

На правах рукописи

ПУЗАТКИНА ЕЛЕНА АЛЕКСАНДРОВНА

**ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ ФАКТОРОВ НА
СОСТОЯНИЕ ГАЗООБМЕНА И СОДЕРЖАНИЕ
КАРОТИНОИДОВ В ТКАНЯХ ПРЭСНОВОДНЫХ
МОЛЛЮСКОВ**

03.00.16 – Экология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Казань
2006

Работа выполнена на кафедре водных ресурсов ГОУ ВПО «Марийский
государственный технический университет» (г. Йошкар-Ола)

Научный руководитель: доктор биологических наук,
профессор Колупаев Борис Иванович

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,
профессор Соколина Флюра Мухаметгалеевна;
доктор биологических наук,
профессор Дыганова Роза Яхиевна

Ведущая организация: Нижегородский государственный университет
им. Н.И.Лобачевского

Защита диссертации состоится 25 апреля 2006 г. в 14⁰⁰ часов на
заседании Диссертационного совета Д.212.081.19 при Казанском госу-
дарственном университете по адресу: 420008, Казань, Кремлевская, 18

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке им. Н.И. Лоба-
чевского Казанского государственного университета

Автореферат разослан _____ 2006

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор химических наук,
профессор



Евтюгин Г.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Поиск средств и методов оценки качества водной среды, не взирая на масштабность исследований в этой области, по-прежнему остается актуальным. Особую значимость приобретает поиск и использование в качестве биоиндикаторов естественных обитателей водоемов – гидробионтов – объектов, как селективного, так и неселективного реагирования на загрязнение.

Пресноводные моллюски водоемов средней полосы Европейской части России представлены десятками видов, которые отличаются друг от друга не только ареалами обитания, но и анатомо-морфологическим строением и спецификой целого ряда физиологических функций, включая систему дыхания.

Наше внимание привлекли работы, где в качестве объектов неселективной скрининговой оценки загрязнения водной среды предлагается использование пресноводных моллюсков (Строганов, 1971; Флеров, 2004).

Реакция органов дыхания пресноводных моллюсков на изменение концентрации кислорода в окружающей водной среде является одной из наиболее чувствительных (Брандт, 1951; Коштоянц, 1950; Проссер, Браун, 1967; Вербжинская, 1971; Строганов, 1976, 1983; Хочачка, Сомеро, 1977; Биргер, 1979; Колупаев, 1992). Однако имеющаяся в доступной литературе информация по данному вопросу является фрагментарной и во многом противоречивой, и опирается, главным образом на показатели системы обеспечения кислородного режима организма (СОКРО) (Колупаев, 1989).

Не вызывает каких-либо сомнений информация о том, что кислород как инструмент извлечения энергии и пластического материала из соединений восстановленного углерода совершенно необходим для обеспечения жизненных процессов. Гидробионты принадлежат к одним из наиболее чувствительных организмов к его недостатку. Растворение кислорода в воде и его потребление гидробионтами зависит от многих факторов, в том числе от температуры, сезонности, времени суток, характера питания, стадии жизненного цикла, генетических особенностей вида и многого другого (Проссер, Браун, 1967; Строганов, 1976; Колупаев, 1992). В связи с этим совершенно очевидно, что недостаток растворенного в воде кислорода в силу целого ряда причин, в том числе и в связи с многокомпонентным загрязнением водоемов химическими веществами негативно сказывается на их жизнедеятельности.

За последние десятилетия произошли серьезные изменения в структуре гидробионтных сообществ, когда численность одних видов снижается, а других, наоборот, возрастает. Следовательно, у водных животных существуют какие-то физиологические механизмы адаптации к дефициту кислорода и вероятнее всего, они носят видоспецифический характер. Это в равной мере относится и к пресноводным моллюскам.

Изучение молекулярных и физиологических механизмов адаптации гидробионтов, в том числе и пресноводных моллюсков к дефициту кислорода, активно ведется в последние годы. Значительное внимание уделяется механизмам молекулярной кумуляции и депонирования кислорода. Особо важную роль в этом играют каротиноидные пигменты. Роль каротиноидов животных в развитии адаптационных механизмов практически не изучено. Известно, что каротиноиды играют важную роль в формировании устойчивости моллюсков к загрязнению среды обитания. Они способны образовывать систему внутриклеточного депонирования кислорода (Петруняка, 1979; Карнаухов, 1988; Колупаев, 1989; Лукьянова, 1994).

Существуют достаточно убедительные основания предполагать, что содержание каротиноидов в определенной степени коррелирует с интенсивностью процессов дыхания, как в нормальных условиях, так и в условиях недостатка кислорода.

Цель работы – установить связь между интенсивностью процессов газообмена и содержанием каротиноидов в тканях пресноводных моллюсков с различной морфо-функциональной организацией органов дыхания в ответ на воздействие факторов внешней среды. На основании экспериментальных данных, выявить виды пресноводных моллюсков, отличающиеся максимальной и минимальной устойчивостью к дефициту кислорода и загрязнению водной среды.

Исходя из этого, были поставлены следующие задачи:

1. Определить взаимосвязь между интенсивностью газообмена и содержанием каротиноидов у различных видов пресноводных моллюсков, с различной морфо-функциональной организацией органов дыхания при различном температурном режиме и в условиях пониженного содержания кислорода в воде.
2. Определить интенсивность и специфику газообмена у пяти видов исследованных пресноводных моллюсков с различной морфо-функциональной организацией органов дыхания. Выявить его взаимосвязь с содержанием каротиноидов в условиях химического загрязнения воды инсектицидами, гербицидами и соединениями свинца.
3. Для оптимизации выбора объекта индикации загрязнения водной среды из изученных пресноводных моллюсков, провести математический анализ результатов экспериментального исследования.

Научная новизна. На основании определения взаимосвязи между интенсивностью реакций газообмена и содержанием каротиноидов в тканях различных видов пресноводных моллюсков в природных условиях и условиях загрязнения водной среды установлено, что максимальной устойчивостью к действию токсических факторов обладают виды с высоким содержанием каротиноидов - способных к кумуляции кислорода и отдающих его при экстремальных условиях. Данный процесс, наряду с переключением аэробного дыхания на анаэробное обеспечивает необходимый уровень метаболической активности, что подтверждено ростом

дыхательного коэффициента. В работе впервые установлено, что наиболее целесообразно использовать в качестве оптимальных объектов биоиндикации для оценки качества водной среды пресноводных моллюсков с жаберным типом дыхания и низким содержанием каротиноидов в тканях.

Положения, выносимые на защиту.

1. Результаты оценки интенсивности газообмена в зависимости от содержания каротиноидов у пресноводных моллюсков в условиях нарушения оптимума температурного режима, содержания кислорода в воде и в условиях ее химического загрязнения.
2. Результаты определения минимальной и максимальной устойчивости пяти видов пресноводных моллюсков в условиях дефицита кислорода различного генеза в зависимости от содержания каротиноидов.
3. Обоснование рекомендаций по выбору и использованию пресноводных моллюсков в качестве биоиндикаторов загрязнения водной среды.

Теоретическая и практическая ценность. В работе установлена взаимосвязь между интенсивностью газообмена и содержанием каротиноидов в тканях при изменении температурного режима, снижении содержания кислорода в воде и воздействии токсических факторов водной среды у моллюсков, имеющих различную морфо-функциональную организацию органов дыхания. Полученные данные служат основанием для выбора биообъектов при организации биоиндикации качества водной среды с помощью моллюсков.

Материалы диссертации использованы при разработке курсов «Экологическая токсикология» в Марийском государственном университете и «Экологические проблемы освоения водных ресурсов» в Марийском государственном техническом университете для студентов биолого-химического факультета и факультета природообустройства и водных ресурсов.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены на 2-й Международной научно-практической конференции «Экология и охрана окружающей среды» (Пермь, 12-15 сентября 1995 г.), на республиканской научно-практической конференции «Природопользование: состояние, проблемы и пути их решения» (11 ноября 1997г.), на 2-м Всероссийском семинаре «Экология и генетика популяций» (Йошкар-Ола, 5-9 февраля 1997 г), на Всероссийской междисциплинарной научной конференции «Вавиловские чтения» (Йошкар-Ола, 1996, 1997, 1999, 2001, 2002 гг), на Всероссийской научной конференции «Принципы и способы сохранения биоразнообразия» (Йошкар-Ола, 2004, 2006 гг), научных конференциях преподавателей и сотрудников МарГУ (1996 – 2005 гг).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 14 печатных работ.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 187 страницах машинописного текста, иллюстрирована 103 таблицей и 28 рисун-

ками. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания использованных в работе материалов и методов исследования, полученных экспериментальных данных, заключения и выводов. Список цитируемой литературы включает 323 библиографическое название.

Материалы, объекты и методы исследования

Изучены изменения содержания каротиноидов и интенсивность потребления кислорода и выделения углекислого газа у моллюсков под действием температуры, недостатка кислорода в водной среде, пестицидов разной химической природы и ионов свинца.

Исследования проведены у 1220 моллюсков пяти разных видов после их сбора в условно чистой зоне реки Малая Кокшага Республики Марий Эл и адаптации моллюсков в сосудах с непроточной водой в течение десяти суток в стандартных условиях.

В эксперименте были использованы моллюски, различающиеся по морфо-функциональной организации органов дыхания: Прудовик обыкновенный – *Lymnaea stagnalis* (Linne, 1758); Катушка роговая – *Planorbium corneum* (Linne, 1758); Перловица обыкновенная – *Unio pictorum* (Linne, 1758); Беззубка обыкновенная европейская – *Anodonta cygnea* (Linne, 1758); Живородка обыкновенная – *Viviparus viviparus* (Linne, 1758).

Исследуемые пять видов животных были разделены на 3 группы, каждая из них была разделена на 4 подгруппы, включая 1 контрольную и 3 опытных.

Первую группу составили 200 особей. Животные помещались в сосуды по десять особей в каждый, где поддерживалась определенная температура (+18 °С для контрольной подгруппы и +4, +24, +28 °С – для опытных). Экспозиция составила семь суток.

Вторая опытная группа (120 особей) подвергалась воздействию низкого содержания кислорода в воде. Животные находились в сосудах с содержанием кислорода 10 мг×л⁻¹ в контрольной и 8 мг×л⁻¹, 6 мг×л⁻¹, 4 мг×л⁻¹ в опытных группах, соответственно.

Третья опытная группа (600 особей). Животные помещались в растворы токсических веществ в концентрациях 1/2 CL₅₀, 1/4 CL₅₀, 1/8 CL₅₀. В качестве контроля использовалась отстоянная водопроводная вода. Экспозиция составила 7 суток. Определение полулетальной концентрации каждого из токсикантов проводили по методу Прозоровского (1980), для этого использовано 300 особей моллюсков (по 12 особей моллюсков каждого вида).

Общий объем выполненных исследований и перечень физиологических показателей представлен в таблице 1.

Таблица 1 – Общий объем выполненных работ

Исследуемый фактор	Регистрируемые параметры	Количество исследований	Число моллюсков
Температура (4°C, 24°C, 28°C)	Интенсивность потребления кислорода, интенсивность выделения углекислого газа, содержание каротиноидов в тканях, дыхательный коэффициент.	600	200
Пониженное содержание кислорода в воде (4мг×л ⁻¹ , 6мг×л ⁻¹ , 8мг×л ⁻¹)	Интенсивность потребления кислорода, интенсивность выделения углекислого газа, содержание каротиноидов в тканях, дыхательный коэффициент.	360	120
Определение полулетальных концентраций (CL ₅₀) для пестицидов (фосфамид, дельтаметрин, циперметрин, готрил) и солей свинца	Полулетальные концентрации (CL ₅₀) для каждого вида	300	300
Сублетальные концентрации пестицидов (1/2 CL ₅₀ , 1/4 CL ₅₀ , 1/8 CL ₅₀)	Интенсивность потребления кислорода, интенсивность выделения углекислого газа, содержание каротиноидов в тканях, дыхательный коэффициент.	1920	480
Сублетальные концентрации раствора соли свинца (1/2CL ₅₀ , 1/4CL ₅₀ , 1/8CL ₅₀)	Интенсивность потребления кислорода, интенсивность выделения углекислого газа, содержание каротиноидов в тканях, дыхательный коэффициент.	360	120
Итого		3540	1220

Определение интенсивности общего газообмена. Интенсивность общего газообмена показатель, который складывается из интенсивности потребления кислорода и выделения углекислого газа. Для определения интенсивности потребления кислорода и выделения углекислого газа использовали стеклянные сосуды объемом 250 мл (индивидуально для каждой особи). Их заполняли водой таким образом, чтобы она переливалась через край. В склянки помещали по одной особи моллюсков приблизительно одинакового размера. Закрывали сосуды пробками и ставили их на четыре часа для дальнейшего исследования (Строганов, 1971).

Определение интенсивности потребления кислорода проводили по методу Winqler в модификации Н.С. Строганова (1971), в основе которого лежит йодометрическое титрование исследуемой пробы тиосульфатом натрия.

Определение интенсивности выделения углекислого газа определяли по модифицированному методу Н.Ю. Аликина (1971), который основан на потенциометрическом титровании исследуемой пробы раствором NaOH.

Дыхательный коэффициент рассчитывали по формуле:

$$DK = CO_{2\text{выд}} / PK$$

Определение содержания каротиноидов в тканях моллюсков проводили по модифицированной методике В.Н. Карнаухова (1982). У животных удаляли раковину и содержимое желудка. Ткани взвешивали и производили липофильную сушку тканей путем тастирования с безводным сульфатом натрия. Каротиноиды из лиофилизированной ткани экстрагировали петролейным эфиром. Измерение оптической плотности растворов каротиноидов проводили в диапазонах 400 и 750 нм.

Полученные экспериментальные данные обработаны методами вариационной статистики с применением Т- критерия Стьюдента и коэффициента корреляции Пирсмана, применяя пакет прикладных программ «Statistika» и «Excel». Для оценки достоверности сдвига использовали уровень вероятности $P \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

1 Видовая специфика содержания каротиноидов и интенсивности газообмена у пресноводных моллюсков при стандартных условиях водной среды

Согласно полученным данным для всех видов исследованных моллюсков по всем изучаемым показателям выявлена видовая специфичность. Так содержание каротиноидов при стандартных условиях (Т = 18 °С, рН = 7,2 – 7,4) у *Lymnaea stagnalis* составляет 1,0526±0,0518 мг/100г ткани, тогда как у другого легочного моллюска *Planorbarius corneus* показатель более чем в 3 раза ниже (табл. 2). В отношении жаббернодышащих моллюсков эти различия выражены еще в большей степени. Например, у *Unio pictorum* этот показатель составляет 0,1109±0,0252 мг/100г ткани, то есть почти в 9,5 раз меньше, чем у прудовиков. Переднежаберные моллюски *Viviparus viviparus* характеризуются относительно высоким содержанием каротиноидов в тканях – 0,6942±0,0476 – это в 1,5 раза меньше чем у прудовиков.

Таблица 2 – Содержание каротиноидов (мг/100г) и показатели газообмена (мг/г час) у моллюсков, различающихся по морфофункциональной организации органов дыхания

Вид моллюска	Содержание каротиноидов	Интенсивность потребления кислорода	Интенсивность выделения углекислого газа	Дыхательный коэффициент
<i>Lymnaea stagnalis</i>	1,0526±0,0518	0,0961±0,0023	0,0354±0,0043	0,3684±0,0681
<i>Planorbarius corneus</i>	0,3202±0,0217	0,0246±0,0005	0,0228±0,0007	0,9268±0,0467
<i>Unio pictorum</i>	0,1109±0,0252	0,0492±0,0088	0,0404±0,0080	0,8212±0,0273
<i>Anodonta cygnea</i>	0,2300±0,0431	0,0146±0,0013	0,0049±0,0009	0,3356±0,0125
<i>Viviparus viviparus</i>	0,6942±0,0476	0,0125±0,0018	0,0133±0,0024	1,0640±0,1569

Показатели газообмена контрольных животных также носят видоспецифичный характер. Например, интенсивность потребления ки-

слорода при стандартных условиях максимально выражена у *Lymnaea stagnalis* ($0,0961 \pm 0,0023$ мг/г в час). У переднежаберных моллюсков *Viviparus viviparus* этот показатель в 7,6 раза ниже ($0,0125 \pm 0,0018$ мг/г в час). Интенсивности потребления кислорода у трех других видов моллюсков колеблются между этими величинами и так же носят видоспецифический характер.

У всех изученных видов моллюсков выделение углекислого газа коррелирует с потреблением кислорода. Так, максимальное потребление кислорода за единицу времени наблюдается у *Lymnaea stagnalis*. У него же имеет место значительное выделение CO_2 . Если *Viviparus viviparus* поглощает минимальное количество кислорода, то и выделение углекислого газа у них также мало. Взаимозависимость между потреблением кислорода и выделением углекислого газа наблюдается и у других изученных видов (табл.2).

Анализ параметров дыхательного коэффициента у всех видов исследованных моллюсков позволил выявить следующие закономерности. У вида с минимальным потреблением кислорода и относительно низкой интенсивностью выделения углекислого газа – живородок – величина показателя ДК составляет $1,0640 \pm 0,1569$. Тогда как у прудовиков, показатели газообмена которых достигают максимальных величин, дыхательный коэффициент равен $0,3684 \pm 0,0681$.

Сопоставление результатов исследования газообмена с содержанием каротиноидов у *Lymnaea stagnalis* и *Viviparus viviparus* свидетельствует о том, что у живородок, несмотря на относительно высокое содержание каротиноидов, интенсивность газообмена в нормальных условиях в целом намного ниже, чем у прудовиков. Однако явление превышения выделения углекислого газа над потреблением кислорода у живородок позволяет предполагать, что у этого вида может происходить не столько переключение аэробного дыхания на анаэробное, сколько использование эндогенного кислорода, депонированного каротиноидами. Именно это, возможно, является причиной превышения выделения углекислого газа над потреблением кислорода (Карнаухов, 1988).

Особое внимание привлекает внимание так же *Unio pictorum*. Животные данного вида характеризуются минимальным содержанием каротиноидов в тканях ($0,1109 \pm 0,0252$ мг/100г). При этом в сравнении с живородками интенсивность потребления кислорода у них почти в 4 раза, а выделение углекислого газа – в 3 раза выше. Величина дыхательного коэффициента у перловиц равна $0,8212 \pm 0,0273$, то есть ниже единицы.

Полученные данные позволяют предполагать, что изученные виды по-разному реагируют на экстремальные изменения факторов среды обитания.

1.1 Реакция организмов палеарктических моллюсков с различной организацией органов дыхания на воздействие экзогенных факторов среды обитания

1.1.1 Реакция организмов моллюсков на воздействие температуры

У многих водных животных температура тела изменяется вместе с температурой внешней среды. Колебания температуры в водной среде невелики и условия жизни относительно стабильны (Грин и др., 1993; Проссер и др., 1977). Изученные животные являются обитателями умеренных широт, где диапазон температуры водной среды находится в пределах от 4° до $24^\circ C$.

На данном этапе исследования предлагается проследить реакцию моллюсков на воздействие температуры, что позволит выявить вид с наименьшими и наибольшими адаптивными способностями.

При снижении температуры воды до $4^\circ C$ у *Lymnaea stagnalis* проявляется тенденция к повышению содержания каротиноидов, а повышение температуры воды до $28^\circ C$ – к достоверному росту показателя ($P < 0,05$) по сравнению с контрольной группой (рис.1).

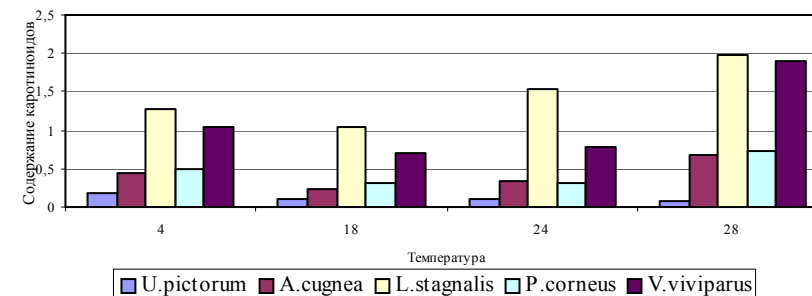


Рисунок 1 - Содержание каротиноидов в тканях моллюсков разных видов под действием различных температур

Потребление кислорода у прудовиков при понижении температуры резко падает (в 7 раз). Это сопровождается достоверным уменьшением выделения углекислого газа, но в значительно меньшей степени, чем падение потребления кислорода.

Повышение температуры воды до $28^\circ C$ так же приводит к выраженным изменениям всех трех показателей газообмена. Так содержание каротиноидов у *Lymnaea stagnalis* достоверно возрастает почти в два раза. Потребление кислорода в этих условиях снижается на 28% ($P < 0,05$), тогда как выделение углекислого газа увеличивается более чем в 2 раза. Полученные данные позволяют предполагать, что увеличение содержания каротиноидов, особенно при $28^\circ C$, является одним из механизмов адаптации вида, когда используется депонированный пигментами эндогенный кислород.

Аналогичные адаптивные реакции на изменение температуры среды происходят и у *Viviparus viviparus*, где снижение и повышение температуры воды приводит к значительному увеличению содержания каротиноидов (табл.3), особенно при экстремальных температурах (28°C). По мнению Карнаухова (1988), каротиноиды могут выполнять роль системы депонирования кислорода, который необходим для жизнедеятельности организма в условиях экстремальных изменений температуры.

Таблица 3 – Показатели газообмена моллюсков (мг/г час), находящихся в условиях различных температур

	Вид моллюска	Температурные нагрузки			
		4 °С	18°C(контр)	24° С	28 °С
Интенсивность потребления кислорода	<i>Lymnaea stagnalis</i>	0,0136±0,0020*	0,0961±0,0023	0,0823±0,0013	0,0699±0,0062*
	<i>Planorbarius corneus</i>	0,0046±0,0013*	0,0246±0,0005	0,1015±0,0162*	0,0775±0,0087*
	<i>Unio pictorum</i>	0,0422±0,0021	0,0492±0,0088	0,0763±0,0032*	0,1073±0,0149*
	<i>Anodonta cygnea</i>	0,0094±0,0006	0,0146±0,0013	0,0281±0,0040	0,0343±0,0049*
	<i>Viviparus viviparus</i>	0,0042±0,0011*	0,0125±0,0018	0,0066±0,0013*	0,0261±0,0019*
Интенсивность выделения углекислого газа	<i>Lymnaea stagnalis</i>	0,0025±0,0008*	0,0354±0,0043	0,0625±0,0023*	0,0760±0,0164*
	<i>Planorbarius corneus</i>	0,0031±0,0004*	0,0228±0,0007	0,0940±0,0040*	0,3499±0,0167*
	<i>Unio pictorum</i>	0,0085±0,0046*	0,0404±0,0080	0,0287±0,0066	0,0156±0,0054*
	<i>Anodonta cygnea</i>	0,0095±0,0006*	0,0049±0,0009	0,0109±0,0022*	0,0280±0,0015*
	<i>Viviparus viviparus</i>	0,0030±0,0005*	0,0133±0,0024	0,0757±0,0063*	0,4099±0,0361*
Дыхательный коэффициент	<i>Lymnaea stagnalis</i>	0,1827±0,0468*	0,3684±0,0681	0,7601±0,0482*	1,1047±0,0579*
	<i>Planorbarius corneus</i>	1,0838±0,0485	0,9268±0,0467	1,1550±0,0323	4,8014±0,0589*
	<i>Unio pictorum</i>	0,2773±0,0405*	0,8212±0,0273	0,3762±0,0825*	0,1399±0,0345*
	<i>Anodonta cygnea</i>	1,0008±0,0976*	0,3356±0,0125	0,3843±0,0332	0,8432±0,0909*
	<i>Viviparus viviparus</i>	0,8262±0,2097	1,0640±0,1569	4,6616±0,9693*	29,4236±3,539*

Примечание: *-P<0,05

У живородок потребление кислорода при 4°C снижается на 45 % по сравнению с контролем. При температуре 28°C этот показатель достоверно возрастает почти на 75 %. Выделение углекислого газа при температуре 4°C у особей данного вида, как и потребление кислорода, достоверно снижено. Тогда как при температуре 28°C выделение углекислого газа увеличивается более чем в 30 раз (P<0,05) по сравнению с контрольной группой. Дыхательный коэффициент в этом случае возрастает более чем в 9 раз (табл.3). Высокий ДК обусловлен рядом причин. Среди них можно выделить преобладание гликолиза, окисление промежуточных жирных кислот, использование гидрокарбонатов и соедине-

ний кумулирующих кислород. (Биргер, 1979; Шмидт-Нильсен, 1982; Проссер, Браун, 1967; Бранд, 1951; Коштоянц, 1957; Карнаухов, 1981).

Реакция *Unio pictorum* на изменение температурного режима отличается от реакции других пресноводных моллюсков. При температуре воды +4°C содержание каротиноидов у них достоверно возрастает. Потребление кислорода фактически не меняется по сравнению с контрольной группой. Тогда как выделение углекислого газа снижается почти в 5 раз (P<0,05). При температуре воды +28°C содержание каротиноидов фактически не изменяется. Потребление кислорода достоверно возрастает, а выделение углекислого газа снижается более чем в 2 раза (P<0,05).

Выявлена достоверная связь между способностью перехода на аэробный метаболизм и содержанием каротиноидов в тканях легочных и переднежаберных моллюсков при повышении температуры. При понижении температуры такая связь обнаружена только для *Lymnaea stagnalis*. Сравнительный анализ реакций газообмена у изученных видов моллюсков при различных температурных режимах позволяет предполагать, что минимальными адаптивными возможностями обладает вид *Unio pictorum*.

1.1.2 Видовая реакция организмов пресноводных моллюсков на изменение концентрации кислорода в воде

Водные животные, в отличие от наземных, подвержены резким колебаниям концентрации кислорода в водной среде, что определяется значительным количеством факторов. Кислород оказывает существенное влияние на выработку приспособительных механизмов дыхания (Колупаев, 1989). Нормальным содержанием кислорода в воде при стандартных условиях (18°C, pH=7,2) принято считать 10 мг×л⁻¹.

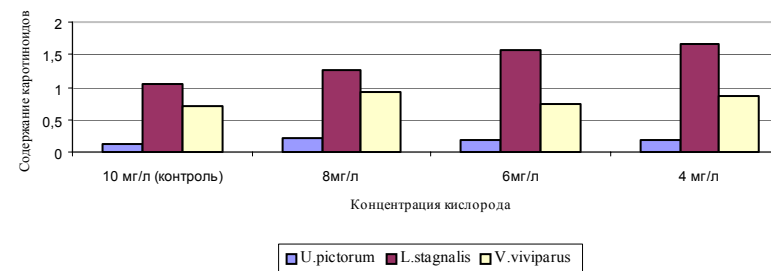


Рисунок 2 – Содержание каротиноидов в тканях разных видов моллюсков, находящихся в среде с различным содержанием кислорода

Снижение кислорода в воде, в том числе и модельное, у пресноводных моллюсков приводит к изменению как содержания каротиноидов, так интенсивности газообмена в целом. При концентрации кисло-

рода в воде, равной $8 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$ содержание каротиноидов у *Lymnaea stagnalis* практически не отличается от нормального, тогда как два других вида *Viviparus viviparus* и *Unio pictorum* реагируют достоверным повышением содержания пигментов в тканях (рис.2).

Потребление кислорода моллюсками при снижении содержания кислорода в воде достоверно уменьшается. В максимальной степени это проявляется у *Lymnaea stagnalis* при концентрации кислорода равной $6 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$, у которых показатель более чем в 4 раза ниже нормального. Аналогичные изменения наблюдаются и у *Unio pictorum*, особенно при концентрации $6 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$ (табл.4).

Таблица 4 – Показатели газообмена моллюсков (мг/г час), находящихся в среде с различным содержанием кислорода

	Вид моллюска	Концентрация кислорода в воде			
		$10 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$ (контроль)	$8 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$	$6 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$	$4 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$
Интенсивность потребления кислорода	<i>Lymnaea stagnalis</i>	$0,0961 \pm 0,0023$	$0,0327 \pm 0,0201^*$	$0,0231 \pm 0,0205^*$	$0,0369 \pm 0,0020^*$
	<i>Unio pictorum</i>	$0,0492 \pm 0,0088$	$0,0537 \pm 0,0082$	$0,0246 \pm 0,0046^*$	$0,0343 \pm 0,0051$
	<i>Viviparus viviparus</i>	$0,0125 \pm 0,0018$	$0,0107 \pm 0,0014$	$0,0089 \pm 0,0015$	$0,0093 \pm 0,0010$
Интенсивность выделения углекислого газа	<i>Lymnaea stagnalis</i>	$0,0354 \pm 0,0043$	$0,0639 \pm 0,0072^*$	$0,0264 \pm 0,0010$	$0,0286 \pm 0,0170$
	<i>Unio pictorum</i>	$0,0404 \pm 0,0080$	$0,0612 \pm 0,0097$	$0,0524 \pm 0,0084$	$0,0824 \pm 0,0071^*$
	<i>Viviparus viviparus</i>	$0,0133 \pm 0,0024$	$0,0249 \pm 0,0074$	$0,0321 \pm 0,0042^*$	$0,0374 \pm 0,0085^*$
Дыхательный коэффициент	<i>Lymnaea stagnalis</i>	$0,3684 \pm 0,0681$	$1,9541 \pm 0,1523^*$	$1,1428 \pm 0,0634^*$	$0,7750 \pm 0,0865$
	<i>Unio pictorum</i>	$0,8212 \pm 0,0273$	$0,9778 \pm 0,0154$	$1,2461 \pm 0,1012$	$2,0243 \pm 0,1234^*$
	<i>Viviparus viviparus</i>	$1,0640 \pm 0,1569$	$0,9784 \pm 0,0183$	$1,3761 \pm 0,1143$	$3,2471 \pm 0,2431^*$

Примечание: * - $P < 0,05$

Интенсивность выделения углекислого газа у прудовиков при концентрации кислорода $8 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$, наоборот возрастает, а при двух других модельных концентрациях фактически не меняется. У перловиц выделение углекислого газа при снижении концентрации кислорода в воде до $8 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$ фактически не изменялось, а при $4 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$ наоборот достоверно возросло. В соответствии с динамикой изменений указанных показателей меняется и величина дыхательного коэффициента. Дыхательный коэффициент у *Unio pictorum* при концентрации кислорода в воде в пределах $4 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$ возрастает в 2,39 раза, тогда как у *Lymnaea stagnalis* фактически находится в пределах константы.

Результаты исследований позволяют считать, что флюктуация таких природных показателей как температура и концентрация кислорода в воде, оказывает важное влияние на газообмен пресноводных моллюсков и содержание каротиноидов в их тканях. Это наиболее характерно вида *Unio pictorum* с его минимальными адаптивными возможностями независимо от морфо-функциональной организации органов дыхания.

При понижении содержания кислорода в воде у моллюсков обнаружена отчетливая корреляционная связь между способностью перехода на аэробный метаболизм и содержанием каротиноидов в тканях всех изученных моллюсков.

Таким образом, реакция органов дыхания и содержание каротиноидов в тканях у моллюсков в ответ на изменение экологически адекватных факторов (температуру и понижение содержание кислорода в среде) в большей степени зависела от условий обитания, чем от морфо-функциональной организации органов дыхания.

2 Реакция организмов моллюсков с различной организацией органов дыхания на воздействие токсических факторов

Результаты исследований по установлению полулетальных концентраций и выяснению устойчивости моллюсков к токсикантам представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Полулетальные концентрации исследованных токсикантов для различных видов моллюсков

Вид моллюска	Полулетальная концентрация (CL ₅₀) за 48 часов; n=8				
	фосфамид	дельтаметрин	циперметрин	тотрил	ионы свинца
<i>Lymnaea stagnalis</i>	$20,10 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$	$0,36 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$	$4,41 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$	$100,10 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$	$0,14 \text{ моль} \times \text{л}^{-1}$
<i>Planorbarius corneus</i>	$20,15 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$	$1,81 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$	$4,41 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$	$100,20 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$	$0,13 \text{ моль} \times \text{л}^{-1}$
<i>Unio pictorum</i>	$42,00 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$	$1,82 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$	$4,42 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$	$70,10 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$	$0,13 \text{ моль} \times \text{л}^{-1}$
<i>Anodonta cygnea</i>	$20,13 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$	$1,79 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$	$4,42 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$	$69,90 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$	$0,13 \text{ моль} \times \text{л}^{-1}$
<i>Viviparus viviparus</i>	$20,16 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$	$1,81 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$	$4,39 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$	$70,30 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$	$0,13 \text{ моль} \times \text{л}^{-1}$

Наибольшую степень устойчивости к фосфорорганическому (ФОС) инсектициду фосфамид обладают пластинчатожаберные моллюски *Unio pictorum*. Другие изученные виды моллюсков имели равную степень устойчивости к данному соединению. В основе токсического действия ФОС лежит способность избирательного действия на фермент нервной связи – холинэстеразу (Метелев и др., 1971). Таким образом, устойчивость моллюсков не зависит от морфофункциональной организации органов дыхания.

Наименьшую устойчивость к токсикантам другой химической природы – пиретроидам – в частности к дельтаметрину – имеет *Lymnaea stagnalis*. К циперметрину устойчивость изученных моллюсков статистически не различима. Растворы циперметрина оказывали большее токсическое воздействие, так как полуметральная концентрация этого токсиканта составила $4,41 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$ за 48 часа. Механизм токсического действия пиретроидов связан с деполяризацией натриевых каналов нервных мембран и специфическим выключением мембранных АТФ-аз (Овчинников, 1987). Исследуемые соединения отличаются только радикалами (Берим, 1972; Кравцов и др, 1984; Горомосова и др., 1984). Следовательно, различия в токсическом действии могут быть обусловлены их разным химическим строением.

При изучении устойчивости моллюсков к гербициду тотрил, который является производным фенола, выявлено, что наиболее чувствительными являются пластинчатожаберные и переднежаберные моллюски *Anodonta cygnea*, *Unio pictorum* и *Viviparus viviparus*. соединения фенольного ряда нарушают процессы окислительного фосфорилирования, угнетая флавиновые ферменты (Лобов, 1963; Белан и др., 1988). Устойчивость к тотрилу легочных моллюсков оказалась ниже, чем у пластинчатожаберных и переднежаберных. Следовательно, она зависит от морфофункциональной организации органов дыхания.

Наиболее устойчивыми к воздействию соединений свинца оказались легочные моллюски *Lymnaea stagnalis*.

2.1 Реакция организмов моллюсков на воздействия фосфорорганического инсектицида фосфамида

Фосфорорганические соединения – контактные яды, которые способны легко проникать и долго сохраняться в организме. По мнению ряда авторов у соединений фосфора отсутствует избирательность действия (Гар, 1978; Шицкова, 1975; Богдановский, 1994). В основе токсичности фосфорорганических соединений лежит способность воздействовать на ферменты, особенно на холинэстеразу. Кроме этого, возможно развитие гипоксии, уменьшение потребления кислорода и нарушение функций газообмена (Метелев и др., 1971; Биргер, 1979; Дауап, 1995). На данном этапе исследований изучена реакция моллюсков на воздействие фосфорорганического инсектицида фосфамида, что позволит выявить адаптивные механизмы к данному виду токсикантов и определить виды с такими способностями.

Все изученные виды моллюсков на загрязнение воды фосфамидом реагируют изменением исследуемых показателей, которые носят видоспецифический характер. С увеличением концентрации препарата достоверно возрастает содержание каротиноидов, и происходят принципиальные изменения интенсивности газообмена.

Таблица 6 – Содержание каротиноидов (мг/100г) и показатели газообмена (мг/г час) у моллюсков, находящихся в различных концентрациях инсектицида фосфамида.

Вид	Показатели	Концентрация токсиканта			
		Чистая вода (контроль)	1/8 CL ₅₀	1/4 CL ₅₀	1/2 CL ₅₀
<i>Lymnaea stagnalis</i>	Содержание каротиноидов	1,0526±0,0518	1,9070±0,2251*	1,7838±0,1914*	2,6891±0,3712*
	Интенсивность потребления O ₂	0,0961±0,0023	0,0210±0,0090*	0,0153±0,0038*	0,0090±0,0041*
	Интенсивность выделения CO ₂	0,0354±0,0043	0,0751±0,0625*	0,0221±0,0162	0,0212±0,0103
	Дыхательный коэффициент	0,3684±0,0681	1,0552±0,2300*	1,3357±0,7726*	3,9863±2,0251*
<i>Planorbis corneus</i>	Содержание каротиноидов	0,3202±0,0217	0,3752±0,0333	0,4636±0,0413*	0,6594±0,0337*
	Интенсивность потребления O ₂	0,0246±0,0005	0,0346±0,0029*	0,0168±0,0025*	0,0105±0,0006*
	Интенсивность выделения CO ₂	0,0228±0,0007	0,0309±0,0025	0,0227±0,0054	0,0144±0,0029*
	Дыхательный коэффициент	0,9268±0,0467	0,9172±0,1498	1,3505±0,2706*	1,3785±0,2892*
<i>Unio pictorum</i>	Содержание каротиноидов	0,1109±0,0252	0,0802±0,0307	0,2652±0,0104*	0,2524±0,0205*
	Интенсивность потребления O ₂	0,0492±0,0088	0,2041±0,0493*	0,0204±0,0013*	0,0406±0,0024
	Интенсивность выделения CO ₂	0,0404±0,0080	0,0802±0,0093*	0,0307±0,0021	0,0117±0,0011*
	Дыхательный коэффициент	0,8212±0,0273	0,3176±0,0318*	1,1629±0,1102	0,2882±0,0801*
<i>Anodonta cygnea</i>	Содержание каротиноидов	0,2300±0,0431	0,3511±0,0505	0,5544±0,0503*	0,6324±0,0742*
	Интенсивность потребления O ₂	0,0146±0,0013	0,0178±0,0047	0,0072±0,0012*	0,0029±0,0010*
	Интенсивность выделения CO ₂	0,0049±0,0009	0,0156±0,0052*	0,0152±0,0051*	0,0131±0,0037*
	Дыхательный коэффициент	0,3356±0,0125	0,9312±0,0265*	2,2847±0,0878*	5,6994±0,1848*
<i>Viviparus viviparus</i>	Содержание каротиноидов	0,6942±0,0476	0,8464±0,0623	1,3293±0,0376*	2,6285±0,2732*
	Интенсивность потребления O ₂	0,0125±0,0018	0,0153±0,0016	0,0189±0,0015*	0,0227±0,0018*
	Интенсивность выделения CO ₂	0,0133±0,0024	0,0147±0,0009	0,0187±0,0013	0,0241±0,0017*
	Дыхательный коэффициент	1,0640±0,1569	0,9707±0,0553	0,9943±0,0674	1,0726±0,1196

Примечание: *-P<0,05

Так у *Lymnaea stagnalis* увеличение содержания каротиноидов происходит при всех исследованных дозах токсиканта (табл.6). Одновременно с этим отмечено достоверное снижение потребления кислорода

да. Это особенно четко проявляется при концентрации фосфамида равной $1/2 CL_{50}$, где показатель в 10 раз ниже контрольного. Ряд авторов считает, что увеличение содержания каротиноидов является одним из механизмов приспособления к загрязнению окружающей среды (Карнаухов, 1988) и эти пигменты особенно важны в преодолении гипоксии (Карнаухов, 1988; Колупаев, 1989; Лукьянова, 1994; Чечуга, 1977).

Достоверное увеличение интенсивности выделения углекислого газа у *Lymnaea stagnalis* зафиксировано только при дозе токсиканта равной $1/8 CL_{50}$. В остальных концентрациях фосфамида показатель фактически не изменяется. Соответственно изменяются и параметры дыхательного коэффициента. Причем его абсолютные значения превышают единицу (табл.5). Сходные изменения, за небольшим исключением, наблюдается и у другого легочного моллюска *Planorbarius corneus* (табл.6).

Реакция пластинчатожаберных и переднежаберных моллюсков на загрязнение воды фосфамидом в различных концентрациях во многом отличается от таковой у легочных моллюсков. Так у всех трех видов этих моллюсков увеличение содержания каротиноидов наблюдается только при концентрациях токсиканта равных $1/2 CL_{50}$ и $1/4 CL_{50}$. При дозе $1/8 CL_{50}$ изменения параметров отсутствуют. Увеличение содержания каротиноидов у жаберных моллюсков существенно выше, чем у легочных. Если, например у *Lymnaea stagnalis* содержание каротиноидов при одной и той же концентрации токсиканта достоверно возрастает по сравнению с константой данного вида в 2,5 раза, то у *Viviparus viviparus* – более чем в 3,7 раза (табл.6).

Интенсивность потребления кислорода пластинчатожаберными моллюсками иная, чем у легочных. У этой группы животных отсутствует дозозависимость. Например, при дозах $1/8 CL_{50}$ и $1/4 CL_{50}$ потребление кислорода у *Unio pictorum* достоверно снижено по сравнению с нормой, тогда как при дозе фосфамида в концентрации равной $1/2 CL_{50}$ показатель практически не изменяется. Выделение углекислого газа, в отличие от потребления кислорода, достоверно снижено только при концентрации данного токсиканта $1/2 CL_{50}$, а в дозе $1/8 CL_{50}$ достоверно выше нормального (табл.6).

В максимальной степени дисбаланс между потреблением кислорода и выделением углекислого газа выявлен у *Anodonta cygnea* при дозе фосфамида равной $1/2 CL_{50}$. У данного вида моллюсков при этой концентрации токсиканта потребление кислорода достоверно снижается в 5 раз по сравнению с контролем, а выделение углекислого газа, наоборот, достоверно превышает норму более чем в 2 раза. Соответственно дыхательный коэффициент у перловиц равен 5,699. Обнаруженные изменения динамики газообмена протекают на фоне достоверного повышения концентрации каротиноидов (табл.6).

Таким образом, в результате проведенной серии экспериментов выявлено, что универсальной реакцией у пяти изученных видов пресно-

водных моллюсков на токсическое действие фосфамида в водной среде является видоспецифическое и дозозависимое увеличение содержания каротиноидов.

Изменение газообмена на действие данного токсиканта является сложным и нелинейным: у одного вида легочных моллюсков (*Planorbarius corneus*) оба аспекта газообмена ингибируются, тогда как у других видов (пластинчатожаберных и переднежаберных) отмечается дисбаланс между потреблением кислорода и выделением углекислого газа.

Опираясь на основы биохимии метаболизма наземных животных и ряда гидробионтов, совершенно очевидно, что резкое снижение потребления кислорода, даже не смотря на предполагаемое рядом исследователей переключение аэробной формы процесса на анаэробный, и без спиртового брожения неизбежно влечет за собой снижение интенсивности метаболизма в целом и, как следствие, снижение интенсивности выделения углекислого газа. В работе выявлено, что эта закономерность характерна только для некоторых видов моллюсков, например у *Lymnaea stagnalis* и *Planorbarius corneus*, у которых достоверное снижение потребления эндогенного кислорода сопровождается значимым снижением выделения углекислого газа, хотя и происходит это на фоне достоверного увеличения содержания каротиноидов. В тоже время, у такого вида как *Unio pictorum* потребление кислорода не нарушается, а выделение углекислого газа достоверно снижается более чем в 3 раза.

У моллюсков *Viviparus viviparus* и потребление кислорода, и выделение углекислого газа достоверно выше нормального, тогда как у вида *Anodonta cygnea* значимое снижение потребления кислорода сопровождается резким и достоверным увеличением количества выделяемого углекислого газа.

Имеются все основания предполагать, что адаптивно-компенсаторная функция каротиноидов, как доноров эндогенного кислорода в максимальной степени проявляется у моллюсков *Anodonta cygnea*.

Состояние, наблюдаемое у моллюсков *Unio pictorum*, когда на фоне не измененного потребления кислорода резко падает регистрируемое выделение углекислого газа, может быть объяснено не столько нарушением метаболизма сколько метаболической утилизацией углекислого газа в виде карбонатов и использование их на построение и утолщение створок раковины (одна из форм защитной реакции).

Четко выраженной связи между интенсивностью общего газообмена и содержанием каротиноидов в тканях моллюсков подвергшихся воздействию фосфамида в изучаемом диапазоне концентраций не выявлена.

2.2 Реакция организмов моллюсков на воздействия пиретроидного инсектицида дельтаметрина

Известно, что пиретроиды, особенно дельтаметрин – один из наиболее токсичных инсектицидов, вызывают блокаду ионных каналов (Forshaw, 1994; Овчинников, 1987; Карнаухова, 1982), а, следовательно, влияют на процессы деполяризации клеточных мембран. Эти пестициды обладают избирательной токсичностью, так как многие виды моллюсков толерантны к ним (Биргер, 1979; Бредбери, 1993; Лобов и др., 1963; Берим, 1971).

В результате проведенных исследований выявлено, что у всех изученных видов моллюсков (*Planorbarius corneus*, *Unio pictorum*, *Anodonta cygnea*, *Viviparus viviparus*, *Lymnaea stagnalis*) в ответ на действие дельтаметрина происходит увеличение содержания каротиноидов в тканях. Процесс носит дозозависимый характер. В максимальной степени это выражено у *V. viviparus*, у которых показатель увеличился более чем в 5 раз (табл.7).

У прудовиков и катушек реакция газообмена на токсикант не линейная и носит произвольный характер. У прудовиков в растворах дельтаметрина с концентрацией 1/8 и 1/2 CL₅₀ выявилось достоверное повышение дыхательного коэффициента больше единицы.

У пластинчатожаберных моллюсков выявлена разная реакция органов дыхания на воздействие дельтаметрина: у перловиц токсикант вызвал снижение потребления кислорода, а у беззубок повышение интенсивности общего газообмена.

В малых дозах дельтаметрина у переднежаберных моллюсков увеличивается интенсивность общего газообмена, а в высоких – снижается потребление кислорода. Показатели ДК у живородок существенно повышаются больше единицы в растворе дельтаметрина с концентрацией 1/2 CL₅₀.

При действии растворов дельтаметрина установлена достоверная корреляционная связь между способностью перехода на аэробный метаболизм и содержанием каротиноидов в тканях *Lymnaea stagnalis* и *Anodonta cygnea*.

Значение ДК у перловиц в малых концентрациях дельтаметрина (1/8 CL₅₀) значительно превысил единицу (увеличился в 50 раз), а в высоких напротив существенно снизился. У беззубок, увеличение ДК отмечено в растворах с концентрацией дельтаметрина 1/4 и 1/2 CL₅₀. Такие явления могут быть вызваны подключением дополнительных механизмов (например, увеличение доли анаэробных процессов), или использованием в метаболизме бикарбонатов, как и отмечено рядом авторов (Бранд, 1951; Проссер, Браун, 1967).

Имеются достаточно веские основания предполагать, что повышение содержания каротиноидов связано с увеличением концентрации в воде токсического вещества. Это согласуется с данными Карнаухова

(1989) и Колупаева (1984), указавших, что вследствие загрязнения среды обитания уровень каротиноидов в тканях животных увеличивается.

Таблица 7 – Содержание каротиноидов (мг/100г) и показатели газообмена (мг/г час) у моллюсков, находящихся в различных концентрациях инсектицида дельтаметрина.

Вид	Показатели	Концентрация токсиканта			
		Чистая вода (контроль)	1/8 CL ₅₀	1/4 CL ₅₀	1/2 CL ₅₀
<i>Lymnaea stagnalis</i>	Содержание каротиноидов	1,0526±0,5186	5,1047±1,2739*	3,3361±0,8736*	3,3644±0,3632*
	Интенсивность потребления O ₂	0,0961±0,0023	0,0342±0,0092*	0,1336±0,0504*	0,1111±0,0314
	Интенсивность выделения CO ₂	0,0354±0,0043	0,0527±0,0067*	0,0363±0,0076	0,1197±0,0414*
	Дыхательный коэффициент	0,3684±0,0681	1,8177±0,0819*	0,2975±0,0477*	1,4062±0,0779*
<i>Planorbarius corneus</i>	Содержание каротиноидов	0,3202±0,0217	0,4371±0,0325*	0,6574±0,0443*	0,2908±0,0083
	Интенсивность потребления O ₂	0,0246±0,0005	0,0523±0,0027*	0,0310±0,0008	0,0075±0,0011*
	Интенсивность выделения CO ₂	0,0228±0,0007	0,0358±0,0054	0,0246±0,0025	0,0095±0,002
	Дыхательный коэффициент	0,9268±0,0467	0,6844±0,0952*	0,7962±0,0829	1,2298±0,2038
<i>Unio pictorum</i>	Содержание каротиноидов	0,1109±0,0252	0,3580±0,0524*	0,2655±0,0642*	0,5183±0,0542*
	Интенсивность потребления O ₂	0,0492±0,0088	0,0013±0,0002*	0,0352±0,0052	0,0639±0,0042
	Интенсивность выделения CO ₂	0,0404±0,0080	0,0567±0,0092	0,0349±0,0060	0,1005±0,0082*
	Дыхательный коэффициент	0,8212±0,0273	43,6154±0,524*	0,8303±0,0780	0,5241±0,0624*
<i>Anodonta cygnea</i>	Содержание каротиноидов	0,2300±0,0431	0,4410±0,0327*	0,4232±0,0254*	0,6661±0,0092*
	Интенсивность потребления O ₂	0,0146±0,0013	0,0393±0,0012*	0,0247±0,0017*	0,0117±0,0020
	Интенсивность выделения CO ₂	0,0049±0,0009	0,0187±0,0017*	0,0218±0,0016*	0,0152±0,0051*
	Дыхательный коэффициент	0,3356±0,0125	0,4733±0,0333	0,8845±0,0521*	1,2378±0,2072*
<i>Viviparus viviparus</i>	Содержание каротиноидов	0,6942±0,0476	1,1525±0,0760*	2,1074±0,0860*	3,2220±0,0995*
	Интенсивность потребления O ₂	0,0125±0,0018	0,0384±0,0022*	0,0105±0,0001	0,0019±0,0001*
	Интенсивность выделения CO ₂	0,0133±0,0024	0,0308±0,0040*	0,0112±0,0001	0,0080±0,0019
	Дыхательный коэффициент	1,0640±0,1569	0,7966±0,0667	1,01818±0,0913	4,5234±0,5007*

Примечание: *-P<0,05

Изменения показателей газообмена носят более сложный характер. Так, например, потребление кислорода у *Lymnaea stagnalis* при трехкратном достоверном увеличении содержания каротиноидов, фактически не меняется, а выделение углекислого газа наоборот достоверно увеличивается более чем в 3 раза.

Реакция переднежаберных моллюсков на действие пиретроидных инсектицидов отличается от таковой у легочных. Содержание каротиноидов у *Viviparus viviparus*, как ответная реакция на токсикант в дозе 1/2 CL₅₀, достоверно возрастает почти в 5 раз. Интенсивность потребления кислорода и выделения углекислого газа на этом фоне резко снижена, что подтверждено достоверным повышением дыхательного коэффициента.

2.3 Реакция организмов моллюсков на воздействия гербицида тотрил

Предполагается, что тотрил, одно из производных фенола, широко применяемое в народном хозяйстве в качестве гербицида, вызывает разобщающее действие и в митохондриях клеток животных, а так же нарушают активный транспорт ионов натрия через мембрану (Ратникова, Ягужинский, 1972; Флеров, 1989; Лобов, 1963; Санин, 1982; Шестопалов, 1976).

В ответ на действие растворов тотрила во всех дозах у изученных моллюсков отмечено увеличение содержания каротиноидов в тканях. Максимальное увеличение показателя выявлено у *Unio pictorum* (в 5,9 раза) и у *Viviparus viviparus* (в 5 раз) (табл.8). Увеличение содержания пигментов согласуется с данными Карнаухова (1988), Колупаева (1989), Лукьянова и др.(1994) и подтверждает предположение о роли каротиноидов в преодолении организмом гипоксии (Шалыгин и др., 1992; Czeczuga, 1976; Fernander, 1991; Yonson, 1995).

Растворы тотрила у легочных моллюсков *Lymnaea stagnalis* вызывают снижение потребления кислорода особенно в дозах 1/4 CL₅₀ и 1/2 CL₅₀. У *Planorbarius corneus* повышение интенсивности общего газообмена отмечено практически во всех концентрациях. У перловиц интенсивность выделения углекислого газа и потребление кислорода снижались, а у беззубок отмечено повышение изучаемых показателей. Выделение CO₂ у переднежаберных моллюсков изменялось только в концентрации 1/2 CL₅₀, а потребление кислорода увеличивалось во всех дозах токсиканта (табл.8).

Дыхательный коэффициент у перловиц в растворах тотрила с концентрацией 1/8 и 1/4 CL₅₀ снижается. У прудовиков показатели ДК увеличивался больше единицы, у *Viviparus viviparus* уменьшался по сравнению с контролем, при этом имели очень низкие значения. Эти явления свидетельствуют о том, что у прудовиков возможно адаптивные способности к преодолению загрязнения являются наиболее выраженными.

Таблица 8 – Содержание каротиноидов (мг/100г) и показатели газообмена (мг/г час) у моллюсков, находящихся в различных концентрациях гербицида тотрила.

Вид	Показатели	Концентрация токсиканта			
		Чистая вода (контроль)	1/8 CL ₅₀	1/4 CL ₅₀	1/2 CL ₅₀
<i>Lymnaea stagnalis</i>	Содержание каротиноидов	1,0526±0,0518	1,9762±0,3505*	1,3197±0,0628*	3,2858±0,3490*
	Интенсивность потребления O ₂	0,0961±0,0023	0,1526±0,0023*	0,0355±0,0108*	0,0245±0,0095*
	Интенсивность выделения CO ₂	0,0354±0,0043	0,0164±0,0053*	0,0554±0,0014*	0,0356±0,0067
	Дыхательный коэффициент	0,3684±0,0681	0,1080±0,0022*	1,7048±0,4749*	2,1699±0,9715*
<i>Planorbarius corneus</i>	Содержание каротиноидов	0,3202±0,0217	0,6940±0,0674*	0,4324±0,0037*	0,0888±0,0393*
	Интенсивность потребления O ₂	0,0246±0,0005	0,0394±0,0012*	0,0414±0,0009*	0,0622±0,0052*
	Интенсивность выделения CO ₂	0,0228±0,0007	0,0262±0,0019	0,0416±0,0012*	0,0615±0,0066*
	Дыхательный коэффициент	0,9268±0,0467	0,9171±0,0305	0,9965±0,0288	0,9939±0,0922
<i>Unio pictorum</i>	Содержание каротиноидов	0,1109±0,0252	0,3152±0,0644*	0,4830±0,1203*	0,6508±0,1236*
	Интенсивность потребления O ₂	0,0492±0,0088	0,0295±0,0075	0,0540±0,0056	0,0171±0,0034*
	Интенсивность выделения CO ₂	0,0404±0,0080	0,0162±0,0086*	0,0124±0,0056*	0,0151±0,0063*
	Дыхательный коэффициент	0,8212±0,0273	0,4866±0,0862*	0,2112±0,0487*	0,8884±0,0967
<i>Anodonta cygnea</i>	Содержание каротиноидов	0,2300±0,0431	0,0256±0,0323	0,4168±0,0529*	0,4637±0,0775*
	Интенсивность потребления O ₂	0,0146±0,0013	0,0199±0,0092	0,0388±0,0063*	0,0136±0,0034
	Интенсивность выделения CO ₂	0,0049±0,0009	0,0089±0,0044*	0,0072±0,0021*	0,0095±0,0038*
	Дыхательный коэффициент	0,3356±0,0125	0,5947±0,0866	0,4539±0,0634	0,8015±0,0946*
<i>Viviparus viviparus</i>	Содержание каротиноидов	0,6942±0,0476	0,9032±0,0155*	2,7105±0,5614*	3,5335±0,5522*
	Интенсивность потребления O ₂	0,0125±0,0018	0,1089±0,0223*	0,1609±0,0199*	0,1303±0,0784*
	Интенсивность выделения CO ₂	0,0133±0,0024	0,0096±0,0064	0,0099±0,0051	0,0343±0,0031*
	Дыхательный коэффициент	1,0640±0,1569	0,0759±0,0319*	0,0561±0,0129*	0,2685±0,0301*

Примечание: *-P<0,05

При действии тотрила установлена сильная корреляционная связь между способностью перехода на аэробный метаболизм и содержанием каротиноидов в тканях для всех видов моллюсков.

Таким образом, состояние, наблюдаемое у *Unio pictorum*, когда на фоне максимального повышения содержания каротиноидов максимально уменьшаются параметры газообмена, свидетельствует о низких адаптивных способностях этих моллюсков.

2.4 Реакция организмов моллюсков на воздействия соли свинца

В настоящее время известно, что действие металлов определяется поражением основных систем и органов. Биохимически чаще всего происходит связывание сульфгидрильных групп ферментов, что приводит к нарушению дыхания, транспорта, синтеза белка (Бранд, 1951; Шпаков и др., 1994; Колупаев, 1989; Сорвачев, 1983; Безель, 1994).

Содержание каротиноидов в тканях всех видов изученных моллюсков в растворах ионов свинца в высоких концентрациях значительно увеличивалось, это подтверждает предположение Карнаухова (1989) о роли каротиноидов в преодолении загрязнения природной среды (табл.9).

У прудовиков, катушек и перловиц растворы ионов свинца почти во всех концентрациях вызвали снижение интенсивности потребления кислорода, а у *Planorbarius corneus* и *Viviparus viviparus* увеличение этого показателя, как и показано у ряда авторов (Колупаев, 1992; Соколова, 1972). Выделение углекислого газа значительно снижалось у прудовиков и перловиц (табл.9).

Значения дыхательного коэффициента у прудовиков во всех концентрациях, а у катушек в концентрации 1/2 CL₅₀ были выше единицы. Показатели ДК у пластинчатожаберных и переднежаберных моллюсков уменьшались в растворах всех концентраций. Значение ДК у *Viviparus viviparus* достоверно снизилось по сравнению с контролем, причем показатели были очень малы.

Четко выраженная связь между интенсивностью общего газообмена и содержанием каротиноидов в тканях моллюсков, подвергшихся воздействию солей свинца в изучаемом диапазоне концентраций не выявлена как в отношении дозозависимости так и в по отношению морфофункциональной организации органов дыхания.

Полученные данные свидетельствуют о том, что не выявлена четкая зависимость адаптивных способностей изученных моллюсков от дозы токсиканта и морфофункциональной организации органов дыхания.

Таким образом, исследуемые инсектициды, гербициды и соли тяжелых металлов оказывают неспецифическое действие на интенсивность газообмена и содержание каротиноидов в тканях моллюсков. Сравнительный анализ реакций газообмена и содержания каротиноидов в тканях у изученных видов моллюсков позволяет предполагать, что минимальными адаптивными способностями к воздействию токсических соединений обладают животные вида *Unio pictorum*.

Таблица 9 – Содержание каротиноидов (мг/100г) и показатели газообмена (мг/г час) у моллюсков, находящихся в различных концентрациях ионов свинца.

Вид	Показатели	Концентрация токсиканта			
		Чистая вода (контроль)	1/8 CL ₅₀	1/4 CL ₅₀	1/2 CL ₅₀
<i>Lymnaea stagnalis</i>	Содержание каротиноидов	1,0526±0,0518	1,3450±0,0532	2,0166±0,0816*	3,1870±0,1513*
	Интенсивность потребления O ₂	0,0961±0,0023	0,0215±0,0080*	0,0153±0,0025*	0,0090±0,0003*
	Интенсивность выделения CO ₂	0,0354±0,0043	0,0151±0,0250*	0,0221±0,0062	0,0211±0,0014*
	Дыхательный коэффициент	0,3684±0,0681	0,7023±0,0040*	1,444±0,0023*	2,3444±0,1205*
<i>Planorbarius corneus</i>	Содержание каротиноидов	0,3202±0,0217	0,6071±0,0602*	0,3703±0,0511	0,7253±0,0412*
	Интенсивность потребления O ₂	0,0246±0,0005	0,0290±0,0048	0,0184±0,0001	0,0080±0,0010*
	Интенсивность выделения CO ₂	0,0228±0,0007	0,0251±0,0020	0,0196±0,0023	0,0219±0,0017
	Дыхательный коэффициент	0,9268±0,0467	0,9075±0,1371	1,0378±0,1370	2,7795±0,1297*
<i>Unio pictorum</i>	Содержание каротиноидов	0,1109±0,0252	0,1991±0,0072*	0,2652±0,0140*	0,3449±0,0152*
	Интенсивность потребления O ₂	0,0492±0,0088	0,0330±0,0045	0,0219±0,0026*	0,0180±0,0030*
	Интенсивность выделения CO ₂	0,0404±0,0080	0,0036±0,0003*	0,0040±0,0007*	0,0068±0,0012*
	Дыхательный коэффициент	0,8212±0,0273	0,8329±0,0872	0,6521±0,0751*	0,4122±0,0631*
<i>Anodonta cygnea</i>	Содержание каротиноидов	0,2300±0,0431	0,3923±0,0436*	0,3935±0,0136*	0,5515±0,0403*
	Интенсивность потребления O ₂	0,0146±0,0013	0,0340±0,0059*	0,0353±0,0061*	0,0226±0,0031*
	Интенсивность выделения CO ₂	0,0049±0,0009	0,0031±0,0008	0,0026±0,0010	0,0066±0,0011
	Дыхательный коэффициент	0,3356±0,0125	0,1380±0,0589*	0,1549±0,0959*	0,4882±0,0863
<i>Viviparus viviparus</i>	Содержание каротиноидов	0,6942±0,0476	0,9611±0,0241*	1,1474±0,0475*	2,9828±0,1394*
	Интенсивность потребления O ₂	0,0125±0,0018	0,0238±0,0058	0,0614±0,0080*	0,0547±0,0012*
	Интенсивность выделения CO ₂	0,0133±0,0024	0,0103±0,0015	0,0129±0,0008	0,0118±0,0009
	Дыхательный коэффициент	1,0640±0,1569	0,1328±0,0089*	0,1961±0,0993*	0,1457±0,5246*

Примечание: *-P<0,05

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что одними из ранних адаптивных реакций у пяти изученных видов пресноводных моллюсков на изменение условий среды обитания (температуры и содержания кислорода в воде) являются уве-

личение содержания каротиноидов и изменения параметров газообмена. Процесс носит видоспецифический характер и зависит не столько от морфофункциональной организации органов дыхания, сколько от характера и глубины изменений условий среды обитания.

2. В серии экспериментов выявлено, что все исследованные токсиканты, принадлежащие к различным группам химических соединений, в сублетальных концентрациях вызывают не только изменения содержания каротиноидов, но и дисбаланс между потреблением кислорода и выделением углекислого газа. Изменения во многом носят видоспецифический характер и зависят не только от концентрации токсиканта, но и от его химической природы.

3. Установлено, что повышение содержания каротиноидов в тканях в ответ на действие токсических соединений, происходит практически у всех моллюсков, что многими исследователями рассматривается как молекулярный механизм адаптации, опирающийся на кумуляцию и использование экзогенного кислорода.

4. Выявлено, что у одних видов пресноводных моллюсков снижение потребления кислорода сопровождается повышением выделения углекислого газа, что может служить доказательством и переключения аэробного пути метаболизма на анаэробный, и эффективного использования внутреннего кислорода, кумулированного каротиноидами. У других видов имеет место противоположные изменения, когда повышение потребления кислорода сопровождается достоверным снижением выделения углекислого газа.

5. Установлено, что наименее устойчивым видом из исследованных моллюсков к изменению природных факторов среды и присутствию в воде различных токсикантов в сублетальных дозах, является вид *Unio pictorum*.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Использованный в работе методический подход по изучению влияния изменений условий природной среды (в адекватных пределах) и влияния ряда токсикантов различной химической природы в сублетальных концентрациях может быть рекомендован к использованию для скрининговой оценки физиолого-биохимических механизмов адаптации животных в экстремальных условиях.

Результаты работы позволяют рекомендовать к использованию в качестве объекта для индикации загрязнения водной среды *Unio pictorum*.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Пузаткина Е.А. Содержание каротиноидов в мозге и селезенке рыб, находящихся в загрязненной среде/Б.И. Колупаев, Е.А. Пузаткина, П.В. Бедова//Экология и охрана окружающей среды. – Пермь, 1995. –С. 66-67.
2. Пузаткина Е.А. Анализ состояния водной среды по данным газообмена и удельной концентрации каротиноидов в тканях гидробио-

нтов/Е.А. Пузаткина // Вавиловские чтения. – Йошкар-Ола, 1996. – С. 348-349.

3. Пузаткина Е.А. Влияние факторов внешней среды на содержание каротиноидов в тканях палеарктических моллюсков/ Е.А. Пузаткина, Б.И. Колупаев // Состояние малых рек. – Йошкар-Ола, 1997. – С. 17-20.

4. Пузаткина Е.А. Реакция системы газообмена *Lymnaea stagnalis L.* на загрязнение водной среды/ Е.А. Пузаткина // Природопользование: состояние, проблемы и пути их решения. - Йошкар-Ола, 1997. – С. 83-84.

5. Пузаткина Е.А. Чувствительность *Lymnaea stagnalis L.* на разных стадиях онтогенеза к фенолу/Е.А. Пузаткина //Вторые Вавиловские чтения. Ч.II. - Йошкар-Ола, 1997. - С. 177-178.

6. Пузаткина Е.А. О связи удельной концентрации каротиноидов в тканях моллюсков *Lymnaea stagnalis L.* с содержанием этих пигментов в потребляемой пище/ Е.А. Пузаткина // Экология и генетика популяций. - Йошкар-Ола, 1998. – С. 296-297.

7. Пузаткина Е.А. О механизмах адаптации *Lymnaea stagnalis L.* к температурным нагрузкам/ Б.И. Колупаев, Е.А. Пузаткина // Экология и генетика популяций. -Йошкар-Ола, 1998. – С. 260-262.

8. Пузаткина Е.А. О способности *Unio pictorum* к переходу на анаэробный метаболизм/ Т.Н. Голованова, Е.А. Пузаткина // Экология и генетика популяций. -Йошкар-Ола, 1998. – С. 208-210.

9. Пузаткина Е.А. Изменение физиолого-биохимических показателей *Unio pictorium L.* в загрязненной водной среде / Е.А. Пузаткина // Третьи Вавиловские чтения. - Ч.2. - Йошкар-Ола, 1999. - С. 176-177.

10. Пузаткина Е.А. О связи удельной концентрации каротиноидов со способностью подключения анаэробного дыхания/ Е.А. Пузаткина, Б.И. Колупаев // Журн. эволюционной биохимии и физиологии– 2000. – Т. 36, №1. – С.85 – 88.

11. Пузаткина Е.А. К изучению воздействия ядохимикатов сельского хозяйства на состояние газообмена пресноводных моллюсков/ Е.А. Пузаткина // Материалы 5-х Вавиловских чтений 15-16 ноября 2001 г., г. Йошкар-Ола - Ч.2.- Йошкар-Ола: Изд-во МарГТУ- 2001 – С. 156-157.

12. Пузаткина Е.А. Действие токсического фактора на морфофункциональное состояние *Lymnaea stagnalis L.*/ Е.А. Пузаткина// Шестые вавиловские чтения. - Йошкар-Ола, 2002. – С. 245-246.

13. Пузаткина Е.А. Изучение реакции организма переднежаберных моллюсков в ответ на действие токсического фактора/ Е.А. Пузаткина // Принципы и способы сохранения биоразнообразия. – Йошкар-Ола, 2004 – С. 168.

14. Пузаткина Е.А. Адаптации *Lymnaea stagnalis L.* к понижению содержания кислорода в воде/ Е.А. Пузаткина // Принципы и способы сохранения биоразнообразия. – Йошкар-Ола, 2006 – С. 327.