію за нижчих концентрацій.

Ключові слова: *Lymnaea*, хлорид кобальту, репродукція, синкапсула.

Pinkina T. V.

The reaction of the *Lymnaea stagnalis* reproduction system on the effects of different concentrations of cobalt chloride

Under the conditions of growing environmental pollution heavy metal ions took one of the first places among other pollutants. At present, annual amount of heavy metals in the hydrosphere caused by anthropogenic factors is several times higher than that from natural sources.

The topicality of a research into the influence of the above mentioned pollutants on hydrobionts with the aim of introducing the research results to the ecological monitoring system is beyond doubt. *Lymnaea stagnalis* (Linne, 1758) a secondary-water lung pond mollusc, can be a suitable object for toxicological investigations.

Changes in a reaction of *L. stagnalis*' reproduction system to different concentrations of cobalt chloride are chosen as a test-index. During the continuous investigation (70 days) under the conditions of sufficient quantity of food and timely replacement of toxicant solutions (every other day) we investigated the effects of cobalt chloride (sharp lethal concentrations - 150-50 mg/dm³; chronic lethal - 40-10 mg/dm³; endurable - 5-0,1 mg/dm³; threshold concentrations - 0,0001 mg/dm³ and lower) on the reproduction and development of mollusca pulmonata *Lymnaea stagnalis*. It has been established that the range of concentrations from sharp to lethal ones is rather wide. It indicates to the extreme lability of the mollusc body. A conclusion is made about a stimulating effect of cobalt chloride in its high concentrations (1-0,1 mg/dm³) and a depressing effect in lower concentrations.

Key words: *Lymnaea*, cobalt chloride, reproduction, syncapsule.