

УДК 574.64:594.38

Т. В. Пинкина

**ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА
БИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПРУДОВИКА
ОЗЕРНОГО (*LYMNAEA STAGNALIS* L.) ИЗ
ВОДОЕМОВ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ
РАДИОНУКЛИДНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ**

Исследовано влияние ионов тяжелых металлов водной среды (Cu^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+}) в различной концентрации на биологические показатели легочного моллюска (*Lymnaea stagnalis* L.) из зоны радиоактивного загрязнения. Ионизирующее излучение является отягчающим фактором для животных, которые подвергаются воздействию токсической среды. Наблюдается синергизм радиационного фактора и ионов тяжелых металлов на репродуктивную систему прудовика озерного. Значения биологических показателей при этих условиях оказываются меньше полученных для животных контрольной группы.

Ключевые слова: прудовик озерный, тяжелые металлы, радионуклиды, процесс размножения.

В последнее время внимание исследователей привлекает проблема комбинированного влияния на гидробионтов ионизирующей радиации и других химических агентов, в частности, тяжелых металлов, выявленных в водоемах Украины в больших количествах. Наибольшую актуальность имеет исследование синергизма при влиянии малых доз радиации в комбинации с невысокой концентрацией химического вещества: отдельно взятые они могут практически не проявлять вредного действия на организм водных животных. Известно также, что радиоактивное загрязнение среды и накопление радионуклидов в органах и тканях гидробионтов могут вызвать дегенеративные изменения в половых клетках, что приводит к нарушению гаметогенеза у животных, а в некоторых случаях и к аномалии гонад [1, 7]. Эмбрионы могут получать внутреннее облучение в результате проникновения радионуклидов в яйцеклетки из организма самок в процессе оогенеза [3]. Под влиянием облучения могут появляться морфофункциональные нарушения развития эмбрионов [16]. До последнего времени исследование действия радиоактивного облучения на биологические характеристики гидробионтов проводились чаще всего на рыбах. Поэтому чтобы проверить, усложняет ли радиационный фактор протекание патологического процесса, вызванного отравлением моллюсков тяжелыми металлами (что было ранее установлено нами [8—15]), проведено исследование особенностей репродукции живот-

© Пинкина Т. В., 2010

ных при совместном действии на них последствий радиационного влияния и пребывания в растворах разных концентраций тяжелых металлов.

В зообентосе многих водоемов Украины и смежных регионов доминирующее значение принадлежит моллюскам. Вследствие того, что эти животные способны накапливать наряду с тяжелыми металлами и радионуклиды, находящиеся в воде, им принадлежит ключевая роль в процессах биологической миграции тяжелых металлов и радионуклидов в водных экосистемах [17]. Поэтому в качестве тест-объекта для проведения исследований нами выбран наиболее обычный представитель гидрофауны Центрального (Житомирского) Полесья — брюхоногий моллюск прудовик озерный *Lymnaea stagnalis* Linnaeus.

Материал и методика исследований. Материалом служили одноразмерные прудовики (средняя высота раковины $39,5 \pm 1,1$ мм), взятые из водоема района, потерпевшего от аварии на ЧАЭС (р. Лозница, приток р. Уж, с. Любарка Народичского р-на Житомирской обл. (II зона)¹). Продолжительность опыта — 70 суток ежегодно. Содержание ^{137}Cs и ^{90}Sr в воде, донных отложениях и животных определяли на спектрометре LP49900B AFORA № 905289 в лаборатории радиологии Полесского филиала Украинского научно-исследовательского института лесного хозяйства и агрономелиорации. Содержание цезия-137 в воде исследованного водоема в среднем составляло $1,78 \pm 0,02$ Бк/л, а в донных отложениях (илах) — $350,2 \pm 3,8$ Бк/кг (стронция-90 в воде — $0,12 \pm 0,04$ Бк/л, в донных отложениях — $68,7 \pm 1,1$ Бк/кг). В воде контрольного водоема содержание ^{137}Cs составляло $0,007 \pm 0,004$ Бк/л, а ^{90}Sr — $0,005 \pm 0,002$ Бк/л (в донных отложениях — $17,5 \pm 2,1$ и $4,9 \pm 0,3$ Бк/кг соответственно). На начало опыта содержание ^{137}Cs в моллюсках из радиоактивно загрязненного водоема составляло 64 ± 5 Бк/кг, а из условно чистой зоны² (р. Тетерев, г. Житомир) — 12 ± 7 Бк/кг (^{90}Sr — соответственно 554 ± 9 и 280 ± 12 Бк/кг).

Всего исследовано 1 107 особей прудовика озерного. Животных адаптировали к лабораторным условиям на протяжении двух суток, после чего помещали в растворы с ионами тяжелых металлов исследуемых концентраций. В качестве корма прудовикам давали молодые листья одуванчика. Контролем служили одноразмерные прудовики из р. Тетерев, находящиеся в аналогичных условиях.

Условия эксперимента: температура воды — $19\text{--}23^\circ\text{C}$, pH — $7,01\text{--}7,53$, содержание кислорода — $8,39\text{--}8,87$ мг/дм³, свободной углекислоты — $2,33$ мг/дм³, фтора — $0,24$ мг/дм³, кальция — $2,60$ мг/дм³. Фоновое содержание ионов тяжелых металлов в воде составляло: меди — $0,0002$ мг/дм³, марганца — $0,092$ мг/дм³, цинка — $0,0003$ мг/дм³, никеля — $0,0001$ мг/дм³, кобальта < $0,00001$ мг/дм³, кадмия < $0,000001$ мг/дм³. Содержание стронция в

¹ Уровень радиоактивного загрязнения поверхности почвы $18,57 \cdot 10^{10}\text{--}55,5 \cdot 10^{10}$ Бк/км².

² Уровень радиоактивного загрязнения поверхности почвы до $3,7 \cdot 10^{10}$ Бк/км².

воде — 0,286 мг/дм³. Концентрацию ионов тяжелых металлов создавали добавлением в отстоянную водопроводную воду рассчитанного (по катиону) количества хлоридов металлов (фирма «Реахим», марка «хч»).

С целью устранения влияния экзометаболитов на моллюсков [2] и поддержания на постоянном уровне нужных концентраций ионов металлов в воде аквариумов раз в два дня проводили ее замену с добавлением заданного количества токсиканта. При каждой замене растворов стенки аквариумов мыли жесткими щетками.

Основному опыту предшествовал опыт ориентировочный, предназначенный для выбора концентраций токсикантов, необходимых в основном опыте [12]. При этом использовался рыбохозяйственно-токсикологический подход, при котором выделяют летальные (острые и хронические), сублетальные и недействующие концентрации [6]. В основном опыте использовано 4 концентрации, по одной из каждого диапазона концентраций (таблица).

Яйцевые кладки снимали с субстрата мягкой щеточкой. Изучение и измерение синкапсул и их элементов проводили под микроскопом МБС-9. Подсчитывали общее количество яйцевых капсул в синкапсуле и зигот в одной яйцевой капсуле. Зарисовывание кладок яиц, а также всех морфологических отклонений от нормы проводили при помощи рисовального аппарата РА-1 для МБС-9. Длину яйцевых капсул измеряли по внутренней капсульной мембране. Результаты эксперимента обработаны методами вариационной статистики [5].

Результаты исследований и их обсуждение

Полученные результаты показывают, что тяжелые металлы в использованных нами концентрациях вызывают существенные изменения биологических показателей прудовика озерного, взятого из радиоактивно загрязненного водоема.

На протяжении 70 сут эксперимента группой контрольных животных, взятых из условно чистого водоема, в общем, было отложено в 1,5 раза больше кладок, чем моллюсками из неблагополучного в отношении радионуклидов водоема ($P < 0,05$). Прудовики из радиоактивной зоны, помещенные в растворы с Zn^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} всех исследованных концентраций (см. табл.), откладывают в 1,8—2 раза меньшее количество синкапсул ($P < 0,05$) (рис. 1).

Статистически достоверные различия в количестве кладок не зафиксированы лишь при нахождении моллюсков в растворах подпороговых концентраций Cd^{2+} . Наименьшее количество синкапсул выявлено в растворах подпороговых концентраций Zn^{2+} (12 ± 1), где, очевидно, очень медленно включаются механизмы адаптации, и в растворах хронических летальных концентраций Co^{2+} (9 ± 1), где отравление достигает своих пределов быстрее, чем в растворах других металлов. Наибольшее количество синкапсул отложено в растворах с Ni^{2+} всех исследованных концентраций ($P < 0,05$). Однако количество отложенных синкапсул все же не превышает здесь контрольных показателей (см. рис. 1).

Концентрации ионов тяжелых металлов (мг/дм³), использованные в опытах

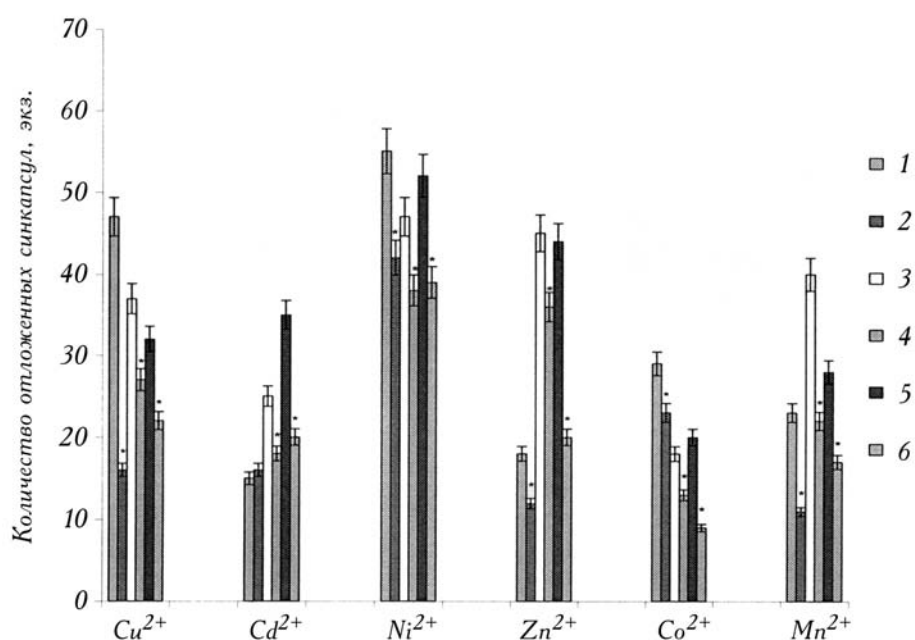
Ионы	Концентрации			
	остролетальные	хронические летальные	сублетальные	подпороговые
Cu ²⁺	4	0,04	4,0·10 ⁻⁵	4·10 ⁻⁸
Cd ²⁺	5	0,05	5,0·10 ⁻⁴	5·10 ⁻⁶
Ni ²⁺	10	0,05	5,0·10 ⁻³	5·10 ⁻⁶
Zn ²⁺	15	0,50	5,0·10 ⁻³	5·10 ⁻⁵
Co ²⁺	25	2,50	2,5·10 ⁻¹	3·10 ⁻²
Mn ²⁺	110	30,00	3,0·10 ⁻¹	3·10 ⁻²

Во время эксперимента проводилось также наблюдение за моллюсками из водоема с повышенным уровнем содержания радионуклидов и за прудовиками из условно чистого водоема, которые содержались в воде без добавления токсикантов. Было установлено, что прудовиками из р. Лозница за 70 суток эксперимента было отложено в среднем 50 ± 5 кладок, что в 1,7 раза меньше количества синкапсул, отложенных моллюсками из р. Тетерев (84 ± 7 кладок).

Длина синкапсул, отложенных прудовиками из зоны радиоактивного загрязнения, изменяется незначительно, хотя все же эти моллюски в большинстве своем образуют кладки несколько меньших размеров, чем в контрольной группе животных (рис. 2). Такая же закономерность наблюдалась и по показателям длины синкапсул, отложенных двумя группами животных из исследуемых водоемов, находящихся в чистой воде (р. Тетерев — $33,75 \pm 0,64$ мм; р. Лозница — $32,86 \pm 0,92$ мм).

Статистически достоверные отличия величины этого показателя наблюдаются в опыте только при влиянии сублетальных и хронических летальных концентраций ионов цинка ($P < 0,05$), причем при действии первых длина синкапсул была больше контрольных, а при действии вторых — меньше. При влиянии токсикантов яйцевые капсулы, отложенные моллюсками из р. Лозница, имеют в большинстве случаев меньшие размеры, в сравнении с контрольными (рис. 3).

В растворах, содержащих ионы кобальта всех исследованных концентраций (см. таблицу), размеры яйцевых капсул были достоверно меньше контрольных ($P < 0,05$). То же наблюдается при влиянии подпороговых и хронических летальных концентраций Zn²⁺ и Cu²⁺ и подпороговых концентраций Cd²⁺. В растворах с ионами марганца исследуемых концентраций величины обсуждаемого показателя хотя и были меньше контрольных, однако, они статистически не достоверные ($P < 0,05$). При аналогичных условиях содержания средние величины длины яйцевых капсул, полученные у животных из р. Лозница и содержащихся в чистой воде, являются несколько большими по сравнению с капсулами от прудовиков из р. Тетерев ($1,37 \pm 0,01$ и $1,35 \pm 0,01$ мм соответственно).

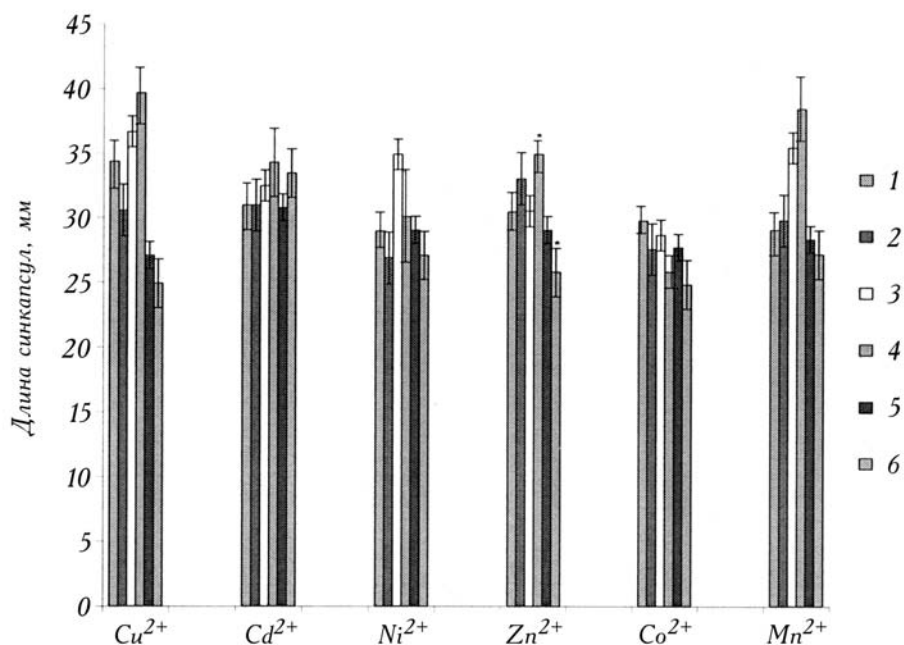


1. Количество синкапсул, отложенных прудовиком озерным (промежуток времени — 70 сут) из зоны радиоактивного загрязнения при воздействии ионов тяжелых металлов. Здесь и на рис. 2—5: 1 — диапазон подпороговых концентраций (контроль — р. Тетерев); 2 — диапазон подпороговых концентраций (II зона — р. Лозница); 3 — диапазон сублетальных концентраций (контроль — р. Тетерев); 4 — диапазон сублетальных концентраций (II зона — р. Лозница); 5 — диапазон хронических летальных концентраций (контроль — р. Тетерев); 6 — диапазон хронических летальных концентраций (II зона — р. Лозница).

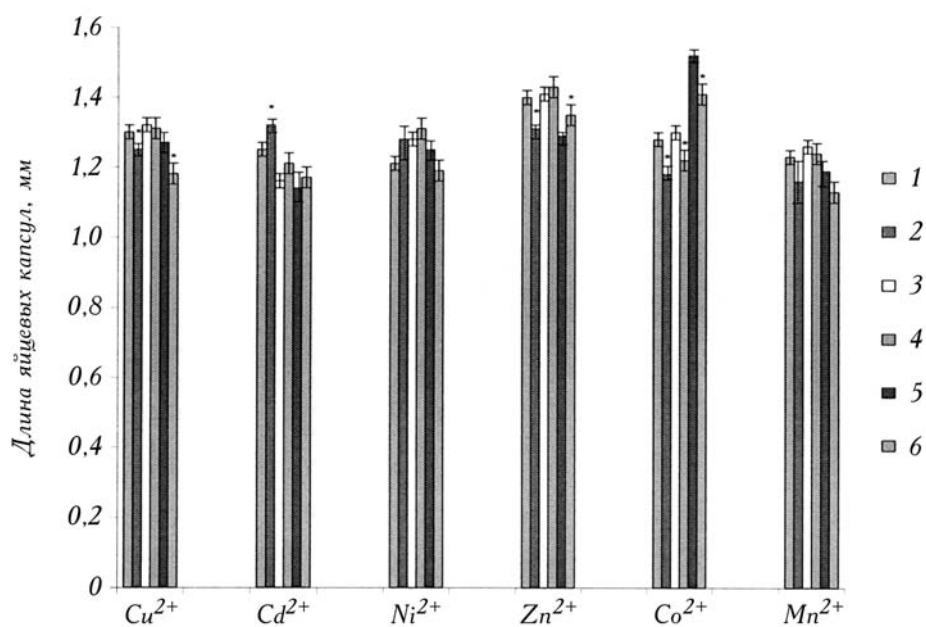
Исследуя аномалии в строении синкапсул, отложенных прудовиками из зоны радиоактивного загрязнения, нами отмечены такие же их типы, как и у моллюсков, которые подвергались воздействию только лишь тяжелых металлов [15]. Однако следует отметить, что частота встречаемости почти всех тератогенных нарушений в данном случае является в 1,5 раза большей. Чаще всего встречается слабая спирализация тяжа с яйцевыми капсулами, многозиготность яйцевых капсул и наличие яйцевых капсул за синкапсулой. Достаточно частой аномалией является также удвоение яйцевых капсул и наличие яйцеклеток без яйцевых капсул за пределами синкапсулы.

Появлением большего количества тератогенных нарушений можно частично объяснить снижение жизнеспособности молодежи, рождающейся от организмов, которые подверглись более интенсивному радиоактивному влиянию, а это в свою очередь повлияло на показатели выживания молодых прудовиков в токсической среде.

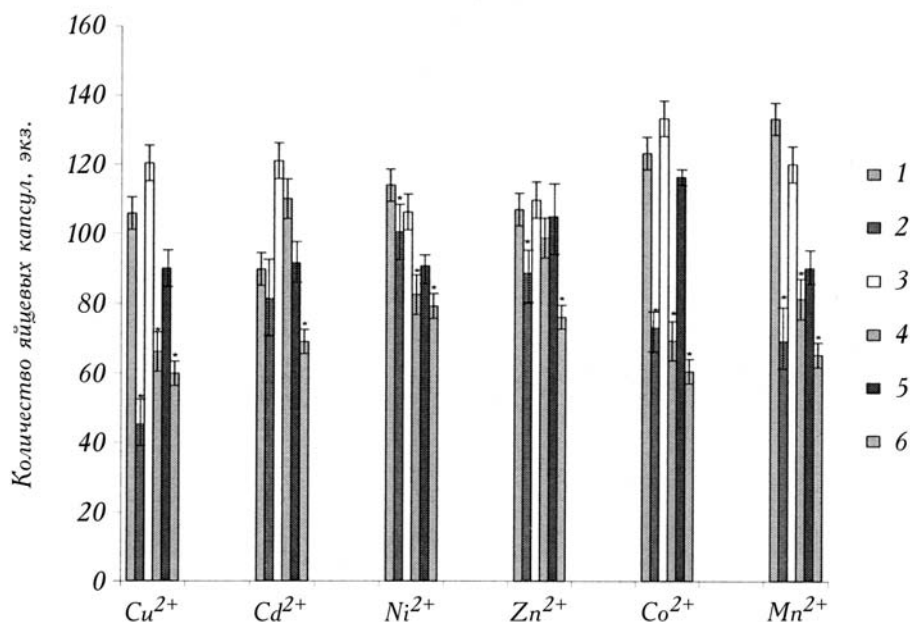
Продолжительность эмбриогенеза увеличивается у прудовиков из р. Лозница при содержании их в растворах тяжелых металлов в среднем на 1—2 суток, но молодежь оставляет синкапсулы интенсивнее (продолжительность выклева составляет 3—5 суток). Похожую картину мы наблюдали в



2. Длина синкапсул (мм), отложенных прудовиком озерным из зоны радиоактивного загрязнения при воздействии ионов тяжелых металлов.



3. Длина яйцевых капсул (мм), отложенных прудовиком озерным из зоны радиоактивного загрязнения при воздействии ионов тяжелых металлов.



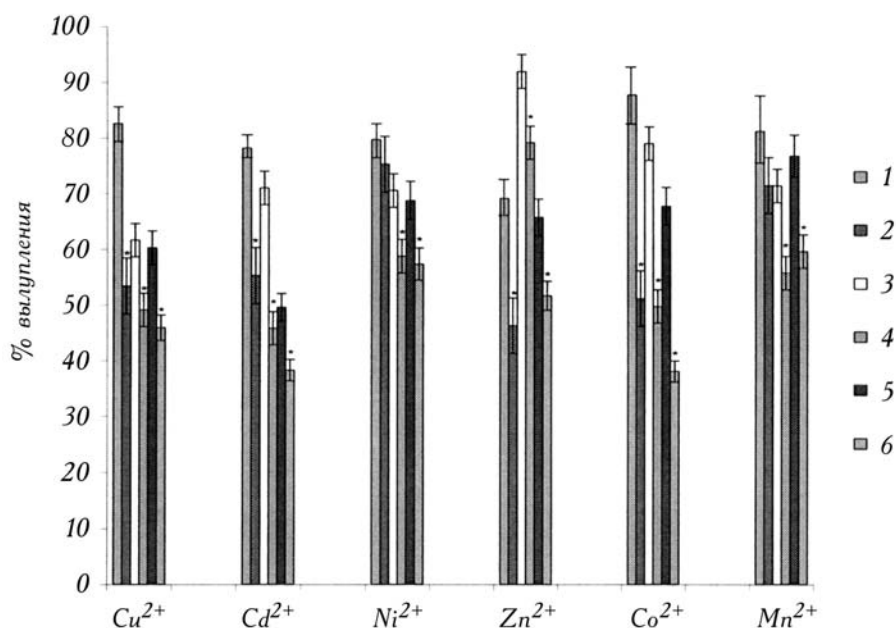
4. Количество яйцевых капсул в синкапсулах прудовика озерного из зоны радиоактивного загрязнения при воздействии ионов тяжелых металлов.

контрольных опытах только при влиянии самых высоких концентраций тяжелых металлов, использованных в эксперименте.

Нами исследованы также показатели количества яйцевых капсул, отложенных прудовиками в синкапсулы, и доли молодых моллюсков, которые успешно завершили эмбриональное развитие и вылупились. Эти данные сопоставлялись с полученными в опытах, где токсическому влиянию подвергались моллюски из условно чистых в отношении радионуклидов водоемов. Следует отметить, что все полученные величины обсуждаемых показателей были меньше контрольных. Количество яйцевых капсул в синкапсулах прудовиков из радиоактивной зоны, которые находились в растворах разных концентраций тяжелых металлов, достоверно уменьшается в 1,5—2,3 раза ($P < 0,05$) (рис. 4). Это, в свою очередь, уменьшает вылупление молоди.

Достоверных отличий не обнаружено лишь при влиянии подпороговых и сублетальных концентраций ионов кадмия и сублетальных концентраций ионов цинка ($P < 0,05$). Одной из причин уменьшения количества яйцевых капсул в кладках прудовика может быть нарушение спирализации, когда яйцевые капсулы уложены в синкапсулах рыхло. В силу этого при такой же, как у контрольной группы длине кладок, яйцевых капсул в них было в два раза меньше. Величина показателей вылупления молоди была в среднем в 1,5 раза меньше, чем в контроле ($P < 0,05$). Самые низкие их значения получены в растворах с Co^{2+} , где они были меньшими в 1,7—1,8 раза (рис. 5).

Стимулирующего действия растворов сублетальных концентраций ионов тяжелых металлов, которое имело место в контрольном опыте, в



5. Доля вылупившихся ювенильных особей прудовика озерного из зоны радиоактивного загрязнения при воздействии ионов тяжелых металлов.

основном эксперименте не отмечено. Подпороговые концентрации ионов тяжелых металлов водной среды в данном случае нельзя считать недействующими: доля вылупленных ювенильных особей в таких растворах была в 1,3—1,5 раза меньше контрольных значений ($P < 0,05$). При этом размываются также границы в реагировании на сублетальные и хронические летальные концентрации — последние уже не являются такими, которые исключительно стойко угнетают вылупление молоди (см. рис. 5).

Средние величины количества яйцевых капсул в синкапсулах и доли вылупленных молодых прудовиков у моллюсков из радиоактивно загрязненного водоема были существенно меньшими, чем у прудовиков из р. Тетерев при условии содержания обеих групп животных в воде без добавления токсикантов. Количество яйцевых капсул, полученных у моллюсков из р. Лозница, составляло $94,88 \pm 4,7$, а у прудовиков из р. Тетерев — $106,6 \pm 4,37$. Доля вылупившихся ювенильных особей из кладок моллюсков р. Лозница была при таких условиях в среднем в 1,3 раза меньше, чем из кладок моллюсков из условно чистого водоема (р. Лозница — $68,9 \pm 3,67\%$, р. Тетерев — $87,9 \pm 1,35\%$) ($P < 0,05$).

Заключение

Репродуктивная система прудовика озерного из зоны радиоактивного загрязнения оказывается более чувствительной к токсическому влиянию тяжелых металлов по сравнению с другими физиологическими системами организма [13] и реагирует на него резче, чем моллюсков из условно чистой зоны. Уже подпороговые концентрации токсикантов вызывают отклик со стороны половой системы

животных. Сублетальные концентрации ионов тяжелых металлов не проявляют стимулирующего действия на организм моллюсков. Ослабленные облучением, они не способны противостоять интоксикации усилением процессов жизнедеятельности. Поэтому при влиянии сублетальных и хронических летальных концентраций наблюдаются существенное угнетение функционирования половой системы моллюсков. Величины исследуемых биологических показателей при действии всех концентраций поллютантов оказываются меньшими, чем те, которые получены при исследовании животных, не подвергавшихся воздействию радиации.

По динамике изменения исследуемых биологических показателей можно сделать вывод о синергизме радиационного фактора и ионов тяжелых металлов. Установлено, что ионизирующее облучение является отягчающим фактором для животных, которые подвергаются влиянию ионов тяжелых металлов — организм взрослых моллюсков ослабляется, а это неминуемо вызывает негативные изменения в организме ювенильных особей.

В связи с интенсификацией загрязнения гидросферы ионами тяжелых металлов и радионуклидами сведения об изменении плодовитости моллюсков могут быть использованы при разработке тестов в экологическом мониторинге загрязнения поверхностных вод Украины, а также для прогнозирования изменений разнообразия водных сообществ.

**

Проведено дослідження з вивчення впливу іонів важких металів водного середовища і радіонуклідів на біологічні характеристики ставковика озерного. Встановлено, що іонізуюче опромінення є обтяжливим чинником для тварин, які зазнають дії токсичного середовища. При цьому спостерігається синергізм радіаційного чинника та іонів важких металів водного середовища на репродуктивну систему ставковика озерного.

**

*The paper covers the integrated investigation into the indirect effects of the ionizing radiation and the direct effects of heavy metal ions on *Lymnaea stagnalis* biological characteristics. It has been established that the ionizing irradiation proves to be a cumbersome factor for animals exposed to the effects of the toxic environment. One can also observe the synergism of the radiation factor on *Lymnaea stagnalis* reproductive system.*

**

1. Белова Н.В., Емельянова Н.Г., Макеева А.П., Веригин Б.В. Влияние крупномасштабной радиационной аварии на воспроизводительную функцию рыб-консументов первого порядка // Тез. докл. I конгр. ихтиологов России. — Астрахань, 1997. — С. 248.
2. Брагинский А.П., Линник П.Н. Методика токсикологического эксперимента с тяжелыми металлами на гидробионтах // Гидробиол. журн. — 2003. — Т. 39, № 1. — С. 93—104.
3. Вятчанина Л.И. Направление изменчивости морфологических признаков промысловых рыб в условиях радиоактивного и химического загрязнения // Гидроэкологические последствия аварии на Чернобыльской АЭС. — Киев: Наук. думка, 1992. — С. 209—219.

4. Гродзинський Д.М. Радіобіологічні і радіоекологічні наслідки аварії на Чорнобильській АЕС // Доп. АН України. — 1993. — № 1. — С. 134—140.
5. Лакин Г.В. Биометрия. — М.: Высш. шк., 1990. — 351 с.
6. Лесников Л.А. ПДК, ПДС, биотестирование // Тез. докл. 5-й Всесоюз. конф. по водн. токсикологии. — М., 1988. — С. 46—47.
7. Петриков А.М., Петухов В.Б., Кохненко О.С., Воронович А.И. Дегенеративные изменения в ооцитах окуня при хроническом воздействии ионизирующей радиации // Весці АН Беларусі. Серыя. Біял. науки. — 1997. — № 2. — С. 111—115.
8. Пінкіна Т.В. Оцінка дії хлориду марганцю водного середовища на особливості репродукції і розвитку ставковика озерного (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata, Lymnaeidae) // Вісн. Держ. агрокол. ун-ту: Наук.-теор. зб. — Житомир, 2003. — № 2. — С. 59—65.
9. Пінкіна Т.В. Вплив хлорида цинку на розмноження та розвиток ставковика озерного (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata, Lymnaeidae) // Вісн. Львів. ун-ту: Сер. біол. — 2004. — Вип. 35.— С. 185—189.
10. Пінкіна Т.В. Реагування репродуктивної системи ставковика озерного на вплив різних концентрацій хлориду міді // Вісн. Держ. агрокол. ун-ту: Наук.-теор. зб. — Житомир, 2004. — № 1. — С. 127—133.
11. Пінкіна Т.В. Оцінка дії хлориду нікелю на особливості репродукції та розвитку ставковика озерного (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata, Lymnaeidae) // Еколого-функціональні та фауністичні аспекти дослідження молюсків, їх роль у біоіндикації стану навколишнього середовища: Зб. наук. праць. — Житомир: Волинь, 2004. — С. 147—150.
12. Пинкина Т.В. Влияние ионной формы кадмия на размножение и развитие прудовика озерного (*Lymnaea stagnalis* L.) // Гидробиол. журн. — 2005. — Т. 41, № 5. — С. 76—83.
13. Пінкіна Т.В. Поведінкові, морфологічні та фізіологічні реакції ставковика озерного (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata, Lymnaeidae) за впливу на нього іонів важких металів водного середовища // Наук. часопис НПУ ім. М.П. Драгоманова. Сер. 20, Біологія. — К., 2005. — Вип.1 (1). — С. 160—172.
14. Пинкина Т.В. Реагирование репродуктивной системы прудовика озерного на воздействие различных концентраций хлорида кобальта // Природничий альманах. Сер. біол. — Херсон, 2006. — Вип. 7. — С. 177—185.
15. Пінкіна Т.В. Моніторинг стану гідробіонтів за особливостями яйцекладки та будови кладок ставковика озерного у середовищі, що містить іони важких металів // Наука. Молодь. Екологія-2008: Матеріали Міжнар. наук.-практ. конф. — Житомир, 2008. — С. 50—57.
16. Смирнова Н.Н., Сиренко Л.А. Цитофизиологический метод экспресс-оценки токсичности природных вод // Гидробиол. журн. — 1993. — Т. 29, № 4. — С. 95—101.
17. Стадниченко А.П., Мельниченко Р.К., Янович Л.М. и др. Содержание и особенности распределения радионуклидов в водных экосистемах Украинского Полесья // Докл. II Международ. науч.-практ. конф. «Тяжелые металлы, радионуклиды и элементы-биофилы в окружающей среде». — Семипалатинск, 2002. — С. 5—9.